REGOLAMENT TAL-KUMMISSJONI (KE) Nru 121/2008

tal-11 ta' Frar 2008

li jistabbilixxi l-metodu ta' analiżi għad-determinazzjoni tal-kontenut tal-lamtu fil-preparazzjonijiet ta' tip użat fl-għalf ta' l-annimali (kodiċi NM 2309)

IL-KUMMISSJONI TAL-KOMUNITAJIET EWROPEJ,

Wara li kkunsidrat it-Trattat li jistabbilixxi l-Komunità Ewropea,

Wara li kkunsidrat ir-Regolament tal-Kunsill (KEE) Nru 2658/87 tat-23 ta' Lulju 1987 dwar in-nomenklatura tat-tariffa u l-istatistika u dwar it-Tariffa Doganali Komuni [1], u b'mod partikolari l-Artiklu 9(1)(a) tiegħu,

Billi:

(1) Sabiex ikun żgurat li l-preparazzjonijiet ta' tip użat fl-għalf ta' l-annimali (kodiċi NM 2309) jirċievu trattament uniformi fuq l-importazzjoni madwar il-Komunità, huwa meħtieġ li, fl-użu ta' metodi analitiċi, għandha tittieħed konsiderazzjoni ta' evoluzzjoni xjentifika u teknoloġika ta' dawk il-metodi.

(2) Skond it-Tielet Direttiva tal-Kummissjoni 72/199/KEE tas-27 ta' April 1972 li tistabbilixxi metodi ta' analizi tal-Komunità għall-kontroll uffiċjali ta' l-għalf [2], għad-determinazzjoni tal-kontenut tal-lamtu fil-preparazzjonijiet ta' tip użat fl-għalf ta' l-annimali, għandu jintuża l-metodu polarimetriku (magħruf ukoll bħala: il-metodu Ewers modifikat), deskritt fil-punt 1 ta' l-Anness I għal dik id-Direttiva.

(3) Fid-dawl ta' l-istudji mwettqa mill-esperti tal-laboratorji tad-dwana ta' l-Istati Membri, jeħtieġ li jkun provdut li meta l-metodu polarimetriku stabbilit fid-Direttiva 72/199/KEE ma jistax ikun applikat għad-determinazzjoni tal-kontenut tal-lamtu fil-preparazzjonijiet imsemmija, il-metodu analitiku enżimatiku għandu jkun applikat. Huwa għalhekk xieraq li jkun speċifikat kif dak il-metodu enżimatiku għandu jkun imwettaq.

(4) Il-miżuri provduti f'dan ir-Regolament huma skond l-opinjoni tat-Taqsima tan-Nomenklatura tat-Tariffa u ta' l-Istatistika tal-Kumitat tal-Kodiċi Doganali,

ADOTTAT DAN IR-REGOLAMENT:

Artikolu 1

B'deroga mill-Artiklu 1 tad-Direttiva 72/199/KEE, il-kontenut tal-lamtu bil-piż tal-preparazzjonijiet ta' tip użat fl-għalf ta' l-annimali fit-tifsira tal-kodiċi NM 2309 għandu jkun determinat bil-metodu analitiku enżimatiku stabbilit fl-Anness għal dan ir-Regolament fil-każi fejn il-materjali għall-għalf li ġejjin ikunu preżenti f'ammonti sinifikanti:

(a) prodotti tal-pitravi (taz-zokkor) bħal polpa tal-pitravi (taz-zokkor), ġulepp tal-pitravi (taz-zokkor), polpa magħmula ġulepp tal-pitravi (taz-zokkor), *vinasse* tal-pitravi (taz-zokkor), zokkor (tal-pitravi);

(b) polpa taċ-ċitru;

(c) żerriegħa tal-kittien; espellatur taż-żerriegħa tal-kittien; estratt taż-żerriegħa tal-kittien;

(d) żerriegħa tal-kolza; espellatur taż-żerriegħa tal-kolza; estratt taż-żerriegħa tal-kolza; qxur taż-żerriegħa tal-kolza;

(e) żerriegħa tal-ġirasol; estratt taż-żerriegħa tal-ġirasol; estratt taż-żerriegħa tal-ġirasol parzjalment imqaxxra;

(f) espellatur tal-kopra; estratt tal-kopra;

(g) polpa tal-patata;

(h) ħmira deidrata;

(i) prodotti rikki fl-inulina (eż. biċċiet u dqiq ta' l-artiċokks ta' Ġerusalemm);

(j) *greaves*.

Artikolu 2

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

[1] ĠU L 256, 7.9.1987, p. 1. Ir-Regolament kif emendat l-aħħar bir-Regolament tal-Kummissjoni (KE) Nru 1352/2007 (ĠU L 303, 21.11.2007, p. 3).

[2] ĠU L 123, 29.5.1972, p. 6. Id-Direttiva kif emendata l-aħħar bid-Direttiva 1999/79/EC (ĠU L 209, 7.8.1999, p. 23).

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

Magħmul fi Brussell, 11 ta' Frar 2008.

Għall-Kummissjoni
László KOVÁCS
Membru tal-Kummissjoni

ANNESS

METODU ENŻIMATIKU GĦAD-DETERMINAZZJONI TAL-KONTENUT TAL-LAMTU FIL-PREPARAZZJONIJIET UŻATI FL-GĦALF TA' L-ANNIMALI BL-UŻU TAL-KROMATOGRAFIJA TA' LIKWIDI BI PRESSJONI GĦOLJA (HPLC)

1. **Skop**

Dan il-metodu jiddeskrivi l-kalkolu enżimatiku tal-kontenut tal-lamtu fl-għalf ta' l-annimali. Il-kontenut tal-lamtu hu mnissel mill-kalkolu kwantitattiv tal-glukows wara l-brejkdawn enżimatiku tal-lamtu preżenti fi glukows. Il-glukows kollu mkejjel hu kkunsidrat li jkun ġie mil-lamtu, li jkun hemm fil-kampjun.

2. **Definizzjonijiet**

F'dan il-metodu, ikun determinat il-kontenut tal-lamtu u brejkdawn tal-prodotti b'massa molekolari għolja, li ma jinħallux f'40 % etanol. Il-kontenut tal-lamtu hu espress f'% (m/m).

3. **Prinċipju**

Il-kampjuni huma omoġenizzati bit-tħin. Il-kampjun jinħasel b'40 % etanol biex ikunu eliminati zokkrijiet li jinħallu u prodotti li jinħallu tad-dekompożizzjoni tal-lamtu.

L-enżima termostabbli alfa-amilaży hija miżjuda mas-sospensjoni. Din l-enżima tkisser il-lamtu f'temperatura ta' 100 °Ċ fi ktajjen iżgħar, kemm jekk il-lamtu ikun qiegħed jinħall jew le. Ċapep kbar ta' lamtu jitkissru bil-mod ħafna.

Għalhekk hu neċessarju li l-kampjuni jinħallu għal kollox jew ikunu preżenti f'forma ta' sospensjoni li jkollha biċċiet sħaħ żgħar ħafna.

Imbagħad tiżdied it-tieni enżima amiloglukosidaży, li tidrolizza l-ktajjen iddegredati tal-glukows fi glukows f'temperatura ta' 60 °Ċ.

Wara li jiċċara l-likwidu fejn il-proteini, ix-xaħmijiet u l-fdalijiet preżenti jkunu twarrbu wara t-tisfija, tinkiseb soluzzjoni ċara li tkun tista' tintuża għall-HPLC.

Issir separazzjoni taz-zokkrijiet preżenti mill-HPLC.

4. **Reaġenti u materjali oħra**

Uża reaġenti ta' grad analitiku rikonoxxut u ilma demineralizzat.

4.1. Etanol 40 % vol. fl-ilma

4.2. Glukows, min. 99 %.

4.3. Soluzzjoni ta' Amiloglukosidaży (1,4-alfa-D-Glukan glukoidrolaży) *mill-Aspergillus niger* (attivita' enżimatika > 5 000 U/ml). Ħażna f'temperatura ta' madwar 4 °C

Alternattivament, jista' jintuża wkoll trab ta' l-amiloglukosidaży.

4.4. Alfa-amilaży termostabbli (1,4-alfa-D-Glukan glukoidrolaży). Ħażna f'temperatura ta' madwar 4 °Ċ.

4.5. Aċetat deidrat taż-żingu, p.a.

4.6. Eksaċjanuferrat tal-potassju (II) (*Potassium hexacyanoferrate* (II) ($K_4[Fe(CN)]_6.3H_2O$), ekstra pur.

4.7. Aċetat tas-sodju anidru, p.a..

4.8. Aċtu aċetiku glaċjali, 100 % (v/v).

4.9. Bafer ta' l-aċetat tas-sodju (0,2 mol/l).

Iżen 16,4 gramma ta' aċetat tas-sodju (4.7) f'biker tal-ħġieġ. Ħoll fl-ilma u laħlaħ ġo flixkun volumetriku ta' 1 000 ml. Iddilwixxi bl-ilma sal-marka u rranġa l-pH għall-4,7 b'aċtu aċetiku (bl-użu ta' strument tal-pH (5.11)). Din is-soluzzjoni tista' tintuża sa massimu ta' 6 xhur f'temperatura tal-ħażna ta' 4 °Ċ .

4.10. Soluzzjoni ta' l-amiloglukosidaży (attivita' enżimatika > 250 U/ml)

Ipprepara soluzzjoni ta' 5 ml ta' soluzzjoni ta' amiloglukosidaży (4.3) jew 660 mg ta' trab ta' amiloglukosidaży b'volum finali ta' 100 ml billi jintuża bafer ta' l-aċetat tas-sodju (4.9). Ipprepara mill-ewwel.

4.11. Soluzzjoni ta' referenza.

Ipprepara soluzzjonijiet tal-glukows fl-ilma, kif użat konvenzjonalment fl-analiżi HPLC.

4.12. Reaġent għat-tisfija/l-iċċarar (Carrez I).

Ħoll 219,5 gramma ta' aċetat taż-żingu (4.5) fl-ilma f'biker tal-ħġieġ. Laħlaħ ġo flixkun volumetriku ta' l-1 000 ml, żid 30 ml aċtu aċetiku (4.8). Ħawwad sew u żid bl-ilma. Din is-soluzzjoni tista' tintuża sa massimu ta' 6 xhur meta maħżuna f'temperatura ambjentali ta' ġewwa.

Reaġenti oħra tat-tisfija, ekwivalenti għal soluzzjoni ta' Carrez, jistgħu jintużaw.

4.13. Reaġent għat-tisfija/l-iċċarar (Carrez II)

Ħoll 106,0 gramma Eksaferroċjanur tal-potassju (II) (4.6) (*potassium hexacyanoferrate* (II)) fl-ilma f'biker tal-ħġieġ. Laħlaħ ġo flixkun volumetriku ta' l-1 000 ml. Ħallat sew u żid bl-ilma. Din is-soluzzjoni tista' tintuża sa massimu ta' 6 xhur meta maħżuna f'temperatura ambjentali ta' ġewwa.

Reaġenti oħra tat-tisfija, ekwivalenti għal soluzzjoni ta' Carrez, jistgħu jintużaw.

4.14. Faži mobbli:

Hija ppreparata faži mobbli li tkun tista' tintuża konvenzjonalment fl-analiżi HPLC taz-zokkor. Fil-każ ta' użu tal-kolonna bil-ġel tas-silika aminopropil eż., faži mobbli komuni hi taħlita ta' ilma HPLC iggradat u aċetonitrile.

5. **Apparat**

5.1. Apparat tal-laboratorju standard tal-ħġieġ.

5.2. Ċentrifuga li tagħti 1 000 g jew aktar (ikkalkulata fiċ-ċentru tat-tubu).

5.3. Tubi tal-ħġieġ tal-100 ml għaċ-ċentrifuga.

5.4. Aġitatur manjetiku.

5.5. Vireg manjetiċi.

5.6. Filtri skanalati, eż. 185 mm.

5.7. Filtri tas-siringi, 0,45 μm, adattati għal soluzzjonijiet milwiema.

5.8. Vjali għall-ikkampjunar adattati għall-kampjunatur awtomatiku HPLC.

5.9. Fliexken volumetriċi tal-100 ml.

5.10. Siringi tal-plastik, 5 u 10 ml.

5.11. Miter tal-pH.

5.12. Banju ta' l-ilma bit-termostat, li jista' jkun irregolat għal 60 °Ċ u 100 °Ċ.

5.13. Pjanċi għat-tisħin bl-aġitaturi manjetiċi.

5.14. Apparat ta' l-HPLC.

5.14.1. Pompa, tajba għall-pulsazzjoni-żero.

5.14.2. Kampjunatur awtomatiku.

5.14.3. Kolonna u prekolonna, adattati għall-analiżi taz-zokkor.

5.14.4. Forn vertikali, firxa ta' temperatura bejn dik ambjentali ta' ġewwa u l-40 °Ċ.

5.14.5. Ditekter, tajjeb għall-analiżi taz-zokkor, eż., Ditekter għall-Indiċi Refrattiv.

5.14.6. Sistema ta' integrazzjoni.

6. **Proċedura**

6.1. Ġenerali

Il-kampjuni huma analizzati wieħed wieħed.

6.2. Preparazzjoni tal-kampjun għall-diversi tipi ta' prodotti

Il-prodott huwa omoġenizzat bit-tħin.

6.3. Porzjon kampjun

Il-kontenut tal-lamtu hu stmat bl-għajnuna tad-dikjarazzjoni ta' l-ingredjenti. L-ammont tal-kampjun (miżun sa 0.1 mg eżatt) jista' jkun stmat minn:

$$\text{ammont tal} - \text{ kampjun (g)} = \frac{\text{volum tal} - \text{ flixkun volumetriku (100 ml)}}{\text{ammont tal} - \text{ kampjun (\%)}}$$

6.4. Id-determinazzjoni vojta

Il-vojt hu determinat billi ssirlu analiżi kompluta (kif deskritta f'6.5), mingħajr ma jiżdiedlu kampjun. Ir-riżultat tad-determinazzjoni vojta jintuża fil-kalkolu tal-kontenut tal-lamtu (7.1).

6.5. L-analiżi

6.5.1. It-tħejjija tal-kampjuni

Ħallat il-kampjun billi ċċaqilqu jew tħawdu. Il-porzjon magħżul għall-eżami (6.3) jintiżen f'tubu ċentrifugu (5.3) u jiżdiedu 50 ml etanol 40 % (4.1). Ħawwad fl-aġitatur manjetiku għall-20 minuta f'temperatura ambjentali ta' ġewwa. Ħalli l-virga manjetika fit-tubu u ċċentrifuga għal ħames minuti. Onfoħ bil-galbu u neħħi l-fażi likwida (eż., b'pipetta Pasteur). Irrepeti din il-proċedura ta' estrazzjoni b'25 ml etanol għal darbtejn (4.1). Ittrasferixxi r-residwu ġo flixkun volumetriku ta' 100 ml (5.9) b'madwar 70 ml ilma. Wara li tħoll jew tissospendi, żid 100 mikrolitru ta' alfa-amilaża termostabbli (4.4) u saħħan f'temperatura ta' 100 °Ċ għall-siegħa, eż. f'banju ta' l-ilma (5.12). Berred għal temperatura ta' 60 °Ċ f'banju ta' l-ilma, u żid 5 ml ta' soluzzjoni ta' amiloglukosidaži (4.10). Poġġi l-flixkun għall-30 min ġo banju ta' l-ilma f'temperatura ta' 60 °Ċ. Berred għal temperatura ambjentali ta' ġewwa, iċċara l-kampjun billi żżid 1 ml Carrez I (4.12), ħawwad u mbagħad żid 1 ml Carrez II (4.13). Carrez I u II jistgħu jkunu miżjuda qabel jew wara t-tberrid. Iddilwixxi bl-ilma sal-marka, omoġenizza u ffiltra s-soluzzjoni b'filtru skanalat (5.6). Iġbor l-estratt tal-kampjun.

6.5.2. L-ipproċessar ta' l-estratti tal-kampjuni

Iffiltra l-estratti minn filtru tad-diska (5.7) b'siringa (5.10) li kienet imlaħlaħa qabel bl-estratt. Iġbor il-filtrati ġo vjali (5.8).

Nota: Il-filtru tad-diska jista' jintuża ħafna drabi. Irid jitlaħlaħ bl-estratt li jmiss biex tkun evitata kontaminazzjoni ta' l-estratt ta' qabel.

6.6. Il-kromatografija

L-HPLC hija magħmula konvenzjonalment għall-analiżi taz-zokkrijiet. Peress li l-kampjuni huma estratti bl-etanol/ilma, il-glukows hu z-zokkor prinċipali li jrid ikun analizzat. Jekk l-analiżi HPLC turi traċċi ta' maltosju, din tista' tindika konverżjoni mhux kompluta tal-lamtu.

7. **Kalkolu u tifsira tar-riżultati**

7.1. Il-kalkolu tar-riżultati HPLC

Mir-riżultati ta' l-analiżi HPLC, il-kontenut (%, m/m) tal-glukows hu kkalkulat. Is-soluzzjoni enżimatika ta' l-amiloglukosidaži (4.3) hi stabilizzata bil-glukows. Barra minn hekk, l-alfa-amilaži termostabbli (4.4) hi stabilizzata bis-sukrows, li tista' tkun parzjalment mibdula fi glukows b'attivita' ta' l-invertaži ta' l-amiloglukosidaži. Għalhekk, il-kejl tal-konċentrazzjoni tal-glukows (%, m/v) irid ikun ikkoreġut għall-konċentrazzjoni tal-glukows (%, m/v) fil-vojt. Il-kontenut tal-glukows (%, m/m) ikkoreġut għall-vojt huwa imbagħad ikkalkulat mill-korrezzjoni tal-konċentrazzjoni tal-glukows, il-piż tal-kampjun u l-ikkalibrar mas-soluzzjonijiet ta' referenza (4.11).

7.2. Il-kalkolu tal-kontenut tal-lamtu

Il-kontenut tal-lamtu (%, m/m) hu kkalkulat mill-kontenut tal-glukows (%, m/m) wara l-korrezzjoni tal-vojt.

Kontenut tal-lamtu = 0,9 * korrezzjoni tal-glukows

8. **Preċiżjoni**

8.1. Test interlaboratorjali

Id-dettalji tat-test interlaboratorjali fuq il-preċiżjoni tal-metodu huma miġbura fil-qosor f'8.4.

8.2. Ripetibbiltà

Id-differenza assoluta bejn żewġ riżultati tat-testijiet singoli indipendenti, miksuba bl-użu ta' l-istess metodu fuq materjal identiku għal test fl-istess laboratorju mill-istess operatur bl-użu ta' l-istess apparat f'perijodu qasir ta' żmien, tkun f'mhux aktar minn 5 % tal-każijiet akbar mil-limitu tar-ripetibbiltà ta' 1,1 % (m/m). Il-limitu ta' ripetibbilta' hu mnissel minn riżultati miġbura minn test interlaboratorjali (ara 8.4).

8.3. Riproduċibilita'

Id-differenza assoluta bejn żewġ riżultati tat-testijiet singoli, miksuba bl-użu ta' l-istess metodu fuq materjal identiku fl-laboratorji differenti minn operaturi differenti bl-użu ta' apparat differenti, tkun f'mhux aktar minn 5 % tal-każijiet akbar mill-limitu tar-riproduċibbilita' ta' 3,7 % (m/m). Il-limitu ta' riproduċibbilita' hu mnissel minn riżultati miġbura minn test interlaboratorjali (ara 8.4).

8.4. Riżultati tat-test interlaboratorjali

Test interlaboratorjali kien sar fl-2005 u l-2006 bil-parteċipazzjoni tal-laboratorji Ewropej tad-Dwana. Dan it-test twettaq skond l-ISO 5725 u l-protokoll IUPAC (*W. Horwitz, Pure and Applied Chemistry*, vol. 67, 1995, p. 331-343). Id-data ta' preċiżjoni mogħtija fit-tabella hawn taħt:

Riżultati ta' statistika mill-istudju interlaboratorjali

	Kampjun				
	1	2	3	4	5
L-għadd ta' laboratorji wara l-eliminazzjoni ta' dawk barra l-limitu	25	26	26	25	24
L-għadd ta' riżultati aċċettati	50	52	52	50	48
Kontenut medju tal-lamtu (%, m/m)	31,2	14,4	25,1	12,9	27,8
Devjazzjoni standard ta' ripetibbiltà s_r (%, m/m)	0,4	0,3	0,6	0,2	0,3
Limitu ta' ripetibbilità r (%, m/m)	1,1	0,8	1,7	0,7	0,9
Devjazzjoni standard ta' riproduċibiltà s_R (%, m/m)	1,7	0,8	1,7	0,9	1,3
Limitu ta' riproduċibilità R (%, m/m)	4,8	2,2	4,7	2,5	3,7

Kampjuni

1: għalf niexef tal-klieb
2: għalf niexef tal-qtates
3: għalf niexef tal-qtates (kampjun 2) biż-żjieda tal-lamtu
4: għalf niexef tal-qtates (kampjun 2) biż-żjieda tal-polpa tal-pitravi
5: għalf kummerċjali ta' annimali domestiċi