

Lab. Additieven, Contaminanten

Melk en Zuivel 1982-03-08

VERSLAG 81.57 Pr.nr. 404.0210

Onderwerp: Het gehalte aan natamycine  
op en in Nederlandse kaas

Verzendlijst: Directeur, sektorhoofd (3x), Directie VKA, afd.  
Contaminanten, afd. Additieven (10x), afd. Melk en Zuivel,  
Normalisatie (Humme), Projectbeheer, mw. Werdmuller, De  
Ruig, ZCI Leusden, Directie V en Z.



VERSLAG 81.57

Project: Inventariserend onderzoek naar het voorkomen van natamycine

Onderwerp: Het gehalte aan natamycine op en in Nederlandse kaas

---

Doel

Het bepalen van het natamycinegehalte op en in Nederlandse kaas, bestemd voor de binnenlandse markt en die gehalten te toetsen aan de door het "Wetenschappelijk Comité voor de Menselijke Voeding" van de EEG voorgestelde norm (1 mg/kg), aan de concept norm (2 mg/kg) uit het Ontwerp Kaasbesluit (Warenwet) en de LKW beschikking Kaas, door Nederland voorgesteld in de EEG Werkgroep Additieven.

Het vergelijken van de analyseresultaten van de verschillende methoden van onderzoek (spectrofotometrische en HPLC methode) en de eerder in verslag 80.53 gerapporteerde gehalten.

Samenvatting

Er werden 31 monsters genomen van kazen afkomstig uit pakhuizen door geheel Nederland, klaar voor aflevering aan de detaillisten. Het natamycinegehalte werd bepaald door het Zuivelcontrole-instituut en het RIKILT met een door beide instituten ontwikkelde spectrofotometrische methode. Op het RIKILT bovendien nog met de meer gevoelige HPLC methode, waarmee tevens van enkele kazen de indringdiepte van het natamycine werd bepaald.

De gemiddelden van de aldus gevonden gehalten gaven het volgende resultaat:

kleiner dan 1 mg/dm<sup>2</sup> 22 kazen 71% van de gevallen

kleiner dan 2 mg/dm<sup>2</sup> 30 kazen 97% van de gevallen.

Conclusies

1. De uitkomsten van de drie reeksen bepalingen stemmen redelijk overeen. Hoewel er statistisch geringe verschillen zijn aan te tonen, kan men gezien het feit dat de analyses op verschillende tijden zijn uitgevoerd, hieruit geen verdere conclusies trekken.

2. Migratie van natamycine dieper dan 5 mm is niet geconstateerd en lijkt onwaarschijnlijk, op een diepte van 1 mm werd wel natamycine gevonden.
3. Uit het vergelijkend onderzoek van de verschillende methoden kan afgeleid worden dat de met de HPLC methode gemeten eerder gerapporteerde gehalten van natamycine in kaas verkregen via de detailhandel, verhoogde gehalten te zien gaven, hetgeen misschien veroorzaakt is door tekortkomingen van de toen beschikbare schilmethode.
4. Bij dit onderzoek blijkt overschrijding van de conceptnormen 1 mg/dm<sup>2</sup> en 2 mg/dm<sup>2</sup> voor te komen:  
voor 1 mg/dm<sup>2</sup> in gem. 29% van de gevallen  
voor 2 mg/dm<sup>2</sup> in gem. 3% van de gevallen  
(zie Tabel 1).
5. Wanneer er een maximumgehalte aan het natamycinegehalte op de kaas van kracht wordt, dienen er aan de gebruikers van kaasdekmiddelen richtlijnen te worden gegeven om overschrijding van dit maximum te voorkomen.  
Een aanbeveling kan zijn het gebruik af te raden van een kaaskorst-behandelingsmiddel met meer dan 0,025% natamycine bij herhaald plastificeren.

---

Verantwoordelijk: dr W.G. de Ruig, ir L.G.M.Th. Tuinstra

Medewerkers: J.J. van Oostrom, W. Lagerwel, W.A. Traag *W.A.*

Statistiek: mw G.A. Werdmuller

Verslag: ir H. Oortwijn, dr W.G. de Ruig en ir L.G.M.Th. Tuinstra

Projectleider: dr W.G. de Ruig

*oecovd*



Het gehalte aan natamycine op en in Nederlandse kaas.

## 1. Inleiding

In Nederland wordt natamycine toegevoegd aan korstbedekkingsmiddelen, ter voorkoming van schimmelgroei op kaas. De concentraties in deze middelen variëren van 0,01-0,1%. Het aantal malen dat het middel wordt toegepast hangt af van de leeftijd en de bewaarcondities van de kaas en de hoeveelheid per keer zullen aan fluktuaties onderhevig zijn. Ook ontleedt het natamycine tijdens bewaring. Dit zal zijn uitwerking hebben op de natamycineconcentratie in de korst van de kaas op het moment dat de kaas wordt geconsumeerd.

Er zijn wettelijke regels gesteld om te voorkomen dat de consument ontoelaatbare hoeveelheden natamycine tot zich neemt.

Ten aanzien van het middel zelf wordt in de Beschikking 1970-02-11 nr. 201781 gesteld dat het per kg niet meer 1000 mg natamycine mag bevatten. In dezelfde beschikking staat, dat na verwijdering van een ongeveer 1 mm dikke buitenlaag geen natamycine aantoonbaar mag zijn in de kaas.

Momenteel bestaan er in ons land geen wettelijke regels voor het natamycinegehalte in de kaaskorst.

Voor de toekomst liggen twee verschillende voorstellen klaar. Het eerste staat in het ontwerp Kaasbesluit (Warenwet) en het ontwerp Kaaskwaliteitsbeschikking (Landbouwkwaliteitswet) en luidt: natamycine mag slechts op de korst van de kaas en in de 1 mm dikke buitenlaag van de kaas aanwezig zijn tot ten hoogste 2 mg per dm<sup>2</sup> kaasoppervlakte. Daarnaast is er een voorstel van het Wetenschappelijk Comité voor de Menselijke Voeding van de EEG gedaan in oktober 1979 het natamycinegehalte in de korst niet hoger te laten zijn dan 1 mg per dm<sup>2</sup> met een maximale indringdiepte van 5 mm. In de vergadering van de EEG werkgroep Additieven van 1981-06-23 heeft Nederland voorgesteld het maximumgehalte op 2 mg/dm<sup>2</sup> te stellen. Naast de onduidelijkheid van wat precies wordt verstaan onder de buitenlaag van de kaas (is dit inclusief of exclusief de plastic laag op de kaas) is ook de indringdiepte die gevonden wordt een betrekkelijke grootte; deze is namelijk afhankelijk van de gevoeligheid van de gebruikte methode. Toen deze voorstellen werden geformuleerd ging men er van uit dat het natamycine niet de kaas binnendringt. Na verbetering van de analysetechniek in samenhang met een verbeterde schiltechniek is gebleken dat dit uitgangspunt niet juist is.



Uit recent RIKILT onderzoek is gebleken dat de 1 mm grens een irreële is (6,7). In Edammer resp. Goudse kaas werd hierbij met de spectrofotometrische en de HPLC methode natamycine aangetoond tot in lagen van 1,5-2,25 tot 2,25-3,0 mm vanaf de buitenkant, bij Goudse komijnekaas tot in een laag van 3,75-4,5 mm. De indringing bleef volgens deze onderzoekingen dus wel beneden het EEG voorstel van 5 mm.

Om enig inzicht te krijgen in het natamycinegehalte dat op Nederlandse kaas aanwezig is, zijn 31 kazen afkomstig uit pakhuizen verspreid over geheel Nederland onderzocht. Deze kazen zijn qua soort, leeftijd en herkomst zó gekozen dat ze een zo goed mogelijke indruk geven van de in Nederland geproduceerde kaas. Over dit onderzoek wordt hier verslag uitgebracht.

## 2. Bemonstering

Controleurs van het ZKB te Leusden hebben in 28 pakhuizen verspreid over geheel Nederland 31 kazen gereed voor aflevering aan de afnemers bemonsterd door een sektor met een tophoek van 90° te nemen. Deze kazen waren afkomstig van 18 producenten, die ongeveer 20% van de Nederlandse kaas produceren.

Aantal en soorten kaas worden in bijgaande tabel weergegeven.

	jong	belegen	oud	
Goudse	5	5	5	15
Goudse, komijn	4	1		5
Goudse, dieet	2			2
Edammer	2	2	1	5
Boerengoudse		2	2	<u>4</u>
				31

## 3. Monsterbehandeling

Uitgaande van de door het "Wetenschappelijk Comité van de Menselijke Voeding" (EEG) voorgestelde eis werd van vier volgens NEN 3751 <sup>3)</sup> uit het monster genomen sectoren door het Zuivelcontrole-instituut (ZCI) te Leusden een buitenlaag van 5 mm dikte gesneden. De laag van één sub-sektor werd door het ZCI behouden en geanalyseerd, de lagen van de drie andere sub-sektoren werden op het RIKILT gemalen, gemengd en volgens twee methoden geanalyseerd.

Bovendien werd door het ZCI en het RIKILT van een sektor een volgende laag van 0,7 mm afgeschild en geanalyseerd. In enkele gevallen werd door het RIKILT van de rest van het monster lagen van 0,75 mm afgeschild om de indringdiepte van het natamycine te bepalen.

#### 4. Analyse

De soortelijke massa ( ) van de 5 mm dikke buitenlaag werd berekend uit een uit de buitenlaag gesneden plak met bekend gewicht en oppervlak. Het natamycinegehalte werd bepaald volgens twee methoden: een spectrofotometrische methode, uitgevoerd op het RIKILT en het ZCI, en een HPLC methode, uitgevoerd op het RIKILT.

De spectrofotometrische methode <sup>4)</sup> berust op extractie van de gemalen kaaskorst met methanol, verdunning met water, uitvriezen bij -18°C, filtratie en meting van het UV spectrum tussen 270 en 340 nm. Uit dit spectrum wordt de extinctie bepaald van het maximum bij ongeveer 317 nm, het minimum bij ongeveer 311 nm en bij 329 nm. Uit deze waarden wordt met behulp van een experimenteel bepaalde factor het natamycinegehalte berekend. Gevoeligheid: 1 mg/kg.

Bij de HPLC methode <sup>1, 2)</sup> wordt de kaaskorst met water bevochtigd, geëxtraheerd met methanol m.b.v. een Ultra-Turrax, gecentrifugeerd, gekoeld met vloeibare stikstof en na ontdooien gefiltreerd. Voor gehalten < 0,5 mg/kg wordt dit filtraat eerst geconcentreerd door indampen tot 1/5 van het oorspronkelijke volume en gecentrifugeerd. Een deel van het filtraat wordt over een microfilter gezuiverd en in de HPLC geïnjecteerd. De absorptie wordt gemeten met een UV detector bij 303 nm. Gevoeligheid: 0,05 mg/kg.

De gevonden natamycineconcentraties ( $c_m$ ) uitgedrukt in mg per kg worden omgerekend in oppervlakteconcentraties ( $c_a$ ) uitgedrukt in mg per  $dm^2$  volgens de formule:

$$c_a = \frac{c_m \cdot d}{100}$$

waarbij d: laagdikte (mm)  
: dichtheid ( $g/cm^3$ ).

## 5. Resultaten

5.1 In tabel 1 worden de natamycinegehalten uitgedrukt in mg natamycine per  $\text{dm}^2$  kaasoppervlakte in de buitenste laag van 5 mm gevonden met de spectrofotometrische methode (kolommen 7 en 8) en de HPLC methode (kolom 9). In kolom 10 zijn de gemiddelden van deze drie analyseresultaten vermeld.

De kolommen 11 en 12 geven de gevonden waarden in de laag daaronder. Door het RIKILT wordt met de HPLC methode, behalve in het monster 14206, geen natamycine aangetoond. Het ZCI vindt met de minder gevoelige spectrofotometrische methode wel natamycine in deze laag.

Een maand na bovengenoemd onderzoek is in twee kazen met een hoog natamycinegehalte de indringdiepte bepaald met de HPLC methode (tabel 2).

Bij de kaas met nr. 14206 werd op een diepte van 5-5,7 mm aanvankelijk nog natamycine gevonden. Dit werd bij nadere analyse niet bevestigd.

Er dient opgemerkt te worden dat de analyses op verschillende tijden zijn uitgevoerd en het ZCI een ander deelmonster van de kaas heeft onderzocht dan het RIKILT.

Eén en ander kan de analyseresultaten beïnvloed hebben.

5.2 Bij de statistische verwerking (zie bijlage) zijn de monsters in twee groepen verdeeld, resp.  $< 0,8$  en  $> 0,8$   $\text{mg}/\text{dm}^2$ . De resultaten zijn met een betrouwbaarheidsinterval van 95% als volgt:

Lage concentraties ( $< 0,8$   $\text{mg}/\text{dm}^2$ , 18 monsters).

RIKILT spectr.  $0,04 \pm 0,03$   $\text{mg}/\text{dm}^2 >$  ZCI spectr., significant.

RIKILT spectr.  $0,08 \pm 0,035$   $\text{mg}/\text{dm}^2 >$  RIKILT HPLC, significant.

ZCI spectr.  $0,04 \pm 0,05$   $\text{mg}/\text{dm}^2 >$  RIKILT HPLC, niet significant.

Hogere concentraties ( $> 0,8$   $\text{mg}/\text{dm}^2$ , 13 monsters)

RIKILT spectr.  $0,14 \pm 0,19$   $\text{mg}/\text{dm}^2 >$  ZCI spectr., niet significant.

RIKILT spectr.  $0,30 \pm 0,19$   $\text{mg}/\text{dm}^2 >$  RIKILT HPLC, significant.

ZCI spectr.  $0,16 \pm 0,22$   $\text{mg}/\text{dm}^2 >$  RIKILT HPLC, niet significant.



5.3 Vergeleken met de in dit rapport vermelde resultaten zijn de eerder gerapporteerde (10) gehalten in kazen uit de regionale detailhandel duidelijk hoger. Omdat het vermoeden bestond dat dit veroorzaakt werd door verschillen in de schilmethode, is een nader onderzoek ingesteld, met kazen uit dezelfde regio, waarbij de in dit rapport vermelde schilmethode voor beide analyses toegepast is.

De resultaten met beide methoden gemeten bleken nu zowel onderling als met het landelijk niveau in overeenstemming te zijn.

## 6. Discussie

Van de 31 kazen zijn de natamycinegehalten volgens onderstaande frequentieverdelingen (uit tabel 1, kolom 7, 8, 9 en 10).

Gehalte mg/dm <sup>2</sup>	spectrofotometrisch		HPLC	gevonden gehalte
	RIKILT	ZCI	RIKILT	
0 - 0,99	20	22	26	22 kazen
1,00 - 1,49	7	5	1	5 "
1,50 - 1,99	2	3	3	3 "
2,00 - 2,99	2	1	1	1 "

Neemt men het gemiddelde van de analyses als uitgangspunt dan voldoen van de 31 kazen er 9 (29%) niet aan de grens van 1 mg/dm<sup>2</sup> en één (3%) niet aan de grens van 2 mg/dm<sup>2</sup>. Voor de resultaten apart zijn deze cijfers voor de spectrofotometrische bepalingen 11 en 9 (35 en 29%) > 1 mg/dm<sup>2</sup> en 2 en 1 (6 en 3%) > 2 mg/dm<sup>2</sup>. Bij de HPLC methode voldoen 5 kazen (16%) niet aan de 1 mg/dm<sup>2</sup> grens en één kaas (3%) niet aan de 2 mg/dm<sup>2</sup> grens.

Bij een in het kader van het ontwikkelen van de HPLC methode uitgevoerd onderzoek van 30 kaasmonsters afkomstig van de regionale detailhandel werd in 21 kazen (70%) meer dan 1 mg/dm<sup>2</sup> en in 10 kazen (33%) meer dan 2 mg/dm<sup>2</sup> gevonden (10).

Deze waarden zijn hoger dan de in dit rapport beschreven voor Nederland representatief onderzoek. Ten einde de bron van deze verschillen op te sporen zijn in juli 1982 nogmaals 10 kazen uit de regionale detailhandel onderzocht.

Na dit heronderzoek konden de destijds gevonden "hoge" waarden niet bevestigd worden.

Dit zou verklaard kunnen worden door een verbeterde schiltechniek, waarbij nu een meer uniforme laag van de kaas gehaald kan worden, of door een terughoudender gebruik van de kaas industrie met betrekking tot het gebruik van natamycine.

Vergelijken wij nu onze resultaten met die van een ander onderzoek aan in totaal 35 kazen genomen uit de Nederlandse produktie en wel dat van het Zuivelcontrole-instituut in begin 1980 <sup>8)</sup>. Van de 19 kazen die twee weken na produktie werden geanalyseerd hadden 4 kazen meer dan  $1 \text{ mg/dm}^2$  natamycine en van de 16 andere kazen genomen uit de pakhuizen 2 kazen. Bij dit onderzoek werd dus in totaal bij 6 van de 35 of 17 % van de kazen de  $1 \text{ mg/dm}^2$  grens overschreden, hetgeen iets lager is dan onze (gemiddelde) bevindingen. Wat de indringdiepte betreft, deze is onderzocht bij enige van deze kazen met een vrij hoog tot hoog natamycinegehalte in de korst. De resultaten van het onderzoek van de onderliggende lagen zijn weergegeven in tabel 2. De indringdiepte bij deze kazen bleek ongeveer 3 mm te zijn. Men mag aannemen dat in de andere kazen, met over het algemeen lagere gehalten, de indringing niet groter geweest is. De conclusie dat natamycine slechts aangetoond kan worden tot op een diepte van ongeveer 3 mm vanaf de buitenkant van de korst stemt overeen met de resultaten uit eerder RIKILT onderzoek (5, 6, 7, 10). Bij komijnekaas kan men door de minder gesloten korst een diepere indringing verwachten. Bij eerder onderzoek werd hier in een plak van 3,75 - 4,50 mm vanaf de korst nog natamycine aangetoond <sup>7)</sup>.

De hoeveelheid op de kaas gebrachte natamycine wordt bepaald door de natamycineconcentratie in het gebruikte middel, het aantal behandelingen en de per behandeling aangebrachte hoeveelheid bedekkingsmiddel. Een deel van de natamycine ontleeft echter vrij snel na opbrenging. Gevonden is dat binnen een maand ongeveer 50% van de opgebrachte natamycine is verdwenen <sup>5)</sup>.

In tabel 1 is globaal de tijd aangegeven die verliep tussen de laatste behandeling en het tijdstip van bemonstering.

De monsters zijn koel bewaard. De 5 mm en de daarop volgende laag van 5-5,7 mm is ca. 3 weken na bemonstering geanalyseerd. Een eventueel tijdsverschil tussen de analyses kan van merkbare invloed geweest zijn op de uitkomsten. Zeker 7 van de 10 overschrijdingen komen voor bij het gebruik van middelen met 0,05% natamycine die op 13 van de 31 kazen is toegepast. In de 6 andere gevallen zal het tijdsverloop tussen analyse en laatste behandeling een rol hebben gespeeld.

In het ZCI rapport <sup>8)</sup> wordt berekend dat bij normaal gebruik van het kaasdekkingsmiddel bij een gehalte van 0,01, 0,025 respectievelijk 0,05% natamycine per keer ca. 0,16, 0,40 resp. 0,80 mg/dm<sup>2</sup> aan natamycine wordt opgebracht. Bij herhaalde behandeling moet het gebruik van een middel met 0,05% natamycine worden afgeraden, tenzij men voldoende wachttijd in acht neemt. Bij veelvuldige behandeling van de kaas kunnen de afbraakprodukten zich aanzienlijk opstapelen. De toxiciteitsdrempel van deze stoffen ligt echter veel hoger dan die van natamycine <sup>9)</sup>.

## 7. Conclusies

1. De uitkomsten van de drie reeksen bepalingen stemmen redelijk overeen. Hoewel er statistisch geringe verschillen zijn aan te tonen, kan men gezien het feit dat de analyses op verschillende tijden zijn uitgevoerd, hieruit geen verdere conclusies trekken.
2. Migratie van natamycine dieper dan 5 mm is niet geconstateerd en lijkt onwaarschijnlijk.
3. Uit het vergelijkend onderzoek van de verschillende methoden kan afgeleid worden dat de met de HPLC methode gemeten eerder gerapporteerde gehalten van natamycine in kaas verkregen via de detailhandel, verhoogde gehalten te zien gaven, hetgeen misschien veroorzaakt is door tekortkomingen van de toen beschikbare schilmethode.
4. Bij dit onderzoek blijkt overschrijding van de conceptnormen 1 mg/dm<sup>2</sup> en 2 mg/dm<sup>2</sup> voor te komen:  
voor 1 mg/dm<sup>2</sup> in gem. 29% van de gevallen  
voor 2 mg/dm<sup>2</sup> in gem. 3% van de gevallen  
(zie Tabel 1).



5. Wanneer er een maximumgehalte aan het natamycinegehalte op de kaas van kracht wordt, dienen er aan de gebruikers van kaasdek-middelen richtlijnen te worden gegeven om overschrijding van dit maximum te voorkomen.

Een aanbeveling kan zijn het gebruik af te raden van een kaaskorstbehandelingsmiddel met meer dan 0,025% natamycine bij herhaald plastificeren.



Tabel 1 Gehalte natamycine op Nederlandse kaas.

RIKILT nummer	kaas- soort	leeftijd*	behandeling (in pakhuis)		Natamycinegehalte op de korst mg/dm <sup>2</sup>						
			% natam. in het middel	aantal malen	weken ver- lopen sinds laatste be- handeling	0-5 mm			5-5,7 mm		
						Spectr. (RIKILT)	Spectr. (ZCI)	HPLC RIKILT	Gem. van 7,8,9	Spectr. ZCI	HPLC RIKILT
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
14200	Edam	jong	0,025	1	2	0,19	0,20	0,18	0,19	0,016	<0,001
14201	Gouda	jong	0,025	2	3	0,26	0,28	0,20	0,25	—	<0,001
14202	Edam	bel.	0,05	2	20	0,56	0,50	0,53	0,53	—	<0,001
14203	Gouda, dieet	jong	0,05	2	1	1,71	1,61	1,73	1,68	0,005	<0,001
14204	Gouda	bel.	0,02	3	3	0,74	0,68	0,61	0,68	—	<0,001
14205	Gouda	jong	0,05	1	2	1,32	1,24	0,85	1,14	—	<0,001
14206**	Gouda	bel.	0,05	2	8	0,76	0,72	0,63	0,70	—	0,008
14207	Gouda	bel.	0,02	2	4	0,53	0,48	0,39	0,47	—	<0,001
14208	Gouda	jong	niet behandeld in pakhuis			1,10	0,98	1,27	1,12	0,002	<0,001
14695	Edam	oud	0,05	2	14	0,65	0,52	0,58	0,58	—	<0,001
14696	Gouda, komijn	jong	0,05	1	5	1,80	1,60	1,56	1,65	0,001	<0,001
14697**	Gouda	oud	0,05	6	10	2,06	1,30	1,66	1,67	—	<0,001
14698	Gouda	jong	0,02	1	2	0,58	0,60	0,55	0,58	—	<0,001
14699	Gouda, komijn	jong	0,05	1	1	1,02	0,91	0,72	0,88	0,014	<0,001
14700	Gouda	bel.	0,025	2	8	1,16	1,04	0,97	1,06	—	<0,001
14701**	Gouda, boeren	oud	0,05	5	4	2,69	2,22	2,23	2,38	—	<0,001
14702	Gouda, komijn	bel.	0,05	3	6	0,65	0,58	0,43	0,55	0,005	<0,001
14703	Gouda	oud	0,05	3	10	1,37	1,52	0,95	1,28	—	<0,001
14704	Gouda	jong	0,02	2	1	0,53	0,53	0,44	0,50	—	<0,001
14705	Gouda	oud	0,02	3	7	0,50	0,53	0,37	0,47	—	<0,001
15358	Gouda	bel.	0,02	2	2	1,25	1,25	0,90	1,13	—	<0,001
15359	Gouda, boeren	oud	0,02	1	35	0,57	0,43	0,69	0,56	—	<0,001
15360	Edam	bel.	0,05	1	3	0,40	0,30	0,34	0,35	—	<0,001
15361	Edam	jong	0,02	1	1	0,14	0,08	0,10	0,11	—	<0,001
15362	Gouda, boeren	bel.	0,02	2	1	0,27	0,21	0,17	0,22	—	<0,001
15363	Gouda	oud	0,025	3	5	0,79	0,86	0,98	0,88	—	<0,001
15364	Gouda, komijn	jong	0,02	1	2	0,39	0,31	0,29	0,33	0,012	<0,001
15641	Gouda, boeren	bel.	0,05	2	2	1,35	1,32	0,33	1,00	—	<0,001
15642	Gouda	oud	0,025	6	4	0,83	0,80	0,45	0,69	—	<0,001
15643	Gouda	jong	0,02	1	1	0,27	0,24	0,14	0,22	—	<0,001
15644	Gouda, dieet	jong	0,01	2	1	0,50	0,56	0,35	0,47	—	<0,001
Overschrijdingen 1 mg/dm <sup>2</sup>						11	9	5	9		
						(35%)	(32%)	(16%)	(29%)		
Overschrijdingen 2mg/dm <sup>2</sup>						2	1	1	1		
						(6%)	(3%)	(3%)	(3%)		

\* jong: < 3 mnd, bel.: 3-6 mnd, oud: > 6 mnd.

\*\* zie ook tabel 2

Tabel 2 Indringdiepte natamycine in Nederlandse kaas, bepaald met de HPLC methode

RIKILT-nr.	soort	s.m.	laag	natamycinegehalte	
		g/cm <sup>3</sup>	mm	mg/kg	mg/dm <sup>2</sup>
14206	Gouda, 4 mnd	1,466	0,00-0,75	59,43	0,652
			0,75-1,50	8,89	0,097
			1,50-2,25	1,24	0,014
			2,25-3,00	0,61	0,007
			3,00-3,75	<0,1	<0,001
			3,75-4,50	<0,1	<0,001
			4,50-5,25	<0,1	<0,001
14697	Gouda, 10 mnd	1,417	2,25-3,00	0,14	0,002
14701	Boeren Gouda 7 mnd.	1,505	2,25-3,00	0,10	0,001

Literatuurlijst:

1. Verslag 80.63. De bepaling van natamycine in kaas op residu-niveau m.b.v. HPLC. RIKILT 1980-11-10.
2. Intern Voorschrift F52: De vloeistofchromatografische bepaling van natamycine in kaas; clean-up m.b.v. vloeibare stikstof 1980-09-03.
3. NEN 3751. Kaas, Fysische en chemische methoden van onderzoek. Monsterneming.
4. Intern voorschrift G 160: Bepaling van het natamycinegehalte van kaaskorst en kaas. RIKILT 1980-04-29.
5. Verslag 80 G 21, 80.67. Migratie van natamycine in Goudse en Edammer kaas, behandel met "loognatamycine" in het pekelbad. RIKILT 1980-12-11.
6. Verslag 80 G 20, 80.66. Onderzoek Edammer kaas, met natamycine behandeld volgens de "sproeimethode" RIKILT 1980-11-04.
7. Verslag 81 G 2. Onderzoek natamycinegehalte/migratie in kaas afkomstig van het NIZO. RIKILT 1981-02-20.
8. Het natamycinegehalte van de kaaskorst van Nederlandse kaas. Zuivelcontrole-instituut, begin 1980.
9. Dr P.F. Noordervliet. Sorbic acid and pimaricine as preservatives on cheese and sausages surfaces.  
A comparative study. North European Dairy Journal 4 (1978) 3-10.
10. Verslag 80.53. Het gehalte van natamycine op en in Nederlandse kaas. RIKILT 1980-10-31.

## Bijlage: Statistische verwerking van de resultaten

Van 31 kazen is van de buitenste schil van 5 mm dikte het natamycinegehalte uitgedrukt in  $\text{mg/dm}^2$  bepaald.

Het Zuivelcontrole-instituut in Leusden heeft dit spectrofotometrisch gedaan. Het RIKILT spectrofotometrisch en met HPLC.

De kaasmonsters zijn gesorteerd naar opklimmend natamycinegehalte en arbitrair in 2 groepen ingedeeld, nl.: monsters met gehalten  $<0,8$   $\text{mg/dm}^2$  en monsters met gehalten  $>0,8$   $\text{mg/dm}^2$ . De lage gehalten staan in tabel 3, de hogere in tabel 4.

De analyseresultaten zijn als volgt vermeld:

Kolom 4: spectrofotometrische methode RIKILT

Kolom 5: spectrofotometrische methode ZCI

Kolom 6: HPLC methode RIKILT

Kolom 7: gemiddelde van kolom 4, 5 en 6.

De individuele resultaten zijn paarsgewijze met elkaar vergeleken.

Van de individuele verschillen tussen twee bepalingsmethoden is berekend:

$$\begin{aligned} \text{gemiddelde verschil} &= \sum v/n = \bar{v} \\ s(\text{verschil}) &= \sqrt{\sum (v-\bar{v})^2 / (n-1)} = s(v) \\ s(\text{gemiddeld verschil}) &= s(v)/\sqrt{n} = s(\bar{v}) \\ t &= \bar{v}/s(\bar{v}) \end{aligned}$$

Met de t-toets is nagegaan of het gemiddelde verschil significant van nul afwijkend is.

### Niveau

De analyseuitkomsten van de drie reeksen stemmen redelijk overeen. Hoewel er statistisch geringe verschillen zijn aan te tonen, kan men gezien het feit dat de analyses op verschillende tijden zijn uitgevoerd, hieruit geen verdere conclusies trekken.

De 95% betrouwbaarheidsintervallen van de gemiddelde verschillen in natamycinegehalte in kaas gevonden tussen de beide methoden en of door de beide laboratoria zijn uitgedrukt in  $\text{mg/dm}^2$  als volgt:

<u>Natamycine</u> <u>gehalte</u> <u><math>\text{mg/dm}^2</math></u>	<u>Spectr.(RIKILT)-</u> <u>Spectr. (ZCI)</u>	<u>Spectr.(RIKILT)-</u> <u>HPLC (RIKILT)</u>	<u>Spectr.(ZCI)-</u> <u>HPLC(RIKILT)</u>
0,1-0,7	0,014 tot 0,068	0,047 tot 0,119	-0,011 tot 0,095
0,8-2,4	-0,05 tot 0,33	0,11 tot 0,49	-0,06 tot 0,38



### Spreiding

De standaardafwijking tussen de analyseuitkomsten van beide methoden en of beide laboratoria s(v) zijn als volgt uitgedrukt in mg/dm<sup>2</sup>.

<u>Natamycine</u> <u>gehalte</u> mg/dm <sup>2</sup>	<u>Spectr.(RIKILT)-</u> <u>Spectr. (ZCI)</u>	<u>Spectr.(RIKILT)-</u> <u>HPLC (RIKILT)</u>	<u>Spectr.(ZCI)-</u> <u>HPLC(RIKILT)</u>
0,1-0,7	0,055 (12%)	0,073 (17%)	0,014 (25%)
0,8-2,4	0,32 (25%)	0,31 (25%)	0,36 (30%)

Tussen haakjes staan de relatieve standaardafwijkingen (100 s(v)/ gemiddeld gehalte).

Van alle verschillen is 95% kleiner dan 2 s.

### Opmerkingen

1. Statistisch significante niveauverschillen kunnen chemisch onbelangrijk zijn en omgekeerd.
2. Alle conclusies enz. gelden voor deze proef en voor proeven onder dezelfde omstandigheden herhaald.
3. Bij lage en moeilijk te bepalen gehalten komen statistisch significante niveauverschillen van 20% vaak voor.
4. Variatiecoëfficiënten tussen methoden en of laboratoria van 24% (van alle analyses in een laboratorium  $25/\sqrt{2} = 17\%$ ) komen vaker voor.
5. Het geheel in ogenschouw nemend, zijn de drie kolommen met analysecijfers ongeveer gelijkwaardig.

Tabel 3

Natanycine in kaas mg/dm<sup>2</sup> 0-5 mm.Gemiddelde gehalten <0,8 mg/dm<sup>2</sup>.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
RIKILT-nr.	soort	leeftijd	Spectr. RIKILT	Spectr. ZCI	HPLC RIKILT	Gen.	kolom 4-5	kolom 4-6	kolom 5-6	
15361	Edam	+ 2 mnd.	0,14	0,08	0,10	0,11	+0,06	+0,04	-0,02	
14200	Edam	8 wk.	0,19	0,20	0,18	0,19	-0,01	+0,01	+0,02	
15362	Boeren,Gouda	+ 5 mnd.	0,27	0,21	0,17	0,22	+0,06	+0,10	+0,04	
15643	Gouda	+ 5 wk.	0,27	0,24	0,14	0,22	+0,03	+0,13	+0,10	
14201	Gouda	4 wk.	0,26	0,28	0,20	0,25	-0,02	+0,06	+0,08	
15364	Gouda, komijn	1 mnd.	0,39	0,31	0,29	0,33	+0,08	+0,10	+0,02	
15360	Edam	+ 3 mnd.	0,40	0,30	0,34	0,35	+0,10	+0,06	-0,04	
14207	Gouda	4 mnd.	0,53	0,48	0,39	0,47	+0,05	+0,14	+0,09	
14705	Gouda	8 mnd.	0,50	0,53	0,37	0,47	-0,03	+0,13	+0,16	
15644	Gouda, dieet	+ 1 mnd.	0,50	0,56	0,35	0,47	-0,06	+0,15	+0,21	
14704	Gouda, komijn	7 wk.	0,53	0,53	0,44	0,50	0,00	+0,09	+0,09	
14202	Edam	17 wk.	0,56	0,50	0,53	0,53	+0,06	+0,03	-0,03	
14702	Gouda, komijn	5 mnd.	0,65	0,58	0,43	0,55	+0,07	+0,22	+0,15	
15359	Boeren,Gouda	+ 9 mnd.	0,57	0,43	0,69	0,56	+0,14	-0,12	-0,26	
14698	Gouda	4 wk.	0,58	0,60	0,55	0,58	-0,02	+0,03	+0,05	
14695	Edam	6 mnd.	0,65	0,52	0,58	0,58	+0,13	+0,07	-0,06	
14204	Gouda	3 mnd.	0,74	0,68	0,61	0,68	+0,06	+0,13	+0,07	
206	Gouda	4 mnd.	0,76	0,70	0,63	0,70	+0,04	+0,13	+0,09	
		gemiddeld	0,47	0,43	0,39	0,43	+0,041**	+0,083**	+0,042	
							s(verschil)	0,055	0,073	0,104
							s(gen.verschil)	0,013	0,017	0,025
							t	3,15	4,83	1,71

\*\* Significant van nul afwijkend  $\alpha < 0,01$ .

Tabel 4

Natamycine mg/dm<sup>2</sup> 0-5 mmGemiddelde gehalte >0,8 mg/dm<sup>2</sup>

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
RIKILT-nr.	soort	leeftijd	Spectr. RIKILT	Spectr. ZCI	HPLC RIKILT	Gem.	kolom 4-5	kolom 4-6	kolom 5-6
15651	Boeren	+ 5 mrxl.	1,35	0,80	0,33	0,83	+0,55	+1,02	+0,47
15642	Gouda	9 mrxl.	0,83	1,32	0,45	0,87	-0,49	+0,38	+0,87
15363	Gouda	9 mrxl.	0,79	0,86	0,98	0,88	-0,07	-0,19	-0,12
14699	Gouda, komijn	4 wk.	1,02	0,91	0,72	0,88	+0,11	+0,30	+0,19
14700	Gouda	4 mrxl.	1,16	1,04	0,97	1,06	+0,12	+0,19	+0,07
14208	Gouda	4 wk.	1,10	0,98	1,27	1,11	+0,12	-0,17	-0,29
15358	Gouda	+ 4 mrxl.	1,25	1,25	0,90	1,13	0,00	+0,35	+0,35
14205	Gouda	4 wk.	1,32	1,24	0,85	1,14	+0,08	+0,47	+0,39
14703	Gouda	+ 9 mrxl.	1,37	1,52	0,95	1,28	-0,15	+0,42	+0,57
14696	Gouda, kruid	6 wk.	1,80	1,60	1,56	1,65	+0,20	+0,24	+0,04
14697	Gouda	10 mrxl.	2,06	1,30	1,66	1,67	+0,76	+0,40	-0,36
14203	Dieetkaas	4 wk.	1,71	1,61	1,73	1,68	+0,10	-0,02	-0,12
14701	Boeren Gouda	7 mrxl.	2,69	2,22	2,23	2,28	+0,47	+0,46	-0,01
		gemiddeld	1,42	1,28	1,12	1,27	+0,14	+0,30**	+0,16
				s(verschil)			0,32	0,31	0,36
				s(gen.verschil)			0,088	0,087	0,099
				t			1,57	3,40	1,59

\*\* Significant van nul afwijkend  $\alpha < 0,01$ .