

367L0427

11.7.67

EUROPEISKA GEMENSKAPERNAS OFFICIELLA TIDNING

Nr L 148/1

**RÅDETS DIREKTIV**

av den 27 juni 1967

**om användning av vissa konserveringsmedel för ytbehandling av citrusfrukter och om kontrollåtgärder som skall användas för den kvalitativa och kvantitativa analysen av konserveringsmedel i och på citrusfrukter**

(67/427/EEG)

EUROPEISKA GEMENSKAPERNAS RÅD HAR ANTAGIT  
DETTA DIREKTIV

Den utförda behandlingen bör dessutom anges på lämpligt sätt i samtliga distributionsled.

med beaktande av Fördraget om upprättandet av Europeiska ekonomiska gemenskapen, särskilt artikel 100 i detta,

Om dessa tre ämnen skall kunna godkännas inom gemenskapen, måste gemensamma regler fastställas för den offentliga kontrollen av behandlad citrusfrukt.

med beaktande av kommissionens förslag,

Det krävs en övergångsperiod innan detta direktiv kan genomföras i medlemsstaterna. De nationella bestämmelserna om ytbehandling av citrusfrukter med dessa tre konserveringsmedel bör därför fortsätta gälla till periodens slut.

med beaktande av Europaparlamentets yttrande<sup>(1)</sup>,med beaktande av Ekonomiska och sociala kommitténs yttrande<sup>(2)</sup>, och

Ingen medlemsstat skall åläggas att godkänna användningen av ett konserveringsmedel i livsmedel som produceras och konsumeras inom det egna territoriet, om inte teknologiska skäl motiverar en sådan användning.

med beaktande av följande:

HÄRIGENOM FÖRESKRIVS FÖLJANDE.

Enligt artikel 5 i rådets direktiv av den 5 november 1963<sup>(3)</sup> om tillnärmning av medlemsstaternas lagstiftning om konserveringsmedel som är godkända för användning i livsmedel, senast ändrat genom artikel 1 i rådets direktiv av den 14 december 1966<sup>(4)</sup>, får medlemsstaterna till och med den 30 juni 1967 tillämpa nationella bestämmelser om ytbehandling av citrusfrukter med bifenyl (difenyl), ortofenylfenol och natriumortofenylfenat.

*Artikel 1*

Rådets direktiv av den 5 november 1963 om tillnärmning av medlemsstaternas lagstiftning om konserveringsmedel som är godkända för användning i livsmedel ändras på följande sätt:

Dessa ämnen kan utan hälsofara användas för ytbehandling av citrusfrukter om den kvarvarande mängden per kilogram hel frukt inte överstiger 70 milligram bifenyl och 12 milligram ortofenylfenol och natriumortofenylfenat, uttryckta som ortofenylfenol.

1. I artikel 2.2 skall andra meningen ersättas med följande:

”En medlemsstats lagstiftning får dock helt utesluta användningen av ett konserveringsmedel som anges i bilagan bara om det saknas teknologiska skäl att använda det i livsmedel som produceras och konsumeras inom det egna territoriet.”

<sup>(1)</sup> EGT nr 63, 3.4.1967, s. 990/67.

<sup>(2)</sup> EGT nr 64, 5.4.1967, s. 1005/67.

<sup>(3)</sup> EGT nr 12, 27.1.1964, s. 161/64.

<sup>(4)</sup> EGT nr 233, 20.12.1966, s. 3947/66.

2. I listan i avsnitt I i bilagan skall följande konserveringsmedel läggas till:

EEG-nr	Beteckning	Användningsvillkor
E 230 E 231 E 232	Bifenyl (difenyl) Ortofenylfenol Natriumortofenylfenat	<p>a) Uteslutande för ytbehandling av citrusfrukter.</p> <p>b) När citrusfrukterna släpps ut på marknaden</p> <p>i) får resterande mängd per kilo hel frukt inte överstiga,</p> <p>för bifenyyl 70 mg, och för ortofenylfenol och natriumortofenylfenat, vardera för sig eller båda tillsammans, 12 mg uttryckt som ortofenylfenol,</p> <p>ii) måste behandlingen anges</p> <p>— i partihandeln på fakturor och på förpackningens utsida med orden "Hållbarhetsbehandlad med..." följda av det eller de använda ämnens namn,</p> <p>— i detaljhandeln med en tydlig angivelse som ger konsumenten entydiga upplysningar.</p>

3. Stycke b i artikel 5 skall utgå.

#### Artikel 2

Medlemsstaterna skall vidta alla åtgärder som behövs för att säkerställa att provtagningar och den kvalitativa och kvantitativa analysen av bifenyyl, ortofenylfenol och natriumortofenylfenat i och på citrusfrukter utförs enligt bestämmelserna i bilagorna 1-4 till detta direktiv.

#### Artikel 3

1. Medlemsstaterna skall senast den 1 juli 1968 sätta i kraft de lagar och andra författningar som behövs för att följa detta direktiv och skall genast underrätta kommissionen om detta.

2. Fram till den 1 juli 1968 får medlemsstaterna fortsätta tillämpa sin nationella lagstiftning om ytbehandling av citrusfrukter med bifenyyl, ortofenylfenol och natriumortofenylfenat.

#### Artikel 4

Detta direktiv riktar sig till medlemsstaterna.

Utfärdat i Bryssel den 27 juni 1967.

På rådets vägnar  
R. VAN ELSLANDE  
Ordförande

### BILAGA 1

#### PROVTAGNING PÅ CITRUSFRUKTER VID KONTROLL AV KONSERVERINGSMEDEL

##### A. Provtagning

- I. Provtagningen skall utföras med vetenskapliga metoder som säkerställer att proverna är representativa för det parti som skall analyseras.
- II. Proverna måste uppfylla följande minimikrav:

1. *Förpackad frukt* (lådor, pappkartonger och liknande behållare)

Antal lådor i partiet	1-20	21-500	501-1 000	Över 1 000
Minsta antal behållare från vilka prov skall tas	1	2	3	4
Antal kg frukt som skall tas som prov från varje behållare	2	2	2	2

2. *Oförpackad frukt*

Partiets vikt i kg	1-20	21-500	Över 500
Antal kg frukt i varje prov	2	4	8

III. Med *parti* avses en sådan del av en sändning där alla enheter har samma egenskaper i fråga om slag, mogenhet och förpackning.

## B. Förpackning och leverans av prover

1. Proverna skall placeras i lufttäta behållare.
2. Behållarna skall förseglas.
3. De på detta sätt förpackade proverna skall snarast möjligt skickas till testlaboratoriet.

## BILAGA 2

**KVALITATIV ANALYS AV RESTER AV BIFENYL, ORTOFENYLFENOL OCH NATRIUMORTOFENYLFENAT I CITRUSFRUKTERNAS SKAL**

1. **Ändamål och omfattning**

Den här beskrivna metoden gör det möjligt att spåra rester av bifenyyl, ortofenyylfenol (OPP) eller natriumortofenyylfenat i skalet på citrusfrukter. Gränsen för metodens känslighet i absoluta mått är ungefär 5 µg för bifenyyl och 1 µg för OPP eller natriumortofenyylfenat, vilket motsvarar 5 mg bifenyyl (5 ppm) respektive 1 mg OPP (1 ppm) i skalen från 1 kg citrusfrukter.

När citrusfrukter behandlas med dessa produkter återfinns resterna huvudsakligen i fruktens skal. En kvantitativ analys av sådana rester i hela frukten anses därför bara nödvändig om de påträffas i skalen.

2. **Princip**

Ett extrakt bereds av skalet med hjälp av diklormetan i ett surt medium. Extraktet koncentreras och separeras genom tunnskikt-kromatografi med kiselgel. Fluorescens- och färgtester visar den eventuella förekomsten av bifenyyl, ortofenyylfenol eller natriumortofenyylfenat.

### 3. Reagensmedel

Cyklohexan A.R.

Diklorometan A.R.

Saltsyra 25 % (w/v).

Kiselgel GF 254 Merck eller likvärdigt.

0,5-procentig 2,4,7-trinitrofluorenonlösning i aceton (Fluka, B.D.H. eller likvärdig) (TNF).

0,1-procentig 2,6-dibrombensokinon-4-klorimidlösning i etanol (hållbar i kylskåp upp till en vecka).

Koncentrerad ammoniaklösning, densitet = 0,9.

1-procentig standardlösning av ren bifenyli i cyklohexan.

1-procentig standardlösning av ren ortofenylfenoli i cyklohexan.

### 4. Apparatur

Mixer.

250 ml kolv med inslipning och återloppskylare.

Vakuumindestare.

Mikropipetter.

Apparat för tunnskikt-kromatografi med 20 x 20 cm plåtar.

UV-lampa (254 nm) stark nog att synliggöra en fläck av 5 µg bifenyli.

Utrustning för pulvrering av reagensmedel.

Ugn.

### 5. Metod

#### a) Beredning av prov och extraktion

Alla frukterna i provet som skall undersökas delas i två halvor. Hälften av varje frukt sparas för den kvantitativa bestämningen av rester av bifenyli och/eller ortofenylfenoli. Från de övriga halvorna tas en del av skalet till ett prov som väger ca 80 g. Skalen hackas, sönderdelas i mixer och placeras i 250 ml-kolven tillsammans med 1 ml 25-procentig saltsyra och 100 ml diklorometan. Blandningen värms upp under återloppskylning i tio minuter. Sedan återloppskylaren kylts och sköljts med omkring 5 ml diklorometan, filtreras blandningen genom ett räfflat filter. Lösningen överförs till indunstaren och några kokstenar tillsätts. Lösningen koncentreras under vakuum vid 60 °C tills ca 10 ml återstår. Om man använder en roterande indunstare bör kolven fixeras i sitt läge för att undvika att bifenyli går förlorat genom att det bildas en film av bifenyli i kolvens ovandel.

#### b) Kromatografi

30 g kiselgel och 60 ml vatten placeras i en mixer och blandas under en minut. Blandningen hålls därefter ut på 5 kromatografiska plåtar och stryks ut till ett skikt som är ca 0,250 mm tjockt. Plåtarna som har täckts med detta skikt blåses med varmluft i femton minuter och får därefter torka i ugnen i trettio minuter vid 110 °C.

Efter kylningen indelas varje plåt i 2 cm breda fält med parallella linjer som tränger igenom täckskiktet ner till plåtens yta. 50 µl av det extrakt som skall analyseras överförs som en rad droppar tätt intill var-

andra på varje fält, ca 1,5 cm från kanten. För kontrollerna reserveras minst ett fält med en avlagring på 1 µl (dvs 10 µg) av standardlösningarna med bifenylnyl respektive ortofenylnylfenol.

I skålar med filterpapper framkallas de kromatografiska plåtarna med en blandning av cyklohexan och diklormetan (25 : 95).

c) *Påvisande och identifiering*

Förekomsten av bifenylnyl och ortofenylnylfenol visar sig i fläckar som blir synliga i UV-ljus (254 nm). Natriumortofenylnylfenat har under extraktionen i ett surt medium övergått till ortofenylnylfenol, och dess förekomst kan därför inte särskiljas från ortofenylnylfenol. Produkterna identifieras på följande sätt:

- i) *Bifenylnyl* bildar en gul fläck i dagsljus när den sprejas med TNF-lösningen.
- ii) *Ortofenylnylfenol* bildar en blå fläck när den sprejas med blandningen av 2,6-dibrombentokinon-4-klorimid och därefter snabbt får passera genom en varm luftström och placeras i ammoniakmättad atmosfär.

---

*BILAGA 3*

**KVANTITATIV ANALYS AV BIFENYLNRESTER I CITRUSFRUKTER**

**1. Ändamål och omfattning**

Denna metod ger en kvantitativ analys av bifenylnylresterna i citrusfrukter (hel frukt). Metodens noggrannhet är ± 10% vid bifenylnylhalter som överstiger 10 mg per kg frukt (10 ppm).

**2. Princip**

Efter destillation i surt medium och extraktion med cyklohexan kromatograferas extraktet i ett tunt skikt kiselgel. Kromatogrammet framkallas och bifenylnylen elueras och bestäms spektrometriskt vid 248 nm.

**3. Reagensmedel**

Koncentrerad svavelsyralösning.

Silikonbaserad antiskumemulsion.

Cyklohexan A.R.

Hexan A.R.

Etanol A.R.

Vattenfri natriumsulfat.

Kiselgel GF 254 Merck eller likvärdig.

1-procentig standardlösning av ren bifenylnyl i cyklohexan: späd med cyklohexan till följande tre lösningar:

- a) 0,6 µg/µl
- b) 1 µg/µl
- c) 1,4 µg/µl.

#### 4. Apparatur

1 mixer (1 liters).

2 liters destilleringskolv med modifierad separator av Clevengertyp<sup>(1)</sup> och återloppskylare.

Kolv med 10 ml-gradering.

50 µl mikropipetter.

Apparat för tunnskiktscromatografi med 20 x 20 cm plåtar.

Ugn.

Centrifug med 15 ml koniska rör.

UV-spektrofotometer.

#### 5. Metod

##### a) *Beredning av provet och extraktionen*

Alla frukterna i provet som skall undersökas delas i två halvor. Hälften av varje frukt sparas för den kvantitativa bestämningen av rester av bifenyyl, OPP eller natriumortofenylyfenat. De övriga halvorna strimlas tillsammans i en kvarn eller mosas till en homogen blandning. Från denna tas minst två delprover om 200 gram att analyseras på följande sätt. Varje delprov placeras i en mixer med 100 ml vatten och blandas vid låg hastighet under flera sekunder. Vatten tillsätts tills blandningen fyller mixerbehållaren till tre fjärdedelar, varefter mixern körs i fem minuter vid full hastighet. Det mos som då bildas hälls över i en två liters destillationskolv. Mixern sköljs med vatten och även avsköljet hälls i kolven. (Den sammanlagda mängden vatten som används för mixer och ursköljning är 1 l). Blandningen tillsätts 2 ml svavelsyra, 1 ml antiskumemulsion och flera kokstenar. Separatoren och återloppskylaren monteras på kolven. Destillerat vatten hälls i separatoren tills vattennivån är gott och väl ovanför återloppskylarens undre sidorör och därefter tillsätts 7 ml cyklohexan. Detta destilleras i omkring två timmar. Separators innehåll samlas därefter upp i den 10 ml-graderade kolven, separatoren sköljs med ca 1,5 ml cyklohexan och även ursköljet hälls över i kolven, som sedan fylls till full volym med cyklohexan. Slutligen tillsätts en aning vattenfri natriumsulfat och blandningen omskakas.

##### b) *Kromatografi*

30 gram kiselgel och 60 ml vatten placeras i en mixer och blandas under en minut. Blandningen hälls därefter ut på 5 kromatografiska plåtar och stryks ut till ett skikt som är ca 0,250 mm tjockt. Plåtarna som har täckts med detta skikt blåses med varmluft i femton minuter och får därefter torka i en ugn i trettio minuter vid 110 °C. Efter kylningen delas varje plåt upp i fyra fält av 4,5 cm bredd med parallella linjer som genomtränger täckskiktet ner till plåtens yta. 50 µl av analysextraktet hälls ut på ett av fälten som en rad droppar tätt intill varandra, ca 1,5 cm från plåtkanten. På vart och ett av de tre övriga appliceras på samma sätt 50 µl av standardlösningarna a, b och c med respektive 30, 50 och 70 µg bifenyyl.

Om analyserna utförs i följd behöver standardlösningarna inte appliceras på varje plåt och en standardkurva kan framställas utifrån det genomsnittsvärde som erhålls från minst fem plåtar med samma standardmängd.

##### c) *Framkallning av kromatogram och eluering*

Kromatogrammen framkallas med hexan till en höjd av 17 cm i skålar som i förväg klätts invändigt med filterpapper. Plåtarna lufttorkas. Områdena med bifenyyl letas fram i UV-ljus (254 nm) och markeras med lika stora rektanglar.

I dessa rektanglar skrapas beläggningen genast bort till bärsiktets fulla tjocklek. Bifenylen extraheras från detta med 10 ml etanol under tio minuter under upprepad omskakning. Blandningen överförs till centrifugrören och centrifugeras i fem minuter vid 2 500 r/min.

Ett lika stort blindprov tas med samma metod. Om analyserna sker i följd, tas detta blindprov från ett oanvänt fält på plåten, men om analyserna görs var för sig skall det tas från ett av fälten med standardlösning som ligger nedanför bifenylyzonen.

##### d) *Spektrofotometrisk bestämning*

Det överliggande vattenskiktet hälls över i spektrofotometerns celler och extinktionen bestäms vid 248 nm och jämförs med ett kontrollextrakt från en bifenyylfri kromatografisk zon.

<sup>(1)</sup> Se figur på sidan 9.

## 6. Beräkning av resultaten

En standardkurva upprättas och i denna ritar man in bifenylyvärdena 30, 50 och 70 µg och de motsvarande värdena som man har fått fram med spektrofotometern. Man får då en rät linje som går rakt igenom nollpunkten. Diagrammet gör det möjligt att läsa ut provens bifenylyhalt i ppm direkt från extraktens extinktionsvärden.

## BILAGA 4

### KVANTITATIV ANALYS AV RESTER AV ORTOFENYLFENOL OCH NATRIUMORTOFENYLFENAT I CITRUSFRUKTER

#### 1. Ändamål och omfattning

Denna metod ger en kvantitativ analys av resterna av ortofenylfenol (OPP) och natriumortofenylfenat i citrusfrukter (hel frukt). Vid en halt av ca 12 ppm OPP eller natriumfenylfenat ger metoden en genomsnittlig avvikelse nedåt på mellan 10 och 20%.

#### 2. Princip

Efter destillering i ett surt medium och extraktion med diisopentyleter renas extraktet och behandlas med en lösning av 4-amino-2,3-dimetyl-1-fenyl-3-pyrazolin-5-on (=4-aminoantipyrin). Intensiteten hos den resulterande röda färgen mäts spektrofotometriskt vid 510 nm.

#### 3. Reagensmedel

70-procentig ortofosforsyra.

Silikonbaserad antiskumemulsion.

Diisopentyleter A.R.

Renat cyklohexan: Omskakas tre gånger med 4-procentig natriumhydroxidlösning, tvättas tre gånger med destillerat vatten.

4-procentig natriumhydroxidlösning.

Buffertlösning, pH 10,4: häll 6,64 g borsyra, 8,00 g kaliumklorid och 93,1 ml 1N-N natriumhydroxidlösning i en graderad tvåliterskolv, blanda och fyll på destillerat vatten upp till kalibreringsmärket.

Reagensmedel I: Lös 1,0 g 4-amino-2,3-dimetyl-1-fenyl-3-pyrazolin-5-on (= 4-aminoantipyrin) i 100 ml destillerat vatten.

Reagensmedel II: Lös 2,0 g kaliumferrocyanid i 100 ml destillerat vatten. Båda reagensmedlen måste förvaras i bruna glasflaskor och är hållbara i högst 14 dagar.

Kiselgel.

Standardlösning: Lös 10 mg rent OPP i 1 ml 0,1 N NaOH, späd till 100 ml med en 0,2 m natriumboratlösning (1 ml = 100 µg). Standardlösning späds med buffertlösningen 1:10.

#### 4. Apparatur

Maskin som hackar eller maler.

Mixer.

Enliters destillationskolv med separator av modifierad Clevengertyp<sup>(1)</sup> samt återloppskylare.

Infrarött bad.

200 ml separeringsträtt.

Graderade cylindrar, 25 och 100 ml.

Graderade kolvar, 25 och 100 ml.

Pipetter, 1–10 ml.

Pipetter med gradering, 0,5 ml.

Spektrofotometer med 5 cm celler.

#### 5. Metod

Alla frukterna i provet som skall undersökas delas i två halvor. Hälften av varje frukt sparas för den kvantitativa bestämningen av rester av bifenyyl, OPP eller natriumortofenyylfenat. De övriga halvorna strimlas tillsammans i en kvarn eller mosas till en homogen blandning. Från denna tas minst två delprover om 250 gram att analyseras på följande sätt.

Varje delprov placeras i en mixer med 500 ml vatten och blandas till en mycket fin, homogen blandning där de oljiga cellerna inte längre kan upptäckas. Beroende på den förmodade OPP-halten tas ett prov om 150–300 g av moset och placeras i enliterskolven och späds med vatten till 500 g. 10 ml 70-procentig ortofosforsyra, flera kokstenar och 0,5 ml antiskumemulsion tillsätts, och separatorn och återloppskylaren monterar på kolven. 10 ml diisopentyleter hålls i separatorn och kolven värms upp försiktigt i det infraröda badet så att moset inte börjar koka eller skumma. Detta destilleras i omkring sex timmar, varefter separatorns innehåll hålls över i en 200 ml separeringsträtt. Separatorn och kylaren sköljs med ca 60 ml cyklohexan och därefter med 60 ml vatten. Även ursköljet hålls över i separeringsträtten. Blandningen omskakas kraftigt och när skikten har separerat hålls vattenskiktet bort.

För extraktionen av OPP omskakas det organiska skiktet kraftigt i tre minuter fem gånger i följd med tillsats av 10 ml 4-procentig natriumhydroxid. De sammanslagna alkaliska lösningarna neutraliseras till pH 9–10 med ortofosforsyra i närvaro av fenoltaleinpapper och späds med destillerat vatten till 100 ml. Den lätta slöjan i lösningen avlägsnas med en aning kiselgel. Lösningen omskakas därefter och filtreras genom ett torrt, finporigt filter. Färgningen framkallas med maximal noggrannhet och precision med OPP-mängder mellan 10 och 70 µg, och med hänsyn tagen till den mängd OPP man väntar finna tas med pipett ett prov i aliquot mängd mellan 0,5 och 10 ml. Provet placeras i en 25 ml-graderad kolv, och 0,5 ml reagensmedel I, 10 ml av buffertlösningen och 0,5 ml reagensmedel II tillsätts. Blandningen späds upp till kalibreringsmärket med buffertlösningen och omskakas kraftigt.

Efter fem minuter mäts extinktionen av den röda färgen vid 510 nm med spektrofotometern i jämförelse med ett blindprov utan extrakt. Färgen ändras inte under de första trettio minuterna. Resultatet bedöms genom jämförelse med en standardkurva som framställts med OPP standardlösning under samma förhållanden.

<sup>(1)</sup> Se figur på sidan 9.



## 6. Anmärkningar

För varje analys rekommenderas att den spektrofotometriska bestämningen utförs två gånger med olika mängder av det neutraliserade alkaliska extraktet.

Obehandlade citrusfrukter ger med denna metod ett blindvärde på upp till 0,5 ppm för apelsiner och 0,8 ppm för citroner.

## CLEVANGER

(Bilaga 3 kapitel 4,  
bilaga 4 kapitel 4)

