

De volgende stukken moeten bij de aanvraag worden gevoegd :

- een verklaring, waaruit de bestaande werking blijkt, alsook de noodzakelijkheid met dat doel uitrusting voorwerpen aan te schaffen;

- een kostenraming voor de aankoop van uitrusting voorwerpen.

**Art. 8.** Op grond van een verslag van de inspectie stemmen de bevoegde ministers eventueel in met de aankoop van de betreffende uitrusting.

**Art. 9.** De rekeningen moeten samen met de betalingsstukken voor uitgaven die mogen aangerekend worden, in viervoud uiterlijk 1 september van het betreffende jaar bij het bestuur van de voor de culturele zaken van de Duitse Cultuurgemeenschap bevoegde ministers worden ingediend; dit controleert of de leveranties met de toegekende aankopen stroken. De subsidiëring van uitgaven waarvoor de betalingsstukken te laat worden ingediend, kan verschoven worden naar het volgende begrotingsjaar.

**Art. 10.** De in het raam van deze bepalingen aangeschafte uitrusting voorwerpen moeten worden opgegeven in een permanente inventaris waarvoor een afschrift bij het jaarlijks activiteitsverslag moet worden gevoegd. Die inventaris moet de aankoopsdatum, de aankoopsprijs, het bedrag van de toegekende toeslag en eventuele opmerkingen betreffende de staat van de voorwerpen bevatten en wel voor de laatste vijf jaar.

#### HOOFDSTUK V. — *Algemene bepalingen*

**Art. 11.** De in het raam van deze bepalingen aangeschafte uitrusting voorwerpen moeten tegen brand worden verzekerd, als deze uitrusting voorwerpen centraal zijn gelegen en er bijgevolg gevaren is, dat ze door brand volledig worden vernield.

**Art. 12.** Indien de rechthebbende zich niet aan de in artikel 4 voorgeschreven verklaring houdt of de bepalingen van artikels 3, 10 en 11 overtreedt, kunnen de voor de culturele zaken van de Duitse Cultuurgemeenschap bevoegde ministers de terugbetaling van de toegekende toeslagen vereisen.

**Art. 13.** De voor de culturele zaken van de Duitse Cultuurgemeenschap bevoegde ministers zijn met de uitvoering van dit besluit belast.

**Art. 14.** Dit besluit treedt met 1 januari 1980 in werking.

Eupen, 4 februari 1980.

De Griffier,

M. Beckers.

De Voorzitter,

A. Gehlen.

Voor officiële vertaling:  
Voor de Minister van Binnenlandse Zaken:  
De Adjunct Arrondissementscommissaris,  
J. Weynand.

Il y a lieu de joindre les documents suivants :

- une note d'accompagnement établissant la preuve de l'activité d'animation existante et de la nécessité d'acquérir pour elle du matériel d'équipement;

- une estimation des dépenses pour l'achat du matériel d'équipement.

**Art. 8.** Les ministres compétents marquent éventuellement leur accord sur l'achat du matériel d'équipement concerné au vu d'un rapport d'inspection.

**Art. 9.** Les comptes accompagnés des documents de paiement relatif aux dépenses qui peuvent être prises en considération, doivent être transmis en quatre exemplaires avant le 1er septembre de l'année considérée, à l'administration des ministres compétents pour les affaires culturelles de la Communauté allemande; l'administration vérifie si les fournitures correspondent aux achats autorisés. Le subventionnement de dépenses pour lesquelles les documents ont été transmis tardivement, peut être différé à l'année budgétaire suivante.

**Art. 10.** Le matériel d'équipement acquis dans le cadre des présentes dispositions doit être repris dans un inventaire permanent dont un exemplaire est joint au rapport annuel d'activité. Cet inventaire mentionne la date et le prix d'achat, le montant de la subvention accordée et les remarques éventuelles concernant l'état du matériel et ce pour les cinq dernières années.

#### CHAPITRE V. — *Dispositions générales*

**Art. 11.** Le matériel d'équipement acquis en vertu des présentes dispositions doit être assuré contre l'incendie, s'il est entreposé en un point central et s'il existe par conséquent un risque qu'il soit complètement détruit par un incendie.

**Art. 12.** Dans le cas où le bénéficiaire contrevient à la déclaration prévue à l'article 4 ou aux dispositions des articles 3, 10 et 11, les ministres compétents pour les affaires culturelles de la Communauté culturelle allemande peuvent imposer le remboursement de la subvention accordée.

**Art. 13.** Les ministres compétents pour les affaires culturelles de la Communauté culturelle allemande sont chargés de l'exécution du présent arrêté.

**Art. 14.** Le présent arrêté entre en vigueur le 1er janvier 1980.  
Eupen, le 4 février 1980.

Le greffier,

M. Beckers.

Le président,

A. Gehlen.

Pour traduction officielle :  
Pour le Ministre de l'Intérieur :  
Le Commissaire d'Arrondissement adjoint,  
J. Weynand.

#### MINISTERIE VAN VOLKSGEZONDHEID EN VAN HET GEZIN

**29 OKTOBER 1979.** — Koninklijk besluit tot aanvulling van het koninklijk besluit van 27 juli 1974 houdende vaststelling van de geldige referentiemethoden voor ontleding van vleesextract, vleesbouillons en soepen

BOUDEWIJN, Koning der Belgen,

Aan allen die nu zijn en hierna wezen zullen, Onze Groet.

Gelet op de wet van 24 januari 1977 betreffende de bescherming van de gezondheid van de verbruikers op het stuk van de voedingsmiddelen en andere produkten, inzonderheid op artikel 12;

Gelet op het koninklijk besluit van 27 juli 1974 tot vaststelling van de geldige referentiemethoden voor ontleding van vleesextract, vleesbouillons en soepen, gewijzigd door het koninklijk besluit van 25 juni 1976;

#### MINISTÈRE DE LA SANTE PUBLIQUE ET DE LA FAMILLE

**29 OCTOBRE 1979.** — Arrêté royal complétant l'arrêté royal du 27 juillet 1974 fixant les méthodes d'analyse de référence valables en matière d'extrait de viande, de bouillons de viande et de potages

BAUDOUIN, Roi des Belges,

A tous, présents et à venir, Salut.

Vu la loi du 24 janvier 1977 relative à la protection de la santé des consommateurs en ce qui concerne les denrées alimentaires et les autres produits, notamment l'article 12;

Vu l'arrêté royal du 27 juillet 1974 fixant les méthodes d'analyse de référence valables en matière d'extrait de viande, de bouillons de viande et de potages, modifié par l'arrêté royal du 25 juin 1976;

Gelet op de beschikking M (79) 8 van 4 mei 1979 van het Comité van Ministers van de Benelux Economische Unie tot aanvulling van de beschikking M (72) 14 van 29 mei 1972, gewijzigd door de beschikking M (76) 5 van 26 januari 1976, betreffende de toepassing van het Benelux-referentiemethoden van onderzoek inzake soepen;

Gelet op de wetten op de Raad van State, gecoördineerd op 12 januari 1973, inzonderheid op artikel 3, eerste lid;

Gelet op de dringende noodzaak;

Op de voordracht van Onze Minister van Volksgezondheid en Leefmilieu,

Hebben Wij besloten en besluiten Wij :

**Artikel 1.** De bijlage, letter B, van het koninklijk besluit van 27 juli 1974 houdende vaststelling van de geldige referentiemethoden voor ontleding van vleesextract, vleesbouillons en soepen wordt aangevuld met de bepalingen vastgesteld in bijlage van dit besluit.

**Art. 2.** Onze Minister van Volksgezondheid en Leefmilieu is belast met de uitvoering van dit besluit.

Gegeven te Brussel, 29 oktober 1979.

BOUDEWIJN

Van Koningswege :  
De Minister van Volksgezondheid en Leefmilieu,

L. DHOORE

Vu la décision M (79) 8 du 4 mai 1979 du Comité de Ministres de l'Union économique Benelux complétant la décision M (72) 14 du 29 mai 1972, modifiée par la décision M (76) 5 du 26 janvier 1976, concernant l'application des méthodes d'analyse de référence Benelux en matière de potages;

Vu les lois sur le Conseil d'Etat, coordonnées le 12 janvier 1973, notamment l'article 3, alinéa 1er;

Vu l'urgence;

Sur la proposition de Notre Ministre de la Santé publique et de l'Environnement,

Nous avons arrêté et arrêtons :

**Article 1er.** L'annexe, littéra B, de l'arrêté royal du 27 juillet 1974 fixant les méthodes d'analyse de référence valables en matière d'extrait de viande, de bouillons de viande et de potages, est complétée par les dispositions fixées à l'annexe du présent arrêté.

**Art. 2.** Notre Ministre de la Santé publique et de l'Environnement est chargé de l'exécution du présent arrêté.

Donné à Bruxelles, le 29 octobre 1979.

BAUDOUIN

Par le Roi :  
Le Ministre de la Santé publique et de l'Environnement,

### Bijlage

#### 5. Glutaminezuur.

##### 5.1. Doel en toepassingsgebied.

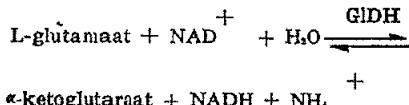
Dit voorschrift beschrijft de enzymatische bepaling van glutaminezuur in verbruiksklare soepen, in voorkeur geval bereid vanaf soep-concentraat en/of soepen in droge vorm, volgens de gebruiksaanwijzing in de etikettering.

##### 5.2. Definitie.

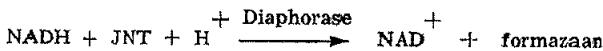
Het gehalte glutaminezuur gemeten op de navolgend beschreven wijze wordt uitgedrukt in gewichtsprocenten van de verbruiksklare resp. volgens de aanwijzingen vermeld in de etikettering bereide soep.

##### 5.3. Beginsel.

Bij de oxidatieve desaminering van L-glutaminezuur door nicotinamide-adenine-dinucleotide (NAD) in aanwezigheid van het enzym glutamaat-dehydrogenase (GIDH) ontstaat  $\alpha$ -ketoglutaraat evenals gereduceerd nicotinamide-adenine-dinucleotide (NADH).



Het gevormde NADH reageert met joodnitrotetrazolumchloride (JNT) in aanwezigheid van diaphorase tot een formazaan waarvan de extinctie bij 492 nm wordt gemeten.



##### 5.4. Reagentia.

Indien niet uitdrukkelijk anders vermeld, dienen alle reagentia analytisch zuiver te zijn. Water moet van de kwaliteit dubbel uit glaswerk gedestilleerd zijn of gelijkwaardig.

###### 5.4.1. Triethanolamine-hydrochloride.

###### 5.4.2. Dikaliumwaterstoffsfaat.

###### 5.4.3. Kaliumdiwaterstoffsfaat (volgens Sørensen).

###### 5.4.4. Kaliumhydroxide-oplossing 2 N.

###### 5.4.5. Kaliumhydroxide-oplossing 0,2 N.

### Annexe

#### 5. Acide glutamique.

##### 5.1. But et champ d'application.

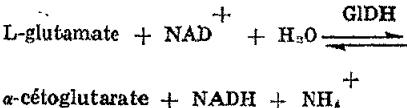
La présente prescription décrit la détermination enzymatique de l'acide glutamique dans les potages prêts à l'emploi, le cas échéant obtenus de concentrés et/ou de potages déshydratés, préparés selon le mode d'emploi figurant dans l'étiquetage.

##### 5.2. Définition.

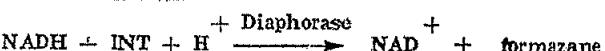
La teneur en acide glutamique mesurée de la façon décrite ci-après est exprimée en pour cent en poids du potage prêt à l'emploi ou préparé selon les indications figurant dans l'étiquetage.

##### 5.3. Principe.

La désamination oxydative du L-acide glutamique par la nicotinamide-adénine-dinucléotide (NAD) en présence de l'enzyme glutamate-déhydrogénase (GIDH) produit le l' $\alpha$ -cétoglutaraat de même que de la nicotinamide-adénine-dinucléotide (NADH) réduite.



Le NADH formé réagit au nitrotétrazolumchlorure d'iode (INT) en présence de diaphorase en un formazane dont l'extinction est mesurée à 492 nm.



##### 5.4. Réactifs.

Sauf mention contraire expresse, tous les réactifs doivent être analytiquement purs. L'eau doit être de qualité bidistillée en récipient de verre ou équivalent.

###### 5.4.1. Triéthanolamine-hydrochlorure.

###### 5.4.2. Hydrophosphate dipotassique.

###### 5.4.3. Dihydrophosphate potassique (selon Sørensen).

###### 5.4.4. Solution d'hydroxyde de potassium 2 N.

###### 5.4.5. Solution d'hydroxyde de potassium 0,2 N.

5.4.6. Triton X-100; Serva (\*) Heidelberg of gelijkwaardig. Neem voor het pipetteren van de viscouse oplossing een pipet met een brede uitstroomopening.

5.4.7. Nicotinamide-adenine-dinucleotide, NAD.

5.4.8. Joodnitrotetrazolumchloride, JNT.

5.4.9. Diaphorase, gelyofiliseerd; 30 mg lyophilisat bevatten 10 mg enzym.

5.4.10. Glutamaat-déhydrogenase (GIDH)-oplossing in glycerine; 10 mg/ml.

5.4.11. Glutaminezuur.

5.4.12. Bufferoplossing; pH = 8,6.

5.4.12.1. Los 4,65 gram triethanolamine-hydrochloride (5.4.1.) op in ongeveer 80 ml water, breng de pH van de oplossing met ongeveer 11 ml 2 N kaliumhydroxide (5.4.4.) op 8,6, voeg 1,6 ml Triton X-100 (5.4.6.) toe en meng. Vul met water in een maatkolf van 100 ml tot de maatstreep aan en meng nogmaals.

5.4.12.2. Los 2,15 gram dikaliumwaterstoffsulfaat ( $K_2HPO_4$ ) en 17,5 mg kaliumdiwaterstoffsulfaat ( $KH_2PO_4$ ) op in water, vul in een maatkolf van 100 ml met water tot de maatstreep aan en meng.

5.4.12.3. Bereid de bufferoplossing pH = 8,6 door het mengen van 60 ml oplossing 5.4.12.1. en 15 ml oplossing 5.4.12.2. Deze bufferoplossing is bij kamertemperatuur ten minste twee maanden houdbaar.

5.4.13. Nicotinamide-adenine-dinucleotide-oplossing (NAD-oplossing).

Los 60 mg NAD op in 12 ml water. De oplossing is bij + 4 °C ten minste vier weken houdbaar.

5.4.14. Joodnitrotetrazolumchlorideoplossing (JNT-oplossing).

Los 30 mg JNT op in 50 ml water. De oplossing is bij + 4 °C ten minste vier weken houdbaar.

#### Noot :

JNT en zijn oplossingen zijn lichtgevoelig en moeten derhalve zoveel mogelijk, ook gedurende de analyse, op een donkere plaats worden bewaard.

5.4.15. Diaphorase-oplossing; 1 mg enzym per ml oplossing.

Los 9 mg gelyofiliseerd diaphorase op in 3 ml water. De oplossing is bij + 4 °C ten minste vier weken houdbaar.

5.4.16. Glutaminezuurstandaard-oplossing.

Los 50 mg glutaminezuur (5.4.11.) op in ongeveer 25 ml water, breng de pH van de oplossing met behulp van 0,2 N kaliumhydroxide (5.4.5.) op 7,0, vul in een maatkolf van 50 ml met water tot de maatstreep aan en meng.

5.4.17. Verdunde glutaminezuurstandaard-oplossing.

Pipetter 5,0 ml van de standaardoplossing 5.4.16. in een maatkolf van 100 ml, vul met water tot de maatstreep aan en meng. De glutaminezuurconcentratie (c) van de oplossing bedraagt  $50 \cdot 10^{-3}$  mg/ml. Bereid deze oplossing vlak voor het gebruik vers.

5.5. Apparatuur.

Gebruikelijk laboratoriumglaswerk evenals :

5.5.1. pH-meter.

5.5.2. Filterfotometer of spectrometer afleesbaar op 0,001 extinctie eenheden (b.v. Zeiss PL-4 of gelijkwaardig) instelbaar op een golflengte van 492 nm. Gebruik indien beschikbaar een gethermostatiseerde kuvethouder.

5.5.3. Gethermostatiseerd waterbad ingesteld op 25 °C en voorzien van rondpompmotor.

5.5.4. Enzympipetten, waarvan de graduering niet tot in de uitloop is voortgezet.

5.5.5. Kuvetten met een optische weg-lengte van 1 cm.

5.5.6. Kunststof spatel aan het uiteinde rechthoekig omgebogen teneinde de inhoud van de kuvetten te mengen.

(\*) Het vermelden van handels- en/of merknamen vormt geen enkele aanbeveling en is uitsluitend bedoeld als indicatie.

5.4.6. Triton X-100; Serva (\*) Heidelberg ou équivalent. Pour pipeter cette solution visqueuse, utiliser une pipette à large embout.

5.4.7. Nicotinamide-adenine-dinucléotide, NAD.

5.4.8. Nitrotétrazolumchlorure d'iode, INT.

5.4.9. Diaphorase, lyophilisée; 30 mg de lyophilisat renferme 10 mg d'enzyme.

5.4.10. Solution de glutamate-déhydrogénase (GIDH) dans de la glycérine; 10 mg/ml.

5.4.11. Acide glutamique.

5.4.12. Solution-tampon; pH = 8,6.

5.4.12.1. Dissoudre 4,65 grammes de triéthanolamine hydrochlorure (5.4.1.) dans environ 80 ml d'eau; avec environ 11 ml d'hydroxyde de potassium 2 N (5.4.4.) porter le pH de la solution à 8,6, ajouter 1,6 ml de Triton X-100 (5.4.6.) et mélanger. Dans un ballon jaugé de 100 ml compléter jusqu'au trait avec de l'eau et mélanger à nouveau.

5.4.12.2. Dissoudre 2,15 grammes d'hydrophosphate dipotassique ( $K_2HPO_4$ ) et 17,5 grammes de dihydrophosphate potassique ( $KH_2PO_4$ ) dans de l'eau et, dans un ballon jaugé de 100 ml, compléter jusqu'au trait avec de l'eau et mélanger.

5.4.12.3. Préparer la solution-tampon pH = 8,6 en mélangeant 60 ml de la solution 5.4.12.1. et 15 ml de la solution 5.4.12.2. Cette solution-tampon se conserve pendant au moins deux mois à la température ambiante.

5.4.13. Solution de nicotinamide-adenine-dinucléotide (solution NAD).

Dissoudre 60 mg de NAD dans 12 ml d'eau. La solution se conserve pendant quatre semaines au moins à + 4 °C.

5.4.14. Solution de nitrotétrazolumchlorure d'iode (solution INT).

Dissoudre 30 mg de INT dans 50 ml d'eau. La solution se conserve pendant quatre semaines au moins à + 4 °C.

#### Note :

L'INT et ses solutions sont sensibles à la lumière et doivent donc être conservés autant que possible dans l'obscurité, même pendant l'analyse.

5.4.15. Solution de diaphorase; 1 mg d'enzyme par ml de solution.

Dissoudre 9 mg de diaphorase lyophilisée dans 3 ml d'eau. La solution se conserve pendant quatre semaines au moins à + 4 °C.

5.4.16. Solution de référence d'acide glutamique.

Dissoudre 50 mg d'acide glutamique (5.4.11.) dans environ 25 ml d'eau, porter le pH de la solution à 7,0 à l'aide d'hydroxyde de potassium 0,2 N (5.4.5.) et, dans un ballon jaugé de 50 ml, compléter jusqu'au trait avec de l'eau et mélanger.

5.4.17. Solution de référence diluée d'acide glutamique.

Pipeter 5,0 ml de la solution de référence 5.4.16. dans un ballon jaugé de 100 ml, compléter jusqu'au trait avec de l'eau et mélanger. La concentration (c) d'acide glutamique de la solution est de  $50 \cdot 10^{-3}$  mg/ml. Préparer cette solution extemporanément.

5.5. Appareillage.

Verrerie de laboratoire usuelle ainsi que :

5.5.1. pH-mètre.

5.5.2. Photomètre à filtre ou spectrophotomètre lisible à 0,001 unités d'extinction (par exemple Zeiss PL-4 ou équivalent) réglable à la longueur d'onde de 492 nm. S'il est disponible, utiliser un porte-cuvette thermostaté.

5.5.3. Bain-marie à thermostat réglé à 25 °C et pourvu d'un moteur à pompe rotative.

5.5.4. Pipettes enzymatiques dont les graduations ne vont pas jusqu'à la pointe.

5.5.5. Cuvettes à chemin optique de 1 cm.

5.5.6. Spatules en matière synthétique à extrémité courbée à angle droit pour mélanger le contenu des cuvettes.

(\*) Les marques mentionnées ne constituent pas une recommandation mais une simple indication.

### 5.6. Monstervoorbereiding.

5.6.1. Gebruik voor de voorbereiding van het monster de verbruiksklare soepen als zodanig.

Ga bij soep-concentraten evenals soepen in droge vorm uit van de soep bereid volgens de gebruiksaanwijzingen in de etikettering.

5.6.2. Weeg 1 gram (M gram) volgens 5.6.1. verkregen goed gehomogeniseerde produkt tot op 1 mg nauwkeurig af in een beker-glas en suspenderen in ongeveer 70 ml water.

Verwarm de suspensie gedurende tien minuten op een waterbad van 70 °C, koel af tot kamertemperatuur, vul in een maatkolf van 200 ml (V<sub>1</sub> ml) tot de maatstreep aan met water en meng.

Filtreer een deel van de monsteroplossing door een vouwfilter en gebruik het filtraat voor de onder 5.7.1. beschreven meting.

### 5.7. Werkwijze.\*

#### 5.7.1. Monsteroplossingen.

5.7.1.1. Breng met behulp van een gethermostatiseerd waterbad (5.5.3.) ingesteld op 25 °C temperatuur van de bufferoplossing (5.4.12.3.), verdunne en gefiltreerde monsteroplossing (5.6.2.), evenals een geschikte hoeveelheid water op 25 °C.

5.7.1.2. Plaats een tweetal kuvetten (5.5.5.) evenals een kuvel gevuld met water (5.7.1.1.) in de op 25 °C gethermostatiseerde kuvethouder van de filterfotometer of spectrofotometer (5.5.2.).

Plaats in elk van de lege kuvetten een kunststofspatel (5.5.6.).

5.7.1.3. Pipetteer (5.5.4.) op de omgebogen kant van de kunststofspatel achtereenvolgens 1,00 ml bufferoplossing van 25 °C; 0,20 ml NAD-oplossing (5.4.13.); 0,20 ml JNT-oplossing (5.4.14.); 0,05 ml diaphorase-oplossing (5.4.15.); 0,20 ml (V<sub>1</sub> ml) gefiltreerde monsteroplossing (5.6.2.), evenals 1,30 ml water van 25 °C.

5.7.1.4. Herhaal deze bewerking in de tweede kuvel. Neem 1,50 ml water van 25 °C in plaats van 0,20 gefiltreerde monsteroplossing en 1,30 ml water.

5.7.1.5. Meng de inhoud van de kuvetten met een kunststofspatel en meet na twee minuten de extinctie E<sub>1M</sub> van de oplossing (5.7.1.3.) en de extinctie E<sub>1B</sub> van de blanco-oplossing (5.7.1.4.).

bij 492 nm tegen water als referentie.

5.7.1.6. Pipetteer op de omgebogen kant van de kunststofspatel in de kuvel met de monsteroplossing en de blanco-oplossing telkens 0,05 ml GIDH-oplossing (5.4.10.) en meng.

5.7.1.7. Wacht tot de reactie tot stilstand is gekomen — dit is na ongeveer tien minuten het geval en herkenbaar aan het niet meer veranderen van de extinctie — en noteer de extincties E<sub>2M</sub> en E<sub>2B</sub> bij 492 nm tegen water als referentie.

2B

#### 5.7.2. Meting van de molaire extinctiecoëfficiënt.

5.7.2.1. Voor de berekening van de molaire extinctiecoëfficiënt van glutaminezuur moet de extinctie van een glutaminezuurstandaard-oplossing op de wijze als beschreven onder 5.7.1. worden gemeten.

Gelijkzeitig met de glutaminezuurstandaard moet een blanco-oplossing eveneens op de wijze als aangegeven onder 5.7.1. worden gemeten. Neem 0,20 ml (V<sub>1</sub> ml) verdunne standaard-oplossing (5.4.17.) in plaats van 0,20 ml gefiltreerde monsteroplossing (5.7.1.3.) en voer de bepaling in duplo uit.

### 5.8. Berekeningen.

5.8.1. Bereken het gehalte aan glutaminezuur in gewichtsprocenten van de verbruiksklare resp. volgens voorschrift bereide soep (5.6.1. en 5.6.2.) met behulp van de formule :

$$\% \text{ glutaminezuur} = \frac{\Delta E \times \frac{V \times M_w}{\epsilon \times d \times V_1 \times 1000}}{1000} \times \frac{V_1}{1000} \times \frac{100}{M}$$

$$\text{of } \% \text{ glutaminezuur} = \frac{\Delta E \times \frac{3,00 \times 147,13}{\epsilon \times 1 \times 0,20 \times 1000}}{1000} \times \frac{200}{1000} \times \frac{100}{M}$$

### 5.6. Préparation de l'échantillon.

5.6.1. Pour la préparation de l'échantillon, utiliser tels quels les potages prêts à l'emploi.

Pour les potages concentrés et déshydratés, utiliser le potage obtenu selon le mode d'emploi figurant dans l'étiquetage.

5.6.2. Dans un bêcher, peser à 1 mg près 1 gramme (M gramme) du produit bien homogénéisé obtenu selon 5.6.1., suspendre dans environ 70 ml d'eau.

Chauder la suspension pendant dix minutes au bain-marie de 70 °C, refroidir à la température ambiante, compléter dans un ballon jaugé de 200 ml (V<sub>1</sub> ml) jusqu'au trait avec de l'eau et mélanger.

Filtrer une partie de la solution d'échantillon sur un filtre plissé et utiliser le filtrat pour la mesure décrite sous 5.7.1.

### 5.7. Mode opératoire.

#### 5.7.1. Solutions d'échantillon.

5.7.1.1. A l'aide d'un bain-marie (5.5.3.) à thermostat réglé à 25 °C, porter à 25 °C la température de la solution-tampon (5.4.12.3.), la solution d'échantillon diluée et filtrée (5.6.2.), ainsi qu'une quantité appropriée d'eau.

5.7.1.2. Placer deux cuvettes (5.5.5.) ainsi qu'une cuvette remplie d'eau (5.7.1.1.) dans le porte-cuvette réglé à 25 °C du photomètre à filtre ou du spectrophotomètre (5.5.2.).

Dans chacune des cuvettes vides, déposer une spatule en matière synthétique (5.5.6.).

5.7.1.3. Sur la partie incurvée de la spatule en matière synthétique, pipeter (5.5.4.) successivement 1,00 ml de solution-tampon à 25 °C; 0,20 ml de solution NAD (5.4.13.); 0,20 ml de solution INT (5.4.14.); 0,05 ml de solution de diaphorase (5.4.15.); 0,20 ml (V<sub>1</sub> ml) de solution d'échantillon filtrée (5.6.2.), ainsi que 1,30 ml d'eau à 25 °C.

5.7.1.4. Répéter cette opération dans la deuxième cuvette. Prendre 1,50 ml d'eau à 25 °C au lieu de 0,20 ml de solution d'échantillon filtrée et 1,30 ml d'eau.

5.7.1.5. A l'aide d'une spatule en matière synthétique, mélanger le contenu des cuvettes et, après deux minutes, mesurer l'extinction E<sub>1M</sub> de la solution (5.7.1.3.) et l'extinction E<sub>1B</sub> de la solution à blanc (5.7.1.4.) à 492 nm en présence d'eau comme référence.

5.7.1.6. Dans la cuvette contenant la solution d'échantillon et la cuvette contenant la solution à blanc, pipeter sur la partie incurvée de la spatule en matière synthétique chaque fois 0,05 ml de solution de GIDH (5.4.10.) et mélanger.

5.7.1.7. Attendre que la réaction ait cessé — ce qui se produit après dix minutes environ lorsque l'extinction ne change plus — et noter les extinctions E<sub>2M</sub> et E<sub>2B</sub> mesurées à 492 nm en présence d'eau comme référence.

#### 5.7.2. Mesure du coefficient d'extinction molaire.

5.7.2.1. Pour calculer le coefficient d'extinction molaire de l'acide glutamique, il faut mesurer l'extinction d'une solution de référence d'acide glutamique, de la façon décrite sous 5.7.1.

Il faut également mesurer, de la façon décrite sous 5.7.1., une solution à blanc conjointement à la référence d'acide glutamique. Prendre 0,20 ml (V<sub>1</sub> ml) de solution de référence diluée (5.4.17.) au lieu de 0,20 ml de solution d'échantillon filtrée (5.7.1.3.) et exécuter le titrage en double.

### 5.8. Calculs.

5.8.1. Calculer la teneur en acide glutamique, en pour-cent en poids du potage prêt à l'emploi ou préparé selon le mode d'emploi (5.6.1. et 5.6.2.) à l'aide de la formule :

$$\% \text{ acide glutamique} = \frac{\Delta E \times \frac{V \times M_w}{\epsilon \times d \times V_1 \times 1000}}{1000} \times \frac{V_1}{1000} \times \frac{100}{M}$$

$$\text{ou } \% \text{ acide glutamique} = \frac{\Delta E \times \frac{3,00 \times 147,13}{\epsilon \times 1 \times 0,20 \times 1000}}{1000} \times \frac{200}{1000} \times \frac{100}{M}$$

of % glutaminezuur =

$$44,139 \times \frac{\Delta E}{\epsilon \times M}$$

waarin :

$\Delta E = \frac{(E_2 - E_1)}{2M} - \frac{(E_B - E_1)}{2B}$  gemeten onder 5.7.1. voor de blanco en de monsteroplossing.

$V$  = het totaal volume van de oplossingen (5.7.1.) gepipetteerd in de kuvetten;  $V = 3,00$  ml.

$M_w$  = het molekuligewicht van de glutaminezuur;  $M_w = 147,13$ .

$V_1$  = het volume van de monsteroplossing (5.6.2.);  $V_1 = 200$  ml.

$\epsilon$  = de gemiddelde molaire extinctiecoëfficiënt zoals berekend onder 5.8.2.

$d$  = de optische weglengte van de gebruikte kuvetten in cm;  $d = 1,000$  cm.

$v_1$  = het volume van de in onderzoek genomen hoeveelheid monsteroplossing (5.7.1.3.);  $v_1 = 0,20$  ml.

$M$  = de inweeg van de waar in grammen (5.6.2.).

5.8.2. Bereken de molaire extinctiecoëfficiënt in  $\text{cm}^2/\mu\text{mol}$  met behulp van de formule :

$$\epsilon = \Delta E \times \frac{V \times M_w}{c \times d \times v_1 \times 1000} \quad \text{cm}^2/\mu\text{mol}$$

of :

$$\epsilon = \Delta E \times \frac{3,00 \times 147,13}{c \times 1 \times 0,20 \times 1000} \quad \text{cm}^2/\mu\text{mol}$$

of :

$$\epsilon = 2,207 \times \frac{\Delta E}{c} \quad \text{cm}^2/\mu\text{mol}$$

waarin :

$\Delta E = \frac{(E_2 - E_1)}{2M} - \frac{(E_B - E_1)}{2B}$  gemeten onder 5.7.2. voor de blanco en de standaardoplossing.

$V$  = het totaal volume van de oplossingen (5.7.2.) gepipetteerd in de kuvetten :

$V = 3,00$  ml.

$M_w$  = het molekuligewicht van glutaminezuur;  $M_w = 147,13$ .

$c$  = de concentratie in mg/ml van de verdunde glutaminezuur standaardoplossing (5.4.17.).

$d$  = de optische weglengte van de kuvetten in cm;  $d = 1,000$  cm.

$v_1$  = het volume van de in onderzoek genomen hoeveelheid standaardoplossing (5.7.2.1.);  $v_1 = 0,20$  ml.

Gebruik het gemiddelde van de berekende molaire extinctioneoefficiënten voor de onder 5.8.1. beschreven berekening van het glutaminezuurgehalte van de monsters.

Ons bekend om te worden gevoegd bij Ons besluit van 29 oktober 1979.

BOUDEWIJN

Van Koningswege :  
De Minister van Volksgezondheid en Leefmilieu,

L. DHOORE

#### Orde der Geneesheren. — Benoeming

Bij koninklijk besluit van 23 januari 1980 wordt Mevr. A. Couturier, echtgenote Wrzesinski, ere-ondervoorzitter bij de rechtbank van eerste aanleg te Brussel, benoemd tot plaatsvervanger bätzitter van de provinciale raad van de Orde der Geneesheren van Brabant, ter vervanging van de heer E. Delvaux, ontslagnemend, wiens mandaat zij zal beëindigen.

Koninklijk besluit van 25 januari 1980 tot wijziging van het koninklijk besluit van 31 mei 1976 tot reglementering van sommige psychotropische stoffen. — Erratum

Belgisch Staatsblad van 6 februari 1980, nr. 26, bladzijde 1593.  
In artikel 1, punt 19, dient gelezen « Clobenzorex », in plaats van « Chlobenzorex ».

ou % acide glutamique =

$$44,139 \times \frac{\Delta E}{\epsilon \times M}$$

où :

$\Delta E = \frac{(E_2 - E_1)}{2M} - \frac{(E_B - E_1)}{2B}$ , mesuré sous 5.7.1. pour la solution à blanc et celle de l'échantillon.

$V$  = le volume total des solutions (5.7.1.) pipetées dans la cuvette;  $V = 3,00$  ml.

$M_w$  = le poids moléculaire de l'acide glutamique;  $M_w = 147,13$ .

$V_1$  = le volume de la solution d'échantillon (5.6.2.);  $V_1 = 200$  ml.

$\epsilon$  = le coefficient d'extinction molaire moyen calculé selon 5.8.2.

$d$  = le chemin optique, en cm, des cuvettes utilisées;  $d = 1,000$  cm.

$v_1$  = le volume de la solution d'échantillon mise en œuvre (5.7.1.3.);  $v_1 = 0,20$  ml.

$M$  = le poids de la denrée en grammes (5.6.2.).

5.8.2. Calculer le coefficient d'extinction molaire en  $\text{cm}^2/\mu\text{mol}$  à l'aide de la formule :

$$\epsilon = \Delta E \times \frac{V \times M_w}{c \times d \times v_1 \times 1000} \quad \text{cm}^2/\mu\text{mol}$$

ou :

$$\epsilon = \Delta E \times \frac{3,00 \times 147,13}{c \times 1 \times 0,20 \times 1000} \quad \text{cm}^2/\mu\text{mol}$$

ou :

$$\epsilon = 2,207 \times \frac{\Delta E}{c} \quad \text{cm}^2/\mu\text{mol}$$

où :

$\Delta E = \frac{(E_2 - E_1)}{2M} - \frac{(E_B - E_1)}{2B}$  mesuré sous 5.7.2. pour la solution à blanc et celle de référence.

$V$  = le volume total des solutions (5.7.2.) pipetées dans les cuvettes ;  $V = 3,00$  ml.

$M_w$  = le poids moléculaire de l'acide glutamique;  $M_w = 147,13$ .

$c$  = la concentration en mg/ml de la solution de référence diluée d'acide glutamique (5.4.17.).

$d$  = le chemin optique des cuvettes en cm;  $d = 1,000$  cm.

$v_1$  = le volume de la solution de référence mise en œuvre (5.7.2.1.);  $v_1 = 0,20$  ml.

Pour le calcul, décrit sous 5.8.1., de la teneur en acide glutamique des échantillons, utiliser la moyenne des coefficients d'extinction molaire calculés.

Vu pour être annexé à Notre arrêté du 29 octobre 1979.

BAUDOUIN

Par le Roi :  
Le Ministre de la Santé publique et de l'Environnement,

#### Ordre des Médecins. — Nomination

Par arrêté royal du 23 janvier 1980, Mme A. Couturier, épouse Wrzesinski, vice-président honoraire au Tribunal de première instance de Bruxelles, est nommée en qualité d'assesseur suppléant au Conseil provincial de l'Ordre des Médecins de Brabant, en remplacement de M. E. Delvaux, démissionnaire, dont elle achevera le mandat.

Arrêté royal du 25 janvier 1980 modifiant l'arrêté royal du 31 mai 1976 réglementant certains psychotropes. — Erratum

Moniteur belge du 6 février 1980, n° 26, page 1593.  
A l'article 1er, point 19, il y a lieu de lire « Clobenzorex », au lieu de « Chlobenzorex ».