REGULAMENTO (CE) Nº 1082/96 DA COMISSÃO

de 14 de Junho de 1996

que estabelece um método de referência para a determinação do éster etílico do ácido beta-apo-8'-caroténico na manteiga e na manteiga concentrada

A COMISSÃO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS,

Tendo em conta o Tratado que institui a Comunidade Europeia,

Tendo em conta o Regulamento (CEE) nº 804/68 do Conselho, de 27 de Junho de 1968, que estabelece a organização comum de mercado no sector do leite e dos produtos lácteos [1], com a última redacção que lhe foi dada pelo Regulamento (CE) nº 2931/95 da Comissão [2], e, nomeadamente, o nº 7 do seu artigo 6º e o nº 3 do seu artigo 12º,

Considerando que o Regulamento (CEE) nº 570/88 da Comissão, de 16 de Fevereiro de 1988, relativo à venda a preço reduzido de manteiga e à concessão de uma ajuda para a manteiga e a manteiga concentrada destinadas ao fabrico de produtos de pastelaria, de gelados alimentares e outros produtos alimentares [3], com a última redacção que lhe foi dada pelo Regulamento (CE) nº 531/96 [4], prevê, em certas circunstâncias, a marcação da manteiga e da manteiga concentrada subsidiadas a fim de assegurar a utilização final correcta desses produtos;

Considerando que, dada a importância da marcação para o bom funcionamento do regime e a fim de assegurar o tratamento equitativo dos operadores que nele participam, é adequado estabelecer métodos comuns para a determinação dos marcadores referidos no Regulamento (CEE) nº 570/88;

Considerando que é difícil estabelecer esses métodos de referência simultaneamente para todos os marcadores; que o estabelecimento de um método de referência para a determinação do éster etílico do ácido beta-apo-8'-caroténico na manteiga ou na manteiga concentrada constitui mais um passo nessa direcção;

Considerando que as medidas previstas no presente regulamento estão em conformidade com o parecer do Comité de gestão do leite e dos produtos lácteos,

ADOPTOU O PRESENTE REGULAMENTO:

Artigo 1º

O método de análise de referência especificado no anexo será aplicado para a determinação do teor de éster etílico do ácido beta-8'-caroténico da manteiga ou da manteiga concentrada nos termos do Regulamento (CEE) nº 570/88.

Se os resultados obtidos estiverem em conformidade com as especificações do ponto 8 do anexo, a manteiga ou a manteiga concentrada foi marcada em conformidade com o artigo 6º do Regulamento (CEE) nº 570/88.

Artigo 2º

O presente regulamento entra em vigor no terceiro dia seguinte ao da sua publicação no *Jornal Oficial das Comunidades Europeias.*

O presente regulamento é aplicável a partir de 1 de Outubro de 1996.

O presente regulamento é obrigatório em todos os seus elementos e directamente aplicável em todos os Estados-membros.

Feito em Bruxelas, em 14 de Junho de 1996.

Pela Comissão

Franz FISCHLER

Membro da Comissão

---

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

ANEXO

DETERMINAÇÃO DO ÉSTER ETÍLICO DO ÁCIDO BETA-APO-8'-CAROTÉNICO NA MANTEIGA E NA MANTEIGA CONCENTRADA POR ESPECTROMETRIA

1. **Objectivo e campo de aplicação**

O método descreve um processo para a determinação quantitativa do éster etílico do ácido beta-apo-8'-caroténico (éster apocaroténico) na manteiga e na manteiga concentrada. O éster apocaroténico é a soma de todas as substâncias que absorvem a luz a 440 nm presentes num extracto de amostras obtidas nas condições descritas no método. É aplicável a amostras recebidas nos termos do Regulamento (CEE) nº 570/88.

2. **Princípio**

A matéria gorda da manteiga é dissolvida em éter de petróleo e a absorvância medida a 440 nm. O teor de éster apocaroténico é determinado por referência a um padrão externo.

3. **Aparelhos e utensílios**

3.1. Pipetas graduadas, com capacidades de 0,25, 0,50, 0,75 e 1,0 ml.

3.2. Espectrofotómetro — adequado para utilização a 440 nm (e 447 — 449 nm) e equipado com células de 1 cm de percurso óptico.

3.3. Balões volumétricos, por exemplo de 20 ml e 100 ml.

4. **Reagentes**

Os reagentes devem ser de qualidade analítica reconhecida.

4.1. Suspensão de éster apocaroténico (aproximadamente 20 %).

4.1.1. Determinar o teor da suspensão do seguinte modo:

Pesar rigorosamente cerca de 400 mg num balão volumétrico de 100 ml, dissolver em éter de petróleo (4.2) e diluir até perfazer o volume com éter de petróleo. Diluir 5,0 ml desta solução com éter de petróleo até perfazer 100 ml (solução A). Diluir 5,0 ml de solução A com éter de petróleo até perfazer 100 ml. Medir a absorvância a 447 — 449 nm (medir o máximo relativamente a um branco de éter de petróleo utilizando células de 1 cm):

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

$A_{máx}$ = absorvância máxima da solução medida

A = massa de amostra (g)

2 550 = valor A de referência (1 %, 1 cm)

A pureza da suspensão é P (%).

Nota: A suspensão de éster apocaroténico é sensível ao ar, ao calor e à luz. Pode ser armazenada durante cerca de doze meses num local fresco, no recipiente original fechado (selado em atmosfera de azoto). Após abertura, o conteúdo deve ser utilizado num prazo curto.

4.1.2. Solução-padrão de éster apocaroténico, aproximadamente 0,2 mg/ml.

Pesar com uma aproximação de 0,1 mg cerca de 0,100 g de suspensão de éster apocaroténico (4.1.1) (Wg), dissolver em éter de petróleo (4.2), transferir quantitativamente para um balão volumétrico de 100 ml e completar o volume até à marca com éter de petróleo.

A solução contém (W.P.)/100 mg/ml de éster apocaroténico.

Nota: A solução deve ser armazenada num local fresco, ao abrigo da luz. Eliminar a solução que não tenha sido utilizada no prazo de um mês.

4.2. Éter de petróleo (40 — 60 °C).

4.3. Sulfato de sódio anidro granulado, previamente seco durante duas horas a 102 °C.

5. **Técnica**

5.1. Preparação da amostra

5.1.1. Manteiga concentrada

Derreter a amostra numa estufa a cerca de 45 °C.

5.1.2. Manteiga

Derreter a amostra numa estufa a cerca de 45 °C e filtrar uma quantidade representativa com um filtro que contenha cerca de 10 g de sulfato de sódio anidro (4.3), num meio ao abrigo de luz natural ou artificial forte mantido à temperatura de 45 °C. Recolher uma quantidade adequada de matéria gorda da manteiga.

5.2. Determinação

Pesar com uma aproximação de 1 mg cerca de 1 g de manteiga concentrada [ou de matéria gorda da manteiga extraída (5.1.2)]. Transferir quantitativamente para um balão volumétrico de 20 ml (Vml) utilizando éter de petróleo (4.2), completar até à marca e misturar cuidadosamente.

Transferir uma alíquota para uma célula de 1 cm e medir a absorvância a 440 nm, relativamente a um branco de éter de petróleo. Obter a concentração de éster apocaroténico na solução a partir do gráfico de calibração (C µg/ml).

5.3. Gráfico de calibração

Pipetar 0, 0,25, 0,5, 0,75 e 1,0 ml de solução-padrão de éster apocaroténico (4.1.2) para cinco balões volumétricos de 100 ml. Diluir com éter de petróleo (4.2) até perfazer o volume e misturar.

As concentrações aproximadas das soluções variam de 0 a 2 µg/ml e são calculadas rigorosamente a partir da concentração da solução-padrão (4.1.2) (W.P)/100 mg/ml. Medir as absorvâncias a 440 nm relativamente a um branco de éter de petróleo (4.2).

Traçar um gráfico com os valores da absorvância no eixo dos *y* e as concentrações do éster apocaroténico no eixo dos *x*.

6. **Cálculo dos resultados**

6.1. O teor de éster apocaroténico, expresso em mg/kg de produto, é dado por:

Manteiga concentrada: (C · V)/m

Manteiga: 0,82 (C · V)/m

em que:

C = teor de éster apocaroténico, µg/ml, obtido a partir do gráfico de calibração (5.3),

m = massa (g) da toma de ensaio (5.2),

0,82 = factor de correcção, devido ao teor de matéria gorda da manteiga.

7. **Precisão do método**

7.1. Repetibilidade

7.1.1. Análise de manteiga

A diferença entre os resultados de duas determinações efectuadas imediatamente uma após outra pelo mesmo operador, utilizando o mesmo equipamento e uma amostra idêntica, não deve exceder 1,4 mg/kg.

7.1.2. Análise de manteiga concentrada

A diferença entre os resultados de duas determinações efectuadas imediatamente uma após outra pelo mesmo operador, utilizando o mesmo equipamento e uma amostra idêntica, não deve exceder 1,6 mg/kg.

7.2. Reprodutibilidade

7.2.1. Análise de manteiga

A diferença entre os resultados de duas determinações efectuadas por operadores diferentes em laboratórios diferentes, com equipamento diferente e uma amostra idêntica, não deve exceder 4,7 mg/kg.

7.2.2. Análise de manteiga concentrada

A diferença entre os resultados de duas determinações efectuadas por operadores diferentes em laboratórios diferentes, com equipamento diferente e uma amostra idêntica, não deve exceder 5,3 mg/kg.

7.3. Origem dos dados relativos à precisão

Os dados relativos à precisão foram determinados com base num teste efectuado em 1995, que envolveu onze laboratórios, doze amostras marcadas para a manteiga (seis duplicados em teste cego) e doze amostras marcadas para a manteiga concentrada (seis duplicados em teste cego).

8. **Limites de tolerância**

8.1. Devem ser colhidas três amostras do produto marcado para verificar a homogeneidade

A técnica de análise descrita detecta todas as substâncias que absorvem no comprimento de onda de 440 nm. O teor aparente de éster apocaroténico medido será aumentado por essas substâncias. Para ter em conta a contribuição da absorção de fundo, o grupo de peritos químicos do Comité de gestão do leite e dos produtos lácteos estabeleceu o limite de especificação em 22 mg/kg para a manteiga e 24 mg/kg para a manteiga concentrada.

8.2. Manteiga

8.2.1. A taxa de incorporação para a manteiga, tendo em conta a absorvância de fundo, é de 22 mg/kg.

8.2.2. Tendo em consideração a diferença crítica para um grau de probabilidade de 95 % (DCr_{95}), a média das análises simples efectuadas a cada uma das três amostras colhidas para verificar a homogeneidade não deve ser inferior a 19,3 mg/kg.

8.2.3. Para além do critério indicado no ponto 8.2.2, o resultado mais baixo obtido na análise do produto é utilizado para verificar a homogeneidade da distribuição do marcador. A verificação é efectuada por comparação com os seguintes limites:

— 18,1 mg/kg (95 % da taxa de incorporação mínima, tendo em consideração a DCr_{95} para uma única amostra),

— 14,8 mg/kg (80 % da taxa de incorporação mínima, tendo em consideração a DCr_{95} para uma única amostra).

A concentração do marcador na amostra com o resultado mais baixo é utilizada em conjunto com uma interpolação entre 18,1 mg/kg e 14,8 mg/kg.

8.3. Manteiga concentrada

8.3.1. A taxa de incorporação para a manteiga concentrada, tendo em conta a absorvância de fundo, é de 24 mg/kg.

8.3.2. Tendo em consideração a diferença crítica para um grau de probabilidade de 95 % DCr_{95}, a média das análises simples efectuadas a cada uma das três amostras colhidas para verificar a homogeneidade não deve ser inferior a 20,9 mg/kg.

8.3.3. Para lém do critério indicado no ponto 8.3.2, o resultado mais baixo obtido na análise do produto é utilizado para verificar a homogeneidade da distribuição do marcador. A verificação é efectuada por comparação com os seguintes limites:

— 19,6 mg/kg (95 % da taxa de incorporação mínima, tendo em consideração a DCr_{95} para uma única amostra).

— 16,1 mg/kg (80 % da taxa de incorporação mínima, tendo em consideração a DCr_{95} para uma única amostra).

A concentração do marcador na amostra com o resultado mais baixo é utilizada em conjunção com uma interpolação entre 19,6 mg/kg e 16,1 mg/kg.