

31980L0891

27.9.1980.

EIROPAS KOPIENU OFICIĀLAIS VĒSTNESIS

L 254/35

KOMISIJAS DIREKTĪVA

(1980. gada 25. jūlijs),

kas attiecas uz Kopienas analīžu metodi, lai noteiktu erukskābes saturu eļļās un taukos, kuri paredzēti lietošanai cilvēku uzturā, un pārtikas produktos, kuri satur pievienotas eļļas vai taukus

(80/891/EEK)

EIROPAS KOPIENU KOMISIJA,

ņemot vērā Eiropas Ekonomikas kopienas dibināšanas līgumu,

ņemot vērā Padomes 1976. gada 20. jūlija Direktīvu 76/621/EEK⁽¹⁾, kas attiecas uz erukskābes maksimālā līmeņa noteikšanu eļļās un taukos, kuri paredzēti lietošanai pārtikā, un pārtikas produktos, kas satur pievienotas eļļas vai taukus, un it īpaši tās 3. pantu,

tā kā Direktīvas 76/621/EEK 2. pantā ir paredzēts, ka no 1979. gada 1. jūlija minētās direktīvas 1. pantā minēto produktu erukskābes saturs, kas aprēķināts uz kopējo taukskābju līmeni tauku saturā, nedrīkst būt lielāks par 5 %;

tā kā Direktīvas 76/621/EEK 3. pantā ir paredzēts, ka erukskābes saturu nosaka ar Kopienas analīžu metodēm;

tā kā 1968. gada 23. septembra Regulas (EEK) Nr. 1470/68 par paraugu ņemšanu un reducēšanu un eļļas satura, piemaisījumu un mitruma satura noteikšanu eļļas sēklās⁽²⁾ VI pielikumā, kas ieviests ar Regulu (EEK) Nr. 72/77⁽³⁾, ir izklāstīta analīžu metode, ar kuru nosaka erukskābes saturu ripšu un rapšu sēklās, un tā kā šī metode būtu jāizmanto kā atlases metode;

tā kā, analizējot eļļas un taukus veidojošās taukskābes ar šķidro gāzu hromatogrāfiju, nav iespējams atšķirt erukskābi no pārējiem dokozenoiskās skābes izomēriem, piemēram, no ketoleiskās skābes;

tā kā ir jānosaka erukskābes līmenis eļļās un taukos (kā arī pārtikas produktos, kam eļļas vai tauki ir pievienoti), kas var saturēt ketoleisko skābi un citus dokozenoiskās skābes izomērus;

tā kā erukskābes līmenis nav jānosaka eļļās un taukos un pārtikas produktos, kam eļļas un tauki ir pievienoti, ja pēc atlases analīžu metodes izmantošanas atklājas, ka tie satur ne vairāk kā 5 % kopējo dokozenoisko skābju vai *cis*-dokozenoisko skābju;

tā kā līdz tiek ieviesta uzlabota analīžu metode erukskābes noteikšanai, šo analīžu metodi uzskata par piemērotāko;

tā kā šajā direktīvā paredzētie pasākumi atbilst Pastāvīgās pārtikas produktu komitejas atzinumam,

IR PIEŅĒMUSI ŠO DIREKTĪVU.

1. pants

Dalībvalstis prasa, lai analīzes, kas vajadzīgas erukskābes satura noteikšanai produktiem, kuri minēti Direktīvas 76/621/EEK 1. pantā, veiktu, kā noteikts 2. pantā.

2. pants

1. Atlasei nosaka vienu no šādiem:

a) kopējo dokozenoiskās skābes saturu produktiem, kas minēti 1. pantā, izmantojot metodi, kas izklāstīta Regulas (EEK) Nr. 1470/68 VI pielikumā; vai

b) kopējo *cis*-dokozenoiskās skābes saturu produktiem, kas minēti 1. pantā, ar metodi, kura izklāstīta Regulas (EEK) Nr. 1470/68 VI pielikumā, izmantojot gāzu-šķidrums hromatogrāfiju tādos apstākļos, ka dokozenoisko skābju *cis*- un *trans*-izomēri tiek sadalīti, un nekustīgās fāzes, kas ir piemērotas šim nolūkam, ir, piemēram, cianopropilpolisiloksāni vai šķidrie kristāli.

2. Ja kopējais:

a) dokozenoisko skābju saturs, kas noteikts saskaņā ar 1. punkta a) apakšpunktu, vai

b) *cis*-dokozenoisko skābju saturs, kas noteikts saskaņā ar 1. punkta b) apakšpunktu, produktiem, kuri minēti 1. pantā,

⁽¹⁾ OV L 202, 28.7.1976., 35. lpp.

⁽²⁾ OV L 239, 28.9.1968., 2. lpp.

⁽³⁾ OV L 12, 15.1.1977., 11. lpp.

un aprēķināts uz to kopējo taukskābju saturu tauku komponentā, nepārsniedz 5 %, tad turpmāka noteikšana netiek prasīta. Pretējā gadījumā erukskābes saturu nosaka ar metodi, kas izklāstīta šīs direktīvas pielikumā.

3. pants

Dalībvalstīs stājas spēkā normatīvi un administratīvie akti, kas vajadzīgi, lai izpildītu šīs direktīvas prasības ne vēlāk kā 1982. gada 1. februārī. Dalībvalstis par to tūlīt informē Komisiju.

4. pants

Šī direktīva ir adresēta dalībvalstīm.

Briselē, 1980. gada 25. jūlijā

Komisijas vārdā —
Komisijas loceklis
Etienne DAVIGNON

PIELIKUMS

ERUKSKĀBES SATURA NOTEIKŠANA EĻĻAS UN TAUKOS, KAS PAREDZĒTI LIETOŠANAI CILVĒKU UZTURĀ, UN TO PĀRTIKAS PRODUKTU EĻĻU UN TAUKU SASTĀVĀ, KAS SATUR PIEVIENOTAS EĻĻAS VAI TAUKUS**I. IEVADS****1. PARAUGU SAGATAVOŠANA****1.1. Vispārīgi noteikumi**

Parauga masa, kas iesniegta laboratorijā analīzei, parasti ir 50 g, ja vien netiek prasīts lielāks daudzums.

1.2. Parauga sagatavošana analīzei laboratorijā

Paraugs pirms analīzēm ir jāhomogenizē.

1.3. Trauki

Šādi sagatavotu paraugu uzglabā gaisa necaurlaidīgā un mitruma necaurlaidīgā traukā.

2. REAĢENTI**2.1. Ūdens**

2.1.1. Ja ūdens ir vajadzīgs šķīdināšanai, atšķaidīšanai vai mazgāšanai, tad izmanto destilētu ūdeni vai demineralizētu ūdeni ar vismaz tikpat lielu tīrības pakāpi.

2.1.2. Ja tiek pieminēts "šķīdums" vai "atšķaidījums", neprecizējot nekādus citus reaģentus, tad ir domāts šķīdums ūdenī vai atšķaidījums.

2.2. Ķīmikālijas

Visām izmantotajām ķīmikālijām ir atzīta analītiska kvalitāte, izņemot, ja tiek noteikts citādi.

3. APARATŪRA**3.1. Aparatūras saraksts**

Šajā sarakstā ir ietverta tikai tā aparatūra, kas domāta specializētai izmantošanai un kam ir specifikācija.

3.2. Analītiskie svāri

"Analītiskie svāri" nozīmē svarus ar jutīgumu 0,1 mg vai vairāk.

4. REZULTĀTU IZTEIKŠANA**4.1. Rezultāti**

Rezultāts, kas minēts oficiālajā analīžu protokolā, ir vidējais skaitlis, kas iegūts vismaz divās noteikšanās, kuru atkārtotjamība ir apmierinoša.

4.2. Procenta aprēķināšana

Ja nav noteikts citādi, tad rezultātus izsaka kā kopējo taukskābju procentu (m/m) tādā paraugā, kādu to saņēma laboratorijā.

4.3. Svarīgo skaitļu skaits

Svarīgo skaitļu skaitu šādi izteiktā rezultātā reglamentē metodes precizitāte.

II. ERUKSKĀBES NOTEIKŠANA

1. PIEMĒROŠANAS JOMA UN APJOMS

Ar šo metodi nosaka erukskābes saturu:

- i) eļļās un taukos, kas satur ketoleisko skābi (īpašu dokozenoiskās skābes *cis*-izomēru, kas ir sastopams zivju eļļās), un
- ii) hidrogenētās eļļās un taukos, kas satur dokozenoiskās skābes *trans*- un *cis*-izomērus.

2. DEFINĪCIJA

Erukskābes saturs: erukskābes saturs, kas noteikts ar precizēto metodi.

3. PRINCIPS

Eļļas un tauku sastāvdaļas taukskābju metilesterus atdala ar plānslāņa hromatogrāfiju uz sudraba nitrāta kārtas, zemā temperatūrā, un kvantitatīvi nosaka ar gāzu-šķidrums hromatogrāfiju.

4. REAĢENTI

- 4.1. Svaigi destilēts, no peroksīdiem brīvs dietilēteris.
- 4.2. n-heksāns.
- 4.3. Silikagels G, plānslāņa hromatogrāfijai.
- 4.4. Silikagels, kolonnu hromatogrāfijai.
- 4.5. Sudraba nitrāta šķīdums, 200g/l. Izšķīdināt 24 g sudraba nitrāta ūdenī, un ar ūdeni uzpildīt līdz 120 ml.
- 4.6. Metilerukāta šķīdums 5 mg/ml. Izšķīdināt 50 mg metilerukāta dažos ml n-heksāna un ar n-heksānu palielināt apjomu līdz 10 ml.
- 4.7. Metiltetrakozaonāts, iekšējā standarta šķīdums, 0,25 mg/ml. Izšķīdināt 25 mg metiltetrakozaonāta dažos ml n-heksāna (skat. 4.6), un ar n-heksānu palielināt apjomu līdz 100 ml.
- 4.8. Attīstīšanas šķīdinātājs. Toluols: n-heksāns 90: 10 (v/v).
- 4.9. 2,7 dihlorfluorēna šķīdums 0,5 g/l. Izšķīdināt, sildot un maisot 50 mg 2,7 dihlorfluorēna 100 mililitros 50 % metanola ūdens šķīduma.

5. APARATŪRA

- 5.1. Aparatūra plānslāņa hromatogrāfijai ietver, konkrēti:
 - 5.1.1. Stiprās sasaldēšanas vienību, kas spēj uzturēt attīstīšanas tvertni un saturu temperatūrā no mīnus 20 °C līdz mīnus 25 °C.
 - 5.1.2. Stikla plāksnes, 200 x 200 mm.
 - 5.1.3. Ultravioleto lampu.
 - 5.1.4. Stikla kolonnas, aptuveni 200 mm garas, ar iekšējo diametru apmēram 10 mm, ar stikla vates vai keramiskā stikla filtru. Alternatīva ir mazas piltuves ar keramiskā stikla filtriem.
 - 5.1.5. Aplikatoru šķīdumu nogulsnešanai šauras joslas vai svītras formā uz plānslāņa hromatogrāfijas plāksnēm.
- 5.2. Gāzu-šķidrums hromatogrāfu, kopā ar elektronisko integratoru, kā aprakstīts Komisijas Regulas (EEK) Nr. 72/77 VI pielikuma III iedaļā.

6. PROCEDŪRA

6.1 Taukskābju metilesteru sagatavošana

Paņemt apmēram 400 mg no analīžu parauga eļļas vai tauku sastāvdaļas un sagatavot šķīdumu, kas satur apmēram 20 līdz 50 mg/ml taukskābju metilesteru n-heksānā, pēc metodes, kas aprakstīta Komisijas Regulas (EEK) Nr. 72/77 VI pielikuma II.3 iedaļā.

6.2. Plānslāņa hromatogrāfija

6.2.1. Plāksņu sagatavošana

Ielikt 60 g silikagela (4.3.) 500 ml apaļdibena kolbā, pievienot 120 ml sudraba nitrāta šķīduma (4.5.) un vienu minūti sakratīt, lai iegūtu pilnīgi viendabīgu (pusšķidru) masu. Uzklāt masu parastajā veidā uz plāksnēm, un kārtas biezumam būtu jābūt apmēram 0,5 mm. Šīs masas daudzums ir pietiekams, lai sagatavotu piecas 200 x 200 mm plāksnes.

Ļaut plāksnēm daļēji gaisā apžūt (vēlams, atstājot tās tumsā uz apmēram 30 minūtēm). Pilnībā izžāvēt un aktivēt plāksnes, ievietojot tās krāsnī 100 °C temperatūrā uz divām stundām un 30 minūtēm. Izmantot plāksnes pēc iespējas drīzāk pēc aktivācijas vai arī uzmanīgi uzglabāt tumšā skapī un tad reaktivēt pirms izmantošanas. (Piezīme: vienu stundu ilgu aktivāciju 110 °C temperatūrā var uzskatīt par apmierinošu ar noteikumu, ka plāksnes rezultātā neklūst tumšas). Pirms izmantošanas ievilkt līnijas caur visu kārtas biezumu, 10 mm no katras plāksnes malām un augšas, lai attīstīšanas laikā samazinātu šķautnes efektu.

6.2.2. Metilesteru nogulsnešana

Izmantojot aplikatoru (5.1.5.), šaurā, apmēram 50 mm garā svītrā, vismaz 40 mm attālumā no plāksnes malām un 10 mm no apakšas, nogulsnēt uz plāksnes 50 µl metilesteru šķīduma (6.1.), kas sagatavots no parauga. Līdzīgā veidā nogulsnēt 100 µl šķīduma, kas satur vienādu sagatavoto metilesteru šķīduma (6.1.) un metilerukāta šķīduma (4.6.) tilpumus. Šķīdumu nogulsnešanas laikā jārikojas sevišķi uzmanīgi pārklājuma kārtas trausluma dēļ. (Piebilde: ja vēlas, tad 50 µl metilerukāta šķīduma (4.6.) drīkst nogulsnēt uz plāksnes, lai palīdzētu identificēt metilerukāta kārtu pēc attīstīšanas: skat. attēlu). Pēc metilesteru nogulsnešanas plāksnes apakšējo malu atstāj dietilēteri, līdz kamēr ēteris paceļas apmēram 5 mm virs parauga nogulsnešanas laukuma. Tas metilesterus koncentrē šaurā joslā.

6.2.3. Plāksņu attīstīšana

Ieliet attīstīšanas šķīdinātāju (4.8.) tvertnē apmēram 5 mm dziļumā un novietot tvertni, kas ir aizvērta ar vāku, dziļās sasaldēšanas skapī (5.1.1.) minus 25 °C temperatūrā vai pēc iespējas tuvāk šai temperatūrai. (Dažos gadījumos var būt labāk izklāt tvertni no iekšpuses ar filtrpapīru). Pēc divām stundām uzmanīgi ievietot plāksni tvertnē un ļaut šķīdinātājam pacelties līdz aptuveni divām trešdaļām plāksnes augstuma. Izņemt plāksni laukā un uzmanīgi iztvaicēt no tā šķīdinātāju slāpekļa strūklā. Ielikt plāksni atpakaļ tvertnē un ļaut šķīdinātājam pacelties līdz plāksnes augšpusei. Izņemt plāksni laukā un, kā iepriekš, nosusināt slāpekļa strūklā un tad uzmanīgi apsmidzināt ar 2,7 dihlorfluorēna šķīdumu (4.9.).

Vērot plāksni ultravioletajā gaismā un noteikt to kārtu atrašanās vietu paraugā, kas satur metilerukātu, par atsaucē punktu ņemot intensificēto kārtu paraugā, kam ir pievienots metilerukāts (skat. attēlu).

6.2.4. Metilestera frakciju atdalīšana

Nokasīt metilerukāta kārtu, kas iegūta no parauga, 50 ml vārglāzē, mēģinot izvairīties no zudumiem. Līdzīgi pārvietot silikagelu, kas atrodas virs un zem metilerukāta kārtas, citā 50 ml vārglāzē. Šī kārtā saturēs visas pārējās taukskābju metilestera frakcijas. Katrā vārglāzē pievienot 1,0 ml metiltetrazozanoāta standartšķīduma (4.7.) un 10 ml dietilētera (4.1.). Samaisīt un pārvietot vārglāžu saturus atsevišķās kolonnās vai piltuvēs (5.1.4.), kur katra satur apmēram 1 g silikagela (4.4.), un eluēt metilesterus, izmantojot trīs vai četras 10 ml porcijas dietilētera. Savākt filtrātus mazās kolbās. Iztvaicēt katru filtrātu līdz mazam tilpumam, izmantojot vieglu slāpekļa strūklu, un pārvietot metilesterus uz mazām stikla caurulītēm ar asu apakšu. Izšķīdināt metilesterus apmēram 25 līdz 50 µl n-heksāna (4.2.).

6.3. Gāzu-šķidrums hromatogrāfija

6.3.1. Veikt procedūru, kas aprakstīta Komisijas Regulas 72/77/EEK VI pielikuma III iedaļā, un izanalizēt 1 līdz 2 µl metilestera šķīdumu, kas iegūti no i) frakcijas, kura satur metilerukātu, un ii) frakcijām, kuras satur metilēto taukskābju atlikumu.

6.3.2. Iegūt no elektroniskā integratora šādus maksimuma laukumus:

- i) no tās frakcijas hromatogrammas, kas satur metilerukātu:
 - a) metilerukātu [E];
 - b) iekšējo standartu [L₁];
 - c) kopējos metilesteru maksimuma laukumus, izņemot iekšējo standartu [EF];
- ii) no to frakciju hromatogrammas, kas satur atlikušos taukskābju metilesterus:
 - a) kopējos metilesteru maksimuma laukumus, izņemot iekšējo standartu [RF];
 - b) iekšējo standartu [L₂].

7. REZULTĀTU IZTEIKŠANA

7.1. Aprēķināšanas metode un formula

7.1.1. Erukskābes saturu paraugā, kas izteikts tā metilestera procentuālajā daļā no kopējiem taukskābju metilesteriem, kuri sagatavoti no parauga, aprēķina:

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

kur

E, EF, RF, L₁ un L₂ ir maksimuma laukumi, kas minēti 6.3.2. punktā un ko pēc vajadzības koriģē, izmantojot kalibrēšanas faktorus.

Praktiskiem mērķiem metilerukāta vērtība, kas iegūta ar iepriekš minēto formulu, ir vienāda ar erukskābes līmeni, kurš izteikts kā procentuālā daļa no kopējā taukskābju līmeņa paraugā.

7.1.2. Ja maksimuma laukumi ir izteikti procentuālajās daļās, tad lielumus EF un RF var aprēķināt šādi:

$$EF = 100 - L_1$$

$$RF = 100 - L_2$$

7.1.3. Aprēķina metodē (7.1.1.) pieņem, ka tetrakozanoiskās skābes līmenis paraugā ir niecīgs. Ja izrādās, ka tur ir ievērojams daudzums šīs skābes, tad tetrakozanoiskās skābes (L₂) vērtība, kas iegūta no to frakciju hromatogrammas, kura satur taukskābju metilesteru atlikumu, ir jāsamazina līdz:

$$L_2 - T_2,$$

kur

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

un

T₂ = tā metiltetrakozanoāta maksimuma laukums, kas iegūts no parauga un kas veido daļu maksimuma laukuma, ko attiecina uz iekšējo standartu atlikušās taukskābju metilesteru frakcijas hromatogrammā;

P₂ = metilpalmitāta, kas iegūts no atlikušās frakcijas hromatogrammas, maksimuma laukums;

T₀ = tā metiltetrakozanoāta maksimuma laukums, kas iegūts no to kopējo taukskābju metilesteru hromatogrammas, kas noteiktas ar analīzēm, kuras minētas šīs direktīvas 2. pantā

P₀ = tā metilpalmitāta maksimuma laukums, kas iegūts no to kopējo taukskābju metilesteru hromatogrammas, kas noteiktas ar analīzēm, kuras minētas šīs direktīvas 2. pantā.

7.1.4. Formulas atvasinājums

Frakcijā, kas satur metilerukātu, taukskābju proporciju, kura izteikta kā procentuālā daļa no kopējām taukskābēm frakcijā, aprēķina šādi:

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

Erukskābes proporciju frakcijā, kas satur metilerukātu, aprēķina šādi:

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

Tādējādi erukskābes saturu paraugā, kas izteikts kā procentuālā daļa no kopējām taukskābēm, aprēķina šādi:

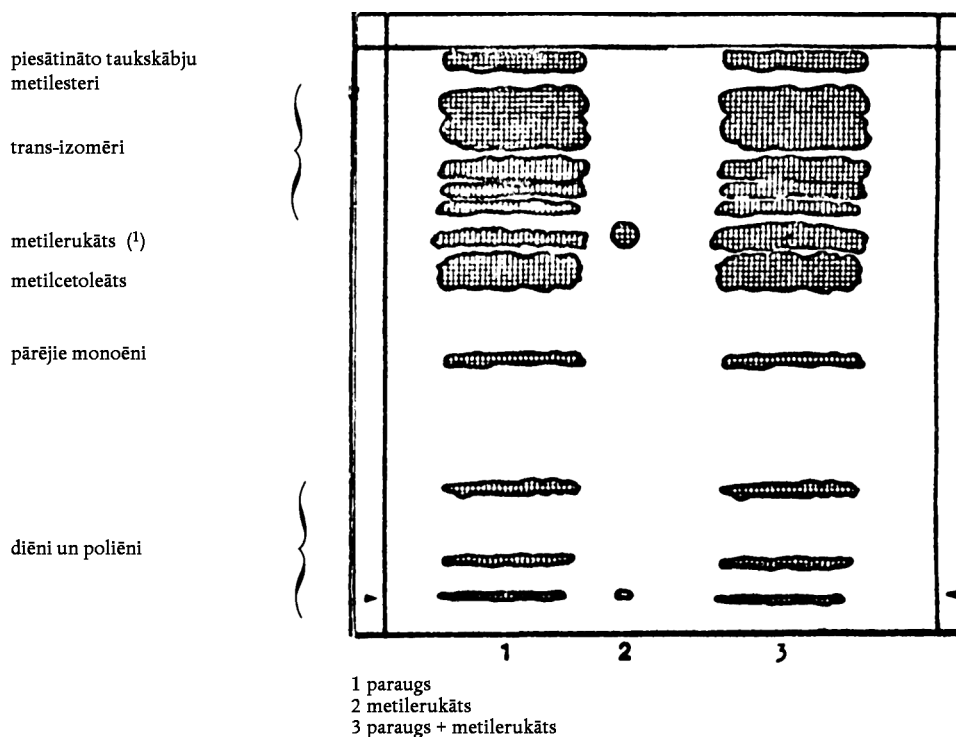
$$\frac{EF}{L_1 \left(\frac{EF}{L_1} + \frac{RF}{L_2} \right)} \times \frac{E}{EF} \times 100 \quad \text{vai} \quad \frac{E}{L_1 \left(\frac{EF}{L_1} + \frac{RF}{L_2} \right)} \times 100$$

7.1.5. Atkārtojamība

Atšķirība starp divu noteikšanu vērtībām, ko vienlaikus vai ātrā secībā vienam un tam pašam paraugam vienos un tādos pašos apstākļos noteicis viens un tas pats ķīmiķis laborants, nepārsniedz 10 % no rezultāta vai 0,5 g uz 100 g parauga, ņemot lielāko vērtību.

ATTĒLS

Tipiska plānslāņa hromatogrāfija, kas uzrāda erukskābes, ketoleiskās skābes un dokozenoiskās skābes trans-izomēru metilesteru atdalīšanu



(1) Frakcija, kas nosaukta par metilerukātu, parasti saturēs citu monoēnskābju metilesterus, bet tai vajadzētu būt brīvai no metilcetoleāta.