REGLAMENTO (CE) Nº 1082/96 DE LA COMISIÓN

de 14 de junio de 1996

por el que se establece un método de referencia para la determinación del éster etílico del ácido β-apo-8'-caroténico en la mantequilla y la mantequilla concentrada

LA COMISIÓN DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS,

Visto el Tratado constitutivo de la Comunidad Europea,

Visto el Reglamento (CEE) nº 804/68 del Consejo, de 27 de junio de 1968, por el que se establece la organización común de mercados en el sector de la leche y de los productos lácteos [1], cuya última modificación la constituye el Reglamento (CE) nº 2931/95 de la Comisión [2], y, en particular, el apartado 7 de su artículo 6 y el apartado 3 de su artículo 12,

Considerando que el Reglamento (CEE) nº 570/88 de la Comisión, de 16 de febrero de 1988, relativo a la venta a precio reducido de mantequilla y a la concesión de una ayuda para la mantequilla y la mantequilla concentrada destinadas a la fabricación de productos de pastelería, de helados y otros productos alimenticios [3], cuya última modificación la constituye el Reglamento (CE) nº 531/96 [4], establece, en determinadas circunstancias, la adición de marcadores a la mantequilla y la mantequilla concentrada subvencionadas para garantizar la debida utilización final de estos productos;

Considerando que, en vista de la importancia que reviste la adición de marcadores para asegurar el correcto funcionamiento del régimen y con el fin de garantizar un trato equitativo a los agentes económicos que participen en él, es apropiado establecer métodos comunes de determinación de los marcadores mencionados en el Reglamento (CEE) nº 570/88;

Considerando que es difícil establecer simultáneamente tales métodos de referencia para todos los marcadores; que el establecimiento de un método de referencia para la determinación del éster etílico del ácido β-apo-8'-caroténico en la mantequilla y la mantequilla concentrada constituye un paso adelante en esa dirección;

Considerando que las medidas previstas en el presente Reglamento se ajustan al dictamen del Comité de gestión de la leche y los productos lácteos,

HA ADOPTADO EL PRESENTE REGLAMENTO:

Artículo 1

El método de análisis de referencia que figura en el Anexo se aplicará para la determinación del éster etílico del ácido β-apo-8'-caroténico en la mantequilla y la mantequilla concentrada de conformidad con el Reglamento (CEE) nº 570/88.

Los marcadores se habrán añadido a la mantequilla o la mantequilla concentrada con arreglo al artículo 6 del Reglamento (CEE) nº 570/88, si los resultados obtenidos se ajustan a las especificaciones del apartado 8 del Anexo.

Artículo 2

El presente Reglamento entrará en vigor el tercer día siguiente al de su publicación en el *Diario Oficial de las Comunidades Europeas.*

Será aplicable a partir del 1 de octubre de 1996.

El presente Reglamento será obligatorio en todos sus elementos y directamente aplicable en cada Estado miembro.

Hecho en Bruselas, el 14 de junio de 1996.

Por la Comisión

Franz FISCHLER

Miembro de la Comisión

---

[1] DO nº L 148 de 28. 6. 1968, p. 13.
[2] DO nº L 307 de 20. 12. 1995, p. 10.
[3] DO nº L 55 de 1. 3. 1988, p. 31.
[4] DO nº L 78 de 28. 3. 1996, p. 13.

ANEXO

DETERMINACIÓN DEL ÉSTER ETÍLICO DEL ÁCIDO BETA-APO-8'-CAROTÉNICO EN LA MANTEQUILLA Y LA MANTEQUILLA CONCENTRADA MEDIANTE ESPECTROMETRÍA

1. **Objetivos y ámbito de aplicación**

El método describe un procedimiento de determinación cuantitativa del éster etílico del ácido beta-apo-8'-caroténico (éster apocaroténico) en la mantequilla y la mantequilla concentrada. El éster apocaroténico es la suma de todas las sustancias presentes en un extracto de muestras obtenidas en las condiciones descritas en el método, que absorben luz a 440 nm. Este método es aplicable a las muestras recibidas en virtud del Reglamento (CEE) nº 570/88.

2. **Principio**

La grasa láctea se disuelve en éter de petróleo y se mide la absorbancia a 440 nm. El contenido de éster apocaroténico se determina en relación con un patrón externo.

3. **Equipo**

3.1. Pipetas graduadas de 0,25, 0,50, 0,75 y 1,0 ml de capacidad.

3.2. Espectrofotómetro apto para utilizarlo a 440 nm (y 447-449 nm) y equipado con cubetas de 1 cm de espesor óptico.

3.3. Matraces aforados de 20 ml y 100 ml.

4. **Reactivos**

Todos los reactivos deberán ser de grado analítico reconocido.

4.1. Suspensión de éster apocaroténico (aproximadamente 20 %)

4.1.1. *Establecer el contenido de la suspensión como sigue:*

Pesar con precisión unos 400 mg en un matraz aforado de 100 ml, disolver en éter de petróleo (4.2) y enrasar con este mismo producto. Diluir 5,0 ml de esta solución hasta 100 ml con éter de petróleo (solución A). Diluir 5,0 ml de la solución A hasta 100 ml con éter de petróleo. Medir la absorbancia a 447-449 nm (medir el máximo frente al éter de petróleo como blanco utilizando cubetas de 1 cm).

$$\text{Contenido de éster apocaroténico (\%)} = \frac{A_{máx} \cdot 40\,000}{A \cdot 2\,550}$$

$A_{máx}$ = absorbancia de la solución que se mide en el máximo

A = peso de la muestra (g)

2 550 = Valor de referencia A (1 %, 1 cm)

La pureza de la suspensión es P (%).

Nota: La suspensión de éster apocaroténico es sensible al aire, al calor y a la luz. Puede conservarse durante unos 12 meses en su envase original (sellado con nitrógeno) sin abrir, en un lugar fresco. Una vez abierto el envase, es conveniente utilizar el contenido dentro de un breve período.

4.1.2. Solución patrón de éster apocaroténico, aproximadamente 0,2 mg/ml

Pesar con aproximación de 0,1 mg unos 0,100 g de suspensión de éster apocaroténico (4.1.1) (Wg), disolver en éter de petróleo (4.2), trasladar cuantitativamente a un matraz aforado de 100 ml de capacidad y enrasar con éter de petróleo.

Esta solución contiene (W.P)/100 mg/ml de éster apocaroténico.

Nota: Esta solución debe conservarse en un lugar fresco y a oscuras. La solución que no se haya utilizado al cabo de un mes debe eliminarse.

4.2. Éter de petróleo (40-60 °C).

4.3. Sulfato sódico anhidro granular, desecado previamente a 102 °C durante dos horas.

5. **Procedimiento**

5.1. Preparación de la muestra.

5.1.1. Mantequilla concentrada.

Fundir la muestra en un horno a unos 45 °C.

5.1.2. Mantequilla.

Fundir la muestra en un horno a unos 45 °C y filtrar una parte representativa mediante un filtro que contenga unos 10 g de sulfato sódico anhidro (4.3) en un medio que se halle al abrigo de la luz natural y artificial fuerte y que se mantenga a 45 °C. Recoger una cantidad adecuada de grasa láctea.

5.2. Determinación.

Pesar con una aproximación de 1 mg alrededor de 1 g de mantequilla concentrada [o extracto de grasa láctea (5.1.2)]. Trasladar cuantitativamente a un matraz aforado de 20 ml (V ml) utilizando éter de petróleo (4.2), enrasar y mezclar a fondo.

Trasladar una parte alícuota a una cubeta de 1 cm y medir la absorbancia a 440 nm, frente a un blanco de éter de petróleo. Obtener la concentración de éster apocaroténico en la solución en relación con el gráfico de calibración (C µg/ml).

5.3. Gráfico de calibración.

Llevar con una pipeta 0, 0,25, 0,5, 0,75 y 1,0 ml de solución patrón de éster apocaroténico (4.1.2) a cinco matraces aforados de 100 ml. Enrasar con éter de petróleo (4.2) y mezclar.

Las concentraciones aproximadas de las soluciones oscilan entre 0 y 2 µg/ml y se calculan de manera precisa con relación a la concentración de la solución patrón (4.1.2) (W.P)/100 mg/ml. Medir las absorbancias a 440 nm frente a un blanco de éter de petróleo (4.2).

Colocar los valores de la absorbancia en el eje de ordenadas y la concentración del éster apocaroténico en el de abscisas.

6. **Cálculo de los resultados**

6.1. El contenido de éster apocaroténico, expresado en mg/kg de producto, se indica del modo siguiente:

Mantequilla concentrada: (C.V)/m

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

donde

C = contenido de éster apocaroténico, en µg/ml, indicado en el gráfico de calibración (5.3)

m = masa (g) de la porción de prueba (5.2)

0,82 = factor de corrección del contenido de grasa láctea de la mantequilla.

7. **Precisión del método**

7.1. Repetibilidad.

7.1.1. Análisis de la mantequilla.

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones realizadas en el intervalo de tiempo más breve posible por un mismo operador que utilice el mismo equipo con idéntico material de prueba no deberá exceder de 1,4 mg/kg.

7.1.2. Análisis de la mantequilla concentrada.

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones realizadas en el intervalo de tiempo más breve posible por un mismo operador que utilice el mismo equipo con idéntico material de prueba no deberá exceder de 1,6 mg/kg.

7.2. Reproducibilidad.

7.2.1. Análisis de la mantequilla.

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones realizadas por operadores de diferentes laboratorios que utilicen distinto equipo con idéntico material de prueba no deberá exceder de 4,7 mg/kg.

7.2.2. Análisis de la mantequilla concentrada.

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones realizadas por operadores de diferentes laboratorios que utilicen distinto equipo con idéntico material de prueba no deberá exceder de 5,3 mg/kg.

7.3. Fuente de los datos de precisión.

Los datos de precisión se obtuvieron en un experimento realizado en 1995 en el que participaron 11 laboratorios y en el que se utilizaron 12 muestras marcadas (seis duplicados a ciegas) en el caso de la mantequilla y otras tantas (seis duplicados a ciegas) en el de la mantequilla concentrada.

8. **Límites de tolerancia**

8.1. Deben tomarse tres muestras del producto marcado para comprobar la homogeneidad.

El procedimiento descrito permite detectar todas las sustancias que absorban a una longitud de onda de 440 nm. Estas substancias harán que aumente el nivel aparente de éster apocaroténico medido. El grupo de expertos químicos del Comité de gestión de leche de la CE fija en 22 mg/kg, en el caso de la mantequilla, y en 24 mg/kg, en el de la mantequilla concentrada, el límite de especificación para tener en cuenta la contribución de la absorción de fondo.

8.2. Mantequilla.

8.2.1. Teniendo en cuenta la absorción de fondo, la tasa de incorporación de la mantequilla es de 22 mg/kg.

8.2.2. Teniendo en cuenta la diferencia crítica de un nivel de probabilidad del 95 % (DCr_{95}), el promedio de los distintos análisis realizados con cada una de las tres muestras para comprobar la homogeneidad no deberá ser inferior a 19,3 mg/kg.

8.2.3. Además del criterio que se da en el punto 8.2.2, el resultado más bajo del análisis del producto se utiliza para comprobar la homogeneidad de la distribución del marcador; para ello se efectúa una comparación con los límites siguientes:

— 18,1 mg/kg [el 95 % de la tasa mínima de incorporación, teniendo en cuenta la diferencia crítica (DCr_{95}) de la muestra simple].

— 14,8 mg/kg [el 80 % de la tasa mínima de incorporación, teniendo en cuenta la diferencia crítica (DCr_{95}) de la muestra simple].

La concentración del marcador en la muestra que arroje el resultado más bajo se utiliza en conjunción con la interpolación entre 18,1 mg/kg y 14,8 mg/kg.

8.3. Mantequilla concentrada.

8.3.1. Teniendo en cuenta la absorción de fondo, la tasa de incorporación de la mantequilla concentrada es de 24 mg/kg.

8.3.2. Teniendo en cuenta la diferencia crítica de un nivel de probabilidad del 95 % (DCr_{95}), el promedio de los distintos análisis realizados con cada una de las tres muestras para comprobar la homogeneidad no deberá ser inferior a 20,9 mg/kg.

8.3.3. Además del criterio que se da en el punto 8.3.2, el resultado más bajo del análisis del producto se utiliza para comprobar la homogeneidad de la distribución del marcador; para ello se efectúa una comparación con los límites siguientes:

— 19,6 mg/kg [el 95 % de la tasa mínima de incorporación, teniendo en cuenta la diferencia crítica (DCr_{95}) de la muestra simple].

— 16,1 mg/kg [el 80 % de la tasa mínima de incorporación, teniendo en cuenta la diferencia crítica (DCr_{95}) de la muestra simple].

La concentración del marcador en la muestra que arroje el resultado más bajo se utiliza en conjunción con la interpolación entre 19,6 mg/kg y 16,1 mg/kg.