

## ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΚ) αριθ. 1082/96 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

της 14ης Ιουνίου 1996

για τη θέσπιση μεθόδου αναφοράς για τον προσδιορισμό του αιθυλεστέρα του β-από-8'-καροτενικού οξέος σε συμπυκνωμένο δούτυρο και δούτυρο

Η ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΤΩΝ ΕΥΡΩΠΑΪΚΩΝ ΚΟΙΝΟΤΗΤΩΝ,

Έχοντας υπόψη:

τη συνθήκη για την ίδρυση της Ευρωπαϊκής Κοινότητας,

τον κανονισμό (ΕΟΚ) αριθ. 804/68 του Συμβουλίου, της 27ης Ιουνίου 1968, σχετικά με την κοινή οργάνωση της αγοράς του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων<sup>(1)</sup>, όπως τροποποιήθηκε τελευταία από τον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 2931/95 της Επιτροπής<sup>(2)</sup>, και ιδίως το άρθρο 6 παράγραφος 7 και το άρθρο 12 παράγραφος 3,

Εκτιμώντας:

ότι ο κανονισμός (ΕΟΚ) αριθ. 570/88 της Επιτροπής, της 16ης Φεβρουαρίου 1988, για την πώληση δούτυρου σε μειωμένες τιμές και τη χορήγηση ενίσχυσης για δούτυρο και για συμπυκνωμένο δούτυρο που πρόκειται να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή προϊόντων ζαχαροπλαστικής, παγωτών και άλλων προϊόντων διατροφής<sup>(3)</sup>, όπως τροποποιήθηκε τελευταία από τον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 531/96<sup>(4)</sup>, προβλέπει την ιχνοθέτηση του επιχορηγούμενου δούτυρου και του συμπυκνωμένου δούτυρου, σε ορισμένες περιπτώσεις, για να εξασφαλισθεί η ορθή χρήση αυτών των προϊόντων·

ότι, λόγω της σημασίας που έχει η ιχνοθέτηση για την ορθή λειτουργία του προγράμματος, και για να εξασφαλισθεί η ισότιμη μεταχείριση των εμπορευόμενων που συμμετέχουν σ' αυτό, είναι σκόπιμο να καθιερωθούν κοινές μέθοδοι για τον προσδιορισμό των ιχνοθετών που αναφέρονται στον κανονισμό (ΕΟΚ) αριθ. 570/88·

ότι είναι δύσκολο να θεσπισθούν ταυτοχρόνως για όλους τους ιχνοθέτες αυτές οι μέθοδοι αναφοράς· ότι η θέσπιση μιας μεθόδου αναφοράς για τον προσδιορισμό του αιθυλε-

στέρα του β-από-8'-καροτενικού οξέος σε συμπυκνωμένο δούτυρο ή δούτυρο, συνιστά ένα επιπλέον βήμα προς αυτήν την κατεύθυνση·

ότι τα μέτρα που προβλέπονται στον παρόντα κανονισμό είναι σύμφωνα με τη γνώμη της επιτροπής διαχείρισης γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων,

ΕΞΕΔΩΣΕ ΤΟΝ ΠΑΡΟΝΤΑ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟ:

*Άρθρο 1*

Η αναλυτική μέθοδος αναφοράς η οποία αναφέρεται στο παράρτημα πρέπει να εφαρμόζεται για τον προσδιορισμό του αιθυλεστέρα του β-από-8'-καροτενικού οξέος σε συμπυκνωμένο δούτυρο ή δούτυρο σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΟΚ) αριθ. 570/88.

Το συμπυκνωμένο δούτυρο ή το δούτυρο έχουν ιχνοθετηθεί σύμφωνα με το άρθρο 6 του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 570/88 σε περίπτωση που τα λαμβανόμενα αποτελέσματα είναι σύμφωνα με τις προδιαγραφές του σημείου 8 του παραρτήματος του παρόντος κανονισμού.

*Άρθρο 2*

Ο παρών κανονισμός αρχίζει να ισχύει την τρίτη ημέρα από τη δημοσίευσή του στην *Επίσημη Εφημερίδα των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων*.

Εφαρμόζεται από την 1η Οκτωβρίου 1996.

Ο παρών κανονισμός είναι δεσμευτικός ως προς όλα τα μέρη του και ισχύει άμεσα σε κάθε κράτος μέλος.

Βρυξέλλες, 14 Ιουνίου 1996.

Για την Επιτροπή

Franz FISCHLER

Μέλος της Επιτροπής

(<sup>1</sup>) ΕΕ αριθ. L 148 της 28. 6. 1968, σ. 13.

(<sup>2</sup>) ΕΕ αριθ. L 307 της 20. 12. 1995, σ. 10.

(<sup>3</sup>) ΕΕ αριθ. L 55 της 1. 3. 1988, σ. 31.

(<sup>4</sup>) ΕΕ αριθ. L 78 της 28. 3. 1996, σ. 13.

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

## ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑ ΤΟΥ Β-ΑΠΟ-8'-ΚΑΡΟΤΕΝΙΚΟΥ ΟΞΕΩΣ ΣΕ ΣΥΜΠΥΚΝΩΜΕΝΟ ΒΟΥΤΥΡΟ ΚΑΙ ΒΟΥΤΥΡΟ

## 1. Πεδίο εφαρμογής

Η μέθοδος περιγράφει διαδικασία για τον ποσοτικό προσδιορισμό του αιθυλεστέρα του β-απο-8'-καροτενικού οξέος (αποκαροτενικός εστέρας) σε συμπυκνωμένο βούτυρο και βούτυρο. Ο αποκαροτενικός εστέρας είναι το σύνολο όλων των ουσιών που ανευρίσκονται σε εκχύλισμα δειγμάτων που λαμβάνεται υπό τις συνθήκες που περιγράφονται στη μέθοδο και εμφανίζουν απορρόφηση φωτός στα 440 nm. Η μέθοδος εφαρμόζεται σε δείγματα που λαμβάνονται σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΟΚ) αριθ. 570/88.

## 2. Αρχή

Η λιπαρή ύλη του βουτύρου διαλύεται σε πετρελαϊκό αιθέρα και μετριέται η απορρόφηση στα 440 nm. Η περιεκτικότητα σε αποκαροτενικό εστέρα προσδιορίζεται με αναφορά σε ένα εξωτερικό πρότυπο.

## 3. Εξοπλισμός

3.1. Βαθμονομημένα σιφόνια των 0,25, 0,50, 0,75 και 1,0 ml

3.2. Φασματοφωτόμετρο, κατάλληλο για χρήση στα 440 nm (και 447 — 449 nm) και με κυψελίδες μήκους οπτικής διαδρομής 1 cm

3.3. Ογκομετρικές φιάλες π.χ. των 20 ml και 100 ml

## 4. Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αποδεκτής αναλυτικής καθαρότητας.

4.1. Αιώρημα αποκαροτενικού εστέρα (περίπου 20 %)

4.1.1. Η περιεκτικότητα του αιωρήματος ρυθμίζεται ως εξής:

400 mg περίπου αποκαροτενικού εστέρα ζυγίζονται επακριβώς σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml, διαλύονται σε πετρελαϊκό αιθέρα (4.2) και το προκύπτον διάλυμα αραιώνεται με πετρελαϊκό αιθέρα μέχρι τη χαραγή. 5,0 ml του διαλύματος αυτού αραιώνονται μέχρις όγκου 100 ml με πετρελαϊκό αιθέρα (διάλυμα Α). Κατόπιν, 5,0 ml του διαλύματος Α αραιώνονται μέχρις όγκου 100 ml με πετρελαϊκό αιθέρα και μετριέται η απορρόφηση του προκύπτοντος διαλύματος στα 447 — 449 nm (μετριέται η μέγιστη απορρόφηση χρησιμοποιώντας ως λευκό πετρελαϊκό αιθέρα και κυψελίδες του 1 cm).

$$\text{Περιεκτικότητα (\%)} \text{ σε αποκαροτενικό εστέρα} = \frac{A_{\max} \cdot 40\,000}{A \cdot 2\,550}$$

$A_{\max}$  = μέγιστη απορρόφηση του διαλύματος

A = θάρος του δείγματος (g)

2550 = τιμή αναφοράς A (1%, 1 cm)

Η καθαρότητα του αιωρήματος είναι P (%).

*Σημείωση:* Το αιώρημα του αποκαροτενικού εστέρα παρουσιάζει ευαισθησία στον αέρα, στη θερμότητα και στο φως. Στον αρχικό του περιέκτη που δεν έχει ακόμη ανοιχθεί, (σφραγισμένο σε ατμόσφαιρα αζώτου) και όταν αυτός φυλάσσεται σε ψυχρό μέρος, μπορεί να διατηρηθεί για δώδεκα μήνες περίπου. Μετά το άνοιγμα, το περιεχόμενο θα πρέπει να χρησιμοποιείται μέσα σε μικρό χρονικό διάστημα.

4.1.2. Πρότυπο διάλυμα αποκαροτενικού εστέρα, περίπου 0,2 mg/ml

Ζυγίζονται, με ακρίβεια 0,1 mg, περίπου 0,100 g αιωρήματος αποκαροτενικού εστέρα (4.1.1) (Wg), διαλύονται σε πετρελαϊκό αιθέρα (4.2), μεταφέρονται ποσοτικά σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml και το διάλυμα συμπληρώνεται μέχρι τη χαραγή με πετρελαϊκό αιθέρα.

Το διάλυμα αυτό περιέχει (W.P.)/100 mg/ml αποκαροτενικού εστέρα.

*Σημείωση:* Το διάλυμα πρέπει να φυλάσσεται στο σκοτάδι και σε ψυχρό μέρος. Διάλυμα που δεν έχει χρησιμοποιηθεί μέσα σε διάστημα ενός μήνα, πρέπει να απορρίπτεται.

4.2. Πετρελαϊκός αιθέρας (40 — 60 °C)

4.3. Θεϊκό νάτριο, άνυδρο, κοκκώδες, που έχει ξηρανθεί προηγουμένως στους 102 °C επί δύο ώρες.

5. **Διαδικασία**
- 5.1. Παρασκευή του δείγματος δοκιμής
- 5.1.1. Συμπυκνωμένο βούτυρο  
Το δείγμα τήκεται σε φούρνο στους 45 °C περίπου.
- 5.1.2. Βούτυρο  
Το δείγμα τήκεται μέσα σε φούρνο στους 45 °C περίπου. Αντιπροσωπευτική ποσότητα του δείγματος διηθείται διαμέσου φίλτρου που περιέχει περίπου 10 g άνυδρο θειικό νάτριο (4.3) σε περιβάλλον που είναι προστατευμένο από ισχυρό φυσικό ή τεχνητό φωτισμό και διατηρείται στους 45 °C. Συλλέγεται η κατάλληλη ποσότητα λιπαρής ύλης βουτύρου.
- 5.2. Προσδιορισμός  
Ζυγίζεται, με ακρίβεια 1 mg, ποσότητα 1 g περίπου συμπυκνωμένου βουτύρου [ή εκχυλισμένης λιπαρής ύλης βουτύρου (5.1.2)], (mg) και μεταφέρεται ποσοτικά σε ογκομετρική φιάλη των 20 ml (Vml) με πετρελαϊκό αιθέρα (4.2). Στη συνέχεια συμπληρώνεται μέχρι τη χαραγή και αναμειγνύεται καλά.  
Κατάλληλη ποσότητα του ανωτέρω δείγματος μεταφέρεται σε κυψελίδα 1 cm και μετριέται η απορρόφηση στα 440 nm χρησιμοποιώντας ως λευκό πετρελαϊκό αιθέρα. Η συγκέντρωση του αποκαροτενικού εστέρα στο διάλυμα υπολογίζεται με βάση την καμπύλη αναφοράς (C μg/ml).
- 5.3. Καμπύλη αναφοράς  
Λαμβάνονται με σιφόνιο 0, 0,25, 0,5, 0,75 και 1,0 ml πρότυπου διαλύματος αποκαροτενικού εστέρα (4.1.2) και φέρονται σε πέντε ογκομετρικές φιάλες των 100 ml, αντιστοίχως. Τα διαλύματα αραιώνονται μέχρι τη χαραγή με πετρελαϊκό αιθέρα (4.2) και αναμειγνύονται.  
Οι κατά προσέγγιση συγκεντρώσεις των διαλυμάτων κυμαίνονται από 0 έως 2 μg/ml, υπολογίζονται δε επακριβώς με αναφορά στη συγκέντρωση του πρότυπου διαλύματος (4.1.2) (W.P)/100 mg/ml. Μετρίωνται οι τιμές απορρόφησης στα 440 nm χρησιμοποιώντας ως λευκό πετρελαϊκό αιθέρα (4.2).  
Οι τιμές απορρόφησης σημειώνονται στον άξονα των Ψ ενώ οι συγκεντρώσεις του αποκαροτενικού εστέρα σημειώνονται στον άξονα των Χ.
6. **Υπολογισμός των αποτελεσμάτων**
- 6.1. Η συγκέντρωση του αποκαροτενικού εστέρα, εκφραζόμενη σε mg/kg προϊόντος, δίνεται από τον τύπο:  
Συμπυκνωμένο βούτυρο:  $(C \cdot V) / m$   
Βούτυρο:  $0,82 (C \cdot V) / m$   
όπου:  
C = συγκέντρωση του αποκαροτενικού εστέρα σε μg/ml με βάση την καμπύλη αναφοράς (5.3),  
m = μάζα (g) της ποσότητας δοκιμής (5.2),  
0,82 = συντελεστής διόρθωσης για να ληφθεί υπόψη η περιεκτικότητα του βουτύρου σε λιπαρή ύλη.
7. **Ορθότητα της μεθόδου**
- 7.1. Επαναληψιμότητα
- 7.1.1. Ανάλυση βουτύρου  
Η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο προσδιορισμών που διεξάγονται μέσα στο μικρότερο δυνατό χρονικό διάστημα, από έναν αναλυτή, χρησιμοποιώντας τον ίδιο εξοπλισμό σε ταυτόσημο υλικό δοκιμής δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 1,4 mg/kg.
- 7.1.2. Ανάλυση συμπυκνωμένου βουτύρου  
Η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο προσδιορισμών που διεξάγονται μέσα στο μικρότερο δυνατό χρονικό διάστημα, από έναν αναλυτή, χρησιμοποιώντας τον ίδιο εξοπλισμό σε ταυτόσημο υλικό δοκιμής δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 1,6 mg/kg.
- 7.2. Αναπαραγωγιμότητα
- 7.2.1. Ανάλυση βουτύρου  
Η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο προσδιορισμών που διεξάγονται από διαφορετικούς αναλυτές σε διαφορετικά εργαστήρια, χρησιμοποιώντας διαφορετικό εξοπλισμό σε ταυτόσημο υλικό δοκιμής δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 4,7 mg/kg.
- 7.2.2. Ανάλυση συμπυκνωμένου βουτύρου  
Η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο προσδιορισμών που διεξάγονται από διαφορετικούς αναλυτές σε διαφορετικά εργαστήρια, χρησιμοποιώντας διαφορετικό εξοπλισμό σε ταυτόσημο υλικό δοκιμής δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 5,3 mg/kg.

## 7.3. Προέλευση των δεδομένων ακριβείας

Τα δεδομένα ακριβείας προσδιορίστηκαν σε κύκλο δοκιμών που διεξήχθησαν το 1995 σε ένδεκα εργαστήρια και δώδεκα ιχνηθετημένα δείγματα (έξι τυφλά εις διπλούν) για το βούτυρο και δώδεκα ιχνηθετημένα δείγματα (έξι τυφλά εις διπλούν) για το συμπυκνωμένο βούτυρο.

## 8. Όρια ανοχών

8.1. Για τον έλεγχο της ομοιογένειας, πρέπει να λαμβάνονται τρία δείγματα από το ιχνηθετημένο προϊόν.

Με την περιγραφόμενη αναλυτική διαδικασία, ανιχνεύονται όλες οι ενώσεις που απορροφούν σε μήκος κύματος 440 nm. Το μετρούμενο ποσοστό του αποκαρτενικού εστέρα εμφανίζεται αυξημένο λόγω αυτών των ουσιών. Η ομάδα των ειδικών χημικών της επιτροπής διαχείρισης γάλακτος της Κοινότητας καθόρισε ως όριο συμβολής των συμπαρυμαρτουσών ενώσεων στην απορρόφηση τα 22 mg/kg για το βούτυρο και τα 24 mg/kg για το συμπυκνωμένο βούτυρο.

## 8.2. Βούτυρο

8.2.1. Το ποσοστό συμμετοχής στο βούτυρο, προκειμένου να ληφθεί υπόψη η απορρόφηση των συμπαρυμαρτουσών ενώσεων, ορίζεται στα 22 mg/kg.

8.2.2. Λαμβάνοντας υπόψη την κρίσιμη διαφορά για επίπεδο πιθανότητας 95 % (CrD<sub>95</sub>), ο μέσος όρος των μεμονωμένων αναλύσεων που γίνονται σε καθένα από τα τρία δείγματα που λαμβάνονται για τον έλεγχο της ομοιογένειας, δεν πρέπει να είναι λιγότερο από 19,3 mg/kg.

8.2.3. Εκτός από το κριτήριο του σημείου 8.2.2, για τον έλεγχο της ομοιογένειας στην κατανομή των ιχνηθετών χρησιμοποιείται και το χαμηλότερο αποτέλεσμα που λαμβάνεται από την ανάλυση του προϊόντος. Αυτό γίνεται δια συγκρίσεως με τα ακόλουθα όρια:

18,1 mg/kg (95 % του ελάχιστου ποσοστού συμμετοχής, λαμβανομένης υπόψη της CrD<sub>95</sub> μεμονωμένου δείγματος).

14,8 mg/kg (80 % του ελάχιστου ποσοστού συμμετοχής, λαμβανομένης υπόψη της CrD<sub>95</sub> μεμονωμένου δείγματος).

Η συγκέντρωση του ιχνηθέτη στο δείγμα που δίνει το χαμηλότερο αποτέλεσμα χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με παρεμβολή μεταξύ 18,1 και 14,8 mg/kg.

## 8.3. Συμπυκνωμένο βούτυρο

8.3.1. Το ποσοστό συμμετοχής στο συμπυκνωμένο βούτυρο, προκειμένου να ληφθεί υπόψη η απορρόφηση των συμπαρυμαρτουσών ενώσεων, ορίζεται σε 24 mg/kg.

8.3.2. Λαμβάνοντας υπόψη την κρίσιμη διαφορά για επίπεδο πιθανότητας 95 % (CrD<sub>95</sub>), ο μέσος όρος των μεμονωμένων αναλύσεων που γίνονται σε καθένα από τα τρία δείγματα που λαμβάνονται για τον έλεγχο της ομοιογένειας, δεν πρέπει να είναι λιγότερο από 20,9 mg/kg.

8.3.3. Εκτός από το κριτήριο του σημείου 8.3.2, για τον έλεγχο της ομοιογένειας στην κατανομή των ιχνηθετών χρησιμοποιείται και το χαμηλότερο αποτέλεσμα που λαμβάνεται από την ανάλυση του προϊόντος. Αυτό γίνεται δια συγκρίσεως με τα ακόλουθα όρια:

19,6 mg/kg (95 % του ελάχιστου ποσοστού συμμετοχής, λαμβανομένης υπόψη της CrD<sub>95</sub> μεμονωμένου δείγματος).

16,1 mg/kg (80 % του ελάχιστου ποσοστού συμμετοχής, λαμβανομένης υπόψη της CrD<sub>95</sub> μεμονωμένου δείγματος).

Η συγκέντρωση του ιχνηθέτη στο δείγμα που δίνει το χαμηλότερο αποτέλεσμα χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με παρεμβολή μεταξύ 19,6 και 16,1 mg/kg.