

II

(Nelegislativní akty)

NAŘÍZENÍ

NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 61/2011

ze dne 24. ledna 2011,

kterým se mění nařízení (EHS) č. 2568/91 o charakteristikách olivového oleje a olivového oleje z pokrutin a o příslušných metodách analýzy

EVROPSKÁ KOMISE,

s ohledem na Smlouvu o fungování Evropské unie,

s ohledem na nařízení Rady (ES) č. 1234/2007 ze dne 22. října 2007, kterým se stanoví společná organizace zemědělských trhů a zvláštní ustanovení pro některé zemědělské produkty („jednotné nařízení o společné organizaci trhů“) ⁽¹⁾, a zejména na čl. 113 odst. 1 písm. a) a čl. 121 písm. h) uvedeného nařízení ve spojení s článkem 4 uvedeného nařízení,

vzhledem k těmto důvodům:

- (1) Nařízení Komise (EHS) č. 2568/91 ⁽²⁾ stanoví fyzikální a chemické vlastnosti olivového oleje a olivového oleje z pokrutin a metody hodnocení těchto vlastností. Tyto metody a mezní hodnoty vlastností těchto olejů musí být aktualizovány na základě stanoviska chemických odborníků a v souladu s činností probíhající v rámci Mezinárodní rady pro olivový olej.
- (2) Jelikož chemičtí odborníci došli k závěru, že obsah ethylesterů mastných kyselin (EMK) a methylesterů mastných kyselin (MMK) je užitečným parametrem jakosti extra panenských olivových olejů, je zvláště vhodné začlenit mezní hodnoty těchto esterů, jakož i metodu stanovení jejich obsahu.
- (3) Aby bylo umožněno dostatečně dlouhé přechodné období pro přizpůsobení se novým normám a dostatek času na zavedení prostředků potřebných k jejich uplatnění a aby se zabránilo narušení obchodních operací, musí změny stanovené v tomto nařízení platit od 1. dubna 2011. Ze stejných důvodů je třeba učinit opatření v případě olivových olejů a olivových olejů z pokrutin, které jsou v souladu s právními předpisy vyprodukované a opatřeny etiketami v Unii nebo v souladu s právními předpisy dovezeny do Unie a propuštěny do volného oběhu před tímto datem, aby mohly být uváděny na trh až do vyčerpání zásob.

(4) Nařízení (EHS) č. 2568/91 by proto mělo být odpovídajícím způsobem změněno.

(5) Opatření stanovená tímto nařízením jsou v souladu se stanoviskem Řídícího výboru pro společnou organizaci zemědělských trhů,

PŘIJALA TOTO NAŘÍZENÍ:

Článek 1

Nařízení (EHS) č. 2568/91 se mění takto:

1) V ustanovení čl. 2 odst. 1 se doplňuje nová odrážka, která zní:

„— metoda stanovení obsahu vosků, methylesterů mastných kyselin a ethylesterů mastných kyselin kapilární plynovou chromatografií je stanovena v příloze XX“

2) Do seznamu příloh se doplňuje toto:

„Příloha XX: Metoda stanovení obsahu vosků, methylesterů mastných kyselin a ethylesterů mastných kyselin kapilární plynovou chromatografií“

3) Příloha I se nahrazuje zněním uvedeným v příloze I tohoto nařízení.

4) Příloha XX je přidána v souladu s přílohu II tohoto nařízení.

Článek 2

Produkty, které byly v souladu s právními předpisy vyprodukované a opatřeny etiketami v Unii nebo v souladu s právními předpisy dovezeny do Unie a propuštěny do volného oběhu před datem 1. dubna 2011, mohou být uváděny na trh až do vyčerpání zásob.

⁽¹⁾ Úř. věst. L 299, 16.11.2007, s. 1.

⁽²⁾ Úř. věst. L 248, 5.9.1991, s. 1.

Článek 3

Toto nařízení vstupuje v platnost třetím dnem po zveřejnění v *Úředním věstníku Evropské unie*.

Použije se ode dne 1. dubna 2011.

Toto nařízení je závazné v celém rozsahu a přímo použitelné ve všech členských státech.

V Bruselu dne 24. ledna 2011.

Za Komisi
José Manuel BARROSO
předseda

CHARAKTERISTIKY OLIVOVÉHO OLEJE

Kategorie	Methylestery mastných kyselin (MMK) a ethylestery mastných kyselin (EMK)	Kyselost (%) (*)	Peroxidové číslo (mEq O ₂ /kg)* (*)	Vosky mg/kg (**)	2-glyceryl monopalmitát (%)	Stigmastadien mg/kg (1)	Rozdíl mezi hodnotou ECN42 zjištěnou z HPLC a teoretickým výpočtem	K ₂₃₂ (*)	K ₂₇₀ (*)	Delta-K (*)	Organoleptické hodnocení Medián závad (Md)*	Organoleptické hodnocení Medián ovocnosti (Mf)*
1. Extra panenský olivový olej	Σ MMK + EMK \leq 75 mg/kg nebo 75 mg/kg $<$ Σ MMK + EMK \leq 150 mg/kg a (EMK/MMK) \leq 1,5	\leq 0,8	\leq 20	\leq 250	\leq 0,9, pokud % kyseliny palmitové představuje \leq 14 % \leq 1,0, pokud % kyseliny palmitové představuje $>$ 14 %	\leq 0,10	\leq 0,2	\leq 2,50	\leq 0,22	\leq 0,01	Md = 0	Mf $>$ 0
2. Panenský olivový olej	—	\leq 2,0	\leq 20	\leq 250	\leq 0,9, pokud % kyseliny palmitové představuje \leq 14 % \leq 1,0, pokud % kyseliny palmitové představuje $>$ 14 %	\leq 0,10	\leq 0,2	\leq 2,60	\leq 0,25	\leq 0,01	Md \leq 3,5	Mf $>$ 0
3. Lampantový olivový olej	—	$>$ 2,0	—	\leq 300 (3)	\leq 0,9, pokud % kyseliny palmitové představuje \leq 14 % \leq 1,1, pokud % kyseliny palmitové představuje $>$ 14 %	\leq 0,50	\leq 0,3	—	—	—	Md $>$ 3,5 (2)	—
4. Rafinovaný olivový olej	—	\leq 0,3	\leq 5	\leq 350	\leq 0,9, pokud % kyseliny palmitové představuje \leq 14 % \leq 1,1, pokud % kyseliny palmitové představuje $>$ 14 %	—	\leq 0,3	—	\leq 1,10	\leq 0,16	—	—
5. Složený z rafinovaných olivových olejů a panenských	—	\leq 1,0	\leq 15	\leq 350	\leq 0,9, pokud % kyseliny palmitové představuje \leq 14 % \leq 1,0, pokud % kyseliny palmitové představuje $>$ 14 %	—	\leq 0,3	—	\leq 0,90	\leq 0,15	—	—
6. Surový olivový olej z pokrutin	—	—	—	$>$ 350 (4)	\leq 1,4	—	\leq 0,6	—	—	—	—	—
7. Rafinovaný olivový olej z pokrutin	—	\leq 0,3	\leq 5	$>$ 350	\leq 1,4	—	\leq 0,5	—	\leq 2,00	\leq 0,20	—	—
8. Olivový olej z pokrutin	—	\leq 1,0	\leq 15	$>$ 350	\leq 1,2	—	\leq 0,5	—	\leq 1,70	\leq 0,18	—	—

(1) Úhrn izomerů (ne)separovatelných prostřednictvím kapilární kolony.

(2) Nebo pokud je medián závad nejvyšší 3,5 a medián ovocnosti roven 0.

(3) Oleje s obsahem vosku mezi 300 mg/kg a 350 mg/kg se pokud je obsah erythrodiolu a uvaolu nejvyšší 3,5%.

(4) Oleje s obsahem vosku mezi 300 mg/kg a 350 mg/kg se pokud je obsah erythrodiolu a uvaolu vyšší než 3,5 %.

Kategorie	Obsah kyselin ⁽¹⁾						Úhrn transů kyseliny o (%)	Úhrn transizomerů kyseliny linolové + linolenové (%)	Složení sterolů						Steroly celkem (mg/kg)	Erythrodiol a uvaol (%) (**)
	Myristová (%)	Linolenová (%)	Arachidová (%)	Eikosanová (%)	Behenová (%)	Lignoizomerů cerová (%)			Cholesterol (%)	Brassikas-terol (%)	Kampesterol (%)	Stigmas-terol (%)	Betasitos-terol (%) ⁽²⁾	Delta-7-stigmas-tenol (%)		
1. Extra panenský olivový olej	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
2. Panenský olivový olej	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
3. Lampantový olivový olej	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,10	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5 ⁽³⁾
4. Rafinovaný olivový olej	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
5. Olivový olej obsahují směs rafinovaných a panenských olivových olejů	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
6. Surový olivový olej z pokrutin	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,20	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 2 500	> 4,5 ⁽⁴⁾
7. Rafinovaný olivový olej z pokrutin	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 800	> 4,5
8. Olivový olej z pokrutin	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 600	> 4,5

⁽¹⁾ Obsah ostatních mastných kyselin (%): kyselina palmitová: 7,5 – 20,0; palmitoolejová: 0,3 – 3,5; heptadekanová: ≤ 0,3; heptadecenová: ≤ 0,3; stearová: 0,5–5,0; olejová: 55,0–83,0; linolová: 3,5–21,0.

⁽²⁾ Úhrn: Delta-5-23-stigmastadien + chlosterol + beta-sitosterol + sitostanol + delta-5-avenasterol + delta-5-24-stigmastadien.

⁽³⁾ Oleje s obsahem vosku mezi 300 mg/kg a 350 mg/kg se zařazují do kategorie lampantového olivového oleje, pokud je celkový obsah alifatických alkoholů nejvýš 350 mg/kg nebo pokud je obsah erythrodiolu a uvaolu nejvýš 3,5 %.

⁽⁴⁾ Oleje s obsahem vosku mezi 300 mg/kg a 350 mg/kg se zařazují do kategorie surového olivového oleje z pokrutin, pokud je celkový obsah alifatických alkoholů vyšší než 350 mg/kg a pokud je obsah erythrodiolu a uvaolu vyšší než 3,5 %.

Poznámky:

a) Výsledky zkoušek se uvádějí na stejný počet desetinných míst, jaký je předepsán pro každou charakteristiku.

Poslední desetinné místo se přitom zaokrouhlí nahoru, pokud je číslice na dalším desetinném místě vyšší než 4.

b) Pokud jakákoli charakteristika neodpovídá předepsaným mezním hodnotám, zařadí se olivový olej do jiné kategorie nebo se označí jako nesplňující požadavky na čistotu pro danou jakostní kategorii.

c) Jakostní charakteristiky olejů označené hvězdičkou * znamenají, že:

— v případě lampantového olivového oleje nemusejí být stanovené mezní hodnoty dodrženy současně;

— v případě panenských olivových olejů je nedodržení jedné nebo více mezních hodnot důvodem pro změnu kategorie v rámci skupiny panenského olivového oleje.

d) Jakostní charakteristiky olejů označené dvěma hvězdičkami ** znamenají, že v případě všech olivových olejů z pokrutin nemusí být stanovené mezní hodnoty dodrženy současně.

PŘÍLOHA II

„PŘÍLOHA XX

Metoda stanovení obsahu vosků, methylesterů mastných kyselin a ethylesterů mastných kyselin kapilární plynovou chromatografií

1. ÚČEL

Tato metoda slouží ke stanovení obsahu vosků, methylesterů mastných kyselin a ethylesterů mastných kyselin v olivových olejích. Jednotlivé vosky a alkylestery jsou separovány podle počtu atomů uhlíku. Metoda je doporučeným nástrojem pro rozlišení mezi olivovým olejem a olivovým olejem z pokrutin a stanoví jakostní parametr pro extra panenský olivový olej, což umožňuje rozeznat podvodně smíchané extra panenské olivové oleje s oleji nižší kvality, ať už se jedná o panenské, lampantové či jiné dezodorizované oleje.

2. PODSTATA METODY

K oleji se přimísí vhodný vnitřní standard a poté se provádí chromatografická frakční destilace na hydratované silikagelové koloně. Získaná frakce eluovaná při testovacích podmínkách (jejíž polarita je menší než polarita triglyceridů) se přímo analyzuje pomocí kapilární plynové chromatografie.

3. ZAŘÍZENÍ

3.1. **Kónická 25ml baňka.**

3.2. **Skleněná kolona** pro kapalnou chromatografii o vnitřním průměru 15 mm a délce 30 až 40 cm vybavená vhodným kohoutem.

3.3. **Plynový chromatograf**, vhodný pro použití s kapilární kolonou a vybavený systémem pro přímý nástřik na kolonu, obsahující následující části:

3.3.1. **termostaticky ovládatelná kolonová komora s nastavitelnou teplotou;**

3.3.2. **studené nástřikové zařízení** pro přímé zavádění do kolony;

3.3.3. **plameno-ionizační detektor a konverzní zesilovač;**

3.3.4. **integrátor se zapisovačem** (poznámka 1), vhodný pro provoz s konverzním zesilovačem (bod 3.3.3), s rychlostí odezvy nižší než 1 sekunda a s nastavitelnou rychlostí posunu papíru;

Poznámka 1: Jsou-li data plynové chromatografie zadávána do počítače, lze také použít počítačem řízené systémy.

3.3.5. **kapilární kolona z taveného křemene (pro analýzu vosků, methylesterů a ethylesterů)**, dlouhá 8 až 12 m s vnitřním průměrem 0,25 až 0,32 mm, obsahující kapalnou fázi (poznámka 2), o jednotné tloušťce 0,10 až 0,30 μm ;

Poznámka 2: Pro tento účel jsou k dispozici vhodné komerční kapalné fáze, např. SE52, SE54 atd.

3.4. **mikrostříkačka** na 10 μl pro přímý vstřik do kolony opatřená tvrzenou jehlou;

3.5. **elektrický vibrátor;**

3.6. **rotační odparka;**

3.7. **muflová pec;**

3.8. **analytická váha** pro vážení s přesností $\pm 0,1$ mg;

3.9. běžné laboratorní sklo.

4. ČINIDLA

4.1. **Silikagel**, 60–200 µm mesh. Silikagel se umístí alespoň na čtyři hodiny do muflové pece o teplotě 500 °C. Nechá se ochladit a přidají se 2 % vody v závislosti na množství použitého silikagelu. Řádným protřepáním se směs homogenizuje a před použitím se ponechá nejméně 12 hodin v exsikátoru.

4.2. **N-hexan** čistoty pro chromatografii nebo pro residuální analýzu (čistota musí být kontrolována).

POZOR! - Výpary se mohou vznítit. Chraňte před zdroji tepla, jiskrami či přímým plamenem. Ujistěte se, že jsou láhve vždy řádně uzavřeny. Při použití zajistěte řádné větrání. Zabraňte hromadění výparů a eliminujte veškeré příčiny možného vzniku požáru, jako jsou topná tělesa a elektrická zařízení, jež nejsou vyrobeny z nehořlavého materiálu. Vdechnutí je škodlivé, neboť může dojít k poškození nervových buněk. Zabraňte vdechnutí výparů. V případě nutnosti použijte vhodný respirační přístroj. Zabraňte styku s očima a s pokožkou.

4.3. Ethylether pro chromatografii

POZOR! - Vysoce hořlavý a mírně jedovatý. Dráždí pokožku. Vdechnutí je škodlivé. Může způsobit poškození zraku. Účinky mohou být opožděné. Může vytvářet výbušné peroxidy. Výpary se mohou vznítit. Chraňte před zdroji tepla, jiskrami či přímým plamenem. Ujistěte se, že jsou láhve vždy řádně uzavřeny. Při použití zajistěte řádné větrání. Zabraňte hromadění výparů a eliminujte veškeré příčiny možného vzniku požáru, jako jsou topná tělesa a elektrická zařízení, jež nejsou vyrobeny z nehořlavého materiálu. Neodpařujte do sucha nebo téměř do sucha. Přidání vody nebo vhodného redukčního prvku může omezit tvorbu peroxidů. Nepijte. Zabraňte vdechnutí výparů. Zabraňte dlouhotrvajícímu či opakovanému styku s pokožkou.

4.4. **N-heptan** čistoty pro chromatografii nebo **isooktan**.

POZOR! - Hořlavý. Vdechnutí je škodlivé. Chraňte před zdroji tepla, jiskrami či přímým plamenem. Ujistěte se, že jsou láhve vždy řádně uzavřeny. Při použití zajistěte řádné větrání. Zabraňte vdechnutí výparů. Zabraňte dlouhotrvajícímu či opakovanému styku s pokožkou.

4.5. **Standardní roztok 0,05 % (m/V) laurylcharidátu** (poznámka 3) v heptanu (vnitřní standard pro vosky).

Poznámka 3: Lze také použít palmityl-palmitát, myristyl-stearát či arachidyl-laureát.

4.6. **Standardní roztok 0,02 % (m/V) methylheptakaprinátu v heptanu (vnitřní standard pro methylestery a ethylestery).**

4.7. **Sudan 1 (1-fenylazo-2-naftol).**

4.8. **Nosný plyn: vodík či helium, čistý pro plynovou chromatografii.**

POZOR!

Vodík. Pod tlakem vysoce hořlavý. Chraňte před zdroji tepla, jiskrami, přímým plamenem a uchovávejte mimo dosah elektrických přístrojů z hořlavého materiálu. Ujistěte se, zda je ventil láhve po použití vodíku vždy uzavřen. Používejte vždy s redukčním ventilem. Před otevřením ventilu láhve uvolněte pnutí pružiny redukčního ventilu. Při otvírání ventilu nestůjte před výpustným otvorem láhve. Při použití zajistěte řádné větrání. Nepřepouštějte vodík z jedné láhve do druhé. Nemíchejte plyn v láhvi. Ujistěte se, že láhve nelze převrhnout. Chraňte je před slunečním světlem a před zdroji tepla. Skladujte v nekorozivním prostředí. Nepoužívejte poškozené nebo neoznačené láhve.

Helium. Vysoce stlačený plyn. Snižuje množství kyslíku pro dýchání. Uchovávejte v uzavřené láhvi. Při použití zajistěte řádné větrání. Nevstupujte do skladovacích prostor, pokud nejsou řádně větrány. Používejte vždy s redukčním ventilem. Před otevřením ventilu láhve uvolněte pnutí pružiny redukčního ventilu. Nepřepouštějte plyn z jedné láhve do druhé. Ujistěte se, že láhve nelze převrhnout. Při otvírání ventilu nestůjte před výpustným otvorem láhve. Chraňte je před slunečním světlem a před zdroji tepla. Skladujte v nekorozivním prostředí. Nepoužívejte poškozené nebo neoznačené láhve. Nevdechujte. Používejte výhradně pro technické účely.

4.9. Pomocné plyny:

- Vodík, čistý pro plynovou chromatografii.
- Vzduch, čistý pro plynovou chromatografii.

POZOR!

Vzduch. Vysoce stlačený plyn. Dbejte opatrnosti při použití v přítomnosti hořlavých látek, protože teplota pro samovznícení většiny organických složek vzduchu je při vysokém tlaku znatelně nižší. Ujistěte se, že je ventil láhve po použití vždy uzavřen. Vždy používejte redukční ventil. Před otevřením ventilu láhve uvolněte pnutí pružiny redukčního ventilu. Při otvírání ventilu nestůjte před výpustným otvorem láhve. Nepřepouštějte plyn z jedné láhve do druhé. Nemíchejte plyn v láhvi. Ujistěte se, že láhve nelze převrhnout. Chraňte je před slunečním světlem a před zdroji tepla. Skladujte v nekorozivním prostředí. Nepoužívejte poškozené nebo neoznačené láhve. Vzduch pro technické účely nesmí být vdechován nebo používán v respiračních přístrojích.

5. POSTUP

5.1. Příprava chromatografické kolony

15 g silikagelu (bod 4.1) se suspenduje v n-hexanu (bod 4.2) a zavede do kolony (bod 3.2). Po spontánní sedimentaci se tato dokončí pomocí elektrického vibrátoru, aby byla chromatografická vrstva co nejhomogennější. Provede se perkolace 30 ml n-hexanu za účelem odstranění případných nečistot. Do 25ml baňky (bod 3.1) se na analytické váze (bod 3.8) naváží přesně 500 mg vzorku a přidá se vhodné množství vnitřního standardu (bod 4.5) v závislosti na předpokládaném obsahu vosku, např. 0,1 mg laurylcharidátu v případě olivového oleje, 0,25 až 0,5 mg v případě olivového oleje z pokrutin a 0,05 mg methylheptakaprinátu v případě olivových olejů (bod 4.6).

Získaný vzorek se za pomoci dvou dávek 2 ml n-hexanu (bod 4.2) převede do chromatografické kolony.

Umožní se, aby hladina rozpouštědla poklesla tak, aby byla 1 mm nad horní úroveň absorbentu. Perkoluje se další n-hexan/diethyleter (99:1) a odebere se 220 ml při průtoku přibližně 15 kapek za 10 sekund. **(Tato frakce obsahuje methylestery, ethylestery a vosky.)** (poznámka 4) (poznámka 5)

Poznámka 4: Každý den by se měla připravit čerstvá směs n-hexanu/diethyleteru (99:1).

Poznámka 5: Do vzorku roztoku lze přidat 100 µl eluční směsi s 1 % barviva Sudan I pro účely vizuální kontroly řádné eluce vosků.

Retenční doba barviva je mezi retenční dobou vosků a triglycerolů. Když tedy barvivo dosáhne dna chromatografické kolony, musí být eluce suspendována, protože veškeré vosky byly eluovány.

Získaná frakce se usuší v rotačním odpařovači, až je téměř všechno rozpouštědlo odstraněno. Poslední 2 ml rozpouštědla se odstraní za pomoci slabého proudu dusíku. Odebere se frakce obsahující methylestery a ethylestery tak, že se naředí 2 až 4 ml n-heptanu nebo isooktanu.

5.2. Plynová chromatografická analýza

5.2.1. Přípravné práce

Kolona se spojí s plynovým chromatografem (bod 3.3), vstupní port se připojí ke kolonovému systému (on-column system) a výstupní port k detektoru. Poté se plynový chromatograf překontroluje (těsnost plynových vedení, funkce detektoru a záznamníku atd.).

Kolonu, která má být použita poprvé, je nutno nejprve kondicionovat. Kolonou se nechá protékat malé množství nosného plynu, poté se zapne plynový chromatograf. Nechá se postupně zahřívat, dokud není po přibližně čtyřech hodinách dosaženo teploty 350 °C.

Tato teplota se udržuje nejméně dvě hodiny a poté se systém převede do předepsaných podmínek (regulace průtoku plynu, zapálení plamene, připojení elektronického zapisovače (bod 3.3.4), nastavení teploty kolonové komory, detektoru, atd.). Signál se nastaví na citlivost, která činí nejméně dvojnásobek nejvyšší úrovně uvažované pro provedení analýzy. Základní linie záznamu musí být rovná, bez jakýchkoli píků nebo driftů.

Záporné driftы jsou známkou nedokonalé těsnosti spojů kolony, zatímco kladné svědčí o nedostatečné kondicionaci kolony.

5.2.2. Výběr pracovních podmínek pro vosky, methylestery a ethylestery (poznámka 6).

Všeobecné pracovní podmínky jsou tyto:

— Teplota kolony:

20 °C/min 5 °C/min

počáteční teplota 80 °C (1') — 140 °C — 335 °C (20)

— Teplota detektoru: 350 °C.

— Množství nastříknuté látky: 1 µl roztoku n-heptanu (2 až 4 ml).

— Nosný plyn: helium nebo vodík při optimální lineární rychlosti pro zvolený plyn (viz dodatek A).

— Citlivost přístroje: vhodná pro dosažení výše uvedených podmínek.

Poznámka 6: Z důvodu vysoké konečné teploty je povolen kladný drift, nesmí však přesáhnout 10 % plného rozsahu.

Tyto podmínky mohou být upraveny podle charakteristik kolony a plynového chromatografu s cílem oddělit veškeré vosky, methylestery mastných kyselin a ethylestery mastných kyselin a dosáhnout přijatelné separace píků (viz obrázky 2, 3 a 4) a retenčního času vnitřního standardu laurylcharidátu 18 ± 3 minuty. Nejreprezentativnější pík vosků musí dosáhnout 60 % z plného rozsahu, vnitřní standard methylheptakaprinát pro methylestery a ethylestery musí dosáhnout plného rozsahu.

Parametry pro integraci píků se nastaví tak, aby došlo ke správnému vyhodnocení ploch uvažovaných píků.

5.3. Provedení analýzy

Do 10 µl mikrostříkačky se natáhne 10 µl roztoku; píst mikrostříkačky se povytáhne tak, aby se vyprázdnila jehla. Jehla se zavede do vstříkové komory a po jedné nebo dvou sekundách se rychle nastříkne roztok. Přibližně po pěti sekundách se jehla pomalu vytáhne.

Zaznamenávání je prováděno, dokud vosky nebo stigmastadieny nejsou zcela eluovány v závislosti na analyzované frakci.

Základní linie záznamu musí vždy odpovídat požadovaným podmínkám.

5.4. Identifikace píků

Identifikace jednotlivých píků se provádí podle retenčních časů a porovnáním se směsmi vosků, jejichž retenční časy jsou známy a které byly analyzovány za stejných podmínek. Alkylestery se identifikují ze směsí methylesterů a ethylesterů hlavních mastných kyselin v olivových olejích (palmitová a olejová).

Chromatogram vosků panenského olivového oleje je znázorněn na obrázku 1. Obrázky 2 a 3 zobrazují chromatogramy dvou maloobchodně prodávaných extra panenských olivových olejů, jeden obsahuje methylestery a ethylestery, v druhém obsaženy nejsou. Na obrázku 4 jsou chromatogramy extra panenského olivového oleje nejvyšší třídy a stejného oleje uměle obohaceného 20 % dezodorizovaného oleje.

5.5. Kvantitativní vyhodnocení vosků

Pomocí integrátoru se vypočítají plochy píků odpovídajících vnitřnímu standardu laurylcharidátu a alifatickým esterům C₄₀ až C₄₆.

Celkový obsah vosků se vypočítá sečtením jednotlivých vosků v mg/kg tukové látky takto:

$$\text{Vosky, mg/kg} = \frac{(\sum A_x) \cdot m_s \cdot 1\,000}{A_s \cdot m}$$

kde:

A_x = plocha píku příslušného esteru vypočtená počítačem

A_s = plocha píku vnitřního standardu laurylcharidátu vypočtená počítačem

m_s = hmotnost přidaného vnitřního standardu laurylcharidátu v mg;

m = hmotnost vzorku použitého pro stanovení v gramech.

5.5.1. Kvantitativní vyhodnocení methylesterů a ethylesterů

Pomocí integrátoru se vypočítají plochy píků odpovídajících vnitřnímu standardu methylheptakaprinátu, methylesterů mastných kyselin C₁₆ a C₁₈ a ethylesterů mastných kyselin C₁₆ a C₁₈.

Obsah každého alkylesteru v mg/kg tukové látky se vypočítá takto:

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

kde:

A_x = plocha píku příslušného esteru C₁₆ a C₁₈ vypočtená počítačem

A_s = plocha píku vnitřního standardu methylheptakaprinátu vypočtená počítačem

m_s = hmotnost přidaného vnitřního standardu methylheptakaprinátu v mg;

m = hmotnost vzorku použitého pro stanovení v gramech.

6. VYJÁDŘENÍ VÝSLEDKŮ

Uvádí se souhrn obsahů jednotlivých vosků C₄₀ až C₄₆ (poznámka 7) v mg/kg tukové látky.

Uvádí se souhrn obsahů jednotlivých methylesterů a ethylesterů C₁₆ až C₁₈ a celkový součet methylesterů a ethylesterů.

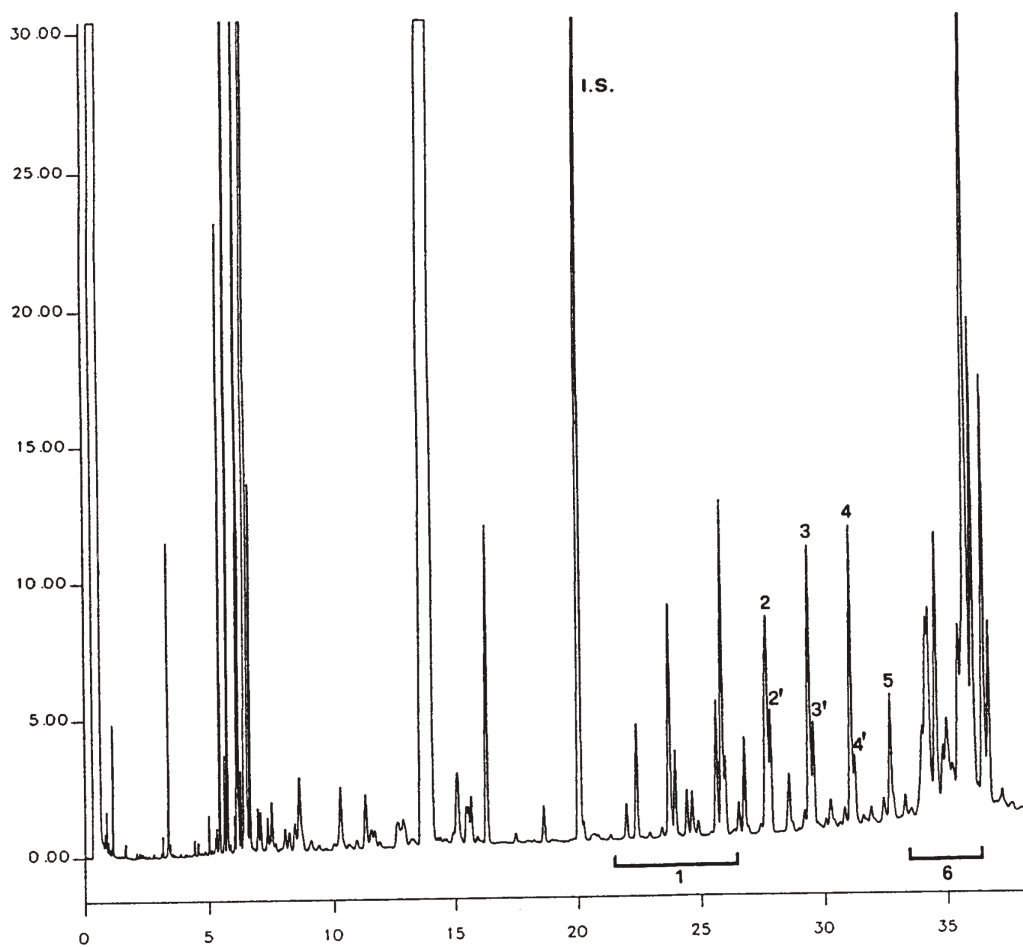
Výsledky se zaokrouhlují na celé mg/kg.

Poznámka 7: Prvky kvantitativního vyhodnocení se vztahují k píkům esterů se sudým karbonovým číslem C₄₀ až C₄₆ podle vzorového chromatogramu vosků v olivovém oleji na příloženém obrázku. Pokud se ester C₄₆ rozštěpí, doporučuje se pro účely identifikace analyzovat frakci vosku olivového oleje z pokrutin, kde lze pík C₄₆ rozlišit, neboť zřetelně převládá.

Uvádí se poměr mezi ethylestery a methylestery.

Obrázek 1

Příklad plynového chromatogramu frakce vosků olivového oleje (*)



Píky methylesterů a ethylesterů mastných kyselin s retenční dobou 5 až 8 minut.

Vysvětlivky:

I.S. = (vnitřní standard) Laurylcharidát

1 = Estery diterpenu

2+2' = Estery C₄₀

3+3' = Estery C₄₂

4+4' = Estery C₄₄

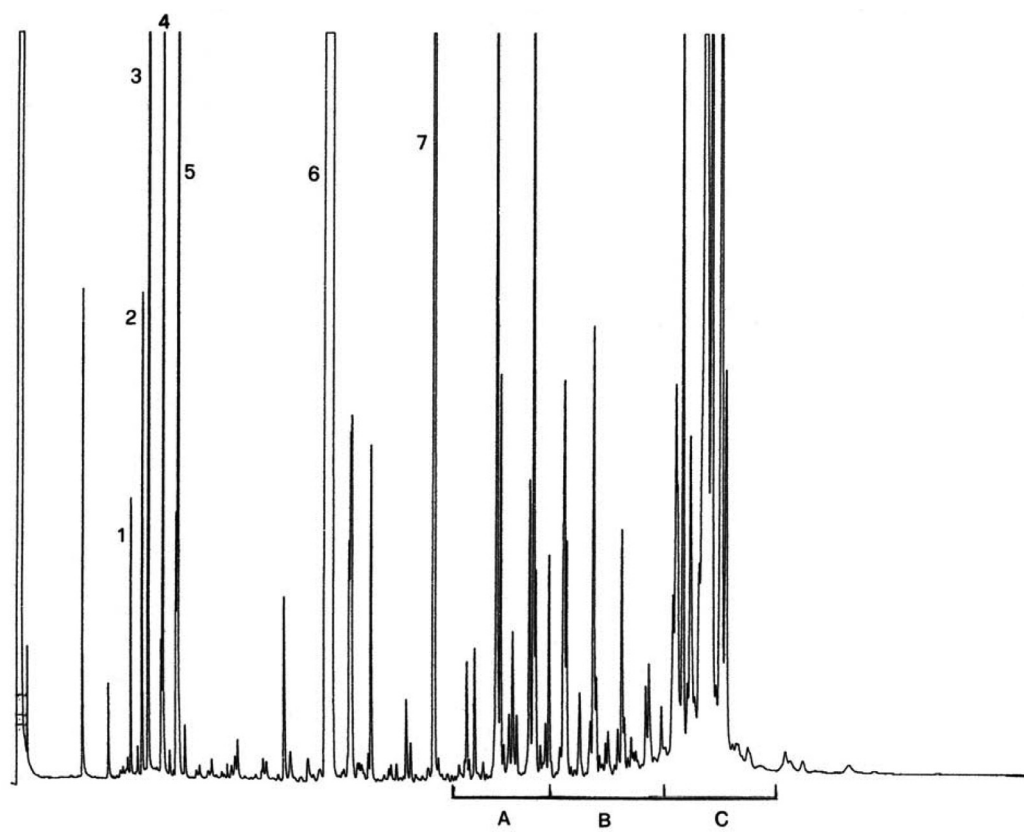
5 = Estery C₄₆

6 = Estery sterolů a triterpenické alkoholy

(*) Po eluci esterů sterolů nesmí chromatogram vykazovat žádné výrazné píky (triacylglyceroly).

Obrázek 2

Methylestery, ethylestery a vosky v panenském olivovém oleji

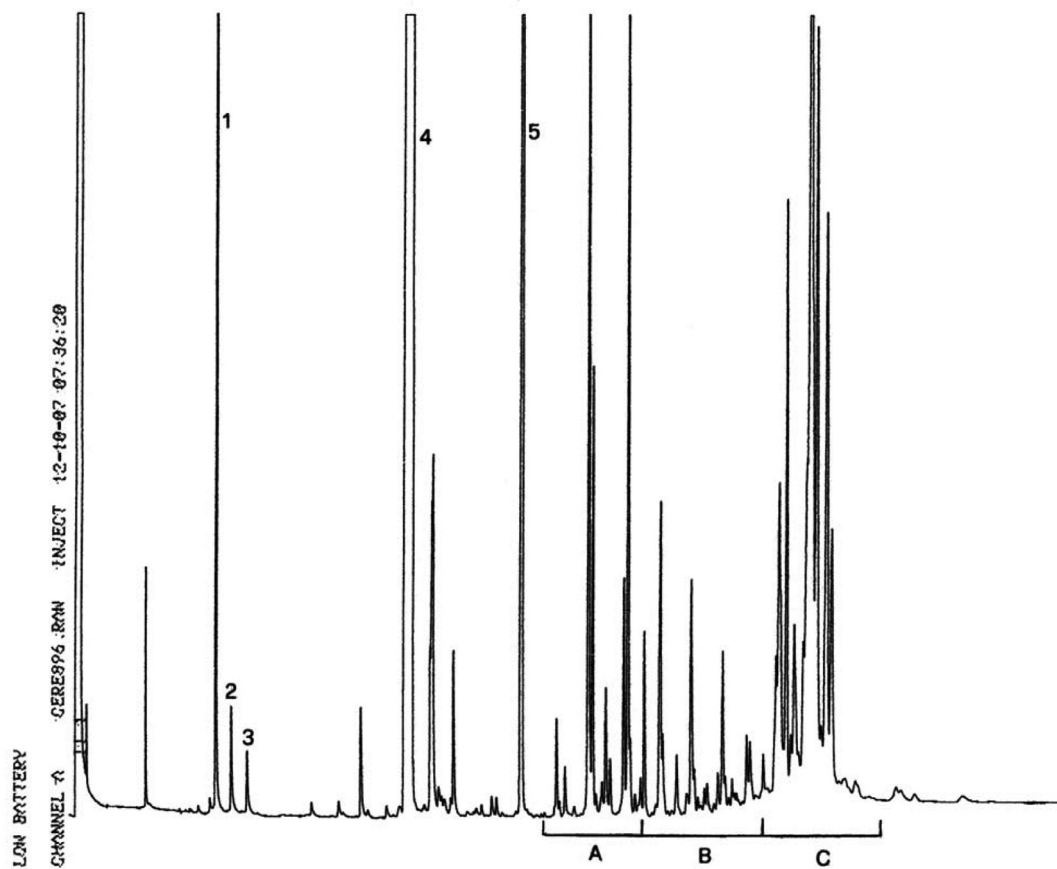


Vysvětlivky:

- 1 – Methyl C_{16}
- 2 – Ethyl C_{16}
- 3 – Vnitřní standard methylheptakaprinát
- 4 – Methyl C_{18}
- 5 – Ethyl C_{18}
- 6 – Squalene
- 7 – Vnitřní standard laurylcharidát
- A – Estery diterpenů
- B – Vosky
- C – Estery sterolů a triterpenů

Obrázek 3

Methylestery, ethylestery a vosky v extra panenském olivovém oleji

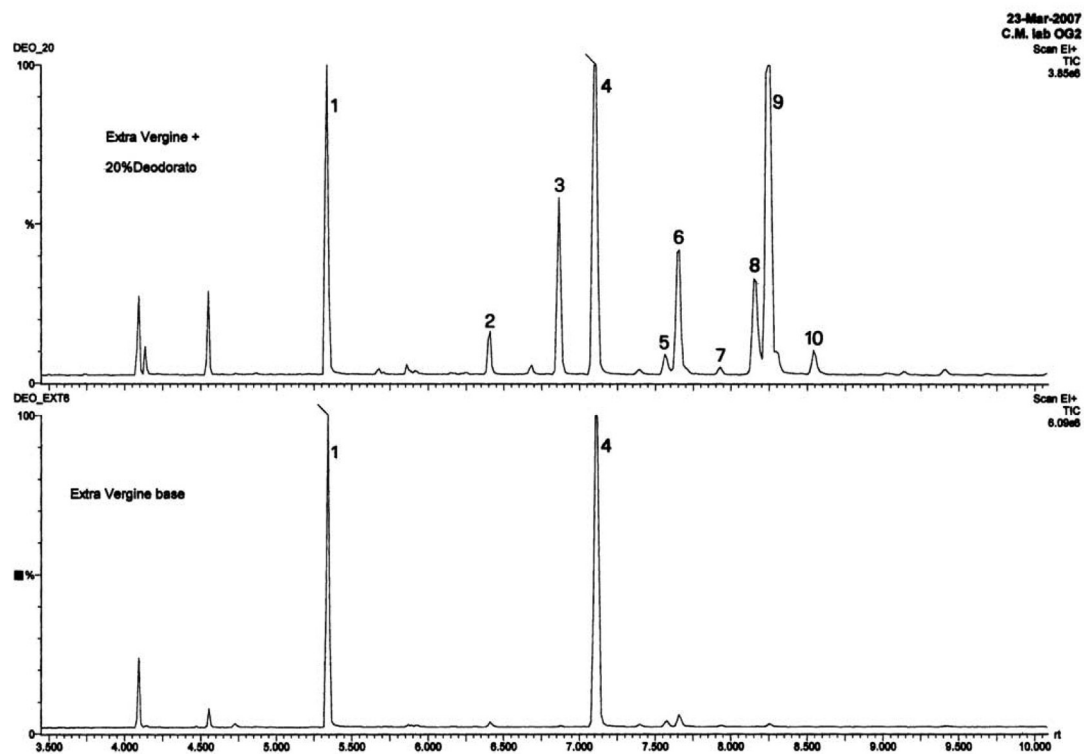


Vysvětlivky:

- 1 – Vnitřní standard methylheptakaprinát
- 2 – Methyl C₁₈
- 3 – Ethyl C₁₈
- 4 – Squalen
- 5 – Vnitřní standard laurylcharidát
- A – Estery diterpenů
- B – Vosky
- C – Estery sterolů a triterpenů

Obrázek 4

Část chromatogramu extra panenského olivového oleje a stejného oleje uměle obohaceného dezodorizovaným olejem



Vysvětlivky:

- 1 – Vnitřní standard methyl-myristát
- 2 – Methyl-palmitát
- 3 – Ethyl-palmitát
- 4 – Vnitřní standard methylheptakaprinát
- 5 – Methyl-linoleát
- 6 – Methyl-oleát
- 7 – Methyl-stearát
- 8 – Ethyl-linoleát
- 9 – Ethyl-oleát
- 10 – Ethyl-stearát

*Dodatek A***Stanovení lineární rychlosti plynu**

Do plynového chromatografu nastaveného na normální pracovní podmínky se nastříkne 1:3 μ l methanu (nebo propanu). Pomocí stopek se změří doba průchodu plynu kolonou od počátku vstříku do okamžiku vzniku píků (t_M).

Lineární rychlost proudění v cm/s je dána poměrem L/t_M , kde L je délka kolony v cm a t_M je čas v sekundách, změřený stopkami.*
