

A BIZOTTSÁG 118/2010/EU RENDELETE

(2010. február 9.)

a mezőgazdasági termékek feldolgozásával előállított egyes árucikkek behozatali szabályainak végrehajtásához szükséges analitikai módszerek és más technikai jellegű rendelkezések megállapításáról szóló 900/2008/EK rendelet módosításáról

AZ EURÓPAI BIZOTTSÁG,

tekintettel az Európai Unió működéséről szóló szerződésre,

tekintettel a vám- és a statisztikai nomenklatúráról, valamint a Közös Vámtarifáról szóló, 1987. július 23-i 2658/87/EKG tanácsi rendeletre ⁽¹⁾ és különösen annak 9. cikkére,

mivel:

- (1) A 900/2008/EK bizottsági rendelet ⁽²⁾ meghatározza azokat a képleteket, eljárásokat és módszereket, amelyeket – a mezőgazdasági termékek feldolgozásával előállított egyes árucikkekre vonatkozó, a 3448/93/EK tanácsi rendelet 7. cikkében előírt preferenciális kereskedelmi szabályok alkalmazására vonatkozó részletes szabályok megállapításáról szóló, 1996. július 25-i 1460/96/EK bizottsági rendelet ⁽³⁾ II. és III. mellékletének alkalmazásában – a keményítő-/szőlőcukor-tartalom meghatározására kell használni.
- (2) Egy szakértői csoport megvizsgálta a 900/2008/EK rendeletet abból a célból, hogy felmérje: figyelembe veszi-e a rendelet a szövegében meghatározott módszerek terén bekövetkezett tudományos és műszaki fejlődést. Az említett felmérés keretében elvégzett tanulmányok és vizsgálatok azt jelzik, hogy – keményítő-/szőlőcukor-tartalom meghatározására használt, nátrium-hidroxiddal végzett szolubilizálás (a szőlőcukrot eredményező enzimatis lebonatás előtt) és a teljes szőlő-

cukor-tartalom – jelenleg a legtöbb termék tekintetében előírt – enzimatis eljárással történő, spektrofotometriás kiszámítása már nem felel meg a jelenlegi műszaki követelményeknek, ezért e módszereket aktualizálni kell.

- (3) Ezért elő kell írni, hogy a keményítő-/szőlőcukor lebonatását enzimatis eljárással, amiláz és amiloglikozidáz használatával kell végezni, a teljes szőlőcukor-tartalom meghatározásához pedig nagy hatékonyságú folyadék-kromatográfiát (HPLC) kell használni, valamint meg kell határozni az enzimatis módszer végrehajtásának módját.
- (4) A 900/2008/EK rendeletet ezért ennek megfelelően módosítani kell.
- (5) Az e rendeletben előírt intézkedések összhangban vannak a Vámkódex Bizottság véleményével,

ELFOGADTA EZT A RENDELETET:

1. cikk

A 900/2008/EK rendelet I. mellékletének helyébe e rendelet mellékletének szövege lép.

2. cikk

Ez a rendelet az Európai Unió Hivatalos Lapjában való kihirdetését követő huszadik napon lép hatályba.

Ez a rendelet teljes egészében kötelező és közvetlenül alkalmazandó valamennyi tagállamban.

Kelt Brüsszelben, 2010. február 9-én.

a Bizottság részéről

az elnök

José Manuel BARROSO

⁽¹⁾ HL L 256., 1987.9.7., 1. o.

⁽²⁾ HL L 248., 2008.9.17., 8. o.

⁽³⁾ HL L 187., 1996.7.26., 18. o.

MELLÉKLET

„I. MELLÉKLET

A keményítő és bomlástermékei, köztük a szőlőcukor enzimatis meg határozása élelmiszerekben nagy hatékonyságú folyadékkromatográfiával (HPLC)**1. Alkalmazási terület**

Ez a módszer az emberi fogyasztásra szánt élelmiszerekben lévő keményítő és bomlástermékei, köztük a szőlőcukor (a továbbiakban: keményítő) tartalmának meghatározására szolgál. A keményítőtartalom a szőlőcukor nagy hatékonyságú folyadékkromatográfiával (HPLC) végzett mennyiségi elemzése alapján kerül meghatározásra, miután a keményítőt és bomlástermékeit enzimatis úton szőlőcukorra alakították át.

2. A teljes szőlőcukor-tartalom és a keményítőként kifejezett teljes szőlőcukor-tartalom fogalmának meghatározása

A teljes szőlőcukor-tartalom az e melléklet 7.2.1. pontja szerint kiszámított Z értéknek felel meg. A keményítő és összes bomlásterméke, köztük a szőlőcukor tartalmát jelenti.

Az 1460/96/EK rendelet III. mellékletében meghatározott keményítő-/szőlőcukor-tartalmat a »Z« teljes szőlőcukor-tartalom alapján és e rendelet 2. cikkének 1. pontjában megadott módon kell kiszámítani.

Az 1043/2005/EK bizottsági rendelet ⁽¹⁾ IV. mellékletének 3. oszlopában meghatározott keményítő- vagy dextrin-tartalmat a 904/2008/EK bizottsági rendelet ⁽²⁾ 2.1. cikkében megadott »Z« teljes szőlőcukor-tartalom alapján kell kiszámítani.

Az ezen melléklet 1. pontjában említett keményítőtartalom megfelel a melléklet 7.2.2. pontja szerint kiszámított, %-ban (m/m) kifejezett »E« értéknek, és egyenértékű a keményítőként kifejezett »Z« teljes szőlőcukor-tartalommal. Ez az »E« érték a fent említett számítási módszereket nem befolyásolja.

3. Alapelvek

A mintákat homogenizálják és feloldják vízben. A mintákban található keményítőt és annak bomlástermékeit az alábbi két lépésben enzimatis úton szőlőcukorra alakítják át:

1. A keményítőt és bomlástermékeit hőstabil alfa-amilázt használva 90 °C-on részben átalakítják oldható szőlőcukorláncokká. A hatékony átalakítás érdekében a mintát tökéletesen fel kell oldani, vagy nagyon kicsi szilárd darabokat tartalmazó szuszpenziót kell létrehozni.

2. Az oldható szőlőcukorláncokat 60 °C-on amiloglikozidáz használatával szőlőcukorra alakítják át.

A nagy fehérje- vagy zsírtartalmú termékeket derítik és szűrik.

A cukrok meghatározását HPLC-analízissel végzik.

Mivel az enzimatis kezelés alatt a szacharóz részleges inverziójára kerülhet sor, a helyesbített szőlőcukor-tartalom kiszámítása céljából a szabad cukrok meghatározását is HPLC-analízissel végzik.

4. Reagensk és egyéb anyagok

Minden reagensnek elismert analitikai tisztaságúnak, a víznek pedig ásványmentesítettnek kell lennie.

4.1. Szőlőcukor, legalább 99 %-os.

4.2. Gyümölcscukor, legalább 99 %-os.

4.3. Szacharóz, legalább 99 %-os.

4.4. Maltóz-monohidrát, legalább 99 %-os.

4.5. Laktóz-monohidrát, legalább 99 %-os.

4.6. Hőstabil alfa-amiláz-oldat (1,4-alfa-D-glükán-glükánohidroláz), melynek aktivitása mintegy 31 000 egység/ml (1 egység 3 perc alatt 6,9 pH-érték mellett, 20 °C-on 1,0 mg maltózt szabadít fel a keményítőből). Ez az enzim kis mennyiségben szennyeződéseket (pl. szőlőcukrot vagy szacharózt) és egyéb interferáló enzimeket tartalmazhat. Tárolás kb. 4 °C-on. Más alfa-amiláz-forrást is lehet használni, ha az hasonló enzimaktivitással rendelkező végső oldatot eredményez.

⁽¹⁾ HL L 172., 2005.7.5., 24. o.

⁽²⁾ HL L 249., 2008.9.18., 9. o.

- 4.7. Amiloglikozidáz (1,4-alfa-D-glükán glükohidroláz) *Aspergillus niger*-ből, kb. 120 egység/mg vagy 70 egység/mg aktivitású por (1 egység percenként 4,8 pH érték mellett, 60 °C-on 1 micromol szőlőcukrot szabadít fel a keményítőből). Ez az enzim kis mennyiségben szennyeződések (pl. szőlőcukrot vagy szacharózt) és egyéb interferáló enzimeket (pl. invertázt) tartalmazhat. Tárolás kb. 4 °C-on. Más amiloglikozidáz-forrást is lehet használni, ha az hasonló enzimaktivitással rendelkező végső oldatot eredményez.
- 4.8. Cink-acetát-dihidrát, p.a.
- 4.9. Kálium-hexaciano-ferrát (II) ($K_4[Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O]$), extra tisztaságú.
- 4.10. Vízmentes nátrium-acetát, p.a.
- 4.11. Jégecet, 96 % (v/v) (legalább).
- 4.12. Nátrium-acetát puffer (0,2 mol/l). Mérjük ki 16,4 gramm nátrium-acetátot (lásd 4.10. pont) egy főzőpohárba. Oldjuk fel vízben, és öntsük bele egy 1 000 ml-es mérőlombikba. Öntsük fel a jelzésig vízzel, és a pH-értéket ecetsav hozzáadásával (pH-mérő segítségével, lásd 5.7. pont) állítsuk be 4,7-re. Az így kapott oldat 4 °C-on tárolva legfeljebb hat hónapig használható fel.
- 4.13. Amiloglikozidáz-oldat. Készítsünk oldatot amiloglikozidáz-porból (lásd 4.7. pont) nátrium-acetát puffer (lásd 4.12. pont) felhasználásával. Az oldatot elegendő mértékű, a mintában található keményítő mennyiségének megfelelő enzimaktivitás kell, hogy jellemezze (pl. 100 ml végső térfogatú oldatban a minta 1 g keményítőtartalmára jutó kb. 600 egység/ml aktivitás 0,5 g 120 egység/mg-os amiloglikozidáz-porból nyerhető, lásd 4.7. pont). Közvetlenül a felhasználás előtt készítsük el.
- 4.14. Referenciaoldatok. Készítsünk a cukrok HPLC-analízisében szokásosan használt szőlőcukor-, gyümölcscukor-, szacharóz-, maltóz- és laktózkodat (vízben való feloldással).
- 4.15. Derítő reagens (Carrez I). Oldjunk fel egy főzőpohár vízben 219,5 gramm cink-acetátot (lásd 4.8. pont). Öntsük át egy 1 000 ml-es mérőlombikba, és adjunk hozzá 30 ml ecetsavat (lásd 4.11. pont). Alaposan keverjük össze, és öntsük fel a jelzésig vízzel. Az így kapott oldat szobahőmérsékleten tárolva legfeljebb hat hónapig használható fel. Más reagens is használható a derítéshez, ha egyenértékű a Carrez-oldattal.
- 4.16. Derítő reagens (Carrez II). Oldjunk fel egy főzőpohár vízben 106,0 gramm kálium-hexaciano-ferrátot (II) (lásd 4.9. pont). Öntsük egy 1 000 ml-es mérőlombikba. Alaposan keverjük össze, és öntsük fel a jelzésig vízzel. Az így kapott oldat szobahőmérsékleten tárolva legfeljebb hat hónapig használható fel. Más reagens is használható a derítéshez, ha egyenértékű a Carrez-oldattal.
- 4.17. A HPLC mozgó fázisa. Készítsük el a cukrok HPLC-analízise során szokásosan használt mozgó fázist. Amennyiben aminopropil szilikagél-oszlopot használunk, az egyik általánosan használt mozgó fázis például a HPLC-tisztaságú víz és az acetonitril elegye.

5. Berendezések

- 5.1. Normál laboratóriumi üvegedények.
- 5.2. Redős szűrők, pl. 185 mm-esek.
- 5.3. Fecskendőszűrők, 0,45 µm, vizes oldatokhoz megfelelő.
- 5.4. Mintatartó ampullák a HPLC automata mintavevőhöz.
- 5.5. 100 ml-es mérőlombikok.
- 5.6. Műanyag fecskendők, 10 ml.
- 5.7. PH-mérő.
- 5.8. Analitikai mérleg.
- 5.9. 60 °C-ra és 90 °C-ra beállítható, hőfokszabályzóval ellátott vízfürdő.
- 5.10. Cukoranalízisre alkalmas HPLC-berendezés.

6. Eljárás

6.1. Különböző terméktípusok mintáinak előkészítése

A terméket homogenizálják.

6.2. A minta mennyisége

A minta mennyiségét a feltüntetett összetevők és a HPLC-analízis feltételei (a szőlőcukor-referenciaoldat koncentrációja) alapján állapítják meg. Nem lépheti túl a következő értékeket:

$$\text{a minta mennyisége (g)} = \frac{\text{a mérőlombik térfogata (pl. 100 ml)},}{\text{becsült keményítőtartalom (\%)}}$$

A mintát 0,1 mg-os pontossággal kell kimérni.

6.3. Vakpróba

A vakpróba elvégzéséhez a teljes elemzést végrehajtjuk (a 6.4. pontban leírtak szerint) a minta hozzáadása nélkül. A vakpróba eredményét felhasználjuk a keményítőtartalom kiszámításánál (lásd 7.2. pont).

6.4. Elemzés

6.4.1. A minták előkészítése

Rázogatással vagy keveréssel homogenizáljuk a mintát. A vizsgálati minta kiválasztott mennyiségét (lásd 6.2. pont) bemérjük a mérőlombikba (lásd 5.5. pont), és hozzáadunk körülbelül 70 ml meleg vizet.

Feloldódás vagy szuszpendálás után adjunk hozzá 50 mikroliter hőstabil alfa-amilázt (lásd 4.6. pont), és vízfürdőben (lásd 5.9. pont) melegítsük 30 percen keresztül 90 °C-on. Amilyen gyorsan csak lehet, hűtsük le vízfürdőben 60 °C-ra, és adjunk hozzá 5 ml amiloglikozidáz-oldatot (lásd 4.13. pont). A reakcióoldat pH-értékét befolyásoló mintáknál ellenőrizzük a pH-értéket, és 4,6–4,8 közötti értékre állítsuk be, ha szükséges. Hagyjuk 60 percen keresztül, hogy a reakció 60 °C-on végbemenjen. Hűtsük le a mintákat szobahőmérsékletűre.

6.4.2. Derítés

A magas fehérje- vagy zsírtartalmú mintákat deríteni kell: adjunk hozzá 1 ml Carrez I-et (lásd 4.15. pont) a mintaoldathoz. Rázzuk fel a mintaoldatot, majd adjunk hozzá 1 ml Carrez II-t (lásd 4.16. pont). Rázzuk fel a mintát megint.

6.4.3. A HPLC-analízis előkészítése

A mérőlombikban található mintát a jelzésig felöntjük vízzel, homogenizáljuk, majd egy redős szűrőn (lásd 5.2. pont) átszűrjük. A mintakivonatot elkülönítjük.

A kivonatokat az extraktummal előzőleg átmosott fecskendővel (lásd 5.6. pont) felszerelt fecskendőszűrőn (lásd 5.3. pont) átszűrjük. A szűrletet ampullákba (lásd 5.4. pont) gyűjtjük.

6.5. Kromatográfia

A HPLC-t a cukoranalízis szokásos módján végezzük el. Ha a HPLC-analízis nyomokban maltózt mutat ki, a keményítő konverziója nem ment teljes mértékben vége, aminek túl alacsony szőlőcukor-kinyerés az eredménye.

7. Az eredmények kiszámítása és kifejezése

7.1. A HPLC-eredmények kiszámítása

A keményítőtartalom kiszámításához két HPLC-elemzés eredményeire van szükség, mégpedig az enzimatisz kezelés előtt («szabad cukrok») és után (e módszer leírása szerint) a mintában jelen lévő cukrokra vonatkozó értékekre. Az enzimekben jelen lévő cukrokra vonatkozó értékek kiigazítása céljából vakpróbát is kell végezni.

A HPLC-analízisben a csúcsterületet integrálással kell meghatározni, a koncentrációt pedig a referenciaoldatokkal (lásd 4.14. pont) való kalibrálás után kell kiszámítani. Az enzimatisz kezelés utáni szőlőcukor-koncentrációból (g/100 ml) ki kell vonni a vakpróba során kapott szőlőcukor-koncentrációt (g/100 ml). Végezetül a cukrok koncentrációját (100 g minta g-ban kifejezett cukortartalma) a minta súlyozott mennyiségét használva kell kiszámolni, a következő bontásban:

1. A szabad cukrok koncentrációját (g/100 g) kimutató HPLC-analízis az enzimatiszus kezelés előtt:

- szőlőcukor (glükóz): »G«
- gyümölcscukor (fruktóz): »F«
- szacharóz: »S«

2. A cukrok koncentrációját (g/100 g) kimutató HPLC-analízis az enzimatiszus kezelés után:

- a vakpróbát követően korrigált szőlőcukorérték (glükóz): »G_{e cor}«
- gyümölcscukor (fruktóz): »F_e«
- szacharóz: »S_e«

7.2. A keményítőtartalom kiszámítása

7.2.1. A »Z« teljes szőlőcukor-tartalom kiszámítása

Ha a gyümölcscukor enzimatiszus kezelés utáni mennyisége (F_e) nagyobb, mint az enzimatiszus kezelés előtti mennyisége (F), akkor a mintában található szacharóz részben gyümölcscukorrá, részben szőlőcukorrá alakult át. Ez azt jelenti, hogy a felszabadított szőlőcukor értékét korrigálni kell (F_e – F).

Z, azaz a korrekció utáni teljes szőlőcukor-tartalom g/100 g-ban kifejezve:

$$Z = (G_{e \text{ cor}}) - (F_e - F)$$

7.2.2. A keményítőként kifejezett teljes szőlőcukor-tartalom kiszámítása

E = »keményítőtartalom« g/100 g-ban kifejezve

$$E = [(G_{e \text{ cor}}) - (F_e - F)] \times 0,9$$

8. Pontosság

Ez a pont a két mintán elvégzett módszer pontossági adataival kapcsolatos laboratóriumi körvizsgálat részletes adatait tartalmazza. Az adatok az ebben a mellékletben leírt módszerre vonatkozó teljesítménykövetelményeket fejezik ki.

Egy laboratóriumi körvizsgálat eredményei (tájékoztatásként)

Az európai vámlaboratóriumok részvételével laboratóriumi körvizsgálatot hajtottak végre 2008-ban.

A pontossági adatokat a következő jegyzőkönyv szerint értékelték: »Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies«, W. Horwitz, (az IUPAC műszaki jelentése), *Pure & Appl. Chem.*, 67. kötet, N° 2, 331–343. o., 1995.

A pontossági adatokat az alábbi táblázat mutatja.

Minták 1 : csokoládés kekszszület 2 : keksz	Z 1. minta	Z 2. minta
A laboratóriumok száma	41	42
Laboratóriumok száma a kiugró adatok eltávolítása után	38	39
Középérték (% m/m)	29,8	55,0
Ismételhetőség szórása sr (% m/m)	0,5	0,5
Reprodukálhatóság szórása sR (% m/m)	1,5	2,3
Ismételhetőség határértéke r (% m/m)	1,4	1,4
Reprodukálhatóság határértéke R (% m/m)	4,2	6,6"