

PROVÁDĚCÍ NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 1348/2013

ze dne 16. prosince 2013,

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 první pododstavec písm. a) a h), ve spojení s článkem 4 uvedeného nařízení,

vzhledem k těmto důvodům:

- (1) Nařízení Komise (EHS) č. 2568/91 ⁽²⁾ definuje chemické a organoleptické charakteristiky olivového oleje a olivového oleje z pokrutin a stanoví metody hodnocení těchto charakteristik. Tyto metody a mezní hodnoty charakteristik olejů by měly být aktualizovány na základě stanoviska odborníků v oboru chemie a v souladu s činností probíhající v rámci Mezinárodní rady pro olivový olej.
- (2) Aby bylo na úrovni Unie zajištěno provádění aktuálních mezinárodních norem stanovených Mezinárodní radou pro olivový olej, měly by být aktualizovány některé metody analýzy a některé mezní hodnoty charakteristik olejů, které stanoví nařízení (EHS) č. 2568/91.
- (3) Následně by měly být aktualizovány mezní hodnoty pro stigmastadieny, vosky, myristovou kyselinu a alkylestery mastných kyselin a odpovídajícím způsobem by měla být změněna rozhodovací schémata k ověřování, zda vzorek olivového oleje odpovídá deklarované kategorii. V zájmu ochrany spotřebitele by měla být zavedena rozhodovací schémata pro kampesterol a δ -7-stigmastenol doplněná o restriktivnější parametry, aby se usnadnilo obchodování a zaručila pravost olivového oleje. Metody analýzy k určení složení a obsahu sterolů a ke stanovení erythrodiolu a uvaolu by měly být nahrazeny spolehlivějšími metodami, kterými bude možno stanovit i triterpenické dialkoholy. Je také třeba přezkoumat organoleptické hodnocení olivového oleje a začlenit metodu umožňující zjištění příměsí cizího rostlinného oleje v olivovém oleji.
- (4) Postupy pro kontrolu shody u olejů by měly zohlednit vývoj v této oblasti a odpovídajícím způsobem by měly být upraveny metody odběru vzorků olivového oleje a oleje z pokrutin.
- (5) Nařízení (EHS) č. 2568/91 by proto mělo být odpovídajícím způsobem změněno.

- (6) Aby bylo umožněno dostatečně dlouhé přechodné období pro přizpůsobení se novým pravidlům a byl poskytnut dostatek času na zavedení prostředků potřebných k jejich uplatnění, a aby se zabránilo narušení obchodních operací, měly by změny stanovené v tomto nařízení platit od 1. března 2014. 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.

- (7) 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) Článek 2 se nahrazuje tímto:

„Článek 2

- 1) Charakteristiky olivových olejů uvedených v příloze I se stanoví v souladu s těmito metodami analýzy:

- a) stanovení volných mastných kyselin, vyjádřených v procentech kyseliny olejové, metodou uvedenou v příloze II;
- b) stanovení peroxidového čísla metodou uvedenou v příloze III;
- c) stanovení obsahu vosků metodou uvedenou v příloze IV;
- d) stanovení složení a obsahu sterolů a triterpenických dialkoholů kapilární plynovou chromatografií metodou uvedenou v příloze V;
- e) stanovení procentního podílu 2-glyceril-monopalmitátu metodou uvedenou v příloze VII;
- f) spektrofotometrická analýza metodou uvedenou v příloze IX;
- g) stanovení složení mastných kyselin metodou uvedenou v přílohách XA a XB;
- h) stanovení těkavých halogenovaných rozpouštědel metodou uvedenou v příloze XI;

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

⁽²⁾ Nařízení Komise (EHS) č. 2568/91 ze dne 11. července 1991 o charakteristikách olivového oleje a olivového oleje z pokrutin a o příslušných metodách analýzy (Úř. věst. L 248, 5.9.1991, s. 1).

- i) hodnocení organoleptických charakteristik panenského olivového oleje metodou uvedenou v příloze XII;
- j) stanovení stigmastadienolů metodou uvedenou v příloze XVII;
- k) stanovení obsahu triglyceridů s ECN 42 metodou uvedenou v příloze XVIII;
- l) stanovení obsahu alifatických alkoholů metodou uvedenou v příloze XIX;
- m) stanovení obsahu vosků, methylesterů mastných kyselin a ethylesterů mastných kyselin metodou uvedenou v příloze XX;

Přítomnost cizích rostlinných olejů v olivovém oleji se zjišťuje metodou analýzy uvedenou v příloze XXa.

2) Ověřování organoleptických charakteristik panenského oleje provádí vnitrostátní orgány nebo jejich zástupci v rámci zkušebních komisí schválených členskými státy.

Organoleptické vlastnosti oleje uvedeného v prvním pododstavci se považují za odpovídající deklarované kategorii v případě, že zkušební komise schválená členským státem potvrdí jeho zařazení.

V případě, že zkušební komise nepotvrdí deklarovanou kategorii oleje vzhledem k jeho organoleptickým vlastnostem, vnitrostátní orgány nebo jejich zástupci nechají bez odkladu provést, na žádost zainteresované strany, dvě oponentní hodnocení jinými schválenými zkušebními komisemi, z nichž alespoň jedna je schválena členským státem, z nějž pochází výrobce oleje. Dotčené vlastnosti se považují za odpovídající deklarovaným charakteristikám, pokud alespoň dvě oponentní hodnocení potvrdí deklarovanou kvalitu. Pokud tomu tak není, nese náklady na oponentní hodnocení zainteresovaná strana.

3) Pokud vnitrostátní orgány nebo jejich zástupci ověřují vlastnosti oleje postupem podle odstavce 1, provádí se odběr vzorků v souladu s mezinárodními normami EN ISO 661 o přípravě zkušebních vzorků a EN ISO 5555 o odběru vzorků. Pokud jsou však takové oleje ve spotřebitelských obalech baleny po šaržích, pak odchýlně od bodu 6.8 normy EN ISO 5555 se odběr vzorků provádí v souladu s přílohou Ia tohoto nařízení. V případě, že odběr vzorků oleje ve velkém balení nemůže být proveden v souladu s normou EN ISO 5555, odeberou se vzorky podle pokynů příslušného orgánu členského státu.

Aniž by byla dotčena ustanovení normy EN ISO 5555 a kapitoly 6 normy EN ISO 661, odebrané vzorky se co nejrychleji umístí z dosahu světla a vysokých teplot

a nejpozději pět pracovních dní po odběru se odešlou k analýze do laboratoře, jinak musí být uchovávány tak, aby se nezneškodily nebo nepoškodily během přepravy nebo skladování, než budou do laboratoře zaslány.

4) Pro účely ověření podle odstavce 3 se analýzy uvedené v přílohách II, III, IX, XII a XX, jakož i případné kontrolní analýzy stanovené vnitrostátními právními předpisy, v případě balených výrobků provádějí před datem minimální trvanlivosti. V případě odběru vzorků olejů ve velkých baleních se tyto analýzy provádějí nejpozději šestý měsíc po měsíci, v kterém byl vzorek odebrán.

Pro ostatní analýzy uvedené v tomto nařízení neplatí žádné lhůty.

Jestliže výsledky analýz neodpovídají vlastnostem deklarované třídy olivového oleje nebo olivového oleje z pokrutin, dotčená strana je o tom informována nejpozději jeden měsíc před koncem lhůty stanovené v prvním odstavci, kromě případu, kdy byl vzorek odebrán méně než dva měsíce před datem minimální trvanlivosti.

5) Ke stanovení charakteristik olivového oleje metodami uvedenými v prvním pododstavci odstavce 1 se výsledky analýz porovnávají přímo s mezními hodnotami danými tímto nařízením.“

- (2) Příloha I se nahrazuje zněním uvedeným v příloze I tohoto nařízení.
- (3) Příloha Ia se nahrazuje zněním uvedeným v příloze II tohoto nařízení.
- (4) Příloha Ib se nahrazuje zněním uvedeným v příloze III tohoto nařízení.
- (5) Příloha V se nahrazuje zněním uvedeným v příloze IV tohoto nařízení.
- (6) Příloha VI se zrušuje.
- (7) Příloha XII se nahrazuje zněním uvedeným v příloze V tohoto nařízení.
- (8) Za přílohu XX se vkládá příloha XXa, jejíž znění je stanoveno v příloze VI tohoto nařízení.

Článek 2

Produkty, které byly v souladu s právními předpisy vyprodukovány a opatřeny etiketami v Unii nebo v souladu s právními předpisy dovezeny do Unie a propuštěny do volného oběhu před 1. březnem 2014, mohou být uváděny na trh až do vyčerpání zásob.

Článek 3

Toto nařízení vstupuje v platnost sedmým dnem po vyhlášení v *Úředním věstníku Evropské unie*.

Použije se ode dne 1. března 2014.

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

V Bruselu dne 16. prosince 2013.

Za Komisi
José Manuel BARROSO
předseda

CHARAKTERISTIKY OLIVOVÉHO OLEJE

Kategorie	Ethylestery mastných kyselin (EMK) mg/kg (*)	Kyselost (%) (*)	Peroxidové číslo mEq O ₂ /kg (*)	Vosky mg/kg (**)	2-glyceryl monopalmitát (%)	Stigmastadieny mg/kg (1)	Rozdíl: ECN42 (HPLC) a ECN42 (2) (teoretickým výpočtem)	K ₂₃₂ (*)	K ₂₆₈ nebo K ₂₇₀ (*)	Delta-K (*)	Organoleptické hodnocení Medián vad (Md) (*)	Organolep- tické hodnocení Medián znaku ovocná chuť a vůně (Mf) (*)
1. Extra panenský olivový olej	EMK ≤ 40 (hos- podářský rok 2013–2014) (3) EMK ≤ 35 (hos- podářský rok 2014–2015) EMK ≤ 30 (hos- podářské roky po roce 2015)	≤ 0,8	≤ 20	C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ ≤ 150	≤ 0,9, pokud celkové množství palmitové kyseliny v % ≤ 14 %	≤ 0,05	≤ 0,2	≤ 2,50	≤ 0,22	≤ 0,01	Md = 0	Mf > 0
					≤ 1,0, pokud celkové množství palmitové kyseliny v % >14 %							
2. Panenský olivový olej	—	≤ 2,0	≤ 20	C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ ≤ 150	≤ 0,9, pokud celkové množství palmitové kyseliny v % ≤ 14 %	≤ 0,05	≤ 0,2	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,01	Md ≤ 3,5	Mf > 0
					≤ 1,0, pokud celkové množství palmitové kyseliny v % >14 %							
3. Lampantový olivový olej	—	> 2,0	—	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ ≤ 300 (4)	≤ 0,9, pokud celkové množství palmitové kyseliny v % ≤ 14 %	≤ 0,50	≤ 0,3	—	—	—	Md > 3,5 (5)	—
					≤ 1,1, pokud celkové množství palmitové kyseliny v % >14 %							
4. Rafinovaný olivový olej	—	≤ 0,3	≤ 5	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ ≤ 350	≤ 0,9, pokud celkové množství palmitové kyseliny v % ≤ 14 %	—	≤ 0,3	—	≤ 1,10	≤ 0,16	—	—
					≤ 1,1, pokud celkové množství palmitové kyseliny v % >14 %							

Kategorie	Ethylestery mastných kyselin (EMK) mg/kg (*)	Kyselost (%) (*)	Peroxidové číslo mEq O ₂ /kg (*)	Vosky mg/kg (**)	2-glycerol monopalmitát (%)	Stigmastadieny mg/kg (1)	Rozdíl: ECN42 (HPLC) a ECN42 (2) (teoretickým výpočtem)	K ₂₃₂ (*)	K ₂₆₈ nebo K ₂₇₀ (*)	Delta-K (*)	Organoleptické hodnocení Medián vad (Md) (*)	Organolep- tické hodnocení Medián znaku ovocná chuť a vůně (Mf) (*)
5. Olivový olej složený z rafinovaného a panenského olivového oleje	—	≤ 1,0	≤ 15	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ ≤ 350	≤ 0,9, pokud celkové množství palmitové kyseliny v % ≤ 14 % ≤ 1,0, pokud celkové množství palmitové kyseliny v % >14 %	—	≤ 0,3	—	≤ 0,90	≤ 0,15	—	—
6. Surový olivový olej z pokrutin	—	—	—	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ > 350 (6)	≤ 1,4	—	≤ 0,6	—	—	—	—	—
7. Rafinovaný olivový olej z pokrutin	—	≤ 0,3	≤ 5	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ > 350	≤ 1,4	—	≤ 0,5	—	≤ 2,00	≤ 0,20	—	—
8. Olivový olej z pokrutin	—	≤ 1,0	≤ 15	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ > 350	≤ 1,2	—	≤ 0,5	—	≤ 1,70	≤ 0,18	—	—

(1) Celkové množství izomerů, které by mohly (nebo nemohly) být separovány kapilární kolonou.

(2) Olivový olej musí být v souladu s metodou uvedenou v příloze XXa.

(3) Tento limit se vztahuje na olivové oleje vyrobené po 1. březnu 2014.

(4) Oleje s obsahem vosků od 300 mg/kg do 350 mg/kg jsou považovány za lampantové olivové oleje, pokud je celkový obsah alifatických alkoholů menší nebo roven 350 mg/kg nebo pokud obsah erythrodiolu a uvaolu je menší nebo roven 3,5 %.

(5) Nebo pokud je medián vad vyšší než 3,5, případně je medián vad menší nebo roven 3,5 a medián znaku ovocná chuť a vůně je roven 0.

(6) Oleje s obsahem vosků od 300 mg/kg do 350 mg/kg jsou považovány za surový olivový olej z pokrutin, pokud je celkový obsah alifatických alkoholů vyšší než 350 mg/kg a pokud obsah erythrodiolu a uvaolu je větší než 3,5 %.

Kategorie	Složení mastných kyselin (1)						Úhrn transizo- merů kyseliny olejové (%)	Úhrn transizo- merů kyseliny linolové + linolenové (%)	Složení sterolů						Steroly celkem (mg/kg)	Erythrodiol a uvaol (%) (**)
	Myristová (%)	Linole- nová (%)	Arachi- dová (%)	Eikosa- nová (%)	Behenová (%)	Ligno- ce- rová (%)			Cholesterol (%)	Brassika- sterol (%)	Kampe- sterol (2) (%)	Stigmas- sterol (%)	App betasitos- terol (3) (%)	Delta-7- stigmaste- nol (2) (%)		
1. Extra panenský olivový olej	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
2. Panenský olivový olej	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
3. Lampantový olivový olej	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,10	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5 (4)
4. Rafinovaný olivový olej	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5

Kategorie	Složení mastných kyselin ⁽¹⁾						Úhrn transizo- merů kyseliny olejové (%)	Úhrn transizo- merů kyseliny linolové + linolenové (%)	Složení sterolů						Steroly celkem (mg/kg)	Erythrodiol a uvaol (%) (**)
	Myristová (%)	Linole- nová (%)	Arachi- dová (%)	Eikosa- nová (%)	Behenová (%)	Lignoce- rová (%)			Cholesterol (%)	Brassikas- terol (%)	Kampes- terol ⁽²⁾ (%)	Stigmas- terol (%)	App betasitos- terol (%) ⁽³⁾	Delta-7- stigmaste- nol ⁽²⁾ (%)		
5. Olivový olej složený z rafinova- ného a panenského olivového oleje	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 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	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,30	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 2 500	> 4,5 ⁽⁵⁾
7. Rafinovaný olivový olej z pokru- tin	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,30	≤ 0,20	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 800	> 4,5
8. Olivový olej z pokrutin	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,30	≤ 0,20	≤ 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: 7,50 – 20,00; palmitolejová: 0,30 – 3,50; heptadekanová: ≤ 0,30; heptadecenová: ≤ 0,30; stearová: 0,50 – 5,00; olejová: 55,00 – 83,00; linolová: 3,50 – 21,00.

⁽²⁾ Viz dodatek k této příloze.

⁽³⁾ App β-sitosterol: δ-5,23-stigmastadienol+chlerosterol+β-sitosterol+sitostanol+δ-5-avenasterol+δ-5,24-stigmastadienol.

⁽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 %.

⁽⁵⁾ 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 nejvýše 350 mg/kg nebo pokud je obsah erythrodiolu a uvaolu nejvýše 3,5 %.

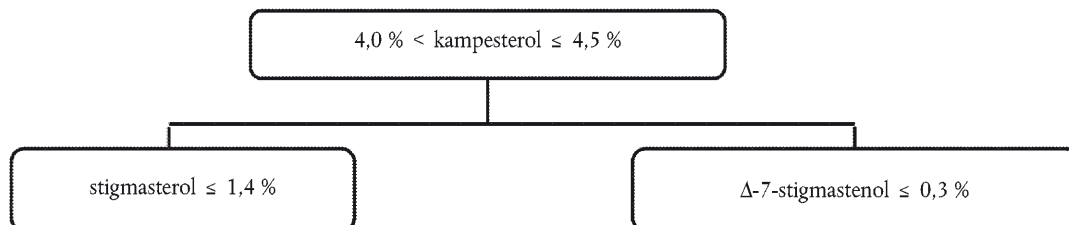
Poznámky:

- 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.
- 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.
- Jakostní charakteristiky olejů označené hvězdičkou (*) znamenají, že: — v případě lampantového olivového oleje nemusí 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.
- Charakteristiky olejů označené dvěma hvězdičkami (**) znamenají, že v případě všech olivových olejů z pokrutin nemusí být stanovené mezní hodnoty dodrženy současně.

Dodatek

Rozhodovací schéma

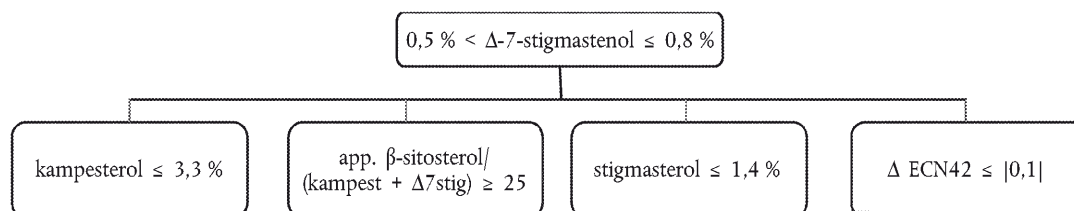
Kampesterol – rozhodovací schéma pro panenské a extra panenské olivové oleje:



Ostatní parametry musí být v souladu s limity stanovenými v tomto nařízení.

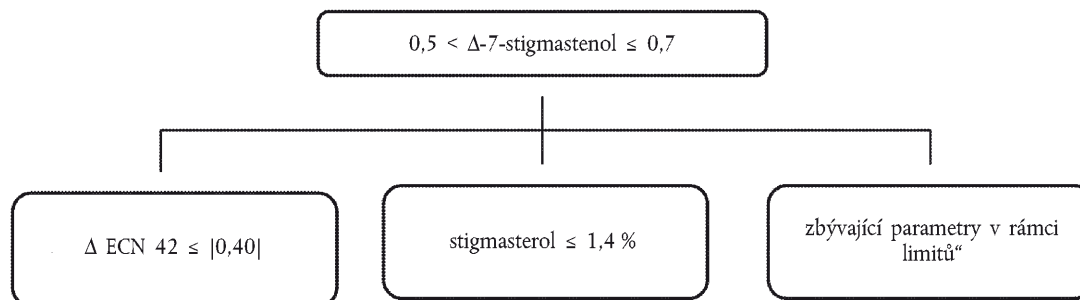
Delta-7-stigmastenol – rozhodovací schéma pro

— extra panenské a panenské olivové oleje



Ostatní parametry musí být v souladu s limity stanovenými v tomto nařízení.

— olivové oleje z pokrutin (surové a rafinované)



PŘÍLOHA II

„PŘÍLOHA Ia

ODBĚR VZORKŮ ZE ŠARŽÍ OLIVOVÉHO OLEJE A OLIVOVÉHO OLEJE Z POKRUTIN VE SPOTŘEBITELSKÝCH OBALECH

Tato metoda odběru vzorků se použije pro šarže olivového oleje nebo olivového oleje z pokrutin stočené do spotřebitelských obalů. Použijí se různé metody odběru vzorků v závislosti na tom, zda objem spotřebitelských obalů přesahuje 5 litrů či nikoli.

„Šarže“ se skládá z více prodejních jednotek, které jsou vyprodukovány, vyrobeny a zabaleny za takových okolností, že olej obsažený v každé prodejní jednotce se vzhledem ke všem svým analytickým charakteristikám považuje za homogenní. Individualizace šarže musí být provedena v souladu se směrnicí Evropského parlamentu a Rady 2011/91/EU ⁽¹⁾.

„Dílem“ se rozumí množství oleje obsažené ve spotřebitelském obalu a odebrané z namátkou vybraného místa v dané šarži.

1. OBSAH DÍLČÍHO VZORKU**1.1 Spotřebitelský obal o objemu nejvýše 5 litrů**

„Dílčím vzorkem“ u spotřebitelského obalu o objemu nejvýše 5 litrů se rozumí počet dílů odebraných ze šarže v souladu s tabulkou 1.

Tabulka 1

Minimální velikost dílčího vzorku musí obsahovat

V případě spotřebitelských obalů o objemu	Dílčí vzorek musí obsahovat olej z
(a) nejméně 1 litr	(a) 1 spotřebitelského obalu;
(b) méně než 1 litr	(b) minimálního počtu obalů, jejichž celkový objem je nejméně 1 litr

Počet obalů uvedených v tabulce 1, které tvoří dílčí vzorek, může každý členský stát zvýšit podle vlastní potřeby (např. organoleptické hodnocení provedené jinou laboratoří než tou, která provedla chemické analýzy, kontrolní analýza atd.).

1.2 Spotřebitelský obal o objemu vyšším než 5 litrů

„Dílčím vzorkem“ u spotřebitelského obalu o objemu vyšším než 5 litrů se rozumí reprezentativní část všech dílů získaných redukcí jejich množství a v souladu s tabulkou 2. Dílčí vzorek se musí skládat z různých příkladů.

„Příkladem“ dílčího vzorku se rozumí každý obal, ze kterého se dílčí vzorek skládá.

Tabulka 2

Minimální počet dílů, které je nutno vybrat

Počet balení v šarži	Minimální počet dílů, které je nutno vybrat
Do 10	1
11 až 150	2
151 až 500	3
501 až 1 500	4
1 501 až 2 500	5
> 2 500 na 1 000 obalů	1 díl navíc

⁽¹⁾ Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2011/91/EU ze dne 13. prosince 2011 o údajích nebo značkách určujících šarži, ke které potravina patří (Úř. věst. L 334, 16.12.2011, s. 1).

Za účelem zmenšení objemu vzorků odebraných ze spotřebitelských obalů se obsah odebraných dílů pro přípravu dílčího vzorku homogenizuje. Části jednotlivých dílů se nalijí do společné nádoby pro homogenizaci mícháním tak, aby byly co nejlépe chráněny před přístupem vzduchu.

Obsah dílčího vzorku se musí nalít do série obalů s minimální kapacitou 1,0 litru, z nichž každý představuje příklad dílčího vzorku.

Počet dílčích vzorků může každý členský stát zvýšit podle vlastní potřeby (např. organoleptické hodnocení provedené jinou laboratoří, než která provedla chemické analýzy, kontrolní analýza atd.).

Každý obal musí být naplněn tak, aby byla vzduchová vrstva v jeho vrchní části co nejmenší, a pak se odpovídajícím způsobem uzavře a utěsní s cílem zabránit neoprávněné manipulaci s produktem.

Tyto příklady musí být označeny tak, aby byla zajištěna jejich správná identifikace.

2. ANALÝZY A VÝSLEDKY

2.1 Každý dílčí vzorek se musí dále rozdělit na laboratorní vzorky v souladu s bodem 2.5 normy EN ISO 5555 a podléhá těmto analýzám v pořadí uvedeném v rozhodovacím schématu v příloze Ib nebo v jakémkoli jiném náhodném pořadí.

2.2 Pokud všechny výsledky analýzy vyhovují charakteristikám deklarované kategorie olivového oleje, celá šarže se prohlásí za vyhovující.

Pokud jediný z výsledků analýzy nevyhovuje charakteristikám deklarované kategorie olivového oleje, celá šarže se prohlásí za nevyhovující.

3. OVĚŘENÍ KATEGORIE ŠARŽE

3.1 Příslušný orgán může za účelem ověření kategorie šarže zvýšit počet dílčích vzorků odebraných v různých bodech šarže podle následující tabulky:

Tabulka 3

Počet dílčích vzorků podle velikosti šarže

Velikost šarže (v litrech)	Počet dílčích vzorků
Menší než 7 500	2
Od 7 500 do méně než 25 000	3
Od 25 000 do méně než 75 000	4
Od 75 000 do méně než 125 000	5
125 000 a více	6 + 1 na každých dalších 50 000 litrů

Každý díl představující dílčí vzorek musí být odebrán z průběžného místa v šarži; je třeba zaznamenat umístění každého dílčího vzorku a jednoznačně ho identifikovat.

Každý dílčí vzorek musí být vytvořen v souladu s postupy uvedenými v bodech 1.1 a 1.2.

Každý dílčí vzorek je pak podroben analýzám uvedeným v čl. 2 odst. 1.

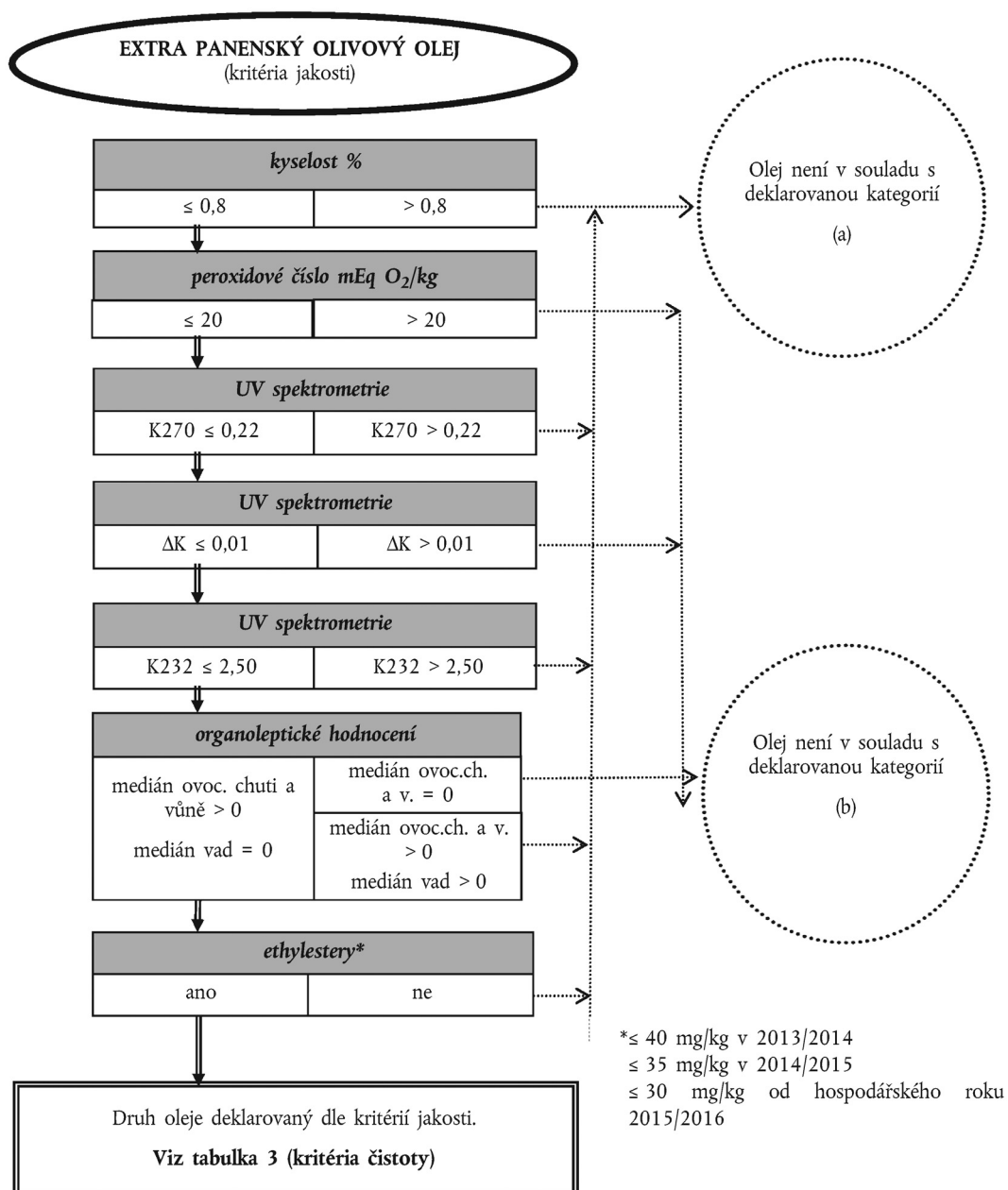
3.2 Pokud některý z výsledků analýzy nejméně jednoho dílčího vzorku podle čl. 2 odst. 1 nevyhovuje charakteristikám deklarované kategorie olivového oleje, prohlásí se celá šarže, z níž byl vzorek odebrán, za nevyhovující.“

PŘÍLOHA III

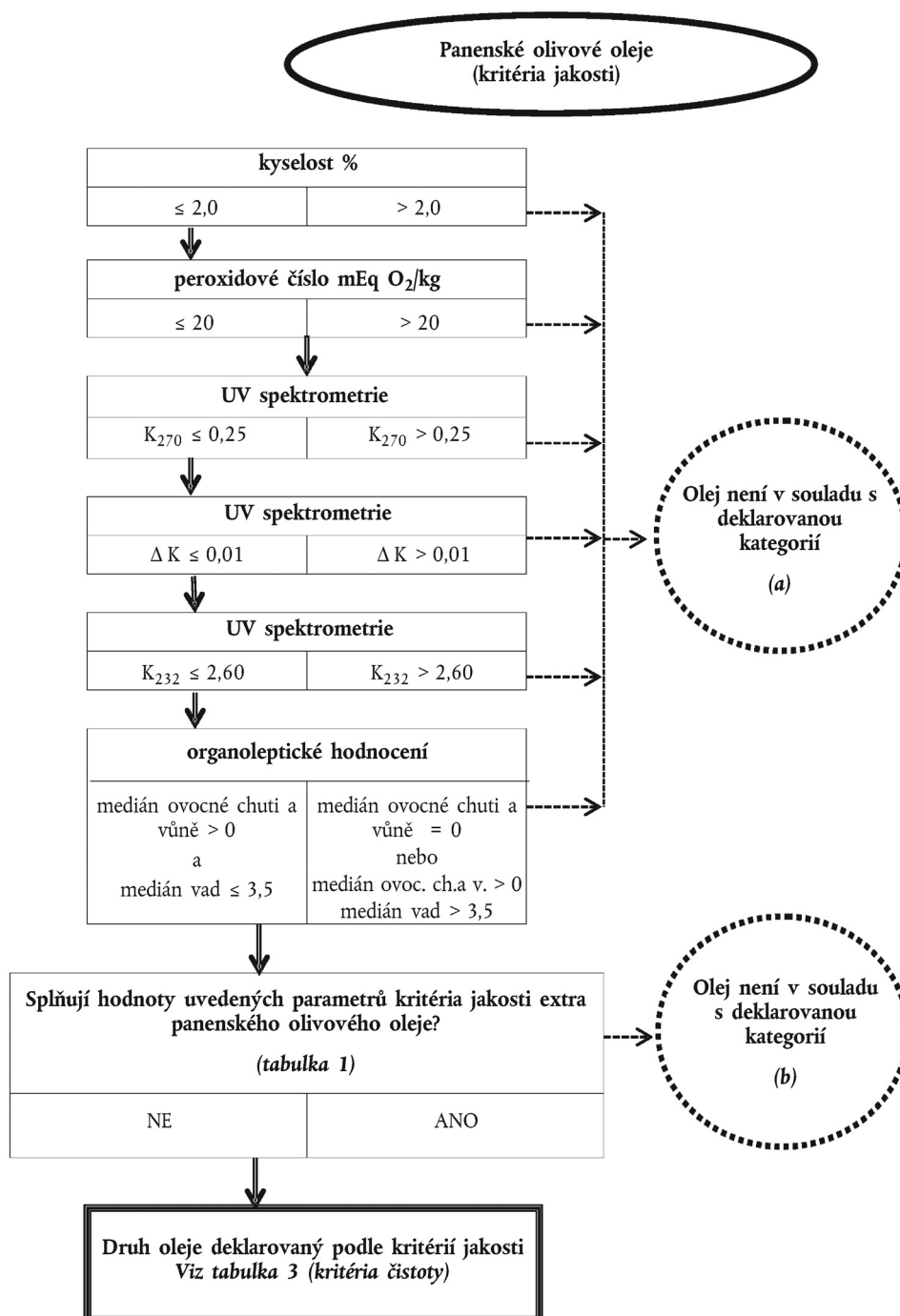
„PŘÍLOHA Ib

ROZHODOVACÍ SCHÉMA PRO OVĚŘENÍ SOULADU VZORKU OLIVOVÉHO OLEJE S DEKLAROVANOU KATEGORIÍ

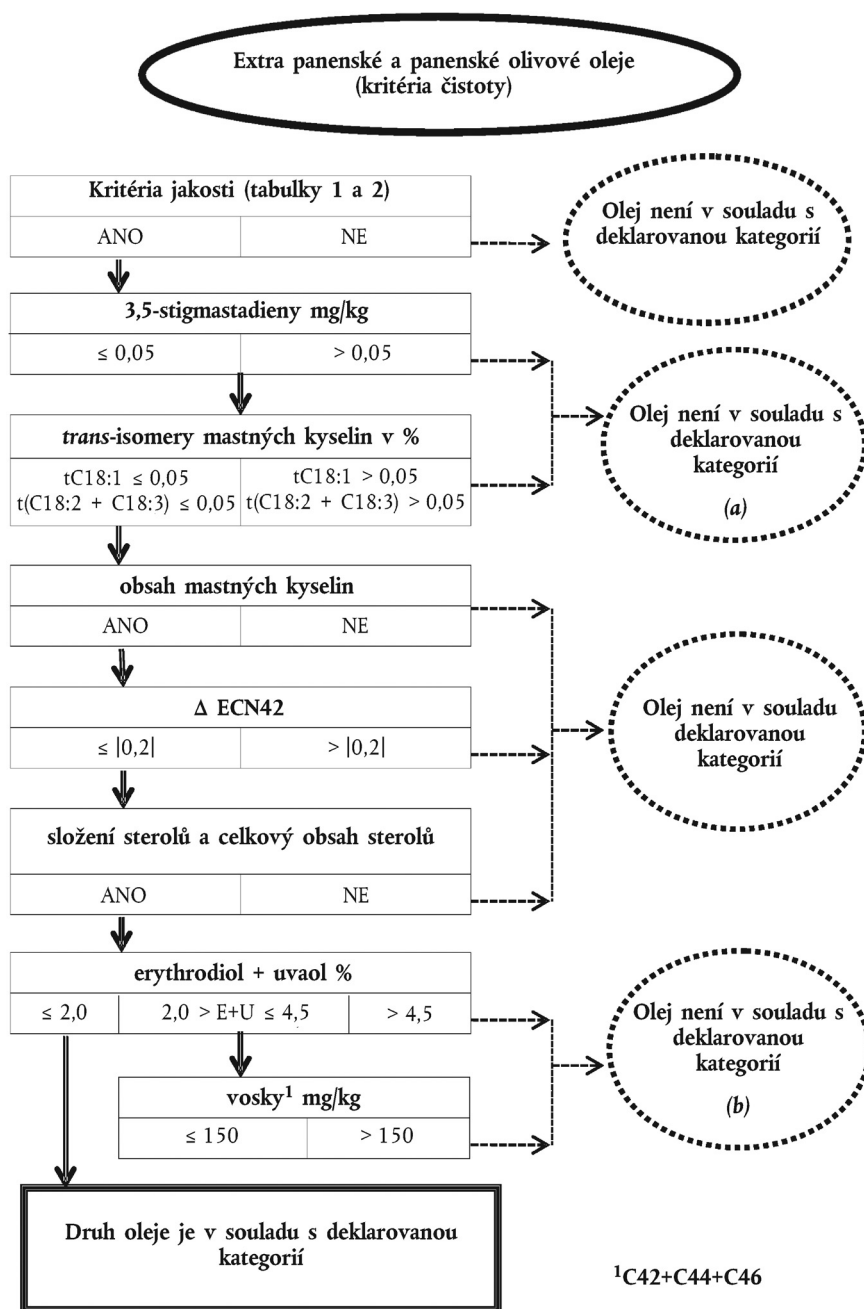
Tabulka 1



Tabulka 2



Tabulka 3



Dodatek 1

Srovnávací tabulka mezi přílohami tohoto nařízení a analýzami uvedenými v rozhodovacím schématu

— Kyselost	Příloha II	Stanovení volných mastných kyselin, metoda za studena
— Peroxidové číslo	Příloha III	Stanovení peroxidového čísla
— UV spektrometrie	Příloha IX	Spektrofotometrická analýza
— Organoleptické hodnocení	Příloha XII	Organoleptické hodnocení panenského olivového oleje
— Ethylestery	Příloha XX	Metoda stanovení obsahu vosků, methylesterů mastných kyselin a ethylesterů mastných kyselin kapilární plynovou chromatografií
— 3,5-Stigmastadieny	Příloha XVII	Metoda stanovení stigmastadienů v rostlinných olejích
— Transizomery mastných kyselin	Příloha X A a	Analýza methylesterů mastných kyselin plynovou chromatografií
	Příloha X B	Příprava methylesterů mastných kyselin
— Obsah mastných kyselin	Příloha X A a	Analýza methylesterů mastných kyselin plynovou chromatografií
	Příloha X B	Příprava methylesterů mastných kyselin
— delta-ECN42	Příloha XVIII	Stanovení složení triglyceridů s ECN42 (rozdíl mezi výsledky HPLC a teoretickým obsahem)
— Složení sterolů a celkový obsah sterolů — Erythrodiol a uvaol	Příloha V	Stanovení složení a obsahu sterolů a triterpenických dialkoholů pomocí kapilární plynové chromatografie
— Vosky	Příloha IV	Stanovení obsahu vosku pomocí kapilární plynové chromatografie
— Alifatické alkoholy	Příloha XIX	Stanovení obsahu a složení alifatických alkoholů pomocí kapilární plynové chromatografie
— Nasycené mastné kyseliny v poloze 2	Příloha VII	Stanovení procentního podílu 2-glyceryl monopalmitátu“

PŘÍLOHA IV

„PŘÍLOHA V

STANOVENÍ SLOŽENÍ A OBSAHU STEROLŮ A TRITERPENICKÝCH DIALKOHOLŮ KAPILÁRNÍ PLYNOVOU CHROMATOGRAPHIÍ**1. OBLAST PŮSOBNOSTI**

Tato metoda popisuje postup stanovení obsahu a složení sterolů a triterpenických dialkoholů v olivových olejích a olivových olejích z pokrutin.

2. PODSTATA ZKOUŠKY

Zmýdelnění oleje, k němuž je přidán α -cholestanol jako vnitřní standard, pomocí ethanolického roztoku hydroxidu draselného a extrakce nezmýdelnitelných látek pomocí diethyletheru.

Pomocí tenkovrstvé chromatografie na bazické silikagelové desce se z nezmýdelnitelné látky oddělí sterolová frakce a frakce triterpenických dialkoholů. Frakce oddělené ze silikagelu se převedou na trimethylsilyl ether a analyzují pomocí kapilární plynové chromatografie.

3. PŘÍSTROJE A POMŮCKY

Obvyklé laboratorní vybavení a zejména:

- 3.1 Baňka na 250 ml vybavená zpětným chladičem se zábrusem.
 - 3.2 Dělicí nálevka na 500 ml.
 - 3.3 Baňky na 250 ml.
 - 3.4 Kompletní zařízení pro tenkovrstvou chromatografii se skleněnými deskami o rozměrech 20 × 20 cm.
 - 3.5 Ultrafialová lampa s vlnovou délkou 254 nebo 366 nm.
 - 3.6 Mikrostříkačky na 100 μ l a 500 μ l.
 - 3.7 Filtrační nálevka ze sintrovaného skla s pórovitou fritou G3 (pórovitost 15 až 40 μ m) o průměru přibližně 2 cm a výšce 5 cm, vybavená uzávěrem pro vakuovou filtraci a s vnějším zábrusem.
 - 3.8 Odsávací baňka na 50 ml s vnitřním zábrusem pro použití s filtrační nálevkou (3.7).
 - 3.9 Zkumavka na 10 ml s kónickým dnem a skleněnou zátkou.
 - 3.10 Plynový chromatograf vhodný pro použití s kapilární kolonou, opatřený systémem děleného nástřikového zařízení složený z:
 - 3.10.1 termostatické kolonové komory nastavitelné na požadovanou teplotu s přesností ± 1 °C;
 - 3.10.2 vstřikovací jednotky s termostatem (vstřikové komory) s povlakem ze silanizovaného skla a s dělicím systémem;
 - 3.10.3 plamenoionizačního detektoru (FID);
 - 3.10.4 systému pro sběr dat vhodného pro provoz s detektorem FID (bod 3.10.3) s možností manuální integrace.
 - 3.11 Kapilární kolona z taveného křemene dlouhá 20 až 30 m, s vnitřním průměrem 0,25 až 0,32 mm, potažená 5% difenyl – 95% dimethylpolysiloxanem (stacionární fáze SE-52 nebo SE-54 nebo ekvivalentní), o jednotné tloušťce 0,10 až 0,30 μ m.
 - 3.12 Mikrostříkačka na 10 μ l pro plynovou chromatografii opatřená tvrzenou jehlou pro nástřik pomocí děliče.
 - 3.13 Exsikátor s chloridem vápenatým.
- 4. CHEMIKÁLIE**
- 4.1 Hydroxid draselný, minimální titr 85 %.

- 4.2 Hydroxid draselný ve formě ethanolického roztoku o koncentraci přibližně 2 mol/l.
130 g hydroxidu draselného (bod 4.1) se za současného chlazení rozpustí ve 200 ml destilované vody a doplní se do jednoho litru ethanolu (bod 4.10). Tento roztok je nutno uchovávat v dobře uzavřené skleněné láhvi z tmavého skla a skladovat po dobu maximálně dvou dnů.
- 4.3 Diethylether čistoty p.a.
- 4.4 Hydroxid draselný ve formě ethanolického roztoku o koncentraci přibližně 0,2 mol/l.
13 g hydroxidu draselného (bod 4.1) se rozpustí ve 20 ml destilované vody a doplní se do jednoho litru ethanolu (bod 4.10).
- 4.5 Bezvodý síran sodný čistoty p.a.
- 4.6 Silikagelem potažené skleněné desky (20 x 20 cm) bez fluorescenčního indikátoru o tloušťce 0,25 mm (obchodně dostupné).
- 4.7 Toluén čistoty pro chromatografii.
- 4.8 Aceton čistoty pro chromatografii.
- 4.9 N-hexan čistoty pro chromatografii.
- 4.10 Diethylether čistoty pro chromatografii.
- 4.11 Ethanol čistoty p.a.
- 4.12 Ethylacetát čistoty p.a.
- 4.13 Referenční roztok pro tenkovrstvou chromatografii: 5% roztok cholesterolu nebo fytosterolu a erythrodolu v ethylacetátu (bod 4.11).
- 4.14 0,2% ethanolický roztok 2,7-dichlor-fluoresceinu, mírně zásaditý přidáním několika kapek alkoholového roztoku hydroxidu draselného o koncentraci 2 mol/l (bod 4.2).
- 4.15 Bezvodý pyridin čistoty pro chromatografii (viz poznámka 5).
- 4.16 Hexamethyl disilazan čistoty p.a.
- 4.17 Trimethyl-chlorsilan čistoty p.a.
- 4.18 Zkušební roztoky sterol(trimethylsilyl)etherů.
Připraví se ze sterolů nebo z erythrodolu získaných z olejů, které je obsahují, těsně před použitím.
- 4.19 α -cholestanol o čistotě vyšší než 99% (čistota musí být kontrolována pomocí analýzy plynovou chromatografií).
- 4.20 0,2% vnitřní standardní roztok α -cholestanolu, roztok (m/V) v ethylacetátu (bod 4.11).
- 4.21 Roztok fenoltaleinu 10 g/L v ethanolu (bod 4.10).
- 4.22 Nosné plyny: vodík nebo helium, čisté pro plynovou chromatografii.
- 4.23 Pomocné plyny: vodík, helium, dusík a vzduch, čisté pro plynovou chromatografii.
- 4.24 N-hexan (bod 4.9)/diethylether (bod 4.10) směs 65:35 (V/V).
- 4.25 Činidlo pro silylaci tvořené směsí pyridinu, hexamethyl-disilazanu a trimethyl-chlorsilanu v poměru 9:3:1 (V/V/V).
5. POSTUP
- 5.1 Příprava nezmýdelnitelných látek
- 5.1.1 Pomocí mikrostříkačky na 500 μ l (bod 3.6) se do baňky na 250 ml dá (bod 3.1) vnitřní standardní roztok α -cholestanolu (bod 4.20) obsahující množství cholestanolu rovnající se přibližně 10 % obsahu sterolu ve vzorku. Například při analýze olivového oleje se na 5 g vzorku olivového oleje přidá 500 μ l roztoku α -cholestanolu (bod 4.20) a 1 500 μ l při analýze olivového oleje z pokrutin. V mírném proudě dusíku v teplé vodní lázni se vzorek odpaří do sucha a po vychladnutí baňky se do stejné baňky naváží $5 \pm 0,01$ g vysušeného přefiltrovaného vzorku.
- Poznámka 1: Živočišné nebo rostlinné oleje obsahující větší množství cholesterolu mohou vykazovat pík s retenčním časem blízkým cholestanolu. Pokud k tomu dojde, musí být sterolová frakce analyzována jednou s vnitřním standardem a jednou bez něj.

- 5.1.2 Přidá se 50 ml ethanolického roztoku hydroxidu draselného o koncentraci 2 mol/l (bod 4.2) a malé množství pemzy, připojí se zpětný chladič a zahřeje se do mírného varu, dokud nedojde ke zmydlení (roztok se vyčeří). V zahřívání se pokračuje dalších 20 minut a poté se přes chladič přidá 50 ml destilované vody, chladič se následně odpojí a baňka se vychladí na teplotu přibližně 30 °C.

- 5.1.3 Obsah baňky se kvantitativně převede do dělicí nálevky na 500 ml (bod 3.2) a propláchne se několika dávkami destilované vody (50 ml). Přidá se přibližně 80 ml diethyletheru (bod 4.10), vše se protřepe po dobu přibližně 60 sekund a pravidelně se uvolňuje tlak obracením dělicí nálevky a otevíráním kohoutku. Nechá se odstát až do úplného oddělení obou fází (viz poznámka 2).

Poté se co nejvíce mýdlového roztoku odčerpá do druhé dělicí nálevky. Stejným způsobem se provedou další dvě extrakce vodně-alkoholové fáze, vždy s použitím 60 až 70 ml diethyletheru (bod 4.10).

Poznámka 2: Emulze je možné odstranit přidáním malých množství ethanolu (bod 4.11).

- 5.1.4 Všechny tři etherové extrakty se smíchají v jedné dělicí nálevce obsahující 50 ml vody. Dále se promývá vodou (50 ml), dokud se promývací voda při přidání kapky roztoku fenolftaleinu nepřestane zbarvovat růžově (bod 4.21).

Odstraní se vodná fáze, etherová fáze se přefiltruje na bezvodém síranu sodném (bod 4.5) do předem zvážené baňky na 250 ml, přičemž nálevka a filtr se promyjí malými množstvími diethyletheru (bod 4.10).

- 5.1.5 Rozpouštědlo se nechá odpařit destilací ve vakuu v rotačním odpařovači při 30 °C. Přidá se 5 ml acetonu a těkavé rozpouštědlo se zcela odstraní mírným proudem vzduchu. Zbytek se suší v sušárně při 103±2 °C po dobu 15 min. Po vychlazení v exsikátorech se zváží s přesností na 0,1 mg.

- 5.2. Separace sterolové frakce a frakce triterpenických dialkoholů (erythrodiol + uvaol)

- 5.2.1 Příprava bazických desek pro tenkovrstvou chromatografii. Silikagelové desky (bod 4.6) (cca 4 cm) se na 10 sekund zcela ponoří do ethanolického roztoku hydroxidu draselného o koncentraci 0,2 mol/l (bod 4.5), poté se nechají dvě hodiny sušit v digestoři a nakonec na jednu hodinu umístí do sušárny vyhřáté na 100 °C.

Desky se vyjmou ze sušárny a až do okamžiku použití uloží do exsikátoru s chloridem vápenatým (bod 3.13). Takto upravené desky musí být použity během 15 dnů.

Poznámka 3: Jsou-li pro separaci sterolové frakce použity bazické silikagelové desky, není nutné upravovat nezmýdelnitelnou frakci pomocí Al_2O_3 (oxidu hlinitého). Dojde tak k zadržení všech kyselých sloučenin (mastných kyselin apod.) na počátku, a tím se zřetelně oddělí pásmo sterolů od pásma alifatických a triterpenických alkoholů.

- 5.2.2 Vyvíjecí komora se naplní směsí hexanu a diethyletheru (bod 4.24) (viz poznámka 4) do výšky přibližně 1 cm. Vyvíjecí komora se uzavře a nejméně půl hodiny ponechá v klidu a chladnu, aby se mohla vytvořit rovnováha mezi parami a kapalinou. Na vnitřní povrch vyvíjecí komory je možné připojit proužky filtračního papíru namočené v eluční směsi za účelem zkrácení doby vyvolávání přibližně o jednu třetinu a docílení stejnoměrnější, pravidelné eluce složek.

Poznámka 4: Vyvíjecí roztok musí být pro každou analýzu vyměněn, aby bylo dosaženo reprodukovatelných podmínek vyvíjení; lze použít alternativní rozpouštědlo 50:50 (V/V) n-hexanu a diethyletheru.

- 5.2.3 Připraví se přibližně 5% roztok nezmýdelnitelné látky (bod 5.1.5) v ethylacetátu (bod 4.12) a 0,3 ml tohoto roztoku se pomocí mikrostříkačky na 100 µl nastříká jako úzký a rovnoměrný pruh k dolnímu okraji (2 cm) chromatografické desky (bod 5.2.1). Ve stejné úrovni se nanese 2 až 3 µl referenčního roztoku materiálu (bod 4.13) za účelem stanovení sterolového pásma a pásma triterpenických dialkoholů po dokončení vyvíjení.

- 5.2.4 Deska se umístí do vyvíjecí komory uvedené v bodě 5.2.2. Teplota se udržuje mezi 15 a 20 °C (viz poznámka 5). Vyvíjecí komora se okamžitě uzavře a vzorek se nechá eluovat, dokud čelo rozpouštědla nedosáhne přibližně 1 cm od horního okraje desky. Deska se poté vyjme z vyvíjecí komory a rozpouštědlo se nechá odpařit pod proudem horkého vzduchu nebo se deska na chvíli nechá v digestoři.

Poznámka 5: Vyšší teplota může zhoršit oddělování.

- 5.2.5 Deska se lehce a rovnoměrně postříká roztokem 2,7-dichlor-fluoresceinu (bod 4.14), nechá se uschnout a pozoruje se pod ultrafialovým zářením. Sterolové pásmo a pásmo triterpenických dialkoholů se stanoví porovnáním skvrn vytvořených referenčním roztokem (bod 4.13). Obrisy pásem podél okrajů fluorescence se vyznačí černým značkovačem (viz obrázek tenkovrstvé desky č. 3).

- 5.2.6 Silikagel se z označené oblasti seškrábe pomocí kovové špachtle. Odebraná hmota se rozmělní na malé části a převede do filtrační nálevky (bod 3.7). Přidá se 10 ml horkého ethylacetátu (bod 4.12). Obsah se důkladně promíchá kovovou stěrkou a vakuově přefiltruje. Filtrát se shromáždí v baňce připojené na filtrační nálevku (bod 3.8.).

Zbytek v baňce se propláchne 3 x 10 ml diethyletheru (bod 4.3). Filtrát se přitom sbírá do stejné baňky připojené k nálevce. Filtrát se odpaří na objem přibližně 4 až 5 ml a zbytkový roztok se převede do předem zvážené zkumavky na 10 ml (bod 3.9). Zkumavka se vysuší lampou pod mírným proudem dusíku. Zbytek se znovu rozpustí několika kapkami acetonu (bod 4.8) a opět vysuší.

Zbytek ve zkumavce musí být tvořen sterolovou frakcí a frakcí triterpenických dialkoholů.

5.3 Příprava trimethylsilyletherů

- 5.3.1 Do zkumavky obsahující sterolovou a triterpenickou frakci se přidá činidlo pro silylaci (bod 4.25) (viz poznámka 6), v množství 50 µl na každý mg sterolů a triterpenických dialkoholů. Přitom je nutné zabránit jakékoli absorpci vlhkosti (viz poznámka 7).

Poznámka 6: Roztoky připravené k použití jsou obchodně dostupné. Dostupná jsou rovněž další silylační činidla, jako například N,O-bis-(trimethylsilyl)trifluoracetamid + 1 % trimethyl-chlor-silan pro smíchání se stejným objemem bezvodého pyridinu.

Pyridin lze nahradit stejným množstvím acetonitrilu.

- 5.3.2 Zkumavka se uzavře a pečlivě protřepe bez převracení, dokud se sloučeniny nerozpustí. Poté se nechá v klidu nejméně 15 minut při laboratorní teplotě a následně několik minut odstředí. Čirý roztok je připraven pro plynovou chromatografickou analýzu.

Poznámka 7: Vznik slabé opalescence je normální a nezpůsobuje žádnou anomálii. Tvorba bílých vloček nebo existence růžového zabarvení jsou známkami přítomné vlhkosti nebo degradace činidla. V tomto případě je třeba zkoušku opakovat (pouze v případě, že byl použit hexamethyl-disilazan/trimethyl-chlorsilan).

5.4 Analýza plynovou chromatografií

5.4.1 Přípravné operace a kondicionace kapilární kolony.

- 5.4.1.1 Kapilární kolona se připojí (bod 3.11) k plynovému chromatografu tak, že začátek kolony se připojí k dělenému nástřikovému zařízení a konec kolony se připojí k detektoru.

Provede se kompletní kontrola plynového chromatografu (těsnost plynových spojovacích prvků, účinnost detektoru, účinnost oddělovacího a zapisovacího systému atd.).

- 5.4.1.2 Kapilární kolony, které mají být použity poprvé, je nutno nejprve kondicionovat; samotnou kolonou se nechá protékat malé množství nosného plynu, poté se zapne plynový chromatograf a nechá se postupně zahřívat, dokud není dosaženo teploty nejméně o 20 °C vyšší, než je laboratorní teplota (viz poznámka 8). Tato teplota se udržuje nejméně dvě hodiny a poté se systém převede do pracovních podmínek (regulace průtoku plynu, oddělování, zapálení plamene, připojení výpočetního systému, nastavení teploty kolony, detektoru, injektoru atd.) a 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.

Poznámka 8: Teplota kondicionace musí být nejméně o 20 °C nižší než maximální teplota použitelná pro uvažovanou stacionární fázi.

5.4.2 Výběr pracovních podmínek

- 5.4.2.1 Pracovní podmínky jsou tyto:

- teplota kolony: 260 ± 5 °C,
- teplota injektoru: 280–300 °C,
- teplota detektoru: 280–300 °C,
- lineární rychlost nosného plynu: helium 20 až 35 cm/s, vodík 30 až 50 cm/s,

- oddělovací poměr: 1:50 až 1:100,
- citlivost přístroje: 4 až 16násobek minimálního útlumu,
- citlivost záznamu: 1 až 2 mV f.s.,
- množství nastříknuté látky: 0,5 až 1 µl trimethylsilyletherového roztoku.

Tyto podmínky se mohou měnit podle charakteristik kolony a plynového chromatografu s cílem zajistit, aby chromatogramy splňovaly tyto podmínky:

- retenční čas betasitosterolu musí být 20 ± 5 minut;
- pík kampesterolu musí být u olivového oleje (střední obsah 3 %) 20 ± 5 % plného rozsahu a u sójového oleje (střední obsah 20 %) 80 ± 10 % plného rozsahu;
- všechny přítomné steroly musí být odděleny. Kromě separace musí být píky též zcela rozlišený, tj. dráha záznamu píku se musí vrátit na základní linii dříve, než se zvedne do dalšího píku. Neúplné rozlišení je však tolerováno za předpokladu, že pík s relativním retenčním časem 1,02 (sitostanol) je možné kvantifikovat pomocí kolmé úsečky.

5.4.3 Analytický postup

- 5.4.3.1 Do mikrostříkačky na 10 µl se natáhne 1 µl hexanu, poté 0,5 µl vzduchu a nakonec 0,5 až 1 µl zkušební roztoku. Píst mikrostříkačky se povytáhne tak, aby se vyprázdnila jehla. Jehla se zavede přes septum injektoru a přibližně po jedné nebo dvou sekundách se rychle nastříkne roztok. Přibližně po pěti sekundách se jehla pomalu vytáhne.

Lze užít rovněž automatický injektor.

- 5.4.3.2 Zaznamenávání je prováděno, dokud přítomná trimethylsilyletherová směs triterpenických dialkoholů není zcela eluována. Základní linie záznamu musí vždy odpovídat požadavkům bodu 5.4.1.2.

5.4.4 Identifikace píků

Identifikace jednotlivých píků se provádí podle retenčních časů a porovnáním se standardní trimethylsilyletherovou směsí sterolu a triterpenických dialkoholů analyzovanou za stejných podmínek (viz dodatek).

Steroly a triterpenické dialkoholy jsou eluovány v tomto pořadí: cholesterol, brassikasterol, ergosterol, 24-methylen-cholesterol, kampesterol, kampestanol, stigmasterol, delta-7-kampesterol, delta-5,23-stigmastadienol, chlerosterol, betasitosterol, sitostanol, delta-5-avenasterol, delta-5,24-stigmastadienol, delta-7-stigmastenol, delta-7-avenasterol, erythrodiol a uvaol.

Retenční časy betasitosterolu v případě kolon SE-52 a SE-54 jsou uvedeny v tabulce 1.

Chromatogram typický pro některé oleje je vidět na obrázku 1 a 2.

5.4.5 Kvantitativní vyhodnocení

- 5.4.5.1 Pomocí výpočetního systému se vypočítá plocha píků α -cholestanolu, sterolů a triterpenických dialkoholů. Píky jakýchkoli sloučenin, které nejsou mezi sloučeninami uvedenými v tabulce 1 (výpočet pro ergosterol se provádět nesmí) se ignorují. Faktor odezvy α -cholestanolu musí být roven 1.

- 5.4.5.2 Obsah jednotlivých sterolů vyjádřený v mg/kg tuku se vypočítá podle vzorce:

$$\text{sterol } x = \frac{A_x \times m_s \times 1\,000}{A_s \times m}$$

kde:

A_x = plocha píku sterolu x vypočtená dle výpočetního systému;

A_s = plocha píku α -cholestanolu vypočtená dle výpočetního systému;

m_s = množství přidaného α -cholestanolu v mg;

m = hmotnost vzorku použitého pro stanovení v g.

6. VYJÁDŘENÍ VÝSLEDKŮ

6.1 Uvádí se obsah jednotlivých sterolů v mg/kg tuku a souhrn „obsah sterolů celkem“.

Složení jednotlivých sterolů, erythrodiolu a uvaolu by se mělo vyjadřovat s přesností na jedno desetinné místo.

Celkové složení sterolů musí být vyjádřeno v celých číslech.

6.2 Procentní podíl jednotlivých sterolů z poměru plochy příslušného píku k celkové ploše píků sterolů, erythrodiolu a uvaolu se vypočítá podle vzorce:

$$\text{sterol } x = \frac{A_x}{\Sigma A} \times 100$$

kde:

A_x = plocha píku sterolu x;

ΣA = celková plocha píků sterolů;

6.3 Zjevný betasitosterol: delta-5-23-stigmastadienol + chlerosterol + betasitosterol + sitostanol + delta-5-avenasterol + delta-5-24-stigmastadienol.

6.4 Vypočítá se procentní podíl erythrodiolu a uvaolu:

$$\text{erythrodiol} + \text{uvaol} = \frac{Er + Uv}{Er + Uv + \Sigma A} \times 100$$

kde:

ΣA = součet ploch sterolu vypočtený dle výpočetního systému;

Er = plocha erythrodiolu vypočtená dle výpočetního systému;

Uv = plocha uvaolu vypočtená dle výpočetního systému;

Dodatek

Stanovení lineární rychlosti plynu

Do plynového chromatografu nastaveného na normální pracovní podmínky se vstříkne 1 až 3 µl methanu (nebo propanu) a pomocí stopek se změří doba průchodu plynu kolonou od doby vstříku do doby eluce píků (tM).

Lineární rychlost proudění v cm/s je dána poměrem L/tM, kde L je délka kolony v cm a (tM) je naměřený čas v sekundách.

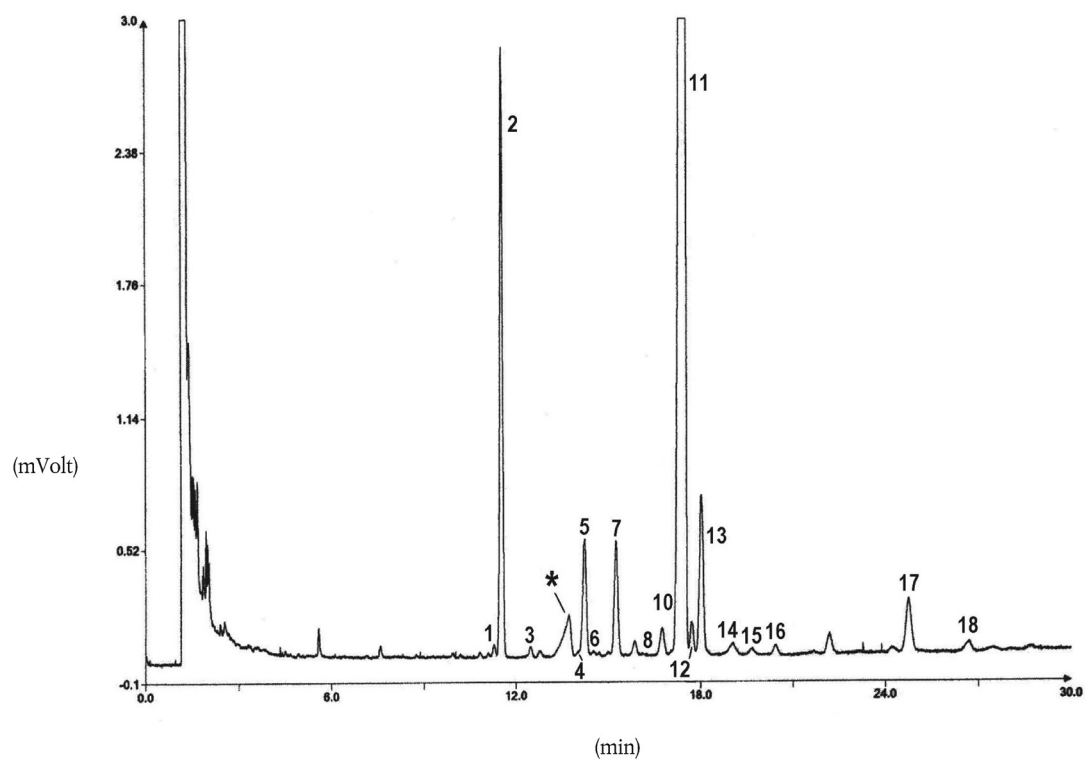
Tabulka 1

Relativní retenční časy sterolů

Pík	Identifikace		Relativní retenční čas	
			Kolona SE 54	Kolona SE 52
1	cholesterol	Δ -5-cholesten-3 β -ol	0,67	0,63
2	cholestanol	5 α -cholestan-3 β -ol	0,68	0,64
3	brassikasterol	[24S]-24-methyl- Δ -5,22-cholestadien-3 β -ol	0,73	0,71
*	ergosterol	[24S] 24 methyl- Δ -5-7-22 cholestatrien 3b-ol	0,78	0,76
4	24-methylen-cholesterol	24-methylen- Δ -5,24-cholestadien-3 β -ol	0,82	0,80
5	kampesterol	(24R)-24-methyl- Δ -5-cholesten-3 β -ol	0,83	0,81
6	kampestanol	(24R)-24-methyl-cholestan-3 β -ol	0,85	0,82
7	stigmasterol	(24S)-24-ethyl- Δ -5,22-cholestadien-3 β -ol	0,88	0,87
8	Δ -7-kampesterol	(24R)-24-methyl- Δ -7-cholesten-3 β -ol	0,93	0,92
9	Δ -5,23-stigmastadienol	(24R,S)-24-ethyl- Δ -5,23-cholestadien-3 β -ol	0,95	0,95
10	chlerosterol	(24S)-24-ethyl- Δ -5,25-cholestadien-3 β -ol	0,96	0,96
11	β -sitosterol	(24R)-24-ethyl- Δ -5-cholesten-3 β -ol	1,00	1,00
12	sitostanol	24-ethyl-cholestan-3 β -ol	1,02	1,02
13	Δ -5-avenasterol	(24Z)-24-ethyliden- Δ -cholesten-3 β -ol	1,03	1,03
14	Δ -5-24-stigmastadienol	(24R,S)-24-ethyl- Δ -5,24-cholestadien-3 β -ol	1,08	1,08
15	Δ -7-stigmastenol	(24R,S)-24-ethyl- Δ -7-cholesten-3 β -ol	1,12	1,12
16	Δ -7-avenasterol	(24Z)-24-ethyliden- Δ -7-cholesten-3 β -ol	1,16	1,16
17	Erythrodiol	5 α olean-12en-3 β 28 diol	1,41	1,41
18	Uvaol	Δ 12-ursen-3 β 28 diol	1,52	1,52

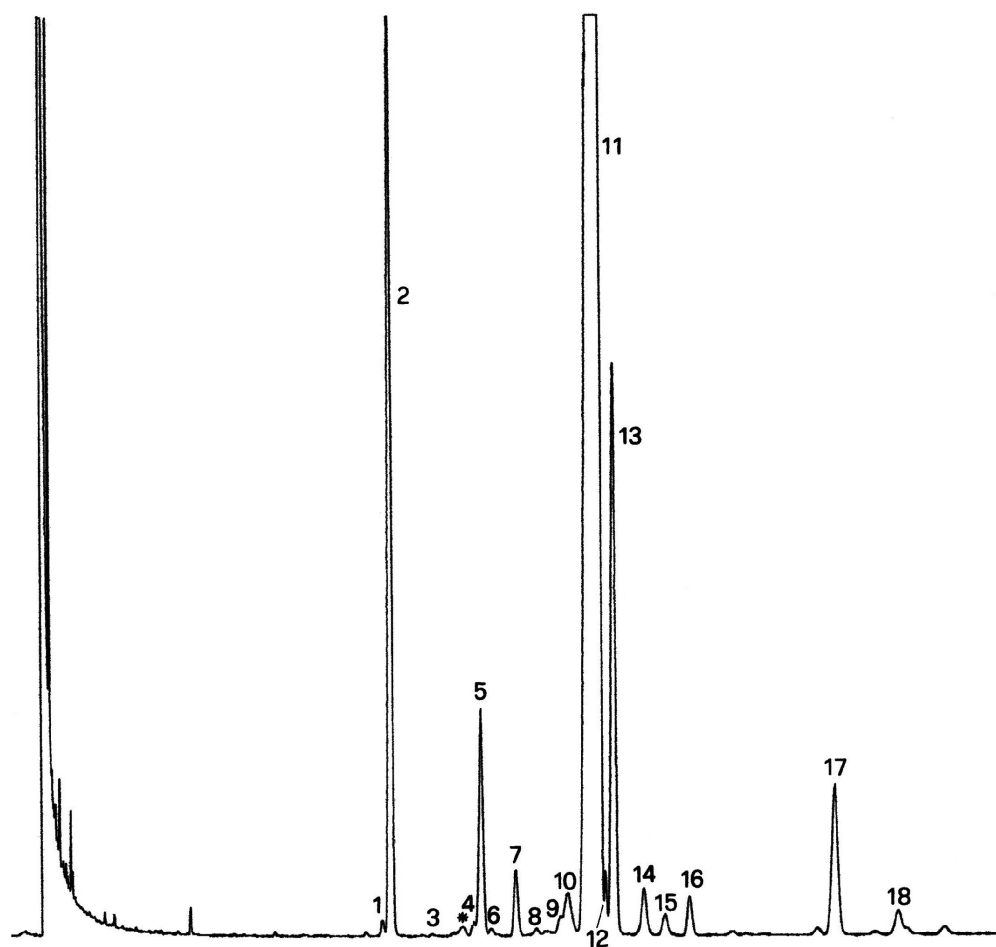
Obrázek 1

Plynový chromatogram sterolové a triterpenicko dialkoholické frakce lampantového olivového oleje (s vnitřním standardem)



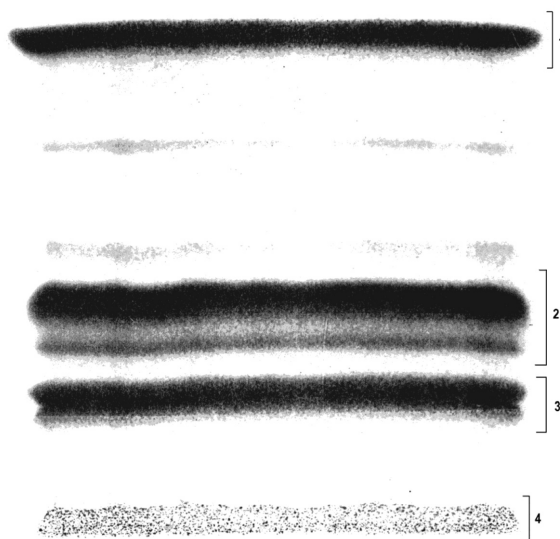
Obrázek 2

Plynový chromatogram sterolové a triterpenicko dialkoholické frakce rafinovaného olivového oleje (s vnitřním standardem)



Obrázek 3

Olivový olej z pokrutin nanesený na tenkovrstvé silikagelové desce s oblastí, která se musí seškrábat pro stanovení sterolů a triterpenických dialkoholů



- 1 – skvalen
- 2 – triterpenické a alifatické alkoholy
- 3 – steroly a triterpenické dialkoholy
- 4 – začátek a volné mastné kyseliny“

—

PŘÍLOHA V

„PŘÍLOHA XII

METODA MEZINÁRODNÍ RADY PRO OLIVOVÝ OLEJ PRO ORGANOLEPTICKÉ HODNOCENÍ PANENSKÉHO OLIVOVÉHO OLEJE**1. PŘEDMĚT A OBLAST POUŽITÍ**

Cílem této mezinárodní metody je stanovit postup hodnocení organoleptických vlastností panenského olivového oleje ve smyslu bodu 1 přílohy XVI nařízení (ES) č. 1234/2007 a stanovit metodu jeho klasifikace na základě těchto vlastností. Metoda obsahuje rovněž pokyny týkající se nepovinného označování.

Popsaná metoda se vztahuje pouze na panenský olivový olej a na klasifikaci nebo označování takovýchto olejů podle intenzity vnímaných vad a ovocné chuti a vůně, které stanoví skupina vybraných vyškolených a vyzkoušených posuzovatelů tvořících zkušební komisi.

Metoda obsahuje rovněž pokyny týkající se nepovinného označování.

Normy IOC uvedené v této příloze jsou použity v nejnovější dostupné verzi.

2. OBECNÝ ZÁKLADNÍ SLOVNÍK PRO SENZORICKOU ANALÝZU

Viz norma IOC/T.20/Doc. č. 4 „Senzorická analýza: obecný základní slovník“

3. SPECIFICKÝ SLOVNÍK**3.1 Negativní znaky**

Zatuchlý / po kalném sedimentu Chuťově-čichový počitek typický pro olej získaný z oliv skladovaných na hromadách či v takových podmínkách, kde plody prošly pokročilým stupněm anaerobní fermentace, nebo pro olej získaný dekantací ze sedliny z kádí a podzemních nádrží, jež rovněž prošel procesem anaerobní fermentace.

Po plísniích a vlhkosti, zemitý Chuťově-čichový počitek typický pro olivový olej získaný z plodů napadených plísněmi a kvasinkami v důsledku několikaletného uskladnění ve vlhku nebo pro olivový olej získaný z oliv sklizených s nánosem zeminy nebo bláta a neopravených.

Vinný/octový/kyselý/nakyslý Chuťově-čichový počitek typický pro některý olivový olej připomínající víno nebo ocet. Vzniká hlavně v důsledku procesu aerobního kvašení oliv nebo zbytků olivové pasty na lisovacích rohožích, které nebyly dobře umyté, což má za následek tvorbu kyseliny octové, ethylacetátu a ethanolu.

Žluklý Chuťově-čichový počitek typický pro všechny oleje, které prodělaly intenzivní proces autooxidace.

Po namrzlých olivách (po vlhkém dřevu) Chuťově-čichový počitek typický pro olivový olej získaný z oliv, které byly na stromě zasaženy mrazem.

3.2 Další negativní znaky

Přehřátý nebo připálený Chuťově-čichový počitek typický pro olej získaný nadměrným a/nebo dlouhodobým ohřevem během zpracování, zejména je-li pasta míchána za tepla a za nevhodných podmínek.

Trávový/dřevový Chuťově-čichový počitek typický pro olivový olej získaný z vyschlých oliv.

Hrubý Chuťově taktilní počitek vyvolaný některým starým olejem, který způsobuje v ústech hustý, kašovitý pocit.

Olejový Chuťově-čichový počitek oleje připomínající naftu, mazací tuky nebo minerální olej.

Po štávě z plodů Chuťově-čichový počitek, který olej získá při dlouhodobém kontaktu se štávou z plodů, která prošla procesem fermentace.

Slaný Chuťově-čichový počitek typický pro olivový olej získaný z oliv, které byly konzervovány v solném roztoku.

Kovový Chuťově-čichový počitek připomínající kovy. Je typický pro olivový olej, který byl dlouhou dobu ve styku s kovovými povrchy během mletí, míchání, lisování nebo skladování.

Espartový Chuťově-čichový počitek typický pro olivový olej získaný z oliv lisovaných v nových espartových rohožích. Může se lišit v závislosti na tom, zda byly rohože vyrobeny ze zeleného esparta nebo sušeného esparta.

Po červech Chuťově-čichový počitek typický pro olivový olej získaný z oliv, které byly silně napadeny larvami mouchy olivové (*Bactrocera oleae*).

Po okurkách Chuťově-čichový počitek vznikající v případě, že je olivový olej po delší dobu hermeticky uzavřen, zejména do plechovek, pocházející z 2,6-nonadienalů.

3.3 Pozitivní znaky

Ovocná chuť a vůně Soubor čichových počitků typických pro olivový olej, které jsou závislé na odrůdě oliv a pocházejí ze zdravých a čerstvých oliv, zralých nebo nezralých. Jsou vnímány přímo a/nebo retronasální (pharyngonasální) metodou čichání.

Hořký Základní charakteristická chuť oleje získaného ze zelených nebo nazelenalých oliv, kterou vnímáme hrazenými papilami, tvořícími na jazyku uskupení ve tvaru písmene V.

Štiplavý Ostří taktilní počitek typický pro olivové oleje vyrobené na začátku hospodářského roku převážně z ještě nezralých oliv. Možno jej vnímat v celé ústní dutině, zejména v hrdle.

3.4 Nepovinná terminologie pro účely označování

Vedoucí zkušební komise může na požádání potvrdit, že hodnocené oleje splňují definice a rozpětí odpovídající těmto uvedeným pojmům a přívlaskům v závislosti na intenzitě a vnímání znaků:

Pozitivní znaky (ovocná chuť a vůně, hořký a štiplavý), podle intenzity vnímání:

- *intenzivní*, pokud je medián tohoto znaku vyšší než 6;
- *střední*, pokud je medián tohoto znaku mezi 3 a 6;
- *lehký*, pokud je medián tohoto znaku nižší než 3.

Ovocná chuť a vůně Soubor čichových počitků typických pro olej, které závisejí na odrůdě oliv a pochází ze zdravých a čerstvých oliv, u nichž nepřevažuje zralá ani nezralá ovocná chuť a vůně. Jsou vnímány přímo a/nebo retronasální (pharyngonasální) metodou čichání.

Nezralá ovocná chuť a vůně Soubor čichových počitků typických pro olej, které připomínají nezralé plody, závisejí na odrůdě oliv a pocházejí ze zelených, zdravých a čerstvých oliv. Jsou vnímány přímo a/nebo retronasální (pharyngonasální) metodou čichání.

Zralá ovocná chuť a vůně Soubor čichových počitků typických pro olej, které připomínají zralé plody, závisejí na odrůdě oliv a pocházejí ze zdravých, čerstvých oliv. Jsou vnímány přímo a/nebo retronasální (pharyngonasální) metodou čichání.

Vyvážený Olej, který nevykazuje známky nevyváženosti, kterou se rozumí čichový, chuťový a hmatový vjem oleje, ve kterém medián znaku hořký a/nebo znaku štiplavý je o dva body vyšší než medián znaku ovocná chuť a vůně.

Jemný olej Olej, ve kterém je medián znaku hořký a znaku štiplavý nižší nebo rovný 2.

4. SKLENĚNÉ NÁDOBKY PRO HODNOCENÍ OLIVOVÉHO OLEJE

Viz norma IOC/T.20/Doc. č. 5 „Skleněné nádoby pro hodnocení olivového oleje“.

5. ZKUŠEBNÍ MÍSTNOST

Viz norma IOC/T.20/Doc. č. 6 „Návod na zřízení zkušební místnosti“

6. ZAŘÍZENÍ

Všechny kabiny se vybaví níže uvedeným zařízením, nezbytně nutným pro posuzovatele pro řádné splnění jejich úkolu a snadno dosažitelným:

- skleněné nádoby (normalizované) obsahující vzorky, označené číselným kódem, zakryté hodinovými skly a uchovávané při teplotě $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$,
- profilový list (viz obrázek 1) v tištěné nebo elektronické podobě za předpokladu, že jsou splněny podmínky uvedené v profilovém listu, v případě potřeby i s pokyny k použití,
- pero nebo nesmazatelný inkoust,
- podnosy s nakrájenými jablky a/nebo vodou, sycenou vodou a/nebo suchary,
- skleněné nádoby s vodou o laboratorní teplotě,
- list papíru připomínající obecná pravidla uvedená v oddílech 8.4 a 9.1.1;
- plivátka.

7. VEDOUcí ZKUŠEBNí KOMISE A POSUZOVATELÉ

7.1 Vedoucí zkušební komise

Vedoucím zkušební komise musí být náležitě vyškolená osoba s odbornými znalostmi nezbytnými pro posuzování jednotlivých druhů olivových olejů, s nimiž v průběhu své práce přijde do styku. Je klíčovou postavou ve zkušební komisi a odpovídá za organizaci a řízení zkušebních činností.

Práce vedoucího zkušební komise vyžaduje základní odbornou přípravu v oblasti nástrojů senzorické analýzy, senzorického hodnocení, pečlivost při přípravě, organizaci a provádění zkoušek, jakož i zkušenost a trpělivost při vědeckém plánování a provádění zkoušek.

Je jedinou osobou, která odpovídá za výběr, odbornou přípravu a sledování posuzovatelů, aby se ubezpečil o jejich úrovni výkonnosti. Je proto odpovědný za hodnocení posuzovatelů, které musí být vždy objektivní a pro něž musí vypracovat konkrétní postupy založené na zkouškách a pevně stanovených kritériích výběru nebo vyřazení (viz norma IOC/T.20/Doc. č. 14 „Pokyny pro výběr, výcvik a sledování odborných posuzovatelů panenského olivového oleje“).

Vedoucí zkušební komise je odpovědný za výkon zkušební komise a tedy za její hodnocení, o kterém musí poskytnout spolehlivé a objektivní důkazy. V každém případě je povinen kdykoli prokázat, že metoda i posuzovatelé jsou pod kontrolou. Doporučuje se provádět pravidelnou kalibraci zkušební komise (IOC/T.20/Doc. č. 14, § 5).

Nese konečnou odpovědnost za vedení záznamů zkušební komise. Tyto záznamy musí být vždy dohledatelné, musí být v souladu s požadavky na zabezpečení a jakost stanovené v mezinárodních normách pro senzorickou analýzu a po celou dobu zajišťovat anonymitu vzorků.

Odpovídá za inventarizaci přístrojů a zařízení potřebných k dosažení souladu se specifikacemi této metody a za zajištění jejich řádného čištění a údržby, a o těchto skutečnostech, jakož i o dodržování zkušebních podmínek, uchovává písemné důkazy.

Odpovídá za příjem a skladování vzorků po jejich doručení do laboratoře, jakož i za jejich skladování po provedení zkoušky. Přitom musí za všech okolností zajistit anonymitu a řádné uskladnění vzorků, a za tímto účelem musí vypracovat písemné postupy s cílem zajistit, aby byl celý tento proces sledovatelný a poskytoval záruky.

Kromě toho odpovídá za přípravu, kódové označení vzorků a jejich předkládání posuzovatelům v daném pořadí hodnocení v souladu s předem připravenými protokoly, jakož i za sběr a statistické vyhodnocování dat získaných posuzovateli.

Odpovídá za vytvoření a vypracování jakýchkoli dalších postupů, které budou případně nezbytné k doplnění této normy a k řádnému fungování zkušební komise.

Musí hledat způsoby porovnávání výsledků zkušební komise panelu s výsledky získanými jinými zkušebními komisemi provádějícími analýzu panenského olivového oleje, aby se tak přesvědčil o řádném fungování zkušební komise.

Povinností vedoucího zkušební komise je motivovat členy zkušební komise a podněcovat jejich zájem, zvědavost a soutěživost. Za tímto účelem se důrazně doporučuje, aby zajistil obousměrný bezproblémový tok informací ke členům zkušební komise a průběžně je informoval o všech prováděných úkolech a dosahovaných výsledcích. Zdrží se rovněž vyjadřování svého mínění a musí zabezpečit, aby případné dominantní osobnosti neovlivňovaly ostatní posuzovatele.

Svolává posuzovatele v dostatečném předstihu a zodpovídá veškeré dotazy týkající se provádění zkoušek, avšak zdrží se jakéhokoli vyjadřování svého mínění o vzorku.

7.2 Posuzovatelé

Osoby působící jako posuzovatelé při organoleptických zkouškách olivového oleje tak musí činit dobrovolně, se všemi důsledky vyplývajícími z takového dobrovolného aktu z hlediska povinností a skutečnosti, že jim nebude poskytnuta finanční úhrada. Je proto vhodné, aby uchazeči předkládali písemnou žádost. Uchazeče vybere, vyškolí a sleduje vedoucí zkušební komise podle jejich schopnosti rozlišovat mezi podobnými vzorky; je třeba vzít v úvahu, zda a nakolik se jejich posuzovací schopnost během odborné přípravy zlepší.

Posuzovatelé musí jednat jako skuteční senzoričtí pozorovatelé, nepřihlížet k vlastním osobním chutím a referovat pouze o počitech, které vnímají. Proto musí vždy pracovat v tichu, uvolněně a beze spěchu a věnovat maximální smyslovou pozornost právě ochutnávanému vzorku.

Pro každou zkoušku je třeba 8 až 12 posuzovatelů, ačkoli je žádoucí mít několik rezervních posuzovatelů pro případ možných absencí.

8. PODMÍNKY ZKOUŠEK

8.1 Prezentace vzorku

Vzorek oleje pro analýzu se předkládá ve standardizovaných skleněných zkušebních nádobkách podle normy IOC/T.20/Doc. č. 5 „Skleněné nádoby pro hodnocení olivového oleje“.

Skleněná nádobka obsahuje 14–16 ml oleje nebo 12,8 až 14,6 g, pokud se vzorky váží, a je zakryta hodinovým sklem.

Každá nádobka musí být označena kódem složeným z náhodně vybraných číslic nebo kombinace písmen a číslic. Kód bude označen pomocí systému, který je bez zápachu.

8.2 Teplota při zkoušce a teplota vzorku

Vzorky oleje určené pro ochutnávání jsou uchovávány ve skleněných nádobkách při teplotě $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ po celou dobu zkoušky. Tato teplota byla zvolena proto, že usnadňuje zjišťování organoleptických rozdílů oproti teplotě okolí, a proto, že při nižších teplotách se zřídka uvolňují aromatické sloučeniny charakteristické pro tyto oleje, zatímco vyšší teploty vedou k výskytu těkavých sloučenin charakteristických pro zahřívání oleje. Metoda, která má být použita pro ohřev vzorků ve skleněné nádobce, je popsána v normě IOC/T.20/Doc. č. 5 „Skleněné nádoby pro hodnocení olivového oleje“.

Teplota ve zkušební místnosti se musí pohybovat mezi 20°C a 25°C (viz IOC/T.20/Doc. č. 6).

8.3 Doba zkoušek

Nejvhodnější dobou pro ochutnávání olejů je dopoledne. Je dokázáno, že čichové-chuťové smysly jsou v průběhu dne zvláště citlivé. Citlivost čichové-chuťových smyslů je před hlavním jídlem zvláště vysoká, zatímco po jídle slábne.

Toto kritérium však nesmí být přiváděno do extrému, aby posuzovatel nebyl rozptylován hladem a tím nebyla snížena jeho rozlišovací schopnost; proto se doporučuje, aby se ochutnávky konaly mezi 10. hodinou dopolední a polednem.

8.4 Posuzovatelé: obecná pravidla chování

Následující doporučení se týkají chování posuzovatelů během jejich práce.

Jsou-li posuzovatelé vyzváni vedoucím zkušební komise k účasti na organoleptické zkoušce, musí být připraveni dostavit se v stanoveném čase a přitom dodržet dále uvedená pravidla.

- 30 minut před stanoveným časem zkoušky je zakázáno kouření a pití kávy.
- Není povoleno používání vůní, kosmetiky ani mýdla, jejichž pach by přetrval do doby zkoušky. Ruce je nutno si umývat neparfémovaným mýdlem a je třeba si je oplachovat a sušit tak často, jak je nezbytné pro odstranění jakéhokoli pachu.
- Posuzovatelé nesmí jíst po dobu nejméně jedné hodiny před započítáním zkoušky.
- Pokud by se posuzovatelé necítili fyzicky v pořádku, a zejména je-li ovlivněno jejich čichové nebo chuťové vnímání, nebo pokud jsou pod psychickým tlakem, jenž by omezoval jejich schopnost koncentrace, zdrží se ochutnávky a sdělí to vedoucímu zkušební komise.
- Pokud posuzovatelé splnili výše uvedené podmínky, zaujmou své místo v přidělené kabině co nejspokladněji a co nejtišeji.
- Pozorně si přečtou pokyny v profilovém listu a nezačnou se zkoumáním vzorku, dokud nebudou plně připraveni pro úkol, který mají splnit (uvolněně a beze spěchu). V případě, že vyvstanou jakékoli pochybnosti, měli by se soukromě obrátit na vedoucího zkušební komise.
- Při plnění svých úkolů musí zachovávat ticho.
- Musí mít po celou dobu vypnutý mobilní telefon, aby nerušili soustředění a práci svých kolegů.

9. POSTUP ORGANOLEPTICKÉHO HODNOCENÍ A KLASIFIKACE PANENSKÉHO OLIVOVÉHO OLEJE

9.1 Technika ochutnávání

- 9.1.1 Posuzovatelé uchopí nádobku, drží ji přitom zakrytou hodinovým sklem a mírně nakloněnou a zakrouží nádobkou jednou úplně tak, aby se vnitřní stěny co nejvíce navlhčily. Jakmile dokončí tuto etapu, sejmou hodinové sklo a čichají ke vzorku pomalými a hlubokými nádechy s cílem posoudit daný olej. Čichání by nemělo trvat déle než 30 sekund. Pokud během této doby nedojdou k závěru, před dalším pokusem si krátce odpočinou.

Po provedení čichové zkoušky posuzovatelé posoudí pocity v ústech (celkové retronasální čichově-chuťově-taktilní počítky). To provedou tak, že usrknou přibližně 3 ml oleje. Je velmi důležité rozprostřít olivový olej po celé dutině ústní, od přední části úst a jazyka, podél lícních stěn až k zadní části a části podepírající patro a do krku, protože vnímání chutí a taktilních počítek se co do intenzity mění v závislosti na místě na jazyce, patře a v krku.

Je třeba zdůraznit, že pro posouzení je nebytné, aby se dostatečné množství oleje velmi pomalu rozprostřelo na zadní části jazyka směrem k části podepírající patro a ke krku, zatímco se posuzovatel soustřeďuje na pořadí, v němž se objeví hořký a štiplavý podnět. Pokud se to nepodaří, oba tyto podněty mohou u některých olejů uniknout pozornosti nebo může být hořký podnět zastřen štiplavým podnětem.

Krátké opakované nádechy, při nichž je vzduch vtahován ústy, umožňují posuzovateli nejen rozsáhle rozšířit vzorek po celých ústech, ale též vnímat též aromatické sloučeniny retronasální (pharyngonasální) metodou čichání vynuceným použitím tohoto kanálu.

V úvahu se též bere taktilní počíteč štiplavosti. Za tímto účelem je vhodné olej spolknout.

- 9.1.2 Při organoleptickém hodnocení panenského olivového oleje se doporučuje při každém sezení posuzovat maximálně ČTYŘI VZORKY a počet sezení by neměl překročit tři denně, aby se předešlo kontrastnímu účinku, jenž by mohl nastat při okamžitém posouzení dalších vzorků.

Jelikož postupné posuzování způsobuje únavu nebo ztrátu citlivosti způsobenou předchozími vzorky, je nutné použít něco, co může odstranit z úst zbytky olivového oleje z předchozího hodnocení.

Doporučuje se použít malý plátek jablka, který je možné po rozžvýkání odložit do plivátka. Poté se ústa vypláchnou malým množstvím vody o laboratorní teplotě. Mezi koncem jednoho sezení a začátkem dalšího musí uplynout nejméně 15 minut.

9.2 Používání profilového listu posuzovateli

Profilový list, který posuzovatelé použijí, je zobrazen na obrázku 1 této přílohy.

Každý posuzovatel ve zkušební komisi čichově a následně chuťově⁽¹⁾ zhodnotí předmětný olej. Následně uvede intenzitu, s níž vnímá každý z negativních a pozitivních znaků, do desetibodové hodnotící tabulky uvedené v obdrženém profilovém listu.

V případě, že posuzovatel vnímá jakékoli případné negativní znaky, které nejsou uvedeny v oddíle 4, musí je zaznamenat do rubriky „ostatní“ s použitím termínu nebo termínů, které dané znaky co nejpřesněji popisují.

9.3 Použití údajů vedoucími zkušební komise

Vedoucí zkušební komise shromáždí profilové listy vyplněné jednotlivými posuzovateli a zkontroluje intenzity přisouzené jednotlivým znakům. V případě, že zjistí jakoukoli nesrovnalost, vyzve posuzovatele, aby svůj profilový list revidoval a v případě nutnosti zkoušku zopakoval.

Vedoucí zkušební komise zadá údaje z hodnocení získané od jednotlivých členů zkušební komise do počítačového programu podobného tomu, který stanoví norma IOC/T.20/Doc. č. 15) za účelem statistického výpočtu výsledků analýzy na základě výpočtu jejich mediánu (viz oddíl 9.4 a dodatek k této příloze). Údaje týkající se daného vzorku se zadávají pomocí matice složené z devíti sloupců odpovídajících devíti organoleptickým vlastnostem a z n řádků odpovídajících n počtu posuzovatelů zkušební komise.

Pokud více než 50 % členů zkušební komise vnímalo určitou vadu a uvedlo ji v rubrice „jiné“, vypočítá vedoucí zkušební komise medián této vady a provede příslušnou klasifikaci.

Hodnota robustního variačního koeficientu, který vyjadřuje klasifikaci (vada s nejsilnější intenzitou a znakem ovocné chuti a vůně) musí být nižší nebo rovna 20 %.

Pokud tomu tak není, musí vedoucí komise opakovat hodnocení tohoto konkrétního vzorku při jiném sezení.

Pokud k takové situaci dochází často, doporučuje se, aby vedoucí zkušební komise poskytl posuzovatelům konkrétní doplňkovou odbornou přípravu (IOC/T.20/Doc. No 14, § 5) a pro kontrolu výkonnosti zkušební komise použil ukazatel opakovatelnosti a ukazatel odchylek (IOC/T.20/Doc. č. 14, § 6).

9.4 Klasifikace oleje

Olivový olej se zařadí do následujících kategorií podle mediánu vad a mediánu znaku ovocné chuti a vůně. Medián vad se stanovuje jako medián vady vnímané s největší intenzitou. Medián vad a medián znaku ovocné chuti a vůně se vyjadřuje s přesností na jedno desetinné číslo.

⁽¹⁾ Může ochutnávání oleje odmítnout, pokud při přímém čichovém vnímání zaznamená, že některý z negativních znaků je extrémně intenzivní. Tuto výjimečnou okolnost zaznamená do profilového listu.

Klasifikace oleje se provádí porovnáváním hodnoty mediánu vad a mediánu znaku ovocné chuti a vůně s níže uvedenými referenčními intervaly. Při stanovování hranice těchto intervalů byla zohledněna chyba metody, proto se tyto hranice považují za absolutní. Počítačové programy umožňují zobrazení klasifikace v tabulce statistických údajů nebo na grafu.

- a) Extra panenský olivový olej: medián vad se rovná 0 a medián znaku ovocné chuti a vůně je vyšší než 0;
- b) Panenský olivový olej: medián vad je vyšší než 0 a nižší nebo roven 3,5 a medián znaku ovocné chuti a vůně je vyšší než 0;
- c) Lampantový olivový olej: medián vad je vyšší než 3,5 nebo je medián vad nižší nebo roven 3,5 a medián ovocné chuti a vůně se rovná 0.

Poznámka 1:

Pokud je medián znaku hořký a/nebo znaku štiplavý vyšší než 5,0 vedoucí zkušební komise tuto skutečnost uvede do protokolu o zkoušce.

Obrázek 1

PROFILOVÝ LIST PANENSKÉHO OLIVOVÉHO OLEJE

Intenzita vnímání vad		
Zatuchlý / Po kalném sedimentu (*)		
Plesnivý/vlhký/zemitý (*)		
Vinný/octový/kyselý/nakyslý (*)		
Po namrzlých olivách (po vlhkém dřevu)		
Žluklý		
Další negativní znaky:		
Deskriptor:	Kovový ☐ Trávnový ☐ Po červech ☐ Hrubý ☐ Slaný ☐ Přehřátý nebo připálený ☐ Po šťávě z plodů ☐ Espartový ☐ Po okurkách ☐ Olejový ☐	
(*) Nehodící se škrtněte		
Intenzita vnímání pozitivních znaků		
Ovocná chuť a vůně		
	Nezralý ☐	Zralý ☐
Hořký		
Štiplavý		
Jméno posuzovatele:		Kód posuzovatele:
Kód vzorku:	Podpis:	

Dodatek

Metoda výpočtu mediánu a intervaly spolehlivosti**Medián**

$$Me = [p(X < x_m) \leq 1/2 \wedge p(X \leq x_m) \geq 1/2]$$

Medián je definován jako reálné číslo X_m , pro které platí, že pravděpodobnost (p), že hodnoty rozdělení (X) jsou nižší než toto číslo (X_m), je nižší a rovna 0,5, a zároveň že pravděpodobnost (p), že hodnoty rozdělení (X) jsou nižší nebo rovné X_m , je vyšší a rovna 0,5. Praktičtější definice zní, že medián je padesátý percentil rozdělení čísel seřazených podle vzestupného pořadí. Zjednodušeně řečeno se jedná o prostřední hodnotu uspořádané množiny lichých čísel nebo průměr dvou prostředních hodnot uspořádané množiny sudých čísel.

Robustní směrodatná odchylka

Za účelem získání spolehlivého odhadu variability kolem průměru je třeba použít robustní směrodatné odchylky podle Stuarta a Kendalla (4). Tento vzorec uvádí robustní odchylku asymptotického typu, tj. robustní odhad variability zvažovaných údajů, kde N je počet pozorování a IQR je mezikvartilové rozpětí, které zahrnuje přesně 50 % případů daného rozdělení pravděpodobnosti.

$$s^* = \frac{1,25 \times \text{IQR}}{1,35 \times \sqrt{N}}$$

Výpočet mezikvartilového rozpětí se provádí výpočtem velikosti rozdílu odchylky mezi 75. a 25. percentilem.

$$\text{IQR} = 75. \text{ percentil} - 25. \text{ percentil}$$

Pokud je percentilem hodnota X_{pc} , pro kterou platí, že pravděpodobnost (p), že hodnoty rozdělení jsou nižší než X_{pc} , je nižší nebo rovna konkrétní setině, a zároveň že pravděpodobnost (p), že hodnoty rozdělení jsou nižší nebo rovné X_{pc} , je vyšší nebo rovna této konkrétní setině. Setina označuje zvolený fraktíl rozdělení. V případě mediánu se rovná 50/100.

$$\text{percentil} = [p(X < x_{pc}) \leq \frac{n}{100} \wedge p(X \leq x_{pc}) = \frac{n}{100}]$$

Pro praktické účely představuje percentil hodnotu rozdělení, která odpovídá určité ploše vyznačené od křivky rozdělení nebo hustoty. Například 25. percentil představuje hodnotu rozdělení odpovídající ploše, která se rovná 0,25 nebo 25/100.

Tato metoda slouží k výpočtu percentilů na základě reálných hodnot, které se vyskytují v datové matici (postup pro výpočet percentilů).

Robustní variační koeficient (%)

Robustní variační koeficient CVr % představuje bezrozměrné číslo, které udává procento variability analyzované množiny čísel. Z tohoto důvodu je tento koeficient velice užitečný pro ověření spolehlivosti posuzovatelů ve zkušební komisi.

$$CV_r = \frac{s^*}{Me} \times 100$$

95% intervaly spolehlivosti mediánu

95% intervaly spolehlivosti (hodnota chyby prvního druhu se rovná 0,05 nebo 5 %) představují interval, v němž by se hodnota mediánu mohla měnit za předpokladu, že by bylo možné pokus donekonečna opakovat. V praxi označuje interval proměnlivosti pokusu za přijatých provozních podmínek vycházející z předpokladu, že by se pokus mohl mnohokrát opakovat. Stejně jako v případě CVr% interval napomáhá při hodnocení spolehlivosti pokusu.

$$IC_{sup} = Me + (c \times s^*)$$

$$IC_{inf} = Me - (c \times s^*)$$

kde $C = 1,96$ v případě intervalu spolehlivosti na úrovni 95 %.

Příklad výpočetního listu je uveden v příloze I normy IOC/T 20/Doc. č. 15.

Odkazy

- 1) Wilkinson, L. 1990. Systat: The system for statistics. Evanston, IL. SYSTAT Inc.
 - 2) Cicchitelli, G. 1984. Probabilità e Statistica. Maggioli Editore, Rimini.
 - 3) Massart, D. L.; Vandeginste, B. G. M.; Deming, Y.; Michotte, L. 1988. Chemometrics. A textbook. Elsevier. Amsterdam.
 - 4) Kendall, M. G.; Stuart, A. 1967. The advanced theory of statistics. Vol. 1. Hafner Publishing Co.
 - 5) McGill, R.; Tukey, J. W.; Larsen, W. A. 1978. Variation of Box Plots. The American Statistician, 32, (2), 12-16.
 - 6) IOC/T.28/Doc. č. 1, září 2007, Guidelines for the accreditation of sensory testing laboratories with particular reference to virgin olive oil according to standard ISO/IEC 17025:2005.
 - 7) IOC/T.20/Doc. č. 14.
 - 8) IOC/T.20/Doc. č. 15.
 - 9) ISO/IEC 17025:05.“
-

PŘÍLOHA VI

„PŘÍLOHA XXa

METODA PRO ZJIŠŤOVÁNÍ CIZÍCH OLEJŮ V OLIVOVÝCH OLEJÍCH

1. OBLAST PŮSOBNOSTI

Tato metoda se používá ke zjištění přítomnosti cizích rostlinných olejů v olivových olejích. V olivových olejích může být zjištěna přítomnost rostlinných olejů s vysokým obsahem kyseliny linoleové (sójový, řepkový, slunečnicový apod.) a některých rostlinných olejů s vysokým obsahem kyseliny olejové, jako je například olej z lískových oříšků a slunečnicový olej a olivový olej z pokrutin s vysokým obsahem kyseliny olejové. Zjištěná úroveň závisí na typu cizího oleje a odrůdě oliv. U oleje z lískových oříšků se běžná úroveň zjištění pohybuje mezi 5 a 15 %. Tato metoda není schopna identifikovat typ zjištěného cizího oleje, pouze indikuje, zda je olivový olej autentický nebo neautentický.

2. PODSTATA ZKOUŠKY

Olej se čistí extrakcí na pevnou fázi (SPE) na silikagelových patronách. Složení triacylglycerolů (TAG) se stanoví kapalinovou chromatografií na reverzní fázi s vysokým rozlišením s použitím refraktometrického detektoru a propionitrilu jako mobilní fáze. Methylestery mastných kyselin (MMK) se připraví z čistěného oleje methylovým studeným roztokem KOH v methanolu (příloha X B) a estery se následně analyzují pomocí kapilární plynové chromatografie za použití vysoce polární kolony (příloha X A). Teoretické složení triacylglycerolů se vypočte ze složení mastných kyselin pomocí počítačového programu za předpokladu 1,3 – náhodného a 2 – náhodného rozdělení mastných kyselin v triacylglycerolu, s omezeními u nasycených mastných kyselin na pozici 2. Metoda výpočtu je modifikací postupu popsaného v příloze XVIII. Některé matematické algoritmy se vypočtou z teoretických a experimentálních (HPLC) triacylglycerolových složení a výsledné hodnoty se porovnají s hodnotami obsaženými v databázi vytvořené z autentických olivových olejů.

3. MATERIÁL A REAKČNÍ ČINIDLA

3.1 Čištění oleje

3.1.1 Erlenmeyerovy baňky o objemu 25 ml.

3.1.2 Skleněné zkumavky na 5 ml se šroubovacími uzávěry s PTFE spojem.

3.1.3 Silikagelové patrony 1 g (6 ml) pro extrakci na pevnou fázi (například Waters, Massachusetts, USA).

3.1.4 *n*-hexan čistoty p.a.

3.1.5 Směs rozpouštědel hexan/diethylether (87:13, v/v).

3.1.6 *n*-heptan čistoty p.a..

3.1.7 Aceton čistoty p.a..

3.2 Analýza triacylglycerolů pomocí HPLC

3.2.1 Mikrostříkačky (50 µL) a jehly pro dávkování do přístroje HPLC.

3.2.2 Propionitril nejvyšší čistoty nebo čistoty pro HPLC (například ROMIL, Cambridge, Spojené království), který se použije jako mobilní fáze.

3.2.3 Kolona pro HPLC (vnitřní průměr 25 cm x 4 mm) naplněná fází RP-18 (s velikostí částic 4 µm).

3.3 Příprava methylesterů mastných kyselin

(viz příloha X B)

3.3.1 Methanol obsahující maximálně 0,5 % vody.

3.3.2 Heptan čistoty p.a.

3.3.3 Roztok hydroxidu draselného v methanolu o koncentraci 2 mol/l. 1,1 g hydroxidu draselného se rozpustí v 10 ml methanolu.

3.3.4 Skleněné zkumavky na 5 ml se šroubovacími uzávěry s PTFE spojem.

3.4 Analýza MMK plynovou chromatografií

(Viz metoda stanovení transnenasycených mastných kyselin pomocí kapilární plynové chromatografie uvedená v příloze X A.)

3.4.1 Mikrostříkačky (5 µL) a jehly pro dávkování do plynových chromatografií.

3.4.2 Vodík nebo helium jako nosný plyn.

- 3.4.3 Vodík a kyslík pro plamenoionizační detektor.
- 3.4.4 Dusík nebo helium jako pomocný nosný plyn.
- 3.4.5 Kapilární kolona z taveného křemene (50–60 m s vnitřním průměrem 0,25 – 0,30 mm), obsahující fázi kyanopropylpolysiloxanu nebo kyanopropylfenylsiloxanu (SP-2380 nebo obdobné) o tloušťce filmu 0,20-0,25 μm .

4. PŘÍSTROJE A POMŮCKY

- 4.1 Vakuová aparatura pro extrakci na pevnou fázi.
- 4.2 Rotační odparka.
- 4.3 Zařízení pro HPLC, které se skládá z:
 - 4.3.1 odplyňovače mobilní fáze,
 - 4.3.2 ventilu injektoru Rheodyne s 10 μL smyčkou,
 - 4.3.3 vysokotlakého čerpadla,
 - 4.3.4 termostaticky regulované sušárny pro HPLC kolony schopné udržet teplotu nižší než teplota okolí (15–20 ° C) (například typu Peltier),
 - 4.3.5 refraktometrického detektoru,
 - 4.3.6 počítačového systému pro sběr dat s integračním programem.
- 4.4 Zařízení na kapilární plynovou chromatografii popsané v příloze X A, vybavené:
 - 4.4.1 děleným nástřikovým zařízením,
 - 4.4.2 plamenoionizačním detektorem (FID),
 - 4.4.3 sušárnou s programovatelnou teplotou,
 - 4.4.4 počítačovým systémem pro sběr dat s integračním programem.
- 4.5 Počítač s programem Microsoft EXCEL.

5. ANALYTICKÝ POSTUP

5.1. Čištění oleje

Silikagelová patrona SPE se vloží do vakuového elučního zařízení a promývá se ve vakuu s 6 ml hexanu. Vakuum se uvolní, aby se zabránilo vysušení kolony, a pod patronu se umístí Erlenmeyerova baňka. Do kolony se vlije roztok oleje (přibližně 0,12 g) v 0,5 ml hexanu a tento roztok se po průchodu kolonou eluuje ve vakuu s 10 ml směsí rozpouštědla (3.1.5) hexan-diethyletheru (87:13 v/v). Eluované rozpouštědlo se homogenizuje a přibližně polovina jeho objemu se vlije do jiné Erlenmeyerovy baňky. Oba roztoky se odděleně odpaří do sucha na rotační odparce za sníženého tlaku při pokojové teplotě. Pro analýzu triacylglycerolů se jedno z reziduí rozpustí v 1 ml acetonu (viz první odstavce bodu 5.2) a nalije se do skleněné zkumavky se šroubovacím uzávěrem o objemu 5 ml. Druhé reziduum se rozpustí v 1 ml *n*-heptanu a vlije se do druhé skleněné zkumavky se šroubovacím uzávěrem o objemu 5 ml pro přípravu methylesterů mastných kyselin.

Poznámka: Čištění oleje lze provést pomocí silikagelové kolony dle popisu v metodě IUPAC 2.507.

5.2. Analýza triacylglycerolů pomocí HPLC

Nastaví se systém HPLC, teplota kolony se udržuje na 20 °C a jako mobilní fáze se použije propionitril s průtokovou rychlostí 0,6 ml/min. Po ustálení základní linie se vstříkne rozpouštědlo; v případě, že se základní linie v oblasti 12 až 25 min. jeví jako narušená, použije se k rozpuštění vzorku jiný typ acetonu nebo směsi propionitrilu s acetonem (25:75).

Poznámka: Základní linii ve výše uvedené oblasti narušují některé typy acetonu.

Nastříkne se 10 μL alikvotního podílu roztoku čištěného oleje v acetonu (5 %). Analýza trvá přibližně 60 min. Teplota sušárny a/nebo průtok musí být upraveny tak, aby bylo možné získat chromatogram podobný chromatogramu znázorněnému na obrázku 1, kde se trilinolein (pík 1) eluuje při 15,5 min a rozlišení mezi dvojicemi LLL/OLLn (píky 1 a 2) a OLL/OOLn (píky 4 a 5) je dobré.

Výška píku 2 (OLLn + PoLL) musí dosáhnout nejméně 3 % plného rozsahu stupnice.

5.3. Příprava methylesterů mastných kyselin

K roztoku vyčištěného oleje v 1 mL *n*-heptanu se přidá 0,1 mL roztoku hydroxidu draselného v methanolu o koncentraci 2 mol/l. Zkumavka se uzavře a pevně zašroubuje. Zkumavka se důkladně protřepe po dobu 15 vteřin a nechá se odstát, až se vrchní vrstva vyčerí (5 minut). Roztok *n*-heptanu je připraven k nástřiku do plynového chromatografu. Roztok lze ponechat při pokojové teplotě po dobu maximálně 12 hodin.

5.4. Analýza methylesterů mastných kyselin plynovou chromatografií

Je nutno použít postup popsáný v metodě pro stanovení trans-nenasycených mastných kyselin (viz příloha X A).

Nastaví se plynový chromatograf při teplotě sušárny 165 °C. Doporučená teplota sušárny je izotermní při 165 °C po dobu 10 minut, pak se zvýší na 200 °C při 1,5 °C/min. Doporučená teplota injektoru se pohybuje mezi 220 °C a 250 °C s cílem minimalizovat vznik trans-mastných kyselin (viz příloha X A). Teplota detektoru: 250 °C. Jako nosný plyn se musí použít vodík nebo helium při tlaku na koloně přibližně 130 kPa. Objem nástřiku 1 µL v režimu děleného nástřiku.

Je nutno získat profil GC podobný jako na obrázku. Zvláštní pozornost je nutno věnovat rozlišení mezi C18:3 a C20:1 (pík C18: 3 se musí objevit před píkem C20:1). Pro dosažení těchto podmínek je nutno optimalizovat počáteční teplotu a/nebo tlak na koloně. Nastaví se podmínky injektoru (teplota, dělicí poměr a objem nástřiku) s cílem minimalizovat diskriminaci kyseliny palmitové a kyseliny palmitolejové.

Výška píku C20:0 pro kvantifikaci trans-izomerů musí dosáhnout přibližně 20 % plného rozsahu. Pokud se pík C18:0 jeví jako narušený, množství vzorku se redukuje.

6. INTEGRACE CHROMATOGRAFICKÝCH PÍKŮ

6.1. HPLC chromatogram

Obrázek 1 znázorňuje typický HPLC chromatogram triacylglycerolů čištěného olivového oleje. Pro integraci píků je nutno zaznamenat tři základní linie: první mezi počátkem píku 1 a koncem píku 3, druhou mezi počátkem píku 4 a sedlem před píkem 8 a třetí mezi sedlem předcházejícím pík 8 a koncem píku 18.

Celková plocha je součtem ploch všech píků (identifikovaných i neidentifikovaných) od píku 1 po pík 18. Procentní podíl každého píku je dán následujícím vzorcem:

$$\text{TAG}_x (\%) = 100 (A_x + A_T)$$

Procentní podíl se musí vyjádřit s přesností na dvě desetinná místa.

6.2. Plynový chromatogram

Obrázek 2 znázorňuje plynový chromatogram alkylesterů mastných kyselin získaných z čištěného olivového oleje. Vypočte se procentní podíl následujících mastných kyselin:

palmitová	P (C16:0)	=	methylester + ethylester
stearová	S (C18:0)	=	methylester
palmitolejová	Po (C16:1)	=	součet methylesterů obou cis-isomerů
olejová	O (C18:1)	=	součet methylesterů obou cis-isomerů + ethylester + trans-isomery
linolová	L (C18:2)	=	methylester + ethylester + trans-isomery
linolenová	Ln (C18:3)	=	methylester + trans-isomery
arachová	A (C20:0)	=	methylester
ikosenová (gondoová)	G (C20:1)	=	methylester

V plynovém chromatogramu mohou chybět estery ethylalkoholu a trans-izomerů.

Celková plocha (AT) je součtem všech píků, které se objevují v chromatogramu od C14:0 po C24:0, kromě píku, který odpovídá skvalenu. Procentní podíl každého píku se vypočítá následujícím způsobem:

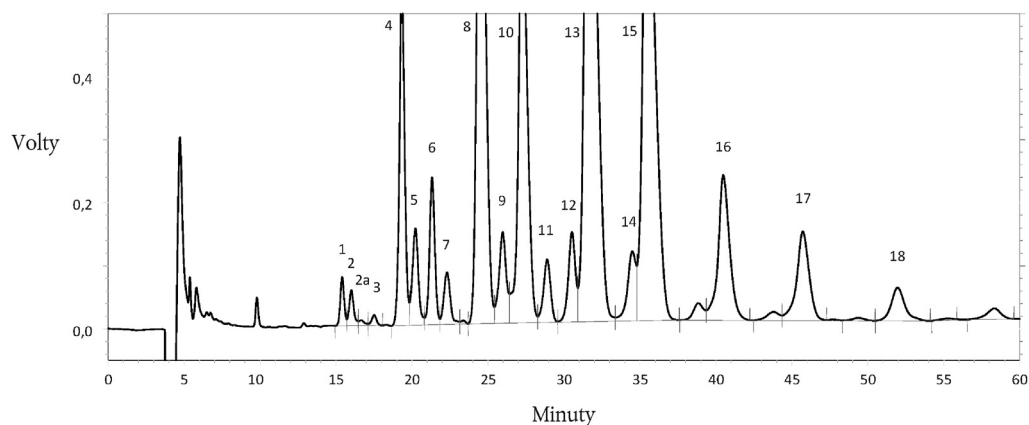
$$\text{FA}_x (\%) = 100 (A_x + A_T)$$

Výsledek se musí vyjádřit s přesností na dvě desetinná místa.

Pro výpočty počítačových programů není nutné provést normalizaci na 100, protože se provádí automaticky.

Obrázek 1

HPLC chromatogram triacylglycerolů u panenského olivového oleje „Chamlali“. Hlavní složky chromatografických píků



- (1) LLL; (2) OLLn + PoLL; (3) PLLn; (4) OLL; (5) OOLn + PoOL;
 (6) PLL + PoPoO; (7) POLn + PPoPo + PPoL; (8) OOL + LnPP; (9) PoOO;
 (10) SLL + PLO; (11) PoOP + SPoL + SOLn + SPoPo; (12) PLP;
 (13) OOO + PoPP; (14) SOL; (15) POO; (16) POP; (17) SOO;
 (18) POS + SLS.

Tabulka 1

Údaje o opakovatelnosti stanovení triacylglycerolů v panenském olivovém oleji metodou HPLC při teplotě kolony 20 °C s užitím propionitrilu jako mobilní fáze

ECN	Píky HPLC	TAG	Vzorek 1		Vzorek 2		Vzorek 3		Vzorek 4		Vzorek 5	
			Průměr (%)	RSD _r (%)	Průměr (%)	RSD _r (%)	Průměr (%)	RSD _r (%)	Průměr (%)	RSD _r (%)	Průměr (%)	RSD _r (%)
42	1	LLL	0,020	7,23	0,066	5,18	0,095	4,10	0,113	0,95	0,34	1,05
	2	OLLn+ PoLL	0,085	7,44	0,24	1,78	0,26	2,25	0,35	2,02	0,50	2,83
	3	PLLn	0,023	15,74	0,039	5,51	0,057	5,62	0,082	4,35	0,12	6,15
44	4	OLL	0,47	1,52	1,53	0,42	2,62	0,98	3,35	1,05	4,37	1,13
	5	OOLn+ PoOL	1,07	2,01	1,54	0,46	1,61	0,71	1,72	1,07	1,77	2,40
	6	PLL + PoPoO	0,11	12,86	0,24	4,37	0,65	1,32	1,35	0,73	2,28	1,24
	7	POLn + PPoPo + PpoL	0,42	5,11	0,49	2,89	0,55	2,01	0,85	1,83	1,09	1,96
46	8	OOL + LnPP	6,72	0,63	8,79	0,31	11,21	0,42	13,25	0,33	15,24	0,23
	9	PoOO	1,24	2,86	1,49	0,95	1,63	0,85	2,12	0,45	2,52	0,56
	10	SLL + PLO	2,70	0,65	4,05	0,70	6,02	0,65	9,86	0,53	11,53	0,31
	11	PoOP + SPoL + SOLn + SPoPo	0,64	4,42	0,69	3,02	0,79	1,23	1,53	0,89	1,70	1,66

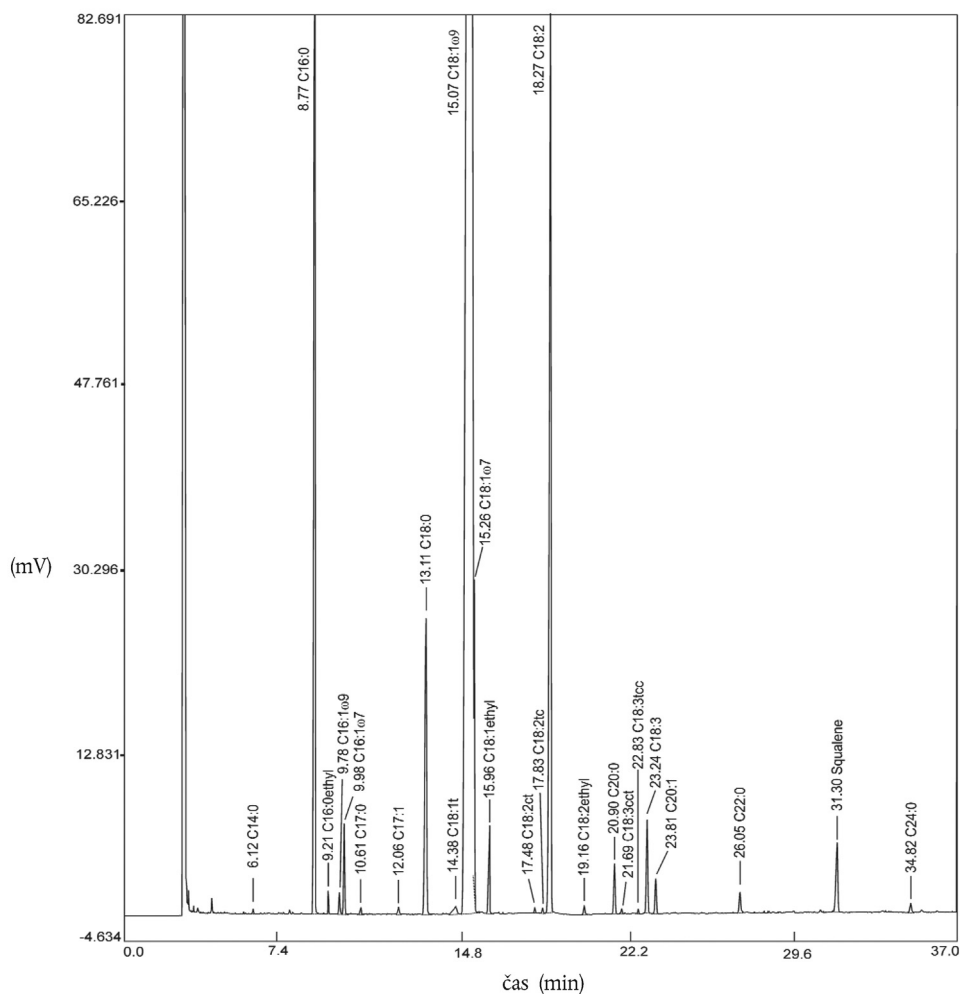
ECN	Píky HPLC	TAG	Vzorek 1		Vzorek 2		Vzorek 3		Vzorek 4		Vzorek 5	
			Průměr (%)	RSD _r (%)	Průměr (%)	RSD _r (%)	Průměr (%)	RSD _r (%)	Průměr (%)	RSD _r (%)	Průměr (%)	RSD _r (%)
48	12+13	OOO + PLP + PoPP	49,60	0,07	48,15	0,06	42,93	0,06	33,25	0,10	24,16	0,06
	14	SOL	0,82	1,72	0,92	1,56	1,05	1,32	1,25	1,05	1,60	1,77
	15	POO	22,75	0,25	21,80	0,20	21,05	0,30	20,36	0,35	20,17	0,14
50	16	POP	3,05	0,46	4,56	0,42	4,98	0,52	5,26	0,41	5,57	0,38
	17	SOO	6,87	0,21	5,56	0,33	4,86	0,43	4,12	0,72	3,09	0,69
	18	POS + SLS	1,73	1,23	1,65	1,10	1,54	0,99	1,49	1,10	1,41	1,00

n = 3 opakování

RSD_r = relativní směrodatná odchylka opakovatelnosti

Obrázek 2

Plynový chromatogram alkylesterů mastných kyselin získaných z olivového oleje z pokrutin transesterifikací studeným roztokem KOH v methanolu



7. DETEKCE CIZÍCH OLEJŮ V OLIVOVÝCH OLEJÍCH

Metoda výpočtu detekce cizích olejů v olivových olejích pomocí srovnání matematických algoritmů s databází vytvořenou z autentických olivových olejů je uvedena v příloze I normy IOC/T.20/Doc. č. 25.“
