RÈGLEMENT (CE) N° 1082/96 DE LA COMMISSION

du 14 juin 1996

portant établissement d'une méthode de référence pour déterminer la quantité d'ester éthylique de l'acide β-apo-8'-caroténique dans le beurre concentré et le beurre

LA COMMISSION DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES,

vu le traité instituant la Communauté européenne,

vu le règlement (CEE) n° 804/68 du Conseil, du 27 juin 1968, portant organisation commune des marchés dans le secteur du lait et des produits laitiers (1), modifié en dernier lieu par le règlement (CE) n° 2931/95 de la Commission (2), et notamment son article 6 paragraphe 7 et son article 12 paragraphe 3,

considérant que le règlement (CEE) n° 570/88 de la Commission, du 16 février 1988, relatif à la vente à prix réduit de beurre et à l'octroi d'une aide au beurre et au beurre concentré destinés à la fabrication de produits de pâtisserie, de glaces alimentaires et autres produits alimentaires (3), modifié en dernier lieu par le règlement (CE) n° 531/96 (4), prévoit le traçage du beurre subventionné et du beurre concentré dans certaines circonstances, afin de garantir la régularité de l'utilisation finale;

considérant que, compte tenu de l'importance du traçage pour le bon fonctionnement du programme et afin de garantir l'égalité de traitement des opérateurs qui y participent, il est opportun d'établir des méthodes communes pour déterminer les quantités de traceurs dont il est question dans le règlement (CEE) n° 570/88;

considérant qu'il est difficile d'établir ces méthodes de référence pour tous les traceurs en même temps; que l'établissement d'une méthode de référence pour déterminer la quantité d'ester éthylique de l'acide β-apo-8'-caroténique dans le beurre concentré ou le beurre constitue une nouvelle étape dans cette direction;

considérant que les mesures prévues par le présent règlement sont conformes à l'avis du comité de gestion du lait et des produits laitiers,

A ARRÊTÉ LE PRÉSENT RÈGLEMENT:

Article premier

La méthode d'analyse de référence décrite en annexe est appliquée pour déterminer la quantité d'ester éthylique de l'acide β-apo-8'-caroténique dans le beurre concentré ou le beurre, conformément au règlement (CEE) n° 570/88.

Le beurre concentré ou le beurre est considéré comme tracé conformément à l'article 6 du règlement (CEE) n° 570/88 si les résultats obtenus sont conformes aux spécifications du point 8 de l'annexe.

Article 2

Le présent règlement entre en vigueur le troisième jour suivant celui de sa publication au *Journal officiel des Communautés européennes.*

Il est applicable à partir du 1er octobre 1996.

Le présent règlement est obligatoire dans tous ses éléments et directement applicable dans tout État membre.

Fait à Bruxelles, le 14 juin 1996.

Par la Commission

Franz FISCHLER

Membre de la Commission

(1) JO n° L 148 du 28. 6. 1968, p. 13.
(2) JO n° L 307 du 20. 12. 1995, p. 10.
(3) JO n° L 55 du 1. 3. 1988, p. 31.
(4) JO n° L 78 du 28. 3. 1996, p. 13.

ANNEXE

DÉTERMINATION DE LA QUANTITÉ D'ESTER ÉTHYLIQUE DE L'ACIDE β-APO-8'-CAROTÉNIQUE DANS LE BEURRE CONCENTRÉ ET LE BEURRE PAR SPECTROMÉTRIE

1. Portée et champ d'application

La méthode décrit une procédure pour déterminer la quantité d'ester éthylique de l'acide β-apo-8'-caroténique (ester apo-caroténique) dans le beurre concentré et le beurre. L'ester apo-caroténique est la somme de toutes les substances présentes dans un concentré d'échantillons obtenu dans les conditions décrites dans la méthode, qui absorbent le rayonnement à 440 nm. Elle est applicable aux échantillons reçus en vertu du règlement (CEE) n° 570/88.

2. Principe

La matière grasse butyrique est dissoute dans de l'essence minérale légère et l'absorbance est mesurée à 440 nm. La quantité d'ester apo-caroténique est déterminée par référence à une norme externe.

3. Équipement

3.1. Pipettes graduées à 0,25, 0,50, 0,75 et 1,0 ml

3.2. Spectrophotomètre, conçu pour un usage à 440 nm (et 447-449 nm) et équipé de cellules de 1 cm de longueur de chemin optique

3.3. Fioles volumétriques, 20 ml et 100 ml

4. Réactifs

Tous les réactifs doivent avoir un degré analytique reconnu.

4.1. Suspension d'ester apo-caroténique (environ 20 %)

4.1.1. Établir le contenu de la suspension comme suit:

verser soigneusement 400 mg environ dans une fiole volumétrique de 100 ml et dissoudre dans de l'essence minérale (4.2); diluer avec de l'essence minérale jusqu'à remplissage de la fiole. Diluer 5,0 ml de cette solution dans 100 ml d'essence minérale (solution A). Diluer 5,0 ml de solution A dans 100 ml d'essence minérale. Mesurer l'absorbance à 447-449 nm (mesurer le maximum par rapport à l'essence minérale comme valeur de référence en utilisant des cellules de 1 cm).

$$\text{Teneur en ester apo-caroténique (\%)} = \frac{A_{max} \cdot 40\,000}{A \cdot 2\,550}$$

A_{max} = absorbance maximale de la solution de mesure

A = poids de l'échantillon (g)

2 550 = valeur de référence A (1 %, 1 cm)

P exprime la pureté de la suspension (%).

Remarque: l'ester apo-caroténique en suspension est sensible à l'air, à la chaleur et à la lumière. Il peut se conserver environ douze mois dans son emballage original, fermé (scellé sous azote) et stocké dans un endroit frais. Après ouverture, le contenu doit être utilisé dans un bref délai.

4.1.2. Solution standard d'ester apo-caroténique, environ 0,2 mg/ml

Prélever environ, à 0,1 mg près, 0,100 g d'ester apo-caroténique en suspension (4.1.1) (Wg), dissoudre dans de l'essence minérale (4.2), transférer quantitativement dans une fiole volumétrique de 100 ml et compléter jusqu'au trait avec de l'essence minérale.

Cette solution contient (W.P)/100 mg/ml d'ester apo-caroténique.

Remarque: la solution doit être stockée dans un endroit frais, dans le noir. Après un mois, elle n'est plus utilisable.

4.2. Essence minérale (40 - 60 °C).

4.3. Sulfate de sodium, anhydre, cristallisé, préalablement séché à 102 °C pendant deux heures.

5. **Procédure**

5.1. Préparation de l'échantillon test

5.1.1. Beurre concentré

Faire fondre l'échantillon dans un four à 45 °C environ.

5.1.2. Beurre

Faire fondre l'échantillon dans un four à 45 °C environ et en filtrer une partie à l'aide d'un filtre contenant environ 10 g de sulfate de sodium anhydre (4.3). L'opération doit se faire à l'abri de toute lumière naturelle ou artificielle forte et la température doit être maintenue à 45 °C. Prélever une quantité convenable de matière grasse butyrique.

5.2. Détermination

Prélever, à 1 mg près, environ 1 g de beurre concentré ou de matière grasse butyrique (5.1.2), (mg). Transférer quantitativement dans une fiole volumétrique de 20 ml (Vml), remplir jusqu'au trait avec de l'essence minérale (4.2) et mélanger soigneusement.

Déposer une petite quantité de ce mélange sur une cellule de 1 cm et mesurer l'absorbance à 440 nm par rapport à de l'essence minérale comme valeur de référence. On obtient la concentration d'ester apo-caroténique dans la solution par référence à la courbe d'étalonnage (C µg/ml).

5.3. Courbe d'étalonnage

Introduire à l'aide des pipettes graduées 0, 0,25, 0,5, 0,75 et 1,0 ml de solution standard d'ester apo-caroténique (4.1.2) dans cinq fioles volumétriques de 100 ml. Diluer en remplissant jusqu'au trait avec de l'essence minérale (4.2) et mélanger.

Les concentrations des solutions s'échelonnent entre 0 et 2 µg/ml et sont calculées de manière précise par référence à la concentration de la solution standard (4.1.2), (W.P)/100 mg/ml. Mesurer les absorbances à 440 nm par rapport à de l'essence minérale (4.2) comme valeur de référence.

Reporter les valeurs d'absorbance sur l'axe des ordonnées et les concentrations d'ester apo-caroténique sur l'axe des abscisses.

6. **Calcul des résultats**

6.1. La teneur en ester apo-caroténique, exprimée en mg/kg de produit, est donnée par:

Beurre concentré: (C.V)/m

Beurre: 0,82 (C.V)/m

où:

C = la teneur en ester apo-caroténique, µg/ml, donnée par la courbe d'étalonnage (5.3),

m = la masse (g) de la portion test (5.2),

0,82 = un coefficient correcteur pour la teneur en matière grasse butyrique du beurre.

7. **Précision de la méthode**

7.1. Répétitivité

7.1.1. Analyse du beurre

La différence de résultats entre deux déterminations effectuées sur du matériel de test identique, dans le laps de temps le plus bref possible et par un seul opérateur utilisant le même équipement ne devra pas excéder 1,4 mg/kg.

7.1.2. Analyse du beurre concentré

La différence de résultats entre deux déterminations effectuées sur du matériel de test identique, dans le laps de temps le plus bref possible et par un seul opérateur utilisant le même équipement ne devra pas excéder 1,6 mg/kg.

7.2. Reproductibilité

7.2.1. Analyse du beurre

La différence de résultats entre deux déterminations effectuées sur du matériel de test identique, par des opérateurs travaillant dans des laboratoires différents et utilisant des équipements différents ne devra pas excéder 4,7 mg/kg.

7.2.2. Analyse du beurre concentré

La différence de résultats entre deux déterminations effectuées sur du matériel de test identique, par des opérateurs travaillant dans des laboratoires différents et utilisant des équipements différents ne devra pas excéder 5,3 mg/kg.

7.3. Source des données techniques

Les données techniques ont été définies sur la base d'une expérience menée en 1995, qui impliquait onze laboratoires et qui portait sur douze échantillons tracés (six doubles aveugles) pour le beurre et sur douze échantillons tracés (six doubles aveugles) pour le beurre concentré.

8. **Limites de tolérance**

8.1. Pour contrôler l'homogénéité, il convient de prélever trois échantillons sur le produit tracé.

La procédure analytique décrite permet de détecter toutes les substances qui absorbent à une longueur d'onde de 440 nm. Ces substances augmentent la quantité apparente d'ester apo-caroténique mesurée. Le groupe d'experts chimistes du comité de gestion du lait pour le lait établit à 22 mg/kg pour le beurre et à 24 mg/kg pour le beurre concentré la limite de spécification à partir de laquelle la contribution de l'absorption de fond est prise en compte.

8.2. Beurre

8.2.1. Le taux d'incorporation pour le beurre, compte tenu de l'absorbance de fond, est de 22 mg/kg.

8.2.2. Compte tenu de la différence critique pour un niveau de probabilité de 95 % (CrD_{95}), la moyenne des différentes analyses effectuées sur chacun des trois échantillons prélevés pour contrôler l'homogénéité ne devra pas être inférieure à 19,3 mg/kg.

8.2.3. Outre le critère fourni au point 8.2.2, le résultat le plus bas que donne l'analyse du produit sert à contrôler l'homogénéité de la répartition du traceur. Pour ce faire, on compare avec les limites suivantes:

— 18,1 mg/kg (95 % du taux minimal d'incorporation, compte tenu d'une CrD_{95} par échantillon),

— 14,8 mg/kg (80 % du taux minimal d'incorporation, compte tenu d'une CrD_{95} par échantillon).

La concentration du traceur dans l'échantillon donnant le résultat le plus bas est utilisée conjointement à l'interpolation entre 18,1 et 14,8 mg/kg.

8.3. Beurre concentré

8.3.1. Le taux d'incorporation pour le beurre concentré, compte tenu de l'absorbance de fond, est de 24 mg/kg.

8.3.2. Compte tenu de la différence critique pour un niveau de probabilité de 95 % (CrD_{95}), la moyenne des différentes analyses effectuées sur chacun des trois échantillons prélevés pour contrôler l'homogénéité ne devra pas être inférieure à 20,9 mg/kg.

8.3.3. Outre le critère fourni au point 8.3.2, le résultat le plus bas que donne l'analyse du produit sert à contrôler l'homogénéité de la répartition du traceur. Pour ce faire, on compare avec les limites suivantes:

— 19,6 mg/kg (95 % du taux minimal d'incorporation, compte tenu d'une CrD_{95} par échantillon),

— 16,1 mg/kg (80 % du taux minimal d'incorporation, compte tenu d'une CrD_{95} par échantillon).

La concentration du traceur dans l'échantillon donnant le résultat le plus bas est utilisée conjointement à l'interpolation entre 19,6 et 16,1 mg/kg.