32008R0900

UREDBA KOMISIJE (EZ) br. 900/2008

od 16. rujna 2008.

o utvrđivanju metoda analize i drugih tehničkih odredaba potrebnih za primjenu aranžmana za uvoz određene robe dobivene preradom poljoprivrednih proizvoda

(kodificirana verzija)

KOMISIJA EUROPSKIH ZAJEDNICA,

uzimajući u obzir Ugovor o osnivanju Europske zajednice,

uzimajući u obzir Uredbu Vijeća (EEZ) br. 2658/87 od 23. srpnja 1987. o tarifnoj i statističkoj nomenklaturi i o Zajedničkoj carinskoj tarifi [1], a posebno njezin članak 9.,

budući da:

(1) Uredba Komisije (EEZ) br. 4154/87 od 22. prosinca 1987. o utvrđivanju metoda analize i drugih tehničkih odredaba potrebnih za provedbu Uredbe Vijeća (EEZ) br. 3033/80 o utvrđivanju trgovinskih aranžmana primjenjivih na određenu robu dobivenu preradom poljoprivrednih proizvoda [2], znatno je izmijenjena [3]. Radi jasnoće i racionalnosti navedenu Uredbu treba kodificirati.

(2) Kako bi se osiguralo da se s robom podložnom Uredbi Vijeća (EZ) br. 3448/93 od 6. prosinca 1993. o utvrđivanju trgovinskih aranžmana primjenjivih na određenu robu dobivenu preradom poljoprivrednih proizvoda [4] postupa jedinstveno pri uvozu u čitavoj Zajednici, pri utvrđivanju analitičkih metoda i drugih tehničkih odredaba potrebno je voditi računa o znanstvenom i tehnološkom razvoju analitičkih metoda.

(3) Mjere predviđene ovom Uredbom u skladu su s mišljenjem Odjela za tarifnu i statističku nomenklaturu Odbora za Carinski zakonik,

DONIJELA JE OVU UREDBU:

Članak 1.

Ovom se Uredbom utvrđuju metode analize potrebne za primjenu Uredbe (EZ) br. 3448/93 ako se odnosi na uvoz i Uredbe Komisije (EZ) br. 1460/96 [5] ili, ako takva metoda analize ne postoji, priroda analitičkih operacija koje se trebaju provesti ili načelo metode koja se treba primijeniti.

Članak 2.

U skladu s definicijama utvrđenim u Prilogu III. Uredbi (EZ) br. 1460/96 koje se odnose na udio škroba/glukoze i udio saharoze/invertnog šećera/izoglukoze, a za potrebe primjene priloga II. i III. toj Uredbi, za udio škroba/glukoze i udio saharoze/invertnog šećera/izoglukoze koriste se sljedeće formule, postupci i metode:

1. *Udio škroba/glukoze:*

(izražen kao 100 %-tni udio bezvodnog škroba u robi kako je podnesena)

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

ako udio glukoze nije manji od udjela fruktoze; ili

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

ako je udio glukoze manji od udjela fruktoze

pri čemu je:

Z = udio glukoze određen metodom navedenom u Prilogu I. ovoj Uredbi

F = udio fruktoze određen HPLC-om (tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti)

G = udio glukoze određen HPLC-om.

U slučaju točke (a), kada je deklarirana prisutnost hidrolizata laktoze i/ili su otkrivene količine laktoze i galaktoze, udio glukoze jednak udjelu galaktoze (određenom HPLC-om) odbija se od udjela glukoze (Z) prije daljnjih izračuna.

2. *Udio saharoze/invertnog šećera/izoglukoze*

(izražen kao udio saharoze u robi kako je podnesena)

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

ako udio glukoze nije manji od udjela fruktoze;

[1] SL L 256, 7.9.1987., str. 1.
[2] SL L 392, 31.12.1987., str. 19.
[3] Vidjeti Prilog IV.
[4] SL L 318, 20.12.1993., str. 18.
[5] SL L 187, 26.7.1996., str. 18.

(b) S + (G + F) × 0,95

ako je udio glukoze manji od udjela fruktoze

pri čemu je:

S = udio saharoze određen HPLC-om;

F = udio fruktoze određen HPLC-om;

G = udio glukoze određen HPLC-om.

Kada je deklarirana prisutnost hidrolizata laktoze i/ili su otkrivene količine laktoze i galaktoze, udio glukoze jednak udjelu galaktoze (određenom HPLC-om), odbija se od udjela glukoze (G) prije bilo kakvih daljnjih izračuna.

3. *Udio mliječne masti:*

(a) osim ako je drukčije predviđeno u točki (b), maseni udio mliječne masti u robi kako je podnesena određuje se ekstrakcijom pomoću petroletera nakon hidrolize klorovodičnom kiselinom;

(b) kada su u sastavu robe deklarirane i druge masti osim mliječnih masti, primjenjuje se sljedeći postupak:

— ukupni maseni udio masti u robi se određuje kako je navedeno u točki (a),

— za potrebe određivanja udjela mliječne masti koristi se metoda koja se temelji na ekstrakciji pomoću petroletera, čemu prethodi hidroliza klorovodičnom kiselinom, a nakon ekstrakcije slijedi plinska kromatografija metil estera masnih kiselina. Ako se otkrije prisutnost mliječnih masti, udjelom mliječne masti se smatra određeni maseni udio metil butirata, pomnožen s faktorom 25, pri čemu se tako dobivena vrijednost množi s ukupnom količinom masti i dijeli sa 100.

4. *Udio mliječnih bjelančevina:*

(a) osim ako je drukčije predviđeno u točki (b), maseni udio mliječnih bjelančevina u robi se izračunava množenjem udjela dušika (određenog Kjeldahlovom metodom) s faktorom 6,38;

(b) kada su u sastavu robe deklarirani i sastojci koji sadrže bjelančevine koje nisu mliječne masti:

— ukupni maseni udio dušika se određuje Kjeldahlovom metodom,

— udio mliječnih bjelančevina se izračunava kako je opisano u točki (a), pri čemu se, međutim, prije množenja, od ukupnog masenog udjela dušika oduzima udio dušika iz nemliječnih bjelančevina.

Članak 3.

Za potrebe primjene Priloga I. Uredbi (EZ) br. 1460/96 koriste se sljedeće metode i/ili postupci:

1. Za potrebe razvrstavanja robe obuhvaćene oznakama KN od 0403 10 51 do 0403 10 59, od 0403 10 91 do 0403 10 99, od 0403 90 71 do 0403 90 79 i od 0403 90 91 do 0403 90 99, maseni udio mliječne masti se određuje metodom navedenom u članku 2. točki 3. ove Uredbe;

2. Za potrebe razvrstavanja robe obuhvaćene oznakama KN od 1704 10 11 do 1704 10 99 i od 1905 20 10 do 1905 20 90, udio saharoze, uključujući invertni šećer izražen kao saharoza, određuje se HPLC-om; (invertni šećer izražen kao saharoza označava zbroj jednakih količina glukoze i fruktoze pomnožen s 0,95);

3. Za potrebe razvrstavanja robe obuhvaćene oznakama KN od 1806 10 10 do 1806 10 90, udio saharoze/invertnog šećera/izoglukoze se određuje u skladu s formulama, metodama i postupcima utvrđenim u članku 2. točki 2. ove Uredbe;

4. Za potrebe razvrstavanja robe obuhvaćene oznakama KN od 3505 20 10 do 3505 20 90, udio škroba, dekstrina ili drugog modificiranog škroba se određuje metodom navedenom u Prilogu II. ovoj Uredbi;

5. Za potrebe razvrstavanja robe obuhvaćene oznakama KN od 3809 10 10 do 3809 10 90, škrobne tvari se određuju metodom utvrđenom u Prilogu II. ovoj Uredbi;

6. Za potrebe razvrstavanja robe obuhvaćene ili oznakom KN 1901 90 11 ili oznakom KN 1901 90 19 razlika se utvrđuje na temelju masenog udjela suhog ekstrakta određenog sušenjem na temperaturi od 103 ± 2 °C do konstantne mase;

7. Za potrebe razvrstavanja robe obuhvaćene oznakama KN 1902 19 10 i 1902 19 90, metoda utvrđena u Prilogu III. ovoj Uredbi se koristi za ispitivanje prisutnosti brašna od obične pšenice i krupice u tjestenini;

8. Udio manitola i D-glucitola (sorbitola) u robi obuhvaćenoj oznakama KN od 2905 44 11 do 29 05 44 99 i od 3824 60 11 do 3824 60 99 određuje se HPLC-om.

Članak 4.

1. Izrađuje se izvješće o ispitivanju.

2. Izvješće o ispitivanju obuhvaća sljedeće podatke:

— informacije potrebne za identifikaciju uzorka,

— korištenu metodu Zajednice i točno upućivanje na pravni instrument u kojem je metoda utvrđena ili, kada je to prikladno, detaljno upućivanje na metodu, navodeći pritom vrstu analitičkih operacija koje treba izvršiti ili načela metode koja se treba primijeniti, kako je navedeno u ovoj Uredbi,

— čimbenike koji su mogli utjecati na rezultate,

— rezultate analize, uzimajući u obzir način na koji su izraženi u korištenoj metodi i način izražavanja uvjetovan potrebama carinskih ili drugih administrativnih službi koje su zatražile analizu.

Članak 5.

Uredba (EEZ) br. 4154/87 stavlja se izvan snage.

Upućivanja na Uredbu stavljenu izvan snage smatraju se upućivanjima na ovu Uredbu i čitaju se u skladu s korelacijskom tablicom u Prilogu V.

Članak 6.

Ova Uredba stupa na snagu dvadesetog dana od dana objave u *Službenom listu Europske unije*.

Ova je Uredba u cijelosti obvezujuća i izravno se primjenjuje u svim državama članicama.

Sastavljeno u Bruxellesu 16. rujna 2008.

Za Komisiju

Predsjednik

José Manuel BARROSO

PRILOG I.

Određivanje masenog udjela škroba i produkata njegove razgradnje, uključujući glukozu

1. NAMJENA I PODRUČJE PRIMJENE

(a) Metoda omogućuje određivanje masenog udjela škroba, produkata njegove razgradnje, uključujući glukozu, dalje u tekstu „škrob".

(b) Maseni udio „škroba" iz točke (a) je jednak vrijednosti E, kako je izračunana u točki 6.a ovog Priloga.

2. NAČELO

Uzorak se razgrađuje pomoću natrijevog hidroksida i „škrob" se pomoću amiloglukozidaze razdvaja na jedinice glukoze. Glukoza se određuje enzimatskim postupkom.

3. REAGENSI

(Koristiti dvostruko destiliranu voda)

3.1. Otopina natrijevog hidroksida, c = 0,5 mol/l

3.2. Octena kiselina (ledena), najmanje 96 % mas.

3.3. Otopina amiloglukozidaze:

Neposredno prije korištenja, otopiti približno 10 mg amiloglukozidaze (EC 3.2.1.3.) (60 U/mg) u jednom ml vode ([1]).

3.4. Puferska otopina trietanolamina:

14,0 g trietanolamin hidroklorida [tris(2-hidroksietil)amonijev klorid] i 0,25 g magnezijevog sulfata ($MgSO_4 7H_2O$) otopiti u 80 ml vode, dodati približno 5 ml NaOH (c = 5 mol/l) i pomoću NaOH (c = 1 mol/l) prilagoditi pH na 7,6.

Vodom dopuniti do 100 ml. Puferska otopina se može čuvati najmanje četiri tjedna na + 4 °C.

3.5. Otopina NADP (nikotinamid adenin dinukleotid fosfat, dinatrijeva sol):

60 mg NADP otopiti u 6 ml vode. Otopina se može čuvati najmanje četiri tjedna na + 4 °C.

3.6. Otopina ATP (adenozin-5'-trifosfat, dinatrijeva sol):

300 mg ATP. $3H_2O$ i 300 mg natrijevog hidrogenkarbonata ($NaHCO_3$) otopiti u 6 ml vode.

Otopina se može čuvati najmanje četiri tjedna na + 4 °C.

3.7. Suspenzija HK/G6P-DH [heksokinaza (EC 2.7.1.1.) i glukoza-6-fosfat-dehidrogenaza (EC 1.1.1.49)]:

280 U HK i 140 U G6P-DH suspendirati u 1 ml otopine amonijevog sulfata (c = 3,2 mol/l). Otopina se može čuvati najmanje godinu dana na + 4 °C.

4. UREĐAJI

4.1. Vodena kupelj temperature 60 °C s magnetskom miješalicom.

4.2. Magnetni štapovi.

4.3. UV-spektrofotometar s lećama promjera 1 cm.

4.4. Pipete za enzimatsku analizu.

([1]) U je međunarodna jedinica za enzimsku aktivnost.

5. METODA

5.1. **Otapanje uzorka u natrijevom hidroksidu i podvrgavanje „škroba" enzimatskoj hidrolizi**

5.1.1. Odabrati masu uzorka kako slijedi, u skladu s pretpostavljenim udjelom „škroba" (udio „škroba" ne smije prelaziti 0,4 g po uzorku) kako slijedi:

Pretpostavljeni udio „škroba" u proizvodu u g/100 g	Približna masa uzorka u g (p)	Zapremina odmjerne tikvice u ml	Faktor razrjeđenja do 1 litre (f)
> 70	0,35-0,4	500	2
20-70	maks. 0,5	500	2
5-20	maks. 1	250	4
< 5	maks. 2	200	5

5.1.2. Odvagati uzorak na točno 0,1 mg.

5.1.3. Dodati 50 ml otopine natrijevog hidroksida (c = 0,5 mol/l) (točka 3.1.) i neprekidno miješati magnetskom miješalicom 30 minuta u vodenoj kupelji (točka 4.1.) pri 60 °C.

5.1.4. Dodati nekoliko ml koncentrirane octene kiseline (točka 3.2.) i pH dovesti na 4,6 do 4,8.

5.1.5. Staviti u vodenu kupelj s magnetskom miješalicom (točka 4.1.) pri 60 °C, dodati 1,0 ml enzimske otopine (točka 3.3.), neprekidno miješati 30 minuta kako bi se omogućila reakcija.

5.1.6. Kad se ohladi, uzorak kvantitativno prebaciti u odmjernu tikvicu (točka 5.1.1.) i nadopuniti vodom do oznake.

5.1.7. Ako je potrebno, profiltrirati kroz naborani filtrirni papir (vidjeti napomenu 1.).

5.2. **Kvantitativno određivanje glukoze**:

5.2.1. Otopina uzorka mora sadržavati od 100 do 1 000 mg glukoze po litri, što odgovara ΔE_{340} između 0,1 i 1,0.

Apsorpcija otopine uzorka u razrjeđenju vodom 1 + 30 ne smije premašiti 0,4 (izmjereno prema zraku) pri 340 nm.

5.2.2. Pufersku otopinu (točka 3.4.) dovesti do sobne temperature (20 °C).

5.2.3. Temperatura reagensa i uzorka u trenutku mjerenja mora iznositi od 20 do 25 °C.

5.2.4. Izmjeriti apsorpciju pri 340 nm prema zraku (tj. bez leće na referentnoj putanji).

5.2.5. Nastaviti u skladu s donjom tablicom za pipetiranje:

Uliti u leće	Kontrolni reagens (ml)	Uzorak (ml)
Pufer (reagens 3.4)	1,00	1,00
NADP (reagens 3.5)	0,10	0,10
ATP (reagens 3.6)	0,10	0,10
Otopina uzorka (5.1.6 ili 5.1.7)	—	0,10
Dvostruko destilirana voda	2,00	1,90
Pomiješati i nakon otprilike tri minute izmjeriti apsorpciju otopina (E_1). Pokrenuti reakciju dodajući:		
HK/G6P.DH (reagens 3.7)	0,02	0,02
Pomiješati, ostaviti do dovršetka reakcije (približno 15 minuta) i izmjeriti apsorpciju otopina (E_2). Ako se reakcija nakon 15 minuta ne prekine, očitavati apsorpcije u petominutnim intervalima sve dok stopa rasta ne postane konstantna. Zatim ekstrapolirati unatrag do vremena dodavanja suspenzije (kako je navedeno u točki 3.7.) (vidjeti napomenu 2.)		

5.2.6. Izračunati razlike apsorpcija između praznog reagensa i uzorka (E_2–E_1). Oduzeti razliku apsorpcije praznog reagensa (ΔE prazni reagens) od razlike apsorpcije uzorka (ΔE uzorak).

$$\Delta E = \Delta E_{uzorak} - \Delta E_{prazni\ reagens}$$

Iz te razlike proizlazi udio glukoze u otopini uzorka:

Udio glukoze u otopini uzorka, 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: obujam mjerene otopine); 1: debljina leće; 0,1: obujam otopine uzorka; molekularna masa glukoze 180,16 (g/mol).

5.2.7. Ako iz nekog razloga nije moguće provesti mjerenje pri 340 nm, mjerenje se može provesti na valnoj duljini od 365 nm ili 334 nm, pri čemu se brojka 6,3 u gornjoj formuli za Gl treba zamijeniti brojkama 3,5 odnosno 6,18.

6. IZRAČUN I IZRAŽAVANJE REZULTATA:

(a) E = udio „škroba" u g/100 g:

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

(b) Z = udio „glukoze" u g/100 g:

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

pri čemu je:

Gl = glukoza u g/l (5.2.6.);

F = faktor razrjeđenja (5.1.1.);

p = masa uzorka u g;

0,9 = faktor za pretvaranje glukoze u škrob.

Napomene:

1. U slučaju da se otopina uzorka ne može filtrirati u skladu s točkom 5.1.7., treba provesti odgovarajuće metode kako bi se dobila čista otopina.

2. U slučaju da dođe do inhibicije enzima, preporučljivo je primijeniti metodu koja uključuje dodavanje poznatih količina čistog škroba.

PRILOG II.

Određivanje udjela škroba ili dekstrina ili ostalih modificiranih škrobova u robi obuhvaćenoj oznakama KN od 3505 20 10 do 3505 20 90 i škrobnih tvari u robi obuhvaćenoj oznakama KN od 3809 10 10 do 3809 10 90

I. NAČELO

Škrob se kiselinskom hidrolizom pretvara u reducirajuće šećere koji se određuju prema obujmu uz pomoć Fehlingove otopine.

II. UREĐAJI I REAGENSI

1. Tikvica od 250 ml;

2. Odmjerna tikvica od 200 ml;

3. Odmjerna bireta od 25 ml;

4. Klorovodična kiselina gustoće 1,19;

5. Otopina kalijevog hidroksida;

6. Aktivni ugljen za bijeljenje;

7. Fehlingova otopina;

8. Otopina metilen-plavog (1 %).

III. METODA

Uzorak koji sadrži oko 1 g škroba staviti u tikvicu od 250 ml. Dodati 100 ml destilirane vode i 2 ml klorovodične kiseline. Pustiti da zavrije i ostaviti da kuha 3 sata uz otjecanje.

Prebaciti sadržaj tikvice i vodu kojom se ispiralo u odmjernu tikvicu od 200 ml. Ohladiti i gotovo neutralizirati otopinom kalijevog hidroksida. Dopuniti destiliranom vodom do 200 ml i profiltrirati kroz malo aktivnog ugljena za bijeljenje.

Zatim preliti otopinu u odmjernu biretu i sljedećom metodom reducirati 10 ml Fehlingove otopine:

U tikvicu od 250 ml s ravnim dnom uliti 10 ml Fehlingove otopine (5 ml otopine A i 5 ml otopine B). Tikvicu tresti dok se tekućina ne razbistri te dodati 40 ml destilirane vode i malo kvarca ili plovućca.

Tikvicu postaviti na pravokutnu azbestnu ploču od odgovarajućeg materijala koja u sredini ima okrugli otvor promjera oko 6 cm. Ploča se stavlja na žičanu mrežicu. Tikvicu zagrijavati tako da tekućina zavrije nakon približno dvije minute.

Iz birete u vrelu tekućinu postupno dodavati otopinu šećera sve dok plava boja Fehlingove otopine ne postane jedva vidljiva; potom dodati 2-3 kapljice otopine metilena-plavog kao indikatora i dovršiti titraciju dodajući još otopine šećera, kap po kap, sve dok plava boja indikatora ne nestane.

Zbog točnijih rezultata titraciju ponoviti u istim uvjetima, ali uz dodavanje odjednom gotovo cijele otopine šećera potrebne za redukciju Fehlingove otopine. Prilikom druge titracije redukcija Fehlingove otopine bi se trebala dogoditi unutar tri minute. Otopinu kuhati još točno dvije minute, dodavajući unutar jedne minute kap po kap reagensa, sve dok plave boje ne nestane.

Maseni udio škroba u uzorku određuje se sljedećom formulom:

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

pri čemu je:

T: količina bezvodne dekstroze u gramima, što odgovara 10 ml Fehlingove otopine (5 ml otopine A i 5 ml otopine B). Ovaj titar odgovara 0,04945 g bezvodne dekstroze kada otopina A sadrži 17,636 g bakra po litri;

n: je količina otopine šećera korištene za titraciju, u ml;

p: je masa uzorka u gramima;

0,95: je faktor za pretvaranje bezvodne dekstroze u škrob.

IV. PRIPREMA FEHLINGOVIH OTOPINA

Otopina A: u odmjernoj tikvici otopiti 69,278 g čistog kristalnog bakrenog sulfata – analitički reagens ($CuSO_4$ $5H_2O$) – u kojem nema željeza u destiliranoj vodi i destiliranom vodom dopuniti do 1 l. Točna koncentracija otopine mora se provjeriti kvantitativnim određivanjem bakra.

Otopina B: u odmjernoj tikvici otopiti 100 g natrijevog hidroksida i 346 g dvostrukog natrij-kalijevog tartarata (Rochelleova sol) u destiliranoj vodi te destiliranom vodom dopuniti do 1 l.

Neposredno prije upotrebe otopine A i B izmiješati u jednakim količinama. 10 ml Fehlingove otopine (5 ml otopine A i 5 ml otopine B) je u cijelosti reducirana, pod uvjetima opisanim u odjeljku III., korištenjem 0,04945 g bezvodne dekstroze.

PRILOG III.

Otkrivanje brašna od obične pšenice ili krupice u makaronima, špagetima i sličnim proizvodima (tjestenine)

(Youngova i Gillesova metoda, izmijenjena od strane Bernaertsa i Grunera)

I. NAČELO

Pripremiti ekstrakt iz uzorka tjestenine koji se analizira koristeći nepolarno otapalo.

Ovaj ekstrakt se kromatografira na tankom sloju silikonskoga gela kako bi se prisutni steroli rastavili na različite frakcije u obliku traka.

Ovisno o broju traka žarkih boja može se odrediti je li proizvod koji se ispituje izrađen isključivo od brašna od tvrde pšenice ili obične pšenice ili iz mješavine ta dva brašna. Isto tako je moguće odrediti jesu li dodana jaja.

II. UREĐAJI I REAGENSI

1. Homogenizator ili mlinac kako bi se dobila mljevena mješavina koja prolazi kroz standardno sito s promjerom otvora na mrežici od 0,200 mm;

2. Standardno sito s promjerom otvora na mrežici od 0,200 mm;

3. Isparivač s vodenom kupelji za isparavanje pod smanjenim tlakom;

4. Staklena ploča, aluminijska folija ili druga prikladna podloga veličine 20 cm × 20 cm, prekrivena tankim slojem silikonskoga gela. Za samostalnu pripremu ovog sloja treba koristiti silikonski gel pomiješan s oko 13 % gipsa i nanijeti ga u sloju debljine 0,25 mm, koristeći odgovarajuće uređaje u skladu s uputama proizvođača;

5. Mikropipeta za mjerenje 20 mikrolitara;

6. Posudu s poklopcem za razvijanje kromatograma;

7. Raspršivač;

8. Petroleter, vrelišta od 40 do 60 °C, koji se prije uporabe ponovno destilira;

9. Bezvodni etileter za analizu;

10. Ugljikov tetraklorid za kromatografiju koji se prije uporabe ponovno destilira;

11. Fosformolibdenska kiselina za analizu;

12. Etilni alkohol 94 % vol.

III. METODA

Zdrobiti oko 20 grama uzorka za analizu tako da se sva količina prosije kroz sito. Uzorak staviti u Erlenmeyerovu tikvicu i pokriti sa 150 ml petroletera. Ostaviti da stoji na sobnoj temperaturi do idućeg dana. S vremena na vrijeme protresti.

Zatim filtrirati kroz Büchnerov lijevak s ugrađenim filterom ili kroz sinterirani filter. Tako dobivenu bistru tekućinu postupno prebacivati u odmjernu tikvicu od 100 ml. Ostaviti otapalo da ispari pod smanjenim tlakom zagrijavanjem tikvice u vodenoj kupelji pri 40 do 50 °C. Kada otapalo ispari, zagrijati pod smanjenim tlakom još 10 minuta.

Nakon što se tikvica ohladi, odrediti masu ekstrakta. Ekstrakt otopiti u etileteru tako da se na svakih 60 mg ekstrakta doda 1 ml etiletera.

Tanke slojeve aktivirati zagrijavajući ih tri sata na 130 °C. Ohladiti u eksikatoru koji sadrži silikonski gel. Ploče koje se ne upotrijebe odmah mogu se čuvati u istom eksikatoru.

Na sloj koji je po mogućnosti netom aktiviran nanijeti 20 mikrolitara bistre otopine u obliku trake nepromjenjive širine i dužine 3 cm, koju čine kapljice raspoređene jedna pokraj druge. Ostaviti otapalo da ispari.

Kromatogram razviti pri sobnoj temperaturi uz pomoć ugljikovog tetraklorida u posudi za razvijanje kromatograma, čije su stjenke pokrivene filtar papirom natopljenim u otapalu. Nakon otprilike jednog sata otapalo dostiže visinu od 18 cm. Ploču izvaditi i ostaviti otapalo da ispari na zraku. Kako bi se trake bolje razdvojile, kromatogram se može razviti još jednom. Ponovno ostaviti otapalo da ispari na zraku.

Poprskati tanak sloj silikonskoga gela 20 %-tnom otopinom fosformolibdenske kiseline u etilnom alkoholu. Boja sloja mora biti ujednačeno žuta. Trake razviti tako što se poprskana ploča pet minuta zagrijava na 110 °C.

IV. TUMAČENJE KROMATOGRAMA

Ako se na kromatogramu pojavi samo jedna žarko obojena traka Rf-vrijednosti od oko 0,4 do 0.5, u izradi predmetne tjestenine se koristilo brašno od tvrde pšenice. Ako se pak pojave dvije trake jednake svjetline, kao sirovina se koristilo brašno od obične pšenice. Mješavina brašna od tvrde pšenice i obične pšenice može se procijeniti evaluacijom relativne svjetline dviju traka.

Ako se pojave tri trake (dvije u visini na kojoj se trebaju naći glavne trake za brašno od obične pšenice, s još jednom trakom koja se nalazi između njih), u tjesteninu su dodana jaja. U tom slučaju, ako je traka u sredini svjetlija od gornje trake, kao sirovina se koristilo brašno od tvrde pšenice. S druge strane, ako je gornja traka svjetlija od trake u sredini, kao sirovina se koristilo brašno od obične pšenice.

PRILOG IV.

Uredba stavljena izvan snage s izmjenama

Uredba Komisije (EEZ) br. 4154/87	(SL L 392, 31.12.1987., str. 19.).
Uredba Komisije (EZ) br. 203/98	(SL L 21, 28.1.1998., str. 6.).

PRILOG V.

Korelacijska tablica

Uredba (EEZ) br. 4154/87	Ova Uredba
Članci od 1. do 4.	Članci od 1. do 4.
Članak 5.	—
—	Članak 5.
Članak 6.	Članak 6.
Prilozi I., II. i III.	Prilozi I., II. i III.
—	Prilog IV.
—	Prilog V.