

Vu l'arrêté royal du 30 octobre 1986 organisant le mode d'expression de la volonté du donneur ou des personnes visées à l'article 10, § 2, de la loi du 13 juin 1986 sur le prélèvement et la transplantation d'organes, notamment les articles 1er et 4;

Vu les lois sur le Conseil d'Etat, coordonnées le 12 janvier 1973 notamment l'article 3, § 1er, modifié par la loi du 9 août 1980;

Vu l'urgence;

Considérant que la loi du 13 juin 1986 sur le prélèvement et la transplantation d'organes et l'arrêté royal du 30 octobre 1986 qui est modifié par le présent arrêté, sont déjà entrés en vigueur le 24 février 1987; que les dispositions du présent arrêté, basé sur la loi du 17 février 1987 modifiant l'article 10, § 1er, alinéa 1er, de la loi du 13 juin 1986, doivent être exécutées sans délai et afin de mettre fin à la discrimination existante entre les Belges et les étrangers, et pour des raisons administratives et d'organisation;

Sur la proposition de Notre Ministre de la Justice, de Notre Ministre de l'Intérieur et de la Fonction publique, de Notre Ministre des Affaires sociales, et de Notre Secrétaire d'Etat à la Santé publique,

Nous avons arrêté et arrêtons :

Article 1er. Dans l'article 1er, alinéa 1er, de l'arrêté royal du 30 octobre 1986 organisant le mode d'expression de la volonté du donneur ou des personnes visées à l'article 10, § 2, de la loi du 13 juin 1986 sur le prélèvement et la transplantation d'organes, les mots « de nationalité belge, domiciliée en Belgique » sont remplacés par les mots « inscrite au registre de la population ou depuis plus de six mois au registre des étrangers ».

Art. 2. Dans l'article 4, alinéa 1er, de l'arrêté royal du 30 octobre 1986 organisant le mode d'expression de la volonté du donneur ou des personnes visées à l'article 10, § 2, de la loi du 13 juin 1986 sur le prélèvement et la transplantation d'organes, les mots « de nationalité belge, domiciliée en Belgique » sont remplacés par les mots « inscrite au registre de la population ou depuis plus de six mois au registre des étrangers ».

Art. 3. Notre Ministre de la Justice, Notre Ministre de l'Intérieur et de la Fonction publique, Notre Ministre des Affaires sociales et Notre Secrétaire d'Etat à la Santé publique sont chargés, chacun en ce qui le concerne, de l'exécution du présent arrêté.

Donné à Bruxelles, le 26 mars 1987.

BAUDOIN

Par le Roi :

Le Ministre de la Justice,

J. GOL

Le Ministre de l'Intérieur et de la Fonction publique,

J. MICHEL

Le Ministre des Affaires sociales,

J.-L. DEHAENE

Le Secrétaire d'Etat à la Santé publique
et à la Politique des Handicapés,

Mme W. DEMEESTER-DE MEYER

**MINISTRE DE LA SANTE PUBLIQUE
ET DE L'ENVIRONNEMENT**

F. 87 — 679

16 FEVRIER 1987. — Arrêté royal fixant les méthodes d'analyse de référence valables en matière de caséines et caséinates alimentaires

BAUDOIN, 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;

Gelet op het koninklijk besluit van 30 oktober 1986 tot regeling van de wijze waarop de donor of de personen bedoeld in artikel 10, § 2, van de wet van 13 juni 1986 betreffende het wegnemen en transplanteren van organen hun wil te kennen geven, inzonderheid op de artikelen 1 en 4;

Gelet op de wetten op de Raad van State, gecoördineerd op 12 januari 1973, inzonderheid op artikel 3, § 1, gewijzigd bij de wet van 9 augustus 1980;

Gelet op de dringende noodzakelijkheid;

Overwegende dat de wet van 13 juni 1986 betreffende het wegnemen en transplanteren van organen en het koninklijk besluit van 30 oktober 1986 dat bij onderhavig besluit wordt gewijzigd, reeds op 24 februari 1986 in werking zijn getreden; dat de bepalingen van dit besluit, gebaseerd op de wet van 17 februari 1987 tot wijziging van artikel 10, § 1, eerste lid, van de wet van 13 juni 1986, onverwijld dienen te worden uitgevoerd en om een einde te stellen aan de bestaande discriminatie tussen de Belgen en de vreemdelingen, en om administratieve en organisatorische redenen;

Op de voordracht van Onze Minister van Justitie, van Onze Minister van Binnenlandse Zaken en Openbaar Ambt, van Onze Minister van Sociale Zaken en van Onze Staatssecretaris voor Volksgezondheid,

Hebben Wij besloten en besluiten Wij :

Artikel 1. In artikel 1, eerste lid, van het koninklijk besluit van 30 oktober 1986 tot regeling van de wijze waarop de donor of de personen bedoeld in artikel 10, § 2, van de wet van 13 juni 1986 betreffende het wegnemen en transplanteren van organen, hun wil te kennen geven, worden de woorden « van Belgische nationaliteit die zijn woonplaats in België heeft » vervangen door de woorden « die in het bevolkingsregister of sedert meer dan zes maanden in het vreemdelingenregister is ingeschreven ».

Art. 2. In artikel 4, eerste lid, van het koninklijk besluit van 30 oktober 1986 tot regeling van de wijze waarop de donor of de personen bedoeld in artikel 10, § 2, van de wet van 13 juni 1986 betreffende het wegnemen en transplanteren van organen, hun wil te kennen geven, worden de woorden « van Belgische nationaliteit die zijn woonplaats in België heeft » vervangen door de woorden « die in het bevolkingsregister of sedert meer dan zes maanden in het vreemdelingenregister is ingeschreven ».

Art. 3. Onze Minister van Justitie, Onze Minister van Binnenlandse Zaken en Openbaar Ambt, Onze Minister van Sociale Zaken en Onze Staatssecretaris voor Volksgezondheid zijn, ieder wat hem betreft, belast met de uitvoering van dit besluit.

Gegeven te Brussel, 26 maart 1987.

BOUDEWIJN

Van Koningswege :

De Minister van Justitie,

J. GOL

De Minister van Binnenlandse Zaken en Openbaar Ambt,

J. MICHEL

De Minister van Sociale Zaken,

J.-L. DEHAENE

De Staatssecretaris voor Volksgezondheid
en Gehandicaptenbeleid,

Mevr. W. DEMEESTER-DE MEYER

**MINISTERIE VAN VOLKSGEZONDHEID
EN LEEFMILIEU**

N. 87 — 679

16 FEBRUARI 1987. — Koninklijk besluit tot vaststelling van de geldige referentiemethoden voor de ontleding van voedingscaséïne en -caséinaten

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 producten, inzonderheid op artikel 12;

Vu la directive du 25 octobre 1985 de la Commission des Communautés européennes relative aux méthodes d'analyse des caséines et caséinates alimentaires;

Vu les lois sur le Conseil d'Etat, coordonnées le 12 janvier 1973, notamment l'article 3, § 1^{er}, modifié par la loi du 9 août 1980;

Vu l'urgence;

Considérant que le délai imparti aux Etats membres par la directive précitée impose l'intervention immédiate d'un dispositif normatif;

Sur la proposition de Notre Ministre des Affaires sociales et de Notre Secrétaire d'Etat à la Santé publique,

Nous avons arrêté et arrêtons :

Article 1^{er}. Les seules méthodes de référence valables pour l'analyse des caséines et caséinates alimentaires sont fixées à l'annexe du présent arrêté.

Art. 2. Notre Ministre des Affaires sociales et Notre Secrétaire d'Etat à la Santé publique sont chargés, chacun en ce qui le concerne, de l'exécution du présent arrêté.

Donné à Bruxelles, le 16 février 1987.

BAUDOUIN

Par le Roi :

Le Ministre des Affaires sociales,

J.-L. DEHAENE

Le Secrétaire d'Etat à la Santé publique,

Mme W. DEMEESTER-DE MEYER

Gelet op de richtlijn van 25 oktober 1985 van de Commissie van de Europese Gemeenschappen betreffende analysemethoden inzake voor menselijke voeding bestemde caseïne en caseïnaten;

Gelet op de wetten op de Raad van State, gecoördineerd op 12 januari 1973, inzonderheid op artikel 3, § 1, gewijzigd bij de wet van 9 augustus 1980;

Gelet op de dringende noodzakelijkheid;

Overwegende dat de termijn, die door de voornoemde richtlijn aan de Lid-Staten werd toegekend, de onmiddellijke tussenkomst van een normatieve bepaling vergt;

Op de voordracht van Onze Minister van Sociale Zaken en van Onze Staatssecretaris voor Volksgezondheid,

Hebben Wij besloten en besluiten Wij :

Artikel 1. De enige geldige referentiemethoden voor de ontleding van voedingscaseïne en -caseïnaten zijn vastgesteld in de bijlage van dit besluit.

Art. 2. Onze Minister van Sociale Zaken en Onze Staatssecretaris voor Volksgezondheid zijn, ieder wat hem betreft, belast met de uitvoering van dit besluit.

Gegeven te Brussel, 16 februari 1987.

BOUDEWIJN

Van Koningswege :

De Minister van Sociale Zaken,

J.-L. DEHAENE

De Staatssecretaris voor Volksgezondheid,

Mevr. W. DEMEESTER-DE MEYER

Annexe

Méthodes d'analyse de référence relatives aux caséines et caséinates alimentaires

I. DISPOSITIONS GENERALES

1. *Préparation de l'échantillon à analyser*
 - 1.1. *Remarque générale*
La masse de l'échantillon présenté au laboratoire aux fins d'analyse doit être d'au moins 200 g.
 - 1.2. *Préparation de l'échantillon aux fins d'analyse en laboratoire*
 - 1.2.1. *Mélanger soigneusement l'échantillon de laboratoire, écraser les grumeaux éventuels, secouer et retourner fréquemment le récipient (si nécessaire, après avoir transféré la totalité de l'échantillon de laboratoire dans un récipient étanche à l'air de capacité double du volume de l'échantillon pour permettre d'effectuer cette opération).*
 - 1.2.2. *Transférer dans le tamis (3.3) une partie aussi représentative que possible de l'échantillon de laboratoire soigneusement mélangé, environ 50 g.*
 - 1.2.3. *Si la totalité des 50 g traverse entièrement ou presque le tamis (au moins 95 % en poids), utiliser pour la détermination l'échantillon préparé conformément au point 1.2.1.*
 - 1.2.4. *Autrement, broyer les 50 g en utilisant le dispositif de broyage (3.4) jusqu'à ce qu'il satisfasse au critère de tamisage (1.2.3). Transférer immédiatement tout l'échantillon tamisé dans un récipient étanche à l'air d'une capacité double du volume de l'échantillon et mélanger soigneusement par agitation et retournements successifs. Au cours de ces opérations, prendre des précautions pour éviter toute modification de la teneur en eau du produit.*
 - 1.2.5. *Après préparation de l'échantillon pour essais, procéder aussi rapidement que possible à la détermination.*
 - 1.3. *Réipients*
L'échantillon doit toujours être conservé dans un récipient étanche à l'air et à l'humidité.
2. *Réactifs*
 - 2.1. *Eau*
 - 2.1.1. *L'eau utilisée pour la préparation de solution, de dilution ou de lavage doit être de l'eau distillée ou de l'eau déminéralisée de pureté au moins équivalente.*
 - 2.1.2. *Chaque fois qu'il est fait référence à une « solution » ou une « dilution » sans autre indication, il s'agit de « solution aqueuse » ou de « dilution dans l'eau ».*
 - 2.2. *Substances chimiques*
Toutes les substances chimiques utilisées doivent être de qualité analytique reconnue sauf indications contraires.
3. *Matériel*
 - 3.1. *Liste de matériel*
Les listes de matériel ne comprennent que des articles ayant un emploi déterminé et les articles répondant à des caractéristiques particulières.
 - 3.2. *Balance analytique*
Par balance analytique, il y a lieu d'entendre une balance pouvant peser au moins 0,1 mg.

- 3.3. **Tamis**
Le tamis doit avoir un diamètre de 200 mm et être pourvu d'un couvercle et d'un récipient collecteur. La toile métallique qui le constitue doit avoir une ouverture nominale de 500 µm. Les tolérances d'ouverture et le diamètre du fil métallique correspondent aux valeurs indiquées dans la norme ISO/3310/1. (Tamis pour essais — normes techniques et essai — première partie : toile métallique. ISO/3310/1 — 1975 ou l'édition plus récente de cette norme).
- 3.4. **Dispositif de broyage**
Permettant, si nécessaire, de broyer l'échantillon pour laboratoire sans provoquer de chaleur excessive ou de modifier l'humidité (1.2.4). Ne pas utiliser de broyeur à marteaux.
4. **Expression des résultats**
- 4.1. **Résultats**
Prendre comme résultat la moyenne arithmétique de deux déterminations si les conditions de répétabilité applicables à cette méthode sont remplies.
- 4.2. **Calcul du pourcentage**
Sauf indications contraires, les résultats doivent être calculés en pourcentage en masse de l'échantillon.
5. **Procès-verbal d'essais**
Le procès-verbal d'essai précise la méthode d'analyse utilisée ainsi que les résultats obtenus. De plus, il comprend tous les détails du mode opératoire, non prévus dans la méthode d'analyse ou facultatifs, ainsi que toutes les circonstances ayant pu influencer les résultats obtenus. Le procès-verbal d'essai donne toutes les informations nécessaires à l'identification complète de l'échantillon.

II. DETERMINATION DE LA TENEUR EN HUMIDITE

1. **Objet et champ d'application**
La présente méthode permet de déterminer la teneur en humidité des :
— caséines acides;
— caséines présures;
— caséinates.
2. **Définition**
Par teneur en humidité des caséines et caséinates on entend la perte de masse obtenue par l'application de la méthode décrite ci-après.
3. **Principe**
Dessiccation à la pression atmosphérique dans une étuve à 102 ± 1 °C d'une prise d'essai jusqu'à masse constante. La perte de masse est calculée comme pourcentage en masse de l'échantillon.
4. **Appareillage**
- 4.1. **Balance analytique**
- 4.2. **Capsules**
A fond plat et en matériau inaltérable dans les conditions de l'essai (par exemple en nickel, en aluminium, en acier inoxydable ou en verre). Les capsules doivent être munies de couvercles s'adaptant parfaitement mais pouvant être rapidement enlevés. Dimensions appropriées : diamètre : 60 à 80 mm et profondeur : environ 25 mm.
- 4.3. **Etuve à pression atmosphérique**
Bien ventilée, munie d'un dispositif de thermo-régulation (température : 102 ± 1 °C). La température doit être uniforme dans l'ensemble de l'étuve.
- 4.4. **Dessiccateur**
Contenant du gel de silice fraîchement activé et muni d'un indicateur hydrométrique ou dispositif de dessiccation équivalent.
- 4.5. **Instrument permettant de tenir les capsules**
Par exemple, pinces de laboratoire.
5. **Mode opératoire**
- 5.1. **Préparation de l'échantillon pour essai**
Se reporter aux « Dispositions générales » point 1.2.
- 5.2. **Préparation de la capsule**
- 5.2.1. **Placer la capsule découverte et son couvercle (4.2) dans l'étuve (4.3), réglée à 102 ± 1 °C, pendant au moins une heure.**
- 5.2.2. **Mettre le couvercle sur la capsule, placer la capsule couverte dans le dessiccateur (4.4), laisser refroidir à la température ambiante et peser à 0,1 mg (m).**
- 5.3. **Prise d'essai**
Introduire 3 à 5 g de l'échantillon pour essais (5.1) dans la capsule, mettre le couvercle et peser à 0,1 mg près (m).
- 5.4. **Détermination**
- 5.4.1. **Découvrir la capsule et la placer avec son couvercle dans l'étuve (4.3) réglée à 102 ± 1 °C, laisser séjourner pendant 4 heures.**
- 5.4.2. **Mettre le couvercle sur la capsule, placer dans le dessiccateur, laisser refroidir à la température ambiante et peser à 0,1 mg près.**
- 5.4.3. **Découvrir la capsule et la placer avec son couvercle dans l'étuve pendant une heure. Répéter ensuite l'opération décrite au point 5.4.2.**
- 5.4.4. **Si la masse obtenue au point 5.4.3. est inférieure de plus de 1 mg à celle qui est obtenue au point 5.4.2., répéter l'opération décrite au point 5.4.3.**
Si un accroissement de masse apparaît, utiliser dans le calcul la masse la plus faible enregistrée. (6.1).
La durée totale du séchage ne dépasse généralement pas 6 heures.
Soit mg la masse finale enregistrée.

6. *Expression des résultats*

6.1. Méthode de calcul

La perte de masse de la prise d'essai, exprimée en pourcentage en masse, est donnée par la formule suivante :

$$\frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100$$

où

m_0 = la masse en grammes de la capsule et de son couvercle après l'opération 5.2;

m_1 = la masse en grammes de la capsule, de son couvercle et de la prise d'essai avant séchage (5.3);

m_2 = la masse en grammes de la capsule, de son couvercle et de la prise d'essai après séchage (5.4.3 ou 5.4.4).

Exprimer le résultat final à 0,01 % près.

6.2. Répétabilité

La différence entre les résultats de deux déterminations effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre sur le même échantillon, dans les mêmes conditions et par le même analyste, ne doit pas excéder 0,1 g d'humidité pour 100 g de produit.

Cette valeur a une probabilité de ne pas être dépassée dans 95 % des cas.

III. DETERMINATION DE LA TENEUR EN PROTEINES

1. *Objet et champ d'application*

La présente méthode permet de déterminer la teneur en protéines des :

- caséines acides;
- caséines présures;
- caséinates,

à l'exception des caséinates contenant de l'ammonium ou d'autres composés ammoniacaux ou contenant de l'azote non protéique.

2. *Définition*

Teneur en protéines : teneur en azote déterminée par la méthode décrite ci-après, puis multipliée par 6,38 et exprimée en pourcentage en masse.

3. *Principe*

Attaque d'une prise d'essai par un mélange de sulfate de potassium et d'acide sulfurique en présence de sulfate de cuivre (II) comme catalyseur, pour transformer l'azote organique en azote ammoniacal. Distillation et absorption de l'ammoniac dans une solution d'acide borique. Titrage à l'aide d'une solution titrée d'acide chlorhydrique. Obtention de la teneur en protéines, en multipliant par 6,38 la teneur en azote.

4. *Réactifs*

- 4.1. Acide sulfurique concentré ρ_{20} 1,84 g/ml.
- 4.2. Sulfate de potassium anhydre (K_2SO_4).
- 4.3. Sulfate de cuivre (II) pentahydrate ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$).
- 4.4. Saccharose ($C_{12}H_{22}O_{11}$).
- 4.5. Acide borique, solution à 40 g/l.
- 4.6. Hydroxyde de sodium, solution concentrée à 30 % (m/m) exempte de carbonate
- 4.7. Acide chlorhydrique : solution titrée à 0,1 mol/l.
- 4.8. Indicateur mixte: mélanger à volumes égaux une solution de rouge de méthyle à 2 g/l dans l'éthanol à au moins 95 % (V/V) et une solution de bleu de méthylène à 1 g/l dans l'éthanol à au moins 95 % (V/V).

5. *Appareillage*

- 5.1. Balance analytique
- 5.2. Matras de Kjeldahl
500 ml de capacité.
- 5.3. Appareil de minéralisation
Permettant de maintenir incliné le matras de Kjeldahl (5.2) et pourvu d'un système de chauffage préservant la partie du ballon située au-dessus de la surface des liquides.
- 5.4. Réfrigérant à tube intérieur rectiligne
- 5.5. Tube à dégagement
Présentant un bulbe de sûreté relié à la partie inférieure du réfrigérant (5.4) par un raccord en verre rodé ou un tuyau en caoutchouc. Dans ce dernier cas, les extrémités en verre doivent être proches l'une de l'autre.
- 5.6. Défeymateur (piège)
Relié au matras de Kjeldahl (5.2) et au réfrigérant (5.4) par des bouchons bien adaptés en caoutchouc souple.
- 5.7. Fiole conique
500 ml de capacité.
- 5.8. Eprouvettes graduées
50 ml et 100 ml de capacité.
- 5.9. Burette
50 ml de capacité, graduées en 0,1 ml.
- 5.10. Régulateurs d'ébullition
- 5.10.1 Pour la minéralisation : petits morceaux de porcelaine dure ou billes de verre.
- 5.10.2 Pour la distillation : petits grains de pierre ponce récemment calcinée.

6. *Mode opératoire*
- 6.1. Préparation de l'échantillon pour essai.
Se reporter aux « Dispositions générales » point 1.2.
- 6.2. Mise en évidence d'azote ammoniacal
Si on suppose la présence de caséinate d'ammonium ou d'autres composés ammoniacés, effectuer l'essai suivant : dans une petite fiole conique, ajouter à 1 g d'échantillon 10 ml d'eau et 100 mg d'oxyde de magnésium. Rincer l'oxyde adhérent aux parois, fermer la fiole à l'aide d'un bouchon en liège en insérant entre le bouchon et le col de la fiole un morceau de papier tournesol rouge humecté. Mélanger avec soin le contenu de la fiole et chauffer celle-ci dans un bain à environ 60 °C. Le virage au bleu de papier tournesol dans les 15 minutes qui suivent révèle la présence d'ammoniac; dans ce cas, la méthode n'est pas applicable (voir point 1).
- 6.3. Essai à blanc
En même temps que la détermination de la teneur en azote de l'échantillon, effectuer un essai à blanc en remplaçant la prise d'essai par 0,5 g de saccharose (4.4) et en utilisant le même appareillage, les mêmes quantités de réactifs et le même mode opératoire que celui décrit au point 6.5. Si dans l'essai à blanc le titrage dépasse 0,5 ml de la solution acide à 0,1 mol/l, les réactifs doivent être vérifiés et le réactif (ou les réactifs) impur, purifié ou remplacé.
- 6.4. Prise d'essai
Introduire dans le matras de Kjeldahl (5.2) 0,3 à 0,4 g de l'échantillon (6.1) pesé à 0,1 mg près.
- 6.5. Détermination
- 6.5.1. Introduire dans le ballon quelques morceaux de porcelaine ou quelques billes en verre (5.10.1) et environ 10 g de sulfate de potassium anhydre (4.2).
Ajouter 0,2 g de sulfate de cuivre (II) (4.3) et rincer le col du matras avec un peu d'eau. Ajouter 20 ml d'acide sulfurique concentré (4.1), mélanger le contenu du ballon.
Chauffer doucement sur l'appareil de minéralisation (5.3) jusqu'à disparition de la mousse. Faire bouillir doucement jusqu'à ce que la solution soit limpide et que la couleur vert-bleu pâle persiste. Au cours du chauffage, agiter de temps à autre le matras.
Poursuivre l'ébullition en réglant le chauffage de manière que les vapeurs se condensent au milieu du col du flacon. Poursuivre le chauffage pendant 90 minutes en évitant toute surchauffe locale.
Laisser refroidir à la température ambiante. Ajouter avec précaution environ 200 ml d'eau et quelques grains de pierre ponce (5.10.2). Mélanger et laisser refroidir de nouveau.
- 6.5.2. Introduire dans la fiole conique (5.7) 50 ml de la solution d'acide borique (4.5) et 4 gouttes de l'indicateur (4.8). Mélanger. Placer la fiole conique sous le réfrigérant (5.4) de manière que l'extrémité du tube à dégagement (5.5) plonge dans la solution d'acide borique. A l'aide d'une éprouvette graduée (5.8), introduire dans le ballon de Kjeldahl 80 ml de la solution d'hydroxyde de sodium (4.6). Au cours de cette opération, tenir le ballon incliné de manière que la solution d'hydroxyde de sodium s'écoule le long de la paroi et forme une couche à la partie inférieure du ballon.
Relier immédiatement le ballon de Kjeldahl au réfrigérant par l'intermédiaire du déflegmateur (5.6).
Mélanger le contenu du ballon de Kjeldahl en indiquant un mouvement de rotation. Faire bouillir, doucement au début, en évitant toute formation de mousse. Poursuivre la distillation de manière à recueillir 150 ml de distillat en 30 minutes environ.
Le distillat doit avoir une température inférieure à 25 °C. Deux minutes environ avant la fin de la distillation, abaisser la fiole conique de telle manière que l'extrémité du tube à dégagement ne plonge plus dans la solution acide et rincer cette extrémité avec un peu d'eau. Arrêter le chauffage, enlever le tube à dégagement et rincer ses parois intérieures et extérieures avec un peu d'eau en recueillant les eaux de rinçage dans la fiole conique.
- 6.5.3. Titrer le distillat dans la fiole à l'aide de la solution titrée d'acide chlorhydrique (4.7).
7. *Expression des résultats*
- 7.1. Mode de calcul et formule
La teneur en protéines de l'échantillon, exprimée en pourcentage en masse, est égale à :
- $$\frac{(V_1 - V_2) \times T \times 14 \times 100 \times 6,38}{m \times 1000} = \frac{8,932 (V_1 - V_2) \times T}{m}$$
- où
 V_1 = le volume, en millilitres, de la solution titrée d'acide chlorhydrique (4.7), utilisée pour la détermination (6.5);
 V_2 = le volume, en millilitres, de la solution titrée d'acide chlorhydrique (4.7), utilisée pour l'essai à blanc;
 T = la concentration de la solution titrée d'acide chlorhydrique (4.7) en mol/l;
 m = la masse, en grammes, de la prise d'essai.
 Exprimer la teneur en protéines à 0,1 % près.
- 7.2. Répétabilité
La différence entre les résultats de deux déterminations effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre, dans les mêmes conditions et par le même analyste, ne doit pas excéder 0,5 g de protéines pour 100 g de produit.
Cette valeur a une probabilité de ne pas être dépassée dans 95 % des cas.

IV. DÉTERMINATION DE L'ACIDITÉ TITRABLE

1. *Objet et champ d'application*
La présente méthode permet de déterminer l'acidité titrable des caséines acides.
2. *Définition*
Acidité titrable des caséines acides : le volume, en millilitres de solution d'hydroxyde de sodium à 0,1 mol/l nécessaire pour neutraliser un extrait aqueux de 1 g du produit.
3. *Principe*
Préparation et filtration d'un extrait aqueux de l'échantillon à 60 °C. Titrage du filtrat au moyen d'une solution titrée d'hydroxyde de sodium en présence de phénolphthaléine comme indicateur.
4. *Réactifs*
L'eau utilisée pour l'application de la méthode ou pour la préparation des réactifs doit être exempte d'anhydride carbonique (à cet effet, la chauffer 10 minutes avant l'emploi).

- 4.1. Hydroxyde de sodium, solution à 0,1 mol/l.
- 4.2. Phénolphthaléine servant d'indicateur, solution à 1 g dans 100 ml d'éthanol (95 % V/V), neutralisée par rapport à l'indicateur.
5. *Appareillage*
- 5.1. Balance analytique
- 5.2. Fiole conique à col rodé
500 ml de capacité et munie d'un bouchon en verre rodé.
- 5.3. Pipette à un trait
100 ml de capacité.
- 5.4. Pipette
Permettant de mesurer 0,5 ml de la solution d'indicateur (4.2).
- 5.5. Fiole conique
250 ml de capacité.
- 5.6. Eprouvette graduée
250 ml de capacité.
- 5.7. Burette
Graduée en 0,1 ml.
- 5.8. Bain d'eau
Pouvant être réglé à une température de 60 ± 2 °C.
- 5.9. Litre approprié
6. *Mode opératoire*
- 6.1. Préparation de l'échantillon pour essai — se reporter au chapitre « Dispositions générales » point 1.2.
- 6.2. Prise d'essai
Peser à 10 mg près environ 10 g de l'échantillon et l'introduire dans la fiole conique (5.2).
- 6.3. Détermination
A l'aide de l'éprouvette de 250 ml (5.6) ajouter 200 ml d'eau récemment bouillie puis refroidie, préalablement portée à 60 °C. Fermer le flacon, mélanger en remuant et placer au bain à 60 °C (5.8) pendant 30 minutes. Agiter le flacon toutes les 10 minutes environ.
Filtrer et laisser refroidir le filtrat à environ 20 °C. Le filtrat doit être limpide.
Prélever à la pipette (5.3) 100 ml du filtrat refroidi et introduire dans la fiole conique (5.5). Ajouter 0,5 ml de solution de la phénolphthaléine servant d'indicateur (4.2), à l'aide de la pipette (5.4). Titrer à l'aide de la solution titrée d'hydroxyde de sodium (4.1) jusqu'à apparition d'une couleur rose pâle persistant pendant au moins 30 secondes. Noter le volume utilisé à 0,01 ml près.
7. *Expression des résultats*
- 7.1. Méthode de calcul et formule
l'acidité titrable de la caséine est égale à :
- $$\frac{20 \times V \times T}{m}$$
- où
- V = le volume, en millilitres, de la solution titrée d'hydroxyde de sodium (4.1) utilisée;
- T = la concentration, en mol/l, de la solution titrée d'hydroxyde de sodium (4.1);
- m = la masse, en grammes, de la prise d'essai.
- Exprimer l'acidité titrable avec deux décimales.
- 7.2. Répétabilité
La différence entre les résultats de deux déterminations effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre sur le même échantillon, dans les mêmes conditions et par le même analyste, ne doit pas dépasser 0,02 ml de solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N pour 1 g de produit.
Cette valeur a une probabilité de ne pas être dépassée dans 95 % des cas.

V.a. DETERMINATION DES CENDRES (P₂O₅ inclus)

1. *Objet et champ d'application*
La présente méthode permet de déterminer les « cendres » des :
— caséines acides (P₂O₅ inclus).
2. *Définition*
Cendres (P₂O₅ inclus) : substances dosées selon la méthode décrite ci-après et exprimées en pourcentage en masse.
3. *Principe*
Incinération d'une prise d'essai à 825 ± 25 °C en présence d'acétate de magnésium destiné à fixer la totalité du phosphore d'origine organique. Pesée du résidu et soustraction de la masse de cendres provenant de l'acétate de magnésium.
4. *Réactifs*
- 4.1. Acétate de magnésium tétrahydrate
Mg (CH₃CO₂)₂ · 4H₂O, solution à 120 g/l.
5. *Appareillage*
- 5.1. Balance analytique
- 5.2. Pipette à un trait, 5 ml.
- 5.3. Capsules en silice ou en platine, d'environ 70 mm de diamètre et de 25 à 50 mm de profondeur.
- 5.4. Etuve de séchage pouvant être réglée à 102 ± 1 °C.
- 5.5. Four électrique à circulation d'air, réglable à 825 ± 25 °C.
- 5.6. Bain d'eau bouillante

- 5.7. Dessiccateur contenant du gel de silice fraîchement activé muni d'un indicateur hygrométrique ou de tout autre déshydratant équivalent.
6. *Mode opératoire*
- 6.1. Préparation de l'échantillon pour essai
Se reporter au chapitre « Dispositions générales » point 1.2.
- 6.2. Préparation des capsules
Placer 2 capsules (5.3) A et B dans le four électrique (5.5), réglé à 825 ± 25 °C, pendant 30 minutes. Les laisser un peu refroidir avant de les placer dans un dessiccateur (5.7) jusqu'à refroidissement à la température ambiante et les peser à 0,1 mg près.
- 6.3. Prise d'essai
Peser à 0,1 mg près environ 3 g de l'échantillon (6.1), directement dans l'une des capsules préparées (A).
- 6.4. Détermination
Dans la capsule (A), introduire à l'aide de la pipette (5.2) exactement 5 ml de solution d'acétate de magnésium (4.1) de manière à imbibiter la totalité de la prise d'essai et laisser reposer 20 minutes.
Dans l'autre capsule préparée (B), introduire à l'aide de la pipette (5.2) exactement 5 ml de la solution d'acétate de magnésium (4.1).
Faire évaporer à sec le contenu de ces deux capsules (A et B) au bain d'eau bouillante (5.6).
Placer les deux capsules dans l'étuve (5.4), régler à 102 ± 1 °C pendant 30 minutes.
Placer la capsule A, avec son contenu, sur une petite flamme, une plaque chauffante ou sous une lampe à infra-rouge, jusqu'à ce que la prise d'essai soit complètement carbonisée et, en veillant à ce qu'elle ne s'enflamme pas.
Placer les 2 capsules (A et B) dans un four électrique (5.5) réglé à 825 ± 25 °C et laisser chauffer pendant au moins 1 heure jusqu'à disparition complète des particules charbonneuses de la capsule A. Laisser un peu refroidir les 2 capsules et les placer dans un dessiccateur (5.7) pour atteindre la température ambiante et peser à 0,1 mg près.
Répéter les opérations de chauffage pendant environ 30 minutes dans le four électrique, de refroidissement et de pesée jusqu'à la masse constante (à 1 mg près), noter la masse minimale.
7. *Expression des résultats*
- 7.1. Méthode de calcul et formule
Les cendres (P_2O_5 inclus) de l'échantillon, exprimées en pourcentage en masse, sont égales à :
- $$\frac{(m_1 - m_2) - (m_3 - m_4)}{m_0} \times 100$$
- où
- m_0 = la masse, en grammes, de la prise d'essai;
 m_1 = la masse, en grammes, de la capsule A et de son contenu;
 m_2 = la masse, en grammes, de la capsule A, vide;
 m_3 = la masse, en grammes, de la capsule B et de son contenu;
 m_4 = la masse, en grammes, de la capsule B, vide.
 Exprimer le résultat final à 0,01 % près.
- 7.2. Répétabilité
La différence entre les résultats des déterminations effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre, sur le même échantillon, dans les mêmes conditions, ne doit pas excéder 0,1 g pour 100 g de produit.
Cette valeur a une probabilité de ne pas être dépassée dans 95 % des cas.

V.b. DÉTERMINATION DES CENDRES (P_2O_5 inclus)

1. *Objet et champ d'application*
La présente méthode permet de déterminer les cendres des caséines présures.
2. *Définition*
Cendres (P_2O_5 inclus) : substances dosées selon la méthode décrite ci-après et exprimées en pourcentage de masse.
3. *Principe*
Incinération d'une prise d'essai à 825 ± 25 °C jusqu'à obtention d'une masse constante.
Pesée du résidu obtenu.
4. *Appareillage*
- 4.1. Balance analytique
- 4.2. Capsule en silice ou en platine, d'environ 70 mm de diamètre et de 25 à 50 mm de profondeur.
- 4.3. Four électrique
A circulation d'air, pouvant être réglé à 825 ± 25 °C.
- 4.4. Dessiccateur
Contenant du gel de silice fraîchement activé, muni d'un indicateur hygrométrique ou de tout autre déshydratant équivalent.
5. *Mode opératoire*
- 5.1. Préparation de l'échantillon pour essai
Se reporter au chapitre « Dispositions générales » point 1.2.
- 5.2. Préparation de la capsule
Placer la capsule (4.2) dans le four électrique (4.3) réglé à 825 ± 25 °C pendant 30 minutes. Laisser refroidir la capsule dans le dessiccateur (4.4) jusqu'à température ambiante. Peser à 0,1 mg près
- 5.3. Prise d'essai
Peser à 0,1 mg près environ 3 g de l'échantillon (5.1) directement dans la capsule préparée.

5.4. Détermination

Chauffer la capsule avec son contenu sur une petite flamme, une plaque chauffante, ou une lampe à infra-rouge jusqu'à ce que la prise d'essai soit complètement carbonisée, et en veillant à ce qu'elle ne s'enflamme pas.

Placer la capsule dans le four électrique (4.3) réglé à 825 ± 25 °C et laisser chauffer pendant au moins une heure jusqu'à disparition complète des particules charbonneuses de la capsule. Laisser un peu refroidir la capsule et la placer dans le dessiccateur (4.4) pour atteindre la température ambiante. Peser à 0,1 mg près.

Répéter les opérations de chauffage pendant environ 30 minutes dans le four électrique (4.3) de refroidissement et de pesée jusqu'à masse constante (à 0,1 mg près).

6. Expression des résultats

6.1. Méthode de calcul et formule

Les cendres (P₂O₅ inclus), exprimées en pourcentage en masse, sont égales à :

$$\frac{m_1 - m_2}{m_0} \times 100$$

où

m_0 = la masse, en grammes, de la prise d'essai;

m_1 = la masse, en grammes, de la capsule et de son contenu;

m_2 = la masse, en grammes, de la capsule vide.

Exprimer le résultat final à 0,01 % près.

6.2. Répétabilité

La différence entre les résultats de deux déterminations effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre sur le même échantillon, dans les mêmes conditions, et par le même analyste, ne doivent pas excéder 0,15 g de cendres pour 100 g de produit.

Cette valeur a une probabilité de ne pas être dépassée dans 95 % des cas.

VI. DETERMINATION DU pH

1. *Objet et champ d'application*

La présente méthode permet de déterminer le pH des caséinates.

2. *Définition*

Le pH des caséinates : le pH, à 20 °C, d'une solution de caséinate, déterminé selon la méthode décrite ci-après.

3. *Principe*

Détermination électrométrique du pH d'une solution de caséinate à l'aide d'un pH-mètre.

4. *Réactifs*

L'eau utilisée pour la préparation des réactifs ou pour la réalisation de la méthode (6) doit être de l'eau récemment distillée, conservée à l'abri de l'acide carbonique.

4.1. Solutions-tampons pour l'étalonnage du pH-mètre (5.2)

Deux solutions-tampons étalons ayant des valeurs de pH à 20 °C, connues à la seconde décimale près et encadrant la valeur de pH de l'échantillon à analyser, par exemple, une solution-tampon au phthalate, de pH voisin de 4, et une solution-tampon au borax, de pH voisin de 9.

5. *Appareillage*

5.1. Balance, sensibilité 0,1 g.

5.2. pH-mètre

Sensibilité minimale : 0,05 pH, muni d'une électrode en verre appropriée et d'une électrode au calomel ou d'une autre électrode de référence.

5.3. Thermomètre

Précision : 0,3 °C.

5.4. Fiole conique

Capacité 100 ml, munie d'un bouchon en verre rodé.

5.5. Bêcher, d'une capacité de 50 ml.

5.6. Mélangeur

5.7. Bêcher

Pour mélangeur (5.6) d'une capacité d'au moins 250 ml.

6. *Mode opératoire*

6.1. Préparation de l'échantillon pour essai

Se reporter au chapitre « Dispositions générales » point 1.2.

6.2. Détermination

6.2.1. *Étalonnage du pH-mètre*

Ajuster la température des solutions-tampons (4.1) à 20 °C et régler le pH-mètre conformément aux instructions du fabricant.

Notes

1. Le réglage doit être effectué tandis que les fioles coniques sont au repos pendant 20 minutes (6.2.2).

2. Si l'analyse doit porter sur une série d'échantillons, vérifier le réglage du pH-mètre au moins toutes les 30 minutes avec une ou plusieurs solutions-tampons étalon.

6.2.2. *Préparation de la solution d'essai*

Dans le bêcher (5.6) introduire 95 ml d'eau, ajouter 5,0 g de l'échantillon pour essai (6.1) et mélanger à l'aide du mélangeur (5.5) pendant 30 secondes.

Laisser reposer pendant 20 minutes à 20 °C environ, le bêcher étant recouvert d'un verre de montre.

6.2.3. *Mesure du pH*

6.2.3.1. Verser 20 ml environ de la solution dans le bêcher (5.5) et déterminer immédiatement le pH de ce liquide au moyen du pH-mètre (5.2) après avoir soigneusement rincé à l'eau les électrodes.

6.2.3.2. Mesurer le pH.

7. *Expression des résultats*

7.1. Lecture du pH

Noter la valeur lue sur le cadran du pH-mètre avec au moins deux décimales, qui correspond au pH de la solution de caséinate.

7.2. Répétabilité

La différence entre les résultats de deux déterminations effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre sur le même échantillon, dans les mêmes conditions, et par le même analyste, ne doit pas excéder 0,05 unité pH.

Cette valeur à une probabilité de ne pas être dépassée dans 95 % des cas.

Vu pour être annexé à Notre arrêté du 16 février 1987.

BAUDOUIN

Par le Roi :

Le Ministre des Affaires sociales,

J.-L. DEHAENE

Le Secrétaire d'Etat à la Santé publique,

Mme W. DEMEESTER-DE MEYER

Bijlage

Referentiemethoden van onderzoek inzake voedingscaseïne en -caseïnat

I. ALGEMENE BEPALINGEN

1. *Voorbehandeling van het laboratoriummonster*

1.1. Algemeen

De massa van het monster dat aan het laboratorium ter analyse wordt aangeboden dient ten minste 200 g te bedragen.

1.2. Voorbehandeling van het monster voor laboratoriumanalyse

1.2.1. Meng het laboratoriummonster grondig (maak eventuele brokken fijn) door herhaald schudden en omkeren van de monsterpot (zo nodig eerst het gehele laboratoriummonster overbrengen in een luchtdichte monsterpot met een volume dat twee maal zo groot is als dat van het monster).

1.2.2. Breng ongeveer 50 g van het grondig gemengde laboratoriummonster (1.2.1) op de draadzeef (3.3) over.

1.2.3. Gebruik, indien de hoeveelheid van 50 g geheel of grotendeels (meer dan 95 % (m/m) door de draadzeef (3.3) gaat, het volgens 1.2.1 voorbehandelde monster voor de bepaling.

1.2.4. Zo niet, maal dan de portie van 50 g met het maaltoestel (3.4), totdat aan het zeefcriterium (1.2.3) is voldaan. Breng dan onmiddellijk het gehele gezeefde monster over in een luchtdichte monsterpot van voldoende capaciteit (twee maal het volume van het monster) en meng het grondig door herhaald schudden en omkeren. Zorg er tijdens deze handelingen voor dat er geen enkele verandering in het vochtgehalte van het produkt optreedt.

1.2.5. Zodra het analysemonster voorbehandeld is, dient zo snel mogelijk met de bepaling te worden verdergegaan.

1.3. Monsterpotten

Het monster dient altijd in een luchtdichte en vochtdichte monsterpot te worden bewaard.

2. *Reagentia*

2.1. Water

2.1.1. Telkens wanneer er sprake is van water voor oplossen, verdunnen of wassen, dient gedestilleerd water of gedemineraliseerd water van ten minste dezelfde zuiverheid te worden gebruikt.

2.1.2. Wanneer « oplossing » of « verdunning » wordt genoemd zonder verdere aanwijzing wordt « oplossing in water » of « verdunning met water » bedoeld.

2.2. Chemicaliën

Alle gebruikte chemicaliën dienen van analysekwaliteit te zijn tenzij anders aangegeven.

3. *Apparatuur*

3.1. Lijsten met apparatuur

De apparatuurlijsten bevatten alleen de onderdelen met een speciaal gebruik of met een bijzondere specificatie.

3.2. Analytische balans

Een analytische balans is een balans waarop ten minste tot op 0,1 mg nauwkeurig kan worden gewogen.

3.3. Draadzeef

De te gebruiken draadzeef, voorzien van een deksel, moet een doorsnede hebben van 200 mm, en gemaakt zijn van draadgaas met effectieve openingen van 500 µm. De toegestane speling in de openingen en doorsnede van de draad zijn die welke gegeven zijn in ISO 3310/1 (Draadzeven — technische benodigdheden en toetsen — deel 1 : metaaldraadgaas. ISO 3310/1 — 1975). De zeven moeten worden voorzien van een opvangvat.

3.4. Verpulveraar

Voor het verpulveren van het laboratoriummonster als dat nodig is (zie 1.2.4), zonder onnodige warmteontwikkeling en zonder vochtigheidsverlies of -opname.

Het gebruik van een hamer bij het verpulveren is niet toegestaan.

4. *Weergave van de resultaten*
- 4.1. Resultaten
Het in het verslag opgegeven resultaat is de gemiddelde waarde uit twee bepalingen, die aan het herhaalbaarheids criterium voor die methode voldoen.
- 4.2. Berekening van het percentage
Tenzij anders aangegeven moet het resultaat worden berekend als massapercentage van het monster.
5. *Verslag*
Vermeld hierin :
— alle gegevens die nodig zijn voor de volledige identificatie van het monster;
— het verkregen resultaat;
— de gevolgde analysemethode;
— alle bijzonderheden van de werkwijze, welke niet in de analysemethode zijn opgegeven of welke facultatief zijn;
— alle omstandigheden die van invloed geweest kunnen zijn op de resultaten.

II. BEPALING VAN HET VOCHTGEHALTE

1. *Onderwerp en toepassingsgebied*
Deze methode dient voor de bepaling van het vochtgehalte in :
— zuur-caseïnen;
— leuc-caseïnen;
— caseïnatën.
2. *Definitie*
Het vochtgehalte van caseïnen en caseïnatën : het met de aangegeven methode bepaalde massaverlies.
3. *Principe*
De restmassa van de inweeg wordt bepaald na drogen in een droogstoof op 102 ± 1 °C bij atmosferische druk tot constante massa. Het massaverlies wordt berekend als massapercentage van het monster.
4. *Apparatuur*
- 4.1. Analytische balans
- 4.2. Schaaltjes, met vlakke bodem en van materiaal dat tegen de proefomstandigheden bestand is, bijvoorbeeld nikkel, aluminium, roestvrij staal of glas. De schaaltjes moeten voorzien zijn van goed sluitende, maar gemakkelijk te verwijderen deksels. Geschikte afmetingen zijn : doorsnede 60 tot 80 mm en diepte ongeveer 25 mm.
- 4.3. Droogstoof op atmosferische druk, goed geventileerd en met thermostaatregeling ingesteld op 102 ± 1 °C. De temperatuur moet in de gehele oven dezelfde zijn.
- 4.4. Exsiccator, met daarin vers geactiveerde silicagel met een hygrometrische indicator of een gelijkwaardig droogmiddel.
- 4.5. Geschikt gereedschap om de schaaltjes aan te pakken, bijvoorbeeld een laboratoriumtang.
5. *Werkwijze*
- 5.1. Voorbehandeling van het analysemonster
Als beschreven in hoofdstuk 1.2 van de algemene bepalingen.
- 5.2. Voorbehandeling van het schaaltje
- 5.2.1. Verwarm het schaaltje en het deksel (4.2) los van elkaar gedurende ten minste 1 uur in de droogstoof (4.3).
- 5.2.2. Plaats het deksel op het schaaltje, zet het geheel in de exsiccator (4.4), laat het afkoelen tot de temperatuur van de ruimte waar de balans staat en bepaal dan de massa op 0,1 mg nauwkeurig (m_0).
- 5.3. Inweeg
Breng 3 tot 5 g van het analysemonster (5.1) in het schaaltje, zet het deksel erop en bepaal de massa tot op 0,1 mg nauwkeurig (m_1).
- 5.4. Bepaling
- 5.4.1. Neem het deksel van het schaaltje en verwarm beide gedurende 4 uur in de droogstoof (4.3).
- 5.4.2. Plaats het deksel weer op het schaaltje, zet ze in de exsiccator, laat ze afkoelen tot de temperatuur van de balansruimte en weeg tot op 0,1 mg nauwkeurig.
- 5.4.3. Neem het deksel van het schaaltje en verwarm wederom gedurende 1 uur in de droogstoof. Herhaal dan de behandeling 5.4.2.
- 5.4.4. Herhaal de behandeling 5.4.3 als de in 5.4.3. verkregen massa meer dan 1 mg minder bedraagt dan de in 5.4.2. verkregen massa.
Als een toename in de massa gevonden wordt, gebruik dan voor de berekening de laagste gemeten massa (6.1).
De gemeten eindmassa is m_2 .
Het totale droogproces mag niet langer dan 6 uur duren.
6. *Weergave van de resultaten*
- 6.1. Berekening
Bereken het massaverlies bij drogen van het monster, uitgedrukt in massapercentage, met de formule

$$\frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100$$

waarin :

- m_0 de massa is in g, van het schaaltje met deksel na de handelingen 5.2;
 m_1 de massa is in g, van het schaaltje, deksel en de inweeg vóór het drogen (handelingen 5.3);
 m_2 de massa is in g, van het schaaltje, deksel en de inweeg na het drogen (handelingen 5.4.3 of 5.4.4).
Bereken het massaverlies tot op 0,01 % nauwkeurig.

- 6.2. Herhaalbaarheid
Het verschil tussen de resultaten van twee tegelijkertijd of vlak na elkaar op hetzelfde monster, door dezelfde analist en onder dezelfde omstandigheden uitgevoerde bepalingen mag niet meer dan 0,1 g vocht per 100 g produkt bedragen.
Het herhaalbaarheidsinterval moet worden gehaald in 95 % van de gevallen waarin de methode wordt toegepast.

III. BEPALING VAN HET EIWITGEHALTE

1. *Onderwerp en toepassingsgebied*
Deze methode dient voor de bepaling van het eiwitgehalte van :
— zuur-caseïnen;
— leuc-caseïnen;
— caseïnaten,
uitgezonderd die welke ammoniumcaseïnaat of andere ammonium- of stikstofhoudende verbindingen bevatten.
2. *Definitie*
Eiwitgehalte : het met de aangegeven methode bepaalde stikstofgehalte, vermenigvuldigd met 6,38 en uitgedrukt als massapercentage.
3. *Principe*
Een hoeveelheid monster wordt ontsloten met een mengsel van kaliumsulfaat en zwavelzuur, in aanwezigheid van koper(II)sulfaat als katalysator, ten einde de organische stikstof in ammoniak-stikstof om te zetten. De ammoniak wordt afgedestilleerd, geabsorbeerd in een boorzuoroplossing en dan getitreerd met een standaard zoutzuuroplossing. Het stikstofgehalte wordt omgerekend in eiwitgehalte door te vermenigvuldigen met 6,38.
4. *Reagentia*
 - 4.1. Zwavelzuur, geconcentreerd, $\rho_{20} = 1,84$ g/ml.
 - 4.2. Kaliumsulfaat, watervrij (K_2SO_4).
 - 4.3. Koper(II)sulfaat pentahydraat ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$).
 - 4.4. Saccharose ($C_{12}H_{22}O_{11}$).
 - 4.5. Boorzuur, oplossing van 40 g/l.
 - 4.6. Natriumhydroxyde, geconcentreerde oplossing in water, 30 % (m/m), carbonaatvrij.
 - 4.7. Zoutzuur, ongeveer 0,1 mol/l.
 - 4.8. Gemengde indicator : meng gelijke volumes van een oplossing van 2 g/l methylrood in ten minste 95 % (V/V) ethanol en een oplossing van 1 g/l methyleenblauw in ten minste 95 % (V/V) ethanol.
5. *Apparatuur*
 - 5.1. Analytische balans
 - 5.2. Kjeldahlkolf, inhoud 500 ml.
 - 5.3. Destructieapparaat, dat de Kjeldahlkolf (5.2) in een schuine stand houdt en met een verwarmingsinrichting, die het gedeelte van de kolf boven het oppervlak van de vloeistof niet verwarmt.
 - 5.4. Koeler met rechte binnenbuis.
 - 5.5. Uitlaatbuis met veiligheidsbol, die verbonden is met het ondereinde van de koeler (5.4) met een slijpstukverbinding of een rubberslang. Bij gebruik van een rubberslang moeten de glazen uiteinden vlak bij elkaar liggen.
 - 5.6. Spatbol, verbonden met de Kjeldahlkolf (5.2) en de koeler (5.4) met zachte, nauwsluitende rubber- of andere geschikte verbindingen.
 - 5.7. Conische kolf, 500 ml.
 - 5.8. Maatcilinders, 50 ml en 100 ml.
 - 5.9. Buret, 50 ml, met 0,1 ml maatverdeling.
 - 5.10. Kookhulpmiddelen
 - 5.10.1 Voor de destructie : kleine stukjes hard porselein of glazen kralen.
 - 5.10.2 Voor de destillatie : vers uitgegloeide stukjes puimsteen.
6. *Werkwijze*
 - 6.1. Voorbehandeling van het analysemonster
Zie hoofdstuk 1.2 van de algemene bepalingen.
 - 6.2. Proef op de aanwezigheid van ammoniakale stikstof
Voer, indien de aanwezigheid van ammoniumcaseïnaat of andere ammoniumverbindingen vermoed wordt, de volgende proef uit. Breng 1 g monster, 10 ml water en 100 mg magnesiumoxyde in een kleine conische kolf. Spoel eventueel aan de wand hangende magnesiumoxyde naar beneden en sluit de kolf met een kurk, waarbij tussen de kurk en de hals van de kolf een stukje vochtig rood lakmoespapier wordt aangebracht. Meng de inhoud van de kolf zorgvuldig en verwarm de kolf op een waterbad op 60 tot 65 °C. Als het lakmoespapier binnen 15 minuten blauw wordt, is ammoniak aanwezig en is deze methode niet toepasbaar (zie hoofdstuk I).
 - 6.3. Blancobepaling
Voer tegelijkertijd met de stikstofgehaltebepaling van het monster een blancobepaling uit met 0,5 g saccharose (4.4) in plaats van de monsterhoeveelheid, met gebruikmaking van dezelfde apparatuur, dezelfde hoeveelheden van alle reagentia en dezelfde werkwijze als in 6.2.
Indien bij de blancobepaling het volume van het getitreerde zoutzuur meer dan 0,5 ml bedraagt, moeten de reagentia worden gecontroleerd en eventueel worden gezuiverd of vervangen.
 - 6.4. Inweeg
Breng 0,3 tot 0,4 g analysemonster (6.1), dat tot op 0,1 mg nauwkeurig is afgewogen, in de Kjeldahlkolf (5.2).

- 6.5. Bepaling
- 6.5.1. Breng in de kolf een paar stukjes porselein of een paar glazen kralen (5.10.1) en ongeveer 10 g watervrij kaliumsulfaat (4.2). Voeg 0,2 g koper(II)sulfaat (4.3) toe en spoel de hals van de kolf met wat water. Voeg 20 ml geconcentreerd zwavelzuur (4.1) toe. Verwarm zachtjes op het destructieapparaat (5.3) totdat al het schuimen voorbij is. Laat het mengsel zachtjes koken totdat de oplossing helder is en een bleke groenblauwe kleur overblijft. Zwenk tijdens het verwarmen de kolf nu en dan. Zet het koken voort bij een zodanige verwarming dat de damp halverwege de hals van de kolf condenseert. Verwarm nog 90 minuten en vermijd plaatselijke oververhitting. Laat de kolf met de inhoud tot kamertemperatuur afkoelen. Voeg dan voorzichtig ongeveer 200 ml water en een paar stukjes puimsteen (5.10.2) toe. Meng en laat weer afkoelen.
- 6.5.2. Breng in de conische kolf (5.7) 50 ml boorzuoroplossing (4.5) en vier druppels indicator (4.8). Meng. Plaats de kolf zodanig onder de koeler (5.4) dat de punt van de uitlaatbuis (5.5) in de boorzuoroplossing steekt. Voeg met behulp van een maatcilinder (5.8) 80 ml natriumhydroxydeoplossing (4.6) aan de Kjeldahlkolf toe. Houd hierbij de kolf in een schuine stand zodat de natriumhydroxydeoplossing langs de binnenkant van de kolf loopt en de onderste laag vormt. Verbind de Kjeldahlkolf onmiddellijk met de koeler via de spatbol (5.6). Zwenk de Kjeldahlkolf zachtjes zodat de inhoud vermengd wordt. Kook eerst zachtjes en zorg dat er geen schuim wordt gevormd. Zet de destillatie zodanig voort dat in ongeveer 30 minuten 150 ml destillaat wordt opgevangen. Het destillaat moet een temperatuur van minder dan 25 °C hebben. Haal ongeveer twee minuten voordat de destillatie geëindigd wordt de conische kolf zover omlaag dat de punt van de uitlaatbuis niet langer in de zuuroplossing steekt en spoel de punt met wat water. Zet de verwarming af, verwijder de uitlaatbuis en spoel de binnen- en buitenkant daarvan met wat water en vang het spoelwater op in de conische kolf.
- 6.5.3. Titreer het destillaat in de conische kolf met de zoutzuuroplossing (4.7).
7. Weergave van de resultaten
- 7.1. Berekening
- Het eiwitgehalte van het monster, uitgedrukt als massapercentage, is gelijk aan :
- $$\frac{(V_1 - V_2) \times T \times 14 \times 100 \times 6,38}{m \times 1000} = \frac{8,932 (V_1 - V_2) \times T}{m}$$
- waarin :
- V₁ het volume is in milliliters van de in de bepaling (6.5) gebruikte standaard volumetrische zoutzuuroplossing (4.7);
- V₂ het volume is in milliliters van de in de blancobepaling (6.3) gebruikte zoutzuuroplossing (4.7);
- T de titer is van de zoutzuuroplossing (4.7) in mol/l;
- m de massa is in grammen van de inweeg.
- Bereken het eiwitgehalte op 0,1 % nauwkeurig.
- 7.2. Herhaalbaarheid
- Het verschil tussen de resultaten van twee tegelijkertijd of vlak na elkaar op hetzelfde monster, door dezelfde analist en onder dezelfde omstandigheden uitgevoerde bepalingen, mag niet meer dan 0,5 g eiwit per 100 g produkt bedragen.
- Het herhaalbaarheidsinterval moet worden gehaald in 95 % van de gevallen waarin de methode wordt toegepast.

IV. BEPALING VAN HET GEHALTE AAN TITREERBAAR ZUUR

1. *Onderwerp en toepassingsgebied*
- Deze methode dient voor de bepaling van titreerbaar zuur van :
— zuur-caseïne.
2. *Definitie*
- Het gehalte aan titreerbaar zuur van zuur-caseïnes : het volume in milliliters van een 0,1 mol/l natriumhydroxydeoplossing, dat vereist is om een waterig extract van 1 g produkt ten opzichte van fenolftaleïne te neutraliseren.
3. *Principe*
- Er wordt een waterig extract van het monster bij 60 °C verkregen en gefiltreerd. Het filtraat wordt getitreerd met een natriumhydroxydeoplossing met fenolftaleïne als indicator.
4. *Reagentia*
- Al het water dat in deze procedure of bij de bereiding van reagentia wordt gebruikt dient vrij van kool-dioxyde te worden gemaakt door het vóór het gebruik 10 minuten te koken.
- 4.1. Natriumhydroxydeoplossing, 0,1 mol/l.
- 4.2. Indicatoroplossing fenolftaleïne, 10 g/l in ethanol (95 % V/V), gencutraliseerd tot het indicatoromslagpunt.
5. *Apparatuur*
- 5.1. Analytische balans
- 5.2. Conische kolf, inhoud 500 ml met een ingeslepen hals en voorzien van een geslepen glazen stop.
- 5.3. Volpipet, 100 ml.
- 5.4. Maatpipet, geschikt om 0,5 ml indicatoroplossing (4.2) af te meten.
- 5.5. Conische kolf, 250 ml.
- 5.6. Maatcilinder, 250 ml.
- 5.7. Buret, met maatverdeling van 0,1 ml.
- 5.8. Waterbad, ingesteld op een temperatuur van 60 ± 2 °C.
- 5.9. Passend filter

6. *Werkwijze*
- 6.1. Voorbehandeling van het analysemonster
Zie hoofdstuk 1.2 van de algemene bepalingen.
- 6.2. Inweeg
Weeg ongeveer 10 g van het analysemonster (6.1) tot op 10 mg nauwkeurig af en breng dat over in de conische kolf (5.2).
- 6.3. Bepaling
Voeg met de 250 ml maatcilinder (5.6) 200 ml vers uitgekookt en tot 60 °C afgekoeld water toe. Zet de stop op de kolf, meng de inhoud door zwenken en verwarm de kolf gedurende 30 minuten op het waterbad (5.8). Schud de kolf om de 10 minuten.
Filtreer de oplossing en koel het filtraat af tot ongeveer 20 °C. Het filtraat moet helder zijn.
Breng 100 ml van het afgekoelde filtraat over in de conische kolf (5.5) met de pipet (5.3). Voeg 0,5 ml van de fenoltaleïne-indicatoroplossing (4.2) toe met de pipet (5.4). Titreer met de standaard volumetrische natriumhydroxydeoplossing (4.1) totdat een zwak rose kleur ontstaat die ten minste 30 seconden stand houdt. Lees het gebruikte volume tot op 0,01 ml nauwkeurig af en noteer het resultaat.
7. *Weergave van de resultaten*
- 7.1. Berekening
Het gehalte aan titreerbaar zuur van de caseïne is gelijk aan
- $$\frac{20 \times V \times T}{m}$$
- waarin :
V het volume in milliliters van de gebruikte natriumhydroxydeoplossing (4.1) is;
T de titer van de natriumhydroxydeoplossing (4.1) in mol/l is;
m de massa in grammen van de inweeg is.
Bereken de hoeveelheid vrij zuur tot op 2 decimalen.
- 7.2. Herhaalbaarheid
Het verschil tussen de resultaten van twee tegelijkertijd of vlak na elkaar op hetzelfde monster, door dezelfde analist en onder dezelfde omstandigheden uitgevoerde bepalingen mag niet meer dan 0,02 ml 0,1 mol/l natriumhydroxyde per 1 g produkt bedragen.
Het herhaalbaarheidsinterval moet worden gehaald in 95 % van de gevallen waarin deze methode wordt toegepast.
- V.a. BEPALING VAN HET ASGEHALTE (P₂O₅ inbegrepen)
1. *Onderwerp en toepassingsgebied*
Met de methode wordt het gehalte aan « as » bepaald van :
— zuur-caseïnen.
2. *Definitie*
Het asgehalte (P₂O₅ inbegrepen) : het gehalte aan as, zoals bepaald met de aangegeven methode.
3. *Principe*
Een hoeveelheid van het monster wordt verast bij 825 ± 25 °C in aanwezigheid van magnesiumacetaat om alle fosfor van organische oorsprong te binden. De uiteindelijke hoeveelheid as wordt berekend na wegen van het residu en aftrekken van de asmassa die van het magnesiumacetaat afkomstig is.
4. *Reagentia*
- 4.1. Magnesiumacetaatoplossing. Los 120 g magnesiumacetaat tetrahydraat (Mg(CH₃CO₂)₂·4H₂O) in water op en vul met water aan tot 1 l.
5. *Apparatuur*
- 5.1. Analytische balans
- 5.2. Volpipet, 5 ml.
- 5.3. Schaaltjes van silica of platina, doorsnede ongeveer 70 mm en 25 tot 50 mm diep.
- 5.4. Droogstoof, ingesteld op 102 ± 1 °C.
- 5.5. Elektrische oven, ingesteld op 825 ± 25 °C.
- 5.6. Kokend-waterbad.
- 5.7. Exsiccator, met daarin vers geactiveerde silicagel met een hygrometrische indicator of een gelijkwaardig droogmiddel.
6. *Werkwijze*
- 6.1. Voorbehandeling van het analysemonster
Zie hoofdstuk 1.2 van de algemene bepalingen.
- 6.2. Voorbehandeling van de schaaltes
Verhit twee schaaltes (A/B) (5.3) gedurende 30 minuten in de elektrische oven (5.5). Laat de schaaltes in de exsiccator (5.7) afkoelen tot de temperatuur van de ruimte waar de balans in staat en bepaal de massa op 0,1 mg nauwkeurig.
- 6.3. Inweeg
Weeg tot op 0,1 mg nauwkeurig, ongeveer 3 g analysemonster (6.1) in één van de voorbehandelde schaaltes (A) af.
- 6.4. Bepaling
Voeg met behulp van de pipet (5.2) aan schaalte (A) precies 5 ml van de magnesiumacetaatoplossing (4.1) toe, zodanig dat de gehele inweeg bevochtigd is en laat dit gedurende 20 minuten staan.
Breng in het andere voorbehandelde schaalte (B) met de pipet (5.2) precies 5 ml magnesiumacetaatoplossing (4.1).
Damp de inhoud van beide schaaltes (A) en (B) droog op het kokend-waterbad (5.6).
Verwarm beide schaaltes gedurende 30 minuten in de droogstoof (5.4).
Verhit schaalte (A) met inhoud op een kleine vlam, op een kookplaat of onder een infrarode lamp totdat de inweeg volledig verkoold is, ervoor zorgend dat die geen vlam vat.

Breng beide schaaltes (A) en (B) in de elektrische oven (5.5), verhit gedurende ten minste 1 uur of totdat alle kool van schaalte (A) verdwenen is. Laat dan beide schaaltes in de exsiccator (5.7) afkoelen tot de temperatuur van de ruimte waar de balans in staat en bepaal de massa tot op 0,1 mg nauwkeurig. Herhaal het verhitten steeds gedurende 30 minuten in de elektrische oven (5.5), het afkoelen en het wegen, totdat de massa binnen 1 mg constant blijft of weer begint toe te nemen. Noteer de laagst waargenomen massa.

7. *Weergave van de resultaten*

7.1. Berekening

Het asgehalte (P₂O₅ inbegrepen), van het monster, als massapercentage is gelijk aan :

$$\frac{(m_1 - m_2) - (m_3 - m_4)}{m_0} \times 100$$

waarin :

- m₀ de massa in grammen van de inweeg is;
- m₁ de massa in grammen van het schaalte (A) met residu is;
- m₂ de massa in grammen van het voorbehandelde schaalte (A) is;
- m₃ de massa in grammen van het schaalte (B) met residu is;
- m₄ de massa in grammen van het voorbehandelde schaalte (B) is.

Bereken het asgehalte (P₂O₅ inbegrepen) tot op 0,01 % nauwkeurig.

7.2. Herhaalbaarheid

Het verschil tussen de resultaten van twee tegelijkertijd of vlak na elkaar op hetzelfde monster, door dezelfde analist en onder dezelfde omstandigheden uitgevoerde bepalingen mag niet meer dan 0,1 g per 100 g produkt bedragen.

Het herhaalbaarheidsinterval moet worden gehaald in 95 % van de gevallen waarin deze methode wordt toegepast.

V.b. BEPALING VAN HET ASGEHALTE (P₂O₅ inbegrepen)

1. *Onderwerp en toepassingsgebied*

Deze methode dient voor de bepaling van het asgehalte van :
— leucaseïne.

2. *Definitie*

Asgehalte (P₂O₅ inbegrepen) : het met de aangegeven methode bepaalde gehalte aan as.

3. *Principe*

Een hoeveelheid van het monster wordt bij 825 ± 25 °C verast tot constante massa. Het residu wordt bepaald door wegen en berekend als massapercentage van het monster.

4. *Apparatuur*

4.1. Analytische balans

Schaaltes van silica of platina, doorsnede ongeveer 70 mm en 25 tot 50 mm diep.

4.2.

Elektrische oven met luchtcirculatie, ingesteld op 825 ± 25 °C.

4.3.

Exsiccator, met daarin vers geactiveerde silicagel met een hygrometrische indicator of een gelijkwaardig droogmiddel.

5. *Werkwijze*

5.1. Voorbehandeling van het analysemonster

Zie hoofdstuk 1.2 van de algemene bepalingen.

5.2. Voorbehandeling van het schaalte

Verwarm het schaalte (4.2) gedurende 30 minuten in de elektrische oven (4.3). Laat vervolgens het schaalte in de exsiccator (4.4) afkoelen tot de temperatuur van de ruimte waar de balans in staat en weeg het tot op 0,1 mg nauwkeurig.

5.3. Inweeg

Weeg tot op 0,1 mg nauwkeurig, ongeveer 3 g analysemonster (5.1) in het voorbehandelde schaalte af.

5.4. Bepaling

Verwarm het schaalte met inhoud op een kleine vlam, een kookplaat of met een infrarode lamp totdat de inweeg volledig is verkoold. Zorg er daarbij voor dat het monster geen vlam vat.

Verhit het schaalte gedurende ten minste één uur in de elektrische oven (4.3) of totdat alle kool uit het schaalte verdwenen is. Plaats dan het schaalte in de exsiccator (4.4) en laat het afkoelen tot de temperatuur van de balansruimte en weeg het tot op 0,1 mg nauwkeurig.

Herhaal het verhitten in de elektrische oven (4.3), steeds gedurende 30 min, het afkoelen en het wegen, totdat de massa binnen 1 mg constant blijft of weer begint toe te nemen. Noteer de laagst waargenomen massa.

6. *Weergave van de resultaten*

6.1. Berekening

De as van het monster, als massapercentage is gelijk aan

$$\frac{m_1 - m_2}{m_0} \times 100$$

waarin :

- m₀ de massa in grammen van de inweeg is;
- m₁ de massa in grammen van het schaalte met residu is;
- m₂ de massa in grammen van het voorbehandelde schaalte is.

Bereken het asgehalte (P₂O₅ inbegrepen) tot op 0,01 % nauwkeurig.

6.2. Herhaalbaarheid

Het verschil tussen de resultaten van twee tegelijkertijd of vlak na elkaar op hetzelfde monster, door dezelfde analist en onder dezelfde omstandigheden uitgevoerde bepalingen mag niet meer dan 0,15 g as per 100 g produkt bedragen.

Het herhaalbaarheidsinterval moet worden gehaald in 95 % van de gevallen waarin deze methode wordt toegepast.

VI. pH-BEPALING

1. *Onderwerp en toepassingsgebied*
Met deze methode wordt de pH bepaald van :
— caseïnatens.
2. *Definitie*
De pH van caseïnatens : de pH bij 20 °C van een waterige oplossing van caseïnatens, zoals met de aangegeven methode is bepaald.
3. *Principe*
De potentiometrische pH-bepaling van een waterige oplossing van caseïnaat, met behulp van een pH-meter.
4. *Reagentia*
Het bij de bereiding van reagentia of in de werkwijze (6) gebruikte water moet vers gedestilleerd water zijn, dat geen kooldioxyde heeft kunnen absorberen.
- 4.1. *Bufferoplossingen, voor het ijken van de pH-meter (5.2).*
Twee standaardbufferoplossingen met pH-waarden bij 20 °C, die in twee decimalen bekend zijn en aan weerskanten van de te toetsen pH-waarde liggen, bij voorbeeld een ftalaatbuffer met een pH van circa vier en een boraxbuffer met een pH van circa negen.
5. *Apparatuur*
 - 5.1. Balans, nauwkeurigheid 0,1 g.
 - 5.2. pH-meter, minimale gevoeligheid 0,05 pH-eenheid, met een geschikte glaselektrode en een calomel- of andere referentie-elektrode.
 - 5.3. Thermometer, nauwkeurigheid 0,5 °C.
 - 5.4. Conische kolf, 100 ml inhoud, voorzien van geslepen glazen stop.
 - 5.5. Bekerglas, 50 ml.
 - 5.6. Mengtoestel
 - 5.7. Bekerglas, voor het mengtoestel (5.6), inhoud ten minste 250 ml.
6. *Werkwijze*
 - 6.1. *Vorbereiding van het analysemonster*
Zie hoofdstuk 1.2 van de algemene bepalingen.
 - 6.2. *Bepaling*
 - 6.2.1. *Ijken van de pH-meter*
Breng de bufferoplossingen (4.1) op 20 °C en ijk de pH-meter volgens de gebruiksaanwijzing van de fabrikant.
Opmerkingen
 1. Het ijken dient plaats te vinden wanneer de kolven al 20 minuten staan (zie 6.2.2).
 2. Als een reeks monsters gemeten wordt, controleer dan tenminste om de 30 minuten de juiste instelling van de pH-meter met één of meer standaardbufferoplossingen.
 - 6.2.2. *Bereiding van de meetoplossing*
Doe 95 ml water in het bekerglas (5.7), voeg 5,0 g monster (6.1) toe en meng dit gedurende 30 seconden met behulp van het mengtoestel (5.6).
Bedek het bekerglas met een horlogeglas en laat het gedurende 20 minuten op ongeveer 20 °C staan.
 - 6.2.3. *pH-meting*
 - 6.2.3.1. Giet ongeveer 20 ml van de oplossing in het bekerglas (5.5) en bepaal onmiddellijk de pH van deze oplossing met behulp van de pH-meter (5.2), na de glaselektrode zorgvuldig met water te hebben gespoeld.
 - 6.2.3.2. Lees de op de schaal van de pH-meter aangegeven waarde af.
 7. *Weergave van de resultaten*
 - 7.1. *Resultaat*
Noteer de op de wijzerplaat van de pH-meter afgelezen waarde tot op 2 decimalen als de pH van de waterige oplossing van caseïnaat.
 - 7.2. *Herhaalbaarheid*
Het verschil tussen de resultaten van de tegelijkertijd of vlak na elkaar op hetzelfde monster, door dezelfde analist en onder dezelfde omstandigheden uitgevoerde bepalingen, mag niet meer dan 0,05 pH-eenheid voor caseïnaatoplossingen bedragen.
Het herhaalbaarheidsinterval moet worden gehaald 'n 95 % van de gevallen waarin de methode wordt toegepast.

Ons bekend om te worden gevoegd bij Ons besluit van 16 februari 1987.

BOUDEWIJN

Van Koningswege :

De Minister van Sociale Zaken,
J.-L. DEHAENE

De Staatssecretaris voor Volksgezondheid,
Mevr. W. DEMEESTER-DE MEYER