REGOLAMENTO (CE) N. 1082/96 DELLA COMMISSIONE

del 14 giugno 1996

che fissa un metodo di riferimento per la determinazione dell'estere di etile dell'acido beta-apo-8'-carotenico nel burro e nel burro concentrato

LA COMMISSIONE DELLE COMUNITÀ EUROPEE,

visto il trattato che istituisce la Comunità europea,

visto il regolamento (CEE) n. 804/68 del Consiglio, del 27 giugno 1968, relativo all'organizzazione comune dei mercati nel settore del latte e dei prodotti lattiero-caseari [1], modificato da ultimo dal regolamento (CE) n. 2931/95 della Commissione [2], in particolare l'articolo 6, paragrafo 7 e l'articolo 12, paragrafo 3,

considerando che il regolamento (CEE) n. 570/88 della Commissione, del 16 febbraio 1988, relativo alla vendita a prezzo ridotto di burro e alla concessione di un aiuto per il burro e il burro concentrato destinati alla fabbricazione di prodotti della pasticceria, di gelati e di altri prodotti alimentari [3], modificato da ultimo dal regolamento (CE) n. 531/96 [4], prevede la marcatura del burro e del burro concentrato che possono fruire dell'aiuto a determinate condizioni allo scopo di garantire la corretta utilizzazione finale di detti prodotti;

considerando che, tenuto conto dell'importanza della marcatura ai fini del corretto funzionamento del regime e al fine di garantire l'equo trattamento degli operatori che vi fanno ricorso, è opportuno fissare metodi comuni per individuare i traccianti di cui al regolamento (CEE) n. 570/88;

considerando che è difficile fissare tali metodi di riferimento contemporaneamente per tutti i traccianti; che la fissazione di un metodo di riferimento per la determinazione dell'estere etilico dell'acido beta-apo-8'-carotenico nel burro o nel burro concentrato costituisce un altro passo in questa direzione;

considerando che le disposizioni di cui al presente regolamento sono conformi al parere del comitato di gestione per il latte ed i prodotti lattiero-caseari,

HA ADOTTATO IL PRESENTE REGOLAMENTO:

Articolo 1

Per la determinazione del tenore di estere etilico dell'acido beta-apo-8'-carotenico nel burro o nel burro concentrato di cui al regolamento (CEE) n. 570/88 si applica il metodo d'analisi di riferimento specificato in allegato.

Il burro o il burro concentrato sono stati marcati conformemente al disposto dell'articolo 6 del regolamento (CEE) n. 570/88 se i risultati ottenuti sono conformi ai requisiti di cui al punto 8 dell'allegato.

Articolo 2

Il presente regolamento entra in vigore il terzo giorno successivo a quello della sua pubblicazione nella *Gazzetta ufficiale delle Comunità europee.*

Esso è applicabile dla 1° ottobre 1996.

Il presente regolamento è obbligatorio in tutti i suoi elementi e direttamente applicabile in ciascuno degli Stati membri.

Fatto a Bruxelles, il 14 giugno 1996.

Per la Commissione

Franz FISCHLER

Membro della Commissione

---

[1] GU n. L 148 del 28. 6. 1968, pag. 13.
[2] GU n. L 307 del 20. 12. 1995, pag. 10.
[3] GU n. L 55 dell'1. 3. 1988, pag. 31.
[4] GU n. L 78 del 28. 3. 1996, pag. 13.

ALLEGATO

DETERMINAZIONE PER SPETTROMETRIA DELL'ESTERE ETILICO DELL'ACIDO BETA-APO-8'-CAROTENICO NEL BURRO E NEL BURRO CONCENTRATO

1. **Finalità e campo d'applicazione**

Il metodo descrive un procedimento per la determinazione quantitativa dell'estere etilico dell'acido beta-apo-8'-carotenico (estere apocartenico) nel burro e nel burro concentrato. L'estere apocarotenico è la somma di tutte le sostanze presenti in un estratto di campioni ottenuto nelle condizioni descritte nel metodo e che assorbe luce di lunghezza d'onda 440 nm. Il metodo si applica ai campioni ricevuti ai sensi del regolamento (CEE) n. 570/88.

2. **Principio**

Il grasso di burro viene sciolto in etere di petrolio e il tenore di estere apocartenico, all'assorbanza misurata a 440 nm, viene determinato per riferimento ad uno standard esterno.

3. **Apparecchiatura**

3.1. Pipette graduate da 0,25, 0,50, 0,75 e 1,0 ml.

3.2. Spettrofotometro utilizzabile a 440 nm (e da 447 a 449 nm) e munito di celle con cammino ottico di 1 cm.

3.3. Palloni volumetrici, ad esempio da 20 ml e da 100 ml.

4. **Reagenti**

Tutti i reagenti devono essere di purezza analitica riconosciuta.

4.1. Sospensione di estere apocarotenico (circa 20 %).

4.1.1. Determinare il tenore della sospensione come segue.

Pesare accuratamente circa 400 mg in un pallone volumetrico da 100 ml e disciogliere in essenza di petrolio (4.2); portare a volume con essenza di petrolio. Diluire 5,0 ml di questa soluzione portandola a 100 ml con essenza di petrolio (soluzione A). Diluire 5,0 ml della soluzione A portandola a 100 ml con essenza di petrolio. Misurare l'assorbanza a 447-449 nm (misurare il massimo in rapporto all'essenza di petrolio come bianco, utilizzando celle da un 1 cm).

$$\text{Tenore di estere apocarotenico (\%)} = \frac{A_{max} \cdot 40\,000}{A \cdot 2\,550}$$

A_{max} = assorbanza della soluzione in esame al massimo

A = peso del campione (g)

2 550 = valore di riferimento A (1 %, 1 cm)

La purezza della sospensione è P (%).

Nota: La sospensione di estere apocarotenico è sensibile all'aria, al calore e alla luce; può essere conservata per circa 12 mesi nel suo contenitore originale chiuso (sigillato sotto azoto), in luogo fresco; dopo l'apertura, la sospensione deve essere utilizzata entro breve tempo.

4.1.2. Soluzione standard di estere apocarotenico, circa 0,2 mg/ml.

Pesare, a meno di 0,1 mg, circa 0,100 g di sospensione di estere apocarotenico (4.1.1) (Wg), disciogliere in essenza di petrolio (4.2), trasferire quantitativamente in un pallome volumetrico della capacità di 100 ml e portare alla tacca con essenza di petrolio.

Questa soluzione contiene (W.P.)/100 mg/ml di estere apocarotenico.

Nota: La soluzione deve essere conservata in luogo fresco e al buio; la soluzione non utilizzata deve essere scartata dopo un mese.

4.2. Essenza di petrolio (40-60 °C).

4.3. Solfato di sodio anidro, granulare e preventivamente essiccato a 102 °C per due ore.

5. Procedimento

5.1. Preparazione del campione di prova

5.1.1. Burro concentrato

Fondere il campione in un forno a circa 45 °C.

5.1.2. Burro

Fondere il campione in un forno a circa 45 °C e filtrarne una parte rappresentativa attraverso un filtro contenente circa 10 g di solfato di sodio anidro (4.3) in ambiente protetto da luce naturale e artificiale forte, alla temperatura di 45 °C. Raccogliere una quantità opportuna di grasso di latte.

5.2. Determinazione

Pesare, a meno di 1 mg, circa 1 g di burro concentrato [o di grasso di latte estratto (5.1.2)]. Trasferire quantitativamente in un pallone volumetrico da 20 ml (Vml) usando essenza di petrolio (4.2); portare alla tacca e miscelare accuratamente.

Trasferirne una parte in una cella da 1 cm e misurare l'assorbanza a 440 nm, in rapporto ad un bianco di essenza di petrolio. Ottenere la concentrazione di estere apocarotenico nella soluzione, per riferimento alla curva di taratura (C µg/ml).

5.3. Curva di taratura

Pipettare 0, 0,25, 0,5, 0,75 e 1,0 ml di soluzione standard di estere apocarotenico (4.1.2) in cinque palloni volumetrici da 100 ml. Diluire a volume con essenza di petrolio (4.2) ed agitare.

Le concentrazioni approssimative delle soluzioni vanno da 0 a 2 µg/ml e sono calcolate accuratamente per riferimento alla concentrazione della soluzione standard (4.1.2) (W.P)/100 mg/ml. Misurare le assorbanze a 440 nm in rapporto ad un bianco di essenza di petrolio (4.2).

Riportare su un diagramma i valori dell'assorbanza (asse delle y) in funzione della concentrazione di estere apocarotenico (asse delle x).

6. Calcolo dei risultati

6.1. Il tenore di estere apocarotenico, espresso in ml/kg di prodotto, è dato da

Burro concentrato: (C.V.)/m

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

dove C = tenore di estere apocarotenico (µg/ml) letto sulla curva di taratura (5.3).

m = massa (g) della porzione di prova (5.2).

0,82 = fattore di correzione per il tenore di grasso di latte del burro.

7. Precisione del metodo

7.1. Ripetibilità

7.1.1. Analisi del burro

La differenza tra i risultati di due determinazioni effettuate nell'intervallo di tempo minimo possibile dallo stesso operatore con la stessa apparecchiatura su un identico materiale di prova non deve superare 1,4 mg/kg.

7.1.2. Analisi del burro concentrato

La differenza tra i risultati di due determinazioni effettuate nell'intervallo di tempo minimo possibile dallo stesso operatore con la stessa apparecchiatura su un materiale di prova identico non deve superare 1,6 mg/kg.

7.2. Riproducibilità

7.2.1. Analisi del burro

La differenza tra i risultati di due determinazioni effettuate da operatori in laboratori differenti con apparecchiature differenti su un identico materiale di prova non deve superare 4,7 mg/kg.

7.2.2. Analisi del burro concentrato

La differenza tra i risultati di due determinazioni effettuate da operatori in laboratori differenti con apparecchiature differenti su un identico materiale di prova non deve superare 5,3 mg/kg.

7.3. Fonte dei dati di precisione

I dati di precisione sono stati determinati mediante un esperimento eseguito nel 1995, cui hanno partecipato 11 laboratori, su 12 campioni marcati (6 prove in doppio cieco) per il burro e altrettanti 12 campioni marcati (6 prove in doppio cieco) per il burro concentrato.

8. **Limiti di tolleranza**

8.1. Dal prodotto marcato devono essere prelevati tre campioni per controllarne l'omogeneità.

Il metodo analitico descritto rivela tutte le sostanze che assorbono alla lunghezza d'onda di 440 nm. Il livello apparente dell'estere apocarotenico misurato risulterà quindi più elevato di quello reale a causa di queste sostanze. Il gruppo di esperti chimici del comitato di gestione per il latte della Commissione europea ha fissato, per tener conto del contributo dell'assorbimento di fondo, come valore limite quantitativo 22 mg/kg per il burro e 24 mg/kg per il burro concentrato.

8.2. Burro

8.2.1. Il tasso di incorporazione per il burro, tenendo conto dell'assorbanza di fondo, è 22 mg/kg.

8.2.2. Se si prende in considerazione la differenza critica per una probabilità del 95 % (CrD_{95}), il valore medio delle singole analisi effettuate su ciascuno dei tre campioni prelevati per verificare l'omogeneità non deve essere inferiore a 19,3 mg/kg.

8.2.3. Oltre al criterio di cui al punto 8.2.2, il risultato più basso ottenuto dall'analisi del prodotto viene utilizzato per controllare l'omogeneità della distribuzione del tracciante. Ciò viene effettuato per confronto con i seguenti valori limite:

— 18,1 mg/kg (il 95 % del tasso minimo di incorporazione, prendendo in considerazione un singolo campione a (CrD_{95});

— 14,8 mg/kg (l'80 % del tasso minimo di incorporazione, prendendo in considerazione un singolo campione a (CrD_{95}).

La concentrazione di tracciante nel campione che dà il risultato più basso viene utilizzata per interpolazione tra 18,1 mg/kg e 14,8 mg/kg.

8.3. Burro concentrato

8.3.1. Il tasso di incorporazione per il burro concentrato, tenendo conto dell'assorbanza di fondo, è 24 mg/kg.

8.3.2. Se si prende in considerazione la differenza critica per una probabilità del 95 % (CrD_{95}), il valore medio delle singole analisi effettuate su ciascuno dei tre campioni prelevati per controllare l'omogeneità non deve essere inferiore a 20,9 mg/kg.

8.3.3. Oltre al criterio di cui al punto 8.3.2, il risultato più basso ottenuto dall'analisi del prodotto viene utilizzato per controllare l'omogeneità della distribuzione del tracciante. Ciò viene effettuato per confronto con i seguenti valori limite:

— 19,6 mg/kg (il 95 % del tasso minimo di incorporazione, prendendo in considerazione un singolo campione a (CrD_{95});

— 16,1 mg/kg (l'80 % del tasso minimo di incorporazione, prendendo in considerazione un singolo campione a (CrD_{95}).

La concentrazione di tracciante nel campione che dà il risultato più basso viene utilizzata per interpolazione tra 19,6 mg/kg e 16,1 mg/kg.