31980L0891

1980.9.27. *AZ EURÓPAI KÖZÖSSÉGEK HIVATALOS LAPJA* L 254/35

A BIZOTTSÁG IRÁNYELVE

(1980. július 25.)

a közvetlenül emberi fogyasztásra szánt olajok (étolajok) és zsírok (étkezési zsírok), valamint a hozzáadott olajokat és zsírokat tartalmazó élelmiszerek erukasav-tartalmának meghatározására vonatkozó közösségi vizsgálati módszerekről

(80/891/EGK)

AZ EURÓPAI KÖZÖSSÉGEK BIZOTTSÁGA,

tekintettel az Európai Közösséget létrehozó szerződésre,

tekintettel a közvetlenül emberi fogyasztásra szánt olajok (étolajok) és zsírok (étkezési zsírok), valamint a hozzáadott olajokat és zsírokat tartalmazó élelmiszerek erukasav-tartalma legmagasabb szintjének rögzítéséről szóló, 1976. július 20-i 76/621/EGK tanácsi irányelvre [1] és különösen annak 3. cikkére,

mivel a 76/621/EGK irányelv 2. cikke előírja, hogy 1979. július 1-jétől az irányelv 1. cikkében említett termékek erukasav-tartalma a zsírkomponens összes zsírsavtartalmára számolva nem haladhatja meg az 5 %-ot;

mivel a 76/621/EGK irányelv 3. cikke előírja, hogy az erukasav-tartalmat közösségi vizsgálati módszer alkalmazásával kell meghatározni;

mivel az olajos magvak mintavételéről és a minták csökkentéséről, valamint az olaj-, a szennyeződés- és a nedvesség-tartalmának a meghatározásáról szóló, 1968. szeptember 23-i 1470/68/EGK rendelet [2] a VI. mellékletben, a 72/77/EGK rendelet [3] által bevezetett módon szabályozza a repce- és az olajrepce-magok erukasav-tartalmának a meghatározására szolgáló vizsgálati módszert; mivel ezt a módszert szűrőmódszerként kell alkalmazni;

mivel az olajokat és a zsírokat alkotó zsírsavak vizsgálatát átlagos körülmények között gáz-kromatográfiával kell végezni, nem lehet különbséget tenni az erukasav és más dokozénsav-izomerek, például a cetolsav között;

mivel meg kell határozni az erukasav-tartalmat az olajokban és a zsírokban és az olyan hozzáadott olajat vagy zsírt tartalmazó élelmiszerekben, amelyek cetolsavat vagy egyéb dokozénsav-izomert tartalmazhatnak;

mivel nem kell meghatározni az erukasav-tartalmat az olyan olajokban és zsírokban, illetve az olyan, hozzáadott olajat vagy zsírt tartalmazó élelmiszerekben, amelyekben – a szűrőmódszer alkalmazását követően – az összes dokozénsav- vagy ciszdokozénsav-tartalom nem haladja meg az 5 %-ot;

mivel az erukasav-tartalom meghatározására alkalmazott pontosabb vizsgálati módszerek kidolgozásáig ez a vizsgálati módszer tekinthető a legalkalmasabbnak;

mivel az ezen irányelvben meghatározott intézkedések összhangban vannak az Élelmiszerügyi Állandó Bizottság véleményével,

ELFOGADTA EZT AZ IRÁNYELVET:

1. cikk

A tagállamok előírják, hogy a 76/621/EGK irányelv 1. cikkében említett termékek erukasav-tartalmának meghatározását a 2. cikkben meghatározott módon kell elvégezni.

2. cikk

(1) A szűrés céljaira az alábbi két paraméter valamelyikét kell meghatározni:

a) az 1. cikkben említett termékek összes dokozénsav-tartalma az 1470/68/EGK rendelet VI. mellékletében meghatározott módszer alkalmazásával; vagy

b) az 1. cikkben említett termékek összes ciszdokozénsav-tartalma az 1470/68/EGK rendelet VI. mellékletében meghatározott módszer alkalmazásával, a gáz-kromatográfia olyan körülmények között történő használatával, ahol a dokozénsav cisz- és transz-izomerjei elkülönülnek; az e célra alkalmas álló fázis, például a cianopropil-polisziloxán vagy a folyadékkristályok.

(2) Ha az 1. cikkben említett termékekben, a zsírkomponens összes zsírsavtartalmára számítva,

a) az (1) bekezdés a) pontja alapján meghatározott összes dokozénsav-tartalom; vagy

[1] HL L 202., 1976.7.28., 35. o.
[2] HL L 239., 1968.9.28., 2. o.
[3] HL L 12., 1977.1.15., 11. o.

b) az (1) bekezdés b) pontja alapján meghatározott összes ciszdokozénsav-tartalom

nem haladja meg az 5 %-ot, nincs szükség további meghatározásra. Ellenkező esetben az erukasav-tartalmat az ezen irányelv mellékletében ismertetett módszerrel kell meghatározni.

3. cikk

A tagállamok hatályba léptetik azokat a törvényi, rendeleti és közigazgatási rendelkezéseket, amelyek szükségesek ahhoz, hogy ennek az irányelvnek legkésőbb 1982. február 1-jéig megfeleljenek. Erről haladéktalanul tájékoztatják a Bizottságot.

4. cikk

Ennek az irányelvnek a tagállamok a címzettjei.

Kelt Brüsszelben, 1980. július 25-én.

a Bizottság részéről

Étienne DAVIGNON

a Bizottság tagja

MELLÉKLET

A KÖZVETLENÜL EMBERI FOGYASZTÁSRA SZÁNT OLAJOK (ÉTOLAJOK) ÉS ZSÍROK (ÉTKEZÉSI ZSÍROK), VALAMINT A HOZZÁADOTT OLAJAT VAGY ZSÍRT TARTALMAZÓ ÉLELMISZEREK ERUKASAV-TARTALMÁNAK A MEGHATÁROZÁSA

I. BEVEZETÉS

1. A MINTA ELŐKÉSZÍTÉSE

1.1. **Általános megjegyzések**

A laboratóriumi vizsgálatra beküldött minta tömege rendszerint 50 gramm, ha nincs szükség nagyobb mennyiségre.

1.2. **A minta előkészítése**

A mintát vizsgálat előtt homogenizálni kell.

1.3. **Edények**

Az így előkészített mintát légmentesen és páramentesen záró edényben kell tárolni.

2. REAGENSEK

2.1. **Víz**

2.1.1. Ha vízre van szükség oldószerként, a hígításokhoz és a mosáshoz, desztillált vagy ioncserélt vizet, illetve ezekkel legalább egyenértékű tisztaságú vizet kell használni.

2.1.2. Ha bármely más reagens meghatározása nélkül „oldat” vagy „hígítás” említése történik, ott vizes oldatról, illetve hígításról van szó.

2.2. **Vegyszerek**

Az összes felhasznált vegyszernek – ellenkező előírás hiányában – analitikai minőségűnek kell lennie.

3. ESZKÖZÖK

3.1. **A laboratóriumi felszerelés listája**

A felsorolás csak a különleges felhasználásra szánt tételeket tartalmazza, a hozzá tartozó különleges előírásokkal.

3.2. **Analitikai mérleg**

Az „analitikai mérleg” kifejezés 0,1 mg vagy annál nagyobb mérési pontosságú mérlegre vonatkozik.

4. AZ EREDMÉNYEK KISZÁMÍTÁSA

4.1. **Eredmények**

A hivatalos vizsgálati jegyzőkönyvben szereplő eredmény a legalább két meghatározásból kapott eredmény középértéke, amely megfelelően ismételhető.

4.2. **A százalékok számítása**

Ha másképp nem határozták meg, az eredményeket a laboratóriumba érkezett minta összes zsírsavtartalmának a százalékában kell megadni (m/m).

4.3. **A tizedesjegyek száma**

Az így kifejezett eredményben a tizedesjegyek számát a módszer pontossága határozza meg.

II. **AZ ERUKASAV-TARTALOM MEGHATÁROZÁSA**

1. TÁRGY ÉS ALKALMAZÁSI TERÜLET

A módszer az alábbiak erukasav-tartalmának meghatározására szolgál:

i. a cetolsavat (a dokozénsav egy bizonyos cisz-izomerje, amely halolajokban fordul elő) tartalmazó olajok és zsírok; és

ii. a dokozénsav transz- és cisz-izomerjeit tartalmazó hidrogénezett olajok és zsírok.

2. MEGHATÁROZÁS

Az erukasav-tartalom: a megadott módszerrel meghatározott erukasav-tartalom.

3. VIZSGÁLATI ALAPELV

Az olaj vagy a zsír zsírsavösszetevőinek metil-észtereit alacsony hőmérsékletű ezüstnitrátot tartalmazó vékonyréteg-kromatográfiával választjuk el egymástól és a mennyiségüket gázkromatográfiával határozzuk meg.

4. REAGENSEK

4.1. Frissen desztillált, peroxidmentes dietil-éter.

4.2. n-hexán

4.3. Szilikagél G a vékonyréteg-kromatográfiához.

4.4. Szilikagél oszlopkromatográfiához.

4.5. 200 g/liter ezüstnitrátoldat. Oldjunk fel 24 g ezüstnitrátot vízben és egészítsük ki vízzel 120 ml-re.

4.6. 5 mg/ml erukasav-metilészter-oldat. Oldjunk fel 50 mg metil-erukátot néhány ml n-hexánban és hígítsuk fel n-hexánnal 10 ml-re.

4.7. 0,25 mg/ml tetrakozán-metilészter belső standard oldat. Oldjunk fel 25 mg metil-tetrakozanoátot néhány ml n-hexánban (a 4.6. pont szerint), és hígítsuk fel n-hexánnal 100 ml-re.

4.8. Futtatószer. Toluol: n-hexán 90: 10 (térfogatszázalék).

4.9. 2,7 diklór-fluoreszcein-oldat, 0,5 g/liter. Melegítés és keverés mellett oldjunk fel 50 mg 2,7 diklór-fluoreszcein-oldatot 100 ml 50 %-os vizes metanolban.

5. ESZKÖZÖK

5.1. A vékonyréteg-kromatográfiához különösen az alábbi laboratóriumi felszerelésekre van szükség:

5.1.1. fagyasztószekrény, amely a futtatókádat és annak tartalmát mínusz 20 és mínusz 25 °C közötti hőmérsékleten tudja tartani;

5.1.2. 200 x 200 mm-es üveglapok;

5.1.3. UV lámpa;

5.1.4. körülbelül 200 mm hosszú és 10 mm belső átmérőjű üvegoszlopok üveggyapottal vagy üvegszűrőkkel, vagy kis tölcsérek üvegszűrőkkel;

5.1.5. applikátor, az oldatok TLC lemezekre vékony csíkok vagy sávok formájában történő felhordásához;

5.2. elektronikus integrátorral ellátott gázkromatográf a 72/77/EGK bizottsági rendelet VI. mellékletének III. címében leírtak szerint.

6. MÓDSZER

6.1. **A zsírsav-metilészterek előállítása**

Vegyünk a vizsgálni kívánt minta olaj vagy zsír összetevőjéből mintegy 400 mg-ot és készítsünk belőle – a 72/77/EGK bizottsági rendelet VI. mellékletének II.3. pontjában ismertetett módszer segítségével – egy olyan oldatot, amely 20–50 mg/ml zsírsav-metilésztert tartalmaz n-hexánban oldva.

6.2. **Vékonyréteg-kromatográfia**

6.2.1. *A lemezek előkészítése*

Helyezzünk 60 g szilikagélt (4.3.) egy 500 ml-es kerek fenekű üveglombikba, adjunk hozzá 120 ml ezüstnitrát-toldatot (4.5.) és rázogassuk egy percen keresztül, amíg teljesen homogén szuszpenziót kapunk. A szuszpenziót a megszokott módon visszük fel a lemezekre; a réteg vastagsága megközelítőleg 0,5 mm legyen. A szuszpenzió mennyisége öt 200 x 200 mm-es lemez előkészítéséhez elegendő.

Hagyjuk a lemezeket levegőn részlegesen megszáradni (lehetőleg úgy, hogy mintegy 30 percen át sötét helyen hagyjuk őket). A teljes szárításhoz és aktiváláshoz a lemezeket két és fél órára 100 °C-os termosztátba helyezzük. A lemezeket az aktiválás után amilyen gyorsan csak lehet, használjuk fel, vagy pedig gondosan tároljuk egy sötét szekrényben és felhasználás előtt ismételten aktiváljuk őket. (Megjegyzés: elegendő lehet a 110 °C-on, egy órán keresztül történő aktiválás is, ha ennek eredményeként a lemezek nem sötétednek meg). Használat előtt karcoljunk vonalakat a felkent rétegbe az oldalaktól és a lemezek tetejétől 10 mm-re, hogy csökkentsük a hívás során jelentkező szélhatást.

6.2.2. *A metil-észterek alkalmazása*

Az applikátor segítségével (5.1.5.) helyezzünk a lemezekre a mintából készített metil-észter-oldatokból 50 µl mennyiséget (6.1.) egy keskeny sávban, a szélektől legalább 40 mm-re és az aljától 10 mm-re. Ehhez hasonló módon vigyünk fel az elkészített metil-észter-oldatból (6.1.) és a metil-erukát-oldatból (4.6.) egyforma mennyiséget tartalmazó oldatból 100 µl mennyiséget is. Különös gonddal ügyeljünk az oldatok felvitelekor, mert a réteg könnyen reped. (Megjegyzés: ha szükséges, 50 µl metil-erukát-oldatot (4.6.) is felvihetünk a lemezre, hogy könnyebb legyen az előhívás után a metil-erukát sávját azonosítani: lásd az ábrát). A metil-észterek felvitele után állítsuk a lemezt az aljával dietil-éterbe, amíg az éter körülbelül 5 milliméterrel feljebb nem hatol a minták felvitelének helyénél. Így a metil-észterek keskeny csíkban fognak koncentrálódni.

6.2.3. *A lemezek előhívása*

Öntsünk futtatóoldatot (4.8.) a tartályba mintegy 5 mm vastagságban és a fedéllel lezárt tartályt helyezzük 25 °C-on vagy ahhoz a lehető legközelebb álló hőmérsékleten tartott mélyhűtő szekrénybe (5.1.1). (Bizonyos esetekben előnyös lehet a tartály kibélelése). Két óra elteltével a lemezt óvatosan helyezzük a tartályba, és engedjük az oldószert a lemez magasságának körülbelül a feléig-kétharmadáig felfutni. Vegyük ki a lemezt, nitrogénáram alatt lassan párologtassuk el belőle az oldószert. Tegyük vissza a lemezt a tartályba, és most engedjük a szert a lemez tetejéig felfutni. Az előbbiekben ismertetett módon vegyük ki a lemezt és nitrogénáramban szárítsuk meg, majd gondosan fröcsköljük be 2,7 diklórfluoreszcein-oldattal (4.9.).

Tekintsük meg a lemezt ultraibolya fényben és a metil-erukát hozzáadásával megerősített minta nyomának összehasonlításával határozzuk meg a metil-erukátot tartalmazó csík helyét a mintában (lásd az ábrát).

6.2.4. *A metil-észter-frakciók elválasztása*

A mintából származó metil-erukát-csíkot kaparjuk bele a lemezről egy 50 ml-es főzőpohárba, gondosan ügyelve a veszteségek elkerülésére. Hasonló módon vigyük át a csík alatt és felett elhelyezkedő szilikagélanyagot is egy másik 50 ml-es főzőpohárba. Ez a sáv fogja tartalmazni az összes többi zsírsav-metilészter-frakciót. Adjunk 10 ml metil-tetrakozanoát standard oldatot (4.7) és 10 ml dietil-étert (4.l) mindkét pohárba. Keverjük fel, majd a poharak tartalmát öntsük rá külön-külön a mintegy 1 g szilikagélt (4.4.) tartalmazó oszlopokra vagy tölcsérekre (5.1.4); három-négy 10 ml-es dietil-éter adaggal eluáljuk le a metil-észtereket. A szűrleteket kis lombikokban gyűjtsük. Enyhe nitrogénáram használatával a szűrleteket párologtassuk el amíg kicsi nem lesz a térfogatuk, majd a metil-észtereket helyezzük át kis hegyes végű üvegcsövekbe. Nitrogénáramban párologtatással távolítsuk el az összes oldószert oly módon, hogy a metil-észterek a csövek alján gyűljenek össze. A metil-észtereket oldjuk fel mintegy 25–50 µl n-hexánban (4.2.).

6.3. **Gázkromatográfia**

6.3.1. Kövessük a 72/77/EGK bizottsági rendelet VI. mellékletének III. címében ismertetett eljárást, és fecskendezzünk be 1–2 µl metil-észter-oldatokat, amelyeket i. a metil-erukátot tartalmazó frakcióból és ii. a többi metilált zsírsavat tartalmazó frakcióból nyertünk.

6.3.2. Az elektronikus integrátorral számítsuk ki az alábbi csúcs alatti területeket:

i. a metil-erukátot tartalmazó frakció kromatogrammjából

a) a metil-erukátot [E]

b) a belső standardot [L_1]

c) a belső standardon kívül az összes metil-észter csúcs alatti területet [EF]

ii. a maradék zsírsav metil-észtert tartalmazó frakció kromatogrammjából

a) a belső standardon kívül az összes metil-észter csúcs alatti területet [RF]

b) a belső standardot [L_2]

7. AZ EREDMÉNYEK KISZÁMÍTÁSA

7.1. **Számítási módszer és képlet**

7.1.1. A minta erukasav-tartalmát annak metil-észterében kifejezve – mint az összes zsírsav metil-észter-százalékát –, az alábbi képlet adja meg:

$$\frac{E}{L_1\left(\frac{EF}{L_1}+\frac{RF}{L_2}\right)} \times 100$$

ahol

E, EF, RF, L_1 és L_2 a 6.3.2. pontban említett csúcsok alatti területek, szükség esetén a kalibrációs tényezőkkel korrigálva.

Gyakorlati szempontból a fenti képletben megadott metil-erukát értékét az erukasavnak a mintában található összes zsírsav százalékában kifejezett szintjével egyenértékűnek vehetjük.

7.1.2. Ha a csúcsok alatti területet százalékos értékben kapjuk meg, az EF és RF az alábbiak szerint számolható ki:

$EF = 100 - L_1$

$RF = 100 - L_2$

7.1.3. A számítási módszer (7.1.1.) azt feltételezi, hogy a mintában található tetrakozanoát-sav mennyisége elhanyagolható. Ha ebből a savból komoly mennyiség jelenléte mutatható ki, akkor a maradék zsírsav metil-észterek frakciójának kromatogrammjából nyert tetrakozanoátsav-értéket (L_2) az alábbiak szerint kell csökkenteni:

$L_2 - T_2$

ha

$$T_2 = \frac{T_0 P_2}{P_0}$$

és

T_2 = a mintából származó tetrakozánsav-metilészter csúcs alatti területe és az a terület, amely a maradék zsírsav-metilészterek frakciójának a kromatogrammjában a belső standardnak tulajdonított csúcs alatti terület részét képezi

P_2 = a visszamaradó frakció kromatogrammjából kapott palmitinsav-metilészter csúcs alatti területe

T_0 = az ezen irányelv 2. cikkében említett vizsgálati módszerrel meghatározott teljes zsírsavtartalom metil-észtereinek a kromatogrammjából nyert tetrakozánsav-metilészter csúcs alatti területe

P_0 = az ezen irányelv 2. cikkében említett vizsgálati módszerrel meghatározott teljes zsírsavtartalom metil-észtereinek a kromatogrammjából nyert palmitinsav-metilészter csúcs alatti területe.

7.1.4. *A képlet származtatása*

A metil-erukátot tartalmazó frakció zsírsavtartalmának arányát a minta teljes zsírsavtartalmának százalékaként kifejezve az alábbiak szerint kapjuk meg:

$$\frac{\frac{EF}{L_1}}{\frac{EF}{L_1}+\frac{RF}{L_2}} \times 100 \qquad \text{vagy} \qquad \frac{EF}{L_1\left(\frac{EF}{L_1}+\frac{RF}{L_2}\right)} \times 100$$

A metil-erukátot tartalmazó frakcióban az erukasav aránya az alábbiak szerint számítható:

$$\frac{E}{EF}$$

Ennélfogva a minta erukasav-tartalmát az összes zsírsavtartalom százalékában az alábbi összefüggés adja meg:

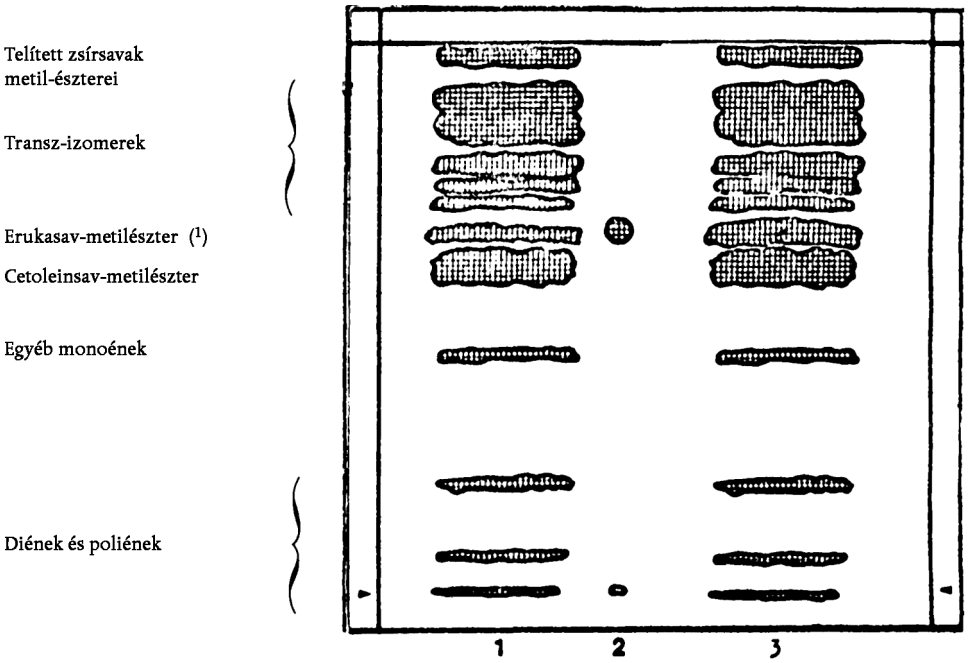
$$\frac{EF}{L_1\left(\frac{EF}{L_1}+\frac{RF}{L_2}\right)} \times \frac{E}{EF} \times 100 \qquad \text{vagy} \qquad \frac{E}{L_1\left(\frac{EF}{L_1}+\frac{RF}{L_2}\right)} \times 100$$

7.1.5. *Ismételhetőség*

Az ugyanazon a mintán, egy időben vagy gyors egymásutánban, azonos körülmények között, ugyanazon személy által elvégzett két meghatározás eredménye közötti különbség nem haladhatja meg az eredmény 10 %-át vagy 0,5 grammot 100 gramm mintában, a magasabb érték figyelembevételével.

ÁBRA

Vékonyréteg-kromatogramm az erukasav, a cetolsav és a dokozénsav transz-izomerei metilésztereinek a szétválasztásáról



1. minta
2. erukasav-metilészter;
3. minta + erukasav-metilészter

(1) A frakcióhoz használt erukasav-metilészter rendszerint más zsírsav-metilésztereket is tartalmazhat, de nem lehet benne cetoleinsav-metilészter.