

REGOLAMENT TAL-KUMMISSJONI (KE) Nru 702/2007

tal-21 ta' Ġunju 2007

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

IL-KUMMISSJONI TAL-KOMUNITAJIET EWROPEJ,

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

Wara li kkunsidrat ir-Regolament tal-Kunsill (KE) Nru 865/2004 tad-29 ta' April 2004 dwar l-organizzazzjoni komuni tas-suq taż-żejt taż-żebru u żebru tal-mejda u li jemenda r-Regolament (KEE) Nru 827/68 ⁽¹⁾, u b'mod partikulari l-Artikolu 5(3) tiegħu,

Billi:

- (1) Ir-Regolament tal-Kummissjoni (KEE) Nru 2568/91 ⁽²⁾ jiddefinixxi l-karatteristiċi fiżiċi u kimiċi taż-żejt taż-żebru u taż-żejt tal-fdal taż-żebru, u l-metodi ta' evalwazzjoni ta' dawn il-karatteristiċi. Dawn il-metodi, kif ukoll il-limiti tal-valuri relattivi għall-karatteristiċi taż-żejt, għandhom ikunu aġġornati b'qies għall-fehma ta' l-esperti tal-kimika, u b'mod konsistenti mal-hidmiet li saru fil-qafas tal-Kunsill Internazzjonali taż-żejt taż-żebru.
- (2) L-esperti tal-kimika qalu partikularment li, għad-detezzjoni taż-żjut esterifikati, il-kwantifikazzjoni tal-perċentwal ta' 2-glyceril monopalmitate hija aktar preċiża. It-tnaqqis fil-limitu tal-valur għas-stigmastadeina fiż-żjut taż-żebru verġni jippermetti wkoll tifrid aħjar taż-żjut taż-żebru verġni u raffinati.
- (3) Sabiex ikun hemm perjodu ta' żmien għall-aġġustament għall-istandards il-ġodda u għall-implimentazzjoni tal-mezzi meħtieġa biex ikunu jistgħu jiġu applikati, u sabiex ma jkunx hemm tfixkil għat-tranzazzjonijiet kummerċjali, jaqbel li sa l-1 ta' Jannar 2008 dan ir-Regolament ma japplikax. Għall-istess raġunijiet, jeħtieġ li jkun żgurat li ż-żjut taż-żebru u mir-residwi taż-żebru, prodotti u

ttikkettati legalment fil-Komunità jew importati legalment fil-Komunità, u li jkunu ġew irrilaxxati għaċ-ċirkolazzjoni hielsa qabel id-data msemmija, jistgħu jitqiegħdu għall-bejgħ sakemm il-hażniet kollha jkunu spiċċaw.

- (4) Il-miżuri provvduti f'dan ir-Regolament huma bi qbil ma' l-opinjoni tal-Kumitat għall-Ġestjoni taż-Żejt taż-Żebbuġ u taż-Żebbuġ ta' l-Ikel,

ADOTTAT DAN IR-REGOLAMENT:

Artikolu 1

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

- (1) Is-sitt inċiż ta' l-Artikolu 2(1) huwa mibdul b'li ġej:

“— għad-determinazzjoni tal-perċentwal ta' 2-glyceril monopalmitate, il-metodu msemmi fl-Anness VII”

- (2) L-Annessi huma emendati skond l-Anness ta' dan ir-Regolament.

Artikolu 2

Dan ir-Regolament jidhol fis-seħh fit-tielet jum wara dak tal-pubblikazzjoni tiegħu fil-Ġurnal Uffiċjali ta' l-Unjoni Ewropea.

Dan ir-Regolament għandu japplika mill-1 ta' Jannar 2008.

Madankollu, il-prodotti li jkunu ġew prodotti u ttikkettati legalment fil-Komunità, jew li jkunu ġew importati legalment fil-Komunità, u li jkunu ġew irrilaxxati għaċ-ċirkolazzjoni hielsa qabel l-1 ta' Jannar 2008, jistgħu jitqiegħdu għall-bejgħ sakemm il-hażniet kollha jkunu spiċċaw.

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

Magħmul fi Brussell, 21 ta' Ġunju 2007.

Għall-Kummissjoni

Mariann FISCHER BOEL

Membru tal-Kummissjoni

⁽¹⁾ ĠU L 161, 30.4.2004, p. 97.

⁽²⁾ ĠU L 248, 5.9.1991, p. 1. Ir-Regolament kif emendat l-aħhar bir-Regolament (KE) Nru 1989/2003 (ĠU L 295, 13.11.2003, p. 57).

ANNEX

L-Annessi tar-Regolament (KEE) Nru 2568/91 huma emendati kif ġej:

1. Is-sommarju huwa emendat kif ġej:

(a) It-titlu ta' l-Anness II jiġi mibdul b'li ġej:

“Determinazzjoni ta' l-aċidi grassi liberi, metodu fil-kiesah”

(b) It-titlu ta' l-Anness VII jiġi mibdul b'li ġej:

“Determinazzjoni tal-perċentwal ta' 2-glyceryl monopalmitate”;

2. L-Anness I huwa mibdul b'li ġej:

"L-ANNEX I

KARATTERISTIĊI TAŻ-ŻEJT TAŻ-ŻEBBUĠA

Tip	Acidiġa (%) (*)	Valur ta' perossidu mEq O ₂ /kg (*)	Xama' mg/kg (**)	2 glyceryl monopalmitate (%)	Stigmas-tadina mg/kg (1)	Differenza ECN42 HPLC - et ECN42 Kalkolu teoretiku	K ₂₃₂ (*)	K ₂₇₀ (*)	Delta-K (*)	Evalwazzjoni organoleptika - Medjan tad-diċett (*)	Evalwazzjoni organoleptika - Medjan tat-togħma tal-frott (Mf) (*)
1. Żejt taż-żebbuġa extra vergni	≤ 0,8	≤ 20	≤ 250	≤ 0,9 jekk % Aċidu palmitiku totali ≤ 14 % ≤ 1,0 jekk % Aċidu palmitiku totali > 14 %	≤ 0,10	≤ 0,2	≤ 2,50	≤ 0,22	≤ 0,01	Md = 0	Mf > 0
2. Żejt taż-żebbuġa vergni	≤ 2,0	≤ 20	≤ 250	≤ 0,9 jekk % Aċidu palmitiku totali ≤ 14 % ≤ 1,0 jekk % Aċidu palmitiku totali > 14 %	≤ 0,10	≤ 0,2	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,01	Md ≤ 2,5	Mf > 0
3. Żejt taż-żebbuġa lampanti	> 2,0	—	≤ 300 (3)	≤ 0,9 jekk % Aċidu palmitiku totali ≤ 14 % ≤ 1,1 jekk % Aċidu palmitiku totali > 14 %	≤ 0,50	≤ 0,3	—	—	—	Md > 2,5 (2)	—
4. Żejt taż-żebbuġa raffinat	≤ 0,3	≤ 5	≤ 350	≤ 0,9 jekk % Aċidu palmitiku totali ≤ 14 % ≤ 1,1 jekk % Aċidu palmitiku totali > 14 %	—	≤ 0,3	—	≤ 1,10	≤ 0,16	—	—
5. Żejt taż-żebbuġa magħmul minn żjut taż-żebbuġa raffinati u vergni	≤ 1,0	≤ 15	≤ 350	≤ 0,9 jekk % Aċidu palmitiku totali ≤ 14 % ≤ 1,0 jekk % Aċidu palmitiku totali > 14 %	—	≤ 0,3	—	≤ 0,90	≤ 0,15	—	—
6. Żejt tal-fdal taż-żebbuġa mhux raffinat	—	—	> 350 (4)	≤ 1,4	—	≤ 0,6	—	—	—	—	—
7. Żejt tal-fdal taż-żebbuġa raffinat	≤ 0,3	≤ 5	> 350	≤ 1,4	—	≤ 0,5	—	≤ 2,00	≤ 0,20	—	—
8. Żejt tal-fdal taż-żebbuġa	≤ 1,0	≤ 15	> 350	≤ 1,2	—	≤ 0,5	—	≤ 1,70	≤ 0,18	—	—

(1) Total ta' l-iżomeri li jistgħu jinfirdu (jew le) b'kolonna kapillari.
(2) Jekk meta l-medjan tad-diċetti huwa daqs jew inqas minn 2,5, u l-medjan tat-togħma tal-frott huwa 0.
(3) Iz-żjut b'kontenut ta' xama' ta' bejn 300 mg/kg jitqiesu bhala żejt taż-żebbuġa lampanti jekk it-total ta' alkohol alifatiku huwa daqs jew inqas minn 350 mg/kg jew jekk il-perċentwal ta' erytrodiol u uvaol huwa daqs jew inqas minn 3,5.
(4) Iz-żjut b'kontenut ta' xama' ta' bejn 300 mg/kg u 350 mg/kg jitqiesu bhala żejt tal-fdal taż-żebbuġa mhux raffinat jekk it-total ta' alkohol alifatiku huwa aktar minn 350 mg/kg u jekk il-perċentwal ta' erytrodiol u uvaol huwa aktar minn 3,5.

Tip	Kontenut ta' aċidu ⁽¹⁾						Total ta' l-iżomeri tranżi- noleici + tranżi- nolenici (%)	Il-komposizzjoni ta' l-isteroli						Steroli totali (mg/kg)	Erythrodiol u uvaol (%) ^(**)
	Ministiku (%)	Linoleniku (%)	Arakidiku (%)	Ejko- noiku (%)	Beheniku (%)	Linjoċeriku (%)		Koles- terol (%)	Brassi- kasterol (%)	Kampes- terol (%)	Stigmas- terol (%)	Betasitosterol (%) ⁽²⁾	Delta-7-Stig- masterol (%)		
1. Żejt taż-żebbuġa extra verġni	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
2. Żejt taż-żebbuġa verġni	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
3. Żejt taż-żebbuġa lampanti	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5 ⁽³⁾
4. Żejt taż-żebbuġa raffinata	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,20	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
5. Żejt taż-żebbuġa magħmul minn żjut taż-żebbuġa raffinati u verġni	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
6. Żejt tal-fdal taż-żebbuġa mhux raffinat	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 2 500	> 4,5 ⁽⁴⁾
7. Żejt tal-fdal taż-żebbuġa raffinat	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 800	> 4,5
8. Żejt tal-fdal taż-żebbuġa	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 600	> 4,5

⁽¹⁾ Kontenut ta' aċidi grassi oħra (%): palmitiku: 7,5 - 20,0; palmitoleiku: 0,3 - 3,5; heptadekenoiku: ≤ 0,3; heptadekenoiku: ≤ 0,3; esteariku: 0,5 - 5,0; oleiku: 55,0 - 83,0; linoleiku: 3,5 - 21,0

⁽²⁾ Total ta' : Delta-5-23-Stigmastadienol+Beta-Sitosterol+Sitosterol+Delta-5-Avenasterol+Delta-5-24-Stigmastadienol.

⁽³⁾ Iz-żjut b'kontenut ta' xama' ta' bejn 300 mg/kg u 350 mg/kg jitqiesu bħala żejt taż-żebbuġa lampanti jekk it-total ta' l'alcohol alifatiku huwa inqas jew daqs 350 mg/kg jew jekk il-perċentwal ta' erythrodiol u uvaol huwa daqs jew inqas minn 3,5.

⁽⁴⁾ Iz-żjut b'kontenut ta' xama' ta' bejn 300 mg/kg u 350 mg/kg jitqiesu bħala żejt tal-fdal taż-żebbuġa mhux raffinat jekk it-total ta' l'alcohol alifatiku huwa aktar minn 350 mg/kg u jekk il-perċentwal ta' erythrodiol u uvaol huwa aktar minn 3,5.

Noti:

a) Ir-riżultati ta' l-analiżi għandhom ikunu espressi bl-istess għadd ta' decimali bħal daww previsti għal kull karatteristika.

L-aħhar cifra għandha tiżvilid b'unità jekk iċ-ċifra ta' wara hija akbar minn 4.

b) Karatteristika waħda biss mhix konformi mal-valuri indikati hija biżżejjed biex iż-żejt jibdel minn tip għal ieħor jew jiġi ddkjarat mhux konformi mal-purità.

c) Il-karatteristiki indikati bi stilla (%), b'referenza għall-kwalità taż-żejt, jimplikaw li:

— għaž-żejt taż-żebbuġa lampanti, il-limiti relattivi jistgħu ma jikkonkorrux;

— għaž-żejt taż-żebbuġa verġni, in-nuqqas ta' osservanza ta' talanqas wieħed minn dawn il-limiti jwassal għal bidla fit-tip, iżda dejjem jibqa' kklassifikat f'wieħed mit-tipi

d) Il-karatteristiki indikati b'żewġ stilel (**), b'referenza għall-kwalità taż-żejt, jimplikaw li għaž-żjut kollha tal-fdal taż-żebbuġa, il-limiti relattivi jistgħu ma jikkonkorrux."

- 3.5. Vibratur ta' l-elettriku.
- 3.6. Evaporatur ċirkolari.
- 3.7. Muffle furnace.
- 3.8. Mizien analitiku li jiggarantixxi preċiżjoni ta' + 0,1 mg.
- 3.9. L-apparat tal-ħgieġ normali tal-laboratorju.

4. REAĠENTI

- 4.1. Ġell tas-silika tad-daqs ta' fraka ta' bejn 60 u 200 µm.

Poġġi l-ġell fil-form f'temperatura ta' 500 °C għal talanqas erba' sigħat. Kesshu mill-ġdid, imbagħad židlu l-ilma fi kwantità ta' 2 % tal-ġell tas-silika mtella'. Hawwad sew it-tahlita omoġenizzata. Halli fid-dlam għal talanqas 12-il siegħa qabel l-użu.

- 4.2. n-hexane, għall-kromatografija.
- 4.3. Eter etiliku, għall-kromatografija
- 4.4. n-Heptane, għall-kromatografija.
- 4.5. Soluzzjoni standard ta' lauryl arachidate, f'0,1 % (m/V) fil-hexane (skond il-livell standard intern). (Wiehed jista' juża wkoll palmitate tal-palmitil jew inkella methyl stearate)

4.5.1. *Soudan 1 (1-phenyl-azo-2-naphthol)*

- 4.6. Gass portatur: idroġenu jew elju pur għall-kromatografija tal-gass.
- 4.7. Gassijiet awżiljari:

— idroġenu pur għall-kromatografija tal-gass;

— arja safja, għall-kromatografija tal-gass.

5. PROCEDURA

5.1. **Thejjija tal-kolonna kromatografika**

Dendel 15 g ta' ġell tas-silika (4.1) fl-n-hexane (4.2) u dahhlu fil-kolonna (3.2). Halli joqgħod spontanjamment, u kompli t-tqegħid bl-ghajnuna ta' shaker elettroniku (3.5) biex is-saff kromatografiku jsir aktar omoġenju. Saffi 30 ml ta' n-hexane biex tneħhi l-impuritajiet li jista' jkun hemm. Iżen eżatt 500 mg mill-kampjun bl-ghajnuna tal-mizien (3.8.) fl-Erlenmeyer ta' 25 ml (3.1.), u žid il-kwantità meħtieġa ta' standard intern (4.5.) skond il-kontenut previst ta' xama'. Per eżempju, žid 0,1 mg ta' lauryl arachidat fil-każ taż-żejt taż-żebbuġa, u minn 0,25 sa 0,5 mg fil-każ taż-żejt tal-fdal taż-żebbuġa. Ittrasferixxi l-kampjun hekk ippreparat għall-kolonna kromatografika bl-ghajnuna ta' żewġ porzjonijiet ta' 2 ml ta' n-hexane (4.2.).

Halli s-solvent inixxi sa 1 mm 'il fuq mill-oghla livell ta' l-assorbent, imbagħad saffi 70 ml addizzjonali ta' n-hexane sabiex tneħhi l-n-alcane li jkunu preżenti naturalment. Imbagħad ibda l-eluzzjoni kromatografika billi tigbor 180 ml tat-tahlita n-hexane/eter etiliku, b'porzjon 99:1, filwaqt li tinżamm rata ta' madwar 15-il taqtira kull 10 sekondi. L-eluzzjoni tal-kampjun għandha ssir f'temperatura ta' l-ambjent ta' 22 °C + 4.

Noti:

— It-tahlita n-hexane/eter etiliku (99:1) għandha tithejja kuljum.

— Biex tikkontrolla viżwalment l-eluzzjoni korretta tax-xama', tista' żżid mal-kampjun fis-soluzzjoni 100 µl ta' 1 % Sudan fit-tahlita ta' l-eluzzjoni. Peress li l-kolorant għandu retenzjoni intermedjarja bejn ix-xama' u t-triglycerides, malli l-kulur jilhaq il-fond tal-kolonna kromatografika, jeħtieġ li l-eluzzjoni tkun sospiża għax ix-xama' kollu jkun għew eluti.

Nixxef il-frazzjoni hekk miksuba fl-evaporatur ċirkolari (3.6.) sakemm is-solvent prattikament ikun tneħħa għalkollox. Nehhi l-ahhar 2 ml tas-solvent bl-ghajnuna ta' kurrent dgħajef ta' nitroġenu; imbagħad zid 2-4 ml ta' n-heptane.

5.2. Analizi bil-kromatografija tal-gass

5.2.1. Proċeduri preliminari

Wahhal il-kolonna mal-kromatografu tal-gass (3.3.) billi tqabbad it-terminal ta' dhul fis-sistema *on-column* u t-terminal ta' hruġ ma' l-indikatur. Aghmel verifika ġenerali ta' l-apparat ta' kromatografija bil-gass (l-operazzjoni taċ-ċirkwiti tal-gass, l-effiċjenza ta' l-indikatur u tas-sistema ta' registrazzjoni, eċċ.).

Jekk il-kolonna tkun qiegħda tintuża għall-ewwel darba, l-ewwel għandu jsir il-kondizzjonament tagħha. Għaddi nixxija rqiq ta' gass fil-kolonna, imbagħad ixgħel l-apparat tal-kromatografija tal-gass. Sahhanha bil-mod sakemm wara xi 4 sigħat tilhaq temperatura ta' 350 °C. Żomm din it-temperatura għal talanqas sagħtejn, imbagħad għaddi għall-aġġustament ta' l-apparat biex ikun jista' jithaddem (l-aġġustar tar-rata ta' ċirkolazzjoni tal-gassijiet, it-tqabbid tal-fjamma, it-tqabbid mar-registratur elettroniku (3.3.4.), l-aġġustar tat-temperatura ta' l-ambjent għall-kolonna, għall-indikatur, eċċ.) u rreġistra s-sinjali għal sensibbiltà talanqas darbtejn ikbar minn dik prevista għat-twettiq ta' l-analiżi. Il-linja bażilari għandha tkun lineari, mingħajr l-ebda tip ta' quċċata, u ma jista' jkollha l-ebda sinjal ta' devjazzjoni.

Devjazzjoni rettilineari negattiva tindika li l-konnessjonijiet tal-kolonna mhumiex sew; devjazzjoni pożittiva tindika li l-kolonna ma gietx ikkondizzjonata kif support.

5.2.2. Għażla tal-kondizzjonijiet tat-thaddim

B'mod ġenerali, il-kundizzjonijiet tat-thaddim li għandhom ikunu osservati huma dawn li ġejjin:

— it-temperatura tal-kolonna:

	20 °C/minuta		5 °C/minuta		20 °C/minuta	
fil-bidu 80 °C (1')	→	240 °C	→	325 °C (6')	→	340 °C (10')

— it-temperatura ta' l-indikatur: 350 °C;

— il-kwantità tal-materjal injettat: 1 µl tas-soluzzjoni (2-4 ml) ta' n-heptane;

— gass portatur: elju jew idroġenu bil-velocità lineari l-aktar xierqa għall-gass magħżul (ara l-Appendiċi);

— sensitività ta' l-istrument: livell xieraq skond il-kundizzjonijiet ta' hawn isfel:

Dawn il-kundizzjonijiet jistgħu jkunu mmodifikati skond il-karatteristiċi tal-kolonna u ta' l-apparat ta' kromatografija tal-gass, bil-ghan li jinfired ix-xama' kollu u li jkun hemm riżoluzzjoni sodisfaċenti tal-qċaċet (ara l-figura); il-periodu ta' retenzjoni ta' l-standard intern C₃₂ għandu jkun ta' 18-il minuta + 3. L-aktar quċċata tax-xama' rappreżentattiva għandha tidher ftalanqas 60 % ta' l-iskala.

Il-parametri ta' l-integrazzjoni tal-qċaċet għandhom jiġu ddeterminati b'tali mod li tinkiseb evalwazzjoni korretta tas-superfiċji tal-qċaċet ikkunsidrati.

Nota: Minhabba t-temperatura finali għolja, hija permessa devjazzjoni pożittiva ta' mhux aktar minn 10 % ta' l-iskala shiha.

5.3. Eżekuzzjoni ta' l-analiżi

Tella' 1 µl mis-soluzzjoni bl-ghajnuna tal-mikrosiringa ta' 10 µl; nehhi l-plunger tas-siringa sabiex il-labra tibqa' vojta. Dahhal il-labra fl-injettur, u wara sekonda jew tnejn, injetta malajr; wara madwar 5 sekondi, oħroġ il-labra bil-mod.

Aghmel ir-registrazzjoni sa l-eluzzjoni totali tax-xama'.

Il-linja bażilari għandha dejjem tissodisfa l-kundizzjonijiet stipulati.

5.4. Identifikazzjoni tal-qċaċet

L-identifikazzjoni tal-qċaċet differenti għandha ssir abbażi tal-hin ta' retenzjoni, skond tqabbil ma' tahlitiet ta' xama' b'hinijiet ta' retenzjoni magħrufin, analizzati fl-istess kundizzjonijiet.

Il-Figura turi kromatogramma tax-xama' ta' żejt taż-żebuga vergni.

5.5. Evalwazzjoni kwantitattiva

Ikkalkola s-superfiċji tal-qċaċet ta' l-istandard intern, kif ukoll ta' l-esters alifatiki minn C₄₀ sa C₄₆, bl-għajjnuna ta' l-integratur.

Ikkalkola l-kontenut tax-xama' ta' kull wiehed mill-esters, f'mg/kg ta' xaham, skond il-formula:

$$\text{ester, mg/kg} = \frac{A_x \times m_s \times 1\,000}{A_s \times m}$$

Fejn:

A_x = is-superfiċje tal-quċcata ta' kull ester, f'millimetri kwadri;

A_s = is-superfiċje tal-quċcata ta' l-istandard intern, f'millimetri kwadri;

m_s = il-massa ta' l-istandard intern miżjud, f'milligrammi;

m = il-massa tal-kampjun mehud għall-analiżi, fi grammi.

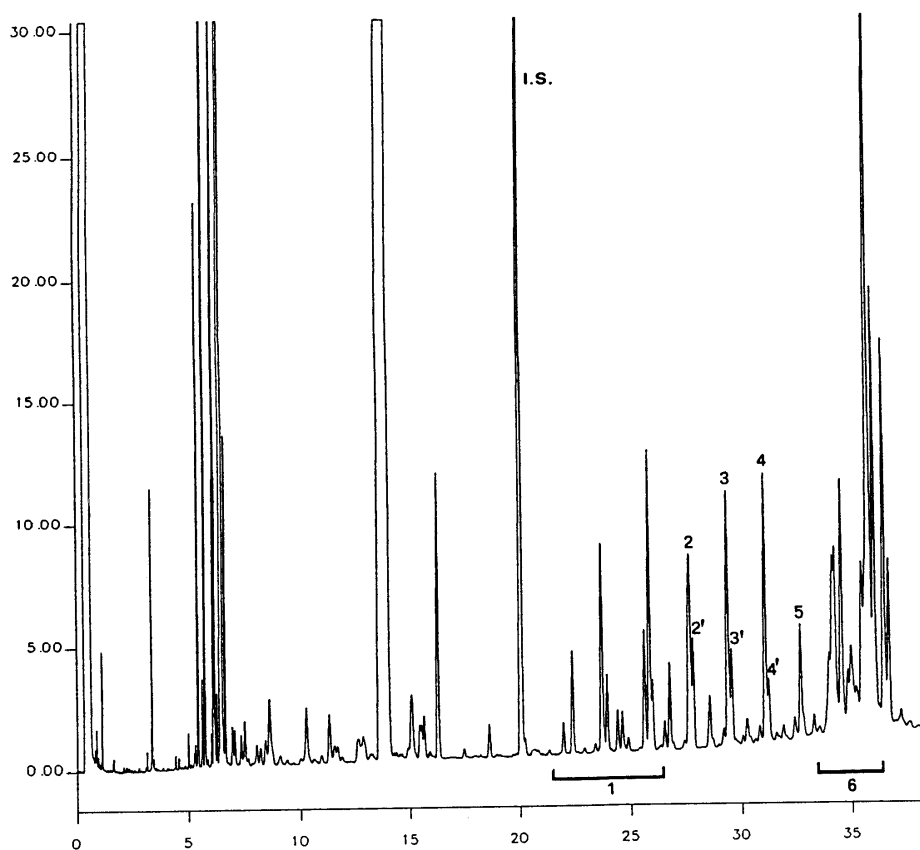
6. ESPRESSJONI TAR-RIŻULTATI

Indika t-total tal-kontenut tat-tipi differenti ta' xama' minn C₄₀ sa C₄₆, fi mg/kg ta' materja grassa (ppm).

Nota: Il-komponenti li għandhom jiġu kkwantifikati jirreferu għall-qċaċet b'numru biż-żewġ tal-karbonju, bejn l-estri C₄₀ u C₄₆, skond l-eżempju tal-kromatogramma tax-xama' taż-żejt taż-żebuga indikat fil-figura li ġejja. Jekk l-ester C₄₆ jidher darbtejn, biex jiġi identifikat, jaqbel li ssir analiżi tal-frazzjoni tax-xama' f'żejt tal-fdal taż-żebuga fejn il-quċcata C₄₆ huwa faċilment identifikabbli għax għandha maġġoranza ċara.

Ir-riżultati għandhom ikunu espressi sa punt decimali wiehed.

FIGURA

Kromatogramma tax-xama' f'żejt taż-żebruġa (*)

Tifsir:

I.S. = Lauryl arachidate

1. = Diterpenic esters

2 + 2' = Esters C_{40} 3 + 3' = Esters C_{42} 4 + 4' = Esters C_{44} 5. = Esters C_{46}

6. = Sterol esters u alkohol triterpenic

(*) Wara l-eluzzjoni ta' l-isterol esters, il-linja kromatografika ma ghandhiex ikollha qcaet sinifikattivi (triglycerides)

Appendici

Determinazzjoni tal-velocità lineari tal-gass

Injetta minn 1 sa 3 μ l metanu (jew propan) fl-apparat kromatografiku tal-gass, wara l-aġġustament tiegħu għall-kundizzjonijiet normali ta' l-operazzjoni. Zomm kont tal-hin li l-gass jieħu biex jgħaddi mill-kolonna, mill-mument li jiġi injettat sakemm tintlahaq il-quċċata (tM).

Il-velocità lineari f'cm/sek. hija mogħtija bil-formula L/tM , fejn L huwa t-tul tal-kolonna f'cm, u tM huwa l-hin imkejjel f'sekondi.”;

(6) L-Anness VII jinbidel b'li ġej:

“ANNEX VII

DETERMINAZZJONI TAL-PERĊENTWAL TA' 2-GLYCERYL MONOPALMITATE

1. SKOP U QASAM TA' APPLIKAZZJONI

Dan il-metodu jiddeskrivi l-proċedura analitika biex jiġi ddeterminat il-perċentwal ta' l-aċidu palmitiku fit-2 pożizzjoni tat-triglycerides permezz ta' l-evalwazzjoni tat-2-glyceryl monopalmirate.

Dan il-metodu huwa applikabbli għaż-żjut veġetali likwidi fit-temperatura ta' l-ambjent (20 °C).

2. PRINĊIPJU

Wara t-thejġija, il-kampjun ta' żejt huwa sottomess għall-ażżjoni tal-lipazi pankreatiku: idrolizi parzjali u speċifiku fil-pożizzjonijiet 1 u 3 tal-molekula ta' triglyceride ġġib magħha id-dehra tal-monoglycerides fil-pożizzjoni 2. Il-preċentwal ta' 2-glyceril monopalmirate fil-frazzjoni ta' monoglyceride jiġi ddeterminat, wara silylation, permezz ta' kromatografija tal-gass fuq kolonna kapillari.

3. APPARAT U TAGHMIR

3.1. Flask Erlenmeyer ta' 25 ml.

3.2. Bikers ta' 100, 250 u 300 ml.

3.3. Kolonna tal-ħġiegħ għall-kromatografija, b'dijametru intern ta' 21-23 mm, twila 400 mm, mghammra bi pjanta tal-ħġiegħ sinterizzat u vit.

3.4. Provetti ta' 10, 50, 100 u 200 ml.

3.5. Flaskijiet ta' 100 u 250 ml.

3.6. Evaporatur ċirkolari.

3.7. Tubi għaċ-ċentrifuga bil-qiegh koniku ta' 10 ml, b'tapp immolat.

3.8. Ċentrifuga għat-tubi ta' 10 u 100 ml.

3.9. Termostat biex it-temperatura tinżamm f' $40 \pm 0,5$ °C

3.10. Pipetti ggradwati ta' 1 u 2 ml.

3.11. Siringa ipodermika ta' 1 ml.

3.12. Mikrosiringa ta' 100 µl.

3.13. Lenbut ta' 1 000 ml

3.14. Kromatografu tal-gass għal kolonni kapillari, mghammar b'injettur on column fil-kiesah għall-introduzzjoni diretta tal-kampjun fil-kolonna, u b'forn biex tinżamm temperatura ta' madwar 1 °C.

3.15. Injettur on column fil-kiesah għall-introduzzjoni diretta tal-kampjun fil-kolonna.

3.16. Rilevatur tal-jonizzazzjoni tal-fjamma u elettrometru.

3.17. Reġistratur-integratur adattat għall-elettrometru b'veloċità ta' risposta ta' mhux aktar minn sekonda, u b'veloċità tal-karta varjabbli.

3.18. Kolonna kapillari tal-ħġiegħ jew tas-silika mdewba ta' bejn 8 u 12-il metru, b'dijametru intern ta' bejn 0,25 u 0,32 mm, miksija b'methylpolysiloxane jew b'phenyl methylpolysiloxane 5 %, bi ħxuna ta' bejn 0,10 u 0,30 µm, li tista' tintuża ftemperatura ta' 370 °C.

3.19. Mikrosiringa ta' 10 µl mghammra b'labra iebsa, twila tal-anqas 7.5 cm, għall-injezzjoni diretta fuq il-kolonna.

4. REĠĠENTI

- 4.1. Ġell tas-silika tad-daqs ta' fraka ta' bejn 0 063 u 0 200 mm (70/280 mesh), imhejji kif ġej: qiegħed il-ġell tas-silika ġewwa kapsula tal-porċellana, nixxef fil-forn f'temperatura ta' 160 °C għal 4 sigħat, imbagħad kessah f'temperatura ta' l-ambjent f'dessikatur. Żid volum ta' ilma ewkivalent għal 5 % tal-piż tal-ġell tas-silika, kif ġej: ġewwa flask Erlenmeyer ta' 500 ml, ižen 152 g ġell tas-silika u židlu 8 g ta' ilma distillat, sodd it-tubu u hawwad bil-mod sabiex l-ilma jinfirex b'mod uniformi. Halli joqgħod għal talanqas 12-il siegħa qabel l-użu.
- 4.2. n-hexane (għall-kromatografija).
- 4.3. Isopropanol.
- 4.4. Isopropanol, soluzzjoni milwiema 1/1 (V/V).
- 4.5. Lipaži pankreatika. Il-lipaži li tintuża għandu jkollha attività ta' bejn 2 u 10 unitajiet ta' lipaži għal kull mg (fis-suq jeżistu lipaži pankreatiċi b'attività ta' bejn 2 u 10 unitajiet għal kull mg ta' enzima).
- 4.6. Soluzzjoni stabbilizzanti ta' trishydroxymethylaminomethane: soluzzjoni milwiema 1 M miġiuba sa pH 8 (kontroll potenzjometriku) permezz ta' HCl kkonċentrat (1/1 V/V).
- 4.7. Sodju kolat, ta' kwalità enzimatika, soluzzjoni milwiema 0,1 % (din is-soluzzjoni għandha tintuża sa 15-il jum wara l-preparazzjoni tagħha).
- 4.8. Klorur tal-kalċju, soluzzjoni milwiema 22 %.
- 4.9. Eter djetiliku għall-kromatografija.
- 4.10. Solvent ta l-iżvilupp: tahlita n-hexane/eter djetiliku (87/13) (V/V).
- 4.11. Idrossidu tas-sodju, soluzzjoni ta' 12 % fil-piż.
- 4.12. Phenolphthalein, soluzzjoni ta' 1 % fl-etanol.
- 4.13. Gass portatur: idroġenu jew elju, għall-kromatografija tal-gass.
- 4.14. Gassijiet awżiljari: – idroġenu, b'purità minima ta' 99 %, mingħajr umidità jew sustanzi organiċi – u arja, għall-kromatografija tal-gass, bl-istess livell ta' purità.
- 4.15. Reaġent ta' silanizzazzjoni: tahlita pyridine/hexamethyldisilazane, trimethylchlorosilane 9/3/1 (V/V/V) (Fis-suq jeżistu soluzzjonijiet lesti għall-użu). Jistgħu jintużaw reaġenti oħrajn ta' silylation, partikolarment bitrimethylsilyl trifluoroacetamide + 1 % trimethylchlorosilane, dilwiti ma' l-istess volum ta' anhydrous pyridine).
- 4.16. Kampjuni ta' referenza: monoglycerides puri jew tahlitiet ta' monoglycerides b'kompożizzjoni magħrufa tal-perċentwal, simili għal dik tal-kampjun.

5. PROĊEDURA

5.1. Thejġija tal-kampjun

- 5.1.1. Iż-żjut b'aċidità hielsa ta' inqas minn 3 % ma jehtigux jiġu newtralizzati qabel il-kromatografija tal-kolonna bil-ġell tas-silika. Iż-żjut b'aċidità hielsa ta' aktar minn 3 % għandhom ikunu sottomessi għan-newtralizzazzjoni skond il-punt 5.1.1.1.

- 5.1.1.1. Ferra' 50 g żejt u 200 ml n-hexane fil-lenbut ta' 1 000 ml (3.13). Żid 100 ml isopropanol u kwantità tas-soluzzjoni ta' idrossidu tas-sodju 12 % (4.11) ekwivalenti għall-aċidità hielsa taż-żejt, miżjuda b'5 %. Hawwad sewwa għal minuta. Żid 100 ml ilma distillat, erga' hawwad u halli joqgħod.

Ferra', imbagħad nehhi l-aħhar saff li fih is-sapun. Nehhi s-safef intermedji li jista' jkun hemm (muċilaġni u sustanzi li ma jdubux). Aħsel is-soluzzjoni hexane taż-żejt newtralizzat b'porzjonijiet suċċessivi ta' bejn 50 u 60 ml tas-soluzzjoni isopropanol/ilma 1/1 (V/V) (4.4) sakemm ma jibqax jidher il-kulur roża tal-phenolphthalein.

Nehhi l-biċċa l-kbira mill-hexane permezz tad-distillazzjoni fil-vakwu (per eżempju, jista' jintuża evaporatur ċirkolari) uttrasferixxi ż-żejt għal go flask ta' 100 ml (3.5). Nixxef iż-żejt fil-vakwu sakemm is-solvent ikun tneħħa għal kollox.

Fi tmiem din il-proċedura, l-aċidità taż-żejt għandha tkun inqas minn 0,5 %.

- 5.1.2. Ferra' 1 g ta' żejt ippreparat kif deskritt hawn fuq, ġewwa flask Erlenmeyer ta' 25 ml (3.1) u dewweb f'10 ml mit-tahlita ta' l-iżvilupp (4.10). Halli s-soluzzjoni toqghod għal talanqas kwarta qabel ma ssir il-kromatografija fuq kolonna bil-ġell tas-silika.

Jekk is-soluzzjoni tkun imċajpra, għaddiha miċ-ċentrifuga biex tiżgura l-aqwa kundizzjonijiet għall-kromatografija. (Jistgħu jintużaw skrataċ ta' ġell tas-silika SPE ta' 500 mg lesti għall-użu).

5.1.3. *Thejijja tal-kolonna kromatografika*

Ferra' fil-kolonna (3.3) madwar 30 ml mis-solvent ta' l-iżvilupp (4.10), dahhal biċċa qoton fil-parti ta' isfel tal-kolonna bl-ghajnuna ta' virga tal-ħġieg; aghfas biex tneħhi l-arja.

Go biker, ipprepara suspensjoni ta' 25 g ġell tas-silika (4.1) f'madwar 80 ml mis-solvent ta' l-iżvilupp, u ferragh fil-kolonna bl-ghajnuna ta' lenbut.

Iċċekkja li l-ġell kollu tas-silika jkun dahal fil-kolonna; ahsel bis-solvent ta' l-iżvilupp (4.10), iftah il-vit u halli l-livell tal-likwidu jilhaq madwar 2 mm 'il fuq mil-livell superjuri tal-ġell tas-silika.

5.1.4. *Kromatografija fuq kolonna*

Go flask Erlenmeyer ta' 25 ml (3.1), ižen eżatt 1 g tal-kampjun imhejji skond il-punt 5.1.

Dewweb il-kampjun f'10 ml mis-solvent ta' l-iżvilupp (4.10). Ferragh is-soluzzjoni fil-kolonna kromatografika mhejjija skond il-punt 5.1.3. Kemm jista' jkun, tharrixx is-superfiċje tal-kolonna.

Iftah il-vit u halli s-soluzzjoni tal-kampjun tnixxi sakemm tilhaq il-livell tal-ġell tas-silika. Żviluppa b'150 ml mis-solvent ta' l-iżvilupp. Agġusta r-rata sa 2 ml/min (sabiex 150 ml inixxu fil-kolonna f'madwar 60-70 minuta).

Irkupra l-eluzzjoni go flask ta' 250 ml li jkun ġie mwiežen minn qabel. Evapora s-solvent fil-vakwu u nehhi l-aħħar traċċi tiegħu taht kurrent ta' nitroġenu.

Ižen il-flask u ikkalkula l-estratt irkuprat.

(Fil-każ li jkun qed jintużaw skrataċ SPE tas-silika lesti għall-użu, ipproċedi kif ġej: Dahhal 1 ml mis-soluzzjoni (5.1.2.) go l-iskrataċ, imhejjija minn qabel b'3 ml ta' n-hexane.

Saffi s-soluzzjoni, u żviluppa b'4 ml ta' n-hexane/eter djetiliku 1/1 (V/V).

Irkupra s-soluzzjoni f'tubu ta' 10 ml, u evapora taht kurrent ta' nitroġenu sakemm tkun nixfet.

Esponi l-fdal niexef għal-lipaži pankreatika (5.2.). Huwa fundamentali li tivverifika l-kompożizzjoni ta' aċidi grassi qabel u wara li jiġi mghoddi mill-iskartoċ SPE).

5.2. **Idrolizi bil-lipaži pankreatika**

- 5.2.1. Fit-tubu għaċ-ċentrifuga, ižen 0,1 g taż-żejt imhejji skond il-punt 5.1. Żid 2 ml mis-soluzzjoni stabbi-lizzanti (4.6.), 0,5 ml mis-soluzzjoni ta' sodju kolat (4.7), u 0,2 ml mis-soluzzjoni ta' klorur tal-kalcju, filwaqt li thawwad sewwa wara kull zieda. Aghlaq it-tubu b'tapp li jissigilla mhejji għal dan il-ghan u qiegħdu fit-termostat f'temperatura ta'.

- 5.2.2. Żid 20 mg lipaži, hawwad bil-galbu (filwaqt li tevita li jixxarrab it-tapp), u qiegħed it-tubu fit-termostat għal eżatt 2 minuti, imbagħad aqilghu, hawdu sewwa għal eżatt minuta, u hallih jiksah.

- 5.2.3. Żid 1 ml ta' eter djetiliku, aghlaq bit-tapp u hawwad sew, imbagħad għaddi miċ-ċentrifuga, u ittrasferixxi s-soluzzjoni ta' eter go tubu nadif u niexef, bl-ghajnuna ta' mikrosiringa.

5.3. **Thejijja tad-derivattivi silanizzati u tal-kromatografija tal-gass**

- 5.3.1. Bl-ghajnuna ta' mikrosiringa, dahhal 100 µl mis-soluzzjoni (5.2.3.) go tubu bil-qiegħ koniku ta' 10 ml.

- 5.3.2. Nehhi s-solvent taht kurrent dgħajfef ta' nitroġenu, žid 200 µl ta' reagent ta' silanizzazzjoni (4.15.), aghlaq bit-tapp u halli joqghod għal 20 minuta.

- 5.3.3. Wara 20 minuta, žid bejn 1 u 5 ml n-hexane (skond il-kundizzjonijiet kromatografiċi); is-soluzzjoni li tirriżulta hija lesta għall-kromatografija tal-gass.

5.4. Kromatografija tal-gass

Il-kundizzjonijiet ta' thaddim huma dawn li ġejjin:

- Temperatura ta' l-injettur (on column) inqas mit-temperatura tat-tgħollija tas-solvent (68 °C);
- Temperatura tar-rivelatur: 350 °C;
- Temperatura tal-kolonna: programmar tat-temperatura tal-forn: 60 °C għal minuta, b'żieda ta' 15 °C kull minuta sa 180 °C, imbagħad ta' 5 °C kull minuta sa 340 °C, imbagħad 340 °C matul 13-il minuta;
- Gass portatur: idroġenu jew elju, agġustat għall-veloċità lineari xierqa sabiex tinkiseb r-risoluzzjoni riflessa fil-Figura 1. Il-hin tar-retenzjoni tat-triglyceride C₅₄ għandu jkun ta' 40 + 5 minuti (ara l-Figura 2); (Il-kundizzjonijiet ta' thaddim indikati hawn fuq jingħataw bħala proposta indikattiva. *Kull operatur ikollu jaddattahom kif xieraq biex jilħqu r-reżoluzzjoni mixtieqa.* It-tul tal-quċċata li tikkorrispondi għat-2-glyceryl monopalmitate għandu jkun uguali għal tal-anqas 10 % mill-iskala tar-reġistratur).
- L-ammont ta' sostanza injettata: 0,5-1 µl mis-soluzzjoni (5 ml) ta' n-hexane (5.3.3.).

5.4.1. Identifikazzjoni tal-qċaċet

Il-monoglycerides individwali jiġu identifikati skond il-hinijiet ta' retenzjoni miksuba, u b'relazzjoni ma' daww miksuba bit-tahlitiet standard ta' monoglycerides analizzati fl-istess kundizzjonijiet.

5.4.2. Evalwazzjoni kwantitattiva

Is-superfiċje ta' kull quċċata tiġi kkalkulata permezz ta' integratur elettroniku.

6. ESPRESSJONI TAR-RIŻULTATI:

Il-perċentwal ta' glyceryl monopalmitate jiġi kkalkulat abbażi tar-relazzjoni bejn is-superfiċje tal-quċċata u t-total tas-superfiċji tal-qċaċet tal-monoglycerides kollha (ara l-Figura 2), skond il-formula:

$$\text{Glyceril monopalmitate (\%)} = \frac{A_x}{\Sigma A} \times 100$$

Fejn:

A_x = is-superfiċje tal-quċċata li tikkorrispondi għall-glyceryl monopalmitate

ΣA = it-total tas-superfiċji tal-qċaċet kollha tal-monoglycerides

Ir-riżultat għandu jingħata b' punt decimali wiehed.

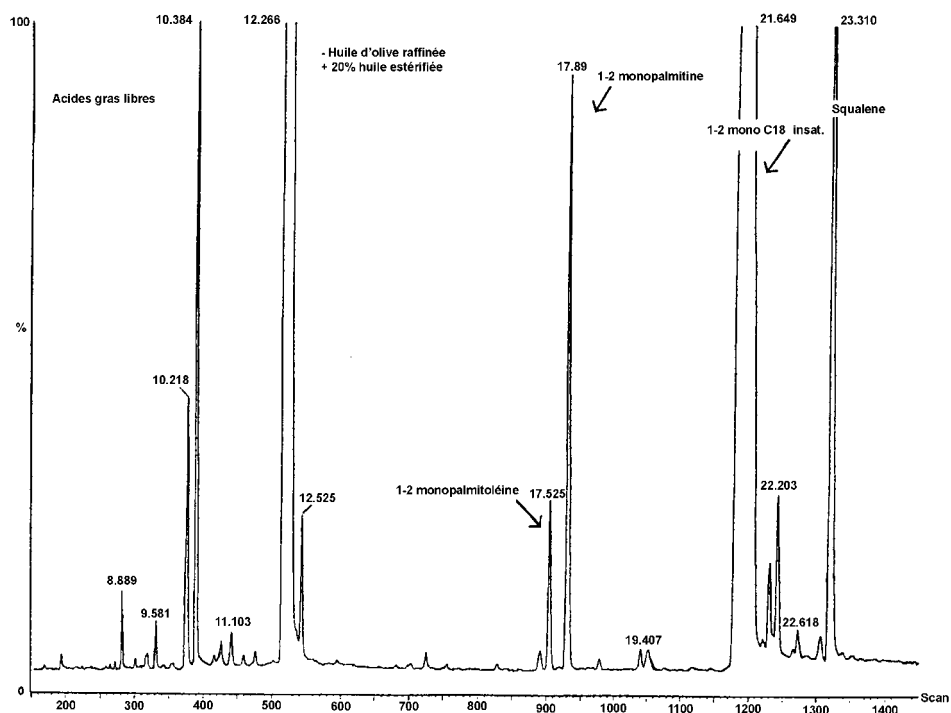
7. RAPPORT TA' L-ANALIŻI

Ir-rapport ta' l-analiżi għandu jispeċifika:

- ir-referenza għal dan il-metodu;
- it-tagħrif kollu mehtieg għall-identifikazzjoni kompleta tal-kampjun;
- ir-riżultat ta' l-analiżi;
- kull devjazzjoni minn dan il-metodu, sew minhabba deċiżjoni tal-partijiet ikkonċernati sew minhabba raġuni oħra;
- id-dettalji ta' l-identifikazzjoni tal-laboratorju, id-data ta' l-analiżi u l-firma tal-persuni responsabbli għaliha.

Figura 1

Kromatogramma tal-prodotti tar-reazzjoni tas-silanizzazzjoni miksubin bl-azzjoni tal-lipaži fuq żejt taż-żebuga raffinat miżjud b'20 % ta' żejt esterifikat (100 %).



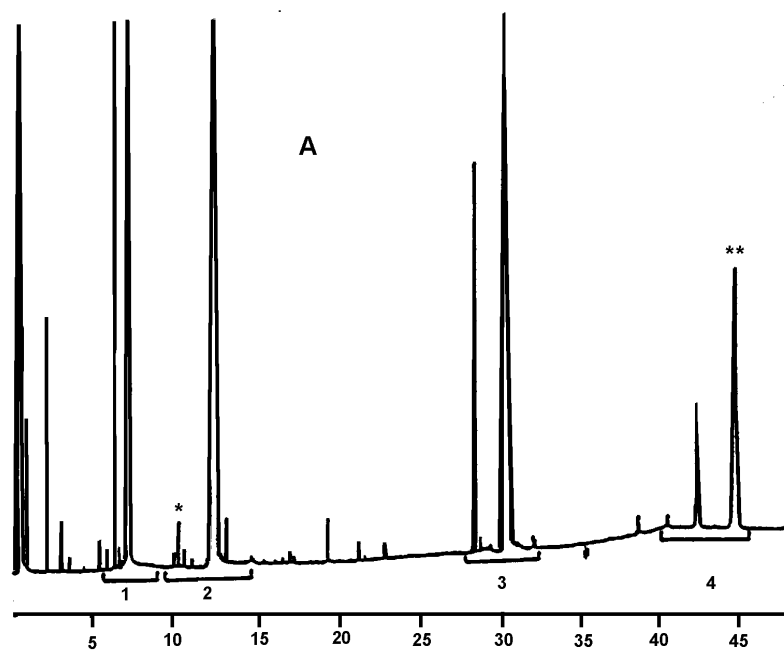
Nota: 'acidi grassi liberi' = xahmijiet ta' l-aċtu; 'Żejt taż-żebuga raffinat + 20 % taż-żejt estratt' = żejt taż-żebuga raffinat + 20 % żejt esterifikat; '1-2 monopalmitolein' = 1-2 monopalmitolein; '1-2 mono C₁₈ insat.' = mhux saturat 1-2 mono C₁₈

Figura 2

Kromatogramma ta':

A) Żejt taż-żebuga mhux esterifikat, wara l-lipazi; wara s-silanizzazzjoni; f'dawn il-kundizzjonijiet (kolonna kapillari 8-12 m), il-frazzjoni ta' xama' tiġi elwita fl-istess hin bħall-frazzjoni ta' diglyceride, jew fit wara.

Wara l-lipazi, il-kontenut ta' triglycerides ma għandux jaqbeż 15 %.



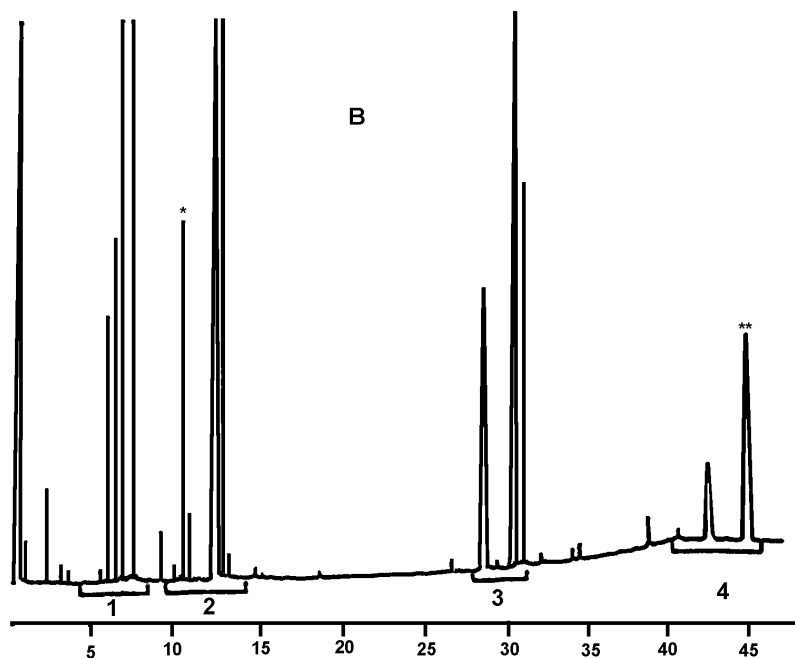
Tifsir:

- 1 = Aċidi grassi liberi
- 2 = Monoglycerides
- 3 = Diglycerides
- 4 = Triglycerides
- * = 2-monopalmitine
- ** = Triglycéride C₅₄

Kromatogramma ta':

B) żejt esterifikat wara l-lipaži; wara s-silanizzazzjoni; f'dawn il-kundizzjonijiet (kolonna kapilari 8-12 m), il-frazzjoni ta' xama' tiġi elwita fl-istess hin bhall-frazzjoni ta' diglyceride, jew ftit wara.

Wara l-lipaži, il-kontenut ta' triglycerides ma ghandux jaqbez 15 %.

**Tifsir:**

- 1 = Aċidi grassi liberi
- 2 = Monoglycerides
- 3 = Diglycerides
- 4 = Triglycerides
- * = 2-monopalmitine
- ** = Triglyceride C₅₄

8. NOTI**Nota 1 THEJĠJA TAL-LIPAŽI**

Lipaži b'attività sodisfacenti huma disponibbli fis-suq. Wiehed jista' jippreparahom ukoll fil-laboratorju, kif ġej:

Kessah 5 kg ta' frixa friska tal-majjal sa 0 °C. Nehhi x-xaham solidu u t-tessut konnettiv ta' madwarha, u ithan go blender sakemm issir pasta likwida. Hawwad din il-pasta ghal bejn 4 u 6 sigħat ma' 2,5 litru ta' *anhydrous acetone*, imbagħad għaddi miċ-ċentrifuga. Ohroġ il-fdal tliet darbiet ohra bl-istess volum ta' *anhydrous acetone*, imbagħad darbtejn b'tahlita *acetone/eter* djetiliku (1/1) (V/V), u darbtejn bl-eter djetiliku.

Nixxef il-fdal matul 48 siegħa fil-vakwu biex jinkiseb trab stabbli li jzomm għal żmien twil fil-frigg u protett mill-umdità.

Nota 2. KONTROLLAR TA' L-ATTIVITA' LIPAŽIKA

Hejji emulsjoni ta' żejt taż-żebbuġa kif ġej:

Ġo mikser, hawwad għal 10 minuti tahlita magħmula minn 165 ml soluzzjoni ta' gomma arabika f'100 g/l, 15 g silġ mithun u 20 ml żejt taż-żebbuġa newtralizzat minn qabel.

Imbagħad dahhal 10 ml minn din l-emulsjoni f'biker ta' 50 ml, imbagħad 0,3 ml minn soluzzjoni ta' sodju kolat f'0,2 g/ml u 20 ml ilma distillat.

Qiegħed il-biker go termostat regolat għal 37 °C; dahhal l-elettrodi tal-miter tal-pH u l-aġitatur bl-iskrun.

Bl-ghajnuna ta' buretta, qattar soluzzjoni ta' idrossidu tas-sodju 0,1 N sakemm jintlahaq livell pH ta' 8,3.

Żid kwantità ta' sospensjoni ta' trab tal-lipazi fl-ilma (0,1 g/ml ta' lipazi). Malli l-miter tal-pH jindika livell pH ta' 8,3, qabbad il-kronometru u żid is-soluzzjoni ta' idrossidu tas-sodju billi tqattarha bir-ritmu mehtieġ biex il-livell pH jinżamm f'8,3. Innota kull minuta l-volum tas-soluzzjoni li jkun ġie kkunsmat.

Irreġistra din l-informazzjoni fi grafika x/y, bil-hin fuq l-assi x, u l-millilitri ta' soluzzjoni ta' alkali 0,1 N ikkunsmati biex jinżamm livell kostanti tal-pH fuq l-assi y. B'hekk għandha tinkiseb grafika lineari.

L-attività tal-lipazi, imkejla f'unitajiet ta' lipazi għal kull mg, tiġi kkalkolata bil-formula li ġejja:

$$A = \frac{V \times N \times 100}{m}$$

Fejn:

A hija l-attività f'unitajiet ta' lipazi/mg;

V hija l-ghadd ta' millilitri ta' soluzzjoni ta' idrossidu tas-sodju 0,1 N kull minuta (ikkalkulat abbażi tal-grafika);

N hija n-normalità tas-soluzzjoni ta' idrossidu tas-sodju;

m hija l-massa tal-lipazi tat-test f'mg.

L-unità ta' lipazi hija ddefinita bħala l-kwantità ta' enzimi li jehilsu 10 mikro-ekwivalenti ta' acidu kull minuta.”;

7. Fl-Anness X “A”, il-punt 6.2 huwa mibdul b'li ġej:

“6.2. L-esters tal-metill jithejjew skond il-metodu B deskritt fl-Anness X “B”. Is-sustanzi grassi b'acidità libera ta' aktar minn 3 % għandhom jiġu newtralizzati minn qabel, skond il-punt 5.1.1. ta' l-Anness VII”.
