KOMISSION ASETUS (EY) N:o 900/2008,

annettu 16 päivänä syyskuuta 2008,

tiettyjä maataloustuotteista valmistettuja tavaroita koskevan tuontijärjestelmän soveltamiseksi tarvittavista määritysmenetelmistä ja muista teknisistä säännöksistä

(Kodifioitu toisinto)

EUROOPAN YHTEISÖJEN KOMISSIO, joka

ottaa huomioon Euroopan yhteisön perustamissopimuksen,

ottaa huomioon tariffi- ja tilastonimikkeistöstä ja yhteisestä tullitariffista 23 päivänä heinäkuuta 1987 annetun neuvoston asetuksen (ETY) N:o 2658/87 [1] ja erityisesti sen 9 artiklan,

sekä katsoo seuraavaa:

(1) Tietyistä maataloustuotteista valmistettuihin tavaroihin sovellettavasta kauppajärjestelmästä annetun asetuksen (ETY) N:o 3033/80 soveltamiseksi tarvittavista analyysimenetelmistä ja muista teknisistä säännöksistä 22 päivänä joulukuuta 1987 annettua komission asetusta (ETY) N:o 4154/87 [2] on muutettu huomattavilta osilta [3]. Sen vuoksi olisi selkeyden ja järkeistämisen takia kodifioitava mainittu asetus.

(2) Tiettyihin maataloustuotteiden valmistuksessa tuotettuihin tavaroihin sovellettavasta kauppajärjestelmästä 6 päivänä joulukuuta 1993 annetun neuvoston asetuksen (EY) N:o 3448/93 [4] soveltamisalaan kuuluvien tavaroiden yhdenmukaisen kohtelun varmistamiseksi yhteisöön tuonnin yhteydessä olisi määriteltävä määritysmenetelmät ja muut teknisluonteiset säännökset ottaen huomioon tieteen ja tekniikan kehitys.

(3) Tässä asetuksessa säädetyt toimenpiteet ovat tullikoodeksikomitean tariffi- ja tilastonimikkeistöjaoston lausunnon mukaiset,

ON ANTANUT TÄMÄN ASETUKSEN:

1 artikla

Tässä asetuksessa määritellään yhteisön määritysmenetelmät, jotka ovat tarpeen asetuksen (EY) N:o 3448/93 soveltamiseksi tuonnin osalta ja komission asetuksen (EY) N:o 1460/96 [5] soveltamiseksi, tai tällaisten menetelmien puuttuessa noudatettavien määritystoimenpiteiden luonne tai sovellettavan menetelmän periaate.

2 artikla

Asetuksen (EY) N:o 1460/96 liitteessä III esitettyjen tärkkelys/glukoosipitoisuuteen, ja sakkaroosi/inverttisokeri/isoglukoosipitoisuuteen liittyvien määritelmien mukaisesti ja mainitun asetuksen liitteiden II ja III soveltamiseksi tärkkelys/glukoosipitoisuuden ja sakkaroosi/inverttisokeri/isoglukoosipitoisuuden määrittämiseen käytetään seuraavia kaavoja, menettelyjä ja menetelmiä:

1. *Tärkkelys/glukoosipitoisuus*

(sellaisenaan olevan tavaran 100 % tärkkelyspitoisuutena ilmaistuna)

a) $(Z - F) \times 0{,}9$,

kun glukoosipitoisuus on vähintään yhtä suuri kuin fruktoosipitoisuus, tai

b) $(Z - G) \times 0{,}9$,

kun glukoosipitoisuus on pienempi kuin fruktoosipitoisuus

kun:

Z = tämän asetuksen liitteessä I kuvatulla menetelmällä määritetty glukoosipitoisuus;

F = HPLC:llä (suuren erotuskyvyn nestekromatografia) määritetty fruktoosipitoisuus;

G = HPLC:llä määritetty glukoosipitoisuus.

Kun laktoosihydrolysaatin esiintyminen on a alakohdan mukaisesti ilmeinen ja/tai havaitaan galaktoosimääriä, (HPLC:llä määritettyä) galaktoosipitoisuutta vastaava (HPLC:llä määritetty) glukoosipitoisuus vähennetään glukoosin kokonaispitoisuudesta (Z) ennen muita laskutoimenpiteitä.

2. *Sakkaroosi/inverttisokeri/isoglukoosipitoisuus*

(sellaisenaan olevan tavaran sakkaroosipitoisuutena ilmaistuna)

a) $S + (2F) \times 0{,}95$,

kun glukoosipitoisuus on vähintään yhtä suuri kuin fruktoosipitoisuus;

---

[1] EYVL L 256, 7.9.1987, s. 1.
[2] EYVL L 392, 31.12.1987, s. 19.
[3] Katso liite IV.
[4] EYVL L 318, 20.12.1993, s. 18.
[5] EYVL L 187, 26.7.1996, s. 18.

b) S + (G + F) × 0,95,

kun glukoosipitoisuus on pienempi kuin fruktoosipitoisuus

kun:

S = HPLC llä määritetty sakkaroosipitoisuus;

F = HPLC llä määritetty fruktoosipitoisuus;

G = HPLC llä määritetty glukoosipitoisuus.

Kun laktoosihydrolysaatin esiintyminen on ilmeinen ja/tai havaitaan laktoosi- ja galaktoosimääriä, galaktoosipitoisuutta vastaava glukoosipitoisuus (HPLC:llä määritettynä) vähennetään glukoosipitoisuudesta (G) ennen muita laskutoimenpiteitä.

3. *Maitorasvapitoisuus*

a) Jollei b alakohdan säännöksistä muuta johdu, sellaisenaan olevan tavaran maitorasvapitoisuus on määritettävä vetykloridihapolla tapahtuvan hydrolyysin jälkeen tapahtuvalla uuttomenetelmällä.

b) Kun tavaran koostumuksesta ilmoitetaan myös muita rasvoja kuin maitorasvoja, sovelletaan seuraavaa menettelyä:

— määritetään a alakohdan mukaisesti sellaisenaan olevan tavaran kokonaisrasvapitoisuus painoprosentteina,

— maitorasvat määritetään käyttäen petrolieetterillä tapahtuvaa uuttomenetelmää, jota edeltää vetykloridihapolla tapahtuva hydrolyysi ja jota edelleen seuraa rasvahappojen metyyliestereiden käyttö kaasukromatografiaan. Jos maitorasvoja havaitaan, niiden suhteellinen osuus lasketaan kertomalla metyylibutyraatin suhteellinen osuus 25:llä, ja näin saatu arvo kerrotaan sellaisenaan olevan tavaran kokonaisrasvapitoisuuden painoprosentilla ja jaetaan 100:lla.

4. *Maitovalkuaispitoisuus*

a) Jollei b alakohdan säännöksistä muuta johdu, sellaisenaan olevan tavaran maitovalkuaispitoisuus lasketaan kertomalla (Kjeldahlin menetelmällä määritetty typpipitoisuus) tekijällä 6,38.

b) Kun tavaran koostumuksesta ilmoitetaan myös muita kuin maitovalkuaista sisältäviä ainesosia:

— kokonaistyppipitoisuus painoprosentteina määritetään Kjeldahlin menetelmällä,

— maitovalkuaispitoisuus lasketaan a alakohdan mukaisesti vähentämällä kokonaistyppipitoisuudesta muita kuin maitovalkuaista vastaava typpipitoisuus.

3 artikla

Asetuksen (EY) N:o 1460/96 liitteen I soveltamiseksi käytetään seuraavia menetelmiä ja/tai menettelyjä:

1. CN-koodeihin 0403 10 51–0403 10 59, 0403 10 91–0403 10 99, 0403 90 71–0403 90 79 ja 0403 90 91–0403 90 99 kuuluvien tavaroiden luokitustarkoituksiin määritetään maitorasvapitoisuus tämän asetuksen 2 artiklan 3 kohdassa tarkoitetulla menetelmällä;

2. CN-koodeihin 1704 10 11–1704 10 99 ja 1905 20 10–1905 20 90 kuuluvien tavaroiden luokitustarkoituksiin määritetään sakkaroosipitoisuus, sakkaroosina ilmaistu inverttisokeri mukaan lukien, HPLC-menetelmällä; (sakkaroosina ilmaistu inverttisokeri tarkoittaa yhtä suurten glukoosi- ja fruktoosimäärien summaa kerrottuna luvulla 0,95);

3. CN-koodeihin 1806 10 10–1806 10 90 kuuluvien tavaroiden luokitustarkoituksiin määritetään sakkaroosi/inverttisokeri/isoglukoosi-pitoisuus tämän asetuksen 2 artiklan 2 kohdassa annetun kaavan, menetelmän ja menettelyjen mukaisesti;

4. CN-koodeihin 3505 20 10–3505 20 90 kuuluvien tavaroiden luokitustarkoituksiin määritetään tärkkelyksen, dekstriinin tai muiden muunnettujen tärkkelysten pitoisuus tämän asetuksen liitteessä II annetulla menetelmällä;

5. CN-koodeihin 3809 10 10–3809 10 90 kuuluvien tavaroiden luokitustarkoituksiin määritetään amylaasiset aineet tämän asetuksen liitteessä II annetulla menetelmällä;

6. Joko CN-koodiin 1901 90 11 tai CN-koodiin 1901 90 19 kuuluvien tavaroiden luokitustarkoituksiin tehdään ero kuiva-aineeseen perustuen määritettynä kuivauksella 103 ± 2 °C lämpötilassa vakiopainoon;

7. CN-koodeihin 1902 19 10 ja 1902 19 90 kuuluvien tavaroiden luokitustarkoituksiin käytetään tämän asetuksen liitteessä III annettua menetelmää makaronivalmisteissa esiintyvien tavallisesta vehnästä valmistettujen jauhojen ja suurimoiden esiintymisen testaamiseksi;

8. CN-koodeihin 2905 44 11–2905 44 99 ja 3824 60 11–3824 60 99 kuuluvien tavaroiden sisältämän mannitolin ja D-glusitolin (sorbitolin) osuus määritetään HPLC:llä.

4 artikla

1. Laaditaan määritysseloste.

2. Määritysselosteessa on oltava erityisesti:

— kaikki näytteen tunnistamiseen liittyvät tiedot,

— käytetty yhteisön menetelmä ja tarkka viittaus oikeudelliseen asiakirjaan, jossa siitä on säädetty tai tarvittaessa viittaus yksityiskohtaiseen menetelmään, jossa on eritelty tässä asetuksessa esitettyjen noudatettavien määritystoimenpiteiden luonne tai sovellettavan menetelmän periaate,

— tuloksiin mahdollisesti vaikuttaneet tekijät,

— määritystulokset ottaen huomioon käytetyssä menetelmässä sovellettu ilmaisumuoto sekä määrittämistä pyytäneiden tulli- tai hallintoviranomaisten tarpeiden saneleman ilmaisumuoto.

5 artikla

Kumotaan asetus (ETY) N:o 4154/87.

Viittauksia kumottuun asetukseen pidetään viittauksina tähän asetukseen liitteessä V olevan vastaavuustaulukon mukaisesti.

6 artikla

Tämä asetus tulee voimaan kahdentenakymmenentenä päivänä sen jälkeen, kun se on julkaistu *Euroopan unionin virallisessa lehdessä*.

Tämä asetus on kaikilta osiltaan velvoittava, ja sitä sovelletaan sellaisenaan kaikissa jäsenvaltioissa.

Tehty Brysselissä 16 päivänä syyskuuta 2008.

Komission puolesta
José Manuel BARROSO
Puheenjohtaja

LIITE I

Tärkkelyspitoisuuden ja tärkkelyksen hajoamistuotteiden, glukoosi mukaan luettuna, määritys

1 TARKOITUS JA SOVELTAMISALA

a) Menetelmällä on mahdollista määrittää tärkkelyspitoisuus sekä sen hajoamistuotteiden pitoisuus, glukoosi mukaan luettuna, jäljempänä 'tärkkelys'.

b) Edellä a alakohdassa tarkoitettu "tärkkelys" pitoisuus on yhtä suuri kuin arvo E laskettuna tämän liitteen 6 kohdan a alakohdan mukaisesti.

2 PERIAATE

Näyte hajotetaan natriumhydroksidilla ja "tärkkelys" jaetaan glukoosiyksiköihin amyloglukosidaasin avulla. Glukoosi määritetään entsymaattisesti.

3 REAGENSSIT

(Käytetään kahdesti tislattua vettä).

3.1 0,5 N Natriumhydroksidiliuos (0,5 mol/l).

3.2 (vähintään) 96 % jääetikka.

3.3 Amyloglukosidaasiliuos:

Välittömästi ennen käyttöä liuotetaan noin 10 mg amyloglukosidaasia (EC 3.2.1.3) (60 U/mg) 1 millilitraan vettä ([1]).

3.4 Trietanoliamiinipuskuriliuos:

Liuotetaan 14,0 g trietanoliamiinihydrokloridia [tris(2-hydroksietyyli)ammoniumkloridi] ja 0,25 g magnesiumsulfaattia ($MgSO_4 7H_2O$) 80 ml:aan vettä, lisätään noin 5 ml 5 N natriumhydroksidiliuosta (5 mol/l) ja säädetään pH:ksi 7,6 1 N natriumhydroksidiliuosta (1 mol/l) käyttäen.

Täytetään 100 ml:ksi vedellä. Puskuriliuosta voidaan säilyttää vähintään 4 viikkoa 4 °C:ssa.

3.5 NADP (nikotinamidiadeniinidinukleotidifosfaatti, dinatriumsuola) -liuos:

Liuotetaan 60 mg NADP 6 ml:aan vettä. Tätä liuosta voidaan säilyttää vähintään neljä viikkoa 4 °C:ssa.

3.6 ATP (adenosiini-5′-trifosfaatti, dinatriumsuola) -liuos:

Liuotetaan 300 mg ATP, $3H_2O$ ja 300 mg natriumvetykarbonaattia ($NaHCO_3$) 6 ml:aan vettä. Liuosta voidaan säilyttää vähintään 4 viikkoa 4 °C:ssa.

3.7 HK/G6P-DH [Heksokinaasi (EC 2.7.1.1) ja glukoosi-6-fosfaatti-dehydrogenaasi (EC 1.1.1.49)]-suspensio:

suspendoidaan 280 U HK ja 140 U G6P-DH 1 ml:ssa 3,2 M ammoniumsulfaattiliuosta. Suspensiota voidaan säilyttää vähintään vuosi 4 °C:ssa.

4 VÄLINEISTÖ

4.1 Magneettisekoittaja vesihauteessa 60 °C:ssa.

4.2 Magneettisauvoja.

4.3 UV-spektrofotometri 1 cm optisin kyvetein.

4.4 Pipettejä entsymaattista määritystä varten.

([1]) U on entsyymiaktiivisuuden kansainvälinen yksikkö.

5 MENETELMÄ

5.1 **Näyte uutetaan lämmittäen natriumhydroksidilla ja ”tärkkelys” hydrolysoidaan entsymaattisesti**

5.1.1 Näytteen paino valitaan seuraavasti oletetun ”tärkkelys” pitoisuuden (”tärkkelys” pitoisuus saa olla enintään 0,4 g näytettä kohden) mukaisesti:

Tuotteen oletettu ”tärkkelys” pitoisuus,g/100 g	Näytteen paino grammoina noin (p)	Mittapullon tilavuus, ml	Laimennoskerroin yhdeksi litraksi (f)
> 70	0,35–0,4	500	2
20–70	enintään 0,5	500	2
5–20	enintään 1	250	4
< 5	enintään 2	200	5

5.1.2 Punnitaan näytettä täsmälleen 0,1 mg.

5.1.3 Lisätään 50 ml 0,5 N natriumhydroksidiliuosta (3.1 kohta) ja sekoitetaan jatkuvasti 30 minuuttia vesihauteessa (4.1 kohta) magneettisekoittajalla 60 °C:ssa.

5.1.4 Lisätään muutama ml väkevää etikkahappoa (3.2 kohta) ja saatetaan pH:ksi 4,6–4,8.

5.1.5 Asetetaan vesihauteeseen magneettisekoittajan kanssa (4.1 kohta) 60 °C:seen, lisätään 1,0 ml entsyymiliuosta (3.3 kohta) ja annetaan reagoida samalla jatkuvasti sekoittaen 30 minuuttia.

5.1.6 Jäähdytyksen jälkeen siirretään kvantitatiivisesti mittapulloon (5.1.1 kohta) ja täytetään merkkiin vedellä.

5.1.7 Tarvittaessa suodatetaan laskostetun suodattimen läpi (ks. huomautus 1).

5.2 **Glukoosin kvantitatiivinen määritys**

5.2.1 Koeliuoksessa on oltava 100–1 000 mg glukoosia litraa kohden, mikä vastaa ΔE_{340} -arvoa 0,1–1,0.

Koeliuoksen absorbanssi laimennoksena 1 + 30 veden kanssa ei saa olla suurempi kuin 0,4 (mitattuna suhteessa ilmaan) aallonpituudella 340 nm.

5.2.2 Saatetaan puskuriliuos (3.4 kohta) huoneenlämpöiseksi (20 °C).

5.2.3 Reagenssien ja näytteen lämpötilan on oltava 20–25 °C.

5.2.4 Mitataan absorbanssi aallonpituudella 340 nm suhteessa ilmaan (eli vertailuvälissä ei optista kyvettiä).

5.2.5 Pipetoidaan seuraavan taulukon mukaisesti:

Kaadetaan optisiin kyvetteihin:	Kontrolli (ml)	Koe (ml)
Puskuriliuos (3.4 reagenssi)	1,00	1,00
NADP (3.5 reagenssi)	0,10	0,10
ATP (3.6 reagenssi)	0,10	0,10
Koeliuos (5.1.6 tai 5.1.7)	—	0,10
Kahdesti tislattu vesi	2,00	1,90
Sekoitetaan ja noin 3 minuutin kuluttua mitataan liuosten absorbanssi (E_1). Aloitetaan reaktio lisäämällä:		
HK/G6P-DH (3.7 reagenssi)	0,02	0,02
Sekoitetaan, annetaan reaktion edetä loppuun (noin 15 minuuttia) ja mitataan liuosten absorbanssi (E_2). Otetaan huomioon mahdolliset jatkoreaktiot. Jos reaktio ei ole pysähtynyt 15 minuutin kuluttua, absorbanssit luetaan 5 minuutin välein, kunnes nousunopeus on vakio. Tämän jälkeen ekstrapoloidaan taaksepäin 3.7 kohdassa tarkoitetun suspension lisäämishetkeen (ks. huomautus 2).		

5.2.6 Lasketaan absorbanssierot nollareagenssille ja näytteelle ($E_2 - E_1$). Vähennetään nollareagenssin absorbanssiero ($\Delta E_{nollareagenssi}$) näytteen vastaavasta ($\Delta E_{näyte}$):

$$\Delta E = \Delta E_{näyte} - \Delta E_{nollareagenssi}$$

Tämä erotus antaa koeliuoksen glukoosipitoisuuden:

Koeliuoksen sisältämä glukoosipitoisuus, g/l

$$Gl = ((3{,}22 \times 180{,}16)/(6{,}3 \times 1 \times 0{,}1 \times 1\,000)) \times \Delta E_{340} = 0{,}921 \times \Delta E_{340}$$

(3,22: mitattavan liuoksen tilavuus; 1: kyvetin paksuus; 0,1: näyteliuoksen tilavuus; Glukoosin moolimassa on 180,16 (g/mol).

5.2.7 Jos mittausta ei jostakin syystä voida tehdä aallonpituudella 340 nm, se voidaan tehdä aallonpituudella 365 nm tai 334 nm, luku 6,3 edellisessä Gl:n kaavassa on sitten korvattava luvulla 3,5 tai vastaavasti luvulla 6,18.

6 LASKUTAPA JA TULOSTEN ILMAISEMINEN

a) E = ”Tärkkelys” pitoisuus ilmaistuna g/100 g:

$$E = ((100 \times 0{,}9 \times Gl)/(p \times f))$$

b) Z = ”Glukoosi” pitoisuus ilmaistuna g/100 g:

$$Z = ((100 \times Gl)/(p \times f))$$

joissa

Gl = glukoosi ilmaistuna g/l (5.2.6);

f = laimennoskerroin (5.1.1);

p = näytteen paino grammoina;

0,9 = glukoosin muunnoskerroin tärkkelykseksi.

Huomautukset:

1) Jos koeliuosta ei voida suodattaa 5.1.7 kohdan mukaisesti, on tehtävä asianmukaiset toimenpiteet.

2) Jos esiintyy entsyymien inhibitiota, suositellaan käytettäväksi menetelmää, jossa lisätään tunnettuja määriä puhdasta tärkkelystä.

LIITE II

CN-koodeihin 3505 20 10–3505 20 90 kuuluvien tavaroiden tärkkelysten tai dekstriinien tai muiden muunnettujen tärkkelysten pitoisuuden ja CN-koodeihin 3809 10 10–3809 10 90 kuuluvien tavaroiden amylaasisten aineiden pitoisuuden määritys

I PERIAATE

Tärkkelys muutetaan happohydrolyysilla pelkistäviksi sokereiksi, jotka määritetään tilavuuteen perustuen Fehlingin liuosta käyttäen.

II VÄLINEISTÖ JA REAGENSSIT

1. Noin 250 ml:n pullo;

2. 200 ml mittapullo;

3. 25 ml mittabyretti;

4. Vetykloridihappo, tiheys 1,19;

5. Kaliumhydroksidiliuos;

6. Väriä poistava puuhiili;

7. Fehlingin liuos;

8. Metyleenisininen liuos (1 %).

III MENETELMÄ

Noin 1 g tärkkelystä sisältävä näyte laitetaan 250 ml:n pulloon. Lisätään 100 ml tislattua vettä ja 2 ml vetykloridihappoa. Saatetaan kiehuvaksi ja refluksoidaan 3 tuntia.

Siirretään pullon sisältö ja huuhtelunesteet 200 ml:n mittapulloon. Jäähdytetään ja tehdään lähes neutraaliksi kaliumhydroksidiliuoksella. Lisätään tislattua vettä 200 ml:ksi ja suodatetaan pienen määrän väriä poistavan puuhiilen läpi.

Tämän jälkeen liuos kaadetaan mittabyrettiin ja pelkistetään 10 ml Fehlingin liuosta seuraavalla menetelmällä:

Noin 250 ml:n tasapohjaiseen pulloon kaadetaan 10 ml Fehlingin liuosta (5 ml liuosta A ja 5 ml liuosta B). Ravistetaan, kunnes liuos on kirkas ja lisätään 40 ml tislattua vettä ja pieni määrä kvartsia tai hohkakiveä.

Asetetaan pullo neliön muotoiselle asbestilevylle, jossa on halkaisijaltaan noin 6 cm pyöreä reikä keskellä, asbestin ollessa puolestaan metallilankaverkkopalan päällä. Kuumennetaan pulloa sellaisella nopeudella, että neste alkaa kiehua noin 2 minuutin kuluttua.

Byretistä lisätään kiehuvaan nesteeseen vähitellen sokeriliuosta, kunnes Fehlingin liuoksen sininen väri tulee tuskin havaittavaksi; sitten lisätään 2 tai 3 pisaraa metyleenisinistä liuosta indikaattoriksi ja titrataan loppuun lisäämällä edelleen sokeriliuosta tipoittain, kunnes indikaattorin sininen väri häviää.

Suurempaa tarkkuutta varten toistetaan titraus samoissa olosuhteissa, mutta lisäämällä katkoitta lähes koko määrä Fehlingin liuoksen pelkistämiseksi tarvittavasta sokeriliuoksesta. Tässä toisessa titrauksessa Fehlingin liuoksen olisi pelkistyttävä 3 minuutissa. Jatketaan kiehuttamista edelleen täsmälleen 2 minuuttia lisäten reagenssi minuutissa tipoittain kiehuvaan liuokseen, kunnes sininen väri katoaa.

Näytteen sisältämän tärkkelyksen painoprosentti määritetään seuraavalla kaavalla:

$$\% \text{ tärkkelystä} = ((T \times 200 \times 100)/(n \times p)) \times 0{,}95$$

jossa:

T = on vedettömän dekstroosin määrä grammoina, joka vastaa 10 ml Fehlingin liuosta (5 ml liuosta A ja 5 ml liuosta B). Tämä tiitteri vastaa 0,04945 g vedetöntä dekstroosia, kun liuos A sisältää 17,636 g kuparia litraa kohden;

n = on titraukseen käytetyn sokeriliuoksen ml-määrä;

p = on näytemäärän paino;

0,95 = on vedettömän dekstroosin muunnostekijä tärkkelykseksi.

IV FEHLINGIN LIUOSTEN VALMISTUS

Liuos A: Mittapullossa liuotetaan 69,278 g puhdasta kiteistä kuparisulfaattia – analyysilaatua ($CuSO_4$ $5H_2O$) – jossa ei ole rautaa, veteen ja täytetään tilavuudeksi 1 litra tislatulla vedellä. Tämän liuoksen täsmällinen pitoisuus on tarkastettava kuparin kvantitatiivisella määrityksellä.

Liuos B: Mittapullossa liuotetaan 100 g natriumhydroksidia ja 346 g natriumkaliumtartraattia (Rochellen suolaa) tislattuun veteen ja täytetään tilavuudeksi 1 litra tislatulla vedellä.

Nämä kaksi liuosta A ja B sekoitetaan yhtä suurina määrinä välittömästi ennen käyttöä. 10 ml Fehlingin liuosta (5 ml liuosta A ja 5 ml liuosta B) pelkistetään täysin III kohdassa kuvatuissa olosuhteissa 0,04945 g:lla vedetöntä dekstroosia.

LIITE III

Hienojen tai karkeiden vehnäjauhojen havaitseminen makaronissa, spagetissa ja vastaavissa tuotteissa (pasta)

(Youngin ja Gillesin menetelmän mukaisesti, Bernaertsin ja Grunerin muuttamana)

I PERIAATE

Määritettävän pastanäytteen uute valmistetaan käyttäen polaaritonta liuotinta.

Tämä uute kromatografoidaan silikageelin ohutkerroksesta jakeiden eri vyöhykkeissä esiintyvien sterolien erottamiseksi.

Kirkkaanväristen vyöhykkeiden määrän mukaan on mahdollista määrittää, onko tutkittava tuote valmistettu ainoastaan durumvehnästä vai hienosta vehnäjauhosta vai näiden kahden seoksesta. On myös mahdollista määrittää, onko lisätty munia.

II VÄLINEISTÖ JA REAGENSSIT

1. Homogenisaattori tai jauhin rouheen saamiseksi, joka läpäisee 0,200 mm silmäisen standardiseulan;
2. Standardiseula, jossa 0,200 mm silmäkoko;
3. Haihdutin vesihauteella alennetussa paineessa haihduttamiseksi;
4. Lasilevy, alumiinilevy tai muu soveltuva tausta kooltaan 20 cm × 20 cm, päällystettynä ohuella silikageelikerroksella. Jos ohutkerros on valmistettava, olisi käytettävä silikageeliä sekoitettuna noin 13 % kipsilaastin kanssa, ja se olisi levitettävä 0,25 mm kerroksena soveltuvan laitteen avulla valmistajan ohjeiden mukaisesti;
5. Mikropipetti 20 mikrolitran mittaamiseksi;
6. Kannellinen säiliö, joka soveltuu kromatogrammien kehittämiseen;
7. Sumutuskoje;
8. Petrolieetteriä, jonka kiehumispiste on välillä 40–60 °C, toistotislattuna ennen käyttöä;
9. Vedetöntä etyylieetteriä määritystä varten;
10. Hiilitetrakloridia kromatografiaa varten, toistotislattuna ennen käyttöä;
11. Fosfomolybdeenihappoa määritystä varten;
12. 94° etyylialkoholia.

III MENETELMÄ

Jauhetaan noin 20 g määritettävää näytettä siten, että se läpäisee kokonaisuudessaan seulan. Laitetaan näyte Erlenmeyer-pulloon ja peitetään 150 ml:lla petrolieetteriä. Jätetään normaaliin lämpötilaan seuraavaksi päiväksi. Ravistellaan silloin tällöin.

Tämän jälkeen suodatetaan Buchner-suppilon läpi, jossa on suodatuksen apuainetta tai sintrattu suodatin. Näin saatu kirkas liuos siirretään asteittain 100 ml:n kalibroituun pulloon. Haihdutetaan liuotin alennetussa paineessa kuumentamalla pulloa vesihauteessa 40–50 °C:ssa. Kun liuotin on haihtunut, kuumennetaan alennetussa paineessa edelleen 10 minuuttia.

Kun pullo on jäähtynyt, määritetään uutteen paino. Laimennetaan uute etyylieetterillä suhteessa 1 ml etyylieetteriä 60 mg uutetta kohden.

Aktivoidaan ohutkerrokset nostamalla niiden lämpötila 130 °C:seen 3 tunniksi. Annetaan jäähtyä silikageeliä sisältävässä eksikaattorissa. Levyt, joita ei käytetä välittömästi voidaan säilyttää samassa eksikaattorissa.

Lisätään tipoittain 20 mikrolitraa kirkasta liuosta vakioleveyksisen vyöhykkeen muodostamiseksi, pituudeltaan 3 cm, mieluiten vasta aktivoidun kerroksen päälle. Annetaan liuottimen haihtua.

Kehitetään kromatogrammi normaalissa lämpötilassa hiilitetrakloridilla käyttäen kromatogrammisäiliötä, jonka seinämät on peitetty liuottimessa liotetulla suodatinpaperilla. Noin tunnin kuluttua liuotin saavuttaa 18 cm korkeuden. Poistetaan levy ja jätetään liuotin haihtumaan avonaisesti. Vyöhykkeiden paremmin erottamiseksi kromatogrammi kehitetään toiseen kertaan. Annetaan liuottimen jälleen haihtua avonaisesti.

Sumutetaan ohut silikageelikerros etyylialkoholissa olevalla 20 % fosfomolybdeenihappoliuoksella. Kerroksen värin on oltava tasaisen keltainen. Kehitetään vyöhykkeet kuumentamalla sumutettua levyä 110 °C:ssa 5 minuuttia.

IV KROMATOGRAMMIN TULKINTA

Jos kromatogrammissa esiintyy 1 pääasiallinen kirkasvärinen vyöhyke, jonka Rf on noin 0,4–0,5, kyseisen pastan valmistukseen käytetty vehnä on durumvehnää. Toisaalta, jos esiintyy 2 pääasiallista kirkkaudeltaan yhtäläistä vyöhykettä, käytetty raaka-aine on ollut hienoa vehnäjauhoa. Durumvehnän ja hienon vehnäjauhon seokset voidaan määrittää arvioimalla 2 vyöhykkeen suhteellista kirkkautta.

Jos esiintyy 3 vyöhykettä (löydetään 2 vyöhykettä korkeudella, jossa hienon vehnäjauhon pääasialliset vyöhykkeet sijaitsevat, sekä vyöhyke näiden välissä), pastaan on lisätty munia. Tällöin käytetty raaka-aine on durumvehnää, jos keskimmäinen vyöhyke on kirkkaampi kuin ylempi vyöhyke. Toisaalta, jos ylempi vyöhyke on keskimmäistä vyöhykettä kirkkaampi, käytetty raaka-aine on ollut hienoa vehnäjauhoa.

LIITE IV

Kumottu asetus ja sen muutos

Komission asetus (ETY) N:o 4154/87	(EYVL L 392, 31.12.1987, s. 19).
Komission asetus (EY) N:o 203/98	(EYVL L 21, 28.1.1998, s. 6).

LIITE V

Vastaavuustaulukko

Asetus (ETY) N:o 4154/87	Tämä asetus
1–4 artikla	1–4 artikla
5 artikla	—
—	5 artikla
6 artikla	6 artikla
Liitteet I, II ja III	Liitteet I, II ja III
—	Liite IV
—	Liite V