

367L0427

11. 7. 67

Diario Oficial de las Comunidades Europeas

Nº 148/1

DIRECTIVA DEL CONSEJO

de 27 de junio de 1967

relativa a la utilización de ciertos agentes conservadores para el tratamiento en superficie de los agrios y á las medidas de control cualitativo y cuantitativo de los agentes conservadores aplicados en y sobre los agrios

(67/427/CEE)

EL CONSEJO DE LA COMUNIDAD
ECONÓMICA EUROPEA,

Visto el Tratado constitutivo de la Comunidad Económica
Europea y, en particular, su artículo 100,

Vista la propuesta de la Comisión,

Visto el dictamen del Parlamento Europeo ⁽¹⁾,

Visto el dictamen del Comité Económico y Social ⁽²⁾,

Considerando que, según el artículo 5 de la Directiva del Consejo, de 5 de noviembre de 1963, relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros sobre los agentes conservadores que pueden utilizarse en los

productos destinados al consumo humano ⁽³⁾, modificada en último lugar por la Directiva del Consejo de 14 de diciembre de 1966 ⁽⁴⁾, los Estados miembros podrán mantener hasta el 30 de junio de 1967 las disposiciones de las legislaciones nacionales relativas al tratamiento en superficie de los agrios con bifenilo (difenilo), ortofenilfenol y ortofenilfenolato de sodio;

Considerando que la utilización de tales sustancias para el tratamiento en superficie de los agrios no constituye un peligro para la salud si la dosis residual por kilogramo de frutas enteras no sobrepasa los 70 miligramos de bifenilo y los 12 miligramos de ortofenilfenol y de ortofenilfenolato de sodio, expresados en ortofenilfenol;

Considerando que, por otra parte, es conveniente indicar el tratamiento que se ha efectuado de una forma apropiada en todas las fases de comercialización;

⁽¹⁾ DO nº 63 de 3. 4. 1967, p. 990/67.

⁽²⁾ DO nº 64 de 5. 4. 1967, p. 1005/67.

⁽³⁾ DO nº 12 de 27. 1. 1964, p. 161/64.

⁽⁴⁾ DO nº 233 de 20. 12. 1966, p. 3947/66.

Considerando que la autorización en el ámbito comunitario de las tres sustancias consideradas supone igualmente establecer una serie de reglas comunes para controlar oficialmente los agrios tratados;

Considerando que la aplicación por parte de los Estados miembros de las disposiciones de la presente Directiva sólo puede realizarse después de un periodo de transición; y que es conveniente, por tanto, mantener hasta el final de dicho periodo las disposiciones de las legislaciones nacionales relativas al tratamiento en superficie de los agrios con los tres agentes conservadores considerados;

Considerando que no es conveniente imponer a un Estado miembro la obligación de autorizar la utilización de un agente conservador en los productos alimenticios producidos y consumidos en su propio territorio cuando con existe una necesidad tecnológica que justifique tal utilización,

HA ADOPTADO LA PRESENTE DIRECTIVA:

Artículo 1

Queda modificada como sigue la Directiva del Consejo de 5 de noviembre de 1963, relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros sobre los agentes conservadores que pueden utilizarse en los productos destinados al consumo humano:

1. En el apartado 2 del artículo 2, la segunda frase se sustituirá por el texto siguiente:

«No obstante, la legislación de un Estado miembro sólo podrá excluir totalmente la utilización de uno de los agentes conservadores enumerados en el Anexo cuando no exista ninguna necesidad tecnológica para utilizarlo en los productos alimenticios producidos y consumidos en su propio territorio.»

2. Se añadirán los siguientes agentes conservadores a los enumerados en la sección I del Anexo:

Numeración de la CEE	Denominación	Condiciones de empleo
E 230 E 231 E 232	Bifenilo (Difenilo) Ortofenilfenol Ortofenilfenato de sodio	a) Exclusivamente para el tratamiento en superficie de los agrios b) En el momento de comercializar los agrios <ol style="list-style-type: none"> i) la tasa residual por kg de agrios (frutos enteros) no deberá sobrepasar: <ul style="list-style-type: none"> para el bifenilo: 70 mg y para el ortofenilfenol y el ortofenilfenato de sodio, tomados juntos o por separado, expresados en ortofenilfenol: 12 mg ii) el tratamiento deberá indicarse: <ul style="list-style-type: none"> — en el comercio al por mayor, en las facturas y en una cara exterior de los embalajes, con la mención: «Conservado mediante ...» seguida del nombre de la sustancias utilizadas — en el comercio al por menor, con una indicación visible que asegure de forma inequívoca la información del consumidor

3. Queda suprimido el párrafo b) del artículo 5.

Artículo 2

Los Estados miembros tomarán todas las medidas útiles para que la toma de muestras y los análisis cualitativo y cuantitativo del bifenilo, el ortofenilfenol y el ortofenilfenato de sodio se lleven a cabo de conformidad con las disposiciones de los Anexos I, II, III y IV de la presente Directiva.

2. Hasta la fecha del 1 de julio de 1968, los Estados miembros podrán mantener las disposiciones de las legislaciones nacionales relativas al tratamiento en superficie de los agrios con bifenilo, ortofenilfenol y ortofenilfenato de sodio.

Artículo 4

Los destinatarios de la presente Directiva serán los Estados miembros.

Artículo 3

1. Los Estados miembros adoptarán las medidas necesarias para cumplir la presente Directiva a más tardar el 1 de julio de 1968 e informarán de ello inmediatamente a la Comisión.

Hecho en Bruselas, el 27 de junio de 1967.

Por el Consejo

El Presidente

R. VAN ELSLANDE

ANEXO I

MODALIDADES DE TOMA DE MUESTRAS DE AGRIOS PARA EL CONTROL DE LOS AGENTES CONSERVADORES

A. Toma de muestras

I. Las tomas se efectuarán según los métodos científicos que permitan asegurar la obtención de muestras representativas del lote que se ha de controlar.

II. Las muestras deberán cumplir por lo menos los siguientes requisitos:

1. *Mercancías con embalaje* (cajas, cartones y recipientes similares)

Número de recipientes en el lote	Hasta 20	De 21 a 500	De 501 a 1 000	Más de 1 000
Número mínimo de recipientes que se han de tomar	1	2	3	4
Masa en kg de frutas que se ha de tomar por recipiente	2	2	2	2

2. *Mercancías a granel*

Masa del lote en kg	Hasta 20	De 21 a 500	Más de 500
Masa que se ha de tomar en kg	2	4	8

III. Se entiende por lote: una partida de entrega que presente las mismas características, tales como la variedad, el grado de madurez, el tipo de embalaje.

B. Acondicionamiento y envío de las muestras

1. Las muestras se introducirán en recipientes herméticos;
2. Los recipientes se precintarán;
3. Las muestras acondicionadas de este modo se enviarán lo más rápidamente posible a los laboratorios de control.

ANEXO II**DETERMINACIÓN DE LOS RESIDUOS DE BIFENILO, ORTOFENILFENOL Y ORTOFENILFENATO DE SODIO EN LAS CORTEZAS DE AGRIOS****1. Objeto y campo de aplicación**

El método que se describe a continuación permite comprobar la presencia de residuos de bifenilo, ortofenilfenol (OPP) u ortofenilfenato de sodio en las cortezas de agrios. Su límite de sensibilidad es, en valor absoluto, del orden de 5 µg para el bifenilo y de 1 µg para el OPP o el ortofenilfenato de sodio, lo que equivale respectivamente a 5 mg de bifenilo (5 ppm) y 1 mg de OPP (1 ppm) en las cortezas de 1 kg de agrios.

El tratamiento de los agrios con los productos mencionados más arriba ocasiona la presencia de residuos, localizados en su mayoría en las cortezas de las frutas. El análisis cuantitativo de dichos residuos en los frutos enteros sólo será, pues, necesario cuando se descubra su presencia en las cortezas.

2. Principio

Las cortezas se extraen por medio del diclorometano en medio ácido. Es extracto se concentra y se cromatografía en capa fina sobre gel de sílice. La presencia de bifenilo, ortofenilfenol y ortofenilfenato de sodio se evidencia mediante fluorescencia y reacciones de coloración.

3. Reactivos

ciclohexano p. a.,

diclorometano p. a.,

ácido clorhídrico al 25% (p/v),

gel de sílice GF 254 Merck o equivalente,

solución acetónica de 2,4,7-trinitrofluorena (Fluka, B. D. H. o equivalente) al 0,5% (TNF),

solución etanólica de 2,6-dibromo-benzoquinona-4-clorimida al 0,1% (duración máxima de conservación: una semana en el refrigerador),

solución concentrada de amoníaco, d : 0,9,

solución patrón de bifenilo puro al 1% en el ciclohexano,

solución patrón de ortofenilfenol puro al 1 % en el ciclohexano.

4. Equipo

Mezclador,

matraz de 250 ml de cuello esmerilado, provisto de refrigerante de reflujo,

evaporador de presión reducida,

micropipetas,

aparato de cromatografía en capa fina con placas de 20 × 20 cm,

Lámpara U.V. (254 nm): debe tener una intensidad que permita percibir una mancha de 5 g de bifenilo,

pulverizador de reactivos,

estufa.

5. Procedimiento

a) Preparación de la muestra y extracción

Se parten en dos los frutos que constituyen la totalidad de la muestra tomada para el control. Se reserva una mitad de cada fruto para el análisis cuantitativo de los residuos de bifenilo y/o de ortofenilfenol. Se extraen de las otras mitades fragmentos de corteza para obtener una muestra de unos 80 g. Dichos fragmentos se cortan en pedazos, se trituran en el mezclador y se introducen en el matraz de 250 ml; se añade 1 ml de ácido clorhídrico al 25% y 100 ml de diclorometano. La mezcla se calienta a reflujo durante 10 minutos. Después de enfriar y enjuagar el refrigerante con unos 5 ml de diclorometano, se filtra sobre papel plisado. Se lleva la solución al evaporador y se le añaden algunas piedras porosas. Se concentra la solución a presión reducida a la temperatura de 50 °C, hasta obtener un volumen final de unos 10 ml. Si se usa un evaporador rotativo, debe mantenerse el matraz en posición fija, para evitar que se pierda bifenilo al formarse una película del producto en la pared superior del matraz.

b) Cromatografía

Se introducen en un mezclador 30 g de gel de sílice y 60 ml de agua. Se mezcla durante un minuto, se vierte a continuación la mezcla sobre 5 placas cromatográficas y se extiende para formar una capa de unos 0,250 mm de espesor. Las placas recubiertas de este modo se someten durante 15 minutos a una corriente de aire caliente, y a continuación se introducen en una estufa donde se mantienen durante 30 minutos a 110 °C.

Después de enfriarse, se divide cada placa en bandas de 2 cm de anchura, por medio de trazos paralelos que penetren en el recubrimiento hasta la superficie de la placa. Se depositan sobre cada banda, a unos 1,5 cm del borde y en una serie de gotas yuxtapuestas, 50 µl del extracto que se analiza. Una banda como mínimo se reserva para los patrones, constituidos por un depósito de 1 µl (es decir, 10 mg) de las soluciones patrón de bifenilo y ortofenilfenol.

Las placas cromatográficas se revelan con ayuda de una mezcla de ciclohexano y de diclorometano (25 : 95) en las cubetas cuyo interior ha sido previamente tapizado con papel filtro.

c) Defección e identificación

La presencia de bifenilo y de ortofenilfenol se señala por la aparición de manchas luminosas U.V. (254 nm). Al haberse transformado en ortofenilfenol en el momento de la extracción en medio ácido, la presencia de ortofenilfenato de sodio no se diferencia de la del ortofenilfenol. La identificación de los productos se efectuará de la forma siguiente:

- i) *el bifenilo* produce una mancha amarilla a la luz del día, al ser pulverizado con la solución de TNF;
- ii) *el ortofenilfenol* produce una mancha azul al ser pulverizado con la solución de 2,6-dibromo-benzoquinona-4-clorimida, y hacérsele pasar después rápidamente por una corriente de aire caliente y exponérsele a una atmósfera saturada de amoniaco.

ANEXO III

ANÁLISIS CUANTITATIVO DE LOS RESIDUOS DE BIFENILO EN LOS AGRIOS

1. Objeto y campo de aplicación

El método que se describe a continuación permite valorar los residuos de bifenilo en los agrios (frutos enteros). El margen de error de los resultados es de $\pm 10\%$ para los contenidos en bifenilo superiores a 10 mg por kg de frutos (10 ppm).

2. Principio

Después de la destilación en medio ácido y de la extracción por medio de ciclohexano, el extracto se cromatografía en capa fina sobre gel de sílice. Se revela el cromatograma y el bifenilo se elúe y se determina espectrofotométricamente a 248 nm.

3. Reactivos

Ácido sulfúrico concentrado,

emulsión antiespuma a base de silicona,

ciclohexano p. a.,

hexano p. a.,

etanol p. a.,

sulfato de sodio anhidro,

gel de sílice GF 254 Merck o equivalente,

solución patrón de bifenilo puro al 1 % en el ciclohexano: diluir con ciclohexano para obtener las tres soluciones siguientes: (a) 0,6 μ g μ l; (b) 1 μ g μ l; (c) 1,4 μ g μ l

4. Equipo

Mezclador de 1 l,

matraz de destilación de 2 l con separador del tipo Clevenger (1) modificado y refrigerante de reflujo,

matraz aforado de 10 ml,

micropipetas de 50 μ l,

aparato de cromatografía en capa fina con placas de 20 \times 20 cm,

estufa,

centrifugadora con tubos cónicos de 15 ml,

espectrofotómetro U.V.

5. Procedimiento

a) Preparación de la muestra y extracción

Se parten en dos los frutos que constituyen la totalidad de la muestra tomada para el control. Se reserva una mitad de cada fruto para la investigación de los residuos de bifenilo, de OPP o de ortofenilfenato de sodio. Las otras mitades se juntan, se pican en un molinillo o se trituran hasta obtener una mezcla homogénea. Se extraen de ella por lo menos dos submuestras de 200 g sobre las que se efectúa el análisis según el método que se indica a continuación. Se introduce cada submuestra en un mezclador con 100 ml de agua y se tritura a poca velocidad durante algunos segundos. Se añade una cantidad de agua tal que el volumen de la mezcla alcance los $\frac{3}{4}$ del contenido del mezclador. Se tritura a continuación a gran velocidad durante 5 minutos. La pasta que se obtiene se trasvasa al matraz de destilación de 2 l. Se enjuaga el mezclador con agua y se añade al contenido del matraz el agua del enjuague. (La cantidad total de agua que se utilizará para el triturado y el enjuague será de 1 l). Se añaden a la mezcla 2 ml de ácido sulfúrico, 1 ml de emulsión antiespuma y algunas piedras porosas. Se ajustan el separador y el refrigerante al matraz. Se introduce agua destilada en el separador, hasta que el nivel del agua sobrepase claramente la ramificación inferior del tubo lateral de retorno, y a continuación 7 ml de ciclohexano. Se destila durante unas dos horas. Se recoge a continuación el contenido del separador en el matraz aforado de 10 ml, se enjuaga el separador con unos 1,5 ml de ciclohexano, se añade la solución de enjuague al contenido del matraz y se enrasa con ciclohexano. Se introduce, por último, un poco de sulfato de sodio anhidro y se agita.

b) Cromatografía

Se introducen en un mezclador 30 g de gel de sílice y 60 ml de agua. Se mezcla durante un minuto, a continuación se vierte la mezcla sobre 5 placas cromatográficas y se extiende para formar una capa de unos 0,250 mm de espesor. Las placas recubiertas de este modo se someten durante 15 minutos a una corriente de aire caliente y a continuación se introducen en una estufa donde se mantienen durante

(1) Ver figura página 47.

30 minutos a 110 °C. Después de enfriarse, se divide cada placa en 4 bandas de 4,5 cm de anchura, por medio de trazos paralelos que penetren en el recubrimiento hasta la superficie de la placa. Se deposita sobre una de las bandas, a unos 1,5 cm del borde de la placa y en series de gotas yuxtapuestas, 50 µl del extracto que se ha de analizar y, sobre cada una de las otras tres bandas, 50 µl de las soluciones patrón (a), (b), y (c), que corresponden respectivamente a dosis de bifenilo de 30, 50 y 70 µg.

Cuando se efectúen análisis en serie, podrá omitirse el depositar sobre cada placa las soluciones patrón, y remitirse, por lo que respecta a la curva de contraste, a la media de los valores obtenidos a partir de 5 placas como mínimo, con las mismas dosis patrón.

c) *Revelado de los cromatogramas y elución*

Los cromatogramas se revelan sobre una altura de 17 cm con el hexano en las cubetas cuyo interior ha sido previamente tapizado con papel filtro. Las placas se secan al aire libre. Las zonas en las que se localiza el bifenilo se marcan con luz U.V. a 254 nm, y se delimitan en rectángulos de superficies iguales.

Las superficies delimitadas de este modo se raspan inmediatamente con ayuda de una espátula en todo el espesor de la capa de soporte. Se extrae el bifenilo con 10 ml de etanol, durante 10 minutos, agitando varias veces. Se trasvasa a los tubos de centrifugación y se centrifuga durante 5 minutos a 2 500 vueltas por minuto.

Se toma de la misma forma una zona patrón de igual dimensión. Cuando se hagan análisis en serie, se tomará dicha zona en una banda virgen de la placa; en caso de análisis individuales, se la tomará en una banda ocupada por un patrón *por debajo* de la zona que contiene el bifenilo.

d) *Determinación espectrofotométrica*

Se decanta el líquido que sobrenada en las celdillas del espectrofotómetro y se determina la extinción a 248 nm, por comparación con un extracto patrón procedente de una zona cromatográfica libre de bifenilo.

6. **Cálculo de los resultados**

Se traza una curva de contraste tomando como coordenadas respectivamente las dosis de bifenilo de 30, 50 y 70 µg y las extinciones correspondientes, determinadas en el espectrofotómetro. La curva que se obtiene es una línea recta que pasa por el origen. Este gráfico permite la lectura directa en ppm de los contenidos en bifenilo de las muestras, a partir de los valores de extinción de sus extractos.

ANEXO IV

ANÁLISIS CUANTITATIVO DE LOS RESIDUOS DE ORTEFENILFENOL Y DE ORTOFENILFENATO DE SODIO EN LOS AGRIOS

1. **Objeto y campo de aplicación**

El método que se describe a continuación permite analizar cuantitativamente los residuos de ortofenilfenol (OPP) y de ortofenilfenato de sodio en los agrios (frutos enteros). Los resultados tienen un margen de error por defecto cuyo valor medio se sitúa entre el 10 y el 20% para un contenido en OPP u ortofenilfenato de sodio del orden de 12 ppm.

2. **Principio**

Después de la destilación en medio ácido y de la extracción por medio del éter di-isopentílico, se purifica y se trata el extracto con una solución de 1-fenil-2, 3-dimetil-4-aminopirazolona (5) (= 4-aminoantipirina). Se produce una coloración roja cuya intensidad se mide por espectrofotometría a 510 n.

3. Reactivos

Acido fosfórico al 70 %,

emulsión antiespuma a base de silicona,

éter di-isopentilícico p. a.,

ciclohexano purificado: agitar 3 veces con una solución de hidróxido de sodio al 4%, lavar 3 veces con agua destilada,

solución de hidróxido de sodio al 4%,

solución tampón de pH 10,4; introducir en un matraz aforado de 2 l, 6,64 g de ácido bórico, 8 g de cloruro de potasio y 93,1 ml de solución de hidróxido de sodio 1 N; mezclar y enrasar con agua destilada,

reactivo I: disolver 1 g de 1-fenil-2, 3-dimetil-4-aminopirazolona (5) (= 4-aminoantipirina) en 100 ml de agua destilada,

reactivo II: disolver 2 g de ferrocianuro de potasio en 100 ml de agua destilada. Los reactivos I y II deberán conservarse en frascos de vidrio opaco y sólo son estables durante unos 14 días,

gel de sílice,

solución patrón: disolver 10 mg de OPP puro en 1 ml de NaOH 0,1 N; completar hasta 100 ml con una solución de borato de sodio 0,2 m (1 ml = 100 µg). Para la curva de contraste, diluir a 1 : 10 con la solución tampón.

4. Equipo

Molinillo de picar o triturador,

mezclador,

matraz de destilación de 1 l con separador del tipo Clevenger (1) modificado y refrigerante de reflujo,

baño de infrarrojos,

embudo separador de 200 ml,

probetas graduadas de 25 y 100 ml,

matraces aforados de 25 y 100 ml,

pipetas de 1 a 10 ml,

pipetas aforadas de 0,5 ml,

espectrofotómetro con celdillas de 5 cm.

5. Procedimiento

Se parten en dos los frutos que constituyen la totalidad de la muestra tomada para el control. Se reserva una mitad de cada fruto para la investigación de los residuos de bifenilo, de OPP o de ortofenilfenato de sodio. Las otras mitades se juntan, se pican en un molinillo o se trituran hasta obtener una mezcla homogénea. Se extraen de ella por lo menos dos submuestras de 250 g sobre las que se efectúa el análisis según el procedimiento que se indica a continuación.

Se introduce cada submuestra en un mezclador con 500 ml de agua y se tritura hasta obtener una pasta homogénea e impalpable en la que ya no sean perceptibles las células aceitosas. Se toma, según el contenido que se suponga en OPP, de 150 a 300 g de la pasta y se introducen en el matraz de destilación de 1 l con ayuda de una cantidad de agua tal que la mezcla alcance los 500 g en el matraz. Después de añadir 10 ml de ácido fosfórico al 70%, algunas piedras porosas y 0,5 ml de emulsión antiespumante, se ajustan el separador y el refrigerante sobre el matraz. Se introducen en el separador 10 ml de éter di-isopentílico y se calienta lentamente el matraz en el baño de infrarrojos, evitando la cocción de la pasta o la formación de espuma. Se destila durante unas 6 horas. A continuación se vierte el contenido del separador en el embudo separador de 200 ml y se enjuaga el separador y el refrigerante con 60 ml de ciclohexano y después con

(1) Ver figura página 47.

60 ml de agua. Se añaden los líquidos de enjuague al contenido del embudo separador. Se agita con fuerza y, después de la separación de las fases, se decanta y se elimina la fase acuosa.

Para extraer el OPP, se agita 5 veces con fuerza la fase orgánica, cada vez durante 3 minutos con 10 ml de hidróxido de sodio al 4%. Las soluciones alcalinas se reúnen, se neutralizan al pH 9—10 con el ácido fosfórico en presencia de papel de fenoltaleína, y se completan hasta 100 ml con agua destilada. Se añade una pizca de gel de sílice, para clarificar la solución que presente un ligero disturbio, se agita y se filtra a continuación sobre un filtro seco de granos finos. Dado que el máximo de precisión y de exactitud en la extensión de la coloración se alcanza con cantidades de OPP comprendidas entre 10 y 70 g, se toma con ayuda de una pipeta una parte alícuota de 0,5 a 10 ml de solución, teniendo en cuenta las cantidades de OPP que se debe esperar encontrar. Se introduce la toma en un matraz aforado de 25 ml, se añaden 0,5 ml del reactivo I, 10 ml de la solución tampón, y a continuación 0,5 ml del reactivo II. Se enrasa con la solución tampón y se agita enérgicamente.

Después de 5 minutos, se mide en el espectrofotómetro la extinción de la coloración roja a 510 nm por comparación con un patrón libre de extracto. La intensidad de la coloración no se modificará durante 30 minutos. La evaluación se efectuará en función de los valores de la curva de contraste trazada en las mismas condiciones con la solución patrón de OPP.

6. Observaciones

Para cada análisis se recomienda efectuar una doble determinación espectrofotométrica con volúmenes diferentes del extracto alcalino neutralizado.

Los agrios que no han sido tratados darán según este método, valores en blanco que podrán alcanzar 0,5 ppm para las naranjas y 0,8 ppm para los limones.

CLEVENGER

(Capítulo 4 del Anexo III;

Capítulo 4 del Anexo IV)

