KOMISIJAS REGULA (ES) Nr. 118/2010

(2010. gada 9. februāris),

ar kuru groza Komisijas Regulu (EK) Nr. 900/2008, ar ko nosaka analīzes metodes un citus tehniskus noteikumus, kuri jāievēro, piemērojot importa režīmu dažām lauksaimniecības produktu pārstrādē iegūtām precēm

EIROPAS KOMISIJA,

ņemot vērā Līgumu par Eiropas Savienības darbību,

ņemot vērā Padomes 1987. gada 23. jūlija Regulu (EEK) Nr. 2658/87 par tarifu un statistikas nomenklatūru un par kopējo muitas tarifu [1] un jo īpaši tās 9. pantu,

tā kā:

(1) Komisijas Regulā (EK) Nr. 900/2008 [2] noteiktas formulas, procedūras un metodes, kas jāizmanto cietes/glikozes sastāva noteikšanai, lai piemērotu II un III pielikumu Komisijas 1996. gada 25. jūlija Regulai (EK) Nr.1460/96, kas nosaka sīkāk izstrādātus noteikumus atvieglota tirdzniecības režīma īstenošanai, ko piemēro dažām precēm, kuras iegūst lauksaimniecības produktu pārstrādē, kā paredzēts Padomes Regulas (EK) 3448/93 [3] 7. pantā.

(2) Ekspertu grupa izskatīja Regulu (EK) Nr. 900/2008, lai novērtētu, vai minētajā regulā ņemta vērā tajā noteikto metožu zinātniskā un tehnoloģiskā attīstība. Šajā pārbaudē veiktie pētījumi un testi liecina, ka cietes/glikozes satura noteikšana, hidrolizējot ar nātrija hidroksīdu (pirms fermentatīvas noārdīšanas reakcijas, lai iegūtu glikozi), un kopējā glikozes satura noteikšana, izmantojot fermentatīvo metodi ar spektrofometriju, kā pašreiz noteikts lielākajai daļai preču, vairs neatbilst pašreizējām tehnikas prasībām un tādēļ ir jāatjaunina.

(3) Tādēļ ir lietderīgi paredzēt, ka cietes/glikozes noārdīšana ir jāveic fermentatīvi ar amilāzi un amiloglikozidāzi, un kopējais glikozes daudzums ir jānosaka, izmantojot augstas izšķirtspējas šķidruma hromatogrāfiju (*HPLC*), kā arī precizēt, kādā veidā fermentatīvā metode ir jāveic.

(4) Tāpēc Regula (EK) Nr. 900/2008 ir attiecīgi jāgroza.

(5) Šajā regulā paredzētie pasākumi ir saskaņā ar Muitas kodeksa komitejas atzinumu,

IR PIEŅĒMUSI ŠO REGULU.

1. pants

Regulas (EK) Nr. 900/2008 I pielikumu aizstāj ar šīs regulas pielikumu.

2. pants

Šī regula stājas spēkā divdesmitajā dienā pēc tās publicēšanas *Eiropas Savienības Oficiālajā Vēstnesī*.

Šī regula uzliek saistības kopumā un ir tieši piemērojama visās dalībvalstīs.

Briselē, 2010. gada 9. februārī

Komisijas vārdā –
priekšsēdētājs
José Manuel BARROSO

---

[1] OV L 256, 7.9.1987., 1. lpp.
[2] OV L 248, 17.9.2008., 8. lpp.
[3] OV L 187, 26.7.1996., 18. lpp.

PIELIKUMS

"I PIELIKUMS

Cietes satura un tās šķelšanās produktu, ieskaitot glikozi, fermentatīva noteikšana pārtikas produktos, izmantojot augstas izšķirtspējas šķidruma hromatogrāfiju (*HPLC*)

1. **Darbības joma**

Ar šo metodi nosaka cietes saturu un tās šķelšanās produktus, ieskaitot glikozi, cilvēka uzturā paredzētos pārtikas produktos, kas šeit turpmāk saukta "ciete". Cietes saturu nosaka, veicot glikozes kvantitatīvo analīzi ar augstas izšķirtspējas šķidruma hromatogrāfiju (*HPLC*) pēc cietes un tās šķelšanās produktu fermentatīvas pārveidošanās glikozē.

2. **Kopējā glikozes satura un kopējā glikozes satura, kas izteikts kā "ciete", definīcija**

Kopējais glikozes saturs ir vērtība "Z", ko aprēķina, kā noteikts šā pielikuma 7.2.1. punktā. Tā apzīmē cietes un visu tās šķelšanās produktu saturu, ieskaitot glikozi.

Regulas (EK) Nr. 1460/96 III pielikumā definēto cietes/glikozes saturu aprēķina, ņemot vērā kopējo glikozes saturu "Z" un saskaņā ar šīs regulas 2. panta 1. punkta noteikumiem.

Komisijas Regulas (EK) Nr. 1043/2005 ([1]) IV pielikuma 3. slejā minēto cietes (vai dekstrīna) saturu aprēķina, ņemot vērā kopējo glikozes saturu "Z" un saskaņā ar Komisijas Regulas (EK) Nr. 904/2008 ([2]) 2. panta 2. punkta 1. apakšpunkta noteikumiem.

Šā pielikuma 1. punktā minētais cietes saturs ir vērtība "E", ko aprēķina, kā noteikts šā pielikuma 7.2.2. punktā. To izsaka % (m/m). Tas ir vienāds ar kopējo glikozes saturu "Z", kas izteikts kā "ciete". Minētā vērtība "E" neskar iepriekšminētos aprēķinus.

3. **Princips**

Paraugus homogenizē un suspendē ūdenī. Paraugos esošo cieti un tās šķelšanās produktus fermentatīvi pārveido glikozē divos posmos:

1) cieti un tās šķelšanās produktus daļēji pārveido šķīstošos glikozes ķēdes fragmentos, izmantojot termostabilo alfa-amilāzi 90 °C temperatūrā. Lai efektīvi pārveidotu, nepieciešams, lai paraugi būtu pilnīgi izšķīdināti vai arī suspensijā, kas satur ļoti mazas cietās daļiņas;

2) šķīstošos glikozes ķēdes fragmentus pārveido glikozē, izmantojot amilglikozidāzi 60 °C temperatūrā.

Produkti, kas satur lielu daudzumu proteīnu vai tauku, tiek dzidrināti un filtrēti.

Cukurus nosaka ar *HPLC* analīzi.

Tā kā fermentatīvās apstrādes laikā var notikt daļēja saharozes inversija, tiek veikta brīvo cukuru noteikšana ar *HPLC* analīzi, lai aprēķinātu koriģēto glikozes saturu.

4. **Reaģenti un citi materiāli**

Izmanto atzītas analītiskas kvalitātes reaģentus un demineralizētu ūdeni.

4.1. Glikoze, vismaz 99 %.

4.2. Fruktoze, vismaz 99 %.

4.3. Saharoze, vismaz 99 %.

4.4. Maltozes monohidrāts, vismaz 99 %.

4.5. Laktozes monohidrāts, vismaz 99 %.

4.6. Termostabilās alfa-amilāzes šķīdums (1,4-alfa-D-glikān-glikānhidrolāze) ar aktivitāti aptuveni 31 000 U/ml (1 U 3 minūtēs no cietes atbrīvo 1,0 mg maltozes pie pH 6,9 20 °C temperatūrā). Šis ferments var saturēt nelielus piemaisījumu daudzumus (piemēram, glikozi vai saharozi) un citus traucējošus fermentus. Uzglabā aptuveni 4 °C temperatūrā. Kā alternatīvu risinājumu, lai pagatavotu gala šķīdumu ar līdzīgu fermentu aktivitāti, var izmantot citus alfa-amilāzes avotus.

([1]) OV L 172, 5.7.2005., 24. lpp.
([2]) OV L 249, 18.9.2008., 9. lpp.

4.7. Amiloglikozidāze (1,4-alfa-D-glikān-glikohidrolāze) no *Aspergillus niger*, pulveris ar aktivitāti aptuveni 120 U/mg vai aptuveni 70 U/mg (1 U 1 minūtē no cietes atbrīvo 1 mikromolu glikozes pie pH 4,8 un 60 °C temperatūrā). Šis ferments var saturēt nelielus piemaisījumu daudzumus (piemēram, glikozi vai saharozi) un citus traucējošus fermentus (piemēram, invertāzi). Uzglabā aptuveni 4 °C temperatūrā. Kā alternatīvu risinājumu, lai pagatavotu gala šķīdumu ar līdzīgu fermentu aktivitāti, var izmantot citus amiloglikozidāzes avotus.

4.8. Cinka acetāta dihidrāts, p.a.

4.9. Kālija heksaciānoferrāts (II) ($K_4[Fe(CN)]_6.3H_2O$), īpaši tīrs.

4.10. Bezūdens nātrija acetāts, p.a.

4.11. Ledus etiķskābe, vismaz 96 % (v/v).

4.12. Nātrija acetāta buferšķīdums (0,2 mol/l). Mērglāzē iesver 16,4 g nātrija acetāta (4.10. punkts). Izšķīdina ūdenī un ieskalo 1 000 ml mērkolbā. Atšķaida ar ūdeni līdz zīmei un ar etiķskābi koriģē pH vērtību līdz pH 4,7 (izmantojot pH-metru (5.7. punkts)). Šo šķīdumu var izmantot ne ilgāk kā 6 mēnešus, uzglabājot aptuveni 4 °C temperatūrā.

4.13. Amiloglikozidāzes šķīdums. Sagatavo šķīdumu no amiloglikozidāzes pulvera (4.7. punkts), izmantojot nātrija acetāta buferšķīdumu (4.12. punkts). Fermentu darbībai jābūt pietiekamai un atbilstošai tam cietes saturam, kas ir attiecīgajā parauga daudzumā (piemēram, aptuveni 600 U/ml aktivitāti iegūst, izmantojot 0,5 g amiloglikozidāzes pulvera ar 120 U/mg aktivitāti (4.7. punkts) 100 ml galīgajā tilpumā uz 1 g cietes daudzuma paraugā). Sagatavo tieši pirms lietošanas.

4.14. Standartšķīdumi. Sagatavo glikozes, fruktozes, saharozes, maltozes un laktozes šķīdumus ūdenī tādā veidā, kā parasti izmanto *HPLC* analīzē cukuru noteikšanai.

4.15. Dzidrināšanas reaģents (Kareza I šķīdums). Mērglāzē ūdenī izšķīdina 219,5 gramus cinka acetāta (4.8. punkts). Ieskalo 1 000 ml mērkolbā un pievieno 30 ml etiķskābes (4.11. punkts). Rūpīgi samaisa un uzpilda līdz zīmei ar ūdeni. Šo šķīdumu var izmantot ne ilgāk kā 6 mēnešus, ja to uzglabā istabas temperatūrā. Var izmantot citus dzidrināšanas reaģentus, kas līdzvērtīgi Kareza šķīdumam.

4.16. Dzidrināšanas reaģents (Kareza II šķīdums). Mērglāzē ūdenī izšķīdina 106,0 gramus kālija heksaciānoferrāta (II) (4.9. punkts). Ieskalo 1 000 ml mērkolbā. Rūpīgi samaisa un līdz zīmei uzpilda ar ūdeni. Šo šķīdumu var izmantot ne ilgāk kā 6 mēnešus, ja to uzglabā istabas temperatūrā. Var izmantot citus dzidrināšanas reaģentus, kas līdzvērtīgi Kareza šķīdumam.

4.17. *HPLC* kustīgā fāze. Sagatavo kustīgo fāzi, kādu parasti izmanto HPLC analīzē cukuru noteikšanai. Ja izmanto aminopropilsilikagela kolonnu, parastā kustīgā fāze ir, piemēram, *HPLC* vajadzībām piemērota ūdens un acetonitrila maisījums.

5. **Aprīkojums**

5.1. Laboratorijas standarta stikla trauki.

5.2. Kroku filtri, piem., 185 mm.

5.3. Membrānas filtri, 0,45 μm, piemēroti ūdens šķīdumiem.

5.4. Paraugu stobriņi, kas piemēroti *HPLC* automātiskajai paraugu ņemšanas ierīcei.

5.5. 100 ml mērkolbas.

5.6. Plastmasas šļirces, 10 ml.

5.7. pH-metrs.

5.8. Analītiskie svari.

5.9. Ūdens vanna ar termostatu, iespējams uzstādīt 60 °C un 90 °C temperatūru.

5.10. *HPLC* aparāts, kas piemērots cukuru analīzei.

6. **Procedūra**

6.1. *Parauga sagatavošana dažādu veidu produktiem*

Produktus homogenizē.

6.2. *Parauga lielums*

Parauga lielums tiek paredzēts, ņemot vērā norādījumus par sastāvdaļām un *HPLC* analīzes apstākļus (glikozes standartšķīduma koncentrācijas), un nepārsniedz:

$$\text{parauga lielums (g)} = \frac{\text{mērkolbas tilpums (piem., 100 ml)}}{\text{paredzamais cietes saturs (\%)}}$$

Paraugu sver ar precizitāti līdz 0,1 mg.

6.3. *Tukšā analīze*

Tukšo analīzi veic kā pilnu analīzi (kā aprakstīts 6.4. punktā), nepievienojot paraugu. Tukšās analīzes rezultātu izmanto cietes satura aprēķināšanā (7.2. punkts).

6.4. *Analīze*

6.4.1. Paraugu sagatavošana

Paraugu homogenizē, kratot vai apmaisot. Izvēlēto analizējamo paraugu (6.2. punkts) iesver mērkolbā (5.5. punkts) un pievieno 70 ml silta ūdens.

Pēc izšķīdināšanas vai suspendēšanas pievieno 50 mikrolitrus termostabilas alfa-amilāzes (4.6. punkts) un karsē 30 minūtes 90 °C temperatūrā ūdens vannā (5.9. punkts). Cik vien ātri iespējams, paraugus atdzesē ūdens vannā līdz 60 °C temperatūrai un pievieno 5 ml amiloglikozidāzes šķīduma (4.13. punkts). Kontrolē pH vērtību tiem paraugiem, kuri var ietekmēt šķīduma pH reakciju, un vajadzības gadījumā to pielāgo līdz 4,6–4,8. Ļauj reaģēt 60 minūtes 60 °C. Paraugus atdzesē līdz istabas temperatūrai.

6.4.2. Dzidrināšana

Paraugiem ar lielu proteīnu vai tauku saturu ir jāveic dzidrināšana, pievienojot parauga šķidrumam 1 ml Kareza I šķīdumu (4.15. punkts). Pēc saskalošanas pievieno 1 ml Kareza II šķīdumu (4.16. punkts). Paraugu vēlreiz saskalo.

6.4.3. Sagatavošana *HPLC* analīzei

Paraugu mērkolbā atšķaida līdz zīmei ar ūdeni, homogenizē un filtrē caur kroku filtru (5.2. punkts). Savāc parauga ekstraktu.

Ekstraktu filtrē caur membrānas filtru (5.3. punkts) ar šļirci (5.6. punkts), kas iepriekš izskalota ar ekstraktu. Filtrātu savāc stobriņos (5.4. punkts).

6.5. *Hromatogrāfija*

HPLC veic tāpat, kā parasti cukuru analīzei. Ja *HPLC* analīze uzrāda maltozes piemaisījumus, tas norāda uz cietes nepilnīgu sadalīšanos, kas izraisa zemāku glikozes atgūstamību.

7. **Rezultātu aprēķināšana un izteikšana**

7.1. *HPLC rezultātu aprēķināšana*

Lai aprēķinātu cietes saturu, nepieciešami divu *HPLC* analīžu rezultāti, proti, paraugā esošo cukuru saturs pirms ("brīvie cukuri") un pēc apstrādes ar fermentatīvo metodi (kā aprakstīts šajā metodē). Jāveic arī tukšā analīze, lai varētu koriģēt cukurus, kuri atrodas fermentos.

HPLC analīzē pīķu laukumu nosaka pēc integrēšanas un koncentrāciju aprēķina pēc kalibrēšanas ar standartšķīdumiem (4.14. punkts). Glikozes koncentrāciju (g/100 ml) tukšajā analīzē atņem no glikozes koncentrācijas (g/100 ml) pēc fermentatīvās apstrādes. Visbeidzot aprēķina cukuru saturu (g cukura/100 g parauga), izmantojot nosvērto parauga daudzumu, kā rezultātā iegūst:

1) *HPLC* analīzi pirms fermentatīvās apstrādes, iegūstot brīvo cukuru saturu (g/100 g):

— glikoze G,

— fruktoze F,

— saharoze S;

2) *HPLC* analīzi pēc fermentatīvās apstrādes, iegūstot cukuru saturu (g/100 g):

— glikoze pēc tukšās analīzes koriģēšanas ($G_{e\ cor}$),

— fruktoze F_e,

— saharoze S_e.

7.2. *Cietes satura aprēķināšana*

7.2.1. Kopējā glikozes satura "Z" aprēķināšana

Ja fruktozes daudzums pēc fermentatīvās apstrādes (F_e) ir lielāks nekā fruktozes daudzums pirms fermentatīvās apstrādes (F), tad saharoze, kas atrodas paraugā, ir daļēji pārveidota fruktozē un glikozē. Tas nozīmē, ka jākoriģē atbrīvotā glikoze ($F_e - F$).

Z, galīgais glikozes saturs pēc korekcijas g/100 g:

$$Z = (G_{e\ cor}) - (F_e - F)$$

7.2.2. Kopējā glikozes satura, kas izteikts kā ciete, aprēķināšana:

E, "cietes" saturs g/100 g:

$$E = [(G_{e\ cor}) - (F_e - F)] \times 0{,}9$$

8. **Precizitāte**

Šajā punktā sniegta informācija par metodes precizitātes datiem no starplaboratoriju salīdzinošās testēšanas rezultātiem 2 paraugiem. Tie atspoguļo šajā pielikumā aprakstītās metodes izpildījuma prasības.

Starplaboratoriju salīdzinošās testēšanas rezultāti (informācijai)

Starplaboratoriju salīdzinošā testēšana tika veikta 2008. gadā, piedaloties Eiropas muitas laboratorijām.

Precizitātes datu novērtēšana tika veikta saskaņā ar dokumentu *"Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies", W. Horwitz, (IUPAC technical report), Pure & Appl. Chem.*, 67. sēj., Nr. 2, 331.–343. lpp., 1995.

Precizitātes dati ir apkopoti šajā tabulā:

Paraugi **1 : šokolādes un cepumu tāfelīte** **2 : cepumi**	**Z** **1. paraugs**	**Z** **2. paraugs**
Laboratoriju skaits	41	42
Laboratoriju skaits pēc galējo vērtību izslēgšanas	38	39
Vidējā vērtība (%, m/m)	29,8	55,0
Atkārtojamības standartnovirze sr (%, m/m)	0,5	0,5
Reproducējamības standartnovirze sR (%, m/m)	1,5	2,3
Atkārtojamības robeža r (%, m/m)	1,4	1,4
Reproducējamības robeža R (%, m/m)	4,2	6,6"