

## VERORDENING (EG) Nr. 1082/96 VAN DE COMMISSIE

van 14 juni 1996

houdende vaststelling van een referentiemethode voor de bepaling van de ethylester van beta-apo-8'-caroteenzuur in boterconcentraat en boter

DE COMMISSIE VAN DE EUROPESE  
GEMEENSCHAPPEN,

Gelet op het Verdrag tot oprichting van de Europese  
Gemeenschap,

Gelet op Verordening (EEG) nr. 804/68 van de Raad van  
27 juni 1968 houdende een gemeenschappelijke ordening  
der markten in de sector melk en zuivelprodukten <sup>(1)</sup>, laat-  
stelijk gewijzigd bij Verordening (EG) nr. 2931/95 van de  
Commissie <sup>(2)</sup>, inzonderheid op artikel 6, lid 7, en artikel  
12, lid 3,

Overwegende dat in Verordening (EEG) nr. 570/88 van de  
Commissie van 16 februari 1988 betreffende de verkoop  
tegen verlaagde prijs van boter en de toekenning van  
steun voor room, boter en boterconcentraat bestemd voor  
de vervaardiging van banketbakkerswerk, consumptie-ijs  
en andere voedingsmiddelen <sup>(3)</sup>, laatstelijk gewijzigd bij  
Verordening (EG) nr. 531/96 <sup>(4)</sup>, wordt bepaald dat aan  
gesubsidieerde boter en boterconcentraat in bepaalde  
omstandigheden verklikstoffen kunnen worden toege-  
voegd om ervoor te zorgen dat deze produkten uiteinde-  
lijk op een juiste wijze worden gebruikt;

Overwegende dat het, gezien het belang van verklikstoffen  
voor een goede werking van de regeling en om een  
gelijke behandeling van alle bedrijven die van deze rege-  
ling gebruik maken te waarborgen, nodig is gemeen-  
schappelijke methoden voor de bepaling van de in Veror-  
dening (EEG) nr. 570/88 vermelde verklikstoffen vast te  
stellen;

Overwegende dat het moeilijk is dergelijke referentieme-  
thoden voor alle verklikstoffen tegelijkertijd vast te stellen;

dat de vaststelling van een referentiemethode voor de  
bepaling van de ethylester van beta-apo-8'-caroteenzuur  
in boter en boterconcentraat een volgende stap in deze  
richting is;

Overwegende dat de in deze verordening vervatte maatre-  
gelen in overeenstemming zijn met het advies van het  
Comité van beheer voor melk en zuivelprodukten,

HEEFT DE VOLGENDE VERORDENING VASTGESTELD:

*Artikel 1*

De in de bijlage gespecificeerde referentieanalysemethode  
wordt gebruikt voor de bepaling van het gehalte van boter  
of boterconcentraat aan de ethylester van beta-apo-8'-  
caroteenzuur krachtens Verordening (EEG) nr. 570/88.

De toevoeging van verklikstoffen aan boter of botercon-  
centraat is overeenkomstig artikel 6 van Verordening  
(EEG) nr. 570/88 gebeurd, indien de verkregen resultaten  
in overeenstemming zijn met de onder punt 8 van de  
bijlage gespecificeerde eisen.

*Artikel 2*

Deze verordening treedt in werking op de derde dag  
volgende op die van haar bekendmaking in het *Publika-  
tieblad van de Europese Gemeenschappen*.

Zij is van toepassing met ingang van 1 oktober 1996.

Deze verordening is verbindend in al haar onderdelen en is rechtstreeks toepasselijk in  
elke Lid-Staat.

Gedaan te Brussel, 14 juni 1996.

*Voor de Commissie*

Franz FISCHLER

*Lid van de Commissie*

<sup>(1)</sup> PB nr. L 148 van 28. 6. 1968, blz. 13.

<sup>(2)</sup> PB nr. L 307 van 20. 12. 1995, blz. 10.

<sup>(3)</sup> PB nr. L 55 van 1. 3. 1988, blz. 31.

<sup>(4)</sup> PB nr. L 78 van 28. 3. 1996, blz. 13.

## BIJLAGE

## BEPALING VAN DE ETHYLESTER VAN BETA-APO-8'-CAROTEENZUUR IN BOTERCONCENTRAAT EN BOTER MET BEHULP VAN SPECTROMETRIE

## 1. Doel en toepassingsgebied

In deze methode wordt een werkwijze beschreven voor de kwantitatieve bepaling van de ethylester van beta-apo-8'-caroteenzuur (apocaroteenzuurester) in boterconcentraat en boter. Onder apocaroteenzuurester wordt verstaan de totale hoeveelheid van alle stoffen in een extract van monsters, verkregen op de in de methode beschreven wijze, die bij 440 nm licht absorberen. De methode is van toepassing op monsters die krachtens Verordening (EEG) nr. 570/88 worden ontvangen.

## 2. Principe

Het botervet wordt opgelost in petroleumether en vervolgens wordt de absorptie bij 440 nm gemeten. Het gehalte aan apocaroteenzuurester wordt met behulp van een externe standaard bepaald.

## 3. Apparatuur

- 3.1. Meetpipetten, 0,25, 0,50, 0,75 en 1,0 ml
- 3.2. Spectrofotometer, geschikt voor meting bij 440 nm (en 447-449 nm) en voorzien van cuvetten met een optische weglengte van 1 cm.
- 3.3. Maatkolven, 20 ml en 100 ml

## 4. Reagentia

Alle reagentia moeten p.a. zijn.

## 4.1. Suspensie van apocaroteenzuurester (ongeveer 20 %)

## 4.1.1. Bepaal het gehalte van deze suspensie als volgt:

Weeg ongeveer 400 mg nauwkeurig af in een maatkolf van 100 ml en los op in petroleumether (4.2). Vul met petroleumether aan tot de maatstreep. Verdun 5,0 ml van deze oplossing met petroleumether tot 100 ml (oplossing A). Verdun 5,0 ml van oplossing A met petroleumether tot 100 ml. Meet de absorptie bij 447-449 nm (maximale absorptie met petroleumether als blanco en cuvetten van 1 cm).

$$\text{Gehalte aan apocaroteenzuurester (\%)} = \frac{A_{\max} \cdot 40\,000}{A \cdot 2\,550}$$

Hierbij is:

$A_{\max}$  = maximale absorptie van de meetoplossing;

A = gewicht van het monster in gram;

2 550 = absorptie van een referentieoplossing (1 %, 1 cm);

Zij P het gehalte van de suspensie in %.

*NB:* Een suspensie van apocaroteenzuurester is gevoelig voor lucht, warmte en licht. Een ongeopende oorspronkelijke verpakking (luchtdicht onder stikstof) kan op een koele plaats gedurende ongeveer twaalf maanden worden bewaard. Na opening moet de inhoud binnen een korte periode worden gebruikt.

## 4.1.2. Standaardoplossing van apocaroteenzuurester, ongeveer 0,2 mg/ml

Weeg ongeveer 0,100 g suspensie van apocaroteenzuurester (4.1.1) tot op 0,1 mg nauwkeurig af (W). Los op in petroleumether (4.2) en breng de oplossing kwantitatief over in een maatkolf van 100 ml. Vul met petroleumether aan tot de maatstreep.

Deze oplossing bevat (W.P)/100 mg apocaroteenzuurester/ml.

*NB:* De oplossing moet op een koele donkere plaats worden bewaard en het restant dat na een maand nog niet gebruikt is, moet worden weggegooid.

## 4.2. Petroleumether (40-60 °C).

## 4.3. Natriumsulfaat (watervrije korrels), vooraf gedurende twee uur gedroogd bij 102 °C

**5. Werkwijze****5.1. Bereiding van het te analyseren monster****5.1.1. Boterconcentraat**

Smelt het monster in een oven bij ongeveer 45 °C.

**5.1.2. Boter**

Smelt het monster in een oven bij ongeveer 45 °C en filtreer een representatieve hoeveelheid in een omgeving zonder sterk natuurlijk of kunstlicht bij 45 °C over een filter dat 10 g watervrij natriumsulfaat (4.3) bevat. Vang een bruikbare hoeveelheid botervet op.

**5.2. Analyse**

Weeg ongeveer 1 g boterconcentraat of geëxtraheerd botervet (5.1.2) tot op 1 mg nauwkeurig af (M). Breng deze hoeveelheid met behulp van petroleumether (4.2) kwantitatief over in een maatkolf van 20 ml (V), vul aan tot de maatstreep en meng goed.

Breng een hoeveelheid hiervan over in een cuvet van 1 cm en meet de absorptie bij 440 nm met petroleumether als blanco. Lees de concentratie van apocaroteenzuurester in de oplossing af uit de ijkcurve (C µg/ml).

**5.3. Ijkcurve**

Pipetteer 0, 0,25, 0,5, 0,75 en 1,0 ml van de standaardoplossing van apocaroteenzuurester (4.1.2) in vijf maatkolven van 100 ml. Vul met petroleumether (4.2) aan tot de maatstreep en meng.

De concentraties van de oplossingen liggen ongeveer tussen 0 en 2 µg/ml en worden nauwkeurig berekend aan de hand van de concentratie van de standaardoplossing (4.1.2): (W.P)/100 mg/ml. Meet de absorptie bij 440 nm met petroleumether als blanco.

Zet de absorptie op de y-as uit tegen de concentratie van apocaroteenzuurester op de x-as.

**6. Berekening van de resultaten****6.1. Het gehalte aan apocaroteenzuurester, uitgedrukt als mg/kg produkt, is:**

$(C.V)/M$  voor boterconcentraat en

$0,82.(C.V)/M$  voor boter

Hierbij is:

C = het gehalte aan apocaroteenzuurester in µg/ml, afgelezen uit de ijkcurve;

M = de massa van het geanalyseerde monster in gram (5.2);

0,82 = een correctiefactor voor het gehalte van boter aan botervet.

**7. Nauwkeurigheid van de methode****7.1. Herhaalbaarheid****7.1.1. Analyse van boter**

Het verschil tussen de resultaten van twee bepalingen, binnen een zo kort mogelijke tijd uitgevoerd door dezelfde persoon met dezelfde apparatuur op hetzelfde monster, mag niet groter zijn dan 1,4 mg/kg.

**7.1.2. Analyse van boterconcentraat**

Het verschil tussen de resultaten van twee bepalingen, binnen een zo kort mogelijke tijd uitgevoerd door dezelfde persoon met dezelfde apparatuur op hetzelfde monster, mag niet groter zijn dan 1,6 mg/kg.

**7.2. Reproduceerbaarheid****7.2.1. Analyse van boter**

Het verschil tussen de resultaten van twee bepalingen, uitgevoerd door personen in verschillende laboratoria met verschillende apparatuur op hetzelfde monster, mag niet groter zijn dan 4,7 mg/kg.

**7.2.2. Analyse van boterconcentraat**

Het verschil tussen de resultaten van twee bepalingen, uitgevoerd door personen in verschillende laboratoria met verschillende apparatuur op hetzelfde monster, mag niet groter zijn dan 5,3 mg/kg.

**7.3. Herkomst van de precisiegegevens**

De precisiegegevens zijn vastgesteld op basis van een experiment dat in 1995 in elf laboratoria werd uitgevoerd met twaalf monsters met verklikstoffen (zes blinde duplo's) voor boter en twaalf monsters met verklikstoffen (zes blinde duplo's) voor boterconcentraat.

**8. Tolerantiegrenzen****8.1. Om de homogeniteit te controleren moeten er van het produkt met verklikstoffen drie monsters worden genomen.**

Met de beschreven analysemethode worden alle stoffen gemeten die bij een golflengte van 440 nm licht absorberen. Daardoor zal het gemeten gehalte aan apocaroteenzuurester hoger liggen dan het werkelijke gehalte. De werkgroep van chemische deskundigen van het Comité van beheer voor melk van de EG heeft om rekening te houden met de achtergrondabsorptie de specificatiegrens vastgesteld op 22 mg/kg voor boter en 24 mg/kg voor boterconcentraat.

**8.2. Boter****8.2.1. Het bijmengingsgehalte voor boter bedraagt, rekening houdend met de achtergrondabsorptie, 22 mg/kg.****8.2.2. Uitgaande van het kritische verschil bij een waarschijnlijkheid van 95 % (CrD<sub>95</sub>) mag het gemiddelde van de resultaten van de analyses die zijn uitgevoerd op de drie monsters die zijn genomen om de homogeniteit te controleren, niet lager zijn dan 19,3 mg/kg.****8.2.3. Naast het bij punt 8.2.2 vermelde criterium wordt het laagste bij de analyse van het produkt verkregen resultaat gebruikt om de homogeniteit van de verdeling van de verklikstof te controleren. Dit wordt gedaan door vergelijking met de volgende grenswaarden:**

- 18,1 mg/kg (95 % van het minimale bijmengingsgehalte, rekening houdend met het CrD<sub>95</sub> voor één monster);
- 14,8 mg/kg (80 % van het minimale bijmengingsgehalte, rekening houdend met het CrD<sub>95</sub> voor één monster).

De concentratie van de verklikstof in het monster dat het laagste resultaat oplevert, wordt gebruikt in combinatie met interpolatie tussen 18,1 mg/kg en 14,8 mg/kg.

**8.3. Boterconcentraat****8.3.1. Het bijmengingsgehalte voor boterconcentraat bedraagt, rekening houdend met de achtergrondabsorptie, 24 mg/kg.****8.3.2. Uitgaande van het kritische verschil bij een waarschijnlijkheid van 95 % (CrD<sub>95</sub>) mag het gemiddelde van de resultaten van de analyses die zijn uitgevoerd op de drie monsters die zijn genomen om de homogeniteit te controleren, niet lager zijn dan 20,9 mg/kg.****8.3.3. Naast het bij punt 8.3.2 vermelde criterium wordt het laagste bij de analyse van het produkt verkregen resultaat gebruikt om de homogeniteit van de verdeling van de verklikstof te controleren. Dit wordt gedaan door vergelijking met de volgende grenswaarden:**

- 19,6 mg/kg (95 % van het minimale bijmengingsgehalte, rekening houdend met het CrD<sub>95</sub> voor één monster);
- 16,1 mg/kg (80 % van het minimale bijmengingsgehalte, rekening houdend met het CrD<sub>95</sub> voor één monster).

De concentratie van de verklikstof in het monster dat het laagste resultaat oplevert, wordt gebruikt in combinatie met interpolatie tussen 19,6 mg/kg en 16,1 mg/kg.

---