

31980L0891

1980 9 27

EUROPOS BENDRIJŲ OFICIALUSIS LEIDINYS

L 254/35

KOMISIJOS DIREKTYVA

1980 m. liepos 25 d.

dėl Bendrijos analizės metodo, taikomo nustatant eruko rūgšties kiekį žmonėms vartoti skirtuose aliejuose ir riebaluose bei maisto produktuose, į kuriuos pridedama aliejų ar riebalų

(80/891/EEB)

EUROPOS BENDRIJŲ KOMISIJA,

atsižvelgdama į Europos ekonominės bendrijos steigimo sutartį,

atsižvelgdama į 1976 m. liepos 20 d. Tarybos direktyvą 76/621/EEB dėl didžiausio eruko rūgšties kiekio nustatymo žmonėms vartoti skirtuose aliejuose ir riebaluose bei maisto produktuose, į kuriuos pridedama šių aliejų ir riebalų ⁽¹⁾, ypač į jos 3 straipsnį,

kadangi Direktyvos 76/621/EEB 2 straipsnyje numatyta, jog nuo 1979 m. liepos 1 d. šios direktyvos 1 straipsnyje nurodytų produktų eruko rūgšties kiekis, apskaičiuotas remiantis bendru riebalų rūgščių kiekiu riebalų komponente, negali būti didesnis kaip 5 %;

kadangi Direktyvos 76/621/EEB 3 straipsnyje numatyta, kad eruko rūgšties kiekis nustatomas Bendrijos analizės metodu;

kadangi 1968 m. rugsėjo 23 d. Reglamento (EEB) Nr. 1470/68 dėl bandinių ėmimo ir jų sumažinimo bei aliejaus kiekio, priemaišų ir drėgmės aliejinių augalų sėklose ⁽²⁾ VI priede, išdėstyta Reglamente (EEB) Nr. 72/77 ⁽³⁾ nustatytas eruko rūgšties kiekiui rapsuko ir rapsų sėklose nustatymo analizės metodas; kadangi šį metodą derėtų taikyti kaip patikros metodą;

kadangi tais atvejais, kai riebalus ir aliejus sudarančios riebalų rūgštys įprastinėmis sąlygomis analizuojamos taikant dujų ir skysčių chromatografiją, eruko rūgšties neįmanoma atskirti nuo kitų dokozeno rūgšties izomerų, pvz. cetoleino (cis-11-dokozeno) rūgšties;

kadangi būtina nustatyti eruko rūgšties kiekį aliejuose ir riebaluose bei tuose maisto produktuose, į kuriuos pridedama aliejų ir riebalų, galinčių turėti cetoleino rūgšties ir kitų dokozeno rūgšties izomerų;

kadangi eruko rūgšties kiekio nereikia nustatyti aliejuose ir riebaluose bei maisto produktuose, į kuriuos pridedama aliejų ar riebalų, tais atvejais, kai, pritaikius patikros analizės metodus

nustatoma, kad juose bendras kiekis neviršija 5 % visų dokozeno arba cis-dokozeno rūgščių;

kadangi kol bus įdiegtas patobulintas analizės metodas eruko rūgšties kiekiui nustatyti šiuo metu šis analizės metodas yra laikomas pačiu tinkamiausiu;

kadangi šioje direktyvoje numatytos priemonės atitinka Maisto produktų nuolatinio komiteto nuomonę,

PRIĖMĖ ŠIĄ DIREKTYVĄ:

1 straipsnis

Valstybės narės reikalauja, kad analizė, būtina eruko rūgšties kiekiui nustatyti Direktyvos 76/621/EEB 1 straipsnyje minėtuose produktuose, būtų atliekama taip, kaip numatyta 2 straipsnyje.

2 straipsnis

1. Patikros tikslais nustatomas vienas iš toliau pateiktų dalykų:

a) bendras dokazeno rūgšties kiekis 1 straipsnyje minėtuose produktuose, pagal Reglamento (EEB) Nr. 1470/68 VI priede išdėstytą metodą; arba

b) bendras cis-dokozeno rūgšties kiekis 1 straipsnyje minėtuose produktuose, pagal Reglamento (EEB) Nr. 1470/68 VI priede išdėstytą metodą, taikant dujų ir skysčių chromatografiją tokiomis sąlygomis, kai yra atskiriami dokozeno rūgščių cis- ir trans- izomerai. Šiuo tikslu tinka tokios nejudančios fazės, kaip cianopropilpolisiloksanai ar skystieji kristalai.

2. Jei bendras

a) pagal 1 dalies a punktą nustatytas dokozeno rūgščių arba

b) pagal 1 dalies b punktą nustatytas cis-dokazeno rūgščių kiekis 1 straipsnyje minėtuose produktuose, apskaičiuotas

⁽¹⁾ OL L 202, 1976 7 28, p. 35.

⁽²⁾ OL L 239, 1968 9 28, p. 2.

⁽³⁾ OL L 12, 1977 1 15, p. 11.

pagal bendrą riebalų rūgščių kiekį riebalų komponente, neviršija 5 %, analizuoti toliau nereikia. Kitais atvejais eruko rūgšties kiekis yra nustatomas pagal priede pateiktą metodą.

3 straipsnis

Valstybės narės priima įstatymus ir kitus teisės aktus, kurie, įsigalioję ne vėliau kaip 1982 m. vasario 1 d., įgyvendina šią direktyvą. Apie tai jos nedelsdamos praneša Komisijai.

4 straipsnis

Ši direktyva skirta valstybėms narėms.

Priimta Briuselyje, 1980 m. liepos 25 d.

Komisijos vardu
Étienne DAVIGNON
Komisijos narė

PRIEDAS

**ERUKO RŪGŠTIES KIEKIO NUSTATYMAS ŽMONĖMS VARTOTI SKIRTUOSE ALIEJUOSE IR RIEBALUOSE
BEI ALIEJUOSE IR RIEBALUOSE ESANČIUOSE MAISTO PRODUKTUOSE, Į KURIUOS PRIDEDAMA ALIEJŲ
AR RIEBALŲ****I. ĮŽANGA****1. MĖGINIO PARUOŠIMAS****1.1. Bendrosios nuostatos**

Paprastai, jei nereikia didesnio kiekio, laboratorijai analizuoti pateikiama 50 g mėginio.

1.2. Mėginio paruošimas laboratorijoje atliekamai analizei

Prieš analizę mėginys turi būti homogenizuotas.

1.3. Talpyklos

Taip paruoštas mėginys laikomas orui ir drėgmei nepralaidžiose talpyklose.

2. REAGENTAI**2.1. Vanduo**

2.1.1. Jeigu vanduo vartojamas kaip tirpiklis, skiedimui ar plovimui, jis turi būti distiliuotas ar demineralizuotas arba tokio pat grynumo.

2.1.2. Jeigu vartojama sąvoka „tirpalas“ ar „praskiedimas“, nepateikiant kitų reagentų, turimi omenyje vandeniniai tirpalai ar praskiedimas vandeniui.

2.2. Chemikalai

Visi naudojami chemikalai turi būti analiziškai grynai reagentai, išskyrus tuos atvejus, kai nurodoma kitaip.

3. ĮRANGA**3.1. Įrangos sąrašas**

Šiame sąraše nurodoma tik speciali įranga, naudojama pagal technines instrukcijas.

3.2. Analizinės svarstyklės

„Analizinės svarstyklės“ – tai svarstyklės, kuriomis galima sverti 0,1 mg ar didesniu tikslumu.

4. REZULTATŲ IŠRAIŠKA**4.1. Rezultatų pateikimas**

Oficialioje analizės ataskaitoje rezultatu pateikiamas ne mažiau kaip dviejų tyrimų rezultatų, kurių pakartojamumas yra pakankamas, aritmetinis vidurkis.

4.2. Apskaičiavimas procentais

Jeigu nenurodyta kitaip, rezultatai pateikiami kaip bendrojo riebalų rūgščių, esančių analizei gautame mėginyje, kiekio masės procentai (m/m).

4.3. Pateikiamų ženklų skaičius

Rezultatas išreiškiamas metodo tikslumą atitinkančiu ženklų skaičiumi.

II. ERUKO RŪGŠTIES KIEKIO NUSTATYMAS

1. TIKSLAS IR TAIKYMO SRITIS

Metodas taikomas eruko rūgšties kiekiui nustatyti:

- i) aliejuose ir riebaluose, turinčiuose cetoleino rūgšties (eruko rūgšties cis-izomero, aptinkamo žuvų taukuose) ir
- ii) hidrintame aliejuje ir riebaluose, turinčiuose eruko rūgšties trans- ir cis-izomerų.

2. APIBRĖŽIMAS

Eruko rūgšties kiekis: šiuo metodu nustatytas eruko rūgšties kiekis.

3. METODO ESMĖ

Riebaluose ar aliejuje esančių riebalų rūgščių metilesteriai atskiriami žematemperatūros plonasluoksnės chromatografijos, naudojant sidabro nitrata, metodu ir kokybiškai analizuojami dujų skysčio chromatografijos metodu.

4. REAGENTAI

- 4.1. Prieš analizę distiliuotas dietileteris, kuriame nėra peroksidų.
- 4.2. *n*-heksanas.
- 4.3. Silikagelis G plonasluoksnei chromatografijai.
- 4.4. Silikagelis kolonelinei chromatografijai.
- 4.5. 200 g/l sidabro nitrato tirpalas. 24 g sidabro nitrato ištirpinama vandenyje ir praskiedžiama vandeniu iki 120 ml.
- 4.6. 5 mg/l metilerukato tirpalas. 50 mg metilerukato ištirpinama keliuose mililitruose *n*-heksano ir praskiedžiama heksanu iki 10 ml.
- 4.7. 0,25 mg/ml vidinio etalono – metiltetrakosanato tirpalas. 25 mg metiltetrakosanato ištirpinama keliuose mililitruose *n*-heksano (kaip 4.6) ir praskiedžiama *n*-heksanu iki 100 ml.
- 4.8. Ryškinimo tirpalas. Tolueno ir *n*-heksano mišinys tūrių santykiu 90:10.
- 4.9. 0,5 g/l 2,7-dichlorfluoresceino tirpalas. Šildant ir maišant ištirpinama 50 mg 2,7-dichlorfluoresceino 100 ml 50 % vandeninio metanolio tirpalo.

5. ĮRANGA

- 5.1. Plonasluoksnės chromatografijos įranga, kurią sudaro:
 - 5.1.1. Gilaus šaldymo kamera, galinti palaikyti indo ir jo turinio temperatūrą nuo minus 20 °C iki minus 25 °C .
 - 5.1.2. Stiklinės plokštelės, kurių matmenys 200 × 200 mm.
 - 5.1.3. Ultravioletinių bangų lempa.
 - 5.1.4. Stiklinės apie 200 mm ilgio kolonėlės vidiniu skersmeniu apie 10 mm su stiklo vatos ar sukepinto stiklo filtrais. Kaip alternatyva gali būti naudojami nedideli piltuvėliai su sukepinto stiklo filtrais.
 - 5.1.5. Aplikatorius, kuriuo tirpalai gali būti paskirstomi ant TLC plokščių siauros juostos ar ruožo pavidalu.
- 5.2. Dujų skysčio chromatografas su elektroniniu integratoriumi, aprašytas Komisijos reglamento (EEB) Nr. 72/77 VI priedo III skirsnyje.

6. TYRIMAS

6.1. Riebalų rūgščių metilesterių paruošimas

Iš analizės mėginio paimama apie 400 mg aliejaus ar riebalų ir paruošiamas apie 20–50 mg/ml riebalų rūgščių metilesterių tirpalas n-heksane pagal tvirtinamus žemės ūkio ministro įsakymu metodus, parengtus remiantis Komisijos reglamento (EEB) Nr. 72/77 VI priedo II.3 punkte nurodytu metodu.

6.2. Plonasluoksnė chromatografija

6.2.1. Plokštelių paruošimas

Į apvaliadugnę 500 ml kolbą įdedama 60 g silikagelio (4.3), pripilama 120 ml sidabro nitrato tirpalo (4.5) ir vieną minutę maišoma, kad būtų gauta visiškai homogeniška suspensija. Suspensija įprastiniu būdu paskleidžiama ant plokštelių. Sluoksnio storis turi būti apie 0,5 mm. Nurodytas suspensijos kiekis yra pakankamas paruošti penkioms plokštelėms, kurių matmenys 200 × 200 mm.

Plokštelėms leidžiama iš dalies išdžiūti ore (pageidautina plokšteles palikti apie 30 min. tamsioje). Plokštelės visiškai išdžiovinamos ir aktyvuojamos laikant 2 valandas ir 30 minučių džiovinimo spintoje 100 °C temperatūroje. Aktyvuotos plokštelės naudojamos kaip įmanoma greičiau arba laikomos tamsioje spintoje. Tokiu atveju plokštelės prieš naudojant aktyvuojamos iš naujo. (Pastaba: plokštelės gali būti aktyvuojamos 1 valandą 110 °C temperatūroje, jeigu tai nesukelia plokštelių patamsėjimo). Prieš naudojant kiekvienos plokštelės dangoje per 10 mm nuo kraštų ir viršaus įbrėžiamos linijos, kad būtų sumažintas sklaidos efektas ryškinimo metu.

6.2.2. Metilesterių padavimas

50 µl paruošto iš mėginio metilesterių tirpalo (6.1) aplikatoriumi (5.1.5) siauru apie 50 mm ilgio ruoželiu ne mažiau kaip 40 mm nuo plokštelės šono ir 10 mm nuo jos apačios užlašinama ant plokštelės. Tuo pačiu būdu ant plokštelės užlašinama 100 µl tirpalo, susidedančio iš lygių tūrio dalių paruošto metilesterių tirpalo (6.1) ir metilerukato tirpalo (4.6). Tirpalai lašinami atsargiai, kad nebūtų pažeista trapi plokštelės danga. (Pastaba: jeigu reikia, kad išryškintų būtų lengviau identifikuoti metilerukato juostą, ant plokštelės gali būti užlašinama 50 µl metilerukato tirpalo (4.6); žr. paveikslą). Užlašinus metilesterių tirpalo, plokštelės apatinis kraštas laikomas dietileteryje, kol eteris pakils apie 5 mm aukščiau mėginio užlašinimo srities. Tokiu būdu metilesteriai koncentruojami siauroje juostoje.

6.2.3. Plokštelių ryškinimas

Į ryškinimo indą įpilamas apie 5 mm ryškinimo tirpiklio (4.8) sluoksnis. Uždengtas dangčiu indas laikomas gilaus šaldymo kameroje (5.1.1) minus 25 °C ar kuo artimesnėje temperatūroje. (Atskirais atvejais gali būti naudinga kamerą izoliuoti marškiniais). Praėjus 2 valandoms plokštelė atsargiai įdedama į indą ir leidžiama tirpikliui pasiekti nuo pusės ar dviejų trečdalių plokštelės aukščio. Plokštelė išimama iš indo, tirpiklis atsargiai išgarinamas azoto srovėje. Plokštelė vėl įdedama į indą ir tirpikliui leidžiama pasiekti plokštelės viršų. Plokštelė vėl išimama iš indo ir kaip anksčiau džiovinama azoto srovėje. Vėliau ji kruopščiai apipurškiama 2,7-dichlorfluoresceino tirpalu (4.9).

Plokštelė apžiūrima UV šviesoje. Mėginio metilerukato dėmė identifikuojama pagal intensyviausią mėginio, į kurią buvo pridėta metilerukato, dėmę (žr. paveikslą).

6.2.4. Metilesterių frakcijų atskyrimas

Mėginio metilerukato dėmė atsargiai, kad būtų išvengta nuostolių, nugramdoma į 50 ml stiklinę. Kartu į kitą 50 ml stiklinę perkeliama silikagelis, esantis aukščiau ir žemiau metilerukato dėmės. Šioje dėmėje gali būti visos kitos riebalų rūgščių metilesterių frakcijos. Į kiekvieną stiklinę įpilama po 1,0 ml etaloninio metiltetrakosanato tirpalo (4.7) ir po 10 ml dietileterio (4.1). Sumaišoma ir stiklinių turinys perkeliama į dalijamąsias kolonėles ar piltuvėlius, kuriuose yra apie 1 g silikagelio (4.4). Metilesteriai eliuojami naudojant tris ar keturias 10 ml dietileterio porcijas. Filtratai surenkami mažose kolbose. Kiekvienas filtratas nugarinamas iki mažo tūrio silpnoje azoto srovėje ir metilesteriai supilami į mažus smailiadugnius mėgintuvėlius. Visas tirpiklis išgarinamas azoto srovėje taip, kad metilesteriai susikonscentruotų mėgintuvėlių dugne. Metilesteriai ištirpinami nuo 25 µl iki 50 µl n-heksano (4.2).

6.3. Dujų skysčio chromatografija

6.3.1. Pagal tvirtinamus žemės ūkio ministro įsakymu metodus, parengtus remiantis Komisijos reglamento (EEB) Nr. 72/77 VI priedo III punkte aprašytu metodu, analizuojama nuo 1 µl iki 2 µl metilesterių tirpalų, paruoštų iš (i) metilerukato frakcijos, ir (ii) likusių metilintų riebalų rūgščių frakcijų.

6.3.2. Elektroniniu integratoriumi apskaičiuojami šių smailių plotai:

- i) iš metilerukato frakcijos chromatogramos:
 - a) metilerukato [E];
 - b) vidinio etalono [L_1];
 - c) visų metilesterių smailių išskyrus vidinio etalono [EF];
- ii) iš likusių riebalų rūgščių metilesterių chromatogramos:
 - a) visų metilesterių smailių, išskyrus vidinio etalono [RF];
 - b) vidinio etalono [L_2].

7. REZULTATŲ IŠRAIŠKA

7.1. Apskaičiavimo metodas ir formulė

7.1.1. Eruko rūgšties kiekis mėginyje, išreikštas jos metilesterio kiekiu procentais bendrajame riebalų rūgščių metilesterių kiekyje, apskaičiuojamas pagal formulę:

$$\frac{E}{L_1 \left(\frac{EF}{L_1} + \frac{RF}{L_2} \right)} \times 100$$

čia:

E, EF, RF, L_1 ir L_2 – smailių plotai pagal 6.3.2, jeigu reikia pataisyti naudojant kalibravimo faktorius.

Praktiškai apskaičiuota pagal pateiktą formulę metilerukato vertė yra lygi eruko rūgšties kiekiui, išreikštam bendrojo riebalų rūgščių kiekio mėginyje procentais.

7.1.2. Jeigu smailių plotai išreiškiami procentais, EF ir RF vertės gali būti apskaičiuojamos pagal formules:

$$EF = 100 - L_1$$

$$RF = 100 - L_2$$

7.1.3. Apskaičiuojant pateiktu metodu (7.1.1), daroma prielaida, kad tetrakozano rūgšties kiekis mėginyje yra nežymus. Jeigu nustatoma, kad tetrakozano rūgšties kiekio mėginyje yra daugiau, tetrakozano rūgšties smailės ploto vertė (L_2), gauta iš likusių riebalų rūgščių metilesterių frakcijos chromatogramos, turi būti sumažinama taip:

$$L_1 - T_2$$

čia:

$$T_2 = \frac{T_0 P_2}{P_0}$$

ir

T_2 = mėginio metiltetrakosanato smailės plotas, kuris apima dalį vidinio etalono smailės ploto likusių riebalų rūgščių metilesterių chromatogramoje.

P_2 = metilpalmitato smailės plotas, apskaičiuotas iš likusių riebalų rūgščių metilesterių chromatogramos.

T_0 = metiltetrakosanato smailės plotas, apskaičiuotas iš visų riebalų rūgščių metilesterių chromatogramos.

P_0 = metilpalmitato smailės plotas, apskaičiuotas iš visų riebalų rūgščių metilesterių chromatogramos, gautos atliekant šios direktyvos 2 straipsnyje minėtą analizę.

7.1.4. Formulės išvestinės

Riebalų rūgščių kiekis metilerukato frakcijoje, išreikštas bendrojo riebalų rūgščių kiekio procentais mėginyje, apskaičiuojamas pagal formules:

$$\frac{EF}{\frac{L_1}{EF} + \frac{RF}{L_2}} \times 100 \quad \text{arba} \quad \frac{EF}{L_1 \left(\frac{EF}{L_1} + \frac{RF}{L_2} \right)} \times 100$$

Eruko rūgšties kiekis metilerukato frakcijoje apskaičiuojamas pagal formulę:

$$\frac{E}{EF}$$

Todėl eruko rūgšties kiekis mėginyje, išreikštas bendrojo riebalų rūgščių kiekio procentais, apskaičiuojamas pagal formules:

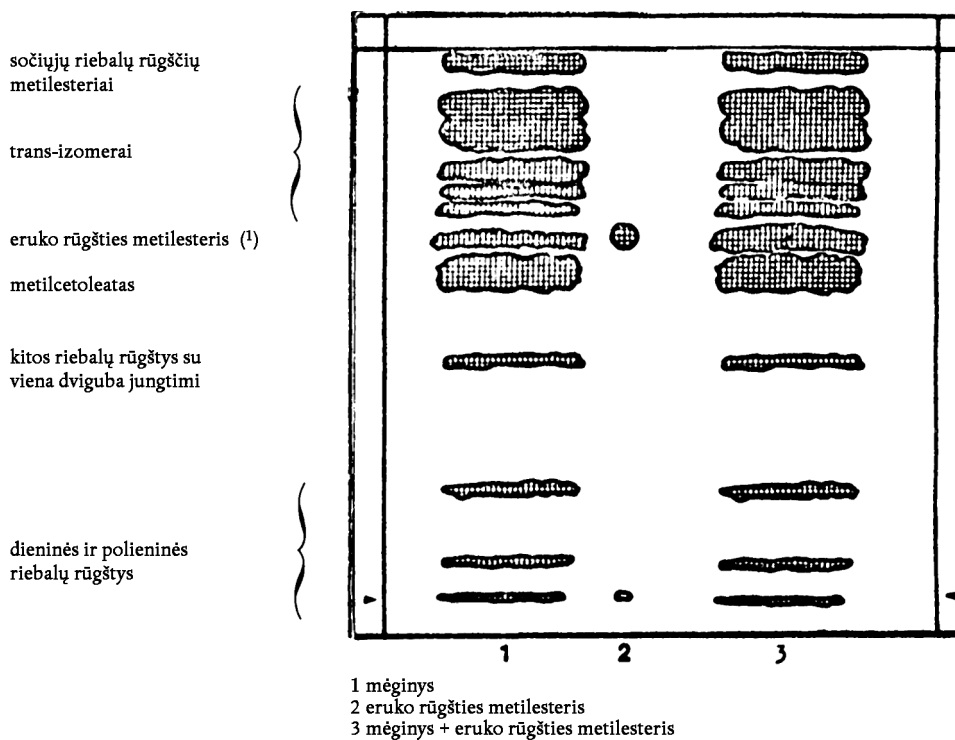
$$\frac{EF}{L_1 \left(\frac{EF}{L_1} + \frac{RF}{L_2} \right)} \times \frac{E}{EF} \times 100 \quad \text{arba} \quad \frac{E}{L_1 \left(\frac{EF}{L_1} + \frac{RF}{L_2} \right)} \times 100$$

7.1.5. Pakartojamumas

Vieno analitiko tuo pačiu metu ar vienas po kito atliktų dviejų atskirų tyrimų rezultatų, gautų tomis pačiomis sąlygomis tiriant tą patį mėginį, skirtumas negali būti didesnis kaip 10 % gauto rezultato arba 0,5 g 100 g mėginio, jeigu vertės didesnės.

PAVEIKSLAS

Būdinga plonasluoksnė chromatograma, rodanti eruko rūgšties, cetoleino rūgšties ir dokazeno rūgšties trans-izomerų metilesterių atskyrimą



⁽¹⁾ Frakcijoje, pavadintoje eruko rūgšties metilo eteriu, paprastai yra kitų alkeninių rūgščių metilesterių, tačiau joje neturi būti metilcetoleato.