

394R0086

20.1.94

EUROOPAN YHTEISÖJEN VIRALLINEN LEHTI

N:o L 17/7

KOMISSION ASETUS (EY) N:o 86/94,

annettu 19 päivänä tammikuuta 1994,

voin sisältämän sitosterolin ja stigmasterolin määrittämisessä käytettävästä
vertailumenetelmästä

EUROOPAN YHTEISÖJEN KOMISSIO, joka

ottaa huomioon Euroopan talousyhteisön perustamisso-
pimuksen,ottaa huomioon maito- ja maitotuotealan yhteisestä mark-
kinajärjestelystä 27 päivänä kesäkuuta 1968 annetun
neuvoston asetuksen (ETY) N:o 804/68⁽¹⁾, sellaisena kuin se
on viimeksi muutettuna asetuksella (ETY) N:o 2071/92⁽²⁾, ja
erityisesti sen 6 artiklan 7 kohdan,

sekä katsoo, että

voi voidaan merkitä ja merkittyjä tuotteita on valvottava
komission asetuksen (ETY) N:o 570/88⁽³⁾, sellaisena kuin se
on viimeksi muutettuna asetuksella (ETY) N:o 3049/93⁽⁴⁾, 3
ja 6 artiklan mukaisesti,voin merkitsemistä koskevien vaatimusten tiukka noudat-
taminen on välttämätöntä tukea saavan voin mahdollisen lait-
toman käytön välttämiseksi,merkitsemisen tärkeys näiden järjestelmien hyvälle toimin-
nalle huomioon ottaen on tarpeen määritellä kaikille näissä
järjestelmissä vaadittaville merkkiaineille yhteiset havait-
semismenetelmät; tämä mahdollistaisi erityisesti käsittelyjen
tasapuolisuuden takaamisen kaikkien näitä järjestelmiä käyt-
tävien toimijoiden välillä ja poistaisi kaiken epätasa-
arvoisuuden kilpailuolosuhteissa, joka voi aiheutua
eroavaisuuksista kansallisten määrittämenetelmien välillä,komission asetuksessa (ETY) N:o 3942/92⁽⁵⁾ määritellään
voiöljyn sisältämän sitosterolin ja stigmasterolin määrit-tämisessä käytettävä vertailumenetelmä; tätä menetelmää
voidaan soveltaa hiukan muunneltuna voin sisältämien
steroli-merkkiaineiden määrittämiseksi,on tarpeen määrittää menetelmän tarkkuus ja sen sallitut
poikkeamat, jatässä asetuksessa säädetty toimenpiteet ovat maidon ja
maitotuotteiden hallintokomitean lausunnon mukaiset,

ON ANTANUT TÄMÄN ASETUKSEN:

1 artikla

Voin sisältämän stigmasteroli- tai B-sitosterolipitoisuuden
määrittämiseksi asetuksen (ETY) N:o 570/88 6 artiklan
mukaisesti sovellettava määrittämenetelmä on tämän
asetuksen liitteessä.Voi on merkitty oikein, jos saadut tulokset vastaavat liitteen 8
kohdassa täsmennettyjä vaatimuksia.

2 artikla

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

Sitä sovelletaan 1 päivästä huhtikuuta 1994.

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

Tehty Brysselissä 19 päivänä tammikuuta 1994.

Komission puolesta

René STEICHEN

Komission jäsen⁽¹⁾ EYVL N:o L 148, 28.6.1968, s. 13⁽²⁾ EYVL N:o L 215, 30.7.1992, s. 64⁽³⁾ EYVL N:o L 55, 1.3.1988, s. 31⁽⁴⁾ EYVL N:o L 273, 5.11.1993, s. 7⁽⁵⁾ EYVL N:o L 399, 31.12.1992, s. 29

LIITE

VOIN SISÄLTÄMÄN SITOSTEROLIN TAI STIGMASTEROLIN MÄÄRITYS
KAASUKROMATOGRAFISESTI KAPILLAARIKOLONNILLA

1 TARKOITUS JA SOVELTAMISALA

Menetelmässä selostetaan voin sisältämän sitosterolin tai stigmasterolin kvantitatiivisen määrittämisen mahdollistava menettely. Sitosteroli on β -sitosterolin ja 22-dihydro- β -sitosterolin summa pidettäessä muita sitosterooleita merkitykseltään vähäisinä. Tätä menetelmää sovelletaan asetuksen (ETY) N:o 570/88 mukaisesti saatuihin näytteisiin.

2 PERIAATE

Voi saippuoidaan kaliumhydroksidin avulla etanoliliuoksessa ja saippuoitumattomat osat uutetaan eetterillä.

Sterolit muutetaan trimetyylisilyylieettereiksi ja määritetään kaasukromatografisesti kapillaarikolonnilla suhteessa sisäiseen standardiin, betuliiniin.

3 VÄLINEISTÖ

- 3.1 Saippuoimispullo, 150 ml, varustettuna päästään hiotulla palautusjäähdyttimellä.
- 3.2 Erorussupiloita, 500 ml.
- 3.3 Pulloja, 250 ml.
- 3.4 Paineentasauspulloja, 250 ml tai sisällöltään vastaavia, tarkoitettu pois heitettävän eetterin keräämiseen.
- 3.5 Lasikolonne, 350 mm $\times$ 20 mm, varustettuna sintterilasiliitoksella.
- 3.6 Vesihaude tai tasalämpöinen mantteli.
- 3.7 Reaktiopulloja, 2 ml.
- 3.8 Kaasukromatografialaitteisto, jossa voidaan käyttää kapillaarikolonnia, varustettuna toimintalaitteistolla, joka koostuu:
 - 3.8.1 termotoidusta kolonniuunista, jossa voidaan ylläpitää haluttu lämpötila ± 1 °C tarkkuudella;
 - 3.8.2 lämpötilasäädettävästä injektorista;
 - 3.8.3 liekki-ionisaatiodetektorista ja muuntaja-vahvistimesta;
 - 3.8.4 integraattori-piirturista, jota voidaan käyttää muuntaja-vahvistimen (3.8.3) kanssa.
- 3.9 Kvartsilasinen kapillaarikolonne, joka on päällystetty kokonaisuudessaan BP 1:llä tai vastaavalla aineella tasaisesti 0,25 μ m paksuisella kerroksella; kolonnilla on pystyttävä erottamaan lanosterolin ja sitosterolin trimetyylisilyylijohtannaiset. Kolonne BP 1, pituudeltaan 12 m ja sisähalkaisijaltaan 0,2 mm, on sopiva.
- 3.10 Mikroruisku, 1 μ l, kärki karkaistua terästä, kaasukromatografiaa varten.

4 REAGENSIT

Kaikkien reagenssien on oltava hyväksyttyä analyysilaatua. Käytetyn veden on oltava tislattua vettä tai puhtaudeltaan vähintään sitä vastaavaa.

- 4.1 Etanoli, puhtaudeltaan vähintään 95 %.
- 4.2 Kaliumhydroksidi, 60 % liuos, liuotetaan 600 g kaliumhydroksidia (vähintään 85 %) veteen ja täytetään 1 litraksi vedellä.
- 4.3 Betuliini, puhtaudeltaan vähintään 99 %.
 - 4.3.1 Betuliiniliuoksia dietyylieetterissä (4.4).
 - 4.3.1.1 Sitosterolin määrittämiseen käytettävän betuliiniliuoksen pitoisuuden on oltava 1,0 mg/ml.
 - 4.3.1.2 Stigmasterolin määrittämiseen käytettävän betuliiniliuoksen pitoisuuden on oltava 0,4 mg/ml.
- 4.4 Dietyylieetteri, puhtaudeltaan analyysilaatua (ei sisällä peroksiedeja tai jäännöksiä).
- 4.5 Natriumsulfaatti, vedetön, rakeina, kuivattu ennalta 102 °C:ssa 2 tunnin ajan.

- 4.6 Silylointireagenssi, esimerkiksi TRI-SIL (saatavana yritykseltä Pierce Chemical Co., Cat No 49001) tai vastaava. (VAROITUS: TRI-SIL on syttyvää, myrkyllistä, syövyttävää ja voi olla karsinogeeninen. Laboratoriohenkilökunnan on tunnettava hyvin TRI-SILin sovellettavat turvallisuusohjeet ja heidän on noudatettava välttämättömiä varotoimenpiteitä).

- 4.7 Lanosteroli.

- 4.8 Sitosteroli, puhtaudeltaan tunnettu, vähintään 90 % (P).

Huomautus 1: Kalibrointiin käytettävien standardiaineiden puhtaus on määritettävä normalisointimenetelmän avulla. Lähdetään oletuksesta, että kaikki näytteessä olevat sterolit esiintyvät kromatogrammissa, että piikkien kokonaispinta-ala edustaa 100 %:sti steroliainesosia ja että sterolit antavat saman vasteen detektorilla. Järjestelmän lineaarisuus on tarkistettava kyseisillä pitoisuustasoilla.

- 4.8.1 Sitosterolin standardiliuos: valmistetaan 0,001 mg/ml tarkkuudella liuos, joka sisältää noin 0,5 mg/ml (W_1) sitosterolia (4.8) dietyylieetterissä (4.4).

- 4.9 Stigmasteroli, puhtaudeltaan tunnettu, vähintään 90 % (P).

- 4.9.1 Stigmasterolin standardiliuos: valmistetaan 0,001 mg/ml tarkkuudella liuos, joka sisältää noin 0,2 mg/ml (W_1) stigmasterolia (4.9) dietyylieetterissä (4.4).

- 4.10 Seos erotustestiiä varten: valmistetaan liuos, joka sisältää 0,05 mg/ml lanosterolia (4.7) ja 0,5 mg/ml sitosterolia (4.8) dietyylieetterissä (4.4).

5 MENETTELY

- 5.1 Standardiliuosten valmistus kromatografiaa varten: lisätään sisäinen standardiliuos (4.3.1) sopivaan sterolistandardiliukseen samanaikaisesti saippuoidun näytteen (5.2.2) kanssa.

- 5.1.1 Sitosterolin kromatografinen standardiliuos: siirretään 1 ml sitosterolin standardiliuosta (4.8.1) kahteen reaktiopulloon (3.7) ja poistetaan eetteri typpivirran avulla. Lisätään 1 ml sisäistä standardiliuosta (4.3.1.1) ja poistetaan eetteri typpivirran avulla.

- 5.1.2 Stigmasterolin kromatografinen standardiliuos: siirretään 1 ml stigmasterolin standardiliuosta (4.9.1) kahteen reaktiopulloon (3.7) ja poistetaan eetteri typpivirran avulla. Lisätään 1 ml sisäistä standardiliuosta (4.3.1.2) ja poistetaan eetteri typpivirran avulla.

- 5.2 Saippuoitumattomien osien valmistus

- 5.2.1 Sulatetaan voinäyte enintään 35 °C lämpötilassa; sekoitetaan se huolellisesti.

Punnitaan 1 mg:n tarkkuudella noin 1 g voita (W_2) 150 ml:n pulloon (3.1). Lisätään 50 ml etanolia (4.1) ja 10 ml kaliumhydroksidiliuosta (4.2). Säädetään jäähdytin refluksioivaksi ja nostetaan lämpötila noin 75 °C:seen 30 minuutin ajaksi. Irrutetaan jäähdytin ja annetaan pullon jäähtyä huoneenlämpötilaan.

- 5.2.2 Lisätään pulloon 1,0 ml sisäistä standardiliuosta (4.3.1.1, jos määritetään sitosterolia tai 4.3.1.2, jos määritetään stigmasterolia). Sekoitetaan huolellisesti. Siirretään pullon sisältö kvantitatiivisesti 500 ml:n erotussuppiloon (3.2). Huuhdellaan pullo 50 ml:lla vettä ja tämän jälkeen 250 ml:lla dietyylieetteriä (4.4). Erotussuppiloa ravistetaan voimakkaasti 2 minuutin ajan ja annetaan faasien erottua. Poistetaan alempi vesifaasi ja pestään eetterifaasi ravistellen neljällä peräkkäisellä 100 ml:n määräosalla vettä.

Huomautus 2: Emulsion muodostumisen välttämiseksi on välttämätöntä, että kaksi ensimmäistä vedellä tapahtuvaa huuhtelua suoritetaan varoen (10 kertaa käännellen). Kolmannessa huuhtelussa voidaan ravistella voimakkaasti 30 sekunnin ajan. Jos muodostuu emulsio, se voidaan poistaa lisäämällä 5–10 ml etanolia. Jos etanolia lisätään, on välttämätöntä suorittaa kaksi uutta ja voimakasta pesua vedellä.

- 5.2.3 Kaadetaan kirkas saippuaton eetterifaasi lasikolooniin (3.5), joka sisältää 30 g vedetöntä natriumsulfaattia (4.5). Kerätään eetteri 250 ml:n pulloon (3.3). Lisätään kiehumakiviä ja haihdutetaan lähes kuivaksi vesihauteella tai tasalämpöisellä manttelilla huolehtien poistettavien liuottimien keräämisestä.

Huomautus 3: Jos näytteiden uutteen haihdutetaan kuivaksi liian korkeassa lämpötilassa, voi tapahtua sterolihäviöitä.

- 5.3 Trimetyylisilylieettereiden valmistus

- 5.3.1 Siirretään pulloon jäänyt eetteriliuos 2 ml:n reaktiopulloon (3.7) käyttäen apuna 2 ml:aa eetteriä ja poistetaan eetteri typpivirran avulla. Pestään pullo kahdella ylimääräisellä 2 ml:n määräosalla eetteriä siirtäen ne reaktiopulloon ja poistaen eetteri kummallakin kerralla typon avulla.

- 5.3.2 Näyte silyloidaan lisäämällä 1 ml TRI-SILiä (4.6). Suljetaan pullo ja ravistetaan voimakkaasti sen liukenemiseksi. Jos liukeneminen on epätäydellistä, lämmitetään 65–70 °C:seen. Annetaan seistä vähintään 5 minuutin ajan ennen injektointia kaasukromatografiin. Standardit silyloidaan samalla tavoin kuin näytteet. Erotuskyvyn testaamiseen käytettävä seos (4.10) silyloidaan samalla tavoin kuin näytteet.

Huomautus 4: Silyloinnin on tapahduttava vedettömässä ympäristössä. Betuliinin epätäydellinen silyloituminen näkyy toisena betuliiniäkin lähellä olevana piikkinä.

Etanolin läsnäolo silyloinnin aikana häiritsee silylointia. Tämä voi olla seurausta riittämättömästä pesusta uuton aikana. Jos tämä ongelma toistuu, uuttovaiheeseen voidaan lisätä viides huuhtelu, joka tapahtuu ravistellen voimakkaasti 30 sekunnin ajan.

5.4 Analyysi kaasukromatografian avulla.

5.4.1 Toimintaolosuhteiden valinta.

Kaasukromatografi ohjelmoidaan valmistajan ohjeiden mukaisesti.

Ohjeelliset toimintaolosuhteet ovat seuraavat:

- kolonnin lämpötila: 265 °C
- injektorin lämpötila: 280 °C
- detektorin lämpötila: 300 °C
- kantajakaasun virtausnopeus: 0,6 ml/min
- vedyn paine: 84 kPa
- ilman paine: 155 kPa
- jakosuhte: 10/1–50/1; jakosuhte on optimoitava valmistajan ohjeiden mukaisesti ja detektorin vasteen lineaarisuus on sitten validoitava kyseiselle pitoisuusalueelle.

Huomautus 5: On erityisen tärkeää, että höyrystymiskammio puhdistetaan säännöllisesti.

- injektoitavan aineen määrä: 1 µl TMSE-liuosta.

Järjestelmän annetaan tasapainottua, kunnes saadaan riittävän stabiili vaste ennen analyysin suorittamista.

Näitä olosuhteita voidaan muuttaa kolonnin ja kaasukromatografian ominaisuuksien mukaisesti, jotta saadaan seuraavat edellytykset täyttävät kromatogrammit:

- sitosterolin piikin on erotuttava riittävästi lanosterolista. Kuvassa 1 esitetään tyypillinen kromatogrammi, jollainen on saatava erotustestiin käytetystä silyloidusta seoksesta (4.10)

- seuraavien steroleiden suhteellisten retentioaikojen olisi oltava suunnilleen:

kolesteroli	1,0
stigmasteroli	1,3
sitosteroli	1,5
betuliini	2,5

- betuliinin retentioajan olisi oltava noin 24 minuuttia.

5.4.2 Analyttinen menettely:

Injektoidaan 1 µl silyloitua standardiliuosta (stigmasterolia tai sitosterolia) ja säädetään integraattorin kalibrointiparametrit.

Injektoidaan uudelleen 1 µl silyloitua standardiliuosta vastekertoimen määrittämiseksi suhteessa betuliiniin.

Injektoidaan 1 µl silyloitua näyteliuosta ja mitataan piikkien pinta-ala. Jokaista näytesarjaa on edellettävä ja seurattava standardien injektointi.

Yleisenä sääntönä standardien injektointi voidaan suorittaa näytteen kuuden injektoinnin sarjan jälkeen.

Huomautus 6: Stigmasteroliinkin integroinnin olisi käsitettävä kuvassa 2b olevassa 1, 2 ja 3 kohdassa osoitettujen pisteiden välinen alue.

Sitosteroliinkin integroinnin olisi katettava 22-dihydro-β-sitosteroliinkin (stigmastanoli), joka eluoituu välittömästi sitosterolin jälkeen (kuva 3b), pinta-ala arvioitaessa sitosterolia kokonaisuudessaan.

6 TULOSTEN LASKEMINEN

6.1 Määritetään sterolipiikkien ja betuliinipiikkien pinta-ala kahdesta standardista jokaisen sarjan alussa ja lopussa ja lasketaan R_1 :

$$R_1 = \frac{\text{standardin sterolipiikin keskimääräinen pinta-ala}}{\text{standardin betuliinipiikin keskimääräinen pinta-ala}}$$

Määritetään sterolipiikin pinta-ala (stigmasteroli tai sitosteroli) ja betuliinipiikin pinta-ala näytteestä ja lasketaan R_2 :

$$R_2 = \frac{\text{näytteen sterolipiikin pinta-ala}}{\text{näytteen betuliinipiikin pinta-ala}}$$

W_1 = standardin sterolipitoisuus (mg) 1 ml:ssa standardiliuosta (4.8.1 tai 4.9.1)

W_2 = näytteen paino (g) (5.2.1)

P = standardisterolin puhtaus (4.8 tai 4.9)

$$\text{Näytteen sterolipitoisuus (mg/kg)} = \frac{R_2}{R_1} \times \frac{W_1}{W_2} \times P \times 10.$$

7 MENETELMÄN TARKKUUS

7.1 Toistettavuus

7.1.1 Stigmasteroli

Kahden määrittelyn, jotka yksi henkilö suorittaa samaa laitteistoa käyttäen mahdollisimman lyhyellä aikavälillä täysin samasta koemateriaalista, tulosten välinen ero ei saa olla yli 19,3 mg/kg.

7.1.2 Sitosteroli

Kahden määrittelyn, jotka yksi henkilö suorittaa samaa laitteistoa käyttäen mahdollisimman lyhyellä aikavälillä täysin samasta koemateriaalista, tulosten välinen ero ei saa olla yli 23,0 mg/kg.

7.2 Uusittavuus

7.2.1 Stigmasteroli

Kahden määrittelyn, jotka suoritetaan eri laboratorioissa eri laitteistoja käyttäen täysin samasta koemateriaalista, tulosten välinen ero ei saa olla yli 31,9 mg/kg.

7.2.2 Sitosteroli

Kahden määrittelyn, jotka suoritetaan eri laboratorioissa eri laitteistoja käyttäen täysin samasta koemateriaalista, tulosten välinen ero ei saa olla yli 8,7 % suhteessa määrittelyjen keskiarvoon.

7.3 Tarkkuustietojen lähde

Tarkkuutta koskevat tiedot on määritetty vuonna 1992 suoritetusta koejärjestelystä, johon osallistui kahdeksan laboratoriota ja kuusi näytettä (kolme sokeakokeen kaksoisnäytettä) stigmasterolin osalta ja kuusi näytettä (kolme sokeakokeen kaksoisnäytettä) sitosterolin osalta.

8 SALLITUT POIKKEAMAT

8.1 Homogeenisuuden tarkistamiseksi merkitystä tuotteesta on otettava kolme näytettä.

8.2 Stigmasteroli

8.2.1 Stigmasterolin osalta lisättävä määrä on 150 g stigmasterolia, puhtaudeltaan vähintään 95 %, voitonnia kohden eli 142,5 mg/kg; tai 170 g stigmasterolia, puhtaudeltaan vähintään 85 %, voitonnia kohden eli 144,5 mg/kg.

8.2.2 Jos otetaan huomioon kriittinen ero 95 % todennäköisyydellä (CrD_{95}), kolmen tuloksen keskiarvo ei saa olla pienempi kuin:

— 126,0 mg/kg, kun on lisätty puhtaudeltaan 95 % stigmasterolia,

— 128,0 mg/kg, kun on lisätty puhtaudeltaan 85 % stigmasterolia.

8.2.3 Edellä esitettyjen vaatimusten lisäksi käytetään pienintä tuotteen analyysistä saatua tulosta, jolla tarkistetaan merkkiaineen jakaantumisen tasaisuus vertaamalla jäljempänä oleviin raja-arvoihin:

— 116,4 mg/kg (stigmasterolia lisätty 95 % vähimmäismäärästä, puhtaudeltaan 95 %, yhden näytteen CrD_{95} huomioon ottaen),

— 118,3 mg/kg (stigmasterolia lisätty 95 % vähimmäismäärästä, puhtaudeltaan 85 %, yhden näytteen CrD_{95} huomioon ottaen),

— 5,1 mg/kg (stigmasterolia lisätty 80 % vähimmäismäärästä, puhtaudeltaan 95 %, yhden näytteen CrD_{95} huomioon ottaen),

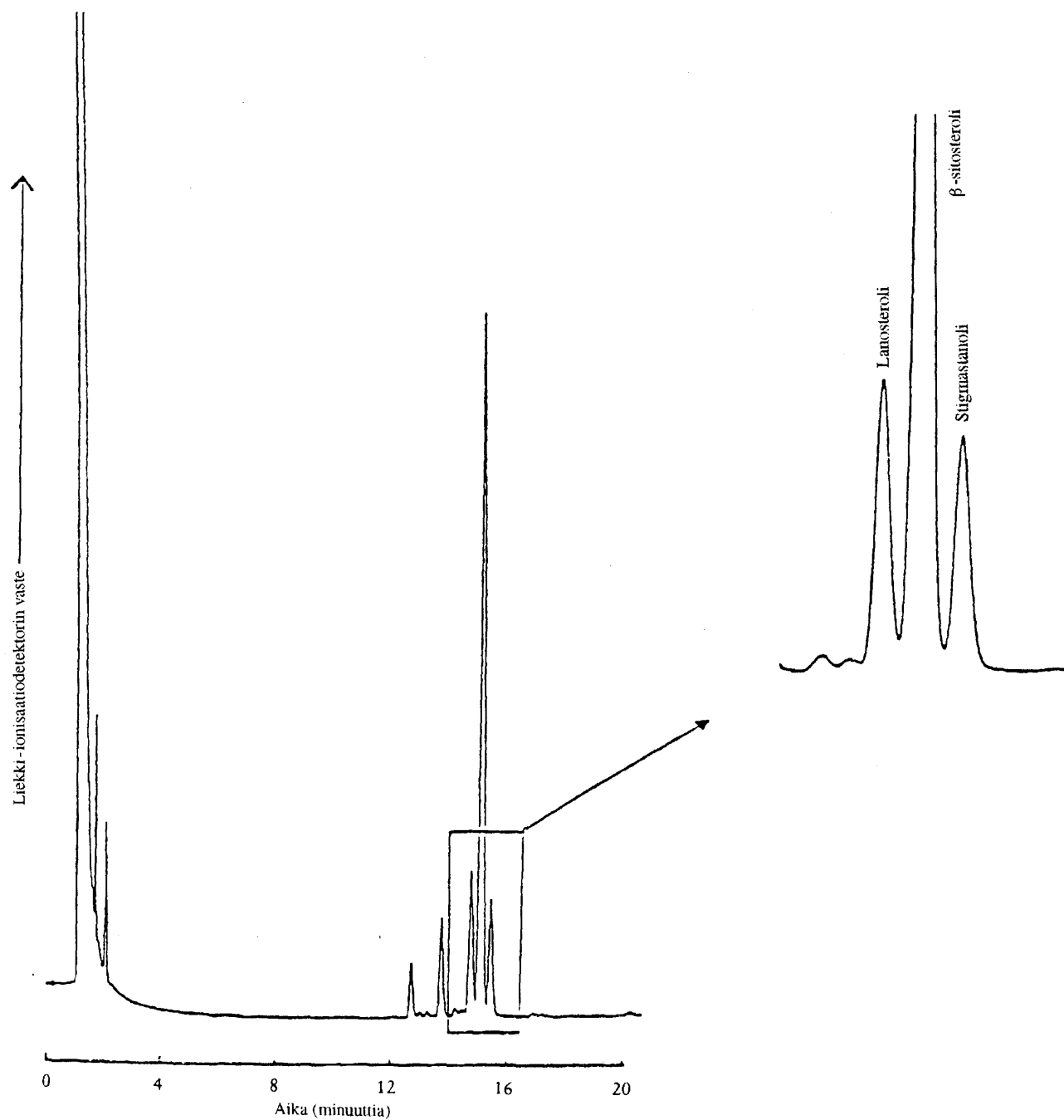
— 96,7 mg/kg (stigmasterolia lisätty 80 % vähimmäismäärästä, puhtaudeltaan 85 %, yhden näytteen CrD_{95} huomioon ottaen).

Merkkiaineen pitoisuutta näytteessä, joka antaa pienimmän tuloksen, käytetään interpoloinnissa väleillä 116,4 mg/kg–95,1 mg/kg tai 118,3 mg/kg–96,7 mg/kg.

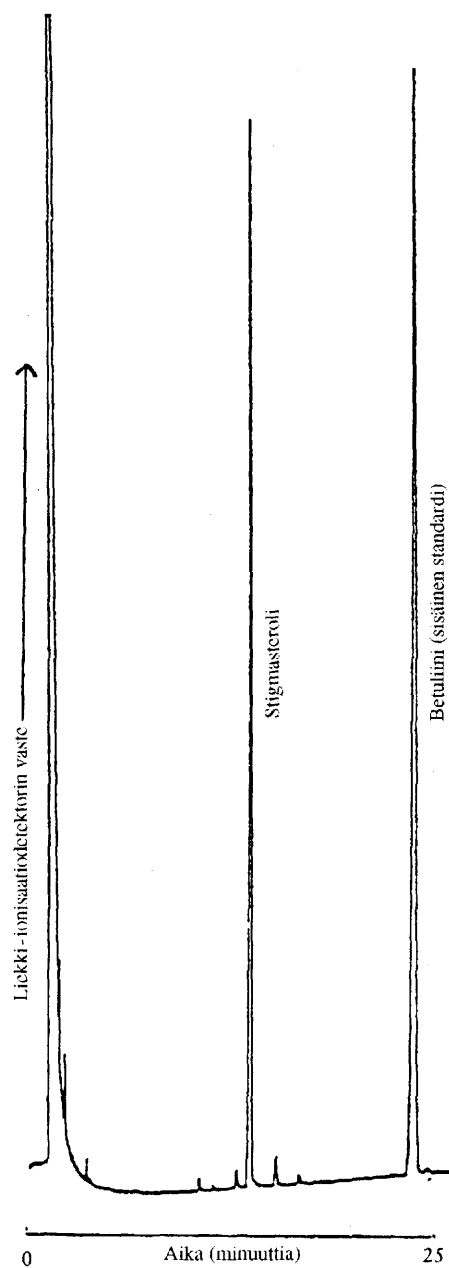
- 8.3 Sitosteroli
- 8.3.1 Sitosterolin osalta lisättävä määrä on 600 g sitosterolia, puhtaudeltaan vähintään 90 %, voitonnia kohden eli 540 mg/kg.
- 8.3.2 Jos CrD₉₅ otetaan huomioon, kolmen tuloksen keskiarvo ei saa olla pienempi kuin 514,4 mg/kg.
- 8.3.3 Edellä esitettyjen vaatimusten lisäksi käytetään pienintä tuotteen analyysistä saatua tulosta, jolla tarkistetaan merkkiaineen jakaantumisen tasaisuus vertaamalla jäljempänä oleviin raja-arvoihin:
- 485,1 mg/kg (sitosterolia lisätty 95 % vähimmäismäärästä, puhtaudeltaan 90 %, yhden näytteen CrD₉₅ huomioon ottaen),
 - 404,1 mg/kg (sitosterolia lisätty 80 % vähimmäismäärästä, puhtaudeltaan 90 %, yhden näytteen CrD₉₅ huomioon ottaen).
- Merkkiaineen pitoisuutta näytteessä, joka antaa pienimmän tuloksen, käytetään interpoloinnissa välillä 485,1 mg/kg–404,1 mg/kg.

Kuva 1: Seoksen kromatogrammi erotuskykytestissä

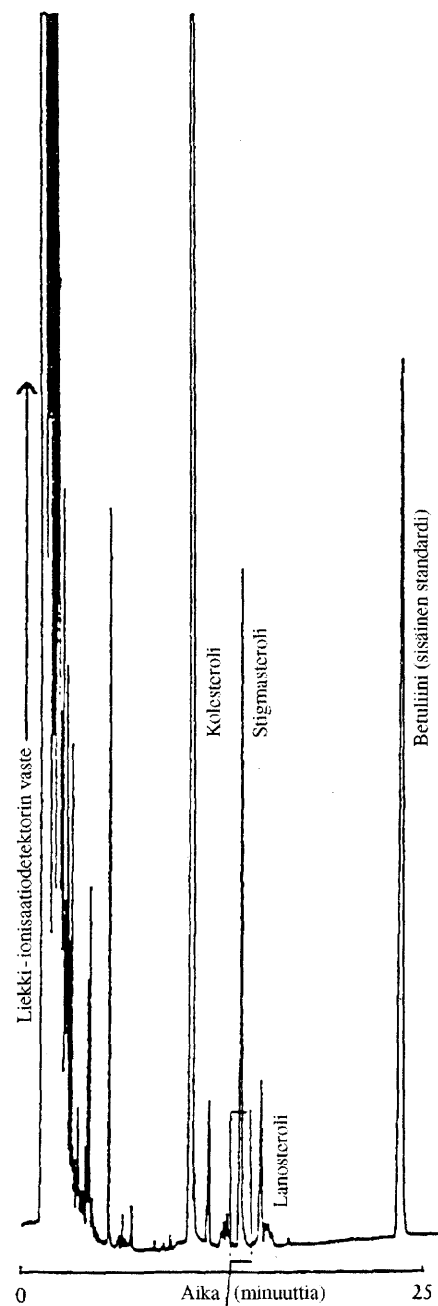
Täydellinen erottuminen on suotavaa eli lanosteroliin jäljen on palattava perusviivalle ennen uudelleen nousua sitosteroliin jäljeksi, vaikka epätäydellinen erottuminen olisi hyväksyttävissä.



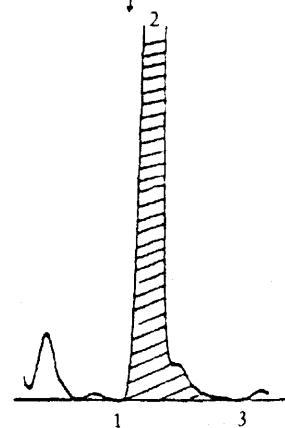
Kuva 2a
Stigmasterolistandardi



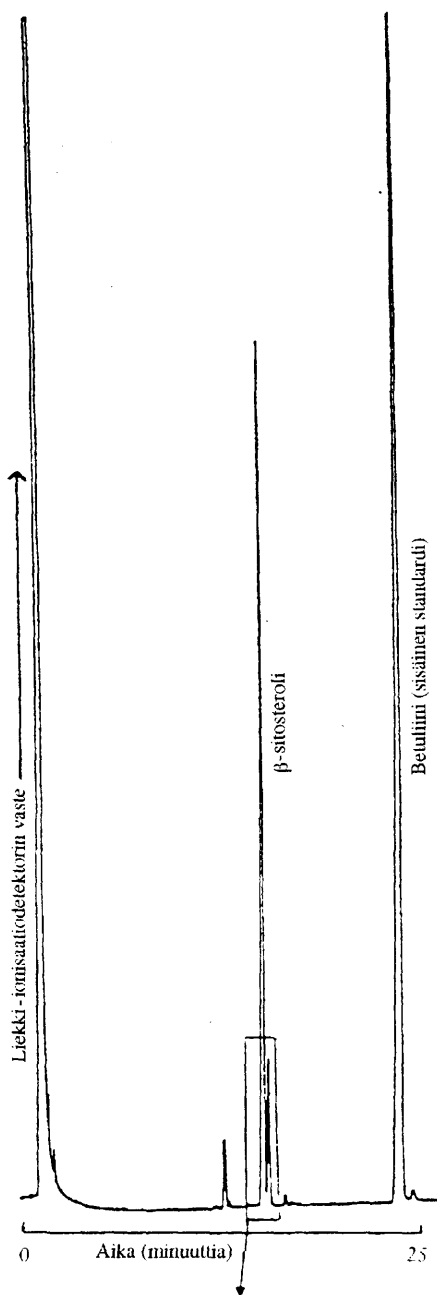
Kuva 2b
Stigmasterolilla denaturoitu voinäyte



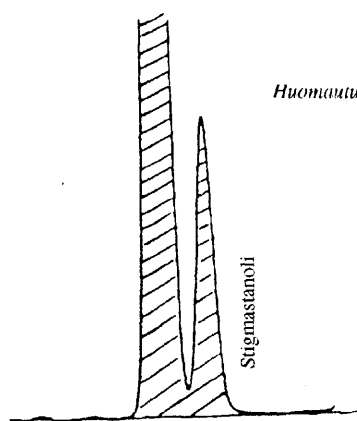
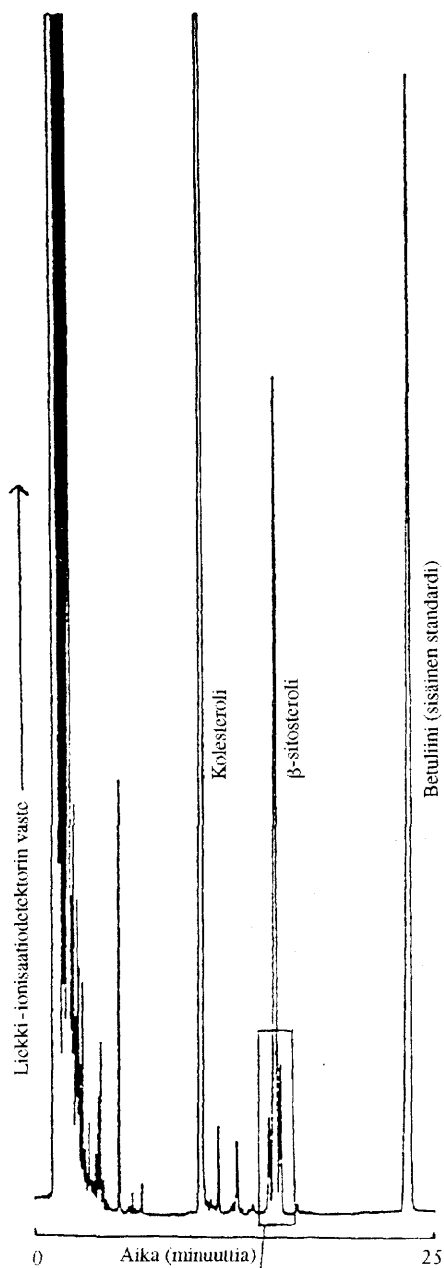
Huomautus: Stigmasteroliinkin integroinnin olisi sisällettävä pisteiden 1, 2 ja 3 väliset alueet.



Kuva 3a
β-Sitosterolistandardi



Kuva 3 b
β-Sitosterolilla denaturoitu
voinäyte



Huomautus: β-Sitosteroli sisältää usein epäpuhtauden (stigmastanolin), joka eluoituu välittömästi β-sitosterolin jälkeen. Näiden kahden piikin pinta-alat on laskettava yhteen, kun esiintyvää β-sitosterolia arvioidaan kokonaisuudessaan.

