

**BESCHIKKING**  
**van het Comité van Ministers van de Benelux Economische Unie**  
**tot wijziging van Beschikking M (72) 12,**  
**betreffende de toepassing van Benelux-referentiemethoden van onderzoek**  
**inzake vleesextracten en vleesbouillon**  
**M (76) 4**

Het Comité van Ministers van de Benelux Economische Unie,

Gelet op artikel 1 van het Protocol van 29 april 1969, inzake de afschaffing van controles en formaliteiten aan de binnengrenzen van Benelux en inzake de opheffing van de belemmeringen van het vrije verkeer,

Overwegende dat het, gezien de ontwikkeling van de laboratorium-methoden van onderzoek, noodzakelijk is met name de methode van onderzoek inzake kreatinine als bedoeld in 2 van de bijlage behorende bij Beschikking betreffende de toepassing van Benelux-referentiemethoden van onderzoek inzake vleesextract en vleesbouillon, M (72) 12, te wijzigen,

Heeft het volgende beslist :

*Artikel 1*

Als Benelux-referentiemethode van onderzoek voor kreatinine in vleesextract en vleesbouillon geldt de hierna beschreven methode :

**KREATININE**

*Reagentia*

- Aluminiumoxyde volgens Brockmann
- Amberliet I.R. 120 (H)

Nieuwe nog niet gebruikte hars wordt uitgewassen met water, totdat het waswater kleurloos is. De hars is dan voor gebruik gereed.

Gebruikte hars kan als volgt geregenereerd worden. Breng 500 g hars in een glazen kolom voorzien van afvoerbuis met wattenprop. Was de hars met gedemineraliseerd water, totdat het waswater rood lakmoespapier niet meer blauw kleurt. Was vervolgens met  $2\frac{1}{2}$  l 2<sub>n</sub> HCL in minimaal 25-30 minuten.

Was vervolgens met ca. 10 l water, totdat het waswater blauw lakmoespapier niet meer rood kleurt.

Bewaar de hars in een afgesloten glazen pot onder water. Neem ieder half jaar nieuwe hars in gebruik.

Controleer de hars regelmatig met standaard-kreatinine-oplossing.

- Zoutzuur 4 n
- Ammonia 1 % (m/v)
- Waterige pikrinezuuroplossing 1,2 % (m/v)
- Trichloorazijnzuuroplossing 20 % (m/v)
- Natriumhydroxyde-oplossing 4 n
- Kreatinine-standaard oplossing :

Los 1,603 g van het dubbelzout van kreatinine en zinkchloride op in 500 ml gedestilleerd water in een maatkolf van 1 liter; voeg 100 ml n zoutzuur toe en vul met gedestilleerd water aan tot 1 liter. Deze oplossing bevat 1 mg kreatinine per ml. Zij is gedurende 6 maanden houdbaar.

1. Los in een maatkolf van 100 ml een afgewogen hoeveelheid van de waar op in heet water, zodanig dat de uiteindelijke oplossing een hoeveelheid kreatinine bevat in de orde van 0,045 mg per ml. Meng, koel af en vul aan tot 100 ml met gedestilleerd water. Centrifugeer het verkregen mengsel. Filtreer het centrifugaat, indien hier een laagje vet op drijft, door een vouwfilter.
2. Breng 50 ml filtraat in een maatkolf van 100 ml, voeg 10 ml trichloorazijnzuur toe, meng, plaats de kolf in een kokend waterbad. Koel na 15 minuten af en vul aan tot 100 ml met gedestilleerd water. Filtreer het mengsel.
3. Pipetteer 20 ml filtraat in een porceleinen schaalje en voeg 10 ml zoutzuur 4 n toe. Damp droog op een waterbad. Neem de droogrest na afkoelen op in 15 ml water en filtreer de oplossing onder zwak afzuigen door een zuil van aluminiumoxide. Bereid deze door in een glazen buis van 8 mm diameter en van onderen voorzien van een vernauwing, achtereenvolgens een wattenprop en 3 g aluminiumoxide aan te brengen.
4. Pipetteer 10 ml van het onder 3. verkregen eluaat door een zuil van amberliet. Bereid deze door in een glazen buis van 10 mm diameter en van onderen voorzien van een kraan, achtereenvolgens een wattenprop en 3 g amberliet (droge hars) in water via een trechtertje te brengen. Open de kraan een weinig, zodat de vloeistof druppelsgewijs de zuil in 10 minuten doorloopt. Was de zuil met 100 ml water in ongeveer een halfuur uit. Verwissel het opvangvat met een porceleinen schaal, die dicht onder de uitloop geplaatst wordt.  
Laat ongeveer 75 ml ammonia 1 % door de zuil lopen in een zodanig tempo dat deze in ongeveer 40 minuten wordt opgevangen. Damp in op een waterbad, totdat het grootste deel van de ammonia verdwenen is. Voeg 10 ml zoutzuur 4 n toe en damp verder in tot droog.
5. Los de droogrest op in 2 ml gedestilleerd water, voeg toe 1,5 ml pikrinezuur-oplossing en 0,6 ml natriumhydroxyde-oplossing. Laat na mengen precies 5 minuten staan. Verdun de inhoud van het schaalje met water en spoel de vloeistof uit het schaalje over in een maatkolf van 50 ml.

6. Meet na een bepaalde tijd liggende tussen 5 en 10 minuten in een fotometer bij 487,5 nm de absorptie ten opzichte van een blanco, verkregen door aan 2 ml water toe te voegen 1,5 ml pikrinezuuroplossing en 0,6 ml natriumhydroxyde-oplossing en met gedestilleerd water aan te vullen tot 50 ml.
7. Maak met inachtneming van dezelfde tijden, een ijklijn door de verschillen in absorptie te meten tussen de oplossingen met bekende concentraties aan kreatinine en de blanco. Verdun de kreatinine-standaard 10 maal met water. Pipetteer 0,3 ml, 0,8 ml, 1,4 ml, 2,0 ml en 3,0 ml in een reeks porceleinen schaaltes. Verdun de eerste drie schaaltes met water tot 2,0 ml. Damp het laatste schaalte op een waterbad tot droog in en neem de droogrest op in 2 ml gedestilleerd water. Pipetteer bovendien in een schaalte 2 ml gedestilleerd water. Behandel de schaaltes met pikrinezuur en natriumhydroxyde volgens 5.
8. Bereken het kreatininegehalte van de oplossing, verkregen onder 5. door de in 6. gemeten absorptie te vergelijken met de ijklijn. Het aantal milligrammen kreatinine in de onder 1. afgewogen hoeveelheid waar wordt verkregen door het aantal milligrammen kreatinine, aanwezig in de 50 ml oplossing bereid onder 5. te vermenigvuldigen met 15.

#### *Artikel 2*

1. De Regeringen van de drie Beneluxlanden nemen de nodige maatregelen opdat de referentiemethode van onderzoek voor kreatinine in vleesextract en vleesbouillon, als beschreven in artikel 1 van onderhavige Beschikking, op de dag van de ondertekening van de Beschikking in werking treedt.
2. Uiterlijk 6 maanden na afloop van de dag van ondertekening, als bedoeld in lid 1, brengt ieder der drie Regeringen verslag uit aan het Comité van Ministers over de maatregelen die zijn getroffen ter uitvoering van de onderhavige Beschikking. Bij dit verslag zal de tekst van de nationale uitvoeringsmaatregelen worden gevoegd.

#### *Artikel 3*

De methode, beschreven onder 2. van de bijlage, behorende bij Beschikking M (72) 12, betreffende de toepassing van de Benelux-referentiemethoden van onderzoek inzake vleesextract en vleesbouillon, vervalt.

GEDAAN te Brussel, op 26 januari 1976.

De Voorzitter van het Comité van Ministers,

G. THORN