

NIZO VERSLAG 762 V

RIKILT VERSLAG 80 G 20

80.66

Onderzoek Edammer kaas,
met natamycine behandeld
volgens de "sproeimethode".

Project: Onderzoek "aanvraagmonsters" kaaskorstbehandelingsmiddelen en grondstoffen hiervan.

Onderwerp: Onderzoek van Edammer kaas, volgens de "sproeimethode" behandeld met natamycine bevattende pekkel.

Doel:

Nagaan hoe het gedrag van natamycine is (concentratie, indringing) voor Edammer kaas die volgens een nieuwe procedure met natamycinehoudende pekkel behandeld is. Tevens nagaan de hoedanigheid van deze kaas als zodanig (vorm, samenstelling, conditie).

Samenvatting:

Dit verslag beschrijft de resultaten van een onderzoek naar hoeveelheid natamycine op en de indringsnelheid en indringdiepte van natamycine in Edammer kaas die gepekeld is volgens de "sproeimethode" met natamycinehoudende pekkel, alsmede van de eigenschappen van aldus behandelde kaas.

Conclusie:

Het gehalte aan natamycine op kaas die volgens de sproeimethode met natamycinehoudende pekkel behandeld is, kwam, nergens boven 1 mg/dm^2 , de door het EEG Wetenschappelijk Comité voor de menselijke voeding voorgestelde grens.

Er werd natamycine aangetroffen tot in een laag 1,5-2,25 mm vanaf de buitenkant van de kaas (Proefvariatie C, tabel 5.2).

Deze waarden wijken niet significant af van 'klassiek' behandelde kaas (Proefvariatie A, tabel 5.2).

Uit het onderzoek van de kaas als zodanig bleek dat deze in goede conditie blijft, zonder de noodzaak van plastificeren gedurende de eerste 14 dagen na fabricage. Bovendien was de vorm van de kaas zeer goed. Door het nieuwe proces wordt de over-all kwaliteit van het produkt verhoogd.

Verantwoordelijk: ir G. van den Berg NIZO, dr W.G. de Ruig, RIKILT
Medewerkers: C.B.G. Daamen NIZO, J.J. van Oostrom RIKILT.

1 Inleiding

2 Pekelmethode DMV-Campina

2.1 Sproeimethode

2.2 Schimmelwering

2.3 Eerder onderzoek

2.4 Voordelen sproeimethode

3 Proefopzet en -uitvoering.

4 Hoedanigheden van de kaas als zodanig

Resultaten

Conclusie.

5 Gedrag van natamycine

5.1 Opzet onderzoek

5.2 Schema uitvoering analyses

5.3 Resultaten en conclusies

5.3.1 Pekel

5.3.2 Kaasplastic

5.3.3 Kaas.

Bijlage 1: Beschrijving van het pekelsysteem volgens de sproeimethode.

Bijlage 2: Bemonstering Edammer kaas.

Bijlage 3: Bepaling natamycine, spectrofotometrische methode

Bijlage 4: Bepaling natamycine, HPLC methode.

1 Inleiding

Door DMV-Campina b.v. is een nieuw pekelsysteem voor Edammer kaas ontwikkeld, de z.g. sproeimethode. Bij deze methode wordt de kaas met natamycine behandeld door natamycine aan de pekeloplossing toe te voegen.

Aangezien het hier om een geheel nieuwe technologie gaat, werd in het kader van het Rijkstoezicht door het RIKILT een onderzoek ingesteld naar het gedrag van natamycine op kaas die volgens dit proces vervaardigd was.

Dit onderzoek werd gezamenlijk met het NIZO uitgevoerd, waarbij het NIZO de hoedanigheid van de kaas als zodanig onderzocht heeft.

Er is een proefopzet gemaakt, beschreven in RIKILT Nota 80 R 20. De uitvoering is als volgt geschied.

De kazen zijn bereid en gepekeld volgens de sproeimethode door DMV-Campina, onder supervisie van het NIZO. Andere kazen eveneens afkomstig van DMV-Campina zijn 'klassiek' gepekeld bij het NIZO. Alle kazen zijn bewaard en geplastificeerd bij het NIZO. Alle analyses van natamycine zijn uitgevoerd door het RIKILT. De proef is uitgevoerd met kazen uit één produktie.

2 Pekelmethode DMV-Campina

2.1 Sproeimethode

In verband met de wens tot mechanisering en arbeidsbesparing is bij DMV-Campina te Boekel een nieuwe pekelmethode ontwikkeld, waarbij het klassieke pekelpad vervangen is door een sproeimethode. Hierbij worden kazen direkt na het persen in rekken met netjes gehangen. Deze rekken worden in een zonodig gekoelde ruimte gereden, waar door middel van een sproei-installatie de pekeloplossing over de kazen wordt geleid. Door de ronde vorm van de Edammer kaas en de dimensionering van de rekken vindt hierbij een alzijdige bevochtiging van de kaas plaats. De pekelpel wordt van de betegelde vloer opgevangen en rondgepompt. Voor een beschrijving in detail van dit systeem zie Bijlage 1. Na 3 dagen pekelen worden de kazen in dezelfde stellingen overgebracht naar een kaaspakhuis te Roermond om te rijpen. Pas nadat de kazen 15 dagen oud zijn worden ze geplastificeerd of geparafineerd.

2.2 Schimmelwering

De hierboven beschreven werkwijze is alleen praktisch uitvoerbaar als tijdens het proces schimmelvorming wordt tegengegaan.

Dit kan op een zeer aantrekkelijke manier geschieden door natamycine aan de pekelplossing toe te voegen. Een concentratie van + 20 mg/kg is in de praktijk voldoende gebleken.

2.3 Eerder onderzoek

De gedachte om natamycine aan het pekelpad toe te voegen is niet nieuw. Bij DMV-Campina leefde aanvankelijk de gedachte een geheel nieuwe kaasfabriek te bouwen, waarbij gewerkt werd met natamycine bevattende pek. Voor het opdoen van ervaring werd hiervoor door de Directeur-Generaal voor Landbouw en Voedselvoorziening een voorlopige vergunning verstrekt. (Brief Min. v. Landbouw en Visserij, nr. VZ 262, 1979-02-28, nr VZ 118, 1980-01-22.) Het bleek dat de gewone natamycinesuspensie niet homogeen in de kaaspek, en dus ook niet over de kaas te verdelen was. Daarom werden proeven uitgevoerd met natamycine die eerst gedispergeerd werd in loog. Hierdoor werd de natamycine veel fijner verdeeld. Aan aldus geproduceerde Edammer kazen is door het RIKILT onderzoek verricht naar het gehalte en de indringdiepte van natamycine, zie RIKILT verslag 80 G 21. Hierbij bleek dat het maximale gehalte op de kaas 0,67 mg/dm² bedroeg. Er werd nog natamycine gevonden in één geval tot in een laag 2,25-3,75 mm van de buitenkant; meestal niet verder dan tot in een laag van 1,5-3 mm. Technologisch bleek ook deze "loogmethode" niet succesvol, met name het verschil in natamycine op de boven- en op de onderkant van de kaas bleef een moeilijkheid.

DMV-Campina heeft toen besloten dit hele systeem te laten varen en heeft de hierboven beschreven sproeimethode ontwikkeld.

2.4 Voordelen sproeimethode

De sproeimethode, zoals zich nu laat aanzien, heeft de volgende voordelen.

- Homogenere bedekking met natamycine.
- Grote pekcapaciteit op een klein oppervlak (bouw geheel nieuwe fabriek niet nodig).
- Efficiente en hygiënische hantering bij transport naar en opslag in het kaaspakhuis.
- Werkelijk ronde vorm van de kaas, in tegenstelling tot de afgeplatte vorm van 'klassieke' Edammers.

- Betere kwaliteit van de kaas en hoger rendement bij de productie, als gevolg van het feit dat de kaas tijdens de rijping in het kaaspakhuis volkomen in rust blijft (minder uitval, minder vochtplekken, minder kans op bacteriologische groei).

3 Proefopzet en -uitvoering

Van een willekeurige bak kaas, geproduceerd bij "Campina" te Boekel, werden 80 kazen genomen, beginnend vanaf de vierde rij uit de draineerbak, waarbij de buitenste twee kazen niet in de proef betrokken werden om systematisch in samenstelling afwijkende kazen te vermijden. Na het persen werden de kazen gewogen en vervolgens gesplitst in twee partijen. Eén partij werd gepekeld in Boekel volgens de onder 2 vermelde sproeimethode met natamycinehoudende pekels; de andere partij werd tijdens het omlopen naar het NIZO vervoerd en daar volgens het dieppekelsysteem gepekeld waarbij de pekels geen natamycine bevatte. In beide gevallen werd drie dagen gepekeld. Na het pekelen werden beide partijen kaas nogmaals in twee delen gesplitst in verband met het gebruik van plastikdispersies met en zonder natamycine. Schematisch werd als volgt gewerkt:

Partij 1: dieppekelen bij het NIZO (pekels zonder natamycine).

A. Geplastificeerd met Ceska WL 10 (bevat 0,025% natamycine)

B. Geplastificeerd met Ceska WL 30 (zonder natamycine).

Partij 2: sproeimethode in Boekel (pekels met 21 ppm natamycine).

C. Geplastificeerd met Ceska WL 10 (bevat 0,025% natamycine)

D. Geplastificeerd met Ceska WL 30 (zonder natamycine).

De kazen C en D werden na het pekelen vervoerd naar het NIZO waar alle kazen onder dezelfde condities werden bewaard wat betreft temperatuur en relatieve luchtvochtigheid. Proefvariaties C en D werden tot de vijftiende dag in de onder 2 genoemde netjes bewaard. Het plastificeren werd uitgevoerd volgens onderstaand schema:

Proefvariatie	Aantal dagen na produktie
A en B	5
A en B	8
A, B, C en D	15
A, B, C en D	28
A, B, C en D	70

Bij elke plastificeerbeurt werd de gehele kaas behandeld. De hoeveelheid gebruikte plasticdispersie werd per proefvariatie gewogen. Tevens werd van de natamycinehoudende plasticdispersie het gehalte aan natamycine bepaald bij elke plastificeerbeurt. De samenstelling van de kaas werd onderzocht op één dag en veertien dagen na de bereiding.

De kazen werden gewogen na het persen, één dag na het pekelen en veertien dagen na de bereiding.

4 Hoedanigheid van de kaas als zodanig (NIZO)

4.1 Resultaten en discussie

De pekels van Campina te Boekel en van het NIZO vertoonden, behalve het natamycine gehalte, weinig verschillen en de samenstelling was normaal. Wel is de temperatuur van de pekels in Boekel vrij sterk toegenomen tijdens het pekelp proces (tabel 4.1).

Tabel 4.1 Gegevens van de pekels van "Campina" te Boekel en van het NIZO

Herkomst pekels	Temperatuur °C		Samenstelling 19/5					
	19/5	22/5	NaCl (g/100g)	°Bé	Ca (g/100g)	pH	natamycine (ppm)	
							19/5	23/5
Boekel	12	16	17,48	18,7	0,19	4,61	21,0	19,1
NIZO	13	13	17,72	18,8	0,14	4,65	0	0

De samenstelling van de kaas na één dag (boormonster) was normaal. Na veertien dagen werd van beide pekelsystemen een kaas onderzocht. Er werden vier sektoren per kaas onderzocht, twee sektoren genomen in de lengterichting van de kaas, een sektor van de rijksmerkzijde en een sektor van de onderkant van de kaas (tabel 4.2).

Uit onderzoek van deze verschillende sektoren kon een indruk worden verkregen of de pekels gelijkmatig over de kaas stroomt. Dit bleek wel het geval te zijn.

Samenstelling van de kaas op 1 dag en 14 dagen na de bereiding

Tabel 4.2 Samenstelling van de kaas op 1 dag en 14 dagen na de bereiding

	Vocht- gehalte (%) norm: 45,5%	Vet gehalte (%)	Vet- gehalte in de droge stof (%)	NaCl- gehalte		pH
				in de kaas (%)	in de dr.stof (%)	
na 1 dag (<u>boommon- ster</u>)	48,4	22,4	43,4	n.b.	n.b.	5,23
na 14 dagen (<u>sektor- monster</u>)						
kaas gepekeld bij NIZO						
sektor uit de lengterichting*	43,2	24,0	42,3	2,40	4,22	5,22
sektor uit de lengterichting*	42,9			2,59	4,54	5,25
sektor uit de onderkant	43,6			2,53	4,48	5,22
sektor uit de rijksmerkzijde	43,2			2,49	4,38	5,19
Kaas gepekeld in Boekel						
sektor uit lengterichting*	42,5	24,3	42,3	2,29	3,98	5,22
sektor uit lengterichting*	42,6			2,22	3,68	5,23
sektor uit onderkant	42,8			2,43	4,28	5,18
sektor uit rijksmerkzijde	41,5			2,39	4,05	5,23

* met lengterichting wordt bedoeld: van rijksmerkzijde (iets platte kant) naar onderkant (eveneens iets platte kant).

Van de kazen die in Boekel gepekeld zijn, werd het pekerverlies bepaald. Dit verlies was normaal. De kazen gepekeld bij het NIZO werden pas een dag na het pekelen gewogen, waarbij de kazen uit Boekel ook weer gewogen werden. Na veertien dagen zijn alle kazen nogmaals gewogen. De gegevens over het gewichtsverlies door pekelen en indrogen staan vermeld in tabel 4.3, waarbij ze uitgedrukt zijn als percentage van het gewicht van de kaas na het persen.

Tabel 4.3 Gewichtsverlies door pekelen en indrogen bij de verschillende proefvariaties

Proef- variatie	Aantal kazen	Gewicht na persen (kg)	Gewicht na pekelen (kg)	Gew.verlies door pekelen (%)	Gewicht 1 dag na pekelen (kg)	Gew.ver- lies door pekelen en 1 dag (kg)	Gewicht na 14 dagen (kg)	Totaalgew.- verlies tot 14 d na be- reiding (%)
A	13	26,93	n.b.	—	25,06	6,9	23,93	11,5
B	14	29,04	n.b.	—	27,03	6,9	25,73	11,8
C	18	37,70	35,21	6,6	34,88	7,5	32,72	13,5
D	19	39,51	36,80	6,9	36,28	8,2	33,88	14,2

Het gewichtsverlies van de kazen tijdens het pekelen in Boekel was wat hoger dan bij het NIZO. Dit is gedeeltelijk toe te schrijven aan de hoge temperatuur van de pekel. Het gewichtsverlies door indrogen in het pakhuis was bij deze kazen ook meer dan 1% hoger dan van de kazen die bij het NIZO werden gepekeld, zodat het totale verlies van deze kazen vrij hoog was. Bij de berekening is het gewicht gekorrigeerd voor de opgebrachte hoeveelheid plastik, die voor ca. 60% achterblijft op de kaas.

Het hoge gewichtsverlies is toe te schrijven aan het bewaren van alle proefvariaties in dezelfde ruimte, zodat de niet-geplastificeerde kaas gemakkelijker zijn vocht afstond dan de geplastificeerde kaas. In de praktijk wordt dit hogere gewichtsverlies door indrogen bij opslag in netjes voorkomen door een hogere relatieve vochtigheid van de lucht in te stellen. Het vochtgehalte, gevonden bij het sektor onderzoek veertien dagen na de bereiding, was ook wat lager.

De hoeveelheid opgebrachte plastikdispersie werd per proefvariatie bij elke plastificeerbeurt vastgelegd. Deze gegevens staan vermeld in tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hoeveelheid opgebrachte plastikdispersie in mg per dm² kaasoppervlak

Datum van plastificeren Proef- variatie	23/5	27/5	2/6	16/6	28/7
A	1500	990	1250	1626	1460
B	1300	860	1040	1790	975
C	—	—	1250	813	1460
D	—	—	1040	1140	975

Door de wijze van plastificeren kwamen nogal grote verschillen in opgebrachte hoeveelheden voor. De hoeveelheid opgebrachte plastikdispersie per kaas kan ook duidelijke verschillen vertonen. Bij elke plastificeerbeurt werd het gehalte natamycine in de plastik bepaald. Uit deze gegevens en de hoeveelheid opgebrachte plastikdispersie kan de gemiddelde hoeveelheid natamycine, die per dm^2 kaasoppervlak was opgebracht berekend worden (tabel 4.5).

Tabel 4.5 Hoeveelheid opgebrachte natamycine in mg per dm^2 kaasoppervlak

Datum van plastificeren Proef- variatie	23/5	27/5	2/6	16/6	28/7	Totaal
A	0,18	0,11	0,12	0,18	0,29	0,88
B	0	0	0	0	0	0,0
C	-	-	0,12	0,09	0,29	0,50
D	-	-	0	0	0	0,0

Veertien dagen na de bereiding vertoonde proefvariatie B iets wit beslag op de kaas. Na tien weken vertoonden alle proefvariatiën iets schimmelgroei, vooral proefvariatie B. Alle kaas is toen met een vochtige spons schoongemaakt en opnieuw geplastificeerd.

4.2 Conclusie

Uit het onderzoek is gebleken dat de kaas, gepekeld volgens de sproeimethode met natamycine bevattende pekkel, tot vijftien dagen na produktie in goede conditie blijft. Bovendien was de vorm van de kaas na bewaren in de netjes zeer goed.

5 Gedrag van natamycine

5.1 Opzet onderzoek

Van het gedrag van natamycine bij kaas, bereid volgens de sproeimethode zijn twee factoren van belang:

- 1e de hoeveelheid natamycine per oppervlakte-eenheid kaaskorst
- 2e de indringdiepte van de natamycine in de kaas.

Om een en ander na te gaan zijn plakken kaas met een goed gedefinieerde dikte op reproduceerbare wijze van de kaas afgesneden. Voor voorschrift bereiding analysemonster zie bijlage 2.

De kaas(korst)monsters zijn geanalyseerd volgens een spectrofotometrische en met een HPLC methode uitgevoerd, zie voorschriften in Bijlage 3 resp. 4. Tevens werd het natamycinegehalte in de door DMV-Campina gebruikte pekels en in de door het NIZO gebruikte kaasplastic bepaald.

5.2 Schema uitvoering analyses

De door DMV gebruikte pekeloplossing werd geanalyseerd aan het begin en aan het eind van het pekelp proces.

De plastics die natamycine bevatten werden geanalyseerd ongeveer ten tijde van de behandeling van de kazen met het desbetreffende middel.

De analyses van de kaas zijn als volgt uitgevoerd.

1e direkt na het pekelen	kazen proefvariatie A en C
2e na 14 dagen	kazen proefvariatie A, B en C
3e na 1 maand	kazen proefvariatie A, B, C en D
4e na 2 maanden	kazen proefvariatie A, B, C en D
5e na 3 maanden	kazen proefvariatie A, B, C en D

De proefvariaties A t/m D hebben de volgende behandelingen ondergaan

Proef- variatie	Pekelsysteem	Natamycine in pekelsbad	Natamycine in kaasplastic
A	'klassiek'	neen	ja
B	'klassiek'	neen	neen
C	sproeimethode	ja	ja
D	sproeimethode	ja	neen

Een volledige beschrijving van de proefopzet en -uitvoering is gegeven in hoofdstuk 3.

Voor de overzichtelijkheid wordt hieronder een schema gegeven met de natamycinebehandelingen en een chronologisch overzicht van analyseren en plastificeren.

pekel- systeem	Natamycine in		Analyseserie *)				
	Pekel	Plastic	I	II	III	IV	V
A klassiek	-	+	③ 3 7 14 14		1 mnd 1 mnd	2 mnd 2,5 mnd	3 mnd
B klassiek	-	-		3 7 14 14	1 mnd 1 mnd	2 mnd 2,5 mnd	3 mnd
C sproei- methode	+	+	③	14 14	1 mnd 1 mnd	2 mnd 2,5 mnd	3 mnd
D sproei- methode	+	-		14	1 mnd 1 mnd	2 mnd 2,5 mnd	3 mnd

Plastificeren na ☐ dagen

Analyse na ☐ dagen

I, II, enz.: analyseserie, als vermeld in Tabel 5.1 en 5.2.

5.3 Resultaten en conclusies

5.3.1 Pekel

Ontvangen 1980-05-19 natamycinegehalte 21,04 mg/kg

Ontvangen 1980-05-23 natamycinegehalte 19,15 mg/kg

Conclusie

De streefconcentratie van natamycine in de door DMV-Campina gebruikte pekeloplossing is 20 mg/kg. De toegepaste pekeloplossing blijkt hieraan te voldoen. De concentratie is gedurende de drie dagen pekelen slechts weinig teruggelopen. Er werd in deze periode geen nieuwe natamycine aan de pekeloplossing toegevoegd.

5.3.2 Kaasplastic

WL 10 ontvangen 1980-05-23, natamycinegehalte 0,012%

WL 10 ontvangen 1980-05-27, natamycinegehalte 0,011%

WL 30 ontvangen 1980-06-04, natamycinegehalte 0,010%

WL 10 ontvangen 1980-07-14, natamycinegehalte 0,010%

WL 10 ontvangen 1980-07-25, natamycinegehalte 0,021%

Conclusie

De concentratie van de kaasplastic Ceska WL 10 behoort te zijn 0,025% natamycine. Bij de eerste vier malen plastificeren voldeed het middel hier niet aan, de laatste maal (na 2,5 maand) is een nieuwe partij gebruikt en was de concentratie in orde.

Kaas

De resultaten van dit onderzoek zijn vermeld in Tabel 5.1 en 5.2, uitgedrukt in mg/kg resp. mg/dm².

Conclusie

- 1 Het natamycinegehalte uitgedrukt per dm² oppervlak komt in geen van de gevallen boven 1 mg/dm² uit, de grens genoemd in het advies van het EEG Wetenschappelijk Comité van de menselijke voeding.
- 2 De totale hoeveelheid opgebrachte natamycine lijkt bij proefvariatie C iets hoger te zijn dan bij A.
- 3 Wat de indringdiepte betreft, er wordt nog natamycine aangetoond tot maximaal in een laag 1,5-2,25 mm vanaf de buitenkant.
- 4 Dit geldt zowel voor de 'klassiek' behandelde kazen A als voor de volgens de sproeimethode bereide kazen C en D.
- 5 De diepte tot waar nog natamycine wordt aangetroffen schijnt met de tijd eerst toe en daarna weer af te nemen. Een maximum wordt bereikt na ongeveer 2 maanden.

dR/W

Tabel 5.1 Natamycine op/in Edammer kaas. Gehalten in mg/kg

Analyse serie	datum	Spectrof. meth.				H.P.L.C. meth.			
		plak 1	plak 2	plak 3	plak 4	plak 1	plak 2	plak 3	plak 4
Kaas A (klassiek, natamycine in plastic)									
I	23-5	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
II	2-6*					21,6	1,6	n.a.	n.a.
III	16-6	54,8	0,9	n.a.	n.a.	niet onderzocht			
IV	14-7	60,6	n.a.	n.a.	n.a.	45	1,5	0,6	n.a.
V	11-8	77,4	n.a.	n.a.	n.a.	113,9	1,9	0,1	n.a.
Kaas B (klassiek, geen natamycine in plastic)									
I	23-5	niet ontvangen							
II	2-6*					n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
III	16-6	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	niet onderzocht			
IV	14-7	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
V	11-8	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Kaas C (sproei, natamycine in pekkel en plastic)									
I	23-5	14,5	1,5	n.a.	n.a.	8,7	0,9	n.a.	n.a.
II	2-6*					21,5	1,9	0,7	n.a.
III	16-6	45,5	0,6	n.a.	n.a.	niet onderzocht			
IV	14-7	61,4	3,9	1,2	n.a.	58	1,8	0,9	n.a.
V	11-8	104,2	2,1	n.a.	n.a.	128,9	2,1	0,1	n.a.
Kaas D (sproei, natamycine in pekkel, niet in plastic)									
I	23-5	niet ontvangen							
II	2-6	niet ontvangen							
III	16-6	12,9	n.a.	n.a.	n.a.	niet onderzocht			
IV	14-7	4,7	1,3	n.a.	n.a.	10,5	1,5	0,4	n.a.
V	11-8	14,6	n.a.	n.a.	n.a.	9,9	1,5	0,4	n.a.
Afstand vanaf bui- tenkant kaas (mm)									
		0,75	1,50	2,25		0,75	1,50	2,25	

Dikte van alle plakken: 0,75 mm.

* In afwijking van de proefopzet volgens RIKILT Nota 80 R 20 zijn de series A en C met en de series B en D zonder natamycinehoudende plastic behandeld. Hierdoor zijn er van de analyses van serie II alleen HPLC gegevens beschikbaar. Vanaf serie III is voor de spectrofotometrische methode gemeten met de overeenkomstige plakken van de kazen B als blanco.

n.a. = < 1 mg/kg voor de spectroscopische methode
< 0,5 mg/kg voor de HPLC methode

Tabel 5.2 Natamycine op/in Edammer kaas. Gehalten in mg/dm².

Analyse serie	datum	Spectrof. meth.					H.P.L.C. meth.				
		plak 1	plak 2	plak 3	plak 4	totaal	plak 1	plak 2	plak 3	plak 4	totaal
Kaas A (klassiek, natamycine in plastic)											
I	23-5	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	—	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	—
II	2-6*						0,16	0,011	n.a.	n.a.	0,17
III	16-6	0,41	0,007	n.a.	n.a.	0,42	niet onderzocht				
IV	14-7	0,45	n.a.	n.a.	n.a.	0,45	0,34	0,011	0,04	n.a.	0,39
V	11-8	0,58	n.a.	n.a.	n.a.	0,58	0,85	0,014	0,0008	n.a.	0,86
Kaas B (klassiek, geen natamycine in plastic) (= blanco)											
I	23-5	niet ontvangen									
II	2-6*						n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	—
III	16-6	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	—	niet onderzocht				
IV	14-7	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	—	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	—
V	11-8	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	—	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	—
Kaas C (sproei, natamycine in pekkel en in plastic)											
I	23-5	0,11	0,011	n.a.	n.a.	0,12	0,065	0,007	n.a.	n.a.	0,07
II	2-6*						0,16	0,014	0,005	n.a.	0,18
III	16-6	0,34	0,004	n.a.	n.a.	0,34	niet onderzocht				
IV	14-7	0,46	0,029	0,009	n.a.	0,50	0,44	0,014	0,007	n.a.	0,46
V	11-8	0,78	0,016	n.a.	n.a.	0,80	0,97	0,016	0,0008	n.a.	0,99
Kaas D (sproei, natamycine in pekkel, niet in plastic)											
I	23-5	niet ontvangen (identiek met C)									
II	2-6	niet ontvangen (" " ")									
III	16-6	0,097	n.a.	n.a.	n.a.	0,10	niet onderzocht				
IV	14-7	0,035	0,01	n.a.	n.a.	0,04	0,079	0,011	0,003	n.a.	0,09
V	11-8	0,11	n.a.	n.a.	n.a.	0,11	0,074	0,011	0,003	n.a.	0,09
Afstand van bui- tenkant kaas (mm)											
		0,75	1,50	2,25			0,75	1,50	2,25		

Dikte van alle plakken 0,75 mm

* In afwijking van de proefopzet volgens RIKILT Nota 80 R 20 zijn de series A en C met en de series B en D zonder natamycinehoudende plastic behandeld. Hierdoor zijn er van de analyses van serie II alleen HPLC gegevens beschikbaar. Vanaf serie III is voor de spectrofotometrische methode gemeten met de overeenkomstige plakken van de kazen B als blanco.

n.a. = < 0,0075 mg/dm² voor de spectroscopische methode
 < 0,004 mg/dm² voor de HPLC methode

Beschrijving van het pekelsysteem volgens de sproeimethode zoals dit
is ontwikkeld bij Campina te Boekel

De kaas wordt na het persen in netjes gehangen. Deze netjes zijn bevestigd in een houten frame. In elk frame is plaats voor twaalf kazen. Voor het pekelen worden deze frames met kaas in een stelling geschoven, zodanig dat de kazen recht onder elkaar hangen. In het huidige systeem worden tien lagen boven elkaar geplaatst. Elke laag heeft twee rekjes van twaalf kazen zodat per stelling 240 kazen gepeld kunnen worden.

Vanuit een pekelpak met een inhoud van ca. 2000 l wordt pekelp gepompt en over de kazen gespreid. Boven de bovenste kazen loopt een buis waarin boven elke kolom kazen een gat is aangebracht. De pekelp stroomt dan van de ene kaas op de andere en wordt onder de stelling opgevangen en gaat terug naar de pekelpak. Per stelling wordt ca. 2000 l/h gecirculeerd.

Bemonstering Edammer kaas

Analysemonster

Door de ronde vorm levert een Edammer kaas moeilijkheden op bij de voorbereiding van het analysemonster.

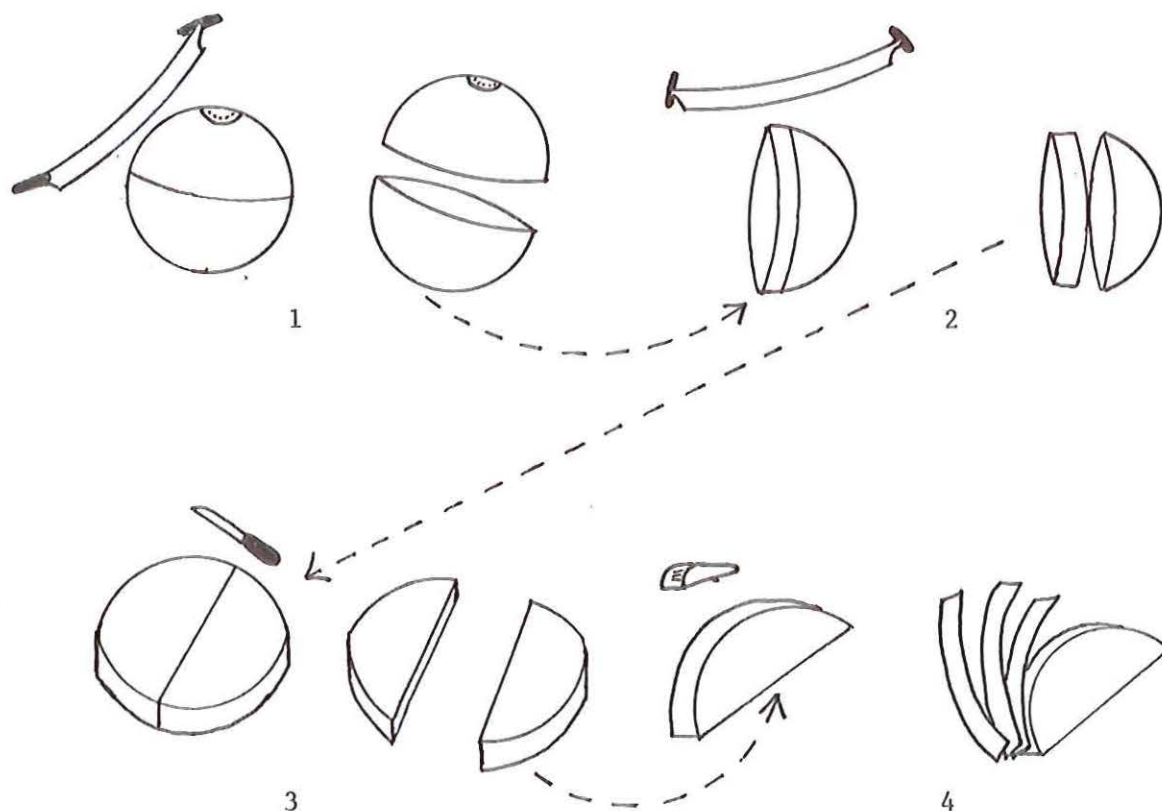
De volgende werkwijze is bij het RIKILT ontwikkeld en toegepast:

De kaas wordt doorgesneden op ca. 1 cm van het midden (1).

Van het breedste gedeelte wordt een schijf van 2 cm gesneden (2).

Deze schijf wordt middendoor gesneden (3).

Van het nu verkregen stuk kaas worden met een "david schaaf" plakken van 0,75 mm dikte gesneden (4).



Intern Analyse voorschrift Nr. G. 160 (kaasdekmiddelen).

1e oplage(1980-04-29).

BEPALING VAN NATAMYCINE IN KAAS EN KAASKORST.

1. Beginsel

Natamycine wordt uit kaas of kaaskorst geëxtraheerd en spectrofotometrisch bepaald.

2. Reagentia

2.1. Methanol p.a.

3. Apparatuur en glaswerk

3.1. Erlenmeyers 150 - 200 ml.

3.2. Maatcilinders: 50 - 100 ml.

3.3. Schudapparaat voor erlenmeyers.

3.4. Trechters ϕ 8 cm.

3.5. Filters Whatman 540.

3.6. Spectrofotometer geschikt voor U.V.

3.7. Cuvetten, kwarts 1 cm.

4. Werkwijze

Snij de kaas of kaaskorst in kleine stukjes.

Weeg nauwkeurig 5 of 10 g af in een erlenmeyer.

Voeg respectievelijk toe 50 of 100 ml methanol.

Plaats de erlenmeyer in een schudapparaat en laat $1\frac{1}{2}$ uur schudden.

Dit moet in een verduisterde ruimte geschieden.

Filtreer de oplossing door een Whatman 540 filter, eventueel een tweede maal als het filtraat niet helder is.

Meet het filtraat bij 295,5 en 311 nm (minima) en 303 nm (maximum) in een 1 cm kwartscuvet.

Deze golflengten dienen gecontroleerd te worden.

Gebruik als blanco een extract van natamycinevrije kaas.

5. Berekening

$$C = A \left\{ E_1 - \frac{1}{2} (E_2 + E_3) \right\}$$

Waarin:

C = concentratie natamycine in µg/ml.

A = constante factor 15,7.

$E_1 = E_{303}$

$E_2 = E_{295,5}$

$E_3 = E_{311}$

Wageningen, 1980-05-13.

Paraaf scheikundige : dr W.G. de Ruig.

Paraaf samensteller/medewerker: J.J. van Oostrom.

DR
vd

c.c. De Ruig,
Van Oostrom,
Van Doesburgh,
Circulatie.

INTERN ANALYSEVOORSCHRIFT nr. F 41

2e oplage (1980-05-12).

DE VLOEISTOFCHROMATOGRAPHISCHE BEPALING VAN NATAMYCIN IN KAAS

1. PRINCIPE

Na bevochtigen van de kaaskorst wordt natamycin (= pimaricine) geëxtraheerd met methanol, waarna de "eiwitten" worden neergeslagen door toevoegen van carrez I en carrez II-oplossing gevolgd door centrifugeren.

Van de bovenstaande vloeistof wordt na concentreren 40 µl geïnjecteerd in de vloeistofchromatograaf.

De onderste grens van aantoonbaarheid bedraagt ca. 0,2 mg/kg terwijl de recovery > 80% is.

De methode is zowel geschikt voor natuurlijke kaaskorst als voor plastic kaaskorst.

2. REAGENTIA

2.1. Methanol P.A.

2.2. Azijnzuur gec. P.A.

2.3. Carrez I oplossing (21,9 g $\text{Zn}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en 3 ml ijsazijn oplossen in 100 ml H_2O).

2.4. Carrez II oplossing (10,6 g $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ oplossen in 100 ml H_2O).

2.5. Standaard Natamycin 3 aq. (Gist Brocades).

Concentratie 5 µg/ml (in bruine maatkolf) in methanol.

2.6. Filters Whatman No. 5.

3. APPARATUUR

3.1. Ultra-Turrax.

3.2. Centrifuge (tafelmodel).

3.3. Centrifugebuizen 250 en 10 ml.

3.4. Hoge bekerglazen van 300 ml.

3.5. Filterspuit (b.v. Satorius).

3.6. Roterende vacuümverdamer.

3.7. Vloeistofchromatograaf met U.V. detector.

3.8. Pneumatische tijdgeschakelde driewegkraan.

3.9. Kolom: roestvrij staal, lengte 10 cm, inwendige diameter 3,1 mm,
uitwendige diameter 6,4 mm.

Pakking: Lichrosorb 10 RP 8.

3.10. Voorkolom: Roestvrij staal, lengte 10 cm, inwendige diameter 2,1 mm,
uitwendige diameter 6,4 mm.

Pakking: Perisorb RP 8 (30-40 μ m).

4. Instelling vloeistofchromatograaf

Eluens: Methanol-water 6:4 + 5% azijnzuur. (Het percentage azijnzuur dient verlaagd te worden naarmate de kaas meer verontreiniging bevat).

Flow: $\approx$ 1 ml/min.

Golflengte: 303 nm.

Gevoeligheid maximaal.

Recorder: 10 m.V.

Papiersnelheid: 0,5 cm/min.

5. Werkwijze

N.B. De bepaling moet geschieden onder uitsluiting van daglicht.

5.1. Snij het monster fijn. Breng 20 gram (= m) van het monster (het hiermee overeenkomend kaasoppervlak moet bekend zijn, zie opmerking 1) in een hoog bekerglas van 300 ml.

Voeg toe 10 ml water en na 15 minuten 40 ml methanol.

Macereer dit mengsel gedurende 2 à 3 minuten met een Ultra-Turrax.

Voeg achtereenvolgens 1 ml carrez I en 1 ml carrez II oplossing toe, schud krachtig en verdun na ca. 30 min. met 40 ml methanol, waarna het mengsel gecentrifugeerd wordt bij 3000 toeren per minuut (Tarreren).

Filtreer de bovenstaande vloeistoflaag af (volume = V 1) en concentreer hiervan 25 ml (V 2) aan de roterende vacuumverdamer bij een temperatuur van 40 °C tot een volume kleiner dan 5 ml. Vul dit-aan tot 5,0 ml (V 3) met methanol en centrifugeer gedurende 10 min bij 4000 toeren per min (Tarreren).

Van de bovenstaande vloeistof wordt een aliquot gefiltreerd m.b.v. de filterspuit, waarna 40 μ l van het heldere extract geïnjecteerd wordt in de vloeistofchromatograaf.

5.2. Het maken van de ijklijn.

Injekteer achtereenvolgens in de vloeistofchromatograaf 25-50-100-150-200 nanogram natamycin, meet van de pieken het oppervlak (in mm^2) en zet de gevonden waarde uit op de y-as tegen de geïnjecteerde hoeveelheden in nanogrammen op de x-as.

6. Berekening

Het gehalte in mg/kg aan natamycin in kaas(korst) wordt berekend met de volgende formule:

$$= \frac{(Y-B)}{a} \times \frac{V1 \times V3}{m \times V2 \times Vm}$$

waarin:

Y = oppervlakte van de piek (mm^2)

B = afsnede van y-as (mm^2)

a = richtingscoëfficiënt van de ijklijn

V1 = volume van de totale extractievloeistof (92 ml + vocht uit de kaas) (ml).

V2 = het volume, wat in bewerking is genomen (ml).

V3 = het volume waarin het eindextract zich bevindt (ml).

Vm = injectievolume van het monster (μl).

m = afgewogen hoeveelheid monster in grammen.

7. Bevestiging

Bij een positief resultaat kunnen de volgende bevestigingen uitgevoerd worden.

7.1. Van het extract verkregen onder 5.1 wordt 40 μl in de vloeistofchromatograaf geïnjecteerd, waarbij de golflengte veranderd wordt van 303 nm $\rightarrow$ 313 nm. Construeer een nieuwe ijklaan bij 313 nm, waarna het gehalte aan natamycin in mg/kg berekend kan worden volgens 6. De aldus gevonden gehalten mogen niet meer dan 10% van elkaar afwijken.

7.2. M.b.v. een pneumatisch geschakelde driewegkraan, die na de UV-detektor is gemonteerd, wordt de fractie welke de natamycin bevat uitgevangen, waarna de aanwezigheid van natamycin bevestigd kan worden met een van de volgende technieken:

- Microbiologisch;
- Spectrofotometrisch (UV);
- Massaspectrometrisch.

8. Opmerkingen

- 8.1. Daar de tolerantie van natamycin op kaaskorst geldt per dm^2 met een diepte van 1 mm, dient men het oppervlak van de kaaskorst te meten zodat het gehalte in mg/kg verkregen volgens 6 omgerekend kan worden naar mg/dm^2 .

Paraaf scheikundige: ir L.G.T.M.Th. Tuinstra

Paraaf samensteller: W.A. Traag. *W.A. Traag*

cc origineel Humme, bibliotheek (15x), circulatiemap, Tuinstra, Traag,
archief

Verzendlijst: Dir. RIKILT,

Buizer,
Oortwijn,
De Ruig,
Tuinstra,
Dir. VKA,
Feberwee,
De Wit,
Top,
VZ Klomp,
NIZO V.d. Berg (2x),
DMV (5x),
Balder (BCS-Deventer),
V.d. Bas (ZCI),
Driesen (Kaasmerk),
V.d. Kolk (KCS Alkmaar),
Poortvliet (KCS Leeuwarden).