REGOLAMENT TA' IMPLIMENTAZZJONI TAL-KUMMISSJONI (UE) 2019/1604

tas-27 ta' Settembru 2019

li jemenda r-Regolament (KEE) Nru 2568/91 dwar il-karatteristiċi taż-żejt taż-żebbuġa u l-fdal taż-żejt taż-żebbuġa u dwar il-metodi ta' analiżi rilevanti

IL-KUMMISSJONI EWROPEA,

Wara li kkunsidrat it-Trattat dwar il-Funzjonament tal-Unjoni Ewropea,

Wara li kkunsidrat ir-Regolament (UE) Nru 1308/2013 tal-Parlament Ewropew u tal-Kunsill tas-17 ta' Diċembru 2013 li jistabbilixxi organizzazzjoni komuni tas-swieq fi prodotti agrikoli u li jħassar ir-Regolamenti tal-Kunsill (KEE) Nru 922/72, (KEE) Nru 234/79, (KE) Nru 1037/2001 u (KE) Nru 1234/2007 ([1]), u b'mod partikolari l-punt (d) tal-ewwel paragrafu tal-Artikolu 91 tiegħu,

Billi:

(1) Ir-Regolament tal-Kummissjoni (KEE) Nru 2568/91 ([2]) jiddefinixxi l-karatteristiċi fiżikokimiċi u organolettiċi taż-żejt taż-żebbuġa u taż-żejt mir-residwi taż-żebbuġ u jistabbilixxi l-metodi għall-valutazzjoni ta' dawk il-karatteristiċi.

(2) Il-metodi u l-valuri ta' limitu għall-karatteristiki taż-żjut għandhom jiġu aġġornati abbażi tal-opinjoni tal-esperti kimiċi u skont il-ħidma mwettqa fi ħdan il-Kunsill Internazzjonali taż-Żebbuġ (l-IOC).

(3) Sabiex tiġi żgurata l-implimentazzjoni fil-livell tal-Unjoni tal-aktar standards internazzjonali riċenti li ġew stabbiliti mill-IOC, ċerti metodi ta' analiżi stabbiliti fir-Regolament (KEE) Nru 2568/91 għandhom jiġu aġġornati.

(4) L-istandard tal-Kummerċ tal-IOC ġie emendat fir-rigward tal-espressjoni tal-limitu tal-aċidità libera, tal-valur tal-perossidu, tal-evalwazzjoni organolettika (il-medjan tad-difett u l-valur medjan tal-attribut tat-togħma tal-frott) u tad-differenza bejn ECN42 (HPLC) u ECN42 (kalkolu teoretiku) għall-konsistenza mal-valuri ta' preċiżjoni tal-metodu analitiku.

(5) F'konformità mal-Artikolu 2a(5) tar-Regolament (KEE) Nru 2568/91, l-Istati Membri għandhom jivverifikaw jekk kampjun taż-żejt taż-żebbuġa jkunx konsistenti mal-kategorija ddikjarata billi jiġu vverifikati l-karatteristiċi stabbiliti fl-Anness I ta' dak ir-Regolament jew f'kull ordni jew skont l-ordni stabbilita f'dijagramma tad-deċiżjonijiet stabbilita fl-Anness Ib tiegħu.

(6) Fid-dawl tal-iżviluppi riċenti, huwa xieraq li jiġu aġġornati t-tabelli fl-Anness Ib tar-Regolament (KEE) Nru 2568/91 u l-appendiċi tiegħu kif xieraq. Jidher ukoll li t-terminu "dijagramma sekwenzjali" huwa aktar xieraq mit-terminu "dijagramma tad-deċiżjonijiet" fid-dawl tal-kontenut ta' dak l-Anness Ib.

(7) Il-punt 9.4 tal-Anness XII tar-Regolament (KEE) Nru 2568/91 jiddefinixxi l-medjan tad-difetti bħala l-medjan tad-difett innutat bl-akbar intensità. Fil-kuntest ta' kontrovalutazzjonijiet u minħabba li bordijiet differenti jridu jivvalutaw il-konformità taż-żejt, għandu jiġi ċċarat li d-deċiżjoni dwar il-konformità tal-karatteristiċi ta' żejt tal-kategorija ddikjarata hija relatata biss mal-valur medjan tad-difett ewlieni, irrispettivament min-natura tiegħu.

(8) Ir-Regolament (KEE) Nru 2568/91 għandu għaldaqstant jiġi emendat skont dan.

(9) Il-miżuri previsti f'dan ir-Regolament huma skont l-opinjoni tal-Kumitat għall-Organizzazzjoni Komuni tas-Swieq Agrikoli,

ADOTTAT DAN IR-REGOLAMENT:

Artikolu 1

Ir-Regolament (KEE) Nru 2568/91 huwa emendat kif ġej:

(1) L-Artikolu 2 huwa emendat kif ġej:

(a) il-punt (l) tal-paragrafu (1) huwa sostitwit b'dan li ġej:

"(l) biex jiġu ddeterminati l-kompożizzjoni u l-kontenut tal-isteroli, u biex jiġu ddeterminati l-komposti alkoħoliċi, permezz tal-kromatografija b'faži gassuża f'kolonna kapillari, il-metodu spjegat fl-Anness XIX";

([1]) ĠU L 347, 20.12.2013, p. 671.

([2]) Ir-Regolament tal-Kummissjoni (KEE) Nru 2568/91 tal-11 ta' Lulju 1991 dwar il-karatteristiċi taż-żejt taż-żebbuġa u l-fdal taż-żejt taż-żebbuġa u dwar il-metodi ta' analiżi rilevanti (ĠU L 248, 5.9.1991, p. 1).

(b) it-tielet subparagrafu tal-paragrafu 2 huwa sostitwit b'dan li ġej:

"Jekk il-bord ma jikkonfermax il-kategorija ddikjarata fir-rigward tal-karatteristiċi organolettiċi, fuq talba tal-parti interessata, l-awtoritajiet nazzjonali jew ir-rappreżentanti tagħhom għandhom iwettqu żewġ kontrovalutazzjonijiet permezz ta' bordijiet approvati oħrajn mingħajr dewmien. Mill-inqas wieħed mill-bordijiet għandu jkun bord approvat mill-Istat Membru produttur konċernat. Il-karatteristiċi kkonċernati għandhom jitqiesu konformi mal-karatteristiċi ddikjarati jekk iż-żewġ kontrovalutazzjonijiet jikkonfermaw il-grad iddikjarat. Jekk dan ma jkunx il-każ, irrispettivament mit-tip ta' difetti determinati matul il-kontrovalutazzjonijiet, il-klassifikazzjoni għandha tiġi ddikjarata bħala inkonsistenti mal-karatteristiċi u l-parti interessata għandha tkun responsabbli għall-ispejjeż tal-kontrovalutazzjonijiet.";

(2) il-punt (b) tal-Artikolu 2a(5) huwa sostitwit b'dan li ġej:

"(b) wara l-ordni stabbilita fl-Anness Ib fuq id-dijagramma sekwenzjali, sakemm tintlaħaq waħda mid-deċiżjonijiet li jidhru fid-dijagramma sekwenzjali.";

(3) it-tabella "Sommarju tal-ANNESSI" hija sostitwita bit-tabella tal-Anness I ta' dan ir-Regolament;

(4) l-Anness I jinbidel bit-test tal-Anness II ta' dan ir-Regolament;

(5) il-Punt 2.1 tal-Anness Ia huwa sostitwit b'dan li ġej:

"2.1. Kull kampjun primarju għandu jinqasam mill-ġdid f'kampjuni tal-laboratorju, skont il-punt 2.5 tal-istandard EN ISO 5555, u jiġi analizzat fl-ordni mogħtija fid-dijagramma sekwenzjali stipulata fl-Anness Ib jew f'xi ordni aleatorja oħra.";

(6) l-Anness Ib jinbidel bit-test tal-Anness III ta' dan ir-Regolament;

(7) l-Anness V jitħassar;

(8) il-punt 4.2 tal-Anness VII huwa sostitwit b'dan li ġej:

"4.2. n-hexane (grad ta' kromatografija). L-eżan jista' jiġi sostitwit bl-iso-ottan (2,2,4-trimetil pentan fi grad tal-kromatografija), dejjem jekk jinkisbu valuri ta' preċiżjoni komparabbli.";

(9) l-Anness XII hu emendat skont l-Anness IV ta' dan ir-Regolament;

(10) l-Anness XVII huwa emendat f'konformità mal-Anness V ta' dan ir-Regolament;

(11) l-Anness XVIII hu emendat f'konformità mal-Anness VI ta' dan ir-Regolament;

(12) l-Anness XIX huwa sostitwit bit-test tal-Anness VII ta' dan ir-Regolament;

(13) il-punt 4.2 tal-Anness XX huwa sostitwit b'dan li ġej:

"4.2. n-essan, grad ta' kromatografija jew grad tal-fdal. L-eżan jista' jiġi sostitwit bl-iso-ottan (2,2,4-trimetil pentan fi grad tal-kromatografija), dejjem jekk jinkisbu valuri ta' preċiżjoni komparabbli. Solventi b'punt tat-togħlija ogħla minn n-eżan jieħdu aktar żmien biex jevaporaw. Madankollu, huma preferuti minħabba t-tossiċità tal-eżan. Il-purità trid tiġi vverifikata; pereżempju, jista' jiġi kkontrollat ir-residwu li jibqa' mill-evaporazzjoni ta' 100 ml tas-solvent.

TWISSIJA – Il-fwar jista' jieħu n-nar. Żomm 'il bogħod minn sorsi ta' sħana, xrarat jew fjammi mikxufa. Kun ċert li l-fliexken dejjem jingħalqu tajjeb. Matul l-użu, ara li jkun hemm ventilazzjoni tajba. Evita li jinġemalfwar u neħħi kull periklu possibbli ta' nar, bħal heaters jew tagħmir elettriku mhux manifatturat minn materjal li ma jiħux nar. Jekk jittieħed man-nifs huwa perikuluż, għax jista' jikkawża ħsara fiċ-ċelloli tan-nervituri. Evita li tibla' l-fwar. Uża apparat respiratorju adattat jekk hemm bżonn. Evita l-kuntatt mal-għajnejn jew mal-ġilda.

L-iso-ottan huwa likwidu li jieħu n-nar, u jaf jikkaġuna n-nirien. Il-limiti ta' splużjoni fl-arja huma bejn 1,1 % u 6,0 % (frazzjoni tal-volum). Huwa tossiku meta jinbela' u meta jidħol mill-imnifsejn. Uża hood ventilat f'kundizzjoni operattiva tajba biex taħdem b'dan is-solvent.".

Artikolu 2

Dan ir-Regolament għandu jidħol fis-seħħ fl-għoxrin jum wara dak tal-pubblikazzjoni tiegħu f'*Il-Ġurnal Uffiċjali tal-Unjoni Ewropea*.

Dan ir-Regolament għandu jorbot fl-intier tiegħu u japplika direttament fl-Istati Membri kollha.

Magħmul fi Brussell, is-27 ta' Settembru 2019.

Għall-Kummissjoni

Il-President

Jean-Claude JUNCKER

ANNESS I

"*ANNESSI*

SOMMARJU

Anness I	Karatteristiki taż-żejt taż-żebbuġa
Anness Ia	It-teħid ta' kampjuni taż-żejt taż-żebbuġa jew taż-żejt mir-residwi taż-żebbuġ mogħtija f'pakketti għall- konsum
Anness Ib	Dijagramma sekwenzjali biex jiġi vverifikat jekk kampjun taż-żejt taż-żebbuġa huwiex konsistenti mal-kategorija ddikjarata jew le
Anness II	Determinazzjoni tal-aċidi grassi liberi, metodu fil-kiesaħ
Anness III	Determinazzjoni tal-valur tal-perossidu
Anness IV	Determinazzjoni tal-kontenut tax-xama' permezz tal-kromatografija b'fażi gassuża f'kolonna kapillari
Anness VII	Determinazzjoni tal-perċentwal ta' 2-gliceril monopalmitat
Anness IX	Investigazzjoni spettrofotometrika fl-ultravjola
Anness X	Determinazzjoni tal-esteri metiliċi tal-aċidi xaħmin permezz tal-kromatografija b'fażi gassuża
Anness XI	Determinazzjoni tal-kontenut ta' solventi volatili aloġinati fiż-żejt taż-żebbuġa
Anness XII	Il-metodu tal-kunsill internazzjonali taż-żebbuġ għall-valutazzjoni organolettika taż-żejt taż-żebbuġa verġni
Anness XV	Kontenut ta' żejt tal-fdal taż-żebbuġ
Anness XVI	Determinazzjoni tal-valur tal-jodju
Anness XVII	Metodu għad-determinazzjoni tas-stigmastadienes fiż-żjut tal-ħaxix
Anness XVIII	Determinazzjoni tad-differenza bejn il-kontenut attwali u teoretiku tat-triaċiligliċeroli mal-ECN 42
Anness XIX	Determinazzjoni tal-kompożizzjoni u tal-kontenut tal-isteroli u tal-komposti alkoħoliċi permezz ta' kromatografija b'fażi gassuża f'kolonna kapillari
Anness XX	Metodu biex jiġi determinat il-kontenut ta' xema', esteri metiliċi tal-aċidi xaħmin, u esteri etiliċi tal-aċidi xaħmin permezz ta' kromatografija b'fażi gassuża f'kolonna kapillari
Anness XXI	Riżultati tal-verifiki tal-konformità mwettqa fuq iż-żjut taż-żebbuġa msemmija fl-Artikolu 8(2)"

ANNESS II

"ANNESS I

KARATTERISTIKI TAŻ-ŻEJT TAŻ-ŻEBBUĠA

Karatteristiki tal-kwalità

Kategorija	Aċidità (%) (*)	Valur tal-perossidu (mEq O_2/kg)	K_{232}	K_{268} jew K_{270}	Delta-K	Evalwazzjoni organolettika		Esteri etiliċi tal-aċidi xaħmin (mg/kg)
						Valur medjan tad-difett (Md) (*)	Valur medjan tat-togħma ta' frott (Mf)	
1. Żejt taż-żebbuġa straverġni	≤ 0,80	≤ 20,0	≤ 2,50	≤ 0,22	≤ 0,01	Md = 0,0	Mf > 0,0	≤ 35
2. Żejt taż-żebbuġa verġni	≤ 2,0	≤ 20,0	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,01	Md ≤ 3,5	Mf > 0,0	—
3. Żejt taż-żebbuġ lampante	> 2,0	—	—	—	—	Md> 3,5 (1)	—	—
4. Żejt taż-żebbuġa raffinat	≤ 0,30	≤ 5,0	—	≤ 1,25	≤ 0,16		—	—
5. Żejt taż-żebbuġa magħmul minn żejt taż-żebbuġa raffinat u żjut taż-żebbuġa verġni	≤ 1,00	≤ 15,0	—	≤ 1,15	≤ 0,15		—	—
6. Żejt mhux raffinat mir-residwi taż-żebbuġ	—	—	—	—	—		—	—
7. Żejt raffinat mir-residwi taż-żebbuġ	≤ 0,30	≤ 5,0	—	≤ 2,00	≤ 0,20		—	—
8. Żejt mir-residwi taż-żebbuġ	≤ 1,00	≤ 15,0	—	≤ 1,70	≤ 0,18		—	—

(1) Il-medjan tad-difett jista' jkun ta' 3,5 jew inqas meta l-medjan tat-togħma ta' frott huwa ta' 0,0.

Karatteristiċi tal-purità

Kategorija	Kompożizzjoni ta' aċidi xaħmin (1)						Ammont totali ta' isomeri transolejċi (%)	Total ta' isomeri linolejċi + translinoleniċi (%)	Stigmastadienes (mg/kg) (2)	Differenza: ECN42 (HPLC) u ECN42 (kalkolu teoretiku)	2-gliċeril monopalmitat (%)
	Miristiku (%)	Linoleniku (%)	Arakidiku (%)	Ejkosenojku (%)	Beeniku (%)	Linjoċeriku (%)					
1. Żejt taż-żebbuġa straverġni	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,50	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ |0,20|	≤ 0,9 jekk il-perċentwal totali ta' aċidu palmitiku jkun ≤ 14,00 % ≤ 1,0 jekk il-perċentwal totali ta' aċidu palmitiku jkun ta' > 14,00 %
2. Żejt taż-żebbuġa verġni	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,50	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ |0,20|	≤ 0,9 jekk il-perċentwal totali ta' aċidu palmitiku jkun ≤ 14,00 % ≤ 1,0 jekk il-perċentwal totali ta' aċidu palmitiku jkun ta' > 14,00 %
3. Żejt taż-żebbuġ lampante	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,50	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,10	≤ 0,10	≤ 0,50	≤ |0,30|	≤ 0,9 jekk il-perċentwal totali ta' aċidu palmitiku jkun ≤ 14,00 % ≤ 1,1 jekk il-perċentwal totali ta' aċidu palmitiku jkun > 14,00 %
4. Żejt taż-żebbuġa raffinat	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,50	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,30	—	≤ |0,30|	≤ 0,9 jekk il-perċentwal totali ta' aċidu palmitiku jkun ≤ 14,00 % ≤ 1,1 jekk il-perċentwal totali ta' aċidu palmitiku jkun ta' > 14,00 %
5. Żejt taż-żebbuġa magħmul minn żejt taż-żebbuġa raffinat u żjut taż-żebbuġa verġni	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,50	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,30	—	≤ |0,30|	≤ 0,9 jekk il-perċentwal totali ta' aċidu palmitiku jkun ta' > 14,00 % ≤ 1,0 jekk il-perċentwal totali ta' aċidu palmitiku jkun > 14,00 %
6. Żejt mhux raffinat mir-residwi taż-żebbuġ	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,50	≤ 0,30	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,10	—	≤ |0,60|	≤ 1,4
7. Żejt raffinat mir-residwi taż-żebbuġ	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,50	≤ 0,30	≤ 0,20	≤ 0,40	≤ 0,35	—	≤ |0,50|	≤ 1,4
8. Żejt mir-residwi taż-żebbuġ	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,50	≤ 0,30	≤ 0,20	≤ 0,40	≤ 0,35	—	≤ |0,50|	≤ 1,2

(1) Kontenut ta' aċidi xaħmin oħrajn (%): palmitiku: 7,50-20,00; palmitolejku: 0,30-3,50; ettadekanojku: ≤ 0,40; ettadekanojku ≤ 0,60; steariku: 0,50-5,00; olejku: 55,00- 83,00; linolejku: 2,50-21,00.

(2) L-isomeri kollha li setgħu (jew li ma setgħux) jiġu separati permezz tal-kolonna kapillari.

Kategorija	Kompożizzjoni tal-isteroli						Total ta' steroli (mg/kg)	Eritrodijol u uvaol (%) (**)	Xama' (mg/kg) (**)
	Kolesterol (%)	Brassikasterol (%)	Kampesterol (1) (%)	Stigmasterol (%)	App β-sitosterol (2) (%)	Delta-7-stigmastenol (1) (%)			
1. Żejt taż-żebbuġa straverġni	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5	$C_{42} + C_{44} + C_{46} \leq 150$
2. Żejt taż-żebbuġa verġni	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5	$C_{42} + C_{44} + C_{46} \leq 150$
3. Żejt taż-żebbuġ lampante	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5 (3)	$C_{40} + C_{42} + C_{44} + C_{46} \leq 300$ (3)
4. Żejt taż-żebbuġa raffinat	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5	$C_{40} + C_{42} + C_{44} + C_{46} \leq 350$
5. Żejt taż-żebbuġa magħmul minn żejt taż-żebbuġa raffinat u żjut taż-żebbuġa verġni	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5	$C_{40} + C_{42} + C_{44} + C_{46} \leq 350$
6. Żejt mhux raffinat mir-residwi taż-żebbuġ	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 2 500	> 4,5 (4)	$C_{40} + C_{42} + C_{44} + C_{46} > 350$ (4)
7. Żejt raffinat mir-residwi taż-żebbuġ	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< Kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 800	> 4,5	$C_{40} + C_{42} + C_{44} + C_{46} > 350$
8. Żejt mir-residwi taż-żebbuġ	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< Kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 600	> 4,5	$C_{40} + C_{42} + C_{44} + C_{46} > 350$

(1) Ara l-Appendiċi ta' dan l-Anness.

(2) App β-sitosterol: Delta-5,23-stigmastadjenol+klerosterol+beta-sitosterol+sitostanol+delta-5-avenasterol+delta-5,24-stigmastadjenol.

(3) Iż-żjut li jkollhom bejn 300 mg/kg u 350 mg/kg ta' xama' jitqiesu bħala żjut taż-żebbuġa lampante jekk il-kontenut totali ta' alkoħol alifatiku jkun ta' 350 mg/kg jew inqas jew jekk il-kontenut tagħhom ta' eritrodiol u uvaol ikun ta' 3,5 % jew inqas.

(4) Iż-żjut li jkollhom bejn 300 mg/kg u 350 mg/kg ta' xama' jitqiesu bħala żjut mhux raffinati mir-residwi taż-żebbuġ jekk il-kontenut totali ta' alkoħol alifatiku jkun ta' aktar minn 350 mg/kg u jekk il-kontenut tal-eritrodiol u l-uvaol fihom ikun ta' aktar minn 3,5 %.

Noti:

(a) Ir-riżultati tal-analiżijiet għandhom jingħataw bl-istess għadd ta' ċifri wara l-punt deċimali bħal dak użat għal kull karatteristika. L-aħħar ċifra trid tiżdied b'unità waħda jekk iċ-ċifra ta' warajha tkun ta' iktar minn 4.

(b) Jekk karatteristika waħda biss ma tkunx konformi mal-valuri ddikjarati, għall-għanijiet ta' dan ir-Regolament, il-kategorija taż-żejt tista' tinbidel jew iż-żejt jista' jiġi ddikjarat bħala mhux konformi.

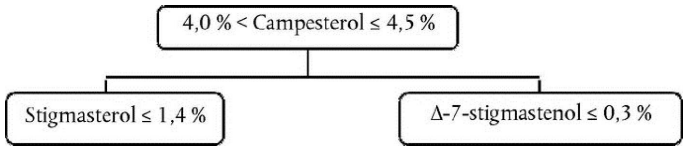
(c) Għaż-żejt taż-żebbuġa lampante, iż-żewġ karatteristiċi tal-kwalità mmarkati b'asterisk (*) jistgħu jvarjaw b'mod simultanju mil-limiti stabbiliti għal dik il-kategorija.

(d) Jekk karatteristika tkun immarkata b'żewġ asterisks (**), dan ifisser li għaż-żejt mhux raffinat mir-residwi taż-żebbuġ, huwa possibbli li ż-żewġ limiti rilevanti jkunu differenti mill-valuri ddikjarati fl-istess ħin. Għaż-żejt mir-residwi taż-żebbuġ u għaż-żejt raffinat mir-residwi taż-żebbuġ wieħed mil-limiti rilevanti jista' jkun differenti mill-valuri ddikjarati.

Appendiċi

Siġar tad-deċiżjonijiet

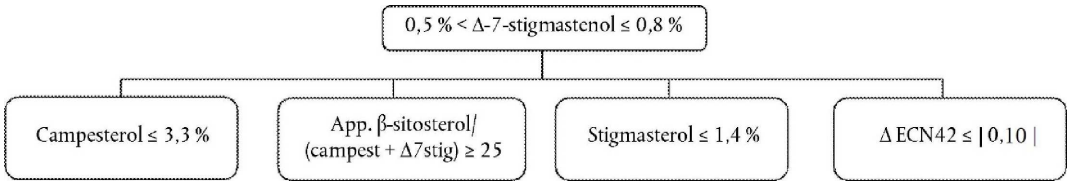
Dijagramma tad-deċiżjonijiet għall-**kampesterol** għaż-għaż-żjut taż-żebbuġa verġni u straverġni:



Il-parametri l-oħra għandhom ikunu konformi mal-limiti stabbiliti f'dan ir-Regolament.

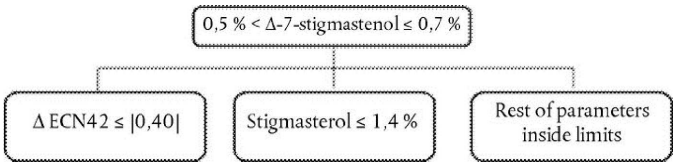
Siġra tad-deċiżjonijiet ta' **Delta-7-stigmastenol** għal:

— Żjut taż-żebbuġa straverġni u verġni



Il-parametri l-oħra għandhom ikunu konformi mal-limiti stabbiliti f'dan ir-Regolament.

— Żjut mir-residwi taż-żebbuġ (mhux raffinati u raffinati)



Il-parametri l-oħra għandhom ikunu konformi mal-limiti stabbiliti f'dan ir-Regolament."

ANNESS III

"ANNESS Ib

DIJAGRAMMA SEKWENZJALI BIEX JIĠI VVERIFIKAT JEKK KAMPJUN TAŻ-ŻEJT TAŻ-ŻEBBUĠA HUWIEX KONSISTENTI MAL-KATEGORIJA DDIKJARATA JEW LE

Tabella ġenerali

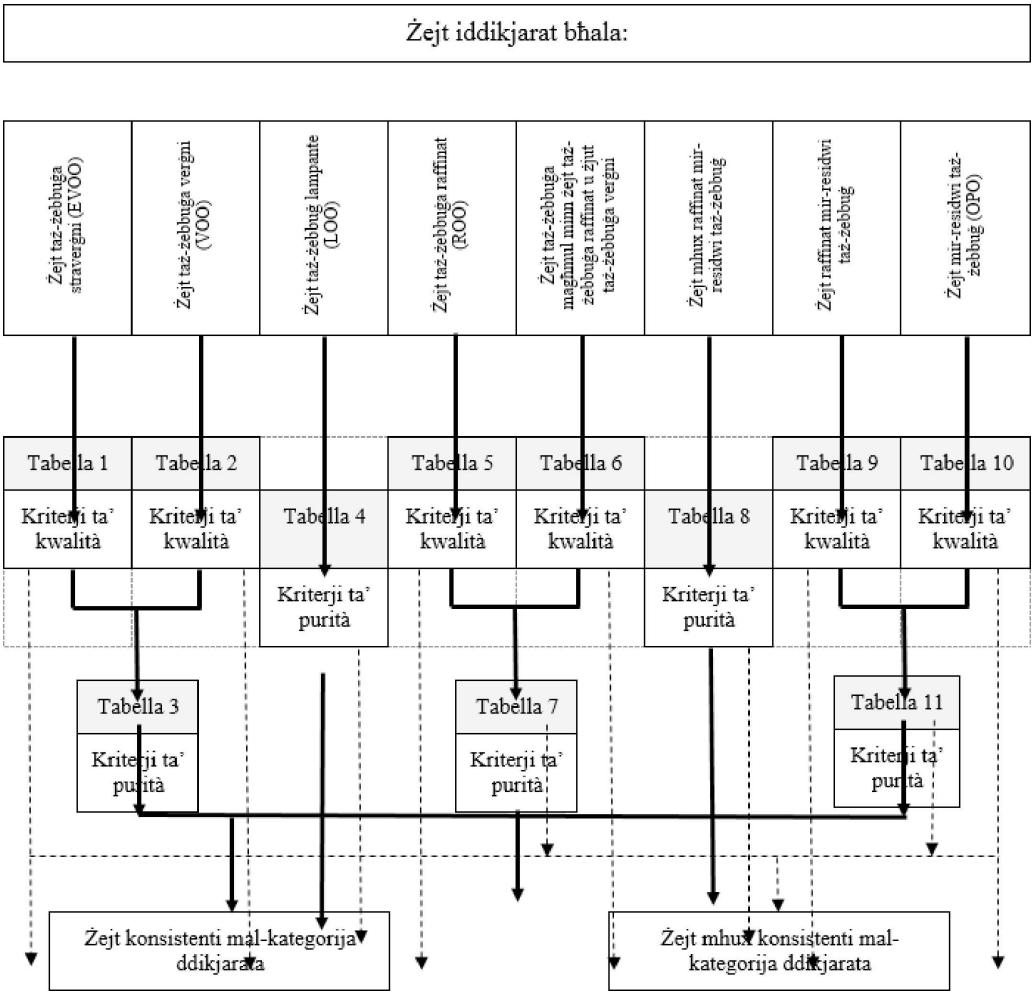


Tabella 1 — Żejt taż-Żebbuġa Straverġini — Kriterji ta' kwalità

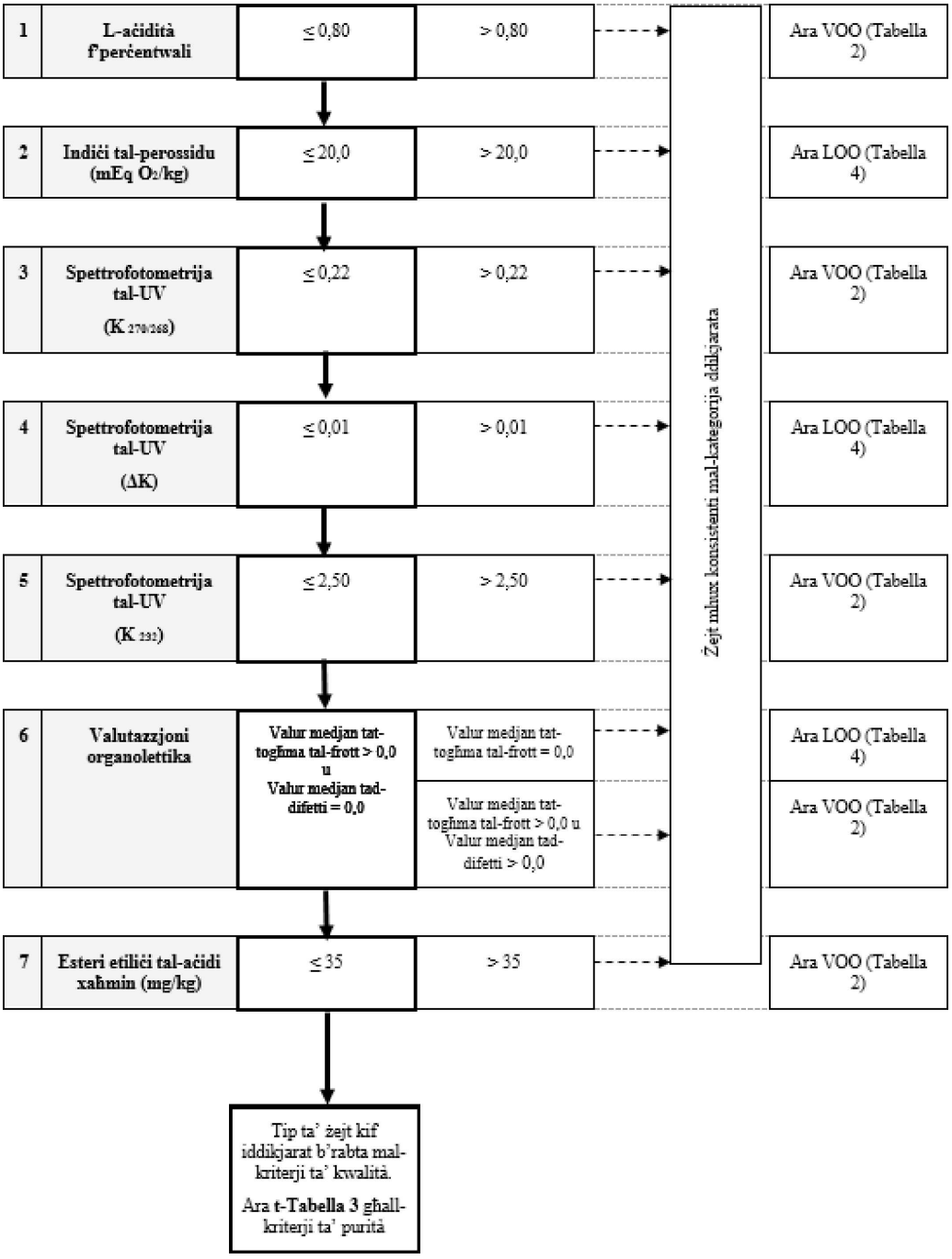


Tabella 2 — Żejt taż-Żebbuġa Verġni — Kriterji ta' kwalità

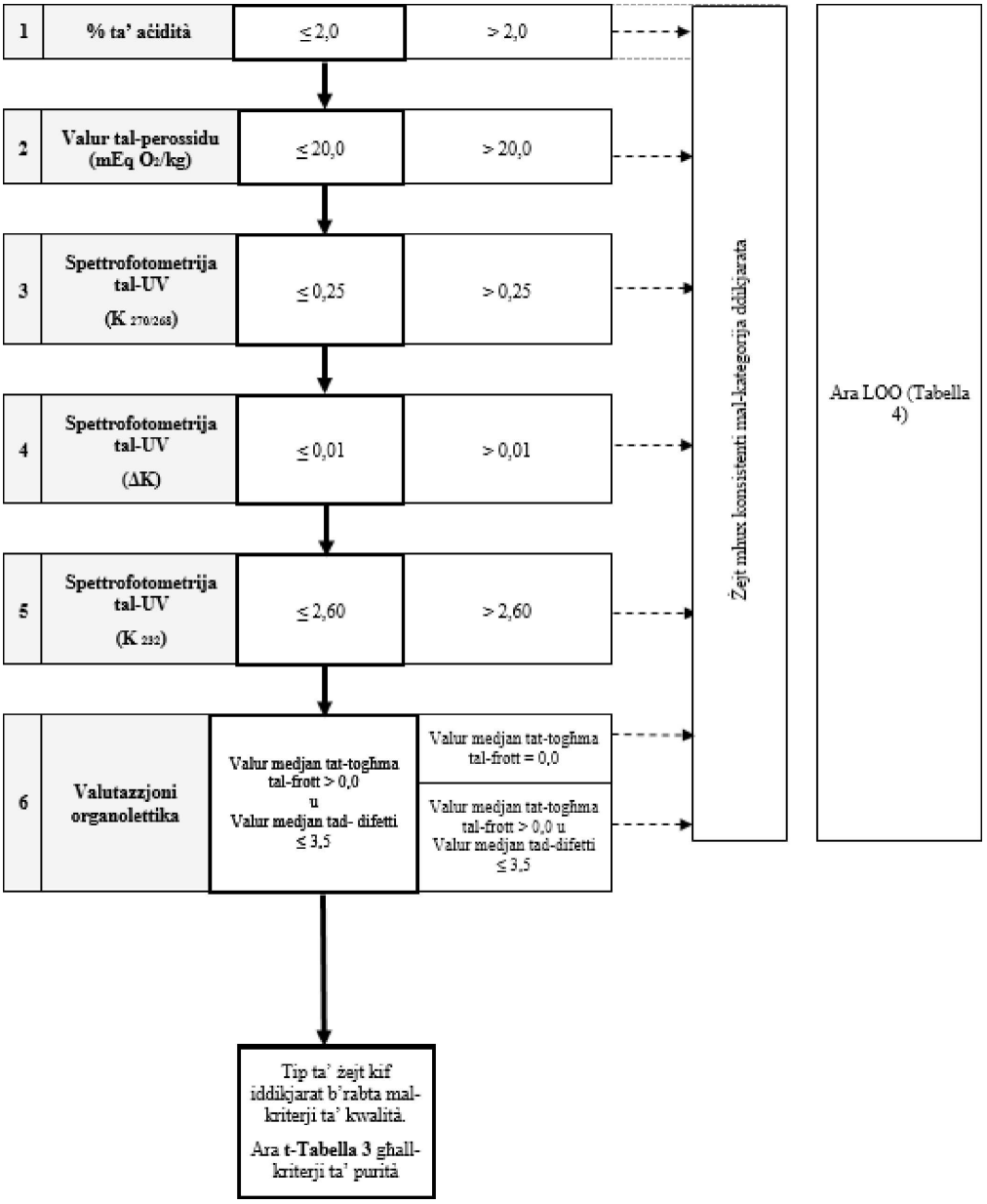


Tabella 3 — Żejt taż-Żebbuġa Straverġini u Żejt taż-Żebbuġa Verġni — Kriterji ta' purità

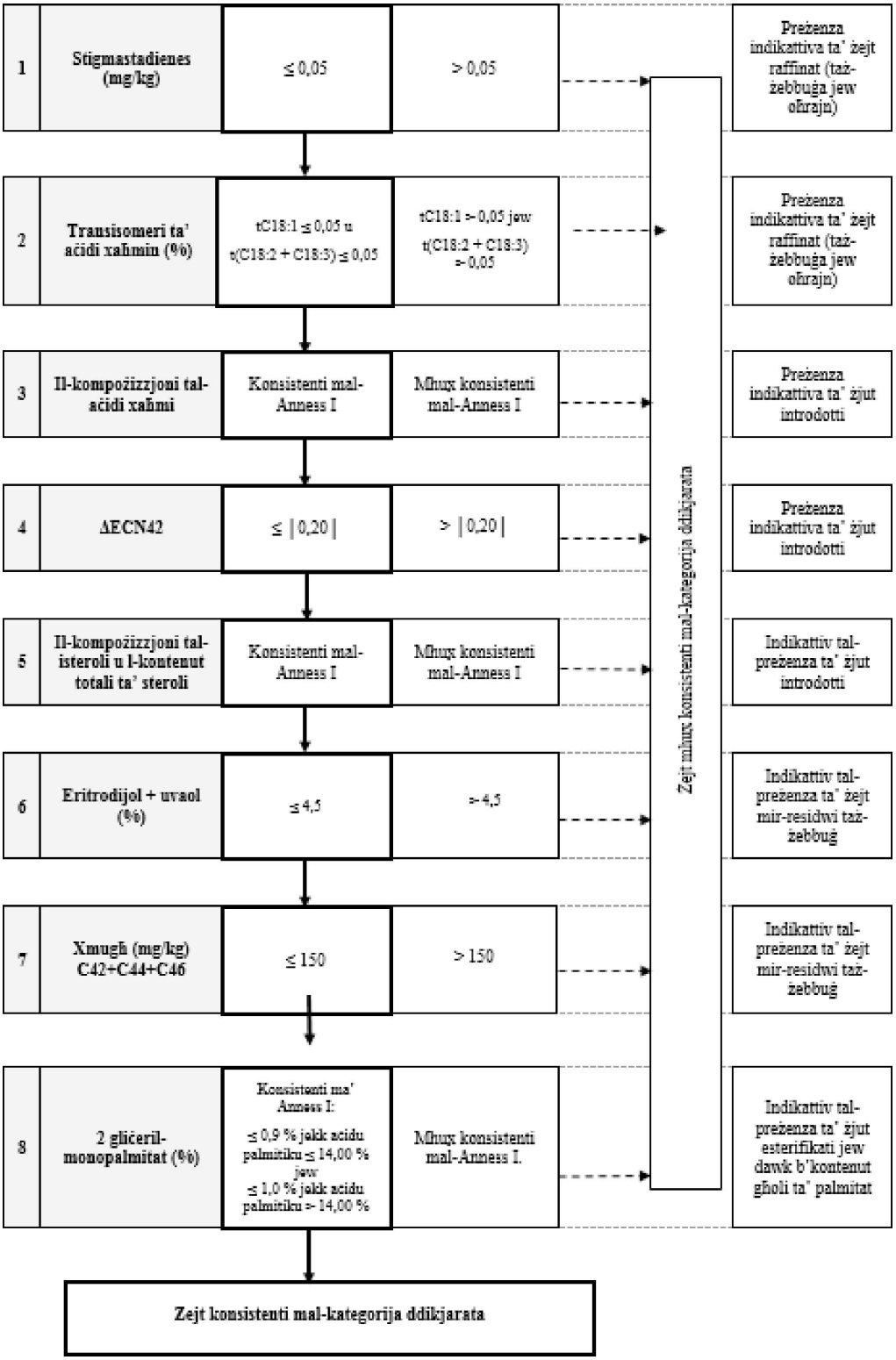


Tabella 4 — Żejt taż-Żebbuġa Lampante — Kriterji ta' purità

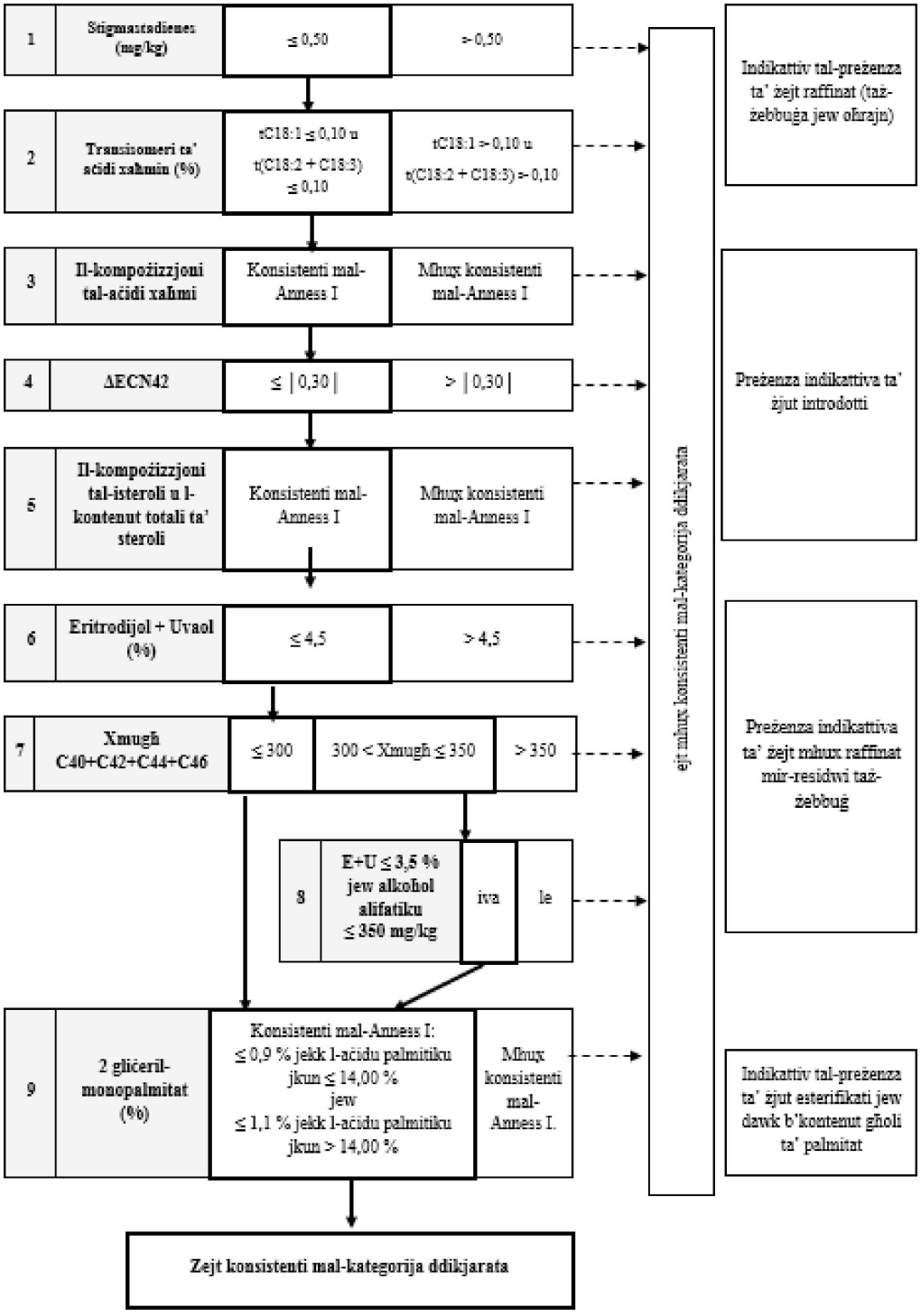


Tabella 5 — Żejt taż-Żebbuġa Raffinat — Kriterji ta' kwalità

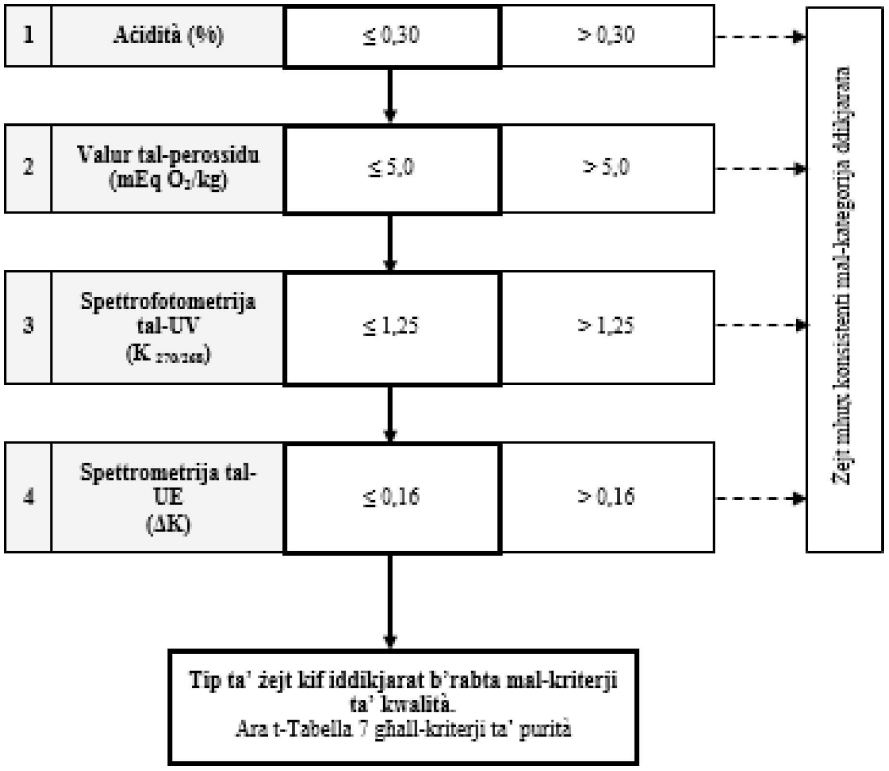


Tabella 6 — Żejt taż-żebbuġa (magħmul minn taħlita ta' żejt taż-żebbuġa raffinat u żjut taż-żebbuġa verġni) — Kriterji ta' kwalità

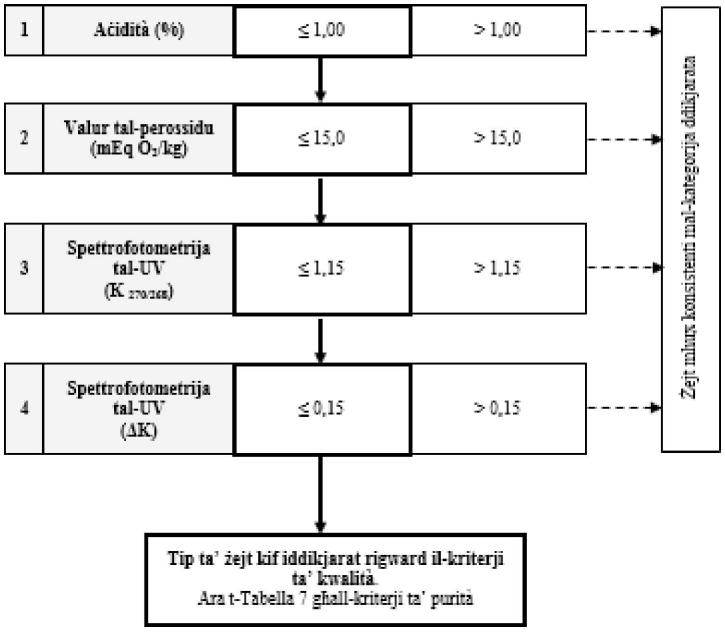


Tabella 7 — Żejt taż-Żebbuġa Raffinat u żejt taż-żebbuġa magħmul minn żejt taż-żebbuġa raffinat u Żjut taż-Żebbuġa Verġni — Kriterji ta' purità

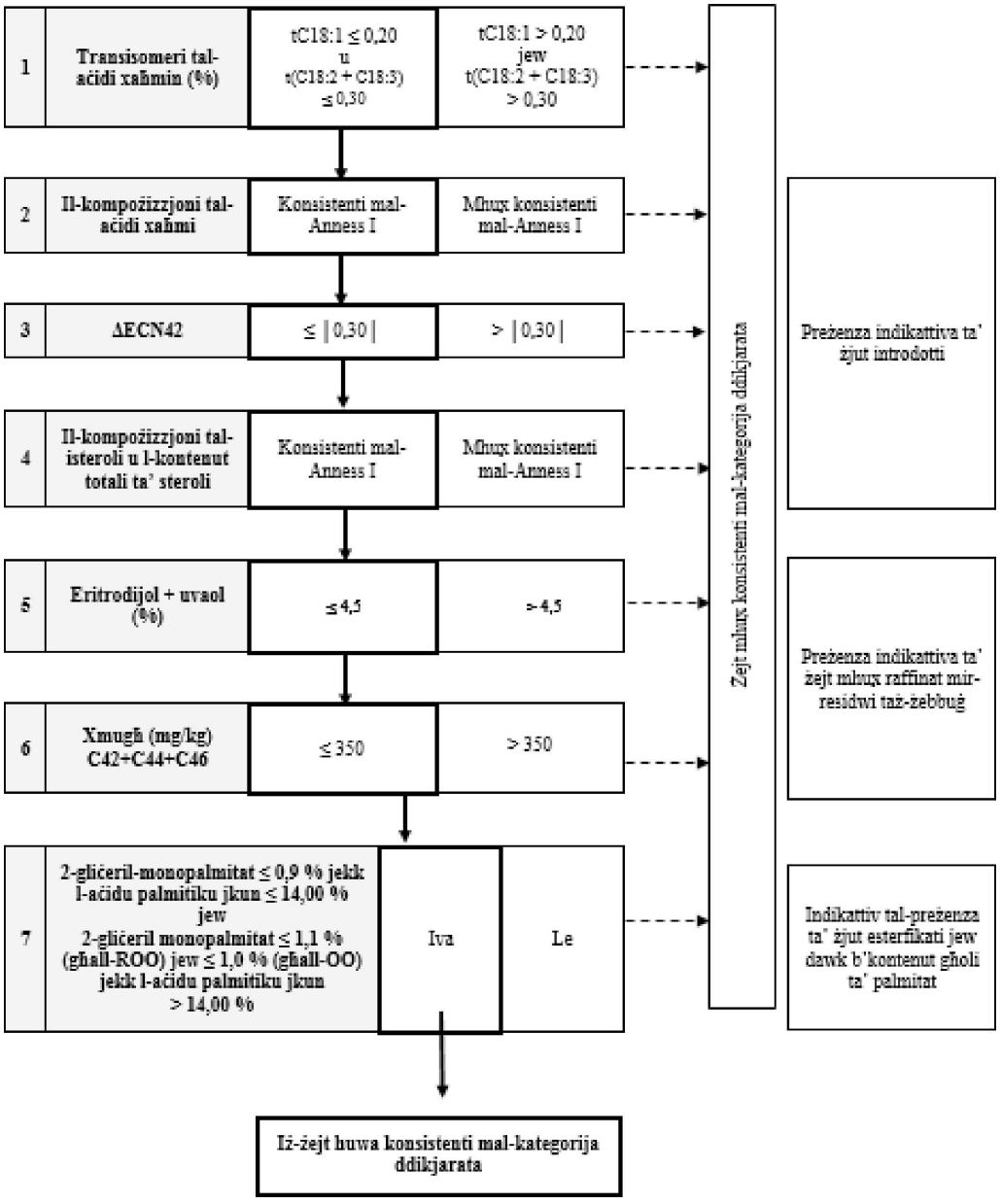


Tabella 8 — Żejt Mhux Raffinat mir-Residwi taż-Żebbuġ — Kriterji ta' purità

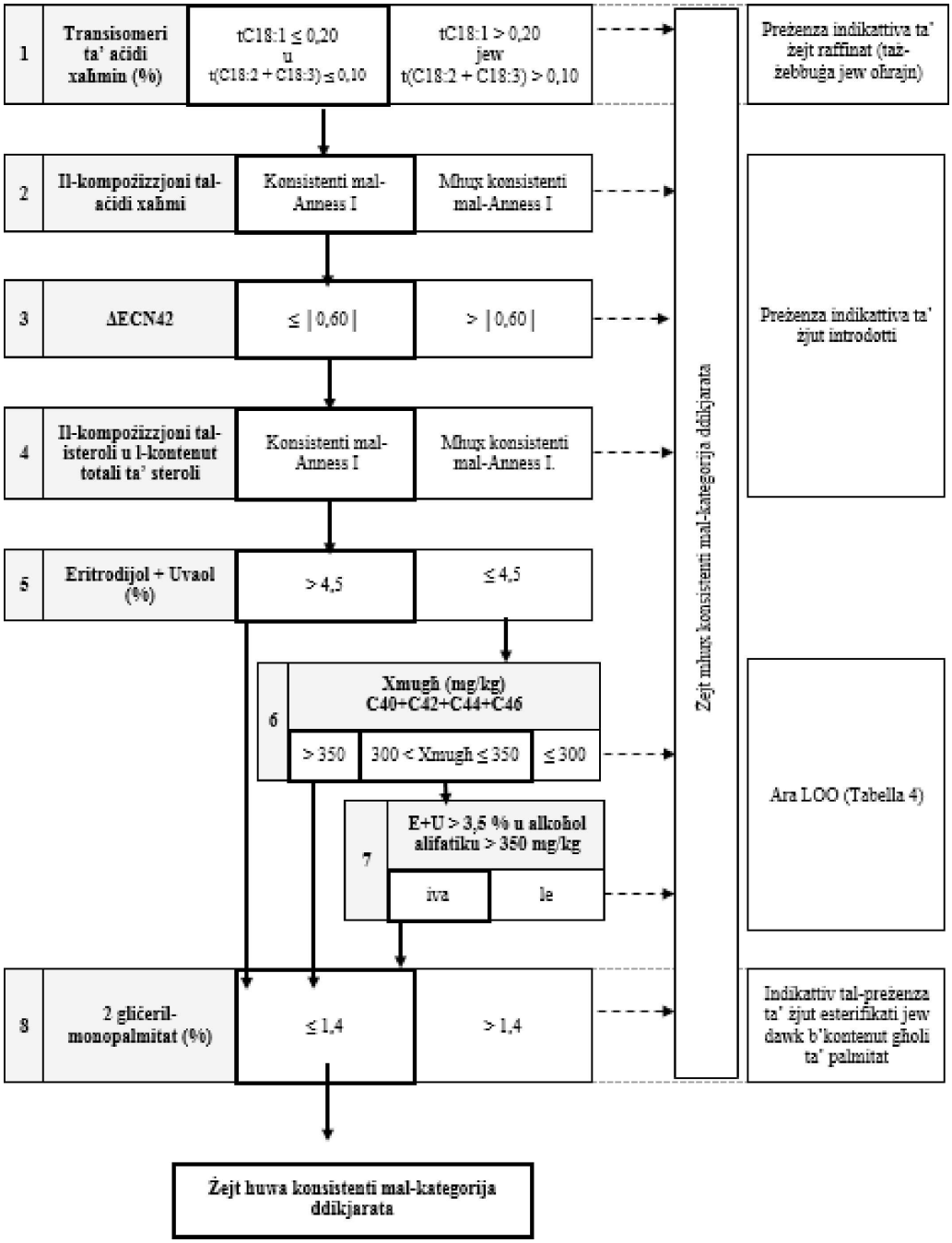


Tabella 9 — Żejt Raffinat mir-Residwi taż-Żebbuġ — Kriterji ta' kwalità

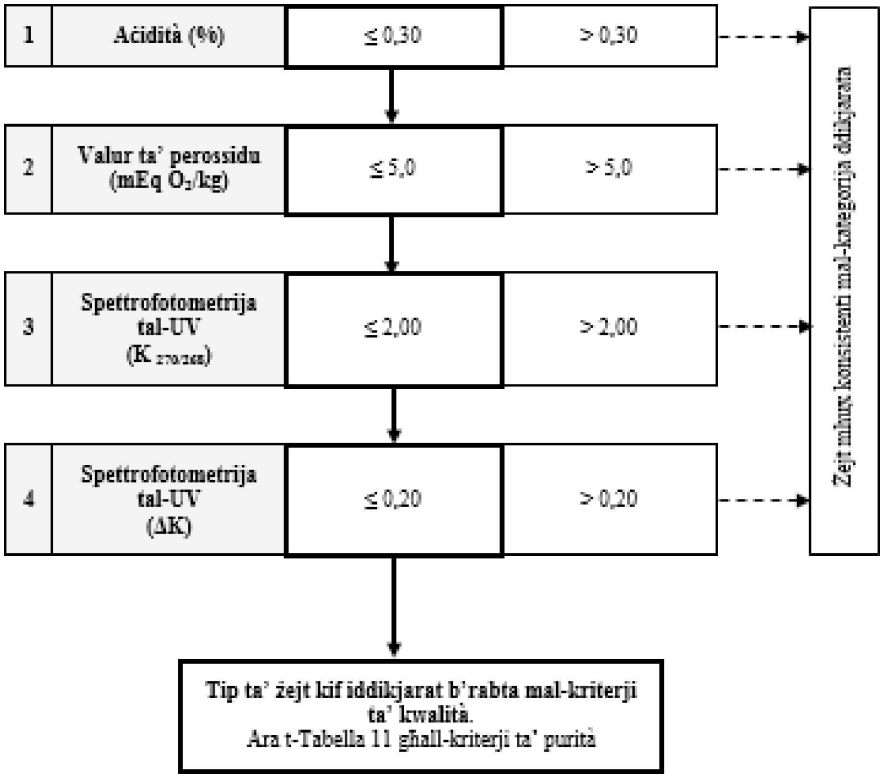


Tabella 10 — Żejt mir-Residwi taż-Żebbuġ – Kriterji ta' kwalità

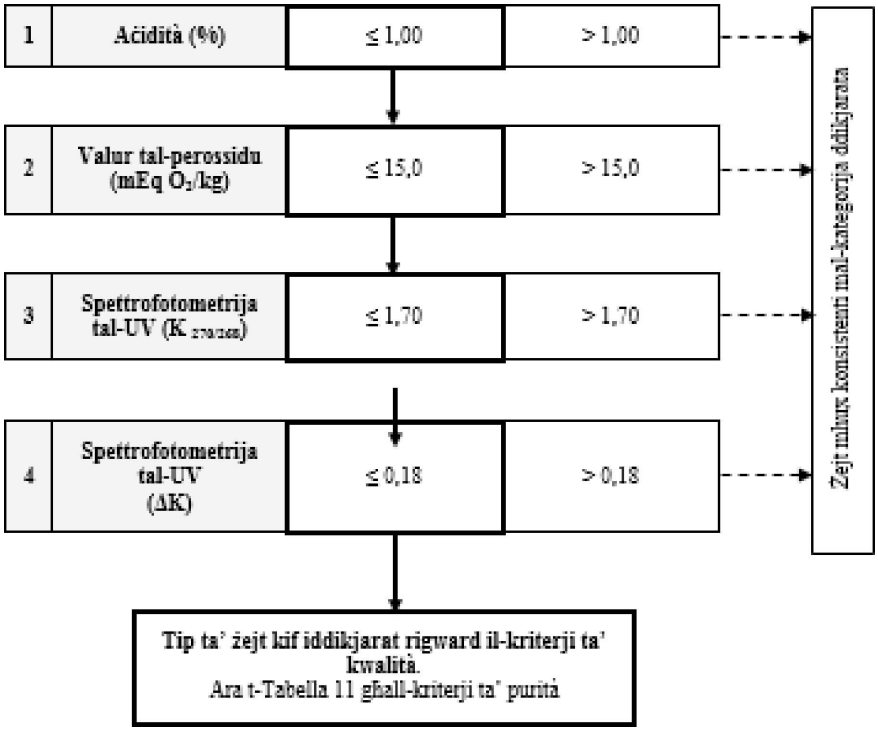
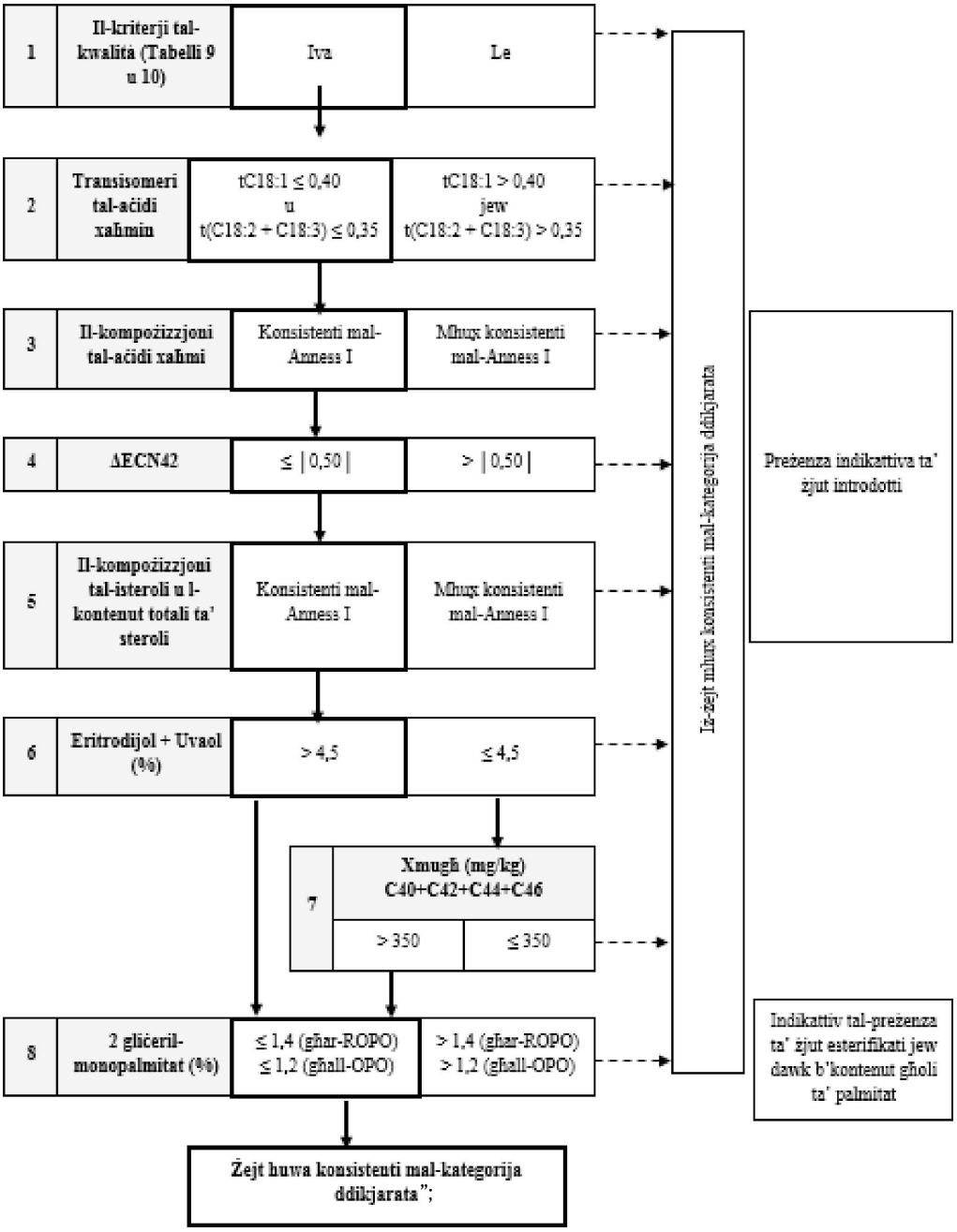


Tabella 11 — Żejt Raffinat mir-Residwi taż-Żebbuġ u Żejt mir-Residwi taż-Żebbuġ — Kriterji ta' purità



ANNESS IV

L-Anness XII huwa emendat kif ġej:

(1) il-punt 3.3 huwa sostitwit b'dan li ġej:

"3.3. **Terminoloġija fakultattiva għall-finijiet ta' ttikkettar**

Fuq talba, il-kap tal-bord jista' jiċċertifika li ż-żjut li ġew ivvalutati huma konformi mad-definizzjonijiet u mal-gradi li jikkorrispondu biss mat-termini li ġejjin, skont l-intensità u l-perċezzjoni tal-attributi.

Attributi pożittivi (togħma ta' frott, morr u punġenti): Skont l-intensità tal-perċezzjoni:

— *Qawwija*, meta l-valur medjan tal-attribut ikun aktar minn 6,0;

— *Medjan*, meta l-valur medjan tal-attribut ikun bejn 3,0 u 6,0;

— *Ħafifa*, meta l-valur medjan tal-attribut ikun anqas minn 3,0.

Togħma ta' frott	Sett ta' sensazzjonijiet marbutin mas-sens tax-xamm li huma tipiċi għaż-żejt, skont il-varjetà taż-żebbuġ u li jiġu miż-żebbuġ frisk u b'saħħtu, u li fihom la tiddomina t-togħma tal-frott aħdar u lanqas dik tal-frott li jkun sar. Dawn jiġu nnutati direttament u/jew permezz tan-naħa ta' wara tal-imnieħer.
Togħma ta' frott aħdar	Sett ta' sensazzjonijiet olfattivi li huma tipiċi għaż-żejt u li jfakkru fil-frott aħdar, skont il-varjetà ta' żebbuġ u li jiġu miż-żebbuġ aħdar, frisk, u b'saħħtu. Dawn jiġu nnutati direttament u/jew permezz tan-naħa ta' wara tal-imnieħer.
Togħma ta' frott misjur	Sett ta' sensazzjonijiet olfattivi li huma tipiċi għaż-żejt u li jfakkru fil-frott misjur, skont il-varjetà taż-żebbuġ u li jiġu miż-żebbuġ frisk u b'saħħtu. Dawn jiġu nnutati direttament u/jew permezz tan-naħa ta' wara tal-imnieħer.
Togħma bbilanċjata	Żejt li ma jurix nuqqas ta' bilanċ, jiġifieri s-sensazzjoni tattili u marbuta mas-sens tax-xamm u tat-togħma li fiha l-valur medjan tal-attribut tat-togħma morra u l-valur medjan tal-attribut punġenti ma jkunux iktar minn żewġ punti ogħla minn dak tat-togħma tal-frott.
Żejt ta' togħma mmoderata	Żejt li l-valur medjan tal-attributi tat-togħma morra u punġenti jkun ta' 2,0 jew inqas.

Lista ta' termini skont l-intensità tal-perċezzjoni:

Termini soġġetti għall-produzzjoni ta' ċertifikat tat-test organolettiku	Valur medjan tal-attribut
Togħma ta' frott	—
Togħma ta' frott misjur	—
Togħma ta' frott aħdar	—
Togħma ta' frott ħafifa	≤ 3,0
Togħma ta' frott medja	3,0 < Me ≤ 6,0
Togħma ta' frott qawwija	> 6,0
Togħma ħafifa ta' frott misjur	≤ 3,0
Togħma medja ta' frott misjur	3,0 < Me ≤ 6,0
Togħma qawwija ta' frott misjur	> 6,0
Togħma ħafifa ta' frott aħdar	≤ 3,0
Togħma medja ta' frott aħdar	3,0 < Me ≤ 6,0
Togħma qawwija ta' frott aħdar	> 6,0

Termini soġġetti għall-produzzjoni ta' ċertifikat tat-test organolettiku	Valur medjan tal-attribut
Togħma ħafifa morra	≤ 3,0
Togħma medja morra	3,0 < Me ≤ 6,0
Togħma qawwija morra	> 6,0
Togħma punġenti ħafifa	≤ 3,0
Togħma punġenti medja	3,0 < Me ≤ 6,0
Togħma punġenti qawwija	> 6,0
Żejt ibbilanċjat	Il-valur medjan tal-attribut tat-togħma morra u l-valur medjan tal-attribut tat-togħma punġenti jkunu mhux aktar minn 2,0 punti ogħla mill-punt medjan tat-togħma tal-frott
Żejt ta' togħma moderata	Il-valur medjan tal-attribut tat-togħma morra u l-valur medjan tal-attribut tat-togħma punġenti huma 2,0 jew anqas.”;

(2) il-punt 9.4 huwa sostitwit b'dan li ġej:

“9.4. **Il-klassifikazzjoni taż-żejt**

Iż-żejt għandu jiġi kklassifikat kif ġej, skont il-valur medjan tad-difetti u l-valur medjan tal-attribut tat-togħma tal-frott. Il-valur medjan tad-difetti huwa ddefinit bħala l-valur medjan tad-difett innutat bl-akbar intensità. Il-valur medjan tad-difetti u l-valur medjan tal-attribut tat-togħma tal-frott jingħataw bħala numri b'ċifra waħda wara l-punt deċimali.

Iż-żejt jiġi kklassifikat billi l-valur medjan tad-difetti u l-valur medjan tal-attribut tat-togħma tal-frott jitqabblu mal-firxiet ta' valuri ta' referenza mogħtija hawn taħt. L-iżball tal-metodu tqies meta kienu qed jiġu stabbiliti l-limiti ta' dawn il-firxiet u allura dawn għandhom jitqiesu bħala assoluti. Il-pakketti ta' softwer tal-kompjuter jippermettu li l-klassifika tintwera fil-forma ta' tabella tal-istatistika jew graff.

(a) Żejt taż-żebbuġa straverġni: il-valur medjan tad-difetti huwa 0,0 u l-valur medjan tal-attribut tat-togħma ta' frott huwa ta' aktar minn 0,0;

(b) Żejt taż-żebbuġa verġni: il-valur medjan tad-difetti huwa ta' aktar minn 0,0 iżda ta' mhux aktar minn 3,5 u l-valur medjan tal-attribut tat-togħma ta' frott huwa ta' aktar minn 0,0;

(c) Żejt taż-żebbuġa verġni lampante: il-valur medjan tad-difetti huwa ta' iktar minn 3,5 jew huwa ta' 3,5 jew inqas, u l-valur medjan tal-attribut tat-togħma ta' frott huwa ta' 0,0.

Nota 1: Meta l-valur medjan tal-attribut tat-togħma morra u/jew qawwija jkun ta' iktar minn 5,0, il-kap tal-bord għandu jiddikjara dan fuq iċ-ċertifikat tat-test.

Fil-każ tal-valutazzjonijiet imwettqa għall-kontroll tal-konformità, għandu jsir test wieħed. Fil-każ ta' kontrovalutazzjonijiet, l-analiżi trid titwettaq darbtejn u f'sessjonijiet tad-dewqan differenti; Ir-riżultati tal-analiżi duplikata jridu jkunu omoġenji b'mod sistematiku. (Ara l-punt 9.5). Jekk le, il-kampjun irid jerġa' jiġi analizzat darbtejn. Il-valur finali tal-medjan tal-attributi tal-klassifikazzjoni jiġi kkalkulat billi tintuża l-medja taż-żewġ valuri medjani.”.

ANNESS V

L-Anness XVII huwa emendat kif ġej:

(1) il-punt 5.1 huwa sostitwit b'dan li ġej:

"5.1. Eżan jew taħlita ta' alkani b'intervall b.p. 65 sa 70 °C, distillat(i) b'kolonna rettifikata. L-eżan jista' jiġi sostitwit bl-iso-ottan (2,2,4-trimetil pentan fi grad ta' kromatografija), dejjem jekk jinkisbu l-valuri ta' preċiżjoni komparabbli. Ir-residwu wara l-evaporazzjoni ta' 100 ml ta' solvent jista' jiġi kkontrollat. Solventi b'punt tat-togħlija ogħla mill-n-eżan jieħdu aktar żmien biex jevaporaw. Madankollu, huma ppreferuti minħabba fit-tossiċità tal-eżan.";

(2) fil-punt 6.3.3, jiżdied it-test li ġej:

"Nota 10. Meta f'konċentrazzjonijiet ta' aktar minn 4 mg/kg jidhru stigmastadienes, jekk tkun meħtieġa kwantifikazzjoni, irid jiġi applikat il-metodu tal-Kunsill Internazzjonali taż-Żebbug għad-determinazzjoni tal-isterenes f'żejt raffinat."

ANNESS VI

L-Anness XVIII huwa emendat kif ġej:

(1) il-punt 4.2.1. huwa sostitwit b'dan li ġej:

"4.2.1. Etere tal-petroleum 40-60 °C grad kromatografiku jew eżan L-eżan jista' jiġi sostitwit bl-iso-ottan (2,2,4-trimetil pentan fi grad ta' kromatografija), dejjem jekk jinkisbu l-valuri ta' preċiżjoni komparabbli. Solventi b'punt tat-togħlija ogħla minn tal-n-eżan jieħdu aktar żmien biex jevaporaw. Madankollu, huma ppreferuti minħabba t-tossiċità tal-eżan.";

(2) jiżdied il-punt 4.2.12 li ġej:

"4.2.12. Ettan, kwalità kromatografika. L-ettan jista' jiġi sostitwit bl-iso-ottan (2,2,4-trimetil pentan fi grad ta' kromatografija).".

ANNESS VII

"ANNESS XIX

DETERMINAZZJONI TAL-KOMPOŻIZZJONI U TAL-KONTENUT TAL-ISTEROLI U TAL-KOMPOSTI ALKOĦOLIĊI PERMEZZ TAL-KROMATOGRAFIJA B'FAŻI GASSUŻA F'KOLONNA KAPILLARI

1. KAMP TA' APPLIKAZZJONI

Il-metodu jiddeskrivi proċedura għad-determinazzjoni tal-kontenut totali ta' komposti alkoħoliċi ta' żjut taż-żebbuġa u żjut mir-residwi taż-żebbuġ kif ukoll taħlitiet ta' dawn iż-żewġt iżjut.

Il-komposti alokoliċi fiż-żjut taż-żebbuġa u fiż-żjut mir-residwi taż-żebbuġa jinkludu l-akoħol alifatiku, l-isteroli u d-dialkoħol triterpeniku.

2. PRINĊIPJU

Iż-żjut, b'α-kolestanol u 1-ejkosanol miżjuda bħala standards interni, jiġu sapunifikati bl-idrossidu tal-potassju f'soluzzjoni etanolika u l-materja mhux sapunifikabbli u mbagħad tiġi estratta bl-eteru etiliku.

Il-frazzjonijiet ta' komposti alkoħoliċi differenti jiġu separati mill-materja mhux sapunifikabbli bi kromatografija ta' saff irqiq fuq pjanċar tal-ġell tas-silić bażika (metodu ta' referenza) jew permezz tal-HPLC b'kolonna tal-ġell tas-siliċe. Il-frazzjonijiet irkuprati mill-ġell tas-siliċe jinbidlu f'eteri tat-trimetilsilil u mbagħad jiġu analizzati permezz tal-kromatografija b'faži gassuża f'kolonna kapillari.

IL-PARTI 1

THEJJIJA TAL-MATERJA MHUX SAPUNIFIKABBLI

1. KAMP TA' APPLIKAZZJONI

Din il-Parti tiddeskrivi l-preparazzjoni u l-estrazzjoni tal-materja mhux sapunifikabbli. Hija tinkludi l-preparazzjoni u l-estrazzjoni tal-materja mhux sapunifikabbli minn żjut taż-żebbuġa u żjut mir-residwi taż-żebbuġ.

2. PRINĊIPJU

Porzjon tat-test jiġi sapunifikat bit-togħlija taħt rifluss b'soluzzjoni tal-idrossidu tal-potassju etanoliku. Il-materja mhux sapunifikabbli tiġi estratta bl-etere dietiliku.

3. TAGĦMIR

It-tagħmir tal-laboratorju tas-soltu u b'mod partikolari dan li ġej:

3.1. Flask b'qiegħ tond mgħammar b'kondensatur ta' rifluss b'ġonot tal-ħġieġ mitħun, 250 ml.

3.2. Lembut ta' separazzjoni, 500 mL.

3.3. Flasks, 250 mL.

3.4. Mikrosiringi, 100 µL u 500 µL.

3.5. Lembut b'filtru forma ta' ċilindru b'septum poruż ta' G3 (b'porożità ta' 15-il µm sa 40 µm) li jkollu dijametru ta' madwar 2 ċm u jkun fond 5 ċm, li jkun adattat għall-filtrazzjoni f'vakwu b'ġonta interna tal-ħġieġ żmeriljat.

3.6. Flask koniku b'ġonta esterna tal-ħġieġ mitħun, 50 mL li jista' jitwaħħal mal-lembut tal-filtru (3.5).

3.7. Tubu tat-testijiet bil-qiegħ li jidjieq u tapp tal-ħġieġ li jissiġilla, 10 mL.

3.8. Dessikatur tal-klorur tal-kalċju.

4. REAĠENTI

4.1. Titru minimu ta' idrossidu tal-potassju ta' 85 %.

4.2. Madwar 2 M ta' soluzzjoni etanolika tal-idrossidu tal-potassju.

Dewweb 130 g ta' idrossidu tal-potassju (4.1) permezz tat-tkessiħ f'200 ml ta' ilma distillat u mbagħad żidu bl-etanol (4.7) sa ma jkollok litru. Żomm is-soluzzjoni fi fliexken tal-ħġieġ skur magħluqin sewwa b'tapp u maħżuna għal mhux aktar minn jumejn.

4.3. Etere etiliku għall-kwalità tal-analiżi.

4.4. Sulfat tas-sodju anidru, għall-kwalità tal-analiżi.

4.5. Aċeton għall-kwalità tal-kromatografija.

4.6. Etere etiliku għall-kwalità tal-kromatografija.

4.7. Etanol ta' kwalità analitika.

4.8. Aċetat etiliku ta' kwalità analitika.

4.9. Standard intern, α-kolestanol b'purità ta' aktar minn 99 % (il-purità trid tiġi ċċekkjata permezz ta' analiżi GC).

4.10. Soluzzjoni standard interna ta' α-kolestanol, 0,2 soluzzjoni (m/V) f'aċetat etiliku (4.8).

4.11. Soluzzjoni tal-fenolftaleina, 10 g/L fl-etanol (4.7).

4.12. 0,1 % (m/v) soluzzjoni ta' 1-ejkosanol f'aċetat etiliku (standard intern).

5. PROĊEDURA

Filwaqt li tuża mikrosiringa ta' 500 µl (3.4), fil-flask ta' 250 ml (3.1) introduċi volum tas-soluzzjoni standard interna ta' α-kolestanol (4.12) u volum ta' 1-ejkosanol (4.12) b'ammont ta' kolestanol u ejkosanol li jikkorrispondi ma' madwar 10 % tal-kontenut ta' steroli u alkoħol tal-kampjun. Pereżempju, għal 5 g ta' kampjun ta' żejt taż-żebbuġa żid 500 µL tas-soluzzjoni α-kolestanol (4.10) u 250 µL ta' soluzzjoni 1-ejkosanol (4.12). Għal żjut mir-residwi taż-żebbuġ żid 1500 µL kemm ta' soluzzjoni α-kolestanol (4.10) kif ukoll ta' 1-ejkosanol (4.12). Evapora sakemm tnixxef b'kurrent ġentili ta' nitroġenu f'banju tal-ilma fietel. Wara li tkessaħ il-flask, iżen 5,00 ± 0,01 g tal-kampjun iffiltrat niexef fl-istess flask.

Nota 1: Iż-żjut u x-xaħmijiet tal-annimali jew veġetali li jkun fihom kwantitajiet kbar ta' kolesterol jistgħu juru quċċata li l-ħin ta' żamma tagħha huwa identiku għal dak tal-kolestanol. Jekk dan iseħħ, il-frazzjoni tal-isteroli jkollha tiġi analizzata darbtejn, bl-istandard intern u mingħajru.

Żid 50 mL ta' 2M ta' soluzzjoni etanolika tal-idrossidu tal-potassju (4.2) u xi ftit ħaffiefa, poġġi l-kondensatur ta' rifluss u saħħan it-taħlita sakemm din tibda tagħli bil-mod u sa ma s-soluzzjoni ssir qisha sapun (sa ma ssir ċara). Kompli saħħan għal 20 minuta oħra mbagħad żid 50 mL ta' ilma ddistillat mill-parti ta' fuq tal-kondensatur, aqla' l-kondensatur u kessaħ il-flask sa ma jkollu bejn wieħed u ieħor temperatura ta' 30 °C.

Ittrasferixxi l-kontenut tal-flask b'mod kwantitattiv f'lembut ta' separazzjoni ta' 500 mL (3.2) billi tuża diversi porzjonijiet ta' ilma ddistillat (50 mL). Żid bejn wieħed u ieħor 80 ml ta' etere etiliku (4.6), ħawwad sew għal madwar 60 sekonda, filwaqt li tirrilaxxa l-pressjoni b'mod regolari billi taqleb il-lembut ta' separazzjoni ta' taħt fuq u tiftaħ it-tapp. Ħalli t-taħlita toqgħod sa ma jkun hemm separazzjoni kompluta taż-żewġ fażijiet (ara n-Nota 2). Imbagħad neħħi s-soluzzjoni tas-sapun b'mod kemm jista' jkun komplut u poġġieħa f'lembut tas-separazzjoni ieħor. Bl-istess mod, agħmel żewġ estrazzjonijiet oħra tal-faži tal-ilma u l-alkoħol billi tuża 60 sa 70 ml ta' etere etiliku (4.6).

Nota 2: Kwalunkwe emulsjoni tista' tiġi meqruda biż-żieda ta' kwantitajiet żgħar ta' etanol (4.7).

Ħallat it-tliet estratti tal-etere f'lembut ta' separazzjoni wieħed li jkun fih 50 mL ta' ilma. Kompli aħsel bl-ilma (50 ml) sakemm l-ilma tal-ħasil ma jibqax jagħti kulur roża meta tiżdiedlu qatra ta' soluzzjoni tal-fenolftaleina (4.12). Meta l-ilma tal-ħasil ikun tneħħa, iffiltra bis-sulfat tas-sodju anidru (4.4) fi flask ta' 250 mL li jkun intiżen qabel, filwaqt li taħsel il-lembut u l-filtru bi kwantitajiet żgħar ta' etere etiliku (4.6).

Ħalli s-solvent jevapora permezz tad-distillazzjoni f'evaporatur rotatorju fi 30 °C f'vakwu. Żid 5 mL ta' aċeton (4.5) u neħħi s-solvent volatili kompletament f'kurrent ħafif ta' nitroġenu. Nixxef ir-residwu fil-forn f'temperatura ta' 103 °C ± 2 °C għal kwarta. Kessaħ f'dessikaturi u iżen sal-eqreb 0,1 mg.

PARTI 2

IS-SEPARAZZJONI TAL-FRAZZJONIJIET TA' KOMPOSTI ALKOĦOLIĊI

1. KAMP TA' APPLIKAZZJONI

Il-materja mhux sapunifikabbli ppreparata fil-Parti 1 tiġi frazzjonata f'komposti alkoħoliċi differenti, alkoħol alifatiku, steroli u dialkoħol triterpeniku (eritrodijol u uvaol).

2. PRINĊIPJU

Il-materja mhux sapunifikabbli tista' tiġi frazzjonata bl-użu ta' kromatografija bażika ta' saff irqiq (metodu ta' referenza), żvelata u l-faxex korrispondenti migrufa u estratti. Bħala metodu ta' separazzjoni alternattiv, HPLC bl-użu ta' kolonna tal-ġell tas-siliċe u individwatur tal-UV u l-frazzjonijiet differenti miġbura. L-alkoħol alifatiku u triterpeniku kif ukoll id-dialkoħol tal-isteroli u triterpeniku jiġu iżolati flimkien.

3. TAGĦMIR

L-apparat tal-laboratorju tas-soltu u b'mod partikolari dan li ġej:

3.1. Apparat komplut għall-analiżi bil-kromatografija b'saff irqiq bl-użu ta' pjanċi tal-ħġieġ ta' 20 cm b'20 cm.

3.2. Lampa tar-radjazzjoni ultravjola b'tul tal-mewġa ta' 366 nm jew 254 nm.

3.3. Mikrosiringi, 100 µL u 500 µL.

3.4. Lembut b'filtru forma ta' ċilindru b'septum poruż ta' G3 (b'porożità ta' 15-il µm sa 40 µm) li jkollu dijametru ta' madwar 2 ċm u jkun fond 5 ċm, li jkun adattat għall-filtrazzjoni f'vakwu b'ġonta interna tal-ħġieġ żmeriljat.

3.5. Flask koniku b'ġonta esterna tal-ħġieġ mitħun, 50 mL li jista' jitwaħħal mal-lembut tal-filtru (3.4.).

3.6. Tubu tat-testijiet bil-qiegħ li jidjieq u tapp tal-ħġieġ li jissiġilla, 10 mL.

3.7. Dessikatur tal-klorur tal-kalċju.

3.8. Sistema tal-HPLC, li tikkonsisti minn:

3.8.1. Pompa binarja.

3.8.2. Injettur manwali jew awtomatiku mgħammar b'loop tal-injezzjoni ta' 200 µL.

3.8.3. Apparat li jneħħi l-gass in-line.

3.8.4. Individwatur UV-VIS jew IR.

3.9. Kolonna tal-HPLC (25 cm × 4 mm i.d.) b'ġell tas-siliċe 60 (daqs tal-partikuli ta' 5 µm).

3.10. Filtru tas-siringa, 0,45 µm

3.11. Flask koniku, 25 mL.

4. REAĠENTI

4.1. 85 % ta' titru minimu ta' idrossidu tal-potassju.

4.2. Madwar 2 M ta' soluzzjoni etanolika tal-idrossidu tal-potassju.

Dewweb 130 g ta' idrossidu tal-potassju (4.1) permezz tat-tkessiħ f'200 ml ta' ilma distillat u mbagħad żidu b'litru etanol (4.9). Żomm is-soluzzjoni fi fliexken tal-ħġieġ skur magħluqin sewwa b'tapp u maħżuna għal mhux aktar minn jumejn.

4.3. Etere etiliku, għall-kwalità tal-analiżi.

4.4. Madwar 0,2 M ta' soluzzjoni etanolika tal-idrossidu tal-potassju.

Dewweb 13-il g ta' idrossidu tal-potassju (4.1) f'20 ml ta' ilma distillat u żidu b'litru etanol (4.9).

4.5. Pjanċi tal-ħġieġ 20x20 miksijin bil-ġell tas-silika, mingħajr indikatur tal-fluworexxenza, u bi ħxuna ta' 0,25 mm (dawn jinsabu għall-bejgħ lesti għall-użu).

4.6. Aċeton għall-kwalità tal-kromatografija.

4.7. n-Eżan għall-kwalità tal-kromatografija.

4.8. Etere etiliku, għall-kwalità tal-kromatografija.

4.9. Etanol ta' kwalità analitika.

4.10. Aċitat etiliku ta' kwalità analitika.

4.11. Soluzzjoni ta' referenza għall-kromatografija b'saff irqiq: Soluzzjoni ta' 5 % kolesterol, fitosteroli, alkoħol, u Eritrodijol f'Aċetat etiliku (4.10.).

4.12. Soluzzjoni ta' 2,7-diklorofluworexxein, 0,2 % f'soluzzjoni etanolika. Ġibha ftit bażika billi żżid xi qtar ta' soluzzjoni alkoħolika ta' 2 M ta' soluzzjoni tal-idrossidu tal-potassju (4.2).

4.13. Taħlita ta' 65:35 (V/V) ta' n-eżan (4.7)/etere etiliku (4.8).

4.14. (1:1) (V/V) n-eżan (4.7)/etere etiliku (4.8) fażi mobbli ta' HPLC.

5. METODU TA' REFERENZA: IS-SEPARAZZJONI TAL-KOMPOSTI ALKOĦOLIĊI PERMEZZ TA' PJANĊA BAŻIKA TA' KROMATOGRAFIJA FUQ SAFF IRQIQ (TLC)

Ipprepara l-pjanċi bażiċi ta' kromatografija fuq saff irqiq. Għaddas il-pjanċi tal-ġell tas-silika (4.5) madwar 4 cm fis-soluzzjoni etanolika tal-idrossidu tal-potassju ta' 0,2 M (4.4) għal 10 sekondi, imbagħad ħallihom sagħtejn jinxfu f'kabinett għad-dħaħen u fl-aħħar poġġihom f'forn f'temperatura 100 °C għal siegħa.

Neħħihom mill-forn u żommhom f'dessikatur tal-klorur tal-kalċju (3.7) sa ma jkun hemm bżonn jintużaw (il-pjanċi li jkunu għaddew minn din il-proċedura jridu jintużaw fi żmien ħmistax).

Qiegħed it-taħlita ta' eżan/etere etiliku (4.13) (Nota 3) fil-kompartiment tal-iżvilupp, f'fond ta' madwar 1 cm. Agħlaq il-kompartiment b'għatu xieraq u ħallih hekk għal mhux anqas minn nofs siegħa, f'post frisk, sabiex jiġi stabbilit l-ekwilibriju ta' bejn il-likwidu u l-fwar. Jistgħu jitpoġġew strippi ta' filtri tal-karta mgħaddsa fl-eluent fuq il-wiċċ ġewwieni tal-kamra. Dan inaqqas il-ħin tal-iżvilupp bejn wieħed u ieħor b'terz u jwassal għal elwizzjoni aktar uniformi u regolari tal-komponenti.

Nota 3: It-taħlita tal-iżvilupp għandha tinbidel għal kull test sabiex jinkisbu kondizzjonijiet ta' eluzjoni perfettament riproduċibbli. Jista' jintuża solvent alternattiv 50:50 (V/V) n-eżan/etere etiliku.

Ipprepara soluzzjoni ta' madwar 5 % ta' dik mhux sapunifikabbli ppreparata fil-Parti 1 fl-aċitat etiliku (4.10) u, bl-użu tal-mikrosiringa ta' 100 µl (3.3), poġġi 0.3 ml mis-soluzzjoni fuq strixxa dejqa u uniformi fin-naħa t'isfel (2 cm) tal-pjanċa kromatografika (4.5). B'mod parallel mal-istrixxa, qiegħed bejn 2 u 3 µL tas-soluzzjoni ta' referenza tal-materjal (4.11) sabiex il-faxex tal-isterol, tad-dialkoħol triterpen u tal-alkoħol ikunu jistgħu jiġu identifikati wara l-iżvilupp.

Qiegħed il-pjanċa fil-kompartiment tal-iżvilupp (3.1). It-temperatura ambjentali għandha tinżamm bejn 15 u 20 ° C (Nota 4). Agħlaq il-kamra mal-ewwel bl-għatu u ħalli l-proċess ta' eluzjoni jseħħ sa ma l-parti ta' quddiem tas-solvent tasal madwar ċentimetru mit-tarf ta' fuq tal-pjanċa. Neħħi l-pjanċa mill-kamra tal-iżvilupp u ħalli s-solvent jevapora f'kurrent ta' arja sħuna jew billi tħalli l-pjanċa għal ftit ħin taħt għata.

Nota 4: Temperatura ogħla minn hekk tista' tgħarraq is-separazzjoni.

Sprejja l-pjanċa kemm kemm u b'mod uniformi bis-soluzzjoni ta' 2,7-diklorofluworexxein(4.12) u mbagħad ħalliha tinxef. Meta l-pjanċa tiġi osservata f'dawl ultravjola (3.2), il-faxex tal-isteroli, tad-dialkoħol tat-triterpen u tal-alkoħol ikunu jistgħu jiġu identifikati billi jiġu allinjati mat-tbajja' miksubin permezz tas-soluzzjoni ta' referenza (4.11). Immarka l-limiti tal-faxex mat-truf tal-fluworexxenza b'lapes iswed (ara l-pjanċa tat-TLC f'Figura 1).

Obrox il-ġell tas-silika minn fuq il-parti mmarkata billi tuża spatula tal-metall. Poġġi l-materjal miħun fin li jkun tneħħa fil-lembut tal-filtru (3.4). Żid 10 mL ta' aċetat etiliku sħun (4.10), ħawdu bil-mod bl-ispatula tal-metall u ffiltrah (f'vakwu jekk ikun meħtieġ), filwaqt li tiġbor il-filtrat fil-flask koniku (3.5.) imwaħħal mal-lembut b'filtru.

Aħsel ir-residwu fil-flask tliet darbiet bl-etere etiliku (4.3) (madwar 10 mL kull darba), filwaqt li tiġbor il-filtrat fl-istess flask imwaħħal mal-lembut, evapora l-filtrat sa ma jintlaħaq volum ta' bejn 4 u 5 mL, ittrasferixxi s-soluzzjoni li jifdal għal ġot-tubu tat-testijiet ta' 10 mL li jkun intiżen minn qabel (3.6), evaporaha permezz ta' tisħin ħafif fi fluss ħafif ta' nitroġenu sa ma jinxef, erġa' oħloqha mill-ġdid billi tuża ftit qtar ta' aċeton (4.6) u evaporaha għal darb'oħra sa ma tinxef. Ir-residwu fit-tubu tat-testijiet jikkonsisti mill-isteroli u d-dialkoħol tat-triterpen jew mill-alkoħol u frazzjonijiet ta' alkoħol triterpeniku.

6. IS-SEPARAZZJONI TAL-FRAZZJONI ALKOĦOLIKA PERMEZZ TAL-HPLC

Is-soluzzjoni mhux sapunifikabbli miksuba mill-Parti 1 tiġi maħlula fi 3 mL tal-faži mobbli (4.14), iffiltra s-soluzzjoni b'filtru tas-siringa (3.10 u rriżerva.

Injetta 200 µL tas-soluzzjoni mhux sapunifikabbli ffiltrata fl-HPLC (3.8).

Wettaq is-separazzjoni tal-HPLC b'0,8 mL/min, armi l-ewwel 5 min. u iġbor fi flasks koniċi ta' 25 mL (3.11) bejn il-5 u 10 min. għal alkoħol alifatiku u triterpeniku u bejn 11 u 25 min għal steroli u eritrodijol u uvaol (Nota 5).

Is-separazzjoni tista' tiġi mmonitorjata b'individwatur tal-UV b'tul tal-mewġa ta' 210 nm jew individwatur tal-indiċi rifrattiv (ara l-Figura 6).

Il-frazzjonijiet jiġu evaporati sat-tnixxif u jiġu mħejjija għal analiżi kromatografika.

Nota 5: Ikkontrolla l-pressjoni tal-pompa tal-HPLC bir-reqqa, l-eteru etiliku jista' jżid il-pressjoni, aġġusta l-fluss biex iżżomm il-pressjoni taħt kontroll.

PARTI 3

ANALIŻI KROMATOGRAFIKA TAL-GASS TAL-FRAZZJONIJIET TA' KOMPOSTI ALKOĦOLIĊI

1. KAMP TA' APPLIKAZZJONI

Din il-parti tagħti gwida ġenerali għall-applikazzjoni tal-kromatografija b'faži gassuża f'kolonna kapillari, sabiex tiġi ddeterminata l-kompożizzjoni kwalitattiva u kwantitattiva tal-komposti alkoholiċi iżolati skont il-metodu speċifikat fil-Parti 2 ta' dan il-metodu.

2. PRINĊIPJU

Il-frazzjonijiet miġbura mill-materja mhux sapunifikabbli bl-użu tat-TLC jew tal-HPLC jiġi derivatizzati f'eteri tat-trimetilsilil u analizzati bi kromatografija b'faži gassuża f'kolonna kapillari b'injezzjoni maqsuma u individwatur tal-jonizzazzjoni tal-fjamma.

3. APPARAT

L-apparat tas-soltu tal-laboratorju u b'mod partikulari dan li ġej:

3.1. Tubu tat-testijiet bil-qieġħ li jidjieq u tapp tal-ħġieġ li jissiġilla, 10 mL.

3.2. Kromatografu b'faži gassuża li jkun jista' jintuża ma' kolonna kapillari, li jkollu sistema ta' injezzjoni maqsuma u li jkun magħmul minn:

3.2.1. Kompartiment termostatiku għall-kolonni li jifilħu jżommu t-temperatura mixtieqa bi preċiżjoni ta' ± 1 °C;

3.2.2. Unità ta' injezzjoni b'temperatura li tista' tiġi adattata li jkollha element ta' vaporizzazzjoni tal-ħġieġ persilanizzat u sistema maqsuma;

3.2.3. Individwatur tal-jonizzazzjoni bi fjamma (FID);

3.2.4. Sistema għall-ksib tad-data xierqa għall-użu mal-individwatur FID (3.10.3.), b'kapaċità ta' integrazzjoni manwali.

3.3. Kolonna kapillari tas-silika mdewba twila bejn 20 u 30 m, b'dijametru intern ta' bejn 0,25 mm u 0,32 mm, miksija b'5 % Difenil u 95 % Dimetilpolisilossan (il-faži stazzjonarja ta' SE-52 jew SE-54 jew l-ekwivalenti), hekk li jkollha ħxuna uniformi ta' bejn 0,10 µm u 0.30 µm.

3.4. Mikrosiringa, b'kapaċità ta' 10 µL, għall-kromatografija b'faži gassuża, b'labra mwaħħla adattata għall-injezzjoni maqsuma.

4. REAĠENTI

4.1. Piridin anidruż, għall-kwalità tal-kromatografija.

4.2. Disilażan tal-eżametil ta' kwalità analitika.

4.3. Trimetilklorosilan ta' kwalità analitika.

4.4. Mudelli tas-soluzzjonijiet tal-eteri tat-trimetilsilil tal-isteroli. Dawn għandhom jitħejjew fil-ħin tal-użu mill-isteroli u l-eritrodiol miksubin miż-żjut li jkun fihom dawn is-sustanzi.

4.5. Soluzzjonijiet standard ta' eteri tat-trimetilsilil ta' alkoħol alifatiku minn C20 sa C28. Dawn jistgħu jiġu mħejjija minn taħlitiet ta' alkoħol pur fil-ħin li jkunu meħtieġa għall-użu.

4.6. Gass trasportatur: l-idroġenu jew l-elju, pur għall-kromatografija tal-gass.

4.7. Gassijiet awżiljarji: l-idroġenu, l-elju, in-nitroġenu u l-arja, li jkunu puri għall-kromatografija tal-gass.

4.8. Reaġent ta' sililazzjoni, li jikkonsisti f'taħlita ta' 9:3:1 (V/V/V) ta' piridina/disilażan tal-eżametil/trimetilklorosilan.

4.9. n-Eżan, għall-kwalità tal-kromatografija.

5. ĦEJJIJA TAL-ETERI TAT-TRIMETILSILIL

Żid ir-reaġent ta' sililazzjoni (4.8) (Nota 6), fil-proporzjon ta' 50 µl għal kull milligramma ta' kompost alkoħoliku, fit-tubu tat-testijiet (3.1) li jkun fih il-frazzjoni ta' komposti alkoħoliċi, filwaqt li tevita kwalunkwe assorbiment ta' umdità (Nota 7).

Nota 6: Wieħed jista' jsib għall-bejgħ soluzzjonijiet lesti għall-użu. Wieħed jista' jsib ukoll reaġenti ta' sililazzjoni oħrajn bħal, pereżempju, il-bistrimetilsilil trifluwor aċetammid + 1 % trimetilklorosilan, li jrid jiġi dilwit bl-istess volum ta' piridina anidruża. Minflok il-piridina jista' jintuża l-istess ammont ta' aċetonitril.

Nota 7: L-opalexxenza ħafifa li tista' tirriżulta hija normali u ma toħloq l-ebda anomalija. Il-formazzjoni ta' bjuda jew l-apparenza ta' kulur roża jindikaw il-preżenza ta' umdità jew deterjorament tar-reaġent. Jekk dan iseħħ, it-test irid jerġa' jsir (jekk jintuża l-eżametildisilażan jew it-trimetilklorosilan biss).

Agħlaq it-tubu tat-testijiet (3.1), ħawdu bil-galbu (mingħajr ma taqilbu rasu 'l isfel) sakemm il-komponenti jinħallu kompletament. Ħallih joqgħod għal mill-inqas kwarta f'temperatura ambjentali u mbagħad ħawdu b'azzjoni ċentrifuga għal ftit minuti. Is-soluzzjoni ċara tkun lesta biex tiġi analizzata bil-kromatografija b'fażi gassuża.

6. ANALIŻI TAL-KROMATOGRAFIJA B'FAŻI GASSUŻA

6.1. L-operazzjonijiet preliminari, il-kundizzjonament tal-kolonna kapillari.

Waħħal il-kolonna (3.3) fil-kromatografu b'fażi gassuża billi tqabbad it-tarf ta' ġewwa mal-apparat għall-injezzjoni maqsuma u t-tarf ta' barra mal-individwatur.

Wettaq kontrolli ġenerali fuq il-kromatografu b'fażi gassuża (nixxijiet miċ-ċirkwiti tal-gass, l-effiċjenza tal-individwatur, l-effiċjenza tas-sistema ta' separazzjoni u s-sistema ta' reġistrazzjoni, eċċ.).

Jekk il-kolonna tkun qed tintuża għall-ewwel darba, huwa rrakkomandat li għandha tiġi soġġetta għal kundizzjonament: jingħadda fluss ħafif ta' gass mill-kolonna nnifisha, imbagħad jitqabbad il-kromatografu b'fażi gassuża u jibda t-tisħin b'mod gradwali sa ma tintlaħaq temperatura ta' mill-anqas 20 °C aktar mit-temperatura ta' ħaddim (Nota 8). Żomm din it-temperatura għal mill-inqas sagħtejn, imbagħad qiegħed l-apparat kollu fil-modalità tat-ħaddim (l-aġġustament tal-kurrenti tal-gass u tas-sistema ta' separazzjoni, it-tqabbid tal-fjamma, il-konnessjoni mas-sistema tal-kompjuter, l-aġġustament tat-temperatura tal-kolonna, tal-individwatur u tal-apparat għall-injezzjoni, eċċ.) u mbagħad irreġistra s-sinjal b'sensittività li tkun mill-inqas darbtejn iktar minn dik maħsuba għall-analiżi. Ir-rotta tal-linja ta' referenza trid tkun lineari, mingħajr ebda quċċata, u m'għandhiex turi devjazzjonijiet. Drift negattiva f'linja dritta tindika nixxija mill-konnessjonijiet tal-kolonna: drift pożittiv tindika kundizzjonament inadegwat tal-kolonna.

Nota 8: It-temperatura tal-kundizzjonament dejjem trid tkun mill-inqas 20 °C inqas mit-temperatura massima speċifikata għall-fażi stazzjonarja użata.

6.2. Kundizzjonijiet ta' tħaddim

Ottimizza l-programm tat-temperatura u l-fluss tal-gass trasportatur sabiex ikunu jistgħu jinkisbu l-kromatogrammi simili għall-Figuri minn 3 sa 6.

Il-parametri li ġejjin ġew ittestjati u nsabu utli:

6.2.1. Alkoħol alfatiku

Programm tal-Forn	180 °C (8 min.) → 260 °C (at 5 °C/min) → 260 °C (15 min)
Temperatura tal-Injettur	280 °C
Temperatura tal-Individwatur	290 °C
Veloċità Lineari tal-Gass trasportatur	Elju (bejn 20 u 30 cm/s); Idroġenu – (bejn 30 u 50 cm/s)
Proporzjon tal-Qasma	bejn 1:50 u 1:100
Volum Injettat	bejn 0,5 u 1 µl tas-soluzzjoni ta' TMSE

6.2.2. Steroli u dialkoħol triterpeniku

Programm tal-Forn	260 ± 5 °C Isotermiku
Temperatura tal-Injettur	280 – 300 °C
Temperatura tal-Individwatur	280 – 300 °C
Veloċità Lineari tal-Gass trasportatur	Elju (bejn 20 u 30 cm/s); Idroġenu (bejn 30 u 50 cm/s)
Proporzjon tal-firda	bejn 1:50 u 1:100
Volum Injettat	0,5 sa 1 µl tas-soluzzjoni TMSE

Dawn il-kundizzjonijiet jistgħu jinbidlu skont il-karatteristiċi tal-kolonna u tal-kromatografu b'fażi gassuża sabiex jinkisbu kromatogrammi li jilħqu r-rekwiżiti li ġejjin:

— Il-ħin ta' żamma tal-alkoħol C26 għandha tkun 18 ± 5 minuti.

— Il-quċċata tal-alkoħol C22 għandha tkun 80 ± 20 % tal-valur tal-iskala sħiħa għaż-żejt taż-żebbuġa u 40 ± 20 % tal-valur tal-iskala sħiħa għaż-żejt mir-residwi taż-żebbuġ.

— Il-ħin ta' żamma għall-quċċata tal-β-sitosterol għandu jkun ta' 20 ± 5 min.

— Il-quċċata tal-kampesterol għandha tkun: għaż-żejt taż-żebbuġa (b'kontenut medju ta' 3 %) 20 ± 5 % tal-iskala sħiħa.

— L-isteroli kollha preżenti jridu jiġu separati. Barra milli jkunu mifrudin, il-qċaċet għandhom jkunu wkoll maqtugħin għal kollox, i.e. il-linja tal-quċċata għandha tmur lura lejn il-linja bażi qabel ma titlaq għall-quċċata li jmiss. Madankollu, jista' jkun hemm riżoluzzjoni mhux sħiħa, dejjem jekk il-quċċata f'RRT 1,02 (is-sitostanol) tkun tista' tiġi kkwantifikata permezz tal-linja perpendikulari.

6.3. Il-proċedura analitika

Ħu 1 µl ta' eżan billi tuża l-mikrosiringa ta' 10 µl (3.4), iġbed għal ġo fiha 0,5 µl ta' arja u mbagħad 0,5 µl sa 1 µl tas-soluzzjoni tal-kampjun. Għolli l-planġer tas-siringa iktar sabiex il-labra tiżvojta. Imbotta l-labra fil-membrejn tal-apparat għall-injezzjoni u wara sekonda jew tnejn injetta malajr, imbagħad neħħi l-labra bil-mod wara madwar ħames sekondi. Jista' jintuża wkoll apparat awtomatiku għall-injezzjoni.

Irreġistra sakemm it-TMSE tal-komposti alkoħoliċi korrispondenti preżenti jiġu kompletament elwiti. Il-linja bażi trid tkompli tissodisfa r-rekwiżiti tal-kundizzjonijiet ta' tħaddim korrispondenti (6.2.1 jew 6.2.2).

6.4. L-identifikazzjoni tal-qċaċet

Identifika l-qċaċet individwali fuq il-bażi tal-ħinijiet ta' żamma u billi tqabbel mat-taħlita tal-alkoħol alifatiku u triterpeniku u t-TMSE tad-dialkoħol tal-isterol u t-triperpen, anlizzati bl-istess kundizzjonijiet. Kromatogramma tal-frazzjoni ta' alkoħol alifatiku u triterpeniku tintwera f'Figura 3 u l-kromatogrammi korrispondenti għall-isteroli u d-dialkoħol triterpeniku jintwerew f'Figura 2.

L-alkoħol alifatiku jiġi elwit fl-ordni li ġejja: C20-ol (I.S.), C22-ol, C23-ol, C24-ol, C25-ol, C26-ol, C27-ol u C28-ol.

L-isteroli u d-d-dialkoħol tat-triterpen huma elwiti fl-ordni li ġejja: kolesterol, brassikasterol, ergosterol, 24-metilin-kolesterol, kampesterol, kampestanol, stigmasterol, Δ7-kampesterol, Δ5,23-stigmastadienol, klerosterol, ß-sistosterol, sitostanol, Δ5-avenasterol, Δ5,24-stigmastadienol, Δ7-stigmastenol, Δ7-avenasterol, eritrodiol u uvaol.

6.5. Evalwazzjoni kwantitattiva

L-erji tal-quċċata ta' 1-ejkosanol u tal-alkoħol alifatiku C22, C24, C26, C28 jiġu kkalkulati minn sistema tal-akkwiżizzjoni tad-data. Il-fattur ta' rispons għall-α-ejkosanol għandu jitqies daqs 1.

Ikkalkula l-erjas tal-α-kolestanol u l-qċaċet tal-isteroli u tad-dialkoħol tat-triterpen billi tuża s-sistema tal-kompjuter. Tagħtix każ tal-qċaċet għal kwalunkwe sustanza komposta li mhix inkluża fost dawk elenkati fit-Tabella 1 (l-ergosterol ma jridx jiġi kkalkulat). Il-fattur tat-tweġiba għall-α-kolestanol għandu jitqies li huwa ta' 1.

Ikkalkula l-konċentrazzjoni ta' kull kompost alkoħoliku individwali, f'mg/kg ta' materjal xaħmi, kif ġej:

$$\textit{Kompost alkoholiku } x = \frac{A_x \times m_s}{A_s \times m} \times 1\,000$$

fejn:

A_x = L-erja tal-quċċata għall-kompost alkoħoliku x, f'komputazzjonijiet tas-sistema tal-kompjuter.

A_s = L-erja tal-quċċata tal-1-ejkosanol/α-kolestanol f'komputazzjonijiet tas-sistema tal-kompjuter.

m_s = Il-massa ta' 1-ejkosanol/α-kolestanol miżjud, f'milligrammi;

m = Il-massa tal-kampjun użat għad-determinazzjoni, fi grammi.

7. ESPRESSJONI TAR-RIŻULTATI

Irrapporta l-konċentrazzjonijiet tal-alkoħol triterpeniku u alifatiku individwali individwali f'mg/kg ta' materjal xaħmi u t-total tagħhom bħala 'kontenut totali ta' alkoħol alifatiku'. Il-kontenut totali huwa t-total ta' C22, C24, C26 u C28.

Il-kompożizzjoni ta' kull wieħed mill-komposti alkoħoliċi individwali għandu jiġi espress sa punt deċimali wieħed.

Il-konċentrazzjoni totali ta' steroli għandha tiġi espressa mingħajr l-ebda punt deċimali.

Ikkalkula l-perċentwal ta' kull sterol individwali mill-proporzjon tal-erja tal-quċċata rilevanti mal-arja totali tal-quċċata għall-isteroli:

$$\textit{Sterol } x = \frac{A_x}{\Sigma A} \times 100$$

fejn:

A_x = Erja tal-quċċata għal sterol x.

ΣA = L-erja totali tal-quċċata għall-isteroli.

β-sitosterol evidenti: Δ5,23-stigmastadienol + klerosterol + β-sitosterol + sitostanol + Δ5-avenasterol + Δ5,24-stigmastadienol.

Ikkalkula l-perċentwal ta' eritrodijol u uvaol:

$$Erythrodijol + \ Uvaol = \frac{A_{Er} + A_{Uv}}{\Sigma A_T} \times 100$$

fejn:

A_{Er} = L-erja ta' Eritrodijol f'komputazzjonijiet tas-sistema tal-kompjuter.

A_{Uv} = L-erja ta' Uvaol f'komputazzjonijiet tas-sistema tal-kompjuter.

Σ_{AT} = L-erja totali tal-isteroli + l-eritrodijol + l-uvaol f'komputazzjonijiet tas-sistema tal-kompjuter.

Barra mill-kalkolu tal-perċentwal relattiv ta' steroli u uniċi u diajalkoħol triterpeniku u l-konċentrazzjoni totali ta' steroli, trid tiġi kkalkulata l-konċentrazzjoni ta' eritrodijol u ta' uvaol u t-total tagħhom, f'mg/kg ta' materjal xaħmi, skont l-espressjonijiet li ġejjin:

$$Eritrodiol = \frac{A_{Er} \times m_s}{A_s \times m} \times 1\,000$$

$$Uvaol = \frac{A_{Uv} \times m_s}{A_s \times m} \times 1\,000$$

fejn:

A_{Er} = Erja tal-quċċata tal-Eritrodiol, f'komputazzjonijiet ta' sistema kompjuterizzata.

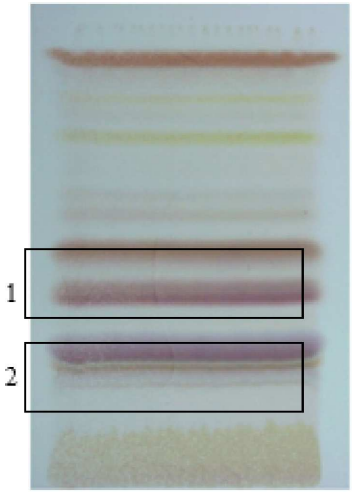
A_{Uv} = Erja ta' Uvaol f'komputazzjonijiet tas-sistema kompjuterizzata.

A_s = Erja tal-quċċata ta' α-kolestanol, f'komputazzjonijiet tas-sistema kompjuterizzata.

m_s = Massa ta' α-kolestanol miżjud, f'milligrammi.

m = Massa tal-kampjun użat għad-determinazzjoni, fi grammi.

Appendiċi



1 Idrokarburi
2 α-Tokoferol
3 Prenoli
4 Alkoħol Triterpeniku
5 Alkoħol Alfatiku
6 Steroli tal-Metil
7 Steroli
8 Dialkoħol Triterpeniku

Figura 1 — TLC tal-frazzjoni mhux sapunifikabbli miż-żejt mir-residwi taż-żebbuġ elwit darbtejn bl-eżan: etere dieteiliku (65:35), żviluppat b'SO4H2 (50 %) u msaħħan. Il-faxex li għandhom jintremew huma dawk fir-rettangolu, 1 huma l-faxex għall-alkoħol alifatiku u 2 għall-isteroli u għad-dialkoħol triterpeniku.

Tabella I — Il-ħinijiet relattivi ta' żamma għall-isteroli

Quċċata	Identifikazzjoni		Il-ħin relattiv ta' żamma	
			Il-kolonna SE 54	Il-kolonna SE 52
1	Kolesterol	Δ-5-kolesten-3ß-ol	0,67	0,63
2	Kolestanol	5α-kolestan-3ß-ol	0,68	0,64
3	Brassikasterol	[24S]-24-metil-Δ-5,22-kolestadijen-3β-ol	0,73	0,71
*	Ergosterol	[24S]-24-metil-Δ-5,7,22 kolestatrijen-3β-ol	0,78	0,76
4	24-metilen -kolesterol	24-metilen-Δ-5,24-kolestadijen-3ß-o1	0,82	0,80
5	Kampesterol	(24R)-24-metil-Δ-5-kolesten-3ß-ol	0,83	0,81
6	Kampestanol	(24R)-24-metil-kolestan-3ß-ol	0,85	0,82
7	Stigmasterol	(24S)-24-etil-Δ-5,22-kolestadien-3ß-ol	0,88	0,87
8	Δ-7-kampesterol	(24R)-24-metil-Δ-7-kolesten-3ß-ol	0,93	0,92
9	Δ-5,23-kampesterol	(24R,S)-24-etil-Δ-5,23-kolestadien-3ß-ol	0,95	0,95
10	Klerosterol	(24S)-24-etil-Δ-5,25-kolestadien-3ß-ol	0,96	0,96

Quċċata	Identifikazzjoni		Il-ħin relattiv ta' żamma	
			Il-kolonna SE 54	Il-kolonna SE 52
11	ß-sitosterol	(24R)-24-etil-Δ-5-kolesten-3ß-ol	1,00	1,00
12	Sitostanol	24-etil-kolestan-3ß-ol	1,02	1,02
13	Δ-5-kampesterol	(24Z)-24-etiliden-Δ-kolesten-3ß-ol	1,03	1,03
14	Δ-5,24-stigmastadienol	(24R,S)-24-etil-Δ-5,24-kolestadien-3ß-ol	1,08	1,08
15	Δ-7-stigmastenol	(24R,S)-24-etil-Δ-7-kolesten-3ß-ol	1,12	1,12
16	Δ-7-avenasterol	(24Z)-24-etiliden-Δ-7-kolesten-3ß-ol	1,16	1,16
17	Eritrodiol	5α-olean-12-en-3β,28-diol	1,41	1,41
18	Uvaol	Δ12-ursen-3β,28-diol	1,52	1,52

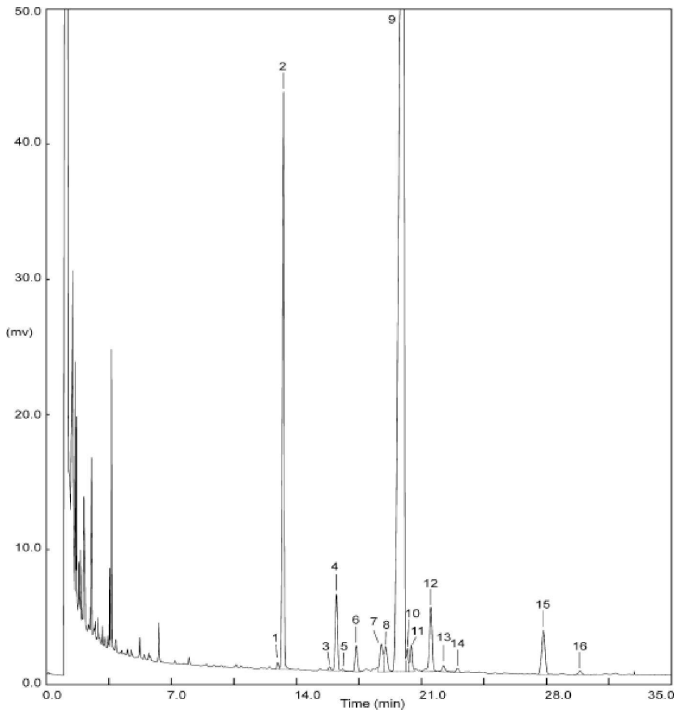


Figura 2 — Profil kromatografiku GC-FID tal-isterol u tad-dialkoħol triterpeniku miż-żejt taż-żebbuġa raffinat. (1) Kolesterol, (2) α-kolestanol (I.S.), (3) 24-metilenkolesterol, (4) kampesterol, (5) kampestanol, (6) stigmasterol, (7) Δ5,23-stigmastadienol, (8) klerosterol, (9) β-sitosterol, (10) sitostanol, (11) Δ5-avenasterol, (12) Δ5,24-stigmastadienol, (13) Δ7-stigmastenol, (14) Δ7-avenasterol, (15) eritrodiol, (16) uvaol.

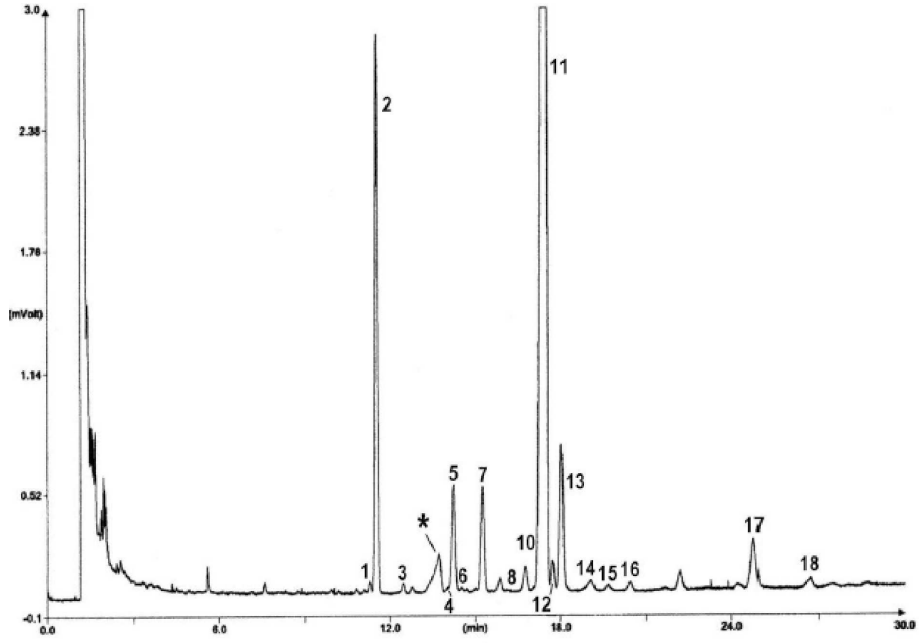


Figura 3 — Profil kromatografiku GC-FID tal-isteroli u tad-dialkoħol triterpeniku miż-żejt taż-żebbuġa lampante. (1) Kolesterol, (2) α-kolestanol, (3) brassikasterol, (4) 24-metilenkolesterol, (5) kampesterol, (6) kampestanol, (7) stigmasterol, (8) Δ7-kampesterol, (9) Δ5,23-stigmastadienol, (10) klerosterol, (11) β-sitosterol, (12) sitostanol, (13) Δ5-avenasterol, (14) Δ5,24-stigmastadienol, (15) Δ7-stigmastenol, (16) Δ7-avenasterol, (17) eritrodiol, (18) uvaol.

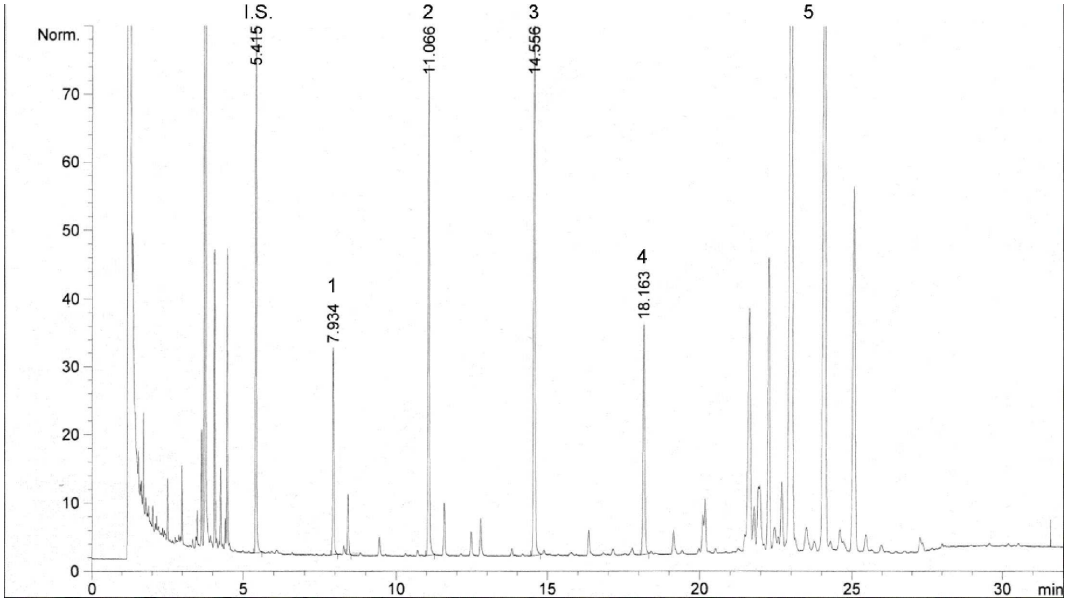


Figura 4 — Profil kromatografiku GC-FID ta' alkoħol alifatiku u alkoħol triterpeniku taż-żejt taż-żebbuġa. (I.S.) C20-ol, (1) C22-ol, (2) C24-ol, (3) C26-ol, (4) C28-ol, (5) alkoħol triterpeniku.

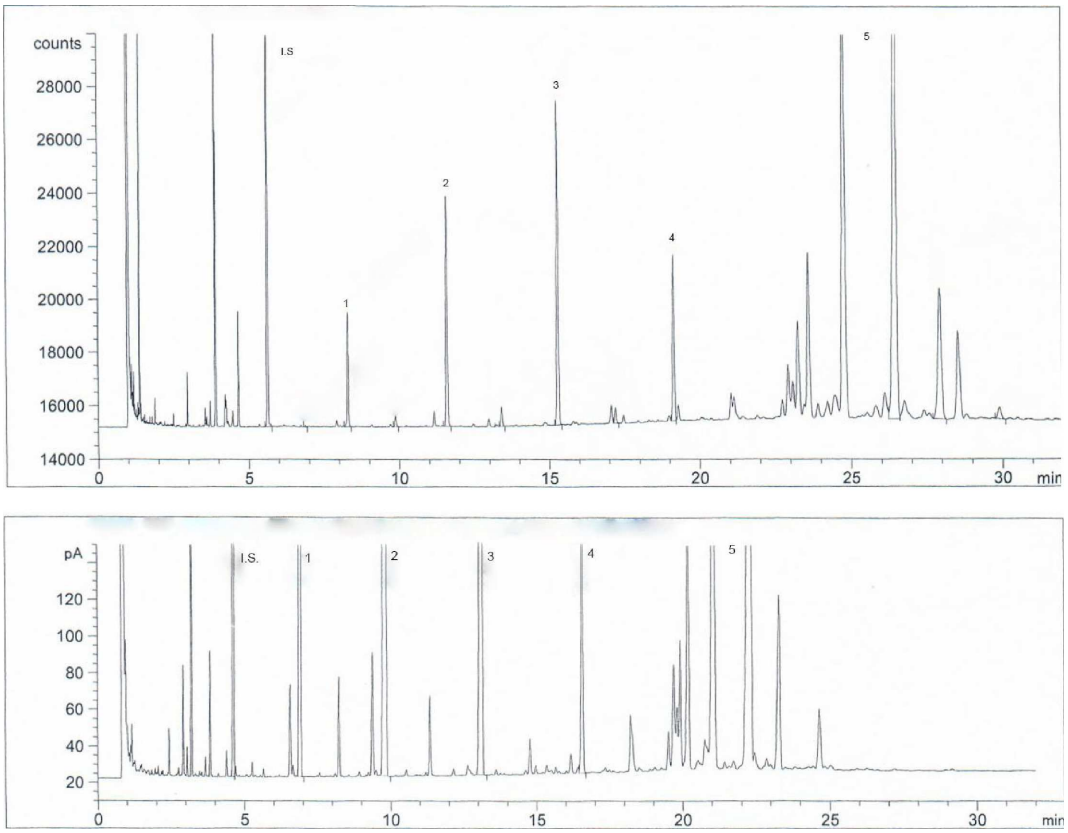


Figura 5 — Profil kromatografiku GC-FID ta' alkoħol alifatiku u alkoħol triterpeniku ta' żejt taż-żebbuġa raffinat u żejt taż-żebbuġa tat-tieni ċentrifugazzjoni. (I.S.) C20-ol, (1) C22-ol, (2) C24-ol, (3) C26-ol, (4) C28-ol, (5) alkoħol triterpeniku.

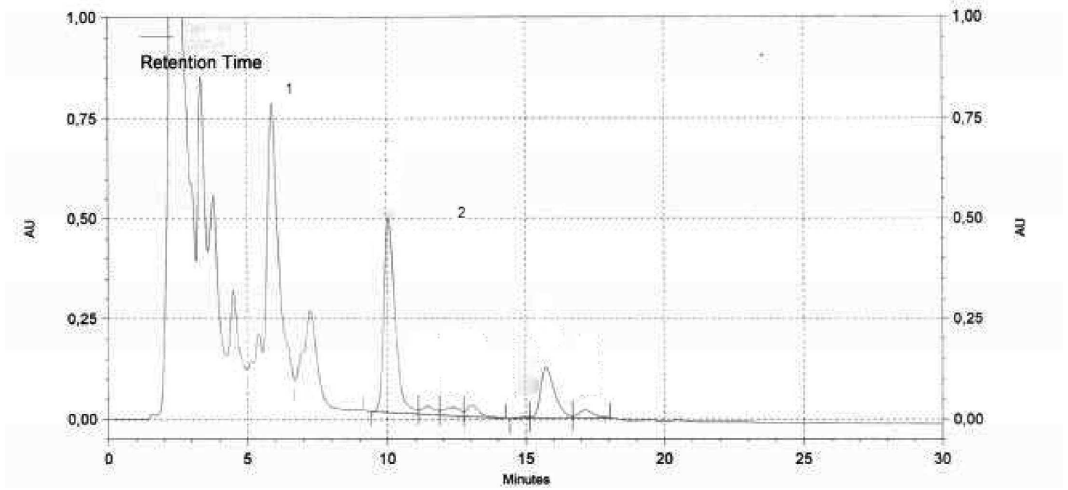


Figura 6 — Kromatogramma tal-HPLC ta' żejt taż-żebbuġa mhux sapunifikabbli separat permezz tal-HPLC bl-użu ta' individwatur tal-UV. (1) Alkoħol alifatiku u triperpeniku; (2) Steroli u dialkoħol triterpeniku.".