

Το έγγραφο αυτό συνιστά βοήθημα τεκμηρίωσης και δεν δεσμεύει τα κοινοτικά όργανα

► **B** **ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ**
της 11ης Ιουλίου 1991
σχετικά με τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών των ελαιολάδων και των πυρηνελαίων
καθώς και με τις μεθόδους προσδιορισμού
 (ΕΕ L 248 της 5.9.1991, σ. 1)

Τροποποιείται από:

	Επίσημη Εφημερίδα		
	αριθ.	σελίδα	ημερομηνία
► M1 Κανονισμός (ΕΟΚ) αριθ. 3682/91 της Επιτροπής της 17ης Δεκεμβρίου 1991	L 349	36	18.12.1991
► M2 Κανονισμός (ΕΟΚ) αριθ. 1429/92 της Επιτροπής της 26ης Μαΐου 1992	L 150	17	2.6.1992
► M3 Κανονισμός (ΕΟΚ) αριθ. 1683/92 της Επιτροπής της 29ης Ιουνίου 1992	L 176	27	30.6.1992
► M4 Κανονισμός (ΕΟΚ) αριθ. 1996/92 της Επιτροπής της 15ης Ιουλίου 1992	L 199	18	18.7.1992
► M5 Κανονισμός (ΕΟΚ) αριθ. 3288/92 της Επιτροπής της 12ης Νοεμβρίου 1992	L 327	28	13.11.1992
► M6 Κανονισμός (ΕΟΚ) αριθ. 183/93 της Επιτροπής της 29ης Ιανουαρίου 1993	L 22	58	30.1.1993
► M7 όπως τροποποιήθηκε από τον κανονισμό (ΕΟΚ) αριθ. 826/93 της Επιτροπής της 6ης Απριλίου 1993	L 87	6	7.4.1993
► M8 Κανονισμός (ΕΟΚ) αριθ. 620/93 της Επιτροπής της 17ης Μαρτίου 1993	L 66	29	18.3.1993
► M9 Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 177/94 της Επιτροπής της 28ης Ιανουαρίου 1994	L 24	33	29.1.1994
► M10 Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 2632/94 της Επιτροπής της 28ης Οκτωβρίου 1994	L 280	43	29.10.1994
► M11 Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 656/95 της Επιτροπής της 28ης Μαρτίου 1995	L 69	1	29.3.1995
► M12 Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 2527/95 της Επιτροπής της 27ης Οκτωβρίου 1995	L 258	49	28.10.1995
► M13 Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 2472/97 της Επιτροπής της 11ης Δεκεμβρίου 1997	L 341	25	12.12.1997
► M14 Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 282/98 της Επιτροπής της 3ης Φεβρουαρίου 1998	L 28	5	4.2.1998
► M15 Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 2248/98 της Επιτροπής της 19ης Οκτωβρίου 1998	L 282	55	20.10.1998

Διορθώνεται από:

- **C1** Διορθωτικό ΕΕ L 108 της 25.4.1992, σ. 57 (2568/91)
 ► **C2** Διορθωτικό ΕΕ L 176 της 20.7.1993, σ. 26 (183/93)



ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

της 11ης Ιουλίου 1991

σχετικά με τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών των ελαιολάδων και των πυρηνελαίων καθώς και με τις μεθόδους προσδιορισμού

Η ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΤΩΝ ΕΥΡΩΠΑΪΚΩΝ ΚΟΙΝΟΤΗΤΩΝ,

Έχοντας υπόψη:

τη συνθήκη για την ίδρυση της Ευρωπαϊκής Οικονομικής Κοινότητας,

τον κανονισμό αριθ. 136/66/ΕΟΚ του Συμβουλίου της 22ας Σεπτεμβρίου 1966 περί δημιουργίας κοινής οργανώσεως αγοράς στον τομέα των λιπαρών ουσιών⁽¹⁾, όπως τροποποιήθηκε τελευταία από τον κανονισμό (ΕΟΚ) αριθ. 3577/90⁽²⁾, και ιδίως το άρθρο 35α,

Εκτιμώντας:

ότι στο παράρτημα του κανονισμού αριθ. 136/66/ΕΟΚ προβλέπονται η περιγραφή και ο ορισμός των ελαιολάδων και των πυρηνελαίων που διατίθενται στο εμπόριο στο εσωτερικό κάθε κράτους μέλους, καθώς και όσον αφορά τις ενδοκοινοτικές συναλλαγές και τις συναλλαγές με τις τρίτες χώρες·

ότι, για να καταστεί δυνατός ο διαχωρισμός μεταξύ των διαφόρων τύπων ελαίου, θα πρέπει να καθοριστούν τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά κάθε ελαίου, καθώς και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των παρθένων ελαίων, κατά τρόπο που να διασφολίζεται η γνησιότητα και η ποιότητα των εν λόγω προϊόντων, με την επιφύλαξη των υπολοίπων διατάξεων, οι οποίες αφορούν αυτό το θέμα·

ότι θα πρέπει να προσδιοριστούν κατά ενιαίο τρόπο σε ολόκληρη την Κοινότητα τα χαρακτηριστικά των διαφόρων τύπων ελαίου· ότι, προς το σκοπό αυτό, θα πρέπει να καθοριστούν οι μέθοδοι, χημικής ανάλυσης και οργανοληπτικής αξιολόγησης στην Κοινότητα· ότι θα πρέπει, εντούτοις, να επιτραπεί κατά τη διάρκεια μεταβατικής περιόδου η χρησιμοποίηση άλλων μεθόδων ανάλυσης που εφαρμόζονται στα κράτη μέλη, προβλέποντας παράλληλα ότι, σε περίπτωση που τα αποτελέσματα παρουσιάζουν διαφορές, θα είναι καθοριστικά τα αποτελέσματα που έχουν ληφθεί με βάση την ενιαία μέθοδο·

ότι ο προσδιορισμός των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του ελαιολάδου και των μεθόδων ανάλυσης οδηγεί στην προσαρμογή των συμπληρωματικών επεξηγήσεων του κεφαλαίου 15 της συνδυασμένης ονοματολογίας·

ότι στην μέθοδο αξιολόγησης των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των παρθένων ελαίων περιλαμβάνεται η συγκρότηση ομάδος δοκιμαστών που έχουν επιλεγεί και εξασκηθεί ειδικά γι' αυτό· ότι είναι, επομένως, σκόπιμο να προβλεφθεί η προθεσμία η αναγκαία για την δημιουργία μιας τέτοιας υποδομής· ότι, λαμβανομένων υπόψη των δυσκολιών που θα συναντήσουν ορισμένα κράτη μέλη για την συγκρότηση ομάδων δοκιμαστών, είναι σκόπιμο να δοθεί άδεια να καταφεύγουν στις υπάρχουσες ομάδες άλλων κρατών μελών·

ότι, για να εξασφαλιστεί η ορθή λειτουργία του συστήματος των εισφορών που εφαρμόζονται κατά την εισαγωγή των ελαιοπυρήνων είναι σκόπιμο να προβλεφθεί μια ενιαία μέθοδος για τον καθορισμό της περιεκτικότητας σε έλαιο των εν λόγω προϊόντων·

ότι, για να μην προκληθεί ζημιά στο εμπόριο, είναι σκόπιμο να προβλεφθεί μια περιορισμένη περίοδος για την διάθεση του

⁽¹⁾ ΕΕ αριθ. L 172 της 30. 9. 1966, σ. 3025/66.

⁽²⁾ ΕΕ αριθ. L 353 της 17. 12. 1990, σ. 23.

▼B

τυποποιημένου ελαιολάδου πρό της ενάρξεως του παρόντος κανονισμού·

ότι είναι σκόπιμο να καταργηθεί ο κανονισμός (ΕΟΚ) αριθ. 1058/77 της Επιτροπής⁽¹⁾, όπως τροποποιήθηκε τελευταία από τον κανονισμό (ΕΟΚ) αριθ. 1858/88⁽²⁾·

ότι η Επιτροπή Διαχείρισης Λιπαρών Ουσιών δεν διατύπωσε γνώμη εντός της ταχθείσας προθεσμίας,

ΕΞΕΔΩΣΕ ΤΟΝ ΠΑΡΟΝΤΑ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟ:

Άρθρο 1

1. Θεωρούνται παρθένα ελαιόλαδα, κατά την έννοια του σημείου 1 στοιχεία α), β) και γ) του παραρτήματος του κανονισμού αριθ. 136/66/ΕΟΚ, τα έλαια των οποίων τα χαρακτηριστικά είναι σύμφωνα με εκείνα που αναφέρονται στο παράρτημα I σημεία 1, 2 και 3 του παρόντος κανονισμού.

2. Θεωρείται μειονεκτικό παρθένο έλαιόλαδο, κατά την έννοια του σημείου 1 στοιχείο δ) του παραρτήματος του κανονισμού αριθ. 136/66/ΕΟΚ, το ελαιόλαδο του οποίου τα χαρακτηριστικά είναι σύμφωνα με εκείνα που αναφέρονται στο παράρτημα I σημείο 4 του παρόντος κανονισμού.

3. Θεωρείται εξευγενισμένο ελαιόλαδο, κατά την έννοια του σημείου 2 του παραρτήματος του κανονισμού αριθ. 136/66/ΕΟΚ, το έλαιο του οποίου τα χαρακτηριστικά είναι σύμφωνα με εκείνα που αναφέρονται στο παράρτημα I σημείο 5 του παρόντος κανονισμού.

4. Θεωρείται ελαιόλαδο, κατά την έννοια του σημείου 3 του παραρτήματος του κανονισμού 136/66/ΕΟΚ, το έλαιο του οποίου τα χαρακτηριστικά είναι σύμφωνα με εκείνα που αναφέρονται στο παράρτημα I σημείο 6 του παρόντος κανονισμού.

5. Θεωρείται ακατέργαστο πυρηνέλαιο ελιάς, κατά την έννοια του σημείου 4 του παραρτήματος του κανονισμού αριθ. 136/66/ΕΟΚ, το πυρηνέλαιο του οποίου τα χαρακτηριστικά είναι σύμφωνα με εκείνα που αναφέρονται στο παράρτημα I σημείο 7 του παρόντος κανονισμού.

6. Θεωρείται εξευγενισμένο πυρηνέλαιο, κατά την έννοια του σημείου 5 του παραρτήματος του κανονισμού αριθ. 136/66/ΕΟΚ, το πυρηνέλαιο του οποίου τα χαρακτηριστικά είναι σύμφωνα με εκείνα που αναφέρονται στο παράρτημα I σημείο 8 του παρόντος κανονισμού.

7. Θεωρείται πυρηνέλαιο κατά την έννοια του σημείου 6 του παραρτήματος του κανονισμού αριθ. 136/66/ΕΟΚ, το έλαιο του οποίου τα χαρακτηριστικά είναι σύμφωνα με εκείνα που αναφέρονται στο παράρτημα I σημείο 9 του παρόντος κανονισμού.

▼M15

8. Ωστόσο, για τις περιόδους εμπορίας 1998/99 έως 2000/2001, θεωρούνται επίσης ως παρθένα ελαιόλαδα, κατά την έννοια του σημείου 1α) β), γ) ή δ) του παραρτήματος του κανονισμού αριθ. 136/66/ΕΟΚ, τα χύδην ή σε άμεση συσκευασία για άμεση χρήση ελαιόλαδα καθαρού περιεχόμενου ίσου ή ανώτερου των 100 χιλιογράμμων, τα οποία κατάγονται καθ' ολοκληρίαν από το Μαρόκο, των οποίων τα χαρακτηριστικά είναι, αντίστοιχα, σύμφωνα προς εκείνα που προσδιορίζονται στο παράρτημα I σημεία 1, 2, 3 και 4 του παρόντος κανονισμού και, κατά παρέκκλιση των παραγράφων 1 και 2, των οποίων η περιεκτικότητα σε λινολενικό οξύ ανέρχεται κατ' ανώτατο όριο σε 1,0 %.

⁽¹⁾ ΕΕ αριθ. L 128 της 24. 5. 1977, σ. 6.

⁽²⁾ ΕΕ αριθ. L 166 της 1. 7. 1988, σ. 10.

▼ **B***Άρθρο 2*

1. Ο προσδιορισμός των χαρακτηριστικών των ελαίων που προβλέπονται στο παράρτημα I του παρόντος κανονισμού πραγματοποιείται σύμφωνα με τις εξής μεθόδους ανάλυσης:

- για τον προσδιορισμό των ελευθέρων λιπαρών οξέων, εκπεφρασμένων σε ποσοστό ελαϊκού οξέος, η μέθοδος που αναφέρεται στο παράρτημα II,
- για τον προσδιορισμό του αριθμού υπεροξειδίων, η μέθοδος που αναφέρεται στο παράρτημα III,
- για τον προσδιορισμό των αλιφατικών αλκοολών, η μέθοδος που αναφέρεται στο παράρτημα IV,
- για τον προσδιορισμό των στερολών, η μέθοδος που αναφέρεται στο παράρτημα V,
- για τον προσδιορισμό της ερυθροδιόλης, η μέθοδος που αναφέρεται στο παράρτημα VI,
- για τον προσδιορισμό των κεκορεσμένων λιπαρών οξέων στη θέση 2 των τριγλυκεριδίων, η μέθοδος που αναφέρεται στο παράρτημα VII,
- για τον προσδιορισμό της συνθέσεως των τριγλυκεριδίων, η μέθοδος που αναφέρεται στο παράρτημα VIII,
- για την φασματοφωτομετρική ανάλυση, η μέθοδος που αναφέρεται στο παράρτημα IX,
- για τον προσδιορισμό της συνθέσεως των λιπαρών οξέων, η μέθοδος που αναφέρεται στα παραρτήματα A και B.
- για τον προσδιορισμό των αλογονομένων πτητικών υδρογονανθράκων, η μέθοδος που αναφέρεται στο παράρτημα XI,
- για την αξιολόγηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των παρθένων ελαιολάδων, η μέθοδος που αναφέρεται στο παράρτημα XII, που εφαρμόζεται σύμφωνα με την παράγραφο 2,
- για την δοκιμή του έξιευγενισμού, η μέθοδος που αναφέρεται στο παράρτημα XIII,

▼ **M11**

- για τον προσδιορισμό των στιγμασταδιενίων, η μέθοδος που αναφέρεται στο παράρτημα XVII,

▼ **M13**

- για τον προσδιορισμό της συνθέσεως των τριγλυκεριδίων σε ECN42, η μέθοδος που αναφέρεται στο παράρτημα XVIII.

▼ **B**

2. ► **M3** Ο αναλυτής, που είναι ειδικός στην εκτίμηση οργανοληπτικών χαρακτηριστικών (γευσσιολόγος) ή επικουρούμενος από ειδικούς ◀, προβαίνει στην εκτίμηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών σύμφωνα με τη διαδικασία που περιγράφεται στο δελτίο δοκιμής που αναφέρεται στο παράρτημα XII. Στην περίπτωση κατά την οποία ο αναλυτής προσδιορίζει χαρακτηριστικά διαφορετικά από εκείνα της κατηγορίας του προϊόντος, το δείγμα πρέπει να εξετάζεται από ομάδα δοκιμαστών σύμφωνα με τις διατάξεις του παραρτήματος XII.

Η δεύτερη ανάλυση πραγματοποιείται από την ομάδα δοκιμαστών σύμφωνα με την προαναφερθείσα διατάξεις.

Για την αξιολόγηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών στις διαδικασίες που σχετίζονται με το καθεστώς της παρέμβασης, η ομάδα δοκιμαστών πραγματοποιεί την αξιολόγηση σύμφωνα με το παραρτήμα XII.

▼ **M15**

3. Η λήψη δειγμάτων για τον καθορισμό των χαρακτηριστικών των ελαιολάδων που προβλέπεται στο παράρτημα I πραγματοποιείται σύμφωνα με το διεθνές πρότυπο EN ISO 661, όσον αφορά την (...) προπαρασκευή των δειγμάτων για την εκτέλεση δοκιμών.

▼ **B***Άρθρο 3*

Έως τις ► **M6** 28 Φεβρουαρίου 1993 ◀, η εισαγωγή των προβλεπομένων στο άρθρο 2 μεθόδων ανάλυσης δεν εμποδίζει τα κράτη μέλη να χρησιμοποιούν άλλες αποδεκτές και έγκυρες επιστημονικά μεθόδους, υπό τον όρο ότι δεν θα εμποδίζεται από αυτό η ελεύθερη κυκλοφορία των προϊόντων ► **C1** τα οποία είναι σύμφωνα προς τις κοινοτικές μεθόδους του εν εφαρμογή κανονισμού ◀. Τα ενδιαφερόμενα κράτη μέλη ανακοινώνουν αυτές τις άλλες μεθόδους στην Επιτροπή πριν τις χρησιμοποιήσουν.

Στην περίπτωση κατά την οποία μια από τις άλλες αυτές μεθόδους δίνει αποτέλεσμα διαφορετικό από εκείνο που προσδιορίστηκε με την κοινοτική μέθοδο, θεωρείται ότι ισχύει το αποτέλεσμα το οποίο επιτεύχθηκε με την εφαρμογή της κοινοτικής μεθόδου.

▼ **M5***Άρθρο 3α*

Σε περίπτωση διαφορών ως προς τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά ελαιολάδου το οποίο αποτελεί αντικείμενο εμπορικών συναλλαγών, τα ενδιαφερόμενα μέρη μπορούν να απευθυνθούν σε εγκεκριμένη επιτροπή δοκιμαστών της επιλογής τους.

Άρθρο 3β

Στην περίπτωση που διαπιστώνεται ότι τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά ενός ελαιολάδου διαφέρουν από εκείνα που προκύπτουν από την ονομασία του, το ενδιαφερόμενο κράτος μέλος επιβάλλει, με την επιφύλαξη άλλων ενδεχομένων κυρώσεων, διοικητικές ποινές, το ποσό των οποίων καθορίζεται ανάλογα με την σοβαρότητα της διαπιστωθείσας παρατυπίας.

Για την αξιολόγηση της παρατυπίας αυτής, λαμβάνεται υπόψη η φυσική εξέλιξη των χαρακτηριστικών ενός ελαιολάδου που διατηρείται υπό κανονικές συνθήκες.

Τα κράτη μέλη ενημερώνουν την Επιτροπή, στην αρχή κάθε εξαμήνου, για τον αριθμό και τη φύση των διαπιστωθεισών παρατυπιών καθώς και τις κυρώσεις που επέβαλαν στη διάρκεια του προηγούμενου εξαμήνου.

Άρθρο 4

1. Για την αξιολόγηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, τα κράτη μέλη συγκροτούν επιτροπές δοκιμαστών που αναλαμβάνουν τον επίσημο έλεγχο των χαρακτηριστικών αυτών, και που πρέπει να ανταποκρίνονται στους ακόλουθους όρους:

- αποτελούνται από δοκιμαστές που έχουν επιλεγεί και εξασκηθεί σύμφωνα με τους προβλεπόμενους κανόνες στη μέθοδο του παραρτήματος XII,
- διαθέτουν τις εγκαταστάσεις και το υλικό που απαιτούνται για την οργανοληπτική αξιολόγηση σύμφωνα με τους κανόνες που προβλέπονται στην προαναφερθείσα μέθοδο,
- χρησιμοποιούν το ειδικό λεξιλόγιο της οργανοληπτικής ανάλυσης του ελαιολάδου, το φύλλο χαρακτηριστικών και τον πίνακα βαθμολόγησης που προβλέπονται στην εν λόγω μέθοδο,
- δεσμεύονται να πραγματοποιούν τις οργανοληπτικές αξιολογήσεις που προβλέπονται σε κοινοτικό ή διεθνές επίπεδο κατά τη διάρκεια περιοδικών ελέγχων ή συνόδων εναρμόνισης των κριτηρίων αντίληψης,
- υποχρεούνται να παρέχουν ετησίως στην Επιτροπή όλες τις πληροφορίες όσον αφορά τις αλλαγές που πραγματοποιούνται στη σύσταση της επιτροπής και τον αριθμό αξιολογήσεων που πραγματοποιούνται από την εγκεκριμένη επιτροπή.

▼ M5

Κάθε κράτος μέλος προβαίνει στην έγκριση των επιτροπών που πληρούν τους όρους που περιγράφονται ανωτέρω και που έχουν συσταθεί στην επικράτειά του. Επιλέγει από αυτές την (τις) επιτροπή (επιτροπές) που αναλαμβάνει (αναλαμβάνουν) τις αναλύσεις επιθεώρησης.

Οι επιτροπές που συγκροτούνται από τα κράτη μέλη πριν από την 1η Νοεμβρίου 1992, σύμφωνα με τους κανόνες που προβλέπονται από τη μέθοδο που αναφέρεται στο παράρτημα XII, θεωρούνται ως εγκεκριμένες κατά την έννοια του παρόντος άρθρου.

Κάθε κράτος μέλος ανακοινώνει τον κατάλογο των εγκεκριμένων επιτροπών στην Επιτροπή καθώς και στα κράτη μέλη.

2. Στην περίπτωση που ένα κράτος αντιμετωπίζει δυσκολίες για να συγκροτήσει επιτροπή δοκιμαστών στην επικράτειά του, μπορεί να προσφύγει σε αναγνωρισμένη επιτροπή δοκιμαστών σε ένα άλλο κράτος μέλος.

3. Κάθε κράτος μέλος καθορίζει τον κατάλογο των επιτροπών δοκιμαστών που συγκροτούνται από τις επαγγελματικές ή διεπαγγελματικές οργανώσεις σύμφωνα με τους όρους που περιγράφονται στην παράγραφο 1 και μεριμνά για την τήρηση των όρων αυτών.

▼ M6*Άρθρο 5*

Οι συμπληρωματικές σημειώσεις 2, 3 και 4 του κεφαλαίου 15 της συνδιασμένης ονοματολογίας όπως εμφανίζονται στο παράρτημα I του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 2658/87 του Συμβουλίου⁽¹⁾ αντικαθίστανται από το κείμενο του παραρτήματος XIV του παρόντος κανονισμού.

▼ B*Άρθρο 6*

1. Η περιεκτικότητα σε έλαιο των ελαιοπυρήνων και των άλλων υπολειμμάτων εκχύλισης του ελαιολάδου (κωδικός ΣΟ 2306 90 11 και 2306 90 19) προσδιορίζεται σύμφωνα με τη μέθοδο που αναφέρεται στο παράρτημα XV.

2. Η περιεκτικότητα σε έλαιο που αναφέρεται στην παράγραφο 1 είναι εκπεφρασμένη επί του 3 % κατά βάρος επί ξηράς ουσίας.

Άρθρο 7

Εφαρμόζονται οι κοινοτικές διατάξεις οι σχετικές με την παρουσία ανεπιθύμητων ουσιών, εκτός των ουσιών που αναφέρονται στο παράρτημα XI του παρόντος κανονισμού.

Άρθρο 8

1. Τα κράτη μέλη ανακοινώνουν στην Επιτροπή τα μέτρα που έχουν λάβει για την εφαρμογή του παρόντος κανονισμού.

2. Τα κράτη μέλη κοινοποιούν στην Επιτροπή, στην αρχή κάθε εξαμήνου τα αποτελέσματα των αναλύσεων που πραγματοποιήθηκαν κατά το προηγούμενο εξάμηνο.

Τα αποτελέσματα αυτά εξετάζονται από την Επιτροπή Διαχείρισης Λιπαρών Ουσιών σύμφωνα με τη διαδικασία που προβλέπεται από το άρθρο 39 του κανονισμού αριθ. 136/66/ΕΟΚ.

Άρθρο 9

Ο κανονισμός (ΕΟΚ) αριθ. 1058/77 καταργείται.

⁽¹⁾ ΕΕ αριθ. L 256 της 7. 9. 1987, σ. 1.

▼B*Άρθρο 10*

1. Ο παρών κανονισμός αρχίζει να ισχύει την τρίτη ημέρα από τη δημοσίευσή του στην *Επίσημη Εφημερίδα των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων*.

Η εφαρμογή της μεθόδου του παραρτήματος XII αρχίζει από την ►**M1** 1η Νοεμβρίου 1992 ◀, εξαιρουμένων των διαδικασιών των σχετικών με την παρέμβαση.

▼M5

Η μέθοδος αυτή δεν εφαρμόζεται στα παρθένα ελαιόλαδα που συσκευάζονται πριν από την 1η Νοεμβρίου 1992.

▼B

2. Ο παρών κανονισμός δεν ισχύει για τα ελαιόλαδα και τα πυρηνέλαια που συσκευάστηκαν έως την ημερομηνία έναρξης ισχύος του παρόντος κανονισμού και τέθηκαν στο εμπόριο έως τις 31 Οκτωβρίου 1992.

Ο παρών κανονισμός είναι δεσμευτικός ως προς όλα τα μέρη του και ισχύει άμεσα σε κάθε κράτος μέλος.

▼ **B**

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

Σύνοψη

Παράρτημα I:	Χαρακτηριστικά των ελαιολάδων ...
Παράρτημα II:	Προσδιορισμός οξύτητας ...
Παράρτημα III:	Προσδιορισμός του αριθμού υπεροξειδίων ...
Παράρτημα IV:	► M6 Προσδιορισμός της περιεκτικότητας σε κηρούς διά χρωματογραφίας αερίου φάσεως με τριχοειδή στήλη ◀ ...
Παράρτημα V:	Προσδιορισμός της σύνθεσης και του περιεχομένου των στερολών δι' αερίου χρωματογραφίας με τριχοειδή στήλη ...
Παράρτημα VI:	Προσδιορισμός ερυθροδιόλης και ουβαόλης ...
Παράρτημα VII:	Προσδιορισμός λιπαρών οξέων στη 2-δέση στα τριγλυκερίδια ελαίων και λιπών ...
Παράρτημα VIII:	Προσδιορισμός περιεκτικότητας τριγλυκερίδιων ...
▼ C1	
Παράρτημα IX:	Φασματοφωτομετρική ανάλυσις στο υπεριώδες ...
▼ B	
Παράρτημα XA:	Ανάλυση μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων δι' αερίου χρωματογραφίας ...
Παράρτημα XB:	Παρασκευή μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων σύμφωνα με το παράρτημα VI, σημεία I και II του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 72/77 ή σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται κατωτέρω ...
▼ C1	
Παράρτημα XI:	Προσδιορισμός της περιεκτικότητας του ελαιολάδου σε αλογονούχους πτητικούς διαλύτες ...
▼ B	
Παράρτημα XII:	Οργανοληπτική αξιολόγηση του παρθένου ελαιολάδου ...
Παράρτημα XIII:	► M6 Εξουδετέρωση και αποχρωματισμός του ελαιολάδου στο εργαστήριο ◀ ...
Παράρτημα XIV:	Συμπληρωματικές σημειώσεις 2,3 και 4 του κεφαλαίου 15 της συνδυασμένης ονοματολογίας ...
Παράρτημα XV:	Περιεκτικότητα σε έλαιο των ελαιοπυρήνων ...
Παράρτημα XVI:	Προσδιορισμός του αριθμού ιωδίου ...
▼ M11	
Παράρτημα XVII:	Μέθοδος προσδιορισμού των στιγμασταδιενίων στα φυτικά έλαια ...
▼ M13	
Παράρτημα XVIII:	Μέθοδος προσδιορισμού της σύστασης τριγλυκερίδιων σε ECN42 ...

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Κατηγορία	Οξύτητα (%) (*)	Δείκτης υπεροξειδίου mEq O ₂ /kg (*)	Αλογονο-μένοι διαλύτες mg/kg (*) (1)	Κηροί mg/kg	Κορεσμένα λιπαρά οξέα στη θέση 2 τριγλυκερίδια (%)	Στιγμαστα-διένια (2) mg/kg	Διαφορά ECN42 HPLC και EGN42 θεορητικός υπολογι-σμός	K ₂₃₂ (*)	K ₂₇₀ (*)	K ₂₇₀ μετά από διέλευση υπεράνω αλου-μίννας (3)	ΔΚ (*)	Δοκιμασία επιρροής (*)
1. Εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο	≤ 1,0	≤ 20	≤ 0,20	≤ 250	≤ 1,3	≤ 0,15	≤ 0,2	≤ 2,50	≤ 0,20	≤ 0,10	≤ 0,01	≥ 6,5
2. Παρθένο ελαιόλαδο	≤ 2,0	≤ 20	≤ 0,20	≤ 250	≤ 1,3	≤ 0,15	≤ 0,2	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,10	≤ 0,01	≥ 5,5
3. Κουράντε παρθένο ελαιόλαδο	≤ 3,3	≤ 20	≤ 0,20	≤ 250	≤ 1,3	≤ 0,15	≤ 0,2	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,10	≤ 0,01	≥ 3,5
4. Μειονεκτικό παρθένο ελαιόλαδο	> 3,3	> 20	> 0,20	≤ 350	≤ 1,3	≤ 0,50	≤ 0,3	≤ 3,70	> 0,25	≤ 0,11	—	< 3,5
5. Εξευγενισμένο ελαιόλαδο	≤ 0,5	≤ 5	≤ 0,20	≤ 350	≤ 1,5	—	≤ 0,3	≤ 3,40	≤ 1,20	—	≤ 0,16	—
6. Ελαιόλαδο	≤ 1,5	≤ 15	≤ 0,20	≤ 350	≤ 1,5	—	≤ 0,3	≤ 3,30	≤ 1,00	—	≤ 0,13	—
7. Ακάθαρτο πυρηνέ-λαιο	> 0,5	—	—	—	≤ 1,8	—	≤ 0,6	—	—	—	—	—
8. Εξευγενισμένο πυρη-νέλαιο	≤ 0,5	≤ 5	≤ 0,20	—	≤ 2,0	—	≤ 0,5	≤ 5,50	≤ 2,50	—	≤ 0,25	—
9. Πυρηνέλαιο	≤ 1,5	≤ 15	≤ 0,20	> 350	≤ 2,0	—	≤ 0,5	≤ 5,30	≤ 2,00	—	≤ 0,20	—

(1) Συνολικό μέγιστο ανώτατο όριο για τις αλογονωμένες ενώσεις που ανιχνεύονται με ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων.

Για τις ενώσεις που ανιχνεύονται μεμονωμένα, το ανώτατο όριο είναι 0,10 mg/kg.

(2) Άθροισμα ισομερών που θα μπορούσαν να διαχωριστούν (ή όχι).

(3) Προκειμένου να επαληθευθεί η ύπαρξη εξευγενισμένου ελαίου, όταν το K₂₇₀ υπερβαίνει το όριο της σχετικής κατηγορίας, πρέπει να πραγματοποιηθεί νέος προσδιορισμός του K₂₇₀ μετά από διαβίβαση υπεράνω αλουμίννας.

Σημειώσεις:

Τα αποτελέσματα των αναλύσεων πρέπει να εκφράζονται με τον ίδιο αριθμό σημαντικών ψηφίων με αυτόν που προβλέπεται για κάθε χαρακτηριστικό.

Το τελευταίο σημαντικό ψηφίο στρογγυλεύεται προς τα πάνω εάν το επόμενο μη σημαντικό ψηφίο είναι μεγαλύτερο του 4.

Αρκεί ένα μόνο χαρακτηριστικό του ελαίου να μη συμμορφώνεται προς τις αναφερόμενες τιμές ώστε να αλλάξει η κατηγορία του ή να κριθεί ότι δεν πληροί τις προδιαγραφές καθαρότητας.

Τα χαρακτηριστικά που σημειώνονται με αστερίσκο (*), που αναφέρονται στην ποιότητα του ελαίου, σημαίνουν ότι:

— για το μειονεκτικό παρθένο ελαιόλαδο, δεν είναι απαραίτητη η ταυτόχρονη τήρηση των σχετικών ορίων (πλην του K₂₃₂).

— για τα υπόλοιπα παρθένα ελαιόλαδα, η μη τήρηση τουλάχιστον ενός εξ αυτών των ορίων επιφέρει αλλαγή κατηγορίας, κατατάσσόμενα σε μία από τις κατηγορίες παρθένων ελαιολάδων.

Κατηγορία	Περιεκτικότητα σε οξέα						Αθροισμα ισομερών trans λινο-λαϊκού και λινο-λεντικού οξέος (%)	Αθροισμα ισομερών trans λινο-λαϊκού και λινο-λεντικού οξέος (%)	Χοληστερόλη (%)	Βρασι-καστερόλη (%)	Καμπεστερόλη (%)	Στιγμαστερόλη (%)	β-σιτοστερόλη (%)	δ-7-στιγμαστερόλη (%)	Συνολικές στερόλες (mg/kg)	Ερυθρο-διόλη και οξβα-διόλη (%)
	Μυριστικό (%)	Λινολενικό (%)	Αραχιδικό (%)	Εικοσάνοϊκό (%)	Βεγγονικό (%)	Λιγνοπριτικό (%)										
1. Εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο	≤ 0,05	≤ 0,9	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Καμπ.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1000	≤ 4,5
2. Παρθένο ελαιόλαδο	≤ 0,05	≤ 0,9	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Καμπ.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1000	≤ 4,5
3. Κουράντε παρθένο ελαιόλαδο	≤ 0,05	≤ 0,9	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Καμπ.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1000	≤ 4,5
4. Μειονεκτικό παρθένο ελαιόλαδο	≤ 0,05	≤ 0,9	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,10	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1000	≤ 4,5
5. Εξευγενισμένο ελαιόλαδο	≤ 0,05	≤ 0,9	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Καμπ.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1000	≤ 4,5
6. Ελαιόλαδο	≤ 0,05	≤ 0,9	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,30	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Καμπ.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1000	≤ 4,5
7. Ακάθαρτο πυρηνέλαιο	≤ 0,05	≤ 0,9	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 2500	≥ 12
8. Εξευγενισμένο πυρηνέλαιο	≤ 0,05	≤ 0,9	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,40	≤ 0,40	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< Καμπ.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1800	≥ 12
9. Πυρηνέλαιο	≤ 0,05	≤ 0,9	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,40	≤ 0,40	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< Καμπ.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1600	> 4,5

(1) Αθροισμα των: δ-5,23-στιγμασταδιενόλη+κλεροστερόλη+σιτοστερόλη+σιτοστανόλη+δ-5-αβεναστερόλη+δ-5,24-στιγμασταδιενόλη.

Σημειώσεις:

Τα αποτελέσματα των αναλύσεων πρέπει να εκφράζονται με τον ίδιο αριθμό σημαντικών ψηφίων με αυτόν που προβλέπεται για κάθε χαρακτηριστικό.

Το τελευταίο σημαντικό ψηφίο στρογγυλεύεται προς τα πάνω εάν το επόμενο μη σημαντικό ψηφίο είναι μεγαλύτερο του 4.

Αρκεί ένα μόνο χαρακτηριστικό του ελαίου να μη συμμορφώνεται προς τις ενδεικνυόμενες τιμές ώστε να αλλαγεί η κατηγορία του ή να κριθεί ότι δεν πληροί τι προδιαγραφές καθαρότητας.



ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ II

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΞΥΤΗΤΑΣ

1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ

Ο προσδιορισμός ελεύθερων λιπαρών οξέων σε ελαιόλαδα. Η περιεκτικότητα σε ελεύθερα λιπαρά οξέα εκφράζεται ως οξύτητα υπολογισθείσα με συμβατικό τρόπο.

1.1. Αρχή

Διαλύεται το δείγμα σε μείγμα διαλυτών και τα περιεχόμενα ελεύθερα λιπαρά οξέα ογκομετρούνται χρησιμοποιώντας διάλυμα υδροξειδίου του καλίου σε αιθανόλη.

1.2. Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναγνωρισμένης αναλυτικής καθαρότητας και το χρησιμοποιούμενο νερό να είναι απεσταγμένο ή ισοδύναμης καθαρότητας.

1.2.1. Μείγμα διαιθυλαιθέρος αιθανόλης 95 % [με αναλογία 1:1 (V/V)].

Προσοχή: Ο διαιθυλαιθέρας είναι εξαιρετικά εύφλεκτος και μπορεί να σχηματίζει εκρηκτικά υπεροξειδία. Πρέπει να λαμβάνεται ειδική μέριμνα κατά τη χρήση του.

Εξουδετερώνεται ακριβώς τη στιγμή χρησιμοποίησής του με το διάλυμα υδροξειδίου του καλίου (1.2.2), με την προσθήκη 0,3 ml διαλύματος φαινολοφθαλεϊνης (1.2.3) ανά 100 ml μείγματος.

Σημείωση: Εάν δεν είναι δυνατό να χρησιμοποιηθεί διαιθυλαιθέρας, μπορεί να χρησιμοποιηθεί μείγμα διαλυτών που περιέχει αιθανόλη και τολουόλιο. Εάν χρειαστεί, η αιθανόλη μπορεί να αντικατασταθεί από 2-προπανόλη.

1.2.2. Πρότυπο διάλυμα υδροξειδίου του καλίου σε αιθανόλη, κανονικότητας περίπου 0,1 mol/l ή, εάν χρειαστεί, περίπου 0,5 mol/l.

Η ακριβής συγκέντρωση του αιθανολικού διαλύματος υδροξειδίου του καλίου πρέπει να είναι γνωστή και να έχει ελεγχθεί ακριβώς πριν χρησιμοποιηθεί. Χρησιμοποιείται διάλυμα παρασκευασμένο τουλάχιστον πέντε ημέρες πριν από τη χρήση και αποθηκευμένο σε σκούρα (καστανή) γυάλινη φιάλη με ελαστικό πώμα. Το διάλυμα πρέπει να είναι άχρωμο ή χρώματος αμυδρώς κίτρινου.

Σημείωση: Ένα σταθερό άχρωμο διάλυμα υδροξειδίου του καλίου μπορεί να παρασκευαστεί ως εξής: Φέρονται σε βρασμό 1 000 ml αιθανόλης με 8 g υδροξειδίου του καλίου και 0,5 g ρινισμάτων αργιλίου και συνεχίζεται επί μία ώρα ο βρασμός με κάθετο ψυκτήρα. Εκτελείται αμέσως διήθηση. Διαλύεται μέσα στο διήθημα η απαιτούμενη ποσότητα υδροξειδίου του καλίου. Αφήνονται επί αρκετές ημέρες και το διαυγές υπερκείμενο υγρό διαχωρίζεται με έκχυση από το ίζημα ανθρακικού καλίου.

Το διάλυμα μπορεί επίσης να παρασκευαστεί χωρίς διήθηση ως εξής: Σε 1 000 ml αιθανόλης προστίθενται 4 ml βουτυλικού αργιλίου και το μείγμα αφήνεται επί αρκετές ημέρες. Το υπερκείμενο υγρό εκχύεται και διαλύεται η απαιτούμενη ποσότητα υδροξειδίου του καλίου. Το διάλυμα είναι έτοιμο προς χρήση.

1.2.3. Φαινολοφθαλεϊνή, διάλυμα 10 g/l σε αιθανόλη 95-96 (V/V) ή κυανού της βρωμοφαινόλης (στην περίπτωση λιπών με έντονο χρώμα), διάλυμα 20 g/l σε αιθανόλη 95-96 (V/V).

1.3. Όργανα

Συνθιτισμένος εργαστηριακός εξοπλισμός, περιλαμβάνοντας:

1.3.1. Αναλυτικό ζυγό.

1.3.2. Κωνική φιάλη των 250 ml.

1.3.3. Προχοΐδα των 10 ml, βαθμονομημένη ανά 0,05 ml.

▼B

1.4. Διαδικασία

1.4.1. Παρασκευή δείγματος προς ανάλυση

Ο προσδιορισμός πραγματοποιείται επί του διηθημένου δείγματος, εάν η συνολική περιεκτικότητα σε υγρασία και ξένες προσμείξεις είναι μικρότερη από 1 %, ο προσδιορισμός πραγματοποιείται επί του δείγματος όπως έχει.

1.4.2. Ποσότης του δείγματος δοκιμής

Η ποσότης του δείγματος δοκιμής είναι ανάλογη με την αναμενόμενη οξύτητα, σύμφωνα με τον ακόλουθο πίνακα.

Αναμενόμενος δείκτης οξύτητας	Μάζα δείγματος δοκιμής	Ακρίβεια ζύγισης δείγματος δοκιμής
< 1	20	0,05
1 μέχρι 4	10	0,02
4 μέχρι 15	2,5	0,01
15 μέχρι 75	0,5	0,001
> 75	0,1	0,0002

Το δείγμα δοκιμής ζυγίζεται στην κωνική φιάλη (4.3.2).

1.4.3. Προσδιορισμός

Το δείγμα δοκιμής (1.4.2) διαλύεται σε 50 ως 150 ml του προηγούμενα εξουδετερωμένου μείγματος διαιθυλαιθέρος και αιθανόλης (1.2.1).

Ογκομετρείται με ταυτόχρονη ανάδευση με το διάλυμα 0,1 mol υδροξειδίου του καλίου (1.2.2) (βλέπε σημείωση 2) έως ότου αλλάξει χρώμα ο δείκτης (το ρόδινο χρώμα της φαινολοφθαλείνης επικρατεί επί τουλάχιστον 10 δευτερόλεπτα).

Σημειώσεις: Το τιτλοδοτημένο αιθανολικό διάλυμα υδροξειδίου του καλίου (1.2.2) δύναται να αντικατασταθεί από ένα υδατικό διάλυμα υδροξειδίου του καλίου ή του νατρίου, εφόσον ο όγκος του εισαχθέντος ύδατος δεν επιφέρει διαχωρισμό των φάσεων.

Εάν η απαραίτητη ποσότητα διαλύματος του υδροξειδίου του καλίου 0,1 mol/l υπερβαίνει τα 10 ml, χρησιμοποιείται ένα διάλυμα 0,5 mol/l.

Εάν το διάλυμα θολώνει κατά την ογκομέτρηση, προστίθεται μια ικανοποιητική ποσότητα μείγματος διαλυτών προκειμένου να επιτευχθεί ένα διαγές διάλυμα.

1.5. Έκφραση της οξύτητας επί τοις % συγκέντρωσης ελαϊκού οξέος

Η οξύτητα, εκφρασμένη σε κατά βάρος εκατοστιαία αναλογία, ισούται με:

$$V \times c \times \frac{M}{1000} \times \frac{100}{m} = \frac{V \times c \times M}{10 \times m}$$

όπου:

V είναι ο όγκος σε χιλιοστόλιτρα, του τιτλοδοτημένου διαλύματος υδροξειδίου του καλίου που έχει χρησιμοποιηθεί,

c είναι η ακριβής συγκέντρωση, σε moles ανά λίτρο, του τιτλοδοτημένου διαλύματος υδροξειδίου του καλίου που έχει χρησιμοποιηθεί,

M είναι το γραμμομοριακό βάρος, σε γραμμάρια ανά mole, του οξέος που χρησιμοποιήθηκε για την έκφραση του αποτελέσματος (= 282),

m είναι το βάρος, σε γραμμάρια, του δείγματος δοκιμής.

Ως αποτέλεσμα λαμβάνεται ο αριθμητικός μέσος όρος ► **M6** δύο προσδιορισμών ◀.



ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΑΡΙΘΜΟΥ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΩΝ

1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ

Η προδιαγραφή αυτή περιγράφει μια μέθοδο προσδιορισμού του αριθμού των υπεροξειδίων ελαίων και λιπών.

2. ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

►C1 Η μέθοδος ◀ αυτή είναι εφαρμόσιμη σε ζωικά και φυτικά έλαια και λίπη.

3. ΟΡΙΣΜΟΣ

Ο αριθμός υπεροξειδίων εκφράζει την ποσότητα αυτών των συστατικών του δείγματος (εκφρασμένη σε χιλιοστοϊσοδύναμα ενεργού οξυγόνου ανά kg) που οξειδώνουν το ιωδιούχο κάλιο κάτω από τις περιγραφόμενες συνθήκες αναλύσεις.

4. ΑΡΧΗ

Το ληφθέν δείγμα διαλύεται σε μείγμα οξικού οξέος και χλωροφόρμιου και προστίθεται διάλυμα ιωδιούχου καλίου. Ογκομέτρηση του απελευθερούμενου ιωδίου με πρότυπο διάλυμα θειοθειικού νατρίου.

5. ΟΡΓΑΝΑ

Όλος ο χρησιμοποιούμενος εξοπλισμός πρέπει να είναι απαλλαγμένος αναγωγικών ή οξειδωτικών ουσιών.

Σημείωση: Να μην λιπαίνονται οι εσφυρισμένες επιφάνειες.

5.1. Γυάλινο κουτάλι των 3 ml.

5.2. Εσφυρισμένες φιάλες με πώματα, χωρητικότητας περίπου 250 ml, οι οποίες προηγουμένως έχουν ξηρανθεί και στις οποίες έχει διαβιβασθεί αδρανές αέριο (άζωτο ή, προτιμότερα, διοξείδιο του άνθρακα).

5.3. Προχοΐδα των 25 ή 50 ml, βαθμολογημένη ανά 0,1 ml.

6. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

6.1. Χλωροφόρμιο, αναλυτικής καθαρότητας, απαλλαγμένο οξυγόνου με διοχέτευση υπό πίεση, μέσα από αυτό, ρεύματος καθαρού, ξηρού αδρανούς αερίου.

6.2. Κρυσταλλικό οξικό οξύ, αναλυτικής καθαρότητας, απαλλαγμένο οξυγόνου με διοχέτευση, υπό πίεση, μέσα από αυτό, καθαρού, ξηρού αερίου.

6.3. Κεκορεσμένο υδατικό διάλυμα ΚΙ προσφάτως παρασκευασθέν, απαλλαγμένο από ιώδιο και ιωδικά.

6.4. Πρότυπο διάλυμα ►C1 θειοθειικού ◀ νατρίου 0,01 ή 0,002 N, τιτλοδοτημένο μόλις πριν χρησιμοποιηθεί.

6.5. Υδατικό διάλυμα αμύλου 10 g/l, πρόσφατα παρασκευασμένο από φυσικό διαλυτό άμυλο.

7. ΔΕΙΓΜΑ

Να ληφθεί μέριμνα για την παραλαβή και διατήρηση του δείγματος μακριά από φώς, θερμότητα και σε εντελώς γεμάτα γυάλινα δοχεία, ερμητικά σφραγισμένα με πώματα, από αδιαφανές γυαλί ή φελλό.

8. ΠΟΡΕΙΑ ΑΝΑΛΥΣΕΩΣ

Η ανάλυση πρέπει να γίνεται με διάχυτο φυσικό ή με τεχνητό φωτισμό. Ζυγίζεται σε γυάλινο κουτάλι (5.1) ή εάν αυτό δεν υπάρχει, σε φιάλη (5.2) με ακρίβεια 0,001 g, ποσότης του δείγματος σύμφωνα με τον ακόλουθο πίνακα, ανάλογα με τον αναμενόμενο αριθμό υπεροξειδίων.

▼B

Αναμενόμενος αριθμός υπεροξειδίων (mEq)	Βάρος δείγματος σε gr (g)
0-12	5,0-2,0
12-20	2,0-1,2
20-30	1,2-0,8
30-50	0,8-0,5
50-90	0,5-0,3

Αποποματίζεται μία φιάλη (5.2) και εισάγεται το γυάλινο κουτάλι που περιέχει τη ζυγισθείσα ποσότητα του δείγματος. Προστίθενται 10 ml χλωροφόρμιου (6.1). Διαλύεται το δείγμα γρήγορα με ανάδευση. Προστίθενται 15 ml οξικού οξέος (6.2), κατόπιν 1 ml διαλύματος ιωδιούχου καλίου (6.3). Ποματίζεται γρήγορα, γίνεται ανάδευση επί ένα λεπτό, και αφήνεται για 5 λεπτά ακριβώς, μακριά από το φώς σε θερμοκρασία 15 έως 25 °C.

Προστίθενται περίπου 75 ml απεσταγμένου νερού. Το απελευθερούμενο ιώδιο ογκομετρείται με το διάλυμα του θειοθειικού νατρίου (6.4) (διάλυμα 0,002 N για αναμενόμενες τιμές μικρότερες από 12, και διάλυμα 0,01 N για αναμενόμενες τιμές πάνω από 12) με ζωηρή ανάδευση, χρησιμοποιώντας διάλυμα αμύλου (6.5) σαν δείκτη.

Εκτελούνται δύο ποσδιορισμοί στο ίδιο δοκιμαστικό δείγμα.

Εκτελείται ταυτόχρονα λευκός προσδιορισμός (τυφλός). Εάν το αποτέλεσμα του τυφλού ξεπερνά τα 0,05 ml διαλύματος 0,01 N θειοθειικού νατρίου (6.4), αντικαθίστανται τα αντιδραστήρια.

9. ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Ο αριθμός υπεροξειδίων (AY), εκπεφρασμένος σε χιλιοστοϊσοδύναμα ενεργού οξυγόνου ανά kg, δίνεται από τη σχέση:

$$AY = \frac{V \times T \times 1000}{m}$$

όπου V είναι ο αριθμός των ml του προτύπου διαλύματος θειοθειικού νατρίου (6.4) χρησιμοποιούμενου για την ογκομέτρηση, μετά την αφαίρεση του λευκού,

T είναι η ακριβής κανονικότητα του διαλύματος θειοθειικού νατρίου (6.4) που χρησιμοποιείται,

m είναι το βάρος του δείγματος σε g.

Σαν αποτέλεσμα λαμβάνεται ο αριθμητικός μέσος των δύο εκτελεσθέντων προσδιορισμών.

▼ **M6***ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ IV***ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΚΗΡΟΥΣ ΔΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ ΑΕΡΙΟΥ ΦΑΣΕΩΣ ΜΕ ΤΡΙΧΟΕΙΔΗ ΣΤΗΛΗ****1. ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ**

Η μέθοδος περιγράφει διαδικασία προσδιορισμού της περιεκτικότητας σε κηρούς ορισμένων λιπαρών ουσιών υπό τις συνθήκες της δοκιμασίας.

Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διάκριση μεταξύ του ελαιολάδου που λαμβάνεται με έκθλιψη και εκείνου που λαμβάνεται με εκχύλιση (έλαιο εξ ελαιοπυρήνων).

2. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Προσθήκη κατάλληλου εσωτερικού προτύπου στη λιπαρή ουσία και διαχωρισμός με χρωματογραφία σε στήλη silica gel. Παραλλαγή του πρώτου κλάσματος που εκλύεται υπό τις συνθήκες της δοκιμασίας (με πολικότητα μικρότερη εκείνης των τριγλυκεριδίων) και άμεση ανάλυση με αέριο χρωματογραφία τριχοειδούς στήλης.

3. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

- 3.1. Φιάλη Erlenmeyer των 25 ml.
- 3.2. Υάλινη στήλη χρωματογραφίας, εσωτερικής διαμέτρου 15,0 mm και ύψους 30 έως 40 cm.
- 3.3. Κατάλληλος χρωματογράφος αερίου φάσεως με τριχοειδή στήλη, εφοδιασμένος με σύστημα απευθείας εισαγωγής στη στήλη αποτελούμενος από:
 - 3.3.1. Θερμοστατικό κλίβανο για τις στήλες ικανό να διατηρεί την επιθυμητή θερμοκρασία με ακρίβεια ± 1 °C.
 - 3.3.2. Σύστημα έγχυσης εν ψυχρώ για απευθείας εισαγωγή στη στήλη.
 - 3.3.3. Ανιχνευτή ιονισμού φλόγας και μετατροπέα-ενισχυτή.
 - 3.3.4. Καταγραφέα-ολοκληρωτή δυνάμενο να λειτουργεί με τον μετατροπέα-ενισχυτή (βλέπε 3.3.3), με χρόνο απόκρισης που δεν υπερβαίνει το 1 δευτερόλεπτο και μεταβλητή ταχύτητα χαρτιού.
 - 3.3.5. Τριχοειδή στήλη από γυαλί ή τετηγμένο διοξειδίο του πυριτίου, ►C2 μήκους 10 έως 15 m ◀, εσωτερικής διαμέτρου 0,25 έως 0,32 mm, επικαλυμμένη εσωτερικά με υγρό SE-54 ή κάτι αντίστοιχο, ομοιόμορφου πάχους 0,10 έως 0,30 μm.
- 3.4. Μικροσύριγγα των 10 μl κατάλληλη για έγχυση στη στήλη με βελόνα από επιφανειακώς σκληρυμένο χάλυβα (aiguille cimentée).

4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- 4.1. Πυριτιωμένη ζελατίνη (silica gel) 70 έως 230 mesh, 7754 Merck.

Η πυριτιωμένη ζελατίνη τοποθετείται στον κλίβανο σε θερμοκρασία 500 °C επί τέσσερις ώρες. Μετά από ψύξη, προστίθεται νερό σε αναλογία 2 %. Το μείγμα αναδεύεται μέχρις ότου ομογενοποιηθεί και διατηρείται στο σκοτάδι επί 12 τουλάχιστον ώρες πριν χρησιμοποιηθεί.
- 4.2. Κανονικό εξάνιο, για χρωματογραφία.
- 4.3. Αιθυλαιθέρας, για χρωματογραφία.
- 4.4. Κανονικό επτάνιο, για χρωματογραφία.
- 4.5. Πρότυπο διάλυμα λαυρικής αραχιδικής ένωσης 0,1 % κατ' όγκο μέσα στο εξάνιο (εσωτερικό πρότυπο).
- 4.6. Φέρον αέριο: υδρογόνο χρωματογραφικής καθαρότητας, για χρωματογραφία αερίου φάσεως.
- 4.7. Βοηθητικά αέρια:
 - υδρογόνο χρωματογραφικής καθαρότητας, για χρωματογραφία αερίου φάσεως,

▼ **M6**

— αέρας χρωματογραφικής καθαρότητας, για χρωματογραφία αερίου φάσεως.

5. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

5.1. Διαχωρισμός του κλάσματος των κηρών.

5.1.1. Προετοιμασία της χρωματογραφικής στήλης.

Φέρονται σε αιώρηση 15 g ένυδρου silica gel σε αναλογία 21 % μέσα στο άνυδρο κανονικό εξάνιο και το μείγμα εισάγεται στη στήλη.

Μετά από αυτόματη καθίζηση, αναδεύεται με τη βοήθεια ηλεκτρικού αναδευτήρα ώστε το χρωματογραφικό στρώμα να γίνει πιο ομογενές. Διηθούνται 30 ml κανονικού εξανίου για απομάκρυνση τυχόν ξένων προσμείξεων.

5.1.2. Εκτέλεση της χρωματογραφίας επί στήλης.

Ζυγίζονται με ακρίβεια 500 mg του δείγματος εκτός της φιάλης Ertenmeyer των 25 ml, προστίθεται η κατάλληλη ποσότητα εσωτερικού προτύπου, ανάλογα με την εκτιμώμενη περιεκτικότητα σε κηρούς. Για παράδειγμα, προστίθεται 0,1 mg λαυρικής αραχιδικής ένωσης στην περίπτωση του ελαιολάδου, και 0,25 έως 0,50 mg στην περίπτωση του πυρηνελαίου.

Το παραπάνω δείγμα μεταφέρεται στη στήλη (στην οποία έχει γίνει η προετοιμασία που περιγράφεται στο σημείο 5.1.1) με τη βοήθεια δύο ποσοτήτων κανονικού εξανίου των 2 ml η καθεμία.

Ο διαλύτης αφήνεται να ρεύσει μέχρι ύψους 1 mm υπεράνω του απορροφητικού υλικού, οπότε αρχίζει η χρωματογραφική έκλυση. Συλλέγονται 140 ml μείγματος κανονικού εξανίου-αιθυλαιθέρα 99:1, με ροή 15 περίπου σταγόνων ανά 10 δευτερόλεπτα (2,1 ml/min).

Το ούτω λαμβανόμενο κλάσμα ξηραίνεται μέσα στον περιστροφικό βραστήρα μέχρι πλήρους σχεδόν εξατμίσεως του διαλύτη. Τα εναπομένοντα 2 ή 3 ml διαλύτου απομακρύνονται διά διαβιβάσεως ελαφρού ρεύματος αζώτου. Εν συνεχεία, προστίθενται 10 ml κανονικού επτανίου.

5.2. Ανάλυση διά χρωματογραφίας αερίου φάσεως.

5.2.1. Προκαταρκτικές εργασίες, ρύθμιση της στήλης.

5.2.1.1. Τοποθετείται η στήλη μέσα στον χρωματογράφο αερίου φάσεως, διά συνδέσεως του άκρου εισόδου με το σύστημα «επί στήλης» (on-column) και το άκρο εξόδου με τον ανιχνευτή.

Πραγματοποιούνται οι συνήθεις έλεγχοι της συσκευής χρωματογραφίας αερίου φάσεως (στεγανότητα των κυκλωμάτων των αερίων, αποτελεσματικότητα του ανιχνευτή και του συστήματος καταγραφής, κ.λπ.).

5.2.1.2. Αν η στήλη χρησιμοποιείται για πρώτη φορά, συνιστάται η ρύθμισή της. Διαβιβάζεται ελαφρό ρεύμα αερίου μέσω της στήλης και εν συνεχεία η συσκευή τίθεται σε λειτουργία. Θερμαίνεται σταδιακά μέχρι θερμοκρασίας κατά 20 °C τουλάχιστον υψηλότερης από τη θερμοκρασία λειτουργίας (βλέπε σημείωση). Η θερμοκρασία αυτή διατηρείται επί 2 τουλάχιστον ώρες και εν συνεχεία γίνεται ρύθμιση της συσκευής στις συνθήκες λειτουργίας (ρύθμιση της ροής των αερίων, αφή της φλόγας, σύνδεση με τον ηλεκτρονικό καταγράφεα, ρύθμιση της θερμοκρασίας του θαλάμου για τη στήλη, ρύθμιση του ανιχνευτή, κ.λπ.) και καταγράφεται το σήμα με ευαισθησία τουλάχιστον δύο φορές μεγαλύτερη από την προβλεπόμενη για την εκτέλεση της ανάλυσης. Η βασική καμπύλη πρέπει να είναι γραμμική, χωρίς κορυφές και παρεκκλίσεις.

Ευθύγραμμη αρνητική παρέκκλιση σημαίνει κακή επαφή των συνδέσεων της στήλης· αρνητική παρέκκλιση σημαίνει ανεπαρκή ρύθμιση της στήλης.

Σημείωση: Η θερμοκρασία ρύθμισης θα πρέπει πάντως να είναι κατά 20 °C τουλάχιστον χαμηλότερη από τη μέγιστη θερμοκρασία που προβλέπεται για το χρησιμοποιούμενο υγρό έκλυσης.

▼ **M6**

5.2.2. Επιλογή των συνθηκών εργασίας

5.2.2.1. Κατά γενικών κανόνα, έχουν ως εξής:

- θερμοκρασία της στήλης: 80 °C στην αρχή, αύξηση εν συνεχεία κατά 30 °C/min μέχρι τους 120 °C και κατόπιν προγραμματισμένη αύξηση κατά 5 °C/min μέχρι τους 340 °C,
- θερμοκρασία του ανιχνευτή: 350 °C,
- γραμμική ταχύτητα του φέροντος αερίου: υδρογόνο 20 έως 35 cm/s,
- ευαισθησία των οργάνων: το 4-πλάσιο έως 16-πλάσιο της ελάχιστης εξασθένησης,
- ευαισθησία καταγραφής: 1 έως 2 mV της βασικής κλίμακας,
- ταχύτητα εκτύλιξης του χαρτιού: 30 cm/h,
- ποσότητα εγχέομενης ουσίας: 0,5 έως 1 μl διαλύματος.

Οι συνθήκες αυτές μπορούν να μεταβάλλονται ανάλογα με τα χαρακτηριστικά της στήλης και της συσκευής έτσι ώστε να λαμβάνονται χρωματογραφήματα που να ικανοποιούν τις ακόλουθες συνθήκες:

- ο χρόνος κατακράτησης C 32 πρέπει να είναι 25 ± 2 min, και
- η αντιπροσωπευτικότερη κορυφή των κηρών πρέπει να βρίσκεται μεταξύ 60 και 100 % της βασικής κλίμακας.

5.2.2.2. Οι παράμετροι ολοκλήρωσης των κορυφών πρέπει να καθορίζονται κατά τρόπον ώστε να υπολογίζονται σωστά τα εμβαδά των εξεταζόμενων καμπυλών.

5.2.3. Εκτέλεση της ανάλυσης

5.2.3.1. Λαμβάνεται 1 μl διαλύματος με τη μικροσύριγγα των 10 μl και αποσύρεται το έμβολο της σύριγγας έτσι ώστε η βελόνα να αδειάσει. Εισάγεται η βελόνα στη διάταξη έγχυσης και μετά από 1 έως 2 sec εγγέεται το διάλυμα γρήγορα. Μετά από 5 sec περίπου, η βελόνα αφαιρείται αργά.

5.2.3.2. Γίνεται καταγραφή μέχρι πλήρους εκλούσεως των κηρών.

Η βασική καμπύλη πρέπει πάντοτε να ανταποκρίνεται στις απαιτούμενες συνθήκες (βλέπε σημείο 5.2.1.2).

5.2.4. Αναγνώριση των κορυφών

Η αναγνώριση των διαφόρων κορυφών πρέπει να γίνεται βάσει των χρόνων κατακράτησης και διά συγκρίσεως με μείγματα κηρών γνωστών χρόνων κατακράτησης, που αναλύθηκαν υπό τις ίδιες συνθήκες.

Το σχήμα 1 εμφανίζει χρωματογράφημα κηρών παρθένου ελαιολάδου.

5.2.5. Ποσοτικός προσδιορισμός

5.2.5.1. Υπολογίζονται τα εμβαδά των καμπυλών του εσωτερικού προτύπου και των αλειφατικών εστέρων με άτομα άνθρακος από 40 έως 46, με τη βοήθεια του ολοκληρωτή.

5.2.5.2. Υπολογίζεται (σε mg/kg λιπαρής ουσίας) η περιεκτικότητα σε κηρούς (για καθένα από τους εστέρες) βάσει του τύπου:

$$\text{εστέρας (mg/kg)} = \frac{A_x \cdot m_s \cdot \blacktriangleright \mathbf{M9} \ 1\ 000 \ \blacktriangleleft}{A_s \cdot m}$$

όπου:

A_x = εμβαδόν της καμπύλης κάθε εστέρα

A_s = εμβαδόν της καμπύλης της λαυρικής αραχιδικής ένωσης

m_s = μάζα της προστιθέμενης λαυρικής αραχιδικής ένωσης, σε mg

m = μάζα του αφαιρούμενου για τον προσδιορισμό δείγματος, σε g.

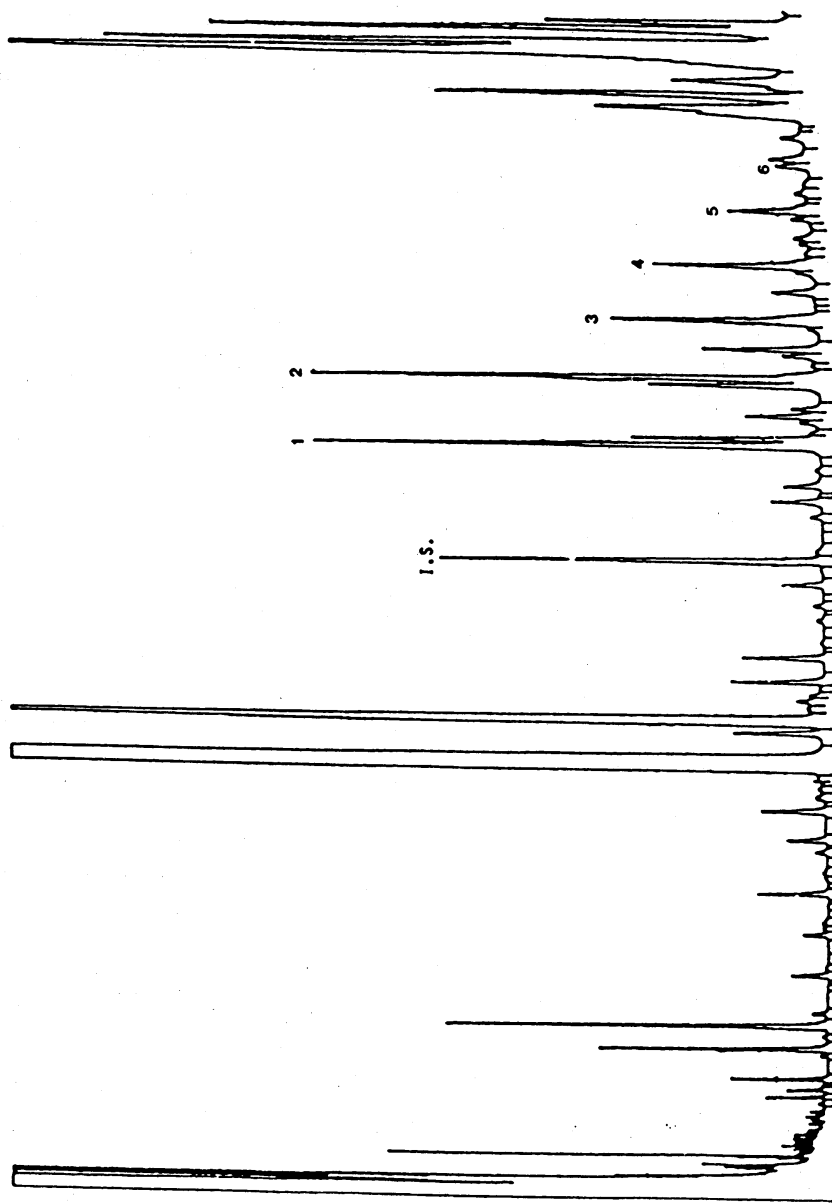
6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Δίδεται η περιεκτικότητα σε καθέναν από τους κηρούς, καθώς και η συνολική τους περιεκτικότητα, σε mg/kg λιπαρής ουσίας.

▼ M6**ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑ***Προσδιορισμός της γραμμικής ταχύτητας του αερίου*

Εγχέονται 1 έως 3 μl μεθανίου (ή προπανίου) στον χρωματογράφο αερίου φάσεως, μετά τη ρύθμισή του σε κανονικές συνθήκες λειτουργίας. Χρονομετρείται η διαδρομή του αερίου μέσω της στήλης από τη στιγμή της έγχυσης μέχρι τη στιγμή εμφάνισης της κορυφής.

Η γραμμική ταχύτητα (σε cm/sec) δίδεται από το κλάσμα L/tM , όπου L το μήκος της στήλης σε cm και tM ο μετρηθείς χρόνος σε sec.



ΣΧΗΜΑ 1: Χρωματογράφημα κρύου παρήκτου ελαιολάδου

Ε.Π. = Εσωτερικό πρότυπο εστέρης C32 (με 32 άτομα άνθρακος)

1 = Εστέρας C36

2 = Εστέρας C38

3 = Εστέρας C40

4 = Εστέρας C42

5 = Εστέρας C44

6 = Εστέρας C46



ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ V

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟΥ ΤΩΝ ΣΤΕΡΟΛΩΝ ΔΙ' ΑΕΡΙΟΥ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ ΜΕ ΤΡΙΧΟΕΙΔΗ ΣΤΗΛΗ

1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ

Η μέθοδος περιγράφει τη διαδικασία προσδιορισμού των περιεχομένων στερολών, σε μια λιπαρή ουσία, μεμονωμένων και ολικών.

2. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η λιπαρή ουσία στην οποία έχει προστεθεί α-χολεστανόλη ως εσωτερικό πρότυπο, σαπωνοποιείται με αιθανολικό διάλυμα υδροξειδίου του καλίου· έπειτα τα ασαπωνοποίητα συστατικά εκχυλίζονται με αιθυλικό αιθέρα. Το στερολικό κλάσμα διαχωρίζεται από τα ασαπωνοποίητα συστατικά δια χρωματογραφίας επί βασικής πλάκας silica gel· οι στερόλες που λαμβάνονται στο silica gel μετατρέπονται σε τριμεθυλοσιλλαιθέρες και αναλύονται με αέριο χρωματογραφία με τριχοειδείς στήλες.

3. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

- 3.1. Σφαιρική φιάλη των 250 ml εφοδιασμένη με κάθετο ψυκτήρα με εσφυρισμένα άκρα.
- 3.2. Διαχωριστική χοάνη των 100 ml.
- 3.3. Σφαιρικές φιάλες των 250 ml.
- 3.4. Πλήρης εξοπλισμός για χρωματογραφία λεπτής στοιβάδος με γυάλινες πλάκες των 20 × 20 cm.
- 3.5. Λυχνία υπεριώδους φωτός, μήκους κύματος 366 ή 254 nm.
- 3.6. Μικροσύριγγες των 100 και 500 ml.
- 3.7. Διηθητική κυλινδρική χοάνη με πορώδες φίλτρο G 3 (πορώδους 15 έως 40 μm) διαμέτρου 2 cm περίπου και ύψους 5 cm με άκρο κατάλληλο για διήθηση σε κενό αέρος και εσφυρισμένο άκρο αρσενικό 12/21.
- 3.8. Φιάλη εν κενώ των 50 ml με εσφυρισμένο άκρο θηλυκό 12/21 προσαρμόσιμο στη διηθητική χοάνη (3.7).
- 3.9. Σωλήνας με κωνική βάση, των 10 ml, με πώμα ασφαλείας.
- 3.10. Αέριος χρωματογράφος κατάλληλος για λειτουργία με τριχοειδή στήλη εφοδιασμένος με σύστημα διαχωρισμού, αποτελούμενο από:
 - 3.10.1. Θερμοστατούμενο θάλαμο, για τη στήλη, ο οποίος επιτρέπει τη διατήρηση της επιθυμητής θερμοκρασίας με ακρίβεια ± 1 °C.
 - 3.10.2. Σύστημα εξάτμισης με ρυθμιζόμενη θερμοκρασία και με σιλανισμένο γυάλινο χώρο.
 - 3.10.3. Ανιχνευτή ► **CI** ιονιζούσης φλογός ◀ και μεταλλάκτη -ενισχυτή.
 - 3.10.4. Καταγραφέα-ολοκληρωτή κατάλληλο για λειτουργία με μεταλλάκτη-ενισχυτή.
- 3.11. Τριχοειδής στήλη από γυαλί ή τετηγμένο οξείδιο του πυριτίου, μήκους 20 έως 30 m, εσωτερικής διαμέτρου 0,25 έως 0,32 mm, καλυμμένη εσωτερικώς με υγρό SE-52 ή SE-54 ή άλλο ανάλογο, ομοιόμορφου πάχους μεταξύ 0,10 και 0,30 μm.
- 3.12. Μικροσύριγγες για χρωματογραφία αέριας φάσης των 10 μl με σκληρυμένη βελόνα.

4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- 4.1. Αιθανολικό διάλυμα υδροξειδίου του καλίου περίπου 2N: διαλύονται, ψύχοντας ταυτόχρονα, 130 g υδροξειδίου του καλίου (κατώτατου τίτλου 85 %) μέσα σε 200 ml απεσταγμένου ύδατος, έπειτα συμπληρώνονται με αιθανόλη μέχρι το ένα λίτρο. Το

▼B

διάλυμα διατηρείται ►C1 μέσα σε σκοτεινά και καλά κλεισμένα μπουκάλια ◀.

- 4.2. Αιθυλικός αιθέρας αναλυτικής καθαρότητας.
- 4.3. Άνυδρο θειικό νάτριο, αναλυτικής καθαρότητας.
- 4.4. Γυάλινες πλάκες καλυμμένες με silica gel χωρίς δείκτη φθορισμού, πάχους 0,25 mm (διατίθενται στο εμπόριο έτοιμες ήδη για χρήση).
- 4.5. Αιθανολικό διάλυμα υδροξειδίου του καλίου 0,2 N: διαλύονται 13 g υδροξειδίου του καλίου μέσα σε 20 ml απεσταγμένου ύδατος, έπειτα συμπληρώνονται μέχρι το ένα λίτρο με μεθανόλη.
- 4.6. Βενζόλιο, χρωματογραφικής καθαρότητας (5.2.2).
- 4.7. Ακετόνη, χρωματογραφικής καθαρότητας (5.2.2).
- 4.8. Εξάνιο, χρωματογραφικής καθαρότητας (5.2.2).
- 4.9. Αιθυλικός αιθέρας, χρωματογραφικής καθαρότητας (5.2.2).
- 4.10. Χλωροφόρμιο, αναλυτικής καθαρότητας.
- 4.11. Διάλυμα αναφοράς για χρωματογραφία επί πλακός: χοληστερόλη ή φυτοστερόλη, διάλυμα ►M6 2 % ◀ σε χλωροφόρμιο.
- 4.12. Αιθανολικό διάλυμα 2'-7'διχλωροφλονορεσκεΐνης 0,2 %. Έχει γίνει ελαφρά αλκαλικό με την προσθήκη μερικών σταγόνων αλκοολικού διαλύματος υδροξειδίου του καλίου, 2 N.
- 4.13. Άνυδρη πυριδίνη, χρωματογραφικής καθαρότητας.
- 4.14. Εξαμεθυλοδισιλαζάνιο (Hexamethyldisilazane).
- 4.15. Τριμεθυλοχλωροσιλάνιο.
- 4.16. Διάλυμα αναφοράς των τριμεθυλοσιλιλαιθέρων των στερολών: παρασκευάζεται τη στιγμή της χρήσης από τις στερόλες που λαμβάνονται από τα έλαια που τις περιείχαν.
- 4.17. α-χολεστανόλη, διάλυμα 0,2 % (m/V) σε χλωροφόρμιο (εσωτερικό πρότυπο).
- 4.18. Φέρον αέριον: υδρογόνο ή ήλιο, χρωματογραφικής καθαρότητας.
- 4.19. Βοηθητικά αέρια: υδρογόνο ή ήλιον, χρωματογραφικής καθαρότητας.

5. ΜΕΘΟΔΟΣ

- 5.1. Παρασκευή των ασαπνοποίητων συστατικών.
 - 5.1.1. Εισάγεται στη σφαιρική φιάλη των 250 ml, δια μικροσύριγγας των 500 μl, όγκος διαλύματος α-χολεστανόλης 0,2 % σε χλωροφόρμιο (4.17) που περιέχει ποσότητα ►C1 α-χολεστανόλης ◀ που αντιστοιχεί σε 10 % περίπου των στερολών που περιέχονται στο δείγμα που κρατήθηκε για τον προσδιορισμό. Για παράδειγμα, για 5 g δείγματος, πρέπει να προστεθούν 500 μl διαλύματος α-χολεστανόλης 0,2 %, εάν πρόκειται για δείγμα ελαιολάδου, και 1 500 μl, εάν πρόκειται για ►M6 ————— ◀ πυρηνέλαιο.

Εξατμίζεται τα χλωροφόρμιο σε ρεύμα αζώτου μέχρι να αποξηραθεί, έπειτα ζυγίζονται ακριβώς 5 g ξηρού διηθημένου δείγματος στην ίδια σφαιρική φιάλη.

Στην περίπτωση των ελαίων ►M6 ————— ◀ τα οποία περιέχουν σημαντικές ποσότητες χοληστερόλης, μπορεί να εμφανιστεί κορυφή η οποία έχει τον ίδιο χρόνο κατακράτησης με αυτόν της χολεστανόλης. Σε αυτές τις περιπτώσεις, πρέπει να αναλύεται το στερολικό κλάσμα εις διπλούν, με και χωρίς εσωτερικό πρότυπο ►M6 ή να χρησιμοποιείται βετουλινόλη αντί χοληστανόλης ◀.

- 5.1.2. Προστίθενται 50 ml αιθανολικού διαλύματος υδροξειδίου του καλίου 2 N, τίθεται σε λειτουργία ο κάθετος ψυκτήρας, θερμαίνεται σε υδατόλουτρο μέχρι ήπιο βρασμό, ανακινώντας ταυτόχρονα δυνατά μέχρι να πραγματοποιηθεί η σαπνοποίηση (το διάλυμα γίνεται διαυγές). Συνεχίζεται η θέρμανση για 20 λεπτά, έπειτα προστίθενται 50 ml απεσταγμένου ύδατος τα οποία ρίχνονται από το επάνω μέρος του ψυκτήρα, αποσυνδέεται ο ψυκτήρας και ψύχεται η σφαιρική φιάλη στους 30 °C.

▼B

- 5.1.3. Μεταγγίζεται ποσοτικώς το περιεχόμενο της σφαιρικής φιάλης σε διαχωριστική χοάνη των 500 ml, με τη βοήθεια απεσταγμένου ύδατος, πολλές φορές, χρησιμοποιώντας συνολικά περίπου 50 ml. Προστίθενται περίπου 80 ml αιθυλικού αιθέρα, ανακινώντας δυνατά για περίπου 30 δευτερόλεπτα, και αφήνεται να πραγματοποιηθεί ο διαχωρισμός (Σημείωση 1).

Διαχωρίζεται η κάτω υδατική φάση συλλέγοντάς τη μέσα σε μια άλλη φιάλη μετάγγισης. Πραγματοποιούνται ακόμη δύο εκχυλίσεις της υδατικής φάσης, σύμφωνα με τις ίδιες οδηγίες, χρησιμοποιώντας κάθε φορά 60-70 ml αιθυλικού αιθέρα.

Σημείωση 1: Τα πιθανά γαλακτώματα μπορούν να καταστραφούν προσθέτοντας μικρές ποσότητες αιθυλικής ή μεθυλικής αλκοόλης δια ψεκασμού.

- 5.1.4. Συγκεντρώνονται τα αιθερικά εκχυλίσματα σε μια μόνο διαχωριστική χοάνη και πλένονται με απεσταγμένο ύδωρ (50 ml κάθε φορά) μέχρι ουδέτερης αντίδρασης του ύδατος έκπλυσης.

Αφού απομακρυνθεί το ύδωρ έκπλυσης, ξηραίνονται με άνυδρο θειικό νάτριο και διηθούνται, πάνω σε άνυδρο θειικό νάτριο, σε προζυγισμένη σφαιρική φιάλη των 250 ml, πλένοντας φιάλη και φίλτρο με μικρές ποσότητες αιθυλικού αιθέρα.

- 5.1.5. Αποστάζεται ο αιθέρας μέχρις ότου να απομείνει μικρή ποσότητα, έπειτα αποξηραίνεται σε ελαφρό κενό ή σε ρεύμα αζώτου, ολοκληρώνεται η ξήρανση στον κλίβανο στους 100 °C για ένα τέταρτο της ώρας περίπου και ζυγίζεται μετά από ψύξη σε ξηραντήρα.

- 5.2. Διαχωρισμός του στερολικού κλάσματος.

- 5.2.1. Προετοιμασία των βασικών πλακών: βυθίζονται οι πλάκες από silica gel (4.4), τελείως, μέσα σε μεθανολικό διάλυμα 0,2 N υδροξειδίου του κάλιου (4.5) για 10 δευτερόλεπτα, αφήνονται στη συνέχεια κλεισμένες σε σκοτεινό θάλαμο για δύο ώρες και τοποθετούνται τελικά στον κλίβανο σε 100 °C για μία ώρα.

Βγαίνουν από τον κλίβανο και διατηρούνται μέσα σε ένα ξηραντήρα με χλωριούχο ασβέστιο μέχρι τη στιγμή της χρήσης (οι κατ' αυτόν τον τρόπο επεξεργασμένες πλάκες πρέπει να χρησιμοποιούνται μέσα σε δεκαπέντε μέρες).

Σημείωση 2: Η χρήση των βασικών πλακών silica gel για το διαχωρισμό του στερολικού κλάσματος καταργεί την ανάγκη επεξεργασίας των ασαπωνοποιητών συστατικών με την αλουμίνα. Με αυτόν τον τρόπο, όλα τα όξινα συστατικά (λιπαρά οξέα και άλλα) συγκρατούνται στη γραμμή εναπόθεσης. Επιτυγχάνεται έτσι η ζώνη των στερολών καθαρά διαχωρισμένη από την ταινία των αλειφατικών και τερπενικών αλκοολών.

- 5.2.2. Εισάγεται στο θάλαμο ανάπτυξης ένα μείγμα βενζόλιου-ακετόνης 95/5 (V/V) μέχρι ένα ύψος περίπου 1 cm. Είναι δυνατόν στη θέση του να χρησιμοποιηθεί ένα μείγμα εξάνιου-αιθυλικού αιθέρα 65/35 (V/V). Ο θάλαμος κλείνεται με τη βοήθεια ενός κατάλληλου σκεπάσματος και αφήνεται έτσι για μισή ώρα τουλάχιστον, έτσι ώστε να αποκατασταθεί ισορροπία μεταξύ υγρού και ατμού. Είναι δυνατόν, να τοποθετηθούν στις εσωτερικές επιφάνειες του θαλάμου λωρίδες από διηθητικό χαρτί βυθισμένες στο υγρό ανάπτυξης: με αυτό τον τρόπο θα μειωθεί στο ένα τρίτο περίπου ο χρόνος μετακίνησης του μετώπου του υγρού και θα επιτευχθεί περισσότερο ομοιόμορφη έκλουση.

Σημείωση 3: Για να υπάρξουν αναπαραγώγιμες συνθήκες έκλουσης, το μείγμα πρέπει να αλλάζει κάθε φορά.

- 5.2.3. Παρασκευάζεται ένα διάλυμα 5 % περίπου ασαπωνοποιητών συστατικών (5.1.5) μέσα σε χλωροφόρμιο και με τη μικροσύριγγα των 100 μl τοποθετείται στη χρωματογραφική πλάκα (5.2.1), στα 2 cm περίπου από το ένα άκρο, 0,3 ml του ανωτέρω διαλύματος σε μια συνεχή γραμμή, όσο το δυνατόν πιο λεπτή και ομοιόμορφη. Στην ευθεία της γραμμής εναπόθεσης, τοποθετείται στο ένα άκρο της πλάκας 2-3 ml του διαλύματος αναφοράς των στερολών (4.11), με σκοπό να προσδιορισθεί η λωρίδα των στερολών μετά το πέρας της ανάπτυξης.

- 5.2.4. Τοποθετείται η πλάκα μέσα στο θάλαμο ανάπτυξης, προετοιμασμένη όπως περιγράφεται στην 5.2.2. Η θερμοκρασία περιβάλλοντος πρέπει να διατηρείται ανάμεσα στους 15 και

▼B

20 °C. Κλείνεται αμέσως ο θάλαμος με το σκέπασμα και αφήνεται μέχρις ότου το μέτωπο του διαλύτη να ανέλθει σε ύψος 1 cm κάτω από το άνω άκρο της πλάκας. Βγαίνει στη συνέχεια η πλάκα από το θάλαμο ανάπτυξης και ο διαλύτης εξατμίζεται μέσα σε ρεύμα ζεστού αέρα ή ακόμη αφήνοντας την πλάκα σε σκοτεινό θάλαμο για λίγο.

- 5.2.5. Η πλάκα ψεκάζεται ελαφρά και με ομοιόμορφο τρόπο με το διάλυμα της 2'7'διχλωροφλουοροσκεΐνης. Τοποθετείται η λωρίδα των στερολών δια ευθυγράμμισης με την κηλίδα που επιτεύχθηκε με το διάλυμα αναφοράς· η λωρίδα οριοθετείται με ένα μαύρο μολύβι κατά μήκος των άκρων φθορισμού.
- 5.2.6. Το silica gel που περιέχεται στην οριοθετημένη ζώνη ξύνεται με μια μεταλλική σπάτουλα. Το υλικό που αφαιρείται, λεπτά κονιοποιείται, εισάγεται σε μια διηθητική χοάνη (3.7). Προστίθενται 10 ml θερμού χλωροφόρμιου, αναμιγνύονται προσεκτικά με τη μεταλλική σπάτουλα και διηθούνται εν κενώ· έπειτα συλλέγεται το διήθημα στη φιάλη (3.8) που συνδέεται με τη διηθητική χοάνη.

Πλένεται το υπόλειμμα στη χοάνη τρεις φορές με αιθυλικό αιθέρα (περίπου 10 ml κάθε φορά και συλλέγεται όμοια το διήθημα μέσα στη φιάλη την προσαρμοσμένη στη διηθητική χοάνη. Εξατμίζεται το διήθημα μέχρι να φτάσει σ' έναν όγκο περίπου 4-5 ml, μεταγίγεται το απομένον διάλυμα μέσα στον προζυγισμένο σωλήνα των 10 ml (3.9), ξεραίνεται θερμαίνοντας ελαφρά σε ελαφρύ ρεύμα αζώτου, προστίθενται μερικές σταγόνες ακετόνης, ξεραίνεται εκ νέου, τοποθετείται 10 λεπτά περίπου στον κλίβανο στους 105 °C, έπειτα αφήνεται να κρυώσει σε ξηραντήρα και ζυγίζεται.

Το περιεχόμενο υπόλειμμα μέσα στο σωλήνα αποτελείται από το στερολικό κλάσμα.

- 5.3. Παρασκευή των τριμεθυλοσιλιλαιθέρων.
- 5.3.1. Στο σωλήνα που περιέχει το στερολικό κλάσμα προστίθεται το αντιδραστήριο σιλανοποίησης αποτελούμενο από μείγμα πυριδίνης-εξαμεθυλοδισιλαζάνιου-τριμεθυλοχλωρισιλάνιου 9/3/1 (V/V/V) (Σημείωση 4) σε αναλογία 50 ml ανά χιλιστό του γραμμαρίου των στερολών, αποφεύγοντας κάθε απορρόφηση υγρασίας (Σημείωση 5).

Σημείωση 4: Υπάρχουν στο εμπόριο διαλύματα έτοιμα προς χρήση· επιπλέον, άλλα αντιδραστήρια σιλαιθεροποίησης όπως, για παράδειγμα, το δι-τριμεθυλοσιλικεταμίδιο + 1 % τριμεθυλοχλωρισιλάνιο διαλυμένο με τον ίδιο όγκο ανύδρης πυριδίνης.

- 5.3.2. Κλείνεται ο σωλήνας, ανακινείται προσεκτικά (χωρίς να αναστρέφεται) μέχρι την πλήρη διάλυση των στερολών. Αφήνεται να ηρεμήσει για τουλάχιστον 15 λεπτά στη θερμοκρασία περιβάλλοντος, έπειτα φυγοκεντρείται για μερικά λεπτά: το διαυγές διάλυμα είναι έτοιμο για την ανάλυση δια χρωματογραφίας αέριας φάσης.

Σημείωση 5: Ο σχηματισμός ελαφρού θολώματος είναι φυσιολογικός και δεν δημιουργεί καμία επιπλοκή. Ο σχηματισμός άσπρων νιφάδων ή η εμφάνιση ροζ χρώματος οφείλονται στην παρουσία υγρασίας ή στη φθορά του αντιδραστηρίου. Σ' αυτή την περίπτωση, η δοκιμή πρέπει να επαναληφθεί.

- 5.4. Ανάλυση δια χρωματογραφίας αέριας φάσης.
- 5.4.1. Προπαρασκευαστικές ενέργειες, ρύθμιση των συνθηκών λειτουργίας της στήλης.
- 5.4.1.1. Η στήλη εγκαθίσταται μέσα στο χρωματογράφο αέριας φάσης, συνδέοντας το άκρο της εισόδου με τον εξεραωτή τον ενωμένο με το σύστημα κλασματοποίησης και το άκρο της εξόδου με τον ανιχνευτή.
- Ελέγχεται γενικά η μονάδα του αερίου χρωματογράφου (διαρροές στα κυκλώματα των αερίων, διαχωριστική ικανότητα του ανιχνευτή αποτελεσματικότητα του συστήματος κλασματοποίησης και του συστήματος καταγραφής κ.λπ.).
- 5.4.1.2. Εάν η στήλη χρησιμοποιείται για πρώτη φορά, συνιστάται να κοντισιοναρισθεί. Περνάται ένα ελαφρό ρεύμα αερίου δια μέσου αυτής της στήλης, έπειτα ανάβεται το σύνολο της χρωματογρα-

▼B

φίας αέριας φάσης και ξεκινά η βαθμιαία θέρμανση μέχρι να φτάσει σε θερμοκρασία το λιγότερο 20 °C μεγαλύτερη απ' αυτή της λειτουργίας (Σημείωση 6). Διατηρείται αυτή η θερμοκρασία για τουλάχιστον δύο ώρες, έπειτα η μονάδα τίθεται σε συνθήκες λειτουργίας (ρύθμιση ροής αερίων και της κλασματοποίησης, άναμμα της φλόγας, σύνδεση με τον ηλεκτρονικό καταγραφέα, ρύθμιση της θερμοκρασίας του θαλάμου για τη στήλη, του ανιχνευτή και του συστήματος έγχυσης κ.λπ.) και καταγράφεται το σήμα σε μια ευαισθησία τουλάχιστον δύο φορές μεγαλύτερη από αυτή που προβλέπεται για την εκτέλεση της ανάλυσης. Η γραμμή βάσεως που επιτεύχθηκε πρέπει να είναι ευθύγραμμη, χωρίς κορυφές οιασδήποτε μορφής και παρεκκλίσεις.

Η αρνητική ευθύγραμμη παρέκκλιση δηλώνει διαρροή της στήλης, μια θετική παρέκκλιση δηλώνει ανεπαρκή ρύθμιση της στήλης (κοντισιονάρισμα).

Σημείωση 6: Η θερμοκρασία κοντισιοναρίσματος, της στήλης πρέπει να είναι πάντα μικρότερη, τουλάχιστον 20 °C, από τη μέγιστη προβλεπόμενη θερμοκρασία για τη χρησιμοποιούμενη στατική φάση της στήλης.

5.4.2. Επιλογή των συνθηκών εργασίας

5.4.2.1. Οι προτεινόμενες συνθήκες εργασίας είναι οι ακόλουθες:

- θερμοκρασία της στήλης: 260 °C ± 5 °C,
- θερμοκρασία του συστήματος εξαερωσης: 280 °C,
- θερμοκρασία του ανιχνευτή: 290 °C,
- γραμμική ταχύτητα του φέροντος αερίου: ήλιο, 20 έως 35 cm/s, υδρογόνο, 30 έως 50 cm/s,
- σχέση διαχωρισμού: από 1/50 έως 1/100,
- ευαισθησία του οργάνου: 4 έως 16 φορές της ελάχιστης ευαισθησίας,
- ευαισθησία καταγραφής: 1-2 mV f. s.,
- ταχύτητα του χαρτιού: 30-60 cm/ώρα,
- ποσότητα εγχόμενης ουσίας: 0,5-1 μl του διαλύματος των TMSE.

Αυτές οι συνθήκες μπορούν να μεταβάλλονται σύμφωνα με τα χαρακτηριστικά της στήλης και του χρωματογράφου αέριας φάσης, έτσι ώστε να επιτυγχάνονται χρωματογραφήματα τα οποία να ικανοποιούν τις ακόλουθες συνθήκες:

- ο χρόνος κατακράτησης της β-σιτοστερόλης πρέπει να είναι 20 ± 5 λεπτά,
- η κορυφή της καμπεστερόλης πρέπει να είναι: για το ελαιόλαδο (μέσο περιεχόμενο 3 %) 15 ± 5 % της πλήρους κλίμακος, για το σογιέλαιο (μέσο περιεχόμενο 20 %) 80 ± 10 % της πλήρους κλίμακος,
- πρέπει να γίνεται διαχωρισμός όλων των υπάρχουσών στερολών. Επιπροσθέτως, για να διαχωρισθούν οι κορυφές πρέπει να έχουν ξεχωρίσει τελείως, πράγμα το οποίο σημαίνει ότι η καμπύλη κάθε κορυφής πρέπει να επιστρέψει στη γραμμή βάσεως πριν ξεκινήσει για την καμπύλη της επόμενης κορυφής. Ένας ατελής διαχωρισμός είναι, παρ' όλα αυτά, ανεκτός, υπό την προϋπόθεση, όμως, ότι θα είναι μετρήσιμος ποσοτικά η κορυφή TRR 1,02 χρησιμοποιώντας την κάθετο.

5.4.3. Εκτέλεση της ανάλυσης

5.4.3.1. Λαμβάνεται, με μια μικροσύριγγα των 10 μl, 1 μl εξάνιο, αναρροφούνται 0,5 μl αέρα και έπειτα 0,5-1 μl του διαλύματος του δείγματος: επίσης τραβιέται το έμβολο της σύριγγας έτσι ώστε η βελόνα να είναι κενή. Εισάγεται η βελόνα μέσω της μεμβράνης του συστήματος έγχυσης και, μετά από 1-2 δευτερόλεπτα, εγχύεται γρήγορα και ύστερα βγαίνει η βελόνα αργά, μετά από 5 δευτερόλεπτα περίπου.

5.4.3.2. Η καταγραφή προχωρά μέχρι την πλήρη έκλουση των TMSE των παρουσών στερολών.

Η γραμμή βάσεως πρέπει πάντα να πληροί τις απαιτούμενες προϋποθέσεις (5.4.1.2).

5.4.4. Ταυτοποίηση των κορυφών

▼B

Η ταυτοποίηση των κορυφών πραγματοποιείται με βάση το χρόνο κατακράτησης και σε σύγκριση με το μείγμα των TMSE των στερολών, αναλυόμενων υπό τις ίδιες συνθήκες.

Οι στερόλες εκκλούνται με την ακόλουθη σειρά: χοληστερόλη, βρασικαστερόλη, ►C1 24-μεθυλενο ◄ -χοληστερόλη, καμπεστερόλη, καμπεστανόλη, στιγμαστερόλη, Δ7 καμπεστερόλη, Δ5, 23 στιγμασταδιενόλη, ►C1 κλεροστερόλη ◄, Β-σιτοστερόλη, σιτοστανόλη, Δ5-αβεναστερόλη, 5,24 στιγμασταδιενόλη, Δ7-στιγμαστενόλη, Δ7-αβεναστερόλη.

Στον πίνακα I αναφέρονται οι χρόνοι κατακράτησης οι σχετικοί με τη σιτοστερόλη για τις στήλες SE 52 και SE 54.

Τα σχήματα 1 και 2 παρουσιάζουν τα τυπικά χρωματογραφήματα μερικών ελαίων.

5.4.5. Ποσοτική αξιολόγηση

5.4.5.1. Πραγματοποιείται, με τον ολοκληρωτή, ο υπολογισμός του εμβαδού των κορυφών της α-χολεστανόλης και των στερολών. Να μην λαμβάνονται υπόψη οι πιθανές κορυφές των συστατικών που δεν περιέχονται σε αυτά που αριθμούνται στον πίνακα I. Ο ανάλογος συντελεστής για την α-χολεστανόλη πρέπει να είναι ίσος με 1.

5.4.5.2. Υπολογίζεται η συγκέντρωση κάθε στερόλης ξεχωριστά σε mg/100 g λιπαρής ουσίας, ως ακολούθως:

$$\text{στερόλη X} = \frac{A_x \cdot m_s \cdot 100}{A_s \cdot m}$$

όπου:

A_x = εμβαδόν της κορυφής της στερόλης x
►M6 ◄,

A_s = εμβαδόν της κορυφής της α-χολεστανόλης
►M6 ◄,

m_s = βάρος της α-χολεστανόλης που προσετέθη, σε χιλιοστά του γραμμαρίου,

m = βάρος του δείγματος που λήφθηκε για τον προσδιορισμό, σε γραμμάρια.

6. ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

6.1. Αναφέρονται οι συγκεντρώσεις για καθεμία από τις στερόλες ξεχωριστά σε mg/100 g λιπαρής ουσίας, και το άθροισμα τους ως «ολικές στερόλες».

6.2. Υπολογίζεται η εκατοστιαία αναλογία κάθε μεμονωμένης στερόλης από το λόγο του εμβαδού της αντίστοιχης κορυφής προς το άθροισμα των εμβαδών των κορυφών των στερολών.

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

όπου:

A_x = εμβαδόν της κορυφής x,

ΣA = άθροισμα των εμβαδών όλων των κορυφών.



ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑ I

Προσδιορισμός της γραμμικής ταχύτητας του αερίου

Στο χρωματογράφο αέριας φάσης, ρυθμισμένο στις κανονικές συνθήκες λειτουργίας, εγχέονται 1 έως 3 μl μεθάνιου (ή προπάνιου) και χρονομετρώνται ο χρόνος που χρειάζεται το αέριο για να διασχίσει τη στήλη, από τη στιγμή της έγχυσης έως την εμφάνιση της κορυφής (tM).

Η γραμμική ταχύτητα σε cm/s δίνεται από τη σχέση L/tM, όπου L είναι το μήκος της στήλης σε εκατοστά και tM ο χρονομετρημένος χρόνος σε δευτερόλεπτα.

Πίνακας I

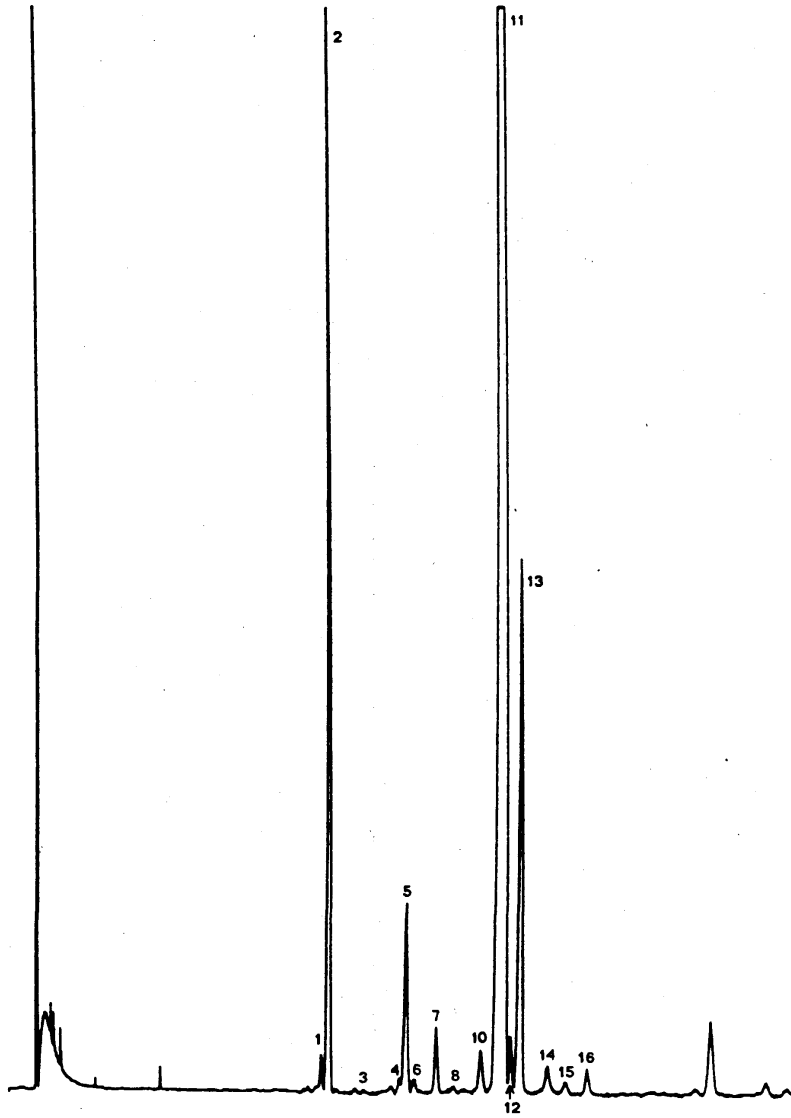
Σχετικοί χρόνοι κατακράτησης των στερολών

Κορυφή	Ταυτοποίηση		Σχετικός χρόνος κατακράτησης	
			Στήλη SE 54	Στήλη SE 52
1	χοληστερόλη	Δ5-χοληστεν-3β-ολη	0,67	0,63
2	►C1 χολεστανόλη ◀	5α-χολησταν-3β-ολη	0,68	0,64
3	βρασσικαστερόλη	[24S]-24-μεθυλ-Δ5,22-χολεσταδιεν-3β-ολη	0,73	0,71
4	24-μεθυλένιο χοληστερόλη	24-μεθυλένιο,Δ5,24-χολεσταδιεν-3β-ολη	0,82	0,80
5	καμπεστερόλη	[24R]-24-μεθυλ-Δ5χοληστεν-3β-όλη	0,83	0,81
6	καμπεστανόλη	[24]24-μεθυλ-χολησταν-3β-ολη	0,85	0,82
7	στιγμαστερόλη	[24S]-24-αιθυλ-Δ5,22-χολεσταδιεν-3β-ολη	0,88	0,87
8	Δ7-καμπεστερόλη	[24R]-24-μεθυλ-Δ7-χοληστεν-3β-ολη	0,93	0,92
9	Δ5,23-στιγμασταδιενόλη	[24R,S]-24-αιθυλ-Δ5,23-χολεσταδιεν-3β-ολη	0,95	0,95
10	►C1 κλεροστερόλη ◀	[24S]-24-αιθυλ-Δ5,25-χολεσταδιεν-3β-ολη	0,96	0,96
11	β-σιτοστερόλη	[24R]-24-αιθυλ-Δ5-χολεσταν-3β-ολη	1,00	1,00
12	σιτοστανόλη	24-αιθυλ-χολησταν-3β-ολη	1,02	1,02
13	Δ5-αβεναστερόλη	[24Z]-24-αιθυλιδεν-Δ5-χολησταν-3β-ολη	1,03	1,03
14	Δ5,24 στιγμασταδιενόλη	[24R,S]-24-αιθυλ-Δ5,24-χολεσταδιεν-3β-ολη	1,08	1,08
15	Δ7-στιγμαστενόλη	[24R,S]-24-αιθυλ-Δ7,24-χολεσταδιεν-3β-ολη	1,12	1,12
16	►C1 17-αβεναστερόλη ◀	[24Z]-24-αιθυλιδεν-Δ7-χολεστεν-3β-ολη	1,16	1,16

▼B

Σχήμα 1

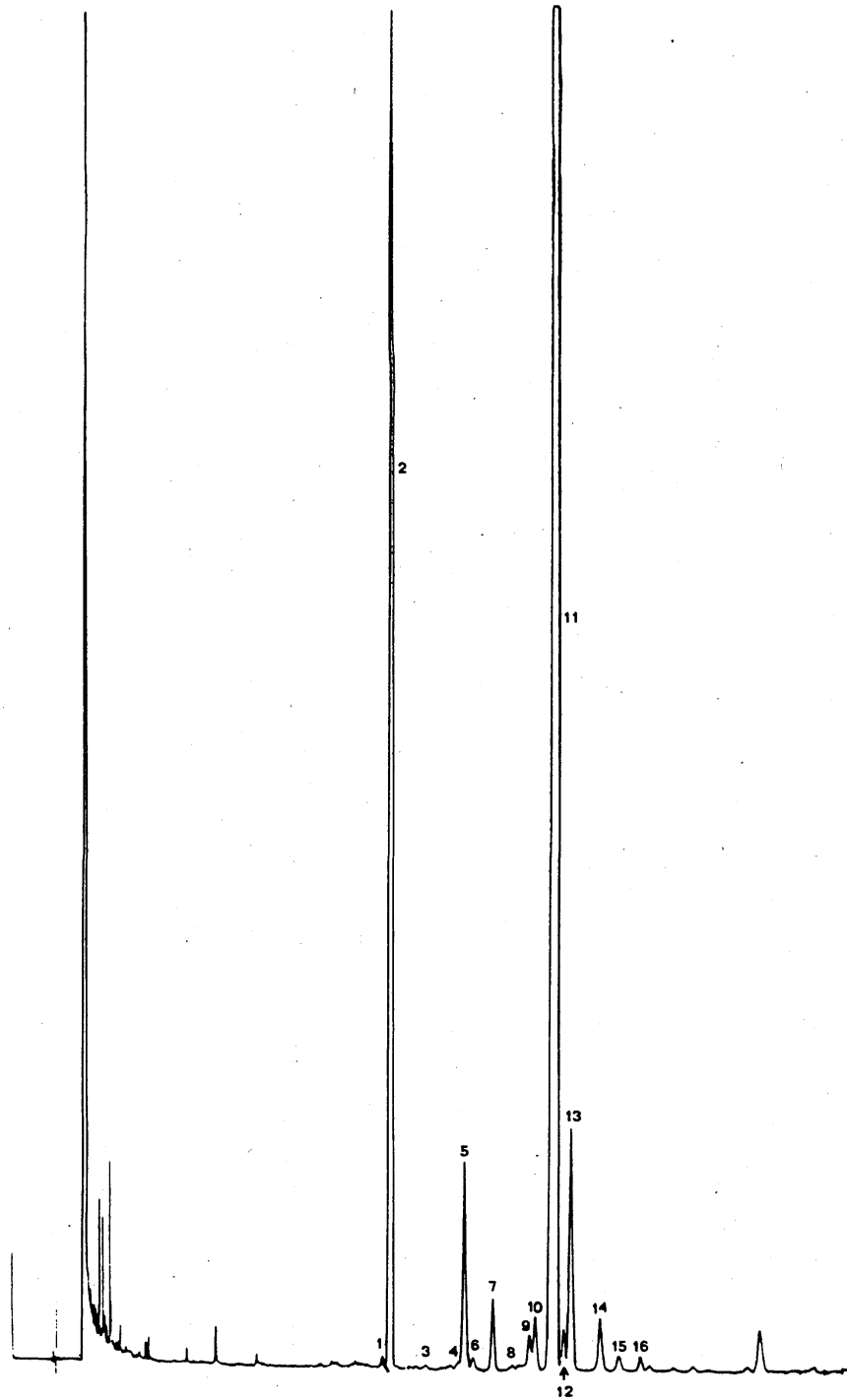
Χρωματογραφία αέριας φάσης του στερολικού κλάσματος ακατέργαστου ελαιολάδου



▼B

Σχήμα 2

Χρωματογραφία αέριας φάσης του στερολικού κλάσματος εξευγενισμένου
ελατιολάδου





ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ VI

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΡΥΘΡΟΔΙΟΛΗΣ ΚΑΙ ΟΥΒΑΟΛΗΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ερυθροδιόλη (συνήθως γνωστή ως η διόλη ερυθροδιόλη μαζί με τη διόλη ουβαόλη) είναι ένα συστατικό του μη σαπωνοποιήσιμου κλάσματος, χαρακτηριστικού ορισμένων τύπων λιπαρών ουσιών. Συναντάται σε σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις σε ελαιόλαδο εξ εκχυλίσεως από ό,τι σε άλλα έλαια, (όπως ελαιόλαδο εξ εκθλίψεως και έλαιο σταφυλόσπορου, τα οποία την περιέχουν επίσης) και επομένως η παρουσία της μπορεί να υποδηλώνει τη παρουσία ελαιόλαδου εξ εκχυλίσεως.

1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ

Η μέθοδος περιγράφει μία διαδικασία ανίχνευσης ερυθροδιόλης σε λιπαρές ουσίες.

2. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η λιπαρή ουσία σαπωνοποιείται με υδροξείδιο του καλίου σε αιθανολικό διάλυμα. Το μη σαπωνοποιήσιμο κλάσμα εκχυλίζεται κατόπιν με αιθυλικό αιθέρα και καθαρίζεται με διέλευση μέσα από στήλη αλουμίνης.

Τα μη σαπωνοποιήσιμα μέρη υπόκεινται σε χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας σε πλάκα διοξειδίου του πυρίτιου έως ότου διαχωριστούν οι στοιβάδες που αντιστοιχούν στα κλάσματα στερολών και ερυθροδιόλης. Οι επανακτούμενες από την πλάκα στερόλες και η ερυθροδιόλη μετατρέπονται σε τριμεθυλοσιλυλοαιθέρες και το μείγμα αναλύεται με αέρια χρωματογραφία.

Το αποτέλεσμα εκφράζεται ως το ποσοστό ερυθροδιόλης στο μείγμα ερυθροδιόλης και στερολών.

3. ΟΡΓΑΝΑ

- 3.1. Τα όργανα περιγράφονται στο παράρτημα V (προσδιορισμός της περιεκτικότητας σε στερόλες).

4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- 4.1. Τα αντιδραστήρια περιγράφονται στο παράρτημα V (προσδιορισμός της περιεκτικότητας σε στερόλες).
- 4.2. Διάλυμα αναφοράς ερυθροδιόλης, διάλυμα 0,5 % σε χλωροφόρμιο.

5. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

- 5.1. Προπαρασκευή των ασαπωνοποιήτων.
Όπως περιγράφεται στη παράγραφο 5.1.2. του παραρτήματος V.
- 5.2. Διαχωρισμός της ερυθροδιόλης και των στερολών.
- 5.2.1. Βλέπε παράγραφο 5.2.1 της μεθόδου του παραρτήματος V.
- 5.2.2. Βλέπε παράγραφο 5.2.2 της ανωτέρω μεθόδου.
- 5.2.3. Παρασκευάζεται διάλυμα 5 % των ασαπωνοποιήτων σε χλωροφόρμιο. Χρησιμοποιώντας τη μικροσύριγγα του 0,1 ml, στρώνεται μία χρωματογραφική πλάκα με 0,3 ml διαλύματος περίπου 1,5 cm από το κατώτερο άκρο σε μία γραμμή κατά το δυνατό λεπτή και ομοιόμορφη. Στη μία άκρη της πλάκας τοποθετούνται λίγα μικρολίτρα από τα διαλύματα χολεστερόλης και ερυθροδιόλης ως αναφορά.
- 5.2.4. Η πλάκα τοποθετείται μέσα στο θάλαμο ανάπτυξης που έχει προετοιμαστεί κατά τα καθοριζόμενα στην 5.2.1. Η θερμοκρασία του περιβάλλοντος πρέπει να είναι περίπου 20 °C. Ο θάλαμος κλείνεται αμέσως με το κάλυμμα και αφήνεται να γίνει έκλυση έως ότου το μέτωπο του διαλύτη φτάσει σε απόσταση περίπου 1 cm από το ανώτερο άκρο της πλάκας. Κατόπιν η πλάκα απομακρύνεται από το θάλαμο ανάπτυξης και ο διαλύτης εξατμίζεται σε ρεύμα θερμού αέρα.

▼B

5.2.5. Η πλάκα ψεκάζεται ελαφρά και ομοιόμορφα με το αλκοολικό διάλυμα της ►C1 2-7 διχλωροφλουορεσκεΐνης ◄. Όταν η πλάκα παρατηρείται υπό υπεριώδες φώς, οι στοιβάδες των στερολών και της ερυθροδιόλης μπορούν να αναγνωρισθούν από την ευθυγράμμιση τους με τις κηλίδες αναφοράς. Τα όρια της περιοχής φθορισμού σημαίνονται με ένα σημάδι μόλις έξω από αυτά.

5.2.6. Χρησιμοποιώντας μία μεταλλική σπάτουλα, αποξέεται το πήγμα διοξειδίου του πυρίτιου εντός των σημανθέντων περιοχών από τη πλάκα και μεταφέρεται σε φιάλη των 50 ml. Προστίθενται 15 ml θερμού χλωροφόρμιου, αναδεύονται καλά και διηθούνται μέσα από χωνί με διάτρητο γυάλινο δίσκο, έτσι ώστε το πήγμα του διοξειδίου του πυρίτιου να μεταφερθεί στον ηθμό. Εκπλύεται τρεις φορές με θερμό χλωροφόρμιο (10 ml κάθε φορά), συλλέγοντας το διήθημα σε φιάλη των 100 ml. Το διήθημα συμπυκνώνεται μέχρις όγκου 4-5 ml, μεταφέρεται σε βαθμονομημένο σωλήνα φυγοκέντρησης των 10 ml, με κωνικό πυθμένα, ξηραίνεται με ήπια θέρμανση σε ρεύμα αζώτου και ζυγίζεται.

5.3. Παρασκευή των τριμεθυλοσιλολαιθέρων.

Όπως περιγράφεται στη παράγραφο 5.3 της μεθόδου που παραρτήματος V.

5.4. Αέρια χρωματογραφική ανάλυση.

Όπως περιγράφεται στη παράγραφο 5.4 της ανωτέρω μεθόδου.

Οι συνθήκες εκτέλεσης της αέριας χρωματογραφικής ανάλυσης πρέπει να είναι τέτοιες ώστε να εκτελείται η ανάλυση των στερολών και να διαχωρίζονται οι ΤΜΣΕ από την ερυθροδιόλη και την ουβαόλη.

Από τη στιγμή που το δείγμα έχει εγχυθεί, η καταγραφή συνεχίζεται έως ότου εκλουσθούν οι υπάρχουσες στερόλες, η ερυθροδιόλη και η ουβαόλη. Μετά αναγνωρίζονται οι κορυφές (οι χρόνοι κατακράτησης της ερυθροδιόλης και ουβαόλης αναφορικά προς τη β-σιτοστερόλη είναι περίπου 1,4 και 1,55 αντίστοιχα) και υπολογίζονται τα εμβαδά σχετικά με τις στερόλες.

6. ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

$$\text{Ερυθροδιόλη \%} = \frac{A_1 + A_2}{A_1 + A_2 + \Sigma A_{\text{στερολών}}} \times 100$$

όπου:

$$\begin{aligned} A_1 &= \text{εμβαδό} \quad \text{κορυφής} \quad \text{ερυθροδιόλης} \\ &\quad \text{► M6} \text{ ————— ◄,} \\ A_2 &= \text{εμβαδό} \quad \text{κορυφής} \quad \text{ουβαόλης} \\ &\quad \text{► M6} \text{ ————— ◄,} \\ \Sigma A_{\text{στερολών}} &= \text{ολικό} \quad \text{εμβαδό} \quad \text{κορυφών} \quad \text{στερολών} \\ &\quad \text{► M6} \text{ ————— ◄.} \end{aligned}$$

Το αποτέλεσμα εκφράζεται με ένα δεκαδικό ψηφίο.



ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ VII

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΣΤΗ 2-ΘΕΣΗ ΣΤΑ ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΑ ΕΛΑΙΩΝ ΚΑΙ ΛΙΠΩΝ

1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ

Το κείμενο αυτό περιγράφει μία ►CI μέθοδο προσδιορισμού της συνθέσεως ◄ αυτού του κλάσματος των λιπαρών οξέων ενός ελαίου ή λίπους που εστεροποιείται στη 2-θέση (β, ή εσωτερική θέση) της γλυκερίνης.

2. ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος αυτή είναι εφαρμόσιμη σε έλαια και λίπη με σημείο τήξης κάτω από 45 °C, λόγω ►CI εκλεκτικής δράσης ◄ της παγκρεατικής λιπάσης.

Δεν είναι απολύτως εφαρμόσιμη σε έλαια και λίπη περιέχοντα σημαντικές ποσότητες λιπαρών οξέων με δώδεκα ή λιγότερα άτομα άνθρακα (έλαια κοκοφοίνικα και φοινικόψυχας, λίπος βούτυρου), ή πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (με περισσότερους από τέσσερις διπλούς δεσμούς) περιέχοντα είκοσι ή περισσότερα άτομα άνθρακα (έλαια ψαριών και υδρόβιων ζώων), ή λιπαρά οξέα περιέχοντα οξυγονωμένες ομάδες, εκτός από την όξινη ομάδα.

3. ΑΡΧΗ

Πιθανή εξουδετέρωση όξινων ελαίων και λιπών σε διαλύτη. Καθαρισμός με διέλευση από στήλη αλουμίνας. Μερική υδρόλυση των τριγλυκεριδίων με παγκρεατική λιπάση επί ένα καθορισμένο χρονικό διάστημα. Διαχωρισμός των σχηματιζόμενων μονογλυκεριδίων με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας και μεθανόλυση των μονογλυκεριδίων αυτών. Ανάλυση των μεθυλεστέρων αυτών με ►CI αέρια χρωματογραφία ◄.

4. ΟΡΓΑΝΑ

- 4.1. Φιάλη των 100 ml με στρογγυλή βάση.
- 4.2. Φιάλη των 25 ml με στρογγυλή βάση, και εσμήρυσμα.
- 4.3. Αεροψυκτήρας, μήκους ενός μέτρου, που μπορεί να προσαρμοστεί στη φιάλη που αναφέρεται στο σημείο 4.2.
- 4.4. Κωνική φιάλη των 250 ml.
- 4.5. Ποτήρι ζέσης των 50 ml.
- 4.6. Διαχωριστική χοάνη των 500 ml.
- 4.7. Γυάλινη στήλη χρωματογραφίας, εσωτερικής διαμέτρου 13 mm, μήκους 400 mm, εξοπλισμένη με διάτρητο γυάλινο δίσκο και πόμα.
- 4.8. Σωλήνας φυγοκέντρωσης των 10 ml, με πόμα από αδιαφανές γυαλί.
- 4.9. Προχοΐδα των 5 ml, βαθμονομημένη ανά 0,05 ml.
- 4.10. Υποδερμική σύριγγα του 1 ml, εξοπλισμένη με λεπτή βελόνα.
- 4.11. Μικροσύριγγα για παροχή σταγονών των 3-4 μl.
- 4.12. Επιστρωτής για χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας.
- 4.13. Γυάλινες πλάκες για χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας, (20 × 20 cm).
- 4.14. Γυάλινη δεξαμενή ανάπτυξης για χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας, με κάλυμμα από αδιαφανές γυαλί, κατάλληλο για τις πλάκες των 20 × 20 cm.
- 4.15. Ψεκαστήρας για χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας.
- 4.16. Φούρνος ρυθμισμένος στους 103 ± 2 °C.
- 4.17. Θερμοστάτης με δυνατότητα ρύθμισης μεταξύ 30 και 45 °C, ανά 0,5 °C.
- 4.18. Περιστρεφόμενος εκκαρωτής.
- 4.19. Δονούμενος ηλεκτρικός αναμείκτης, κατάλληλος για ζωηρή ανατάραξη του σωλήνα της φυγοκέντρωσης.

▼B

4.20. Λυχνία υπεριάδου για την εξέταση των πλακών λεπτής στοιβάδας.

Για τον έλεγχο της ενεργότητας της λιπάσης:

- 4.21. Πεχάμετρο.
- 4.22. Σπειροειδής αναδευτήρας.
- 4.23. Προχοΐδα των 5 ml.
- 4.24. Χρονόμετρο.

Για την πιθανή παρασκευή της λιπάσης:

4.25. Εργαστηριακός αναδευτήρας, κατάλληλος για τη διασπορά και ανάμειξη ετερογενών υλικών.

5. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- 5.1. η-εξανίο, ή, αν δεν υπάρχει, πετρελαϊκός αιθέρας (σ.ζ. 30-50 °C), χρωματογραφικού βαθμού.
- 5.2. 2-προπανόλη (ή αιθανόλη), 95 % (V/V), αναλυτικού βαθμού.
- 5.3. 2-προπανόλη (ή αιθανόλη), υδατικό διάλυμα 1/1.
- 5.4. Διαιθυλικός αιθέρας, απηλλαγμένος, υπεροξειδίων.
- 5.5. Ακετόνη.
- 5.6. Μυρμηγκικό οξύ, τουλάχιστον 98 % (m/m).
- 5.7. Διάλυμα ανάπτυξης: μείγμα η-εξανίου (5.1), διαιθυλικού αιθέρα (5.4) και μυρμηγκικού οξέος (5.6) σε αναλογία 70/30/1 (V/V/V).
- 5.8. Ενεργή αλουμίνα για χρωματογραφία, ουδέτερη, βαθμού Brockmann 1.
- 5.9. Σκόνη πυριτίου, με συζευτικό, κατάλληλης ποιότητας για χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας.
- 5.10. Παγκρεατική λιπάση, κατάλληλης ποιότητας (σημειώσεις 1 και 2).
- 5.11. Υδροξειδίο νατρίου σε υδατικό διάλυμα (120 g/l).
- 5.12. Υδροχλωρικό οξύ σε υδατικό διάλυμα (6 N).
- 5.13. Χλωριούχο ασβέστιο (CaCl₂) σε υδατικό διάλυμα (220 g/l).
- 5.14. Χολικό νάτριο (ενζυματική ποιότητα) σε υδατικό διάλυμα (1 g/l).
- 5.15. Ρυθμιστικό διάλυμα: υδατικό διάλυμα 1 M τρί-υδροξυμεθυλαμινομεθανίου φέρεται σε pH 8 με προσθήκη υδροχλωρικού οξέος (5.12) (έλεγχος με ποτενσιόμετρο).
- 5.16. Φαινολοφθαλεΐνη σε διάλυμα (10 g/l) σε 95 % (V/V) αιθανόλη.
- 5.17. 2',7'Διχλωροφλουορεσκεΐνη σε διάλυμα (2 g/l) σε 95 % (V/V) αιθανόλη, καθιστάμενη ελαφρά αλκαλική, με προσθήκη μιας σταγόνας διαλύματος 1N υδροξειδίου νατρίου ανά 100 ml.

Και για τον έλεγχο της ενεργότητας της λιπάσης:

- 5.18. Εξουδετερωμένο έλαιο.
- 5.19. Υδροξειδίο νατρίου σε υδατικό διάλυμα (0,1 N).
- 5.20. Χολικό νάτριο (ενζυματική ποιότητα) σε υδατικό διάλυμα (200 g/l).
- 5.21. Αραβικό κόμμα σε υδατικό διάλυμα (100 g/l).

6. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Εάν το δείγμα έχει οξύτητα κάτω από 3 %, προσδιοριζόμενη σύμφωνα με το παράρτημα II καθαρίζεται αμέσως μέσα από αλουμίνα όπως υποδεικνύεται στο σημείο 6.2. Εάν το δείγμα έχει οξύτητα πάνω από 3 %, προσδιοριζόμενη σύμφωνα με το παράρτημα II εξουδετερώνεται με άλαλι παρουσία διαλύτη κατά την 6.1, κατόπιν διέρχεται από αλουμίνα όπως υποδεικνύεται στο σημείο 6.2.

6.1. Εξουδετέρωση άλαλι με παρουσία διαλύτη

Σε διαχωριστική χοάνη (4.6) εισάγονται περίπου 10 g ακατέργαστου ελαίου και προστίθενται 100 ml εξανίου (5.1), 50 ml 2-προπανόλης

▼B

(5.2), λίγες σταγόνες διαλύματος φαινολοφθαλεΐνης (5.16) και μία ποσότητα του διαλύματος υδροξειδίου νατρίου (5.11) αντιστοιχούσα στην ελεύθερη οξύτητα του ελαίου συν 0,3 % επιπλέον. Δονούνται ζωηρά επί ένα λεπτό, προστίθενται 50 ml απεσταγμένου νερού, δονούνται ξανά και αφήνονται να ηρεμήσουν.

Μετά το διαχωρισμό, απομακρύνεται το στρώμα σάπωνα του πυθμένα. Επίσης αφαιρείται κάθε ενδιάμεσο στρώμα (γλίστρα, αδιάλυτη ύλη). Το διάλυμα εξανίου του εξουδετερωμένου ελαίου εκπλύεται με διαδοχικές δόσεις των 25-30 ml διαλύματος 2-προπανόλης (5.3) έως ότου το ρόδινο χρώμα της φαινολοφθαλεΐνης εξαφανιστεί.

Το περισσότερο από το εξάνιο απομακρύνεται με απόσταξη υπό κενό στον περιστρεφόμενο εξαερωτή (4.18), το έλαιο ξηραίνεται στους 30-40 °C υπό κενό με τη βοήθεια ρεύματος καθαρού αζώτου έως ότου το εξάνιο έχει τελειώς απομακρυνθεί.

6.2. Καθαρισμός μέσα από αλουμίνα

Παρασκευάζεται αιώρημα 15 g ενεργής αλουμίνας (5.8) σε 50 ml εξανίου (5.1) και εισάγεται, με ανάδευση, στη χρωματογραφική στήλη (4.7). Η αλουμίνα αφήνεται να κατακαθίσει ομοιόμορφα, και το επίπεδο του διαλύτη αφήνεται να πέσει έως 1-2 mm πάνω από το απορροφητικό. Εισάγεται προσεκτικά στη στήλη διάλυμα 5 g ελαίου σε 25 ml εξανίου (5.1). συλλέγεται το σύνολο του εκλύσματος από τη στήλη σε φιάλη στρογγυλής βάσης (4.1).

7. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΤΩΝ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΩΝ ΠΛΑΚΩΝ

Οι γυάλινες πλάκες (4.13) καθαρίζονται επιμελώς με αιθανόλη, πετρελαϊκό αιθέρα και ακετόνη για να εξαφανιστεί κάθε ίχνος λιπαρής ουσίας.

Σε κωνική φιάλη (4.4) τοποθετούνται 30 g σκόνης πυριτίου (5.9). Προστίθενται 60 ml απεσταγμένου νερού. Πωματίζεται και αναδεύεται ζωηρά επί ένα λεπτό. Ο πολτός μεταφέρεται αμέσως στον επιστρωτή (4.12) και οι καθαρές πλάκες επιστρώνονται με στρώμα πάχους 0,25 mm. Οι πλάκες στεγνώνονται στον αέρα επί 15 λεπτά και μετά επί μία ώρα στο φούρνο (4.16) στους 103 ± 2 °C.

Οι πλάκες ψύχονται σε ►C1 ξηραντήρα ◀ σε θερμοκρασία δωματίου πριν τη χρήση.

Παρασκευασμένες πλάκες είναι διαθέσιμες στο εμπόριο.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΚΤΕΛΕΣΗΣ

8.1. Υδρόλυση με παγκρεατική λιπάση

Μέσα στο σωλήνα της φυγοκέντρωσης (4.8) ζυγίζεται περίπου 0,1 g του παρασκευασμένου δείγματος· εάν είναι στερεό λίπος, πρέπει να διαλυθεί σε 0,2 ml εξανίου (5.1) με ελαφριά θέρμανση, εάν χρειαστεί.

Προστίθενται 20 mg λιπάσης (5.10) και 2 ml ρυθμιστικού διαλύματος (5.15). Αναδεύονται καλά, αλλά προσεκτικά, και μετά προστίθενται 0,5 ml διαλύματος χολικού νατρίου (5.14) και 0,2 ml διαλύματος χλωριούχου ασβεστίου (5.13). Ο σωλήνας κλείνεται με το πόμα, αναδεύεται προσεκτικά (αποφεύγεται η ύγρανση του πόματος) και τοποθετείται αμέσως στο θερμοστάτη (4.17), διατηρούμενου στους $40 \pm 0,5$ °C και αναδεύεται με το χέρι επί ακριβώς ένα λεπτό.

Ο σωλήνας απομακρύνεται από το θερμοστάτη, και αναταράσσεται ζωηρά με τον ηλεκτρικό αναδευτήρα (4.19) επί ακριβώς δύο λεπτά.

Ψύχεται αμέσως σε τρέχον νερό· προστίθεται 1 ml υδροχλωρικού οξέος (5.12) και 1 ml διαιθυλικού αιθέρα (5.4). Πωματίζεται και αναμιγνύεται ζωηρά με τον ηλεκτρικό αναδευτήρα. Αφήνεται να ηρεμήσει και απομακρύνεται η αιθερική στοιβάδα με σύριγγα (4.10), μετά από φυγοκέντρωση, εάν χρειαστεί.

8.2. Διαχωρισμός των μονογλυκεριδίων με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας

Το εκχύλισμα τοποθετείται στη χρωματογραφική πλάκα με μικροσύριγγα (4.11) περίπου 1,5 cm από την κάτω άκρη, σε μία λεπτή, ομοιόμορφη γραμμή, στενή όσο γίνεται. Η πλάκα τοποθετείται σε καλά κορεσμένο λουτρό αναπτύξεως (4.14) και αναπτύσσεται με το διάλυμα ανάπτυξης (5.7) στους 20 °C περίπου, μέχρι περίπου 1 cm από την επάνω άκρη της πλάκας.

▼B

Οι πλάκες ξηραίνονται στον αέρα, στη θερμοκρασία του λουτρού, και ψεκάζονται με διάλυμα 2',7'διχλωροφλουορεσκεΐνης (5.17). Η στοιβάς των μονογλυκεριδίων (R_f περίπου 0,035) αναγνωρίζεται κάτω από υπεριώδες φώς (4.20).

8.3. Ανάλυση των μονογλυκεριδίων με ►C1 αέρια ◀ χρωματογραφία

Απομακρύνεται η στοιβάδα που αποκτήθηκε στην 8.2 με τη βοήθεια σπάτουλας (αποφεύγεται η απομάκρυνση συστατικών που απομένουν στη γραμμή της βάσης) και μεταφέρεται στη φιάλη μεθυλίωσης (4.2).

Το συλλεγμένο πυρίτιο επεξεργάζεται κατευθείαν όπως περιγράφεται στο παράρτημα X-B, έτσι ώστε να μετατραπούν τα μονογλυκερίδια σε μεθυλεστέρες, και μετά οι εστέρες εξετάζονται με αέριο χρωματογραφία, όπως περιγράφεται στο παράρτημα X-A.

9. ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Υπολογίζεται η ►C1 σύνθεση ◀ των λιπαρών οξέων στη 2-θέση με ακρίβεια ενός δεκαδικού (Σημείωση 3).

10. ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ

1. Έλεγχος της ενεργότητας της λιπάσης

Παρασκευάζεται ελαιώδες γαλάκτωμα με ανάδευση μείγματος 165 ml διαλύματος αραβικού κόμμεως (5.21), 15 g κομματιασμένου πάγου και 20 ml εξουδετερωμένου ελαιού (5.18) σε κατάλληλο αναδευτήρα.

Σε ένα ποτήρι ζέσης (4.5) τοποθετούνται 10 ml του γαλακτώματος αυτού, ακολουθούμενα διαδοχικά από 0,3 ml διαλύματος χολικού νατρίου (5.20) και 20 ml απεσταγμένου νερού.

Το ποτήρι τίθεται σε θερμοστάτη διατηρούμενο στους $37 \pm 0,5$ °C (σημείωση 4)· εισάγονται τα ηλεκτρόδια ενός πεχάμετρου (4.21) και ένας σπειροειδής αναδευτήρας (4.22).

Με μία προχοΐδα (4.23) προστίθεται κατά σταγόνες το διάλυμα υδροξειδίου νατρίου (5.19) έως ότου το pH γίνει 8,5.

Προστίθεται επαρκής ποσότης υδατικού αιωρήματος λιπάσης (βλέπε κατωτέρω). Όταν το πεχάμετρο δείξει τιμή pH 8,3, τίθεται σε λειτουργία το χρονόμετρο (4.24) και προστίθεται στάγδην διάλυμα υδροξειδίου νατρίου (5.19) με ρυθμό τέτοιο ώστε να διατηρηθεί η τιμή του pH στο 8,3. Αναγιγνώσκεται ο όγκος του διαλύματος αλάλεως που καταναλίσκεται κάθε λεπτό.

Καταγράφονται οι παρατηρήσεις σε μορφή διαγράμματος, χρησιμοποιώντας τις μετρήσεις χρόνου σαν τετμημένες και τα ml του αλκαλικού διαλύματος, που απαιτούνται για να διατηρηθεί το pH σταθερό, σαν τεταγμένες. Πρέπει να προκύψει μία ευθεία γραμμή.

Το αιώρημα της λιπάσης που αναφέρθηκε ανωτέρω είναι αιώρημα 1 % (M/M) σε νερό. Για κάθε δοκιμή θα πρέπει να χρησιμοποιείται αρκετό από το αιώρημα αυτό έτσι ώστε περίπου 1 ml του αλκαλικού διαλύματος να καταναλώνεται σε 4 με 5 λεπτά. Συνήθως απαιτούνται περίπου 1-5 mg της σκόνης.

Σαν μονάδα λιπάσης ορίζεται η ποσότητα του ενζύμου που θα ελευθερώσει 10 μ-ισοδύναμα οξέος ανά λεπτό. Μετά η ενεργότητα A της χρησιμοποιηθείσης σκόνης, εκφρασμένη σε μονάδες λιπάσης ανά mg, δίνεται από τη σχέση:

$$A = \frac{V \times 10}{m}$$

όπου V είναι ο όγκος του διαλύματος υδροξειδίου νατρίου (5.19) που καταναλώνεται ανά λεπτό, υπολογιζόμενος από το διάγραμμα, m είναι η μάζα, σε mg, της δοκιμαστικής δόσης της σκόνης.

2. Παρασκευή της λιπάσης

Λιπάσες με ικανοποιητική ενεργότητα λιπάσης διατίθενται στο εμπόριο. Αλλά είναι επίσης δυνατό να παρασκευαστούν εργαστηριακά ως εξής:

Ψύχονται 5 kg νεπού παγκρέατος χοίρου στους 0 °C· απομακρύνεται το περιβάλλον στερεό λίπος και συνδετικός ιστός και

▼B

ακολουθεί ομογενοποίηση σε ομογενοποιητή ώστε να αποκτηθεί ένα ιξώδες υγρό (πάστα). Η πάστα αυτή αναδεύεται με τον αναδευτήρα (4.25) επί 4-6 ώρες με 2,5 l άνυδρης ακετόνης και φυγοκεντρείται. Το υπόλειμμα εκχυλίζεται τρεις φορές ακόμα με τον (δίο όγκο ακετόνης, μετά δύο φορές με μείγμα I/I (V/V) ακετόνης και διαιθυλικού αιθέρα, και δύο φορές με διαιθυλικό αιθέρα.

Το υπόλειμμα ξηραίνεται υπό κενό επί 48 ώρες έως ότου αποκτηθεί μία σταθερή σκόνη, που πρέπει να διατηρείται σε ψυγείο.

3. Σε κάθε περίπτωση, συνίσταται να προσδιοριστεί η σύσταση των ολικών λιπαρών οξέων του ίδιου δείγματος, αφού η σύγκριση με αυτή των οξέων στη 2-θέση θα βοηθήσει στην ερμηνεία των λαμβανομένων στοιχείων.
4. Η θερμοκρασία της υδρόλυσης τίθεται στους 37 °C, καθώς χρησιμοποιείται ένα υγρό έλαιο. Ωστόσο, τίθεται στους 40 °C για το δείγμα προς ανάλυση, ώστε να επιτρέψει την εξέταση λιπών με σημεία ζέσης μέχρι 45 °C.

▼B

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ VIII

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΩΝ

1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ

▼C1

Προσδιορισμός της συνθέσεως των τριγλυκεριδίων σε υγρά φυτικά έλαια εκπεφρασμένης σε ισοδύναμο αριθμό ατόμων άνθρακος. Το παρόν κείμενο περιγράφει μέθοδο ποιοτικού και ποσοτικού προσδιορισμού της συνθέσεως των τριγλυκεριδίων φυτικών ελαίων συναρτήσει του μοριακού βάρους και του βαθμού ακορεστότητας αυτών, εκπεφρασμένου ως ισοδύναμο αριθμό ατόμων άνθρακος.

▼B

2. ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος αυτή είναι εφαρμόσιμη σε όλα τα φυτικά έλαια που περιέχουν τριγλυκερίδια λιπαρών οξέων μακρίας αλύσου. Η μέθοδος είναι ειδικά εφαρμόσιμη στην ανίχνευση της παρουσίας μικρών ποσοτήτων ►C1 ημιξηραιομένων ◄ ελαίων (πλούσιων σε λινελαϊκό οξύ) σε φυτικά έλαια που περιέχουν ελαϊκό οξύ σαν το κυρίως ακόρεστο λιπαρό οξύ, όπως το ελαιόλαδο.

3. ΑΡΧΗ

Διαχωρισμός των τριγλυκεριδίων ανάλογα με τον ισοδύναμο αριθμό ατόμων άνθρακα αυτών, με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (πολικότητας ανάστροφης φάσης) και ερμηνεία των χρωματογραφημάτων.

4. ΟΡΓΑΝΑ

- 4.1. Υγρός χρωματογράφος υψηλής απόδοσης, με θερμοστατικό έλεγχο της θερμοκρασίας της στήλης.
- 4.2. Σύριγγα των 10 ml.
- 4.3. Ανιχνευτής: διαφορικό διαθλασίμετρο. Η ευαισθησία πλήρους κλίμακας πρέπει να είναι τουλάχιστον 10^{-4} μονάδες δείκτη διάθλασης.
- 4.4. Στήλη: Στήλη από ανοξειδωτο ατσάλι μήκους 250 mm και εσωτερικής διαμέτρου 4,5 mm, γεμισμένη με σωματίδια διοξειδίου του πυριτίου με 22-23 % άνθρακα σε μορφή οκταδεκυλσιλανίου, διαμέτρου 5 mm (σημείωση 2).
- 4.5. Καταγραφέας ή/και ολοκληρωτής.

5. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικού βαθμού. Οι διαλύτες έκλουσης πρέπει να είναι ►C1 απηλλαγμένοι οξυγόνο ◄, ώστε να μπορούν να ανακυκλωθούν αρκετές φορές χωρίς επίδραση στους διαχωρισμούς.

- 5.1. Χλωροφόρμιο.
- 5.2. Ακετόνη.
- 5.3. Ακετονιτρίλιο.
- 5.4. Διαλύτης έκλουσης: ακετονιτρίλιο + ακετόνη (οι αναλογίες προσαρμόζονται προς απόκτηση του επιθυμητού διαχωρισμού· αρχή με μείγμα 50:50).
- 5.5. Διαλύτης διαλυτοποίησης: ακετόνη ή μείγμα (1:1) ακετόνης-χλωροφόρμιο.
- 5.6. Τριγλυκερίδια αναφοράς: είτε μπορούν να χρησιμοποιηθούν τριγλυκερίδια του εμπορίου (τριπαλμιτίνη, τριολεΐνη κ.λπ.) και οι χρόνοι κατακράτησης αυτών να σχεδιαστούν σε διάγραμμα αντιστοιχίας με τον ισοδύναμο αριθμό άνθρακα, ή, εναλλακτικά, ένα χρωματογράφημα αναφοράς από έλαιο σόγιας (βλέπε σημειώσεις 3 και 4 και σχήματα 1 και 2).

▼ **B**

6. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Ένα διάλυμα 5 % των δειγμάτων προς ανάλυση παρασκευάζεται ζυγίζοντας $0,5 \pm 0,001$ g του δείγματος σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml και συμπληρώνεται έως τα 10 ml με το διαλύτη διαλυτοποίησης (5.5).

7. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΚΤΕΛΕΣΗΣ

- 7.1. Τίθεται σε λειτουργία το χρωματογραφικό σύστημα. Ο διαλύτης έκλουσης (5.4) αντλείται με ρυθμό 1,5 ml/mm για να καθαριστεί ολόκληρο το σύστημα. Αναμένουμε μέχρις ότου μία σταθερή γραμμή βάσης αποκτηθεί.

Ενίονται 10 ml του δείγματος παρασκευασμένου κατά την 6.

8. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Χρησιμοποιείται η μέθοδος με εσωτερικό πρότυπο, δηλαδή υποτίθεται ότι το άθροισμα των εμβαδών των κορυφών που αντιστοιχούν στα διάφορα τριγλυκερίδια ισούται με το 100 %. Η σχετική ποσοστιαία περιεκτικότητα κάθε τριγλυκεριδίου υπολογίζεται χρησιμοποιώντας την εξίσωση:

$$\text{Ποσοστό του \% τριγλυκεριδίου} = \frac{\text{εμβαδόν κορυφής}}{\text{άθροισμα εμβαδών κορυφών}} \times 100,$$

με το αποτέλεσμα να δίνεται με ένα δεκαδικό.

Σημείωση 1: Η σειρά έκλουσης μπορεί να προσδιοριστεί υπολογίζοντας τους ισοδύναμους αριθμούς άνθρακα, συχνά καθοριζόμενους από τη σχέση $ECN = CN - 2\eta$, όπου CN είναι ο αριθμός άνθρακα και η είναι ο αριθμός των διπλών δεσμών· μπορεί να υπολογιστεί με πολύ μεγαλύτερη ακρίβεια λαμβάνοντας υπόψη την προέλευση των διπλών δεσμών. Εάν η_o , η_1 και $\eta_{1\eta}$ είναι οι αριθμοί των διπλών δεσμών που αποδίδονται στο ελαϊκό, λιγνελειϊκό και λινολενικό οξύ αντίστοιχα, ο ισοδύναμος αριθμός άνθρακα μπορεί να υπολογιστεί μέσα από μία σχέση της μορφής:

$$ECN = CN - d_o\eta_o - d_1\eta_1 - d_{1\eta}\eta_{1\eta},$$

όπου οι συντελεστές d_o , d_1 και $d_{1\eta}$ μπορούν να υπολογιστούν με χρήση των τριγλυκεριδίων αναφοράς. Κάτω από τις συνθήκες που καθορίζονται σε αυτή τη μέθοδο, η λαμβανόμενη σχέση θα είναι περίπου:

$$ECN = CN - (2,60 \eta_o) - (2,35 \eta_1) - (2,17 \eta_{1\eta})$$

Σημείωση 2: Παραδείγματα: Lichrosorb (Merck) RP18 Art 50333·

Lichrosphere (Merck) 100 CH18 Art 50377 η παρόμοια,

Σημείωση 3: Με αρκετά τριγλυκερίδια αναφοράς είναι επίσης δυνατό να υπολογιστεί η διακριτική ικανότητα αναφορικά με τη τριελαϊνη,

$$a = RT'/RT'_{\text{ολεινης}}$$

χρησιμοποιώντας τον ανηγμένο χρόνο κατακράτησης $RT' = RT - RT_{\text{διαλύτη}}$

Το διάγραμμα των τιμών του $\log a$ σε συνάρτηση του f (αριθμός διπλών δεσμών) επιτρέπει τον προσδιορισμό των τιμών κατακράτησης για όλα τα τριγλυκερίδια των λιπαρών οξέων που περιέχονται στα τριγλυκερίδια αναφοράς (βλέπε σχήμα 2).

Σημείωση 4: Η αποτελεσματικότητα της στήλης πρέπει να επιτρέπει σαφή διαχωρισμό της κορυφής της τριλινολεϊνης από της κορυφές των τριγλυκεριδίων με συνεχόμενο RT.

▼ **M11**

Σημείωση 5: Σε ότι αφορά τα διανγή παρθένα έλαια και τα ακατέργαστα πυρηνέλαια, για να ληφθεί σαφής διαχωρισμός της κορυφής της τριλινολεϊνης από τις γειτονικές κορυφές ή από ενδεχόμενες ουσίες που παρεμβάλλονται, είναι απαραίτητο να καθαρίζονται προληπτικά τα έλαια, σύμφωνα με την ακόλουθη μεθοδολογία:

▼ **M11**

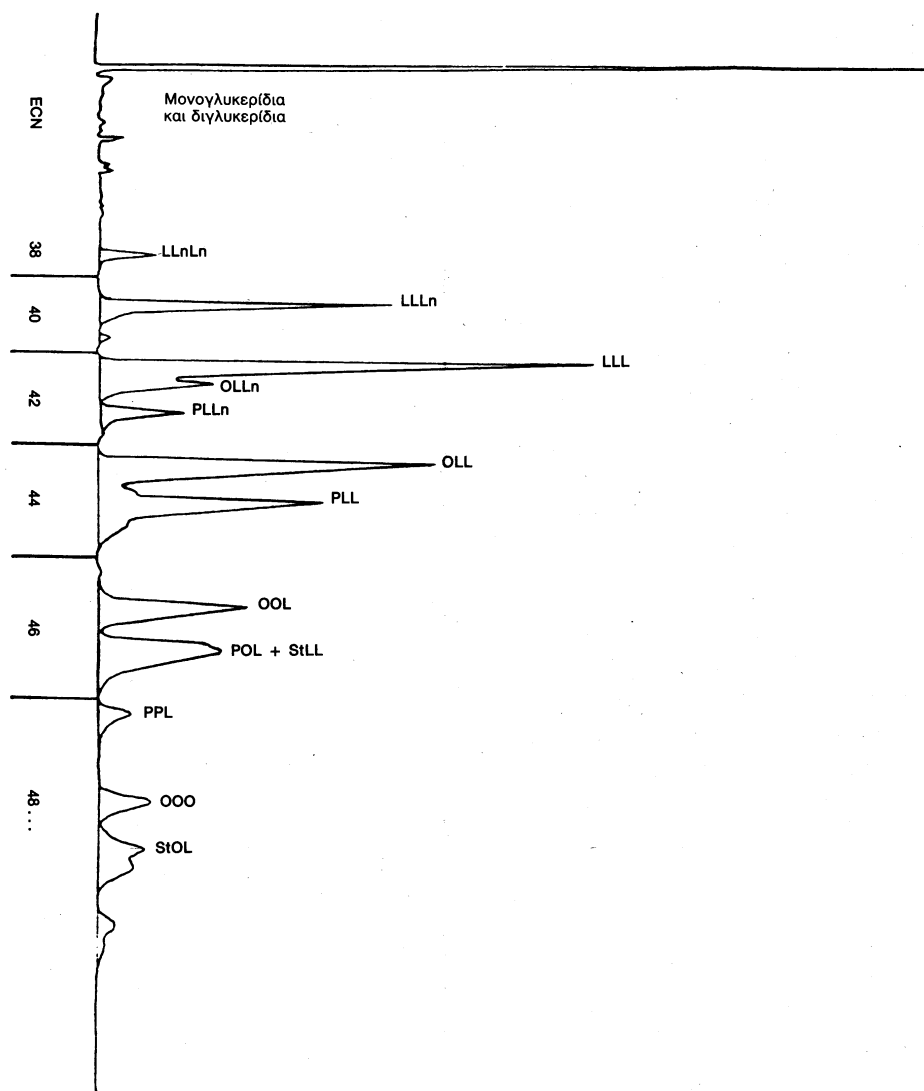
Αφήνονται να απορροφηθούν 200 ml ελαιολάδου, χωρίς να αραιωθούν, σε λεπτή στήλη διοξειδίου του πυριτίου για χρωματογραφία υγρού-στερεού (τύπου SEP PAK silica cartridge-waters αριθ. 51900).

Τα τριγλυκερίδια εκκλύονται με 20 ml άνυδρου εξαίνιου υψηλής αποδόσεως υγρή χρωματογραφία (YAYX), σε μέγιστο χρονικό διάστημα 20 δευτερολέπτων.

Το προϊόν της έκλυσης ξηραίνεται σε ρεύμα αζώτου και παραλαμβάνει σε ισιπροπανόλη ή ακετόνη (5 ml). Εκχέονται 10-20 ml σε YAYX. Πρέπει να ελέγχεται η περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε λιπαρά οξέα ώστε να είναι η ίδια πριν και μετά τον καθορισμό, εντός του περιθωρίου σφάλματος της μεθόδου που χρησιμοποιήθηκε.

▼ **B****Σχήμα 1**

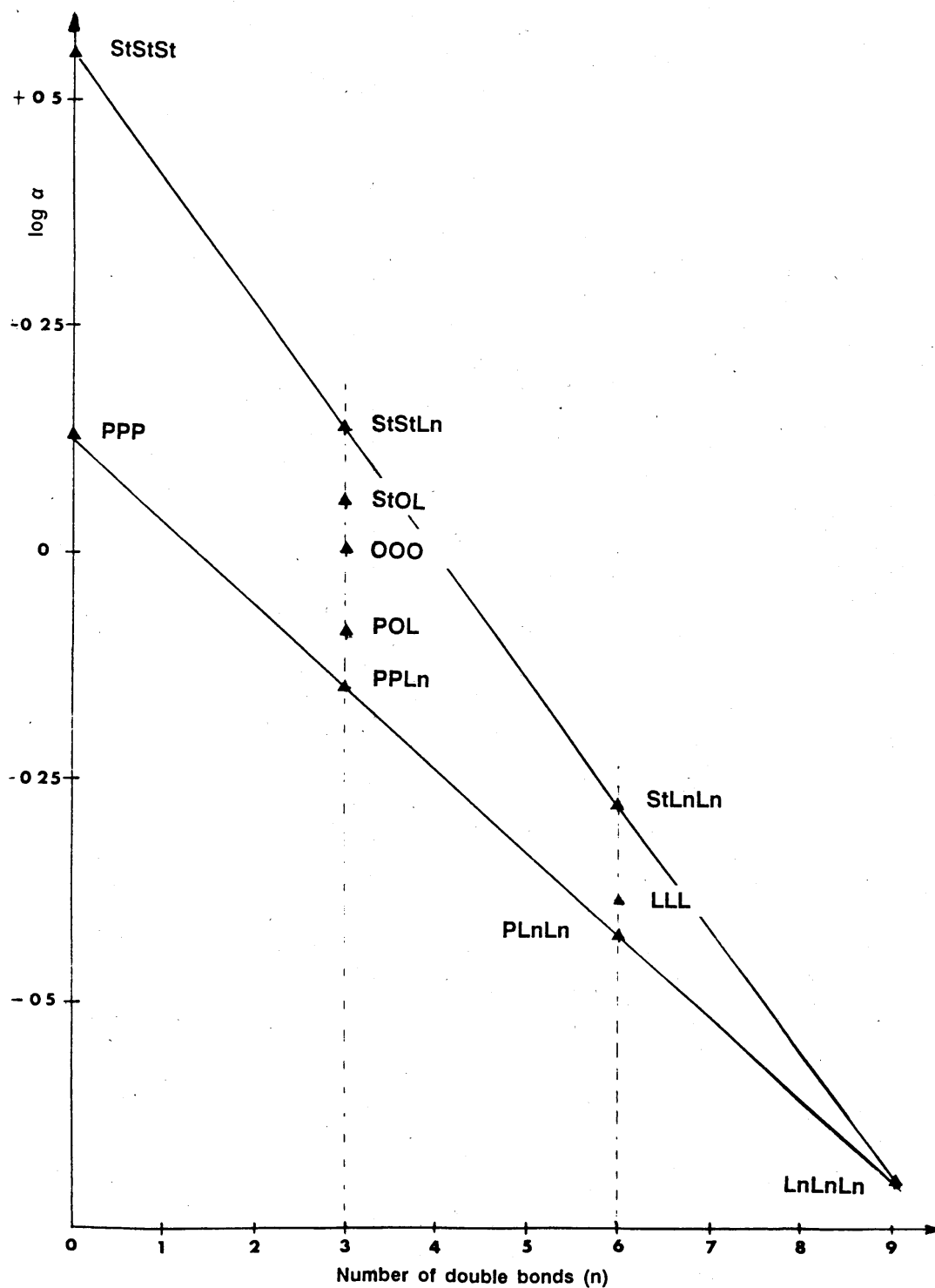
Χρωματογράφημα δείγματος σογιέλαιου



Σχήμα: P = Palmitinsäure; St = Stearinsäure; O = Ölsäure; L = Linolsäure; Ln = Linolensäure.

▼B

Σχήμα 2

Διάγραμμα του $\log a$ σε συνάρτηση του f (αριθμός διπλών δεσμών)

Σχήμα: La = Laurinsäure; My = Myristinsäure; P = Palmitinsäure; St = Stearinsäure; O = Ölsäure; L = Linolsäure; Ln = Linolensäure.

▼ B

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΧ

ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΗ ► C1 ΑΝΑΛΥΣΗ ◄ ΣΤΟ ΥΠΕΡΙΩΔΕΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η φασματοφωτομετρική εξέταση στο υπεριώδες μπορεί να δώσει ► C1 πληροφορίες ◄ ως προς την ποιότητα ενός λίπους, την κατάσταση συντήρησής του και τις μεταβολές που έχουν επέλθει ► C1 τις οφειλόμενες σε τεχνολογικές διαδικασίες ◄.

Η απορρόφηση στα μήκη κύματος που καθορίζονται στη μέθοδο οφείλεται στη παρουσία ► C1 συζυγιακών συστημάτων ◄ διένιων και τριένιων. Οι απορροφήσεις αυτές εκφράζονται ως ειδικές αποσβέσεις $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 1 % (η απόσβεση διαλύματος 1 % του λίπους στον ορισμένο διαλύτη, σε πάχος 1 cm) συμβατικά παριστώμενες με K (που ονομάζεται επίσης συντελεστής αποσβέσεως).

1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ

Η μέθοδος περιγράφει τη διαδικασία εκτέλεσης φασματοφωτομετρικής εξέτασης λιπών στο υπεριώδες.

2. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το υπό εξέταση λίπος διαλύεται στον απαιτούμενο διαλύτη και μετά προσδιορίζεται η απόσβεση του διαλύματος στα καθοριζόμενα μήκη κύματος αναφορικά προς καθαρό διαλύτη. Οι ειδικές αποσβέσεις υπολογίζονται από τις φασματοφωτομετρικές αναγνώσεις.

3. ΟΡΓΑΝΑ

- 3.1. Φασματοφωτόμετρο προς μέτρηση αποσβέσεων στο υπεριώδες μεταξύ 220 και 360 nm, με δυνατότητα ανάγνωσης αυτόνομων νανομετρικών μονάδων.
- 3.2. Ορθογώνιες κυψελίδες από χαλαζία, με καλύμματα, οπτικού μήκους 1 cm. Όταν είναι γεμάτες με νερό ή άλλο κατάλληλο διαλύτη, οι κυψελίδες δεν πρέπει να εμφανίζουν διαφορά μεταξύ τους μεγαλύτερη από 0,01 μονάδες απόσβεσης.
- 3.3. Ογκομετρικές φιάλες των 25 ml.

▼ M6

- 3.4. Χρωματογραφική στήλη της οποίας το επάνω μέρος έχει μήκος 270 mm και διάμετρο 35 mm και το κάτω μέρος μήκος 270 mm και διάμετρο 10 mm.

▼ B

4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- 4.1. — Φασματοφωτομετρικά καθαρό ισοοκτάνιο (2,2,4-τριμεθυλοπεντάνιο). Αναφορικά προς απεσταγμένο νερό, αυτό δεν πρέπει να έχει διαπερατότητα μικρότερη από 60 % στα 220 nm και μικρότερη από 95 % στα 250 nm,
ή
— φασματοφωτομετρικά καθαρό κυκλοεξάνιο: αναφορικά προς απεσταγμένο νερό, αυτό δεν πρέπει να έχει διαπερατότητα μικρότερη από 40 % στα 220 nm και μικρότερη από 95 % στα 250 nm.

▼ M6▼ B

- 4.2. Βασική αλουμίνα για χρωματογραφία στήλης, προετοιμασμένη και ελεγμένη όπως περιγράφεται στο παράρτημα I.
- 4.3. η-εξάνιο, για χρωματογραφία.
5. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ
- 5.1. Το υπό εξέταση δείγμα πρέπει να είναι εντελώς ομοιογενές και χωρίς υποψία ακαθαρσιών. Έλαια τα οποία είναι υγρά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος πρέπει να διηθηθούν ► C1 μέσω διηθητικού χάρτη ◄ σε θερμοκρασία περίπου 30 °C, σκληρά λίπη πρέπει να

▼B

ομοιογενοποιηθούν και να διηθηθούν σε θερμοκρασία όχι μεγαλύτερη από 10 °C πάνω από το σημείο τήξης.

- 5.2. Ζυγίζονται με σχετική ακρίβεια 0,25 g του δείγματος που προετοιμάστηκε με τον τρόπο αυτό σε ογκομετρική φιάλη των 25 ml, ο όγκος συμπληρώνεται έως τη χαραγή με το καθοριζόμενο διαλύτη και ομοιογενοποιείται. Το διάλυμα που προκύπτει πρέπει να είναι εντελώς διαυγές. Αν υπάρχει αδιαφάνεια ή θολότητα διηθείται γρήγορα ►C1 μέσω διηθητικού χάρτη ◄1.
- 5.3. Γεμίζεται μία κυψελίδα με το αποκτηθέν διάλυμα και μετρώνται οι απορροφήσεις σε κατάλληλο μήκος κύματος μεταξύ 232 και 276 nm, λαμβάνοντας το χρησιμοποιούμενο διαλύτη ως αναφορά.

Οι καταγραφόμενες τιμές απόσβεσης πρέπει να βρίσκονται μέσα στη περιοχή 0,1-0,8. Εάν όχι, οι μετρήσεις πρέπει να επαναληφθούν, χρησιμοποιώντας, κατά περίπτωση, πυκνότερα ή αραιότερα διαλύματα.

- 5.4. Όταν απαιτείται ένας προσδιορισμός ειδικής απόσβεσης μετά από ►C1 διέλευση από αλουμίνα ◄1, εκτελείται ως εξής: Τοποθετούνται 30 g βασικής αλουμίνας σε αιώρημα, σε εξάνιο, μέσα στη χρωματογραφική στήλη. Αφού το απορροφητικό κατακαθίσει, απομακρύνεται το πλεονάζον εξάνιο έως 1 cm περίπου πάνω από την κορυφή της αλουμίνας.

Διαλύονται 10 g του λίπους, ομοιογενοποιημένου και διηθέντος όπως περιγράφηκε στην 5.1, σε 100 ml εξάνιου και το διάλυμα εκχύεται μέσα στη στήλη. Το έκλουσμα συλλέγεται και απομακρύνεται όλος ο διαλύτης υπό κενό σε θερμοκρασία κάτω από 25 °C.

Χρησιμοποιώντας το λίπος που αποκτήθηκε με το τρόπο αυτό, προχωρούμε αμέσως όπως καθορίστηκε στην 5.2.

6. ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

- 6.1. Καταγράφονται οι ειδικές αποσβέσεις (συντελεστές αποσβέσεως) στα διάφορα μήκη κύματος, υπολογιζόμενες ως εξής:

$$K_{\lambda} = \frac{E_{\lambda}}{c \cdot s}$$

όπου:

- K_{λ} = ειδική απόσβεση σε μήκος κύματος λ ,
 E_{λ} = απόσβεση μετρηθείσα σε μήκος κύματος λ ,
 c = συγκέντρωση του διαλύματος σε g/100 ml,
 s = πάχος της κυψελίδας σε cm.

Τα αποτελέσματα εκφράζονται με δύο δεκαδικά ψηφία.

- 6.2. Η φασματοφωτομετρική ανάλυση ελαιόλαδου σύμφωνα με την επίσημη μέθοδο των κανονισμών της ΕΟΚ καθορίζει τον προσδιορισμό της ειδικής απόσβεσης σε διάλυμα ισοοκτανίου σε μήκη κύματος 232 και 270 nm και τον προσδιορισμό ΔK , ο οποίος αποδίδεται ως:

$$\Delta K = K_m - \frac{K_{m-4} + K_{m+4}}{2}$$

όπου K_m είναι η ειδική απόσβεση σε μήκος κύματος m , το μήκος κύματος μέγιστης απορρόφησης γύρω από τα 270 nm.

▼B*ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι**Προετοιμασία της αλουμίνας και έλεγχος της ενεργότητάς της*

A1.1. Προετοιμασία της αλουμίνας

Αλουμίνα, ►C1 αλουμίνα προξηρανθείσα ◄ σε φούρνο στους 380-400 °C επί 3 ώρες, τοποθετείται σε ερμητικά κλεισμένο δοχείο, προστίθεται απεσταγμένο νερό σε αναλογία 5 ml ανά 100 g αλουμίνας, το δοχείο κλείνεται αμέσως, ανακινείται επανειλημμένα και μετά αφήνεται όπως έχει επί τουλάχιστον 12 ώρες πριν από τη χρήση.

A1.2. Έλεγχος της ενεργότητας της αλουμίνας

Προετοιμάζεται χρωματογραφική στήλη με 30 g αλουμίνας. Ενεργώντας όπως περιγράφεται στον παράγραφο 5.4, διοχετεύεται μείγμα αποτελούμενο από:

— 95 % παρθένο ελαιόλαδο με ειδική απόσβεση μικρότερη από 0,18 στα 268 nm,

▼C1

— 5 % αραχιδέλαιο επεξεργασμένο σε αποχρωστικές γαίες, κατά τον εξευγενισμό του και να έχει ειδική απόσβεση στα 268 nm ανωτέρα ή ίση του 4.

▼B

Εάν μετά από διέλευση μέσα από τη στήλη το μείγμα έχει ειδική απόσβεση μεγαλύτερη από 0,11 στα 268 nm, η αλουμίνα είναι αποδεκτή, εάν όχι, πρέπει να αυξηθεί το επίπεδο ►C1 ενυδατώσεως ◄.

*ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ**Ρύθμιση του φασματοφωτόμετρου*

- A2. Ο εξοπλισμός πρέπει να ελέγχεται κατά διαστήματα (τουλάχιστον κάθε 6 μήνες) για την ανταπόκριση στα μήκη κύματος και για την ακρίβεια της ανταπόκρισης.
- A2.1. Το μήκος κύματος μπορεί να ελεγχθεί χρησιμοποιώντας λυχνία ατμών υδραργύρου ή με κατάλληλα φίλτρα.
- A2.2. Για να ελεγχθεί η ανταπόκριση του φωτοκύτταρου και του φωτοπολλαπλασιαστή, εκτελούνται τα ακόλουθα: ζυγίζονται 0,2 g καθαρού χρωμικού καλίου για φασματοφωτομετρία, διαλύονται σε διάλυμα 0,05 N υδροξειδίου του καλίου σε ογκομετρική φιάλη των 1 000 ml και ο όγκος συμπληρώνεται έως τη χαραγή. Λαμβάνονται ακριβώς 25 ml από το αποκτηθέν διάλυμα, μεταφέρονται σε ογκομετρική φιάλη των 500 ml και αραιώνονται, με συμπλήρωση του όγκου έως τη χαραγή, χρησιμοποιώντας το ίδιο διάλυμα υδροξειδίου του καλίου.

Μετράται η απόσβεση του διαλύματος που αποκτήθηκε με τον τρόπο αυτό στα 275 nm, χρησιμοποιώντας το διάλυμα υδροξειδίου του καλίου ως αναφορά. Η μετρηθείσα απόσβεση χρησιμοποιώντας κυψελίδα του 1 cm πρέπει να είναι $0,2 \pm 0,005$.

▼B

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ X «Α»

ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΔΙ' ΑΕΡΙΟΥ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ

1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Το παρόν διεθνές πρότυπο παρέχει γενικές οδηγίες για την εφαρμογή της αέριας χρωματογραφίας, με κοινές ►C1 (packed) ◄ ή τριχοειδείς στήλες, στον προσδιορισμό της ποιοτικής και ποσοτικής σύστασης μείγματος μεθυλεστέρων, οι οποίοι λαμβάνονται από λιπαρά οξέα με τη μέθοδο που καθορίζεται στο παράρτημα XB.

Η παρούσα μέθοδος δεν έχει εφαρμογή στα πολυμερισμένα λιπαρά οξέα.

2. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

2.1. Φέρον αέριο

Αδρανές αέριο (άζωτο, ήλιο, αργό, υδρογόνο, κ.λπ.) που έχει πλήρως ξηρανθεί και περιέχει λιγότερο από 10 mg/kg οξυγόνου.

Σημείωση 1: Το υδρογόνο που χρησιμοποιείται ως φέρον αέριο μόνο με τριχοειδείς στήλες, μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα διπλάσια ταχύτητα ανάλυσης, αλλά είναι επικίνδυνο. Διατίθενται συστήματα ασφαλείας.

2.2. Βοηθητικά αέρια

2.2.1. Υδρογόνο (καθαρότητας 99,9 %), απαλλαγμένο από οργανικές προσμείξεις.

2.2.2. Αέρας ή οξυγόνο χωρίς ►C1 οργανικές ◄ προσμείξεις.

2.3. Πρότυπο αναφοράς

Μείγμα μεθυλεστέρων ►C1 καθαρών ◄ λιπαρών οξέων ή μεθυλεστέρες λιπών γνωστής σύστασης, κατά προτίμηση ανάλογης με τη σύσταση της προς ανάλυση λιπαρής ύλης.

Λαμβάνεται πρόνοια ώστε να παρεμποδιστεί η οξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων.

3. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΣΚΕΥΗ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΑ

Οι παρεχόμενες υποδείξεις αφορούν το συνήθη εργαστηριακό εξοπλισμό αέριας χρωματογραφίας, με χρήση κοινών ή/και τριχοειδών στηλών και ανιχνευτή ►C1 ιονιζούσης φλογός ◄. Οποιοσδήποτε εξοπλισμός, με τον οποίο επιτυγχάνονται η αποδοτικότητα και η διακριτική ικανότητα που καθορίζονται στο σημείο 4.1.2, είναι κατάλληλος.

3.1. Αέριος χρωματογράφος

Ο αέριος χρωματογράφος αποτελείται από τα παρακάτω ►C1 τμήματα ◄:

3.1.1. Σύστημα έγχυσης του δείγματος

Χρησιμοποιείται σύστημα έγχυσης του δείγματος

α) είτε με κοινές στήλες, με το λιγότερο δυνατό μη ►C1 ωφέλιμο ◄ χώρο (στην περίπτωση αυτή, το σύστημα έγχυσης πρέπει να μπορεί να θερμαίνεται σε θερμοκρασία 20 °C έως 50 °C υψηλότερη από τη θερμοκρασία της στήλης)

β) είτε με τριχοειδείς στήλες, οπότε το σύστημα έγχυσης πρέπει να είναι ειδικά σχεδιασμένο για χρήση με στήλες του είδους αυτού. Μπορεί να είναι σύστημα με οπή (split) ή σύστημα έγχυσης πάνω στη στήλη χωρίς οπή (splitless).

Σημείωση 2: Εφόσον δεν υπάρχουν στο δείγμα λιπαρά οξέα με λιγότερα από 16 άτομα άνθρακα, μπορεί να χρησιμοποιηθεί σύστημα έγχυσης κινούμενης βελόνης.

▼B

3.1.2. Κλίβανος

Ο κλίβανος πρέπει να θερμαίνει τη στήλη σε θερμοκρασία τουλάχιστον 268 °C και να διατηρεί την επιθυμητή θερμοκρασία με ακρίβεια ± 1 °C, προκειμένου για κοινές στήλες, ή $\pm 0,1$ °C προκειμένου για τριχοειδείς. Η δεύτερη απαίτηση έχει ιδιαίτερη σημασία, όταν χρησιμοποιείται στήλη από συντετηγμένο διοξειδίο του ►C1 πυριτίου ◀.

Η χρήση προγραμματισμού θερμοκρασίας για τη θέρμανση συνιστάται σε όλες τις περιπτώσεις, αλλά ιδίως προκειμένου για λιπαρά οξέα με λιγότερα από 16 άτομα άνθρακα.

3.1.3. Κοινή στήλη ►C1 (packed column) ◀

3.1.3.1. Στήλη κατασκευασμένη από υλικό υδρανές σε σχέση με τις προς ανάλυση ουσίες (δηλαδή από γυαλί ή ανοξείδωτο χάλυβα) με τις ακόλουθες διαστάσεις:

- α) μήκος: 1 έως 3 μέτρα. Παρουσία λιπαρών οξέων με μακρά άλυσσο (άνω του C₂₀), θα πρέπει να χρησιμοποιείται σχετικά κοντή στήλη. Για την ανάλυση οξέων με 4 ή 6 άτομα άνθρακα, συνιστάται η χρήση στήλης μήκους 2 μέτρων.
- β) εσωτερική διάμετρος: 2 έως 4 mm.

Σημείωση 3: Με τις στήλες από ανοξείδωτο χάλυβα είναι δυνατόν να επέλθει αποσύνθεση των πολυακόρεστων συστατικών με περισσότερους από τρεις διπλούς δεσμούς.

Σημείωση 4: Μπορεί να χρησιμοποιηθεί σύστημα διπλών στηλών.

3.1.3.2. Υλικό πληρώσεως της στήλης, που αποτελείται από τα ακόλουθα στοιχεία:

- α) *υπόστρωμα:* Γη διατόμων, που έχει υποβληθεί σε έκπλυση με οξύ και σίλιανοποίηση ή άλλο κατάλληλο αδρανές υπόστρωμα, με στενό εύρος μεγέθους κόκκων (εύρος 25 μm μεταξύ των οριακών τιμών 125 μm και 200 μm): το μέσο μέγεθος κόκκων εξαρτάται από την εσωτερική διάμετρο και το μήκος της στήλης.
- β) *Στατική φάση:* Πολική φάση πολυεστερικού τύπου (παραδείγματος χάρη πολυηλεκτρική διαιθυλενογλυκόλη, πολυηλεκτρική βουτανοδιόλη, ►C1 πολυαδιπική ◀ αιθυλενογλυκόλη κ.λπ.), κυανοσιλικόνες ή οποιαδήποτε άλλη φάση επιτρέπει τον απαιτούμενο διαχωρισμό (βλέπει διάταξη 5). Η ►C1 στατική ◀ θα πρέπει να καταλαμβάνει ποσοστό 5 % (m/m) έως 20 % (m/m) του υλικού πληρώσεως. Για ορισμένους διαχωρισμούς μπορεί να χρησιμοποιηθεί μη πολική στατική φάση.

3.1.3.3. Προετοιμασία (κοντισιονάρισμα)

Με τη στήλη αποσυνδεδεμένη, αν είναι δυνατόν, από τον ανιχνευτή, η θερμοκρασία του κλιβάνου φέρεται σταδιακά στους 185 °C και, κατόπιν, διοχετεύεται ρεύμα αδρανούς αερίου μέσω της πρόσφατα παρασκευασμένης στήλης, με ταχύτητα ροής 20 ml/min έως 60 ml/min, για 16 ώρες τουλάχιστον στην παραπάνω θερμοκρασία και για ακόμη 2 ώρες στους 195 °C.

3.1.4. Τριχοειδής στήλη

3.1.4.1. Στήλη κατασκευασμένη από υλικό υδρανές σε σχέση με τις προς ανάλυση ουσίες (συνήθως γυαλί ή συντετηγμένο διοξειδίο του πυριτίου). Η εσωτερική διάμετρος κυμαίνεται μεταξύ 0,2 mm και 0,8 mm. Η εσωτερική επιφάνεια υποβάλλεται σε κατάλληλη κατεργασία (επιφανειακή προετοιμασία, αδρανοποίηση), πριν επιστρωθεί με την στατική φάση. Στις περισσότερες περιπτώσεις αρκεί μήκος 25 μέτρων.

3.1.4.2. Στατική φάση, συνήθως τύπου πολυγλυκόλης ►C1 (πολυαιθυλενογλυκόλη) 20 000 ◀, πολυεστέρα (πολυηλεκτρική βουτανοδιόλη) ή πολικού πολυσιλοξανίου (κυανοσιλικόνες). Κατάλληλες είναι οι στήλες με σταυροδεσμούς.

Σημείωση 4: Τα πολικά πολυσιλοξάνια υπάρχει κίνδυνος να προκαλέσουν δυσχέρειες στην ταυτοποίηση και τον διαχωρισμό του λινολενικού οξέος και των οξέων C₂₀. Οι επιστρώσεις πρέπει να είναι λεπτές, δηλαδή πάχους 0,1 μm έως ►C1 0,2μm ◀.

▼B

- 3.1.4.3. Συναρμολόγηση και προετοιμασία (κοντισιονάρισμα) της στήλης. Κατά τη συναρμολόγηση των τριχοειδών στηλών τηρούνται οι συνήθεις προφυλάξεις, δηλαδή διάταξη της στήλης στον κλίβανο (στήριγμα), επιλογή και συναρμολόγηση των συνδέσμων (στεγανότητα), σύνδεση των άκρων της στήλης με το σύστημα έγχυσης και τον ανιχνευτή (μείωση των μη ωφελίμων χώρων). Η στήλη τοποθετείται κάτω από ρεύμα φέροντος αερίου [παραδείγματος χάρη 0,3 bar (30 kPa), προκειμένου για στήλη μήκους ►C1 25 m ◀ και εσωτερικής διαμέτρου 0,3 mm].

Το κοντισιονάρισμα της στήλης γίνεται με προγραμματισμό της θερμοκρασίας του κλιβάνου ώστε να ανέρχεται 3 °C/min από τη θερμοκρασία περιβάλλοντος μέχρι μια θερμοκρασία 10 °C χαμηλότερη από το σημείο αντοχής της στατικής φάσης. Η θερμοκρασία του κλιβάνου διατηρείται στην τιμή αυτή για μία ώρα, μέχρι να σταθεροποιηθεί η γραμμή βάσεως, έπειτα επαναφέρεται στους 180°C για εργασία σε ισόθερμες συνθήκες.

Σημείωση 5: Στο εμπόριο κυκλοφορούν κατάλληλα προετοιμασμένες στήλες.

- 3.1.5. Ανιχνευτής, κατά προτίμηση επιδεχόμενος θέρμανση σε θερμοκρασία υψηλότερη από της στήλης.

3.2. Σύριγγα

Η σύριγγα πρέπει να έχει ανώτατη χωρητικότητα 10 μl και να είναι αριθμημένη ανά 0,1 μl.

3.3. Καταγραφέας

Αν για τον υπολογισμό της σύστασης του προς ανάλυση μείγματος πρόκειται να χρησιμοποιηθεί καμπύλη καταγραφέα, απαιτείται ηλεκτρονικός καταγραφέας μεγάλης ακρίβειας, συμβατός με τις χρησιμοποιούμενες συσκευές. Ο καταγραφέας πρέπει να έχει τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

- α) ταχύτητα απόκρισης μικρότερη από 1,5 s, κατά προτίμηση 1 s (ταχύτητα απόκρισης είναι ο χρόνος που χρειάζεται η γραφίδα του καταγραφέα για να καλύψει το διάστημα 8 % έως 90 % μετά την ακαριαία είσοδο σήματος 100 %)
- β) πλάτος χαρτιού 20 cm κατ' ελάχιστο όριο·
- γ) ταχύτητα χαρτιού ρυθμιζόμενη σε διάφορες τιμές μεταξύ ►C1 0,4 cm/min ◀ και 2,5 cm/min.

3.4. Ολοκληρωτής ή υπολογιστής (προαιρετικά)

Ταχείς και ακριβείς υπολογισμοί μπορούν να επιτευχθούν με τη βοήθεια ηλεκτρονικού ολοκληρωτή ή ηλεκτρονικού υπολογιστή· το όργανο αυτό πρέπει να παρέχει γραμμική απόκριση με επαρκή ευαισθησία, καθώς και ικανοποιητική διόρθωση, όσον αφορά την απόκλιση της γραμμής βάσεως.

4. ΕΚΤΕΛΕΣΗ

Οι εργασίες που περιγράφονται στα σημεία 4.1 έως 4.3 αφορούν τη χρήση ανιχνευτή φλογός ιονισμού. Είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθεί, εναλλακτικά, αέριος χρωματογράφος με ανιχνευτή θερμικής αγωγιμότητας (καθαρόμετρο). Στην περίπτωση αυτή, οι συνθήκες της εργασίας τροποποιούνται όπως περιγράφεται στη διάταξη 6.

4.1. Συνθήκες δοκιμής

4.1.1. Εκλογή των άριστων συνθηκών εργασίας

4.1.1.1. Κοινή στήλη

Για την εκλογή των συνθηκών δοκιμής, θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι ακόλουθες μεταβλητές:

- α) το μήκος και η διάμετρος της στήλης·
- β) το είδος και η ποσότητα της στατικής φάσης·
- γ) η θερμοκρασία της στήλης·
- δ) η ταχύτητα ροής του φέροντος αερίου·
- ε) η απαιτούμενη διακριτική ικανότητα·

▼B

ζ) η ποσότητα του δείγματος δοκιμής, η οποία επιλέγεται με τρόπο ώστε η συνδεσμολογία ανιχνευτή και ηλεκτρομέτρου να παρέχει γραμμική απόκριση·

η) η διάρκεια της ανάλυσης.

Οι τιμές που παρατίθενται στους πίνακες 1 και 2 γενικά, οδηγούν στα επιθυμητά αποτελέσματα, δηλαδή αποτελεσματικότητα τουλάχιστον 2 000 θεωρητικών πλακών ανά μέτρο μήκους της στήλης, για το στεατικό μεθυλεστέρα και έκλουσή του σε 15 min περίπου.

Εφόσον το επιτρέπει ο χρησιμοποιούμενος εξοπλισμός, η θερμοκρασία του συστήματος έγχυσης θα πρέπει να είναι περίπου 200 °C και του ανιχνευτή ίση ή υψηλότερη από τη θερμοκρασία της στήλης.

Κατά κανόνα, ο λόγος της ταχύτητας ροής του υδρογόνου, που διοχετεύεται στον ανιχνευτή φλογός ιονισμού προς την ταχύτητα ροής του φέροντος αερίου κυμαίνεται από 1:2 έως 1:1, ανάλογα με τη διάμετρο της στήλης. Η ταχύτητα ροής του οξυγόνου είναι περίπου πενταπλάσια έως δεκαπλάσια από του υδρογόνου.

Πίνακας 1

Εσωτερική διάμετρος στήλης mm	Ταχύτητα ροής φέροντος αερίου ml/min
2	15 έως 25
3	20 έως 40
4	40 έως 60

Πίνακας 2

►C1 Συγκέντρωση στατικής φάσης ◀ % (m/m)	Θερμοκρασία στήλης °C
5	175
10	180
15	185
20	185

4.1.1.2. Τριχοειδής στήλη

Τα χαρακτηριστικά αποδοτικότητας και δυνατότητας των τριχοειδών στηλών σημαίνουν ότι ο διαχωρισμός των συστατικών και η διάρκεια της ανάλυσης εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από την ταχύτητα ροής του φέροντος αερίου στη στήλη. Κατά συνέπεια, για την επίτευξη άριστων συνθηκών εργασίας, είναι απαραίτητο να ρυθμιστεί αυτή η παράμετρος (ή, πιο απλά, το ύψος απωλειών της στήλης), ανάλογα με το αν επιδιώκεται καλύτερος διαχωρισμός ή ταχύτερη ανάλυση.

4.1.2. Προσδιορισμός του αριθμού θεωρητικών πλακών (αποδοτικότητα) και της διακριτικής ικανότητας (βλέπε σχήμα 1).

Εκτελείται ανάλυση μείγματος στεατικού μεθυλεστέρα και ελαϊκού μεθυλεστέρα σε ίσες περίπου αναλογίες (παραδείγματος χάρη μεθυλεστέρες από βούτυρο κακάου).

Η θερμοκρασία της στήλης και η ταχύτητα ροής του φέροντος αερίου επιλέγονται με τρόπο ώστε το μέγιστο της κορυφής που αντιστοιχεί στο στεατικό μεθυλεστέρα να καταγράφεται 15 min περίπου μετά την κορυφή που αντιστοιχεί στο διαλύτη. Χρησιμοποιείται αρκετή ποσότητα από το μείγμα των μεθυλεστέρων, έσπε η κορυφή που αντιστοιχεί στο στεατικό μεθυλεστέρα να καταλαμβάνει περίπου τα 3/4 της πλήρους κλίμακας.

Ο αριθμός των θεωρητικών πλακών, n (αποδοτικότητα), υπολογίζεται με τον τύπο:

▼B

$$n = 16 \left(\frac{dr_{(I)}}{\omega_{(I)}} \right)^2$$

ενώ η διακριτική ικανότητα, R με τον τύπο:

$$R = \frac{2 \Delta}{\omega_{(I)} + \omega_{(II)}}$$

όπου:

$dr_{(I)}$ = είναι η απόσταση κατακράτησης, σε χιλιοστά-μετρα, από την αρχή του χρωματογραφήματος μέχρι το μέγιστο της κορυφής που αντιστοιχεί στο στεατικό μεθυλεστέρα,

$\omega_{(I)}$ και $\omega_{(II)}$ = είναι τα πλάτη, σε χιλιοστάμετρα, των κορυφών που αντιπροσωπεύουν το στεατικό μεθυλεστέρα και τον ελαϊκό μεθυλεστέρα, αντίστοιχα, τα οποία μετρώνται μεταξύ των σημείων τομής των εφαπτομένων στα σημεία καμπής των καμπυλών και της γραμμής βάσεως,

Δ = είναι η απόσταση, σε χιλιοστάμετρα, μεταξύ των μεγίστων των κορυφών που αντιστοιχούν στο στεατικό μεθυλεστέρα και στον ελαϊκό μεθυλεστέρα,

▼M2

και ο δείκτης διακριτικής ικανότητας με τον τύπο

$$I_r = \frac{a}{b}$$

όπου:

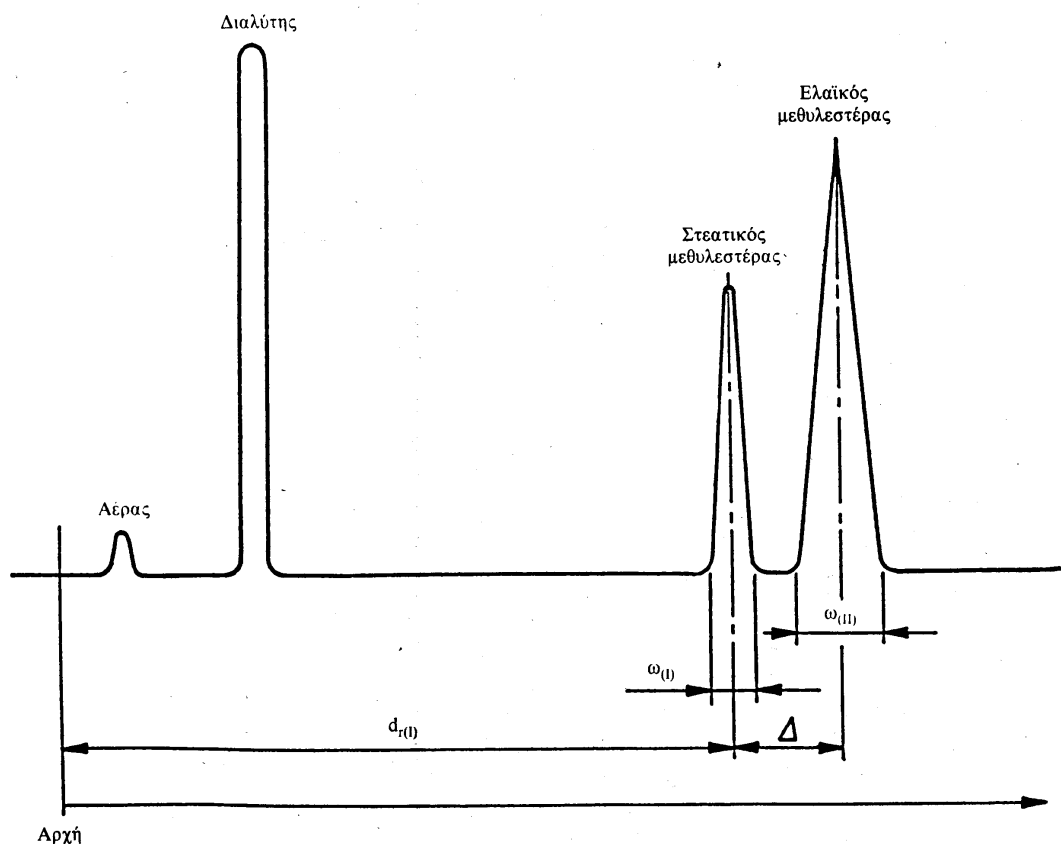
a = είναι το ύψος της χαμηλότερης κορυφής, μετρούμενο ως προς τη γραμμή βάσεως και

b = είναι το ύψος του χαμηλότερου σημείου της κοιλάδας της περιλαμβανόμενης μεταξύ των δύο προσκείμενων κορυφών, μετρούμενο ως προς τη γραμμή βάσεως.

▼B

Σχήμα 1

Χρωματογράφημα για τον προσδιορισμό του αριθμού θεωρητικών πλακών (αποδοτικότητα) και της διαχωριστικής ικανότητας



Οι συνθήκες εργασίας που πρέπει να επιλέγονται είναι εκείνες με τις οποίες επιτυγχάνονται αποδοτικότητα τουλάχιστον 2 000 θεωρητικών πλακών ανά μέτρο μήκους της στήλης, για το στεατικό μεθυλεστέρα, και διακριτική ικανότητα τουλάχιστον 1,25.

4.2. Δείγμα δοκιμής

Με τη βοήθεια της σύριγγας (3.2), λαμβάνονται 0,1 μl έως 2 μl από το διάλυμα μεθυλεστέρων που έχει παρασκευαστεί σύμφωνα με το παράρτημα XB και ►C1 εγχύονται ◀ στη στήλη.

Σε περίπτωση που οι εστέρες δεν είναι διαλυμένοι, παρασκευάζεται διάλυμα συγκεντρώσεως περίπου 100 mg/ml σε επτάνιο χρωματογραφικής καθαρότητας, από το οποίο ►C1 εγχύονται ◀ 0,1 μl έως 1 μl.

Αν πρόκειται για ανάλυση συστατικών που περιέχονται μόνο σε ίχνη, η ποσότητα του δείγματος δοκιμής μπορεί να αυξηθεί (έως 10 φορές).

4.3. Ανάλυση

Οι συνθήκες εργασίας είναι γενικά εκείνες που καθορίζονται στο σημείο 4.1.1.

Η εργασία, ωστόσο, μπορεί να εκτελεστεί σε χαμηλότερη θερμοκρασία στήλης, όταν απαιτείται ο προσδιορισμός λιπαρών οξέων με λιγότερα από 12 άτομα άνθρακα, ή σε υψηλότερη, προκειμένου για τον προσδιορισμό λιπαρών οξέων με περισσότερα από 20 άτομα άνθρακα. Όταν το επιτρέπουν οι περιστάσεις, είναι δυνατόν να εφαρμοστεί προγραμματισμός θερμοκρασίας και στις δύο παραπάνω περιπτώσεις. Παράδειγμα: αν το δείγμα περιέχει τους μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων με λιγότερα από 12 άτομα άνθρακα, το δείγμα εγχέεται στους 100 °C (ή στους 50-60°C παρουσία βουτυρικού οξέος) και αμέσως η θερμοκρασία φέρεται στην ►C1 μέγιστη τιμή ◀ με ταχύτητα 4 °C/min έως 8 °C/min.

▼ **B**

Σε ορισμένες περιπτώσεις, μπορεί να γίνει συνδυασμός των δύο τεχνικών.

Μετά τη θέρμανση με προγραμματισμό θερμοκρασίας, συνεχίζεται η έκλυση σε σταθερή θερμοκρασία, μέχρι να εκλουσθούν όλα τα συστατικά. Εάν το όργανο δεν επιτρέπει θέρμανση με προγραμματισμό θερμοκρασίας, η εργασία εκτελείται σε δύο καθορισμένες θερμοκρασίες μεταξύ 180 °C και 195 °C.

Συνιστάται, εφόσον είναι απαραίτητο, η διεξαγωγή δύο αναλύσεων με στατικές φάσεις διαφορετικής πολικότητας, ώστε να επιβεβαιωθεί η απουσία συγκαλυμμένων κορυφών, παραδείγματος χάρι στην περίπτωση της ταυτόχρονης παρουσίας συζυγών $C_{18:3}$ και ► **C1** C_{20} ; 0 ◀ ή $C_{18:3}$ και $C_{18:2}$.

4.4. **Καταγραφή του χρωματογραφήματος και των γραφικών παραστάσεων αναφοράς**

Εκτελείται ανάλυση του πρότυπου μείγματος αναφοράς (2.3), με τις ίδιες συνθήκες εργασίας όπως για το δείγμα, και μετρώνται οι χρόνοι ή οι αποστάσεις κατακράτησης για τα λιπαρά οξέα που το αποτελούν. Για κάθε βαθμό ακορέστου, σχεδιάζονται σε ημιλογαριθμικό χαρτί οι γραφικές παραστάσεις που απεικονίζουν το λογάριθμο του χρόνου ή της απόστασης κατακράτησης συναρτήσει του αριθμού ατόμων άνθρακα. Σε ισόθερμες συνθήκες, οι καμπύλες για οξέα με ευθεία άλυσσο και τον ίδιο βαθμό ακορέστου θα πρέπει να είναι ευθείες γραμμές, σχεδόν παράλληλες.

Είναι απαραίτητο να αποφεύγονται οι συνθήκες εκείνες, που επιτρέπουν «συγκαλυμμένες κορυφές», δηλαδή με τις οποίες η διακριτική ικανότητα είναι ανεπαρκής για το διαχωρισμό δύο συστατικών.

5. ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

5.1. **Ποιοτική ανάλυση**

Οι κορυφές που αντιστοιχούν στους μεθυλεστέρες του δείγματος ταυτοποιούνται από τις καμπύλες του σημείου 4.4, αν είναι απαραίτητο με παρεμβολή.

5.2. **Ποσοτική ανάλυση**

5.2.1. Προσδιορισμός της σύστασης

Εκτός από εξαιρετικές περιπτώσεις, εφαρμόζεται η μέθοδος εσωτερικής κανονικοποίησης, δηλαδή λαμβάνεται ως δεδομένο ότι στο χρωματογράφημα εμφανίζεται το σύνολο των συστατικών του δείγματος, με τρόπο ώστε το συνολικό εμβαδόν που περικλείεται από τις κορυφές να αντιπροσωπεύει το 100 % των συστατικών (πλήρης έκλυση).

Εάν ο χρησιμοποιούμενος εξοπλισμός περιλαμβάνει ολοκληρωτή, χρησιμοποιούνται οι αριθμοί που λαμβάνονται από αυτόν. Σε αντίθετη περίπτωση, το εμβαδόν που περικλείεται από κάθε κορυφή προσδιορίζεται πολλαπλασιάζοντας το ύψος της επί το πλάτος της στο μέσον του ύψους, ενώ λαμβάνονται υπόψη, κατά περίπτωση, οι διάφορες εξασθενήσεις του σήματος κατά την καταγραφή.

5.2.2. Τρόπος υπολογισμού

5.2.2.1. Γενική περίπτωση

Η περιεκτικότητα σε δεδομένο συστατικό i , εκφραζόμενη σε κατά μάζα εκατοστιαία αναλογία μεθυλεστέρων, υπολογίζεται με τον προσδιορισμό του επί τοις εκατό ποσοστού που αντιπροσωπεύει το εμβαδόν της αντίστοιχης κορυφής ως προς το άθροισμα των εμβαδών όλων των κορυφών, εφαρμόζοντας τον τύπο:

▼ **C1**

$$\frac{AI}{\Sigma A} \times 100$$

▼ **B**

όπου:

AI = είναι το εμβαδόν που περικλείεται από την κορυφή η οποία αντιστοιχεί στο συστατικό i ,

▼B

►C1 ΣΑ ◀ = είναι το άθροισμα των εμβαδών που περιλαμβάνονται από όλες τις κορυφές.

Το αποτέλεσμα δίδεται με ένα δεκαδικό ψηφίο.

Σημείωση 6: Στη γενική αυτή περίπτωση, θεωρείται ότι το αποτέλεσμα του υπολογισμού βάσει των σχετικών εμβαδών αντιπροσωπεύει εκατοστιαία αναλογία κατά μάζα. Για τις περιπτώσεις όπου η υπόθεση αυτή δεν ευσταθεί, βλ. σημείο 5.2.2.2.

5.2.2.2. Χρήση συντελεστών διορθώσεως

Σε ορισμένες περιπτώσεις, παραδείγματος χάρη παρουσία λιπαρών οξέων με λιγότερα από 8 άτομα άνθρακα ή οξέων με δευτερεύουσες ομάδες, όταν χρησιμοποιούνται ανιχνευτές θερμικής αγωγιμότητας ή όταν απαιτείται οπωσδήποτε η μεγαλύτερη δυνατή ακρίβεια, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται συντελεστές διορθώσεως για τη μετατροπή του επί τοις εκατό ποσοστού των εμβαδών των κορυφών σε κατά μάζα εκατοστιαίες αναλογίες συστατικών.

Οι συντελεστές διορθώσεως καθορίζονται με τη βοήθεια χρωματογραφήματος που προκύπτει από την ανάλυση μείγματος μεθυλεστέρων γνωστής σύστασης η οποία εκτελείται με πανομοιότυπες συνθήκες εργασίας όπως η ανάλυση του δείγματος.

Για το εν λόγω μείγμα αναφοράς, η κατά μάζα εκατοστιαία αναλογία του συστατικού *i* παρέχεται από τον τύπο:

$$\frac{m_i}{\Sigma_{\mu}} \times 100$$

όπου

m_i = είναι η μάζα του συστατικού *i* στο μείγμα αναφοράς,

Σ_m = είναι η συνολική μάζα των διαφόρων συστατικών του μείγματος αναφοράς.

Από το χρωματογράφημα του μείγματος αναφοράς (4.4), υπολογίζεται το επί τοις εκατό ποσοστό (εμβαδόν/εμβαδόν) για το συστατικό *i* ως εξής:

$$\frac{A_i}{\Sigma_A} \times 100$$

όπου

A_i = είναι το εμβαδόν που περικλείεται από την κορυφή η οποία αντιστοιχεί στο συστατικό *i*,

Σ_A = είναι το άθροισμα των εμβαδών που περικλείονται από όλες τις κορυφές.

Ο συντελεστής διορθώσεων υπολογίζεται τότε ως λόγος

$$K_i = \frac{m_i \times \Sigma_A}{A_i \times \Sigma_{\mu}}$$

Στην κοινή πρακτική, οι συντελεστές διορθώσεως εκφράζονται σε σχέση με το συντελεστή K_{C16} οπότε προκύπτουν οι σχετικοί συντελεστές

$$K'_i = \frac{K_i}{K_{C16}}$$

Όσον αφορά το δείγμα, η περιεκτικότητα σε κάθε συστατικό *i* εκφραζόμενη ως κατά μάζα εκατοστιαία αναλογία μεθυλεστέρων, είναι

$$\frac{K'_i \times A_i}{\Sigma(K'_i \times A_i)} \times 100$$

Τα αποτελέσματα δίδονται με ένα δεκαδικό ψηφίο.

5.2.2.3. Χρήση εσωτερικού προτύπου

Σε ορισμένες αναλύσεις (παραδείγματος χάρη όταν ο ποσοτικός προσδιορισμός δεν αφορά όλα τα λιπαρά οξέα, όπως στην περίπτωση ταυτόχρονης παρουσίας οξέων με 4 και 6 άτομα

▼ **B**

άνθρακα και οξέων με 16 και 18 άτομα άνθρακα, ή όταν είναι απαραίτητο να προσδιοριστεί η απόλυτη ποσότητα ενός λιπαρού οξέος σε ένα δείγμα) απαιτείται η χρήση εσωτερικού προτύπου. Χρησιμοποιούνται συνήθως λιπαρά οξέα με 5, 15 ή 17 άτομα άνθρακα. Ο συντελεστής διορθώσεως (αν έχει εφαρμογή) θα πρέπει να προσδιορίζεται και για το εσωτερικό πρότυπο.

Η κατά μάζα εκατοστιαία αναλογία του συστατικού i , εκφραζόμενη σε μεθυλεστέρες, παρέχεται από τον τύπο:

$$\frac{m_s \times K'_i \times A_i}{m \times K'_s \times A_s} \times 100$$

όπου

A_i = είναι το εμβαδόν που περικλείεται από την κορυφή η οποία αντιστοιχεί στο συστατικό i ,

A_s = είναι το εμβαδόν που περικλείεται από την κορυφή η οποία αντιστοιχεί στο εσωτερικό πρότυπο,

K'_i = είναι ο συντελεστής διορθώσεως για το συστατικό i (σχετικός, ως προς τον $K_{C_{16}}$),

K'_s = είναι ο συντελεστής διορθώσεως για το εσωτερικό πρότυπο (σχετικός, ως προς τον $K_{C_{16}}$),

m = είναι η μάζα του δείγματος δοκιμής, σε χιλιοστόγραμμα,

m_s = είναι η μάζα του εσωτερικού προτύπου, σε χιλιοστόγραμμα.

Τα αποτελέσματα δίδονται με ένα δεκαδικό ψηφίο.

▼ **M2**

6. ΕΙΔΙΚΗ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΩΝ TRANS ΙΣΟΜΕΡΩΝ

Είναι δυνατό να προσδιορισθεί η περιεκτικότητα σε trans ισομερή των λιπαρών οξέων με αριθμό ατόμων άνθρακος μεταξύ 10 και 24, με διαχωρισμό των μεθυλεστέρων και με χρήση τροχοειδών στηλών χρωματογραφίας οι οποίες έχουν συγκεκριμένη πολικότητα.

- 6.1. Τριχοειδής στήλη από οξειδίο του πυριτίου, εσωτερικής διαμέτρου από 0,25 έως 0,32 mm και μήκους 50 m, με επίχρισμα κυανοπροπυλσιλικόνης πάχους μεταξύ 0,1 και 0,3 μm (τύπου SP 2340, τύπου SP 2380, C.P.sil 88, Silor 10 και άλλων παρομοίων).
- 6.2. Οι μεθυλεστέρες παρασκευάζονται σύμφωνα με τη μέθοδο B του άλλου παραρτήματος (X/B). Οι λιπαρές ουσίες των οποίων η περιεκτικότητα σε ελεύθερα οξέα υπερβαίνει το 3 % πρέπει να εξουδετερώνονται προληπτικά σύμφωνα με το σημείο 6.1. του παραρτήματος 7.
- 6.3. Οι συνθήκες εργασίας για τη χρωματογραφία αέρος φάσεως είναι συνολικά οι ακόλουθες:
 - η θερμοκρασία της στήλης ρυθμίζεται στους 150° C έως 230° C (π.χ. 165° C επί 15 λεπτά και εν συνεχεία αυξάνεται κατά 5° C ανά λεπτό μέχρι τη θερμοκρασία των 200° C),
 - θερμοκρασία της διάταξης εγχύσεως: 250° C όταν χρησιμοποιείται το σύστημα split ή η αρχική θερμοκρασία της στήλης όταν χρησιμοποιείται το σύστημα εγχύσεως πάνω στη στήλη (on column),
 - θερμοκρασία του ανιχνευτή: 260 ° C,
 - παροχή του φέροντος αερίου (ήλιο και υδρογόνο): 1,2 ml ανά λεπτό.

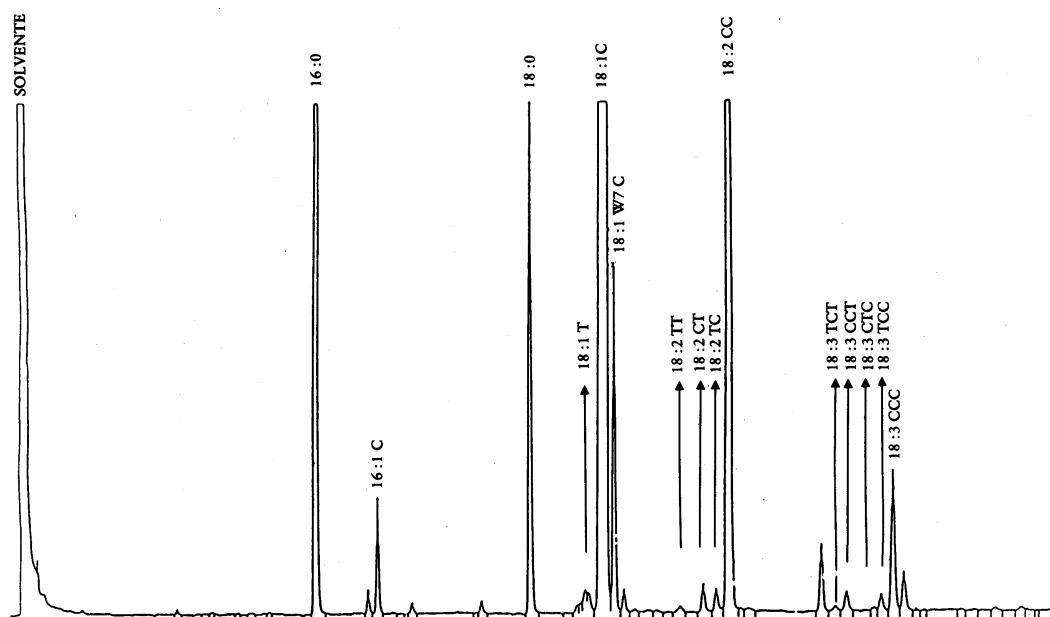
Η εισαγόμενη ποσότητα πρέπει να είναι τέτοια ώστε στις χρησιμοποιούμενες συνθήκες ευαισθησίας το ύψος της κορυφής που αντιστοιχεί στο μεθυλεστέρα του αραχιδικού οξέος να είναι ίσο ή να υπερβαίνει το 20 % του κάτω μέρους της κλίμακας.

- 6.4. Η αναγνώριση των διαφόρων μεθυλεστέρων γίνεται επί τη βάση των χρόνων συγκρατήσεως οι οποίοι συγκρίνονται προς εκείνους των μειγμάτων αναφοράς. (Όπως αναφέρεται στο σημείο 2.3).

Οι εστέρες των λιπαρών οξέων trans εκλύονται πριν από τα αντίστοιχα ισομερή cis. Το σχήμα 2 εμφανίζει σχετικό χρωματογράφημα.

▼ **M2****Σχήμα 2**

Χρωματογράφημα για τον προσδιορισμό των ισομερών trans των λιπαρών οξέων με τριχοειδή στήλη



- 6.5. Η αποδοτικότητα της στήλης, η προσδιοριζόμενη σύμφωνα με το σημείο 4.1.2, πρέπει να επιτρέπει διαχωρισμό ορισμένων κρίσιμων ζευγών, για παράδειγμα το ζεύγος που σχηματίζεται από τη ζώνη των trans ισομερών του ισοελαϊκού οξέος και την κορυφή του ελαϊκού οξέος, trans C 18: 1/cis C 18: 1, με δείκτη διακριτικής ικανότητας ανώτερο του 2,
- 6.6. Το ποσοστό των διαφόρων οξέων trans υπολογίζεται με τη βοήθεια της σχέσεως ανάμεσα στο εμβαδόν της αντίστοιχης κορυφής και το άθροισμα των εμβαδών όλων των κορυφών.

Λαμβάνονται υπόψη τα ποσοστά των οξέων:

- trans δεκαοκτανικών (T 18:1) που αναφέρονται στο παράρτημα του παρόντος κανονισμού ως σύνολο των trans ισομερών ελαϊκού οξέος,
- cis-trans και trans-cis δεκαοκταδιενικών [(CT/TC) 8:2] που αναφέρονται στο παράρτημα του παρόντος κανονισμού ως σύνολο των trans ισομερών λινελαϊκού οξέος,
- trans-cis-trans, cis-cis-trans, cis-trans-cis, trans-cis-cis, δεκαοκτατριενικών [(TCT + CCT + CTC + TCC) 18:3], που αναφέρονται στο παράρτημα του παρόντος κανονισμού ως σύνολο των trans ισομερών λινολενικού οξέος.

Σημείωση 8: Λαμβανομένων υπόψη των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών αυτής της μεθόδου, τα αποτελέσματα να δίδονται με δύο δεκαδικούς.

▼ **B**

► **M2** 7. ◀ **ΕΙΔΙΚΗ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ — ΧΡΗΣΗ ΚΑΘΑΡΟΜΕΤΡΟΥ ΩΣ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ (ΠΟΥ ΛΕΙΤΟΥΡΓΕΙ ΒΑΣΕΙ ΤΗΣ ΑΡΧΗΣ ΤΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΩΝ ΤΗΣ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΑΓΩΓΙΜΟΤΗΤΑΣ)**

Για τον προσδιορισμό της ποιοτικής και ποσοτικής σύστασης μείγματος μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων, μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί αέριος χρωματογράφος με ανιχνευτή που λειτουργεί βάσει της αρχής των μεταβολών της θερμικής αγωγιμότητας (καθαρόμετρο). Στην περίπτωση αυτή, οι συνθήκες που καθορίζονται στις διατάξεις 3 και 4 θα πρέπει να τροποποιούνται όπως φαίνεται στον πίνακα 3.

Για την ποσοτική ανάλυση χρησιμοποιούνται οι συντελεστές διορθώσεως που ορίζονται στο σημείο 5.2.2.2.

▼B

Πίνακας 3

Μεταβλητή	Τιμή/συνθήκη
Στήλη	Μήκος: 2 έως 4 μέτρα Εσωτερική διάμετρος: 4 mm
Υπόστρωμα	Μέγεθος κόκκων από 160 μm έως 200 μm
Συγκέντρωση ακίνητης φάσης	15 % (m/m) έως 25 % (m/m)
Φέρον αέριο	Ήλιο ή, ελλείψει αυτού, υδρογόνο, με τη χαμηλότερη δυνατή περιεκτικότητα σε οξυγόνο
Βοηθητικά	Κανένα
Θερμοκρασία συστήματος έγχυσης	40—60 °C υψηλότερη από της στήλης
Θερμοκρασία στήλης	Μεταξύ 180 °C και 200 °C
Ταχύτητα ροής φέροντος αερίου	Συνήθως μεταξύ 60 ml/min και 80 ml/min
Με ποσότητα του εγχεόμενου δείγματος δοκιμής	Συνήθως μεταξύ 0,5 μl και 2 μl

►M2 8. ◀ ►C1 ΕΚΘΕΣΗ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ◀

►C1 Στην έκθεση ανάλυσης περιγράφονται ◀ οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για παρασκευή των μεθυλεστέρων και για την αεριοχρωματογραφική ανάλυσή τους, καθώς και τα αποτελέσματα που προέκυψαν. Αναφέρονται επίσης όλες οι λεπτομέρειες των εργασιών, που δεν καθορίζονται στο παρόν διεθνές πρότυπο ή θεωρούνται προαιρετικές, καθώς και των τυχόν συμβάντων, που ενδέεται να έχουν επηρεάσει τα αποτελέσματα.

Η έκθεση δοκιμής πρέπει να περιλαμβάνει όλα τα απαραίτητα στοιχεία για την πλήρη ταυτοποίηση του δείγματος.



ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Χ «Β»

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΜΕΘΥΛΕΣΤΕΡΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΟ ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ VI, ΣΗΜΕΙΑ I ΚΑΙ II ΤΟΥ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΥ (ΕΟΚ) αριθ. 72/77 Ή ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΠΟΥ ΠΕΡΙΓΡΑΦΕΤΑΙ ΚΑΤΩΤΕΡΩ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η εκάστοτε τεχνική πρέπει να επιλέγεται ανάλογα με τη σύνθεση ως προς τα λιπαρά οξέα και με την οξύτητα της προς ανάλυση λιπαρής ύλης και σε συνάρτηση με την αεριοχρωματογραφική ανάλυση που πρόκειται να εκτελεστεί.

Πιο συγκεκριμένα:

- για λιπαρές ύλες που περιέχουν λιπαρά οξέα με λιγότερα από 12 άτομα άνθρακα, μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνο οι τεχνικές κλειστού φιαλιδίου ή θειικού διμεθυλεστέρα,
- για λιπαρές ύλες οξύτητας άνω του 3 %, μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνον οι τεχνικές μεθανόλης-υδροχλωρικού οξέος ή θειικού διμεθυλεστέρα,
- για τον αεριοχρωματογραφικό προσδιορισμό των trans-ισομερών, μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνον οι τεχνικές μεθυλικού νατρίου ή θειικού διμεθυλεστέρα,
- η τεχνική μεθανόλης-εξανίου θειικού οξέος πρέπει να χρησιμοποιείται για την παρασκευή μεθυλεστέρων από μικρές ποσότητες λιπαρών υλών, που προέρχονται από διαχωρισμούς με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας.

Η παρουσία ασαπωνοποιητών συστατικών μπορεί να θεωρείται αμελητέα, εκτός αν υπερβαίνει το 3 %, οπότε οι μεθυλεστέρες θα πρέπει να παρασκευάζονται από τα λιπαρά οξέα.

1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ

Περιγράφονται πέντε τεχνικές παρασκευής μεθυλεστέρων από λιπαρές ύλες:

- α) με μεθυλικό νάτριο·
- β) με μεθυλικό νάτριο σε κλειστό φιαλίδιο·
- γ) με μεθανόλη-υδροχλωρικό οξύ σε κλειστό φιαλίδιο·
- δ) με θειικό διμεθυλεστέρα·
- ε) με μεθανόλη-εξάνιο θειικό οξύ.

Τεχνική Α

2. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η προς ανάλυση λιπαρή ύλη θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα με μεθυλική αλκοόλη και μεθυλικό νάτριο. Οι λαμβανόμενοι μεθυλεστέρες εκχυλίζονται με διαιθυλαιθέρα.

3. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΣΚΕΥΗ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΑ

- 3.1. Σφαιρική φιάλη των 100 ml, η οποία φέρει κάθετο ψυκτήρα εφοδιασμένο στο άνω άκρο του με σωλήνα νατρασβέστου, το σύνολο με εσφυρισμένους συνδέσμους.
- 3.2. Ογκομετρικός κύλινδρος των 50 ml.
- 3.3. Βαθμολογημένο σιφόνιο των 5 ml με υποδιαιρέσεις 0,1 ml.
- 3.4. Διαχωριστικές χοάνες των 250 ml.
- 3.5. Σφαιρική φιάλη των 200 ml.

4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- 4.1. Άνυδρη μεθανόλη.
- 4.2. Μεθυλικό νάτριο, μεθανολικό διάλυμα συγκεντρώσεως περίπου 1 %: παρασκευάζεται με διάλυση 0,34 g μεταλλικού νατρίου σε 100 ml άνυδρης μεθανόλης.
- 4.3. Διαιθυλαιθέρας.

▼B

4.4. Χλωριούχο νάτριο, διάλυμα συγκεντρώσεως 10 %.

4.5. Πετρελαϊκός αιθέρας σ.ζ. 40-60°C.

5. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

5.1. Στη σφαιρική φιάλη των 100 ml φέρονται 2 g λιπαρής ύλης, που έχει προξηρανθεί με θειικό νάτριο και διηθηθεί. Προστίθενται 35 ml μεθανόλης, συνδέεται ο ψυκτήρας και το σύνολο θερμαίνεται μέχρι βρασμού με κάθετο ψυκτήρα για λίγα λεπτά.

5.2. Διακόπτεται η θέρμανση, αποσυνδέεται ο ψυκτήρας και προστίθενται με ταχύτητα 3,5 ml διαλύματος μεθυλικού νατρίου· συνδέεται και πάλι ο ψυκτήρας και το σύνολο θερμαίνεται μέχρι βρασμού με κάθετο ψυκτήρα για τρεις τουλάχιστον ώρες. Η μεθυλίωση θεωρείται πλήρης, όταν όλη η ποσότητα της λιπαρής ύλης έχει περάσει σε υγρή κατάσταση και το μείγμα της αντίδρασης είναι απόλυτα διαυγές σε θερμοκρασία δωματίου.

5.3. Το μείγμα της αντίδρασης ψύχεται και μεταγγίζεται σε διαχωριστική χοάνη των 250 ml. Προστίθενται 35-50 ml διαιθυλαιθέρα, 100 ml νερού και 5-6 ml διαλύματος χλωριούχου νατρίου 10 %. Η χοάνη ανακινείται και αφήνεται σε ηρεμία για να διαχωριστούν οι στοιβάδες· η υδατική στοιβάδα μεταγγίζεται σε άλλη διαχωριστική χοάνη και επαναλαμβάνεται η εκχύλιση με 25 ml διαιθυλαιθέρα.

Οι αιθερικές στοιβάδες ενώνονται και προστίθενται σ' αυτές 50 ml πετρελαϊκού αιθέρα σ.ζ. 40-60 °C· με τον τρόπο αυτό διαχωρίζεται το νερό, το οποίο και απομακρύνεται.

Η αιθερική στοιβάδα εκπλύνεται τρεις φορές με 10-15 ml νερού κάθε φορά, ξηραίνεται με θειικό νάτριο και διηθείται με χάρτινο ηθμό. Το διήθημα συλλέγεται στη σφαιρική φιάλη των 200 ml.

Ο διαλύτης απομακρύνεται με απόσταξη και η διαδικασία αυτή συμπληρώνεται σε υδατόλουτρο με τη διοχέτευση ρεύματος καθαρού αζώτου.

Τεχνική Β

2. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η προς ανάλυση λιπαρή ύλη υποβάλλεται σε κατεργασία με μεθανολικό διάλυμα, μεθυλικού νατρίου, σε κλειστό φιαλίδιο, στους 85-90 °C.

3. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΣΚΕΥΗ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΑ

3.1. Παχύτοιχο, γυάλινο φιαλίδιο, χωρητικότητας περίπου 5 ml (ύψος 40-45 mm, διάμετρος 14-16 mm).

3.2. Βαθμονομημένο σιφόνιο του 1 ml με υποδιαιρέσεις 0,1 ml.

4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Μεθυλικό νάτριο, μεθανολικό διάλυμα συγκεντρώσεως 1,5 % περίπου: παρασκευάζεται με διάλυση 0,5 g μεταλλικού νατρίου σε 100 ml άνυδρης μεθανόλης.

5. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

5.1. Στο γυάλινο φιαλίδιο φέρονται 2 g λιπαρής ύλης, που έχει προξηρανθεί με θειικό νάτριο και διηθηθεί. Προστίθενται 0,3 g (περίπου 0,4 ml) διαλύματος μεθυλικού νατρίου και το στόμιο του φιαλιδίου κλείνεται με τήξη σε φλόγα.

5.2. Το φιαλίδιο τοποθετείται σε λουτρό θερμοκρασίας 85-90 °C για δύο ώρες, ανακινούμενο κατά διαστήματα. Η εστεροποίηση θεωρείται ότι έχει περατωθεί, όταν το περιεχόμενο του φιαλιδίου είναι διαυγές μετά την καθίζηση της γλυκερίνης και των υπολειμμάτων των αντιδραστηρίων.

5.3. Το φιαλίδιο ψύχεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και ανοίγεται μόνον όταν πρόκειται να χρησιμοποιηθούν οι μεθυλεστέρες. Δεν απαιτείται άλλη κατεργασία πριν από την εισαγωγή των μεθυλεστέρων στον αέριο χρωματογράφο.

▼B

Τεχνική Γ

2. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η προς ανάλυση λιπαρή ύλη υποβάλλεται σε κατεργασία με μεθανόλη-υδροχλωρικό οξύ, σε κλειστό φιαλίδιο, στους 100 °C.

3. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΣΚΕΥΗ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΑ

- 3.1. Παχύτοιχο, γυάλινο φιαλίδιο, χωρητικότητας περίπου 5 ml (ύψος 40-45 mm, διάμετρος 14-16 mm).
- 3.2. Σιφόνια πληρώσεως των 1 και 2 ml.

4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- 4.1. Μεθανολικό διάλυμα υδροχλωρικού οξέος συγκεντρώσεως 2 %: παρασκευάζεται με αέριο υδροχλώριο και άνυδρη μεθανόλη (Σημείωση 1).
- 4.2. Εξάνιο για αέριο χρωματογραφία.

5. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

- 5.1. Στο γυάλινο φιαλίδιο φέρονται 0,2 g λιπαρής ύλης, που έχει προξηρανθεί με θειικό νάτριο και διηθηθεί, και 2 ml διαλύματος υδροχλωρικού οξέος-μεθανόλης. Το στόμιο του φιαλιδίου κλείνεται με τήξη σε φλόγα.
- 5.2. Το φιαλίδιο τοποθετείται σε λουτρό 100 °C για 40 λεπτά.
- 5.3. Το φιαλίδιο ψύχεται με τρεχούμενο νερό, ανοίγεται και προστίθενται 2 ml απεσταγμένου νερού και 1 ml εξανίου. Ακολουθεί φυγοκέντρωση και παραλαβή της εξανικής στοιβάδας, που είναι έτοιμη για να χρησιμοποιηθεί.

Τεχνική Δ

2. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η προς ανάλυση λιπαρή ύλη σαπωνοποιείται με διάλυμα υδροξειδίου του καλίου σε μεθυλική αλκοόλη και, κατόπιν, υποβάλλεται σε κατεργασία με θειικό διμεθυλεστέρα. Με την προσθήκη υδροχλωρικού οξέος, οι μεθυλεστέρες που έχουν σχηματιστεί ►C1 διαχωρίζονται ◄ αυτόματα. Με τη μετέπειτα κατεργασία με αλουμίνα, λαμβάνονται μεθυλεστέρες μεγάλης καθαρότητας.

3. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΣΚΕΥΗ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΑ

- 3.1. Παχύτοιχος, γυάλινος δοκιμαστικός σωλήνας, χωρητικότητας 20 ml περίπου, με εσφυρισμένο πώμα 10/19 και περόνες ασφαλείας.
- 3.2. Κάθετος ψυκτήρας με πέντε αφαιρικές διογκώσεις, εφοδιασμένος με εσφυρισμένο σύνδεσμο 10/19.
- 3.3. Γυάλινοι ηθμοί με πυθμένα από πορώδες γυαλί βαθμού G 2, διαμέτρου 20 mm.
- 3.4. Γυάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες, κωνικοί, χωρητικότητας 10 ml περίπου.
- 3.5. Σύριγγες των 1 ml και 5 ml.

4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- 4.1. Υδροξείδιο του καλίου, διάλυμα συγκεντρώσεως 10 % σε μεθυλική αλκοόλη για αέριο χρωματογραφία.
- 4.2. Δείκτης πράσινο της βρωμοκρεσόλης: διάλυμα συγκεντρώσεως 0,05 % σε μεθυλική αλκοόλη.
- 4.3. Θειικός διμεθυλεστέρας (d = 1,335 στους 15 °C).
- 4.4. Πυκνό υδροχλωρικό οξύ, d = 1,19, το οποίο αραιώνεται σε αναλογία 1:1 με μεθυλική αλκοόλη για αέρια χρωματογραφία.
- 4.5. Οξείδιο του αργιλίου, τιτλοδοτημένο κατά Brockmann για χρωματογραφία προσροφήσεως.

▼B

5. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

- 5.1. Στο δοκιμαστικό σωλήνα των 20 ml φέρονται 2 g (περίπου 2,2 ml) λιπαρής ύλης, που έχει προξηρανθεί με θειικό νάτριο και διηθηθεί, και προστίθενται 5 ml διαλύματος υδροξειδίου του καλίου και μερικοί κόκκοι χαλαζία για τη ρύθμιση του βρασμού. Συνδέεται ο κάθετος ψυκτήρας και ο σωλήνας θερμαίνεται πάνω από χαμηλή φλόγα για πέντε λεπτά υπό ανάδευση: η σαπωνοποίηση θεωρείται πλήρης όταν το διάλυμα είναι διαυγές. Μετά το τέλος της αντίδρασης, ο σωλήνας ψύχεται με τρεχούμενο νερό και ο ψυκτήρας απομακρύνεται.
- 5.2. Προστίθενται δύο σταγόνες δείκτη και, με σύριγγα αργά 1 ml θειικού διμεθυλεστέρα. Ο δοκιμαστικός σωλήνας κλείνεται ερμητικά και ανακινείται 2-3 λεπτά, ενώ ο πυθμένας του βυθίζεται τακτικά σε ζέον υδατόλουτρο: η αντίδραση έχει περατωθεί όταν ο δείκτης αλλάξει χρώμα, από κυανούν σε κίτρινο. Μετά το τέλος της αντίδρασης, ο δοκιμαστικός σωλήνας ψύχεται με τρεχούμενο νερό και, κατόπιν, ανοίγεται και προστίθενται 5 ml μεθανολικού διαλύματος υδροχλωρικού οξέος.
- 5.3. Μετά από ανάδευση λίγων δευτερολέπτων, ο δοκιμαστικός σωλήνας στερεώνεται σε επικλινή θέση και κτυπάται ελαφρά: τα κτυπήματα αυτά διευκολύνουν την άνοδο των μεθυλεστέρων στην επιφάνεια με τη μορφή ελαιώδους μάζας. (Σημείωση 1).

Οι μεθυλεστέρες παραλαμβάνονται με σύριγγα και φέρονται σε κωνικό δοκιμαστικό σωλήνα. Προστίθεται όγκος αλουμίνας ίσος προς το ¼ περίπου του όγκου των μεθυλεστέρων και ακολουθεί ανάδευση και διήθηση σε χάρτινο ηθμό.

Σημείωση 1: Σε περίπτωση μη αυτόματου διαχωρισμού των μεθυλεστέρων, προστίθενται στο δοκιμαστικό σωλήνα 5 ml νερού και το μείγμα αναδεύεται.

Τεχνική Ε

2. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η προς ανάλυση λιπαρή ύλη θερμαίνεται με κάθετο ψυκτήρα με μεθανόλη — εξάνιο-θειικό οξύ. Οι λαμβανόμενοι μεθυλεστέρες εκχυλίζονται με πετρελαϊκό αιθέρα.

3. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΣΚΕΥΗ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΑ

- 3.1. Δοκιμαστικός σωλήνας των 20 ml περίπου, εφοδιασμένος με κάθετο αεροψυκτήρα μήκους 1 μέτρου περίπου, το σύνολο με εσφυρισμένους συνδέσμους.
- 3.2. Σιφώνιο πλήρωσεως των 5 ml.
- 3.3. Διαχωριστική χοάνη των 50 ml.
- 3.4. Ογκομετρικοί κύλινδροι των 10 και 25 ml.
- 3.5. Δοκιμαστικός σωλήνας των 15 ml με κωνικό πυθμένα.

4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- 4.1. Αντιδραστήριο μεθυλίωσης: άνδρη μεθανόλη-εξάνιο πυκνό θειικό οξύ ($d = 1,84$) σε αναλογία 75:75:1 (V/V/V).
- 4.2. Πετρελαϊκός αιθέρας σ.ζ. 40-60 °C.
- 4.3. Άνυδρο θειικό νάτριο.

5. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

- 5.1. Στο δοκιμαστικό σωλήνα των 20 ml φέρεται το υλικό που έχει ληφθεί από τη χρωματογραφική πλάκα και προστίθενται 5 ml από το αντιδραστήριο μεθυλίωσης.
- 5.2. Συνδέεται ο κάθετος ψυκτήρας και το σύνολο θερμαίνεται για 30 λεπτά σε ζέον υδατόλουτρο (Σημείωση 2).
- 5.3. Το μείγμα μεταγγίζεται ποσοτικά σε διαχωριστική χοάνη των 50 ml, με τη βοήθεια 10 ml αποσταγμένου νερού και 10 ml πετρελαϊκού αιθέρα. Η χοάνη ανακινείται ζοηρά και αφήνεται σε ηρεμία για να διαχωριστούν οι στοιβάδες. Η υδατική στοιβάδα απομακρύνεται, ενώ η αιθερική εκπλύνεται δύο φορές με 20 ml αποσταγμένου νερού. Προστίθεται στη διαχωριστική χοάνη μικρή ποσότητα άνυδρου

▼B

θεικού νατρίου και το μείγμα αναδεύεται, αφήνεται σε ηρεμία λίγα λεπτά και διηθείται· το διήθημα συλλέγεται σε κωνικό δοκιμαστικό σωλήνα των 15 ml.

Ο διαλύτης εξατμίζεται σε υδατόλουτρο με τη διοχέτευση ρεύματος αζώτου.

Σημείωση 1: Μικρές ποσότητες αερίου υδροχλωρίου παρασκευάζονται εύκολα στο εργαστήριο με απλή εκτόπιση από το διάλυμα του εμπορίου ($p = 1,18$) με την ενστάλαξη πυκνού θεικού οξέος ($p = 1,84$). Το εκλυόμενο αέριο ξηραίνεται εύκολα με τη διοχέτευσή του μέσω πυκνού θεικού οξέος. Καθώς το υδροχλωρικό οξύ απορροφάται πολύ γρήγορα από τη μεθανόλη, συνιστάται να λαμβάνονται οι συνήθεις προφυλάξεις κατά τη διάλυσή του, δηλαδή διοχέτευση του αερίου μέσω μικρού ανεστραμμένου χωνιού, του οποίου τα χείλη μόλις εφάπτονται με την επιφάνεια του υγρού. Είναι δυνατό να παρασκευαστούν εκ των προτέρων μεγάλες ποσότητες μεθανολικού διαλύματος υδροχλωρικού οξέος, δεδομένου ότι το διάλυμα αυτό διατηρείται θαυμάσια μέσα σε φιάλες με γυάλινο πάμα, που πρέπει να φυλάσσονται στο σκοτάδι.

Σημείωση 2: Για να επιτευχθεί ομαλός βρασμός, τοποθετείται μέσα στο δοκιμαστικό σωλήνα γυάλινο ραβδί και η θερμοκρασία του υδατόλουτρου διατηρείται στους 90 °C.



ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ XI

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ►C1 ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ◄ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟ-
ΛΑΛΟΥ ΣΕ ΑΛΟΓΟΝΟΥΧΟΥΣ ΠΤΗΤΙΚΟΥΣ ΔΙΑΛΥΤΕΣ

1. ΑΡΧΗ

Αεριοχρωματογραφική ανάλυση σύμφωνα με την τεχνική «head space».

2. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

- 2.1. Συσκευή αερίου χρωματογραφίας, με ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων (ECD).
- 2.2. Συσκευή «head space».
- 2.3. Στήλη αερίου χρωματογραφίας από γυαλί μήκους 2 μέτρων και διαμέτρου 2 mm, ►C1 με στατική φάση ◄. OV101 ως 10 % ή ισοδύναμο, που εμποτίζει γη διατόμων, η οποία έχει αποτεφρωθεί, εκπλυθεί με οξέα και μετατραπεί σε σιλάνιο, κοκκομετρικού βαθμού 80 ως 100 Mesh.
- 2.4. Φέρον αέριο και βοηθητικό αέριο: άζωτο για αέριο χρωματογραφία, ►C1 κατάλληλο για ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων ◄.
- 2.5. Γυάλινα φιαλίδια 10 ως 15 ml, με επένδυση από τεφλόν και ένα πόμα από αλουμίνιο εφοδιασμένο με στόμιο, για δειγματοληψία με σύριγγα.
- 2.6. Λαβίδες ερμητικού κλεισίματος.
- 2.7. Σύριγγα για αέριο 0,5 ως 2 ml.

3. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- 3.1. Πρότυπα: αλογονούχοι πτητικοί διαλύτες ►C1 χρωματογραφικής καθαρότητας ◄.

4. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

- 4.1. Ζυγίζουμε ακριβώς 3 g ελαιολάδου περίπου σε ένα γυάλινο φιαλίδιο (μιας χρήσεως), κλείνουμε το φιαλίδιο ερμητικά. Εισάγουμε το φιαλίδιο σε θερμοστάτη σε 70 °C για μία ώρα. Λαμβάνουμε με ακρίβεια, με τη βοήθεια σύριγγας, όγκο 0,2 ως 0,5 ml από το «head space». Το εγχέουμε στη στήλη της συσκευής αερίου χρωματογραφίας που ρυθμίζεται ως εξής:
 - θερμοκρασία έγχυσης: 150 °C,
 - θερμοκρασία στήλης: 70 ως 80 °C,
 - θερμοκρασία ανίχνευσης: 200 ως 250 °C.
 Είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν άλλες θερμοκρασίες στο βαθμό που τα αποτελέσματα είναι ισοδύναμα.
- 4.2. Διαλύματα αναφοράς. Προετοιμάζουμε πρότυπα διαλύματα, χρησιμοποιώντας εξευγενισμένο ελαιόλαδο χωρίς ίχνη διαλυτών, σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται μεταξύ 0,05 και 1 mg/kg και ανάλογες με την υπολογιζόμενη περιεκτικότητα του δείγματος. Η ενδεχόμενη διάλυση πρέπει να γίνεται με πεντάνιο.
- 4.3. ►C1 Ποσοτικός προσδιορισμός ◄. Συγκρίνουμε τα εμβαδά ή τα ύψη των κορυφών του φάσματος που αντιστοιχούν στο δείγμα και στο πρότυπο διάλυμα με την υπολογιζόμενη πλησιέστερη συγκέντρωση. Αν η σχετική απόκλιση είναι μεγαλύτερη από 10 %, η ανάλυση πρέπει να επαναληφθεί, συγκρίνοντας με ένα νέο πρότυπο διάλυμα, μέχρι η σχετική συγκέντρωση να ανταποκρίνεται στη σχετική απόκλιση που προαναφέρεται. Η περιεκτικότητα υπολογίζεται με βάση ένα μέσο όρο των στοιχειωδών εγχύσεων.
- 4.4. Διατύπωση αποτελεσμάτων. Τα αποτελέσματα ►C1 εκφράζονται ◄ σε mg/kg (ppm). Το όριο ανίχνευσης της μεθόδου είναι 0,01 mg/kg.



ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΧΙΙ

ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΟΥ ΠΑΡΘΕΝΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ

Η παρούσα μέθοδος έχει στόχο τη θέσπιση των κριτηρίων εκείνων που είναι απαραίτητα για την αξιολόγηση των χαρακτηριστικών της γεύσης του παρθένου ελαιόλαδου και την ανάπτυξη της αναγκαίας μεθοδολογίας.

2. ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η περιγραφόμενη μέθοδος δεν ισχύει παρά για την οργανοληπτική αξιολόγηση και την κατάταξη του παρθένου ελαιόλαδου που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για άμεση κατανάλωση. Περιορίζεται στην κατάταξη του παρθένου ελαίου σε αριθμητική κλίμακα που καταρτίζεται σε σχέση με την αντίληψη των γευστικών ερεθισμάτων, σύμφωνα με την κρίση ομάδας επιλεγμένων δοκιμαστών που συγκροτούν εξεταστική επιτροπή.

3. ΓΕΝΙΚΟ ΒΑΣΙΚΟ ΛΕΞΙΛΟΓΙΟ ΤΗΣ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

Βλέπε προδιαγραφή που προβλέπεται στο κεφάλαιο «Οργανοληπτική ανάλυση: Γενικό βασικό λεξιλόγιο».



4. ΕΙΔΙΚΟ ΛΕΞΙΛΟΓΙΟ ΓΙΑ ΤΟ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ

4.1. Ευχάριστη αίσθηση που δημιουργείται από τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των παρθένων ελαιολάδων:

Βαθμός ωρίμανσης ελαιοκάρπου: γευστικότητα που θυμίζει ταυτοχρόνως οσμή και γεύση υγιούς και νωπού ελαιοκάρπου του οποίου η συγκομιδή έγινε στο στάδιο της ωρίμανσης του.

Βαθμός ωρίμανσης ώριμου ελαιοκάρπου: γευστικότητα ελαιολάδου παραχθέντος από ώριμο ελαιοκάρπο, κατά κανόνα χωρίς οσμή και με σακχαρώδη γεύση.

Βαθμός ωρίμανσης άωρου ελαιοκάρπου: γευστικότητα ελαιολάδου παραχθέντος από άωρο ακόμη ελαιοκάρπο.

4.2. Αίσθηση κατά το μάλλον ή ήττον ευχάριστη ανάλογα με το πόσο έντονα γίνεται αντιληπτή, η οποία δεν πρέπει να θεωρείται ως μειονέκτημα και η οποία όμως επηρεάζει την αρμονία της έννοιας του βαθμού ωρίμανσης:

Μήλο: γευστικότητα ελαιολάδου η οποία θυμίζει μήλο.

Γλυκεία γεύση: ευχάριστη γεύση, όχι ακριβώς σακχαρώδης, όπου δεν κυριαρχούν η πικρή, η στυφή και η δριμεία γεύση.

Χόρτο: χαρακτηριστική οσμή ορισμένων ελαιολάδων η οποία θυμίζει την οσμή που αναδίδει φρεσκοκομμένο χόρτο.

Πράσινα φύλλα (πικρίλα): γευστικότητα ελαιολάδου παραχθέντος από πολύ άωρο ελαιοκάρπο ή από ελαιοκάρπο του οποίου η άλεση έγινε μαζί με φύλλα και κλώνους.

Πικρίλα: χαρακτηριστική γεύση ελαιολάδου παραχθέντος από άωρο ελαιοκάρπο ή από ελαιοκάρπο που αρχίζει να ωριμάζει· η γεύση αυτή μπορεί να είναι κατά το μάλλον ή ήττον ευχάριστη αναλόγως με το πόσο έντονα γίνεται αντιληπτή.

Στυφότης: χαρακτηριστική αίσθηση που δημιουργούν ορισμένα ελαιόλαδα και κατά την οποία προκαλείται στο στόμα μια κιναισθητική αντίδραση στυπτικότητας.

Δριμύτης: γευστική αίσθηση νυγμού, χαρακτηριστική των ελαιολάδων τα οποία παράγονται στην αρχή της παραγωγικής περιόδου, από άωρο κυρίως ελαιοκάρπο. Η αίσθηση αυτή οφείλεται στη δράση των φαινολικών ουσιών πάνω στις απολήξεις του τρίδυμου νεύρου οι οποίες εκτείνονται σε ολόκληρη τη στοματική κοιλότητα.

Αμύγδαλο: η αντίστοιχη οργανοληπτική εντύπωση (γευστικότητα) μπορεί να έχει δύο διαφορετικές μορφές· μία, χαρακτηριστική του νωπού αμυγδάλου και άλλη, χαρακτηριστική του υγιούς και ξηρού

▼ **M3**

αμυγδάλου η οποία μπορεί να εκληφθεί ως αρχή ταγγίσματος. Μία εντελώς μοναδική παραμένουσα γεύση γίνεται αντιληπτή όταν το λάδι παραμένει σε επαφή με τη γλώσσα και τον ουρανίσκο· η γεύση αυτή συνδέεται με τα γλυκέα έλαια και την άτονη οσμή.

Επίπεδη ή άτονη (ξεθυμασμένη): τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου που δημιουργεί μία τέτοια εντύπωση είναι πολύ αδύνατα επειδή έχουν ξεθυμάνει τα αρωματικά συστατικά.

Άχυρο: χαρακτηριστική οσμή ορισμένων ελαιολάδων η οποία θυμίζει την οσμή χόρτου λίγο ως πολύ αποξηραμένου.

- 4.3. Αίσθηση δυσάρεστη πάντοτε, ακόμα και όταν η έντασή της είναι μόλις αντιληπτή, η οποία πρέπει να θεωρείται ως οργανοληπτικό μειονέκτημα.

Σπάρτο: χαρακτηριστική γευστικότητα ελαιολάδου παραχθέντος από ελιές οι οποίες είχαν στοιβαχθεί σε καινούργιους σάκους από σπάρτο. Η γευστικότητα μπορεί να διαφέρει αναλόγως του εάν πρόκειται για σάκους φτιαγμένους από χλωρά σπάρτα ή από ξηρά σπάρτα.

Χόμα: χαρακτηριστική γευστικότητα ελαιολάδου παραχθέντος από ελιές οι οποίες μαζεύτηκαν μαζί με χόμα ή λάσπη και δεν πλύθηκαν. Σε ορισμένες περιπτώσεις, η γευστικότητα αυτή μπορεί να συνδυάζεται και με την αίσθηση της μούχλας.

Παλαιότητα: χαρακτηριστική γευστικότητα ελαιολάδου το οποίο παραμένει επί πάρα πολύ χρόνο μέσα στα δοχεία αποθήκευσης. Μπορεί να δημιουργηθεί και από ελαιόλαδα τα οποία παρέμειναν συσκευασμένα επί παρατεταμένα χρονικά διαστήματα.

Σκουλήκι: χαρακτηριστική γευστικότητα ελαιολάδου παραχθέντος από ελιές οι οποίες υπέστησαν σοβαρή προσβολή από νύμφες του δάκου (*Dacus oleae*).

Μεταλλική: οργανοληπτική εντύπωση που θυμίζει μέταλλα· είναι χαρακτηριστική ελαιολάδου το οποίο παρέμεινε επί πολύ χρόνο σε επαφή με τρόφιμα ή με μεταλλικές επιφάνειες, σε κατάλληλες συνθήκες, κατά τη διάρκεια της άλεσης, της μάλαξης, της εκπίεσης ή της αποθήκευσης.

Μούχλα-υγρασία: χαρακτηριστική γευστικότητα ελαιολάδου παραχθέντος από ελιές προσβεβλημένες από ευρώτες και ζυμομύκητες κατόπιν παραμονής τους επί αρκετές ημέρες στην υγρασία.

Τάγγισμα: χαρακτηριστική γευστικότητα κοινή για όλα τα έλαια και λίπη τα οποία υπέστησαν αυτοοξειδωση κατόπιν παρατεταμένης επαφής τους με τον ατμοσφαιρικό αέρα· η αντίστοιχη αίσθηση είναι δυσάρεστη και ανεξάλειπτη.

Οσμή κλεισούρας (atojado): χαρακτηριστική γευστικότητα ελαιολάδου παραχθέντος από ελιές στοιβαγμένες σε κατάσταση προχωρημένης ζύμωσης.

Άλμη: γευστικότητα ελαιολάδου παραχθέντος από ελιές διατηρημένες σε αλμυρά διαλύματα.

Πλακούντες: χαρακτηριστική γευστικότητα ανάλογη εκείνης των λαιοπλακούντων.

Σαπωνοειδής: οργανοληπτική εντύπωση (όσφρηση-γεύση) που παραπέμπει στο πράσινο σαπούνι.

Νερό βλάστησης: χαρακτηριστική γευστικότητα που αποκτά το λάδι μετά από μετάγγιση και παρατεταμένη επαφή με τα νερά της βλαστήσεως.

Χαρακτηριστικά οίνου ή όξου: γευστικότητα ορισμένων ελαίων που θυμίζει κρασί ή ξύδι· τα χαρακτηριστικά οφείλονται ουσιαστικά στον σχηματισμό οξεικού οξέος, οξεικού αιθυλίου και αιθανόλης, σε ποσότητες μεγαλύτερες από αυτές που διαμορφώνουν το κανονικό άρωμα του ελαιολάδου.

Αγγούρι: γευστικότητα η οποία προκύπτει ως αποτέλεσμα υπερβολικά παρατεταμένης ερμητικής συσκευασίας, κυρίως μέσα σε δοχεία από λευκοσίδηρο, και η οποία οφείλεται στο σχηματισμό της 2,6 εννεανοδιενάλης.

Ψημένο ή καμένο: χαρακτηριστική γευστικότητα των ελαιολάδων η οποία προκύπτει ως αποτέλεσμα υπερβολικής ή/και παρατεταμένης θέρμανσης κατά την απόλησή του και ιδιαιτέρως κατά τη θερμομά-

▼ **M3**

λαξη της ελαιομάζας εάν η τελευταία αυτή γίνεται σε ακατάλληλες συνθήκες.

Μούργα: χαρακτηριστική γευστικότητα ελαιολάδου ανακτηθέντος από κατακάθια που μεταγγίστηκαν σε υπόγειες στήλες και αποθήκες.

Σάκος: χαρακτηριστική γευστικότητα ελαιολάδου παραχθέντος από ελιές οι οποίες είχαν στοιβαχθεί σε σάκους λερωμένους από ζυμωμένα κατάλοιπα.

Αιπαντικά: οσμή ελαιολάδου παραχθέντος σε ελαιουργείο του οποίου ο εξοπλισμός εξαγωγής ελαίου δεν υποβλήθηκε στον κατάλληλο καθαρισμό από κατάλοιπα πετρελαίου, λίπους ή ορυκτελαίου.

Χοντροειδής: χαρακτηριστική εντύπωση προκαλούμενη από ορισμένα ελαιόλαδα τα οποία δημιουργούν μια αίσθηση πυκνής και ζυμαρώδους ύλης.

▼ **B**

5. ΠΟΤΗΡΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΓΕΥΣΗ ΤΩΝ ΕΛΑΙΩΝ

Αναφορά στο κεφάλαιο «Ποτήρι για την πρόγευση των ελαίων».

6. ΑΙΘΟΥΣΑ ΠΡΟΓΕΥΣΗΣ

Αναφορά στο κεφάλαιο «Οδηγός για την εγκατάσταση αίθουσας πρόγευσης».

7. ΕΡΓΑΛΕΙΑ

Κάθε θάλαμος πρέπει να διαθέτει τα απαραίτητα όργανα, που θα είναι προσιτά στο δοκιμαστή, προκειμένου να εκτελέσει όπως πρέπει τα καθήκοντά του, δηλαδή:

- Ποτήρια (σύμφωνα με τις προδιαγραφές) που περιέχουν τα δείγματα, φέροντα διψήφιο κωδικό αριθμό που έχει επιλεγεί τυχαία ή φέροντα αριθμούς και γράμματα. Οι επιγραφές θα γράφονται με ανεξίτηλο και άοσμο μολύβι.
- Ύαλοι ωρολογίου, που φέρουν τις ίδιες επιγραφές, για να καλύπτουν τα ποτήρια.
- Φύλλα βαθμολογίας (βλέπε σχήμα 2), συμπληρωμένα και με οδηγίες χρήσεως.
- Μολύβι ή στυλό διαρκείας.
- Δίσκους με κομμάτια μήλου.
- Ένα ποτήρι νερό σε θερμοκρασία δωματίου.

8. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Το τμήμα αυτό ορίζει τις γνώσεις που είναι αναγκαίες εκ των προτέρων και που καθίστανται απαραίτητες για την πραγματοποίηση της οργανοληπτικής εξέτασης των παρθένων ελαιολάδων και στόχο έχει να θεσπίσει τους κανόνες συμπεριφοράς και τον τρόπο εργασίας των δοκιμαστών που πρέπει να συμμετάσχουν στις δοκιμές, οι οποίοι θα πρέπει να λάβουν γνώση τόσο των συστάσεων γενικού χαρακτήρα όσο και των ειδικών συστάσεων για την πρόγευση των ελαιολάδων.

8.1. Ρόλος του οργανωτή ή υπεύθυνου της εξεταστικής επιτροπής (ή ομάδας δοκιμαστών)

Ο οργανωτής της εξεταστικής επιτροπής πρέπει να είναι πολύ καλά καταρτισμένος, όντας γνώστης και εμπειρογνώμονας, καλά πληροφορημένος για όλα τα είδη ελαίου με τα οποία θα πρέπει να ασχοληθεί στα πλαίσια της εργασίας του. Είναι το «κλειδί» της εξεταστικής επιτροπής και υπεύθυνος για την οργάνωση και τη λειτουργία της. Πρέπει να καλεί εγκαίρως τους δοκιμαστές και θα προσπαθήσει να διευκρινίσει οποιαδήποτε αμφιβολία θα μπορούσε να δημιουργηθεί όσον αφορά την πραγματοποίηση των δοκιμών, αποφεύγοντας πάντα να υποβάλει τη γνώμη του επί του δείγματος, όποια κι αν είναι αυτή.

Είναι υπεύθυνος για την καταγραφή των εργαλείων, τον τέλειο καθαρισμό τους, την προετοιμασία και κωδικοποίηση των δειγμάτων, καθώς και για την παρουσίασή τους στους δοκιμαστές σύμφωνα με το πρωτόκολλο δοκιμής, για τη συλλογή των δεδομένων και τη στατιστική τους επεξεργασία, προκειμένου να

▼B

επιτευχθούν τα καλύτερα αποτελέσματα με τη λιγότερη προσπάθεια.

Η εργασία του υπεύθυνου της εξεταστικής επιτροπής απαιτεί επιδεξιότητα όσον αφορά τις αισθήσεις, σχολαστική προετοιμασία των δοκιμών, αυστηρή τάξη για την εκτέλεσή τους, καθώς και επιδεξιότητα και υπομονή για τον προγραμματισμό και την πραγματοποίηση των δοκιμών. Ο υπεύθυνος της ομάδας έχει επιπλέον ως αποστολή να ανυψώνει το ηθικό των μελών της ομάδας, παρακινώντας τους το ενδιαφέρον, την περιέργεια και το ανταγωνιστικό πνεύμα. Πρέπει να αποφεύγει να γίνεται γνωστή η γνώμη του και να εμποδίζει να επιβάλλονται τα επικρατέστερα κριτήρια των πιθανών «αρχηγών» στους υπόλοιπους δοκιμαστές. Είναι επίσης στην αρμοδιότητά του να επιβλέπει την εκπαίδευση, την επιλογή και τον έλεγχο των δοκιμαστών, ώστε να βεβαιώνεται ότι διατηρούνται σ' ένα τέλειο επίπεδο ικανότητας.

8.2. Συνθήκες δοκιμής

8.2.1. Μέγεθος του δείγματος

Κάθε ποτήρι πρέπει να περιέχει 15 ml ελαίου.

8.2.2. Θερμοκρασία της δοκιμής

Τα δείγματα του προς πρόγευση ελαίου πρέπει να διατηρούνται μέσα στα ποτήρια σε μια θερμοκρασία των 28 °C, με ανοχή ± 2 °C. Αυτή η θερμοκρασία χρησιμοποιείται λόγω του ότι επιτρέπει να διακρίνονται με μεγαλύτερη ευκολία οι οργανοληπτικές διαφορές, σε κανονική θερμοκρασία, όταν τα έλαια έχουν χρησιμοποιηθεί ως καρύκευμα. Ένας άλλος λόγος που επιβεβαιώνει τη σωστή επιλογή αυτής της θερμοκρασίας στηρίζεται στο γεγονός ότι θερμοκρασίες πιο χαμηλές ή πιο υψηλές προκαλούν ασθενή εξάτμιση των αρωματικών συστατικών ή παράγονται πτητικές ουσίες που αποτελούν ιδιαίτερο χαρακτηριστικό των θερμαινόμενων ελαίων.

8.2.3. Ωράριο των δοκιμών

Για τη δοκιμή των ελαίων, οι άριστες ώρες εργασίας είναι οι πρωινές: είναι αποδεδειγμένο ότι υπάρχουν περίοδοι κατά τη διάρκεια της ημέρας όπου η αντίληψη της γεύσης ή της οσμής είναι καλύτερη.

Μία περίοδος αυξημένης οσφρητικο-γευστικής οξύτητας προηγείται των γευμάτων τα οποία ακολουθούνται από μια μείωση της οξύτητας αυτής.

Εντούτοις, αυτό το κριτήριο δεν πρέπει να οδηγείται στα άκρα, στο σημείο που η πείνα θα μπορεί να αποτελεί παράγοντα απροσεξίας για τους δοκιμαστές και να αποτελεί αιτία μείωσης της διακριτικής τους ικανότητας και, κυρίως, των κριτηρίων τους της προτίμησης και της αποδοχής.

9. ΔΟΚΙΜΑΣΤΕΣ

Τα άτομα που λαμβάνουν μέρος ως δοκιμαστές στις οργανοληπτικές δοκιμές των βρώσιμων ελαιολάδων πρέπει να είναι εκπαιδευμένα και επιλεγμένα σύμφωνα με την επιδεξιότητά τους, να κάνουν το διαχωρισμό ανάμεσα σε ομοειδή δείγματα· δεν πρέπει να ξεχνάμε ότι η ακρίβεια βελτιώνεται με την εκπαίδευση (βλέπε σχετικό κεφάλαιο).

Για κάθε δοκιμή πρέπει να διαθέτουμε 8 έως 12 δοκιμαστές. Εντούτοις, πρέπει να προβλέπουμε μερικούς επιπλέον δοκιμαστές, τους οποίους θα μπορούμε να καλέσουμε σε περίπτωση πιθανών απουσιών.

9.1. Γενικοί κανόνες συμπεριφοράς που πρέπει να τηρούν οι υποψήφιοι και οι δοκιμαστές

Οι παρούσες συστάσεις αποβλέπουν στη συμπεριφορά η οποία πρέπει να ακολουθείται από τους υποψήφιους και τους δοκιμαστές κατά τη διάρκεια της εργασίας τους.

Αμέσως μετά τη λήψη της ανακοίνωσης του υπεύθυνου της ομάδας, που τον καλεί να λάβει μέρος σε οργανοληπτική δοκιμή, ο δοκιμαστής πρέπει να είναι ικανός να την πραγματοποιήσει στις ενδεδειγμένες ώρες και να τηρεί τους ακόλουθους κανόνες:

9.1.1. Να αποφεύγει να καπνίζει το λιγότερο 30 λεπτά πριν από την καθορισμένη ώρα της δοκιμής.

▼B

- 9.1.2. Να μην χρησιμοποιήσει άρωμα, καλλυντικό ή σαπούνι, των οποίων η οσμή θα μπορούσε να διαρκεί κατά τη στιγμή της δοκιμής. Τα χέρια πρέπει να είναι πλυμένα με ένα μη αρωματισμένο ή λίγο αρωματισμένο σαπούνι, έπειτα ξεβγαλμένα και καλά στεγνωμένα όσες φορές αυτό είναι αναγκαίο για να εξαλειφθεί κάθε ίχνος μυρωδιάς.
- 9.1.3. Να μη φάει τίποτα το λιγότερο μια ώρα πριν από την πρόγευση.
- 9.1.4. Σε περίπτωση που οι φυσικές του κανότητες θα ήταν προσποιητές, κυρίως η αίσθηση του της όσφρησης και της γεύσης, ή αν βρίσκεται υπό την επήρεια οποιουδήποτε ψυχολογικού γεγονότος, το οποίο θα τον εμπόδιζε να συγκεντρωθεί, πρέπει να προειδοποιηθεί τον υπεύθυνο της ομάδας, έτσι ώστε αυτός να τον αποσύρει της δοκιμής ή να πάρει κατάλληλες αποφάσεις, λαμβάνοντας υπόψη τη δυνατότητα που υπάρχει αυτός ο δοκιμαστής να αποκλίνει από τις μέσες τιμές των υπόλοιπων μελών της ομάδας.
- 9.1.5. Εφόσον πληροί τους προηγούμενους κανόνες, ο δοκιμαστής πρέπει να εγκατασταθεί στον καθορισμένο θάλαμο, με τρόπο όσο το δυνατόν πιο τακτικό και ήσυχο.
- 9.1.6. Αφού καθήσει, πρέπει να εξακριβώσει αν το υλικό, το οποίο έχει ανάγκη, είναι καλά τοποθετημένο και με τάξη και αν η κωδικοποιημένη εγγραφή κάθε ποτηριού αντιστοιχεί σε αυτήν που είναι τοποθετημένη πάνω στην ύαλο ωρολογίου που το καλύπτει.
- 9.1.7. Πρέπει να διαβάσει προσεκτικά τις οδηγίες που βρίσκονται στο φύλλο βαθμολογίας και να μην αρχίσει την εξέταση του δείγματος, παρά μόνο όταν θα είναι απολύτως ταυτισμένος και εξοικειωμένος με το έργο το οποίο πρέπει να εκπληρώσει. Σε περίπτωση αμφιβολίας, πρέπει να απευθυνθεί στον υπεύθυνο της επιτροπής, για να συζητήσει μαζί του ιδιαίτερες τις δυσκολίες τις οποίες συναντά.
- 9.1.8. Ο δοκιμαστής πρέπει να πάρει το ποτήρι, κρατώντας το σκεπασμένο με τήν ύαλο ωρολογίου, έπειτα να το γείρει ελαφρά και σε αυτή τη θέση θα το κάνει να περιστραφεί εξ ολοκλήρου, έτσι ώστε να διαβρέξει όσο το δυνατόν περισσότερο την εσωτερική επιφάνεια. Μετά από αυτή την ενέργεια πρέπει να βγάλει την ύαλο ωρολογίου και να οσφρανθεί το δείγμα με αργές, βαθιές εισπνοές για να μπορέσει να κρίνει. Η διάρκεια της όσφρησης δεν πρέπει να ξεπερνάει τα 30 δευτερόλεπτα. Εάν κατά τη διάρκεια αυτού του χρόνου ο δοκιμαστής δεν κατέληξε σε κανένα συμπέρασμα, πρέπει να κάνει ένα διάλειμμα, πριν κάνει μια καινούρια προσπάθεια. Εφόσον καταλήξει στην οσφρητική δοκιμή, προβαίνει στην κρίση της γεύσης (σύνολο των αισθήσεων όσφρησης-γεύσης-αφής). Για να το κάνει, παίρνει μια μικρή γουλιιά ελαίου των 3 ml τερίπου. Είναι σημαντικό να μοιράσει το έλαιο σε όλη τη στοματική κοιλότητα, από το πρόσθιο τμήμα του στόματος και της γλώσσας, περνώντας από τα πλάγια και το οπίσθιο τμήμα έως τη μαλακή υπερώα· καθώς γνωρίζουμε, οι τέσσερις βασικές γεύσεις (γλυκιά, αλμυρή, όξινη και πικρή) γίνονται πράγματι αντιληπτές με μία διαφορετική ένταση, ανάλογα με τις διαφορετικές ζώνες της γλώσσας και του ουρανίσκου.
- Πρέπει να επιμείνει στην αναγκαιότητα να διασκορπίσει το έλαιο, σε επαρκή ποσότητα και πολύ αργά, από το οπίσθιο τμήμα της γλώσσας μέχρι τη μαλακή υπερώα και το λάρυγγα, συγκεντρώνοντας την προσοχή στη σειρά εμφάνισης των ερεθισμών: «πικρός» και «δριμύς»· εάν δεν έχει ενεργήσει έτσι, σε ορισμένα έλαια αυτοί οι δύο ερεθισμοί μπορούν να περάσουν απαρατήρητοι, ή ακόμη, ο πικρός ερεθισμός μπορεί να είναι καλυμμένος από το δριμύ ερεθισμό.
- Αναρροφήσεις μικρές και διαδοχικές, κάνοντας να διέρχεται ο αέρας από το στόμα, επιτρέπουν όχι μόνο να διασκορπιστεί το δείγμα σε όλη τη στοματική κοιλότητα, αλλά και να αισθανθεί όλα τα πεπτικά αρωματικά συστατικά με το πίσω μέρος της ρινικής κοιλότητας.
- Η αίσθηση της αφής πρέπει επίσης να λαμβάνεται υπόψη. Έτσι, η ρευστότητα, το γλοιώδες και η φαγούρα ή το τσουξίμο, πρέπει να σχολιαστούν μόλις ανακαλυφθούν και, αν η δοκιμή το απαιτεί, πρέπει να μετρηθεί ποσοτικά η ένταση.
- 9.1.9. Η οργανοληπτική αξιολόγηση ενός παρθένου ελαιολάδου πρέπει να αφορά ΕΝΑ ΜΟΝΟ ΔΕΙΓΜΑ ανά συνεδρίαση, φροντίζοντας να αποφεύγεται η αίσθηση της αντίθεσης, που θα μπορούσε να προκαλέσει η άμεση πρόγευση άλλων δειγμάτων.

▼B

Δεδομένου ότι οι διαδοχικές προγεύσεις επηρεάζονται από την κούραση ή από την απώλεια της οξύτητας, που προκαλούν οι προηγούμενες δοκιμές, είναι ενδιαφέρον να χρησιμοποιηθεί ένα προϊόν ικανό να εξαλείψει από το στόμα τα υπολείμματα του ελαιολάδου της πρόγευσης, που μόλις έχει πραγματοποιηθεί.

Συνιστάται να χρησιμοποιείται ένα μικρό κομμάτι μήλου, περίπου 15 g, το οποίο, μετά το μάσημα, μπορεί να πεταχτεί στο πτυελοδοχείο. Στη συνέχεια, ο δοκιμαστής ξεβγάζει το στόμα του με λίγο νερό σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Αφήνει να περάσουν το λιγότερο 15 λεπτά πριν προβεί στην επόμενη πρόγευση.

9.2. Προεπιλογή των υποψήφιων

Ο υπεύθυνος της εξεταστικής επιτροπής, δια προσωπικών συνεντεύξεων, προβαίνει σε αυτή την προεπιλογή, η οποία έχει ως σκοπό να γνωρίσει την προσωπικότητα των υποψηφίων και τις συνθήκες οι οποίες τους περιβάλλουν. Όσον αφορά τις φυσιολογικές και ψυχολογικές συνθήκες, τις οποίες πρέπει να πληρούν οι υποψήφιοι, δεν είναι πολύ αυστηρές, λόγω του ότι, καταρχήν, κάθε φυσιολογικός άνθρωπος είναι ικανός να αναπτύξει αυτή τη δραστηριότητα. Οι συνθήκες ως προς την ηλικία, το φύλο και ορισμένες συνήθειες (κάπνισμα), κ.λπ. περνούν στις μέρες μας σε δεύτερο πλάνο, μπροστά σε άλλα θέματα όπως: η υγεία, το προσωπικό ενδιαφέρον και το γεγονός να υπάρχει διαθέσιμος χρόνος για αυτή την εργασία.

Κατά τη διάρκεια της συνομιλίας, ο υπεύθυνος της επιτροπής πρέπει να εξηγήσει στον υποψήφιο τα χαρακτηριστικά της εργασίας την οποία θα αναλάβει και να του πει πόσο περίπου χρόνο θα τον απασχολήσει. Στη συνέχεια, ο υπεύθυνος της επιτροπής πρέπει να συγκεντρώσει από τον υποψήφιο τα δεδομένα, επιτρέποντας του να αξιολογήσει ταυτόχρονα το ενδιαφέρον και το κίνητρο, ζητώντας του να προσδιορίσει πόσο χρόνο θα μπορέσει πράγματι να αφιερώσει σ' αυτή τη δραστηριότητα. Το ερωτηματολόγιο που ακολουθεί μπορεί να χρησιμεύσει ως υπόδειγμα.



ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ

Παρακαλούμε να απαντήσετε στις ακόλουθες ερωτήσεις:

- | | | |
|---|--------------------------|--------------------------|
| | ναι | όχι |
| 1. Θα θέλατε να συμμετάσχετε στις εν λόγω εργασίες; | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| | ναι | όχι |
| 2. Θεωρείτε ότι αυτή η εργασία μπορεί να αποδειχτεί σημαντική για τη βελτίωση της ποιότητας των τροφίμων στη χώρα σας και στο διεθνές εμπόριο; | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 3. Εάν ναι, αναφέρατε τους λόγους (1) | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| 4. Μην ξεχνάτε ότι θα κληθείτε να δοκιμάσετε διαφορετικά έλαια, ανάλογα με τις ανάγκες. Είστε έτοιμος να το κάνετε; | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| | ναι | όχι |
| 5. Θα θέλατε να συγκρίνετε την οσφρητικο-γευστική ικανότητά σας με αυτήν των συνεργατών σας; | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| | ναι | όχι |
| 6. Έχετε διαθέσιμο χρόνο; Διαθέτετε επαρκή ανεξαρτησία για να οργανώσετε την ημερήσια εργασία σας; | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 7. Σε περίπτωση που εξαρτάσθε από κάποιο προϊστάμενο, πιστεύετε ότι αν χρειαστεί να απουσιάσετε από την εργασία σας για ένα διάστημα μισής ώρας, το πολύ, επανειλημμένα και σε συνεχείς ημέρες, ο προϊστάμενός σας θα σας επιτρέψει να συμμετάσχετε στο εν λόγω έργο; | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| | ναι | όχι |
| 8. Θα είσατε διατεθειμένος να ανακτήσετε το χρόνο που θα αφιερώνετε στην οργανοληπτική αξιολόγηση, έτσι ώστε να αντισταθμίσετε τις απουσίες από την εργασία σας; | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| | ναι | όχι |
| 9. Θεωρείτε ότι αυτή η εργασία θα έπρεπε να είναι αμειβόμενη; | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| | ναι | όχι |
| 10. Υπό ποια μορφή; | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Στη βάση των δεδομένων, που έχουν συλλεγεί με αυτόν του τρόπο, ο υπεύθυνος της ομάδας θα πραγματοποιήσει την προεπιλογή. Οι υποψήφιοι που δείχνουν λίγο ενδιαφέρον γι' αυτό το είδος της εργασίας, που έχουν λίγο διαθέσιμο χρόνο, ή δεν είναι ικανοί να προσδιορίσουν επακριβώς τις ιδέες τους, θα διαγράφονται.

9.3. Ορισμός του «μέσου επίπεδου» της ομάδας για τις «χαρακτηριστικές ιδιότητες»

Διαλέξτε προσεκτικά τέσσερα έλαια, έτσι ώστε καθένα απ' αυτά να θεωρείται ως αντιπροσωπευτικό των ιδιοτήτων: μουχλιασμένο, οινώδες, ταγγισμένο και πικρό, εντάσεως όσο πιο σαφούς και καθαρής γίνεται.

Αφαιρέστε ένα υποπολλαπλάσιο τμήμα από καθένα από τα έλαια και ετοιμάστε δείγματα σε διαφορετικές συγκεντρώσεις (λόγος 2), δια διαδοχικών διαλύσεων με το κατάλληλο υπόστρωμα μέχρις ότου, στις δύο ή τρεις τελευταίες διαλύσεις, να μην είναι δυνατό να ανιχνεύεται η διαφορά με το ποτήρι το οποίο περιέχει μόνο το υπόστρωμα. Ένα τελευταίο ζευγάρι πρέπει να συνίσταται από δύο ποτήρια που περιέχουν το υπόστρωμα.

Η σειρά πρέπει να είναι συμπληρωμένη από ποτήρια με υψηλότερες συγκεντρώσεις, μέχρι 8 στο σύνολο.

Ετοιμάστε μια επαρκή ποσότητα δειγμάτων με διαφορετικές συγκεντρώσεις, έτσι ώστε να μπορέσετε να παραδώσετε ολοκληρωμένες σειρές από κάθε ιδιότητα σε κάθε υποψήφιο.

Για να μπορέσετε να καθορίσετε το «μέσο όρο» των υποψήφιων σε σχέση με κάθε ιδιότητα, πρέπει να τους παρουσιάσετε ένα ποτήρι

(1) Παρακαλούμε να ορίσετε ακριβώς ποιο είναι, κατά τη γνώμη σας, το ενδιαφέρον που μπορεί να παρουσιάζει η αξιολόγηση κάθε τροφίμου, ή ακόμη του ελαιολάδου, υπό το πρίσμα των οργανοληπτικών του χαρακτηριστικών.

▼B

το οποίο περιέχει 15 ml μιας οιασδήποτε των ανωτέρω συγκεντρώσεων συγχρόνως και ένα ποτήρι με 15 ml του «υποστρώματος».

Μόλις πραγματοποιηθεί η δοκιμή, ο υποψήφιος πρέπει να προσδιορίσει εάν το περιεχόμενο των ποτηριών είναι το ίδιο ή διαφορετικό.

Η ίδια δοκιμή πρέπει να επαναληφθεί όσον αφορά τις υπόλοιπες συγκεντρώσεις της μελετούμενης ιδιότητας.

Σημειώστε τον αριθμό των σωστών απαντήσεων που επιτεύχθηκαν σε σχέση με κάθε συγκέντρωση, του συνόλου των υποψηφίων, και εκφράσατε σε ποσοστό του αριθμού των δοκιμών που πραγματοποιήθηκαν.

Παρουσιάστε, κατ' αύξουσα σειρά, στον άξονα των τετμημένων, τις δοκιμασθείσες συγκεντρώσεις και, στον άξονα των τεταγμένων, το ποσοστό των ορθών χαρακτηρισμών που πραγματοποιήθηκαν σε σχέση με την κάθε συγκέντρωση.

Το σχήμα 1 δίνει ένα πρακτικό παράδειγμα των αναπτύξεων που προηγήθηκαν. Το κατώφλι ανίχνευσης ορίζεται στον άξονα των τετμημένων προεκτείνοντας από την καμπύλη το σημείο του άξονα των τεταγμένων που αντιστοιχεί στο 75 % των σωστών απαντήσεων.

Αυτή η συγκέντρωση «κατώφλι», η οποία μπορεί να είναι διαφορετική για κάθε αρχικό έλαιο, γιατί είναι ανάλογη με την ένταση της παρούσας ιδιότητας, πρέπει να είναι όμοια για τις διάφορες ομάδες υποψηφίων των διαφόρων εξεταστικών επιτροπών, δεν εξαρτάται από κανένα έθνος, συνήθεια ή προτίμηση που έχει ορισμένη κατεύθυνση. Πρόκειται, συνεπώς, για ένα κοινό σημείο αναφοράς σε κάθε κανονική ανθρώπινη ομάδα και μπορεί να χρησιμεύσει στην ομογενοποίηση των διαφορετικών επιτροπών, μόνο λόγω της οσφρητικο-γευστικής τους οξύτητας.

Ξεκινώντας από τη συγκέντρωση «κατώφλι» της ομάδας, που επιτυγχάνεται με αυτό τον τρόπο, ενεργήστε ως εξής:

Ετοιμάστε μια σειρά αυξουσών και φθινουσών συγκεντρώσεων, με τέτοιο τρόπο ώστε η «συγκέντρωση κατώφλι» να βρίσκεται στη βαθμίδα 10 αυτής της κλίμακας.

Προκύπτει ότι οι συγκεντρώσεις αριθ. 11 και 12 θα είναι περισσότερο διαλυμένες και επομένως θα είναι πολύ δύσκολο να ανιχνεύσουμε σε αυτές την παρουσία του ελαίου με την επιλεγμένη ιδιότητα.

Από την συγκέντρωση C_{10} , τα υπόλοιπα δείγματα μπορούν να παρασκευάζονται εφαρμόζοντας τον ακόλουθο τύπο:

$C_{10} \times a^n$, όπου: «a» είναι μία σταθερά, η οποία αντιστοιχεί στον παράγοντα της διάλυσης, ίση με 1,5 και «n» ο εκθέτης, ο οποίος ποικίλλει από 9 έως -2.

Παραδείγματος χάρη: υποθέτοντας ότι το επίπεδο που επιτυγχάνεται για το ταγγισμένο έλαιο είναι ίσο με 0,32, προκύπτει ότι C_{10} είναι ίσο με 0,32 και αφού «a» είναι ίσο με 1,5, η σειρά των δειγμάτων θα έχει τις ακόλουθες συγκεντρώσεις:

Δείγμα	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Συγκέντρωση	12,30	8,20	5,47	3,65	2,43	1,62	1,08	0,72	0,48	0,32	0,21	0,14

Εάν χρησιμοποιήσουμε τον ίδιο τρόπο για τις άλλες τρεις ιδιότητες, θα πάρουμε, ξεκινώντας από τα ομοίως υπολογισμένα αντίστοιχα επίπεδα, όπως υποδείχθηκε παραπάνω, κλίμακες οι οποίες θα παρουσιάζουν για όλα τα εργαστήρια όμοιες αρωματικές εντάσεις για κάθε ερεθισμό, αν και τα αρχικά έλαια θα έχουν αντιληπτά μειονεκτήματα σε διαφορετικές εντάσεις.

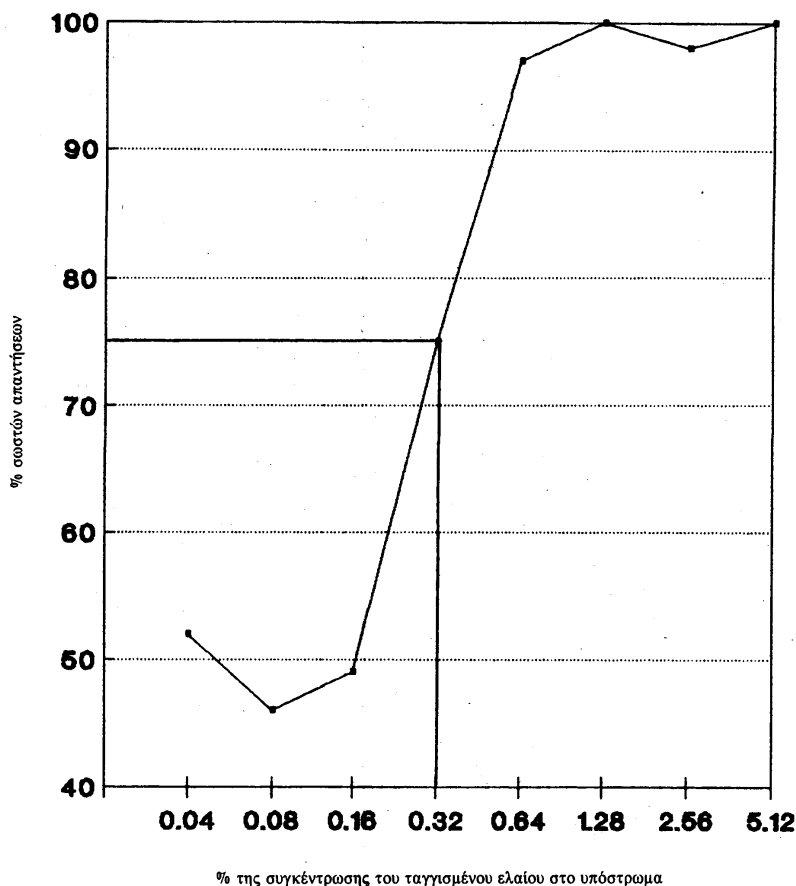
9.4. Επιλογή των δοκιμαστών με τη μέθοδο της «κατάταξης της έντασης»

Η επιλογή πρέπει να γίνεται από έναν αριθμό υποψηφίων δύο ή τρεις φορές μεγαλύτερο από αυτόν ο οποίος κρίνεται αναγκαίος για τη σύσταση της ομάδας των δοκιμαστών, έτσι ώστε να διευκολύνεται η επιλογή των πιο ευαίσθητων ή αυτών οι οποίοι παρουσιάζουν μια ικανότητα διάκρισης πιο αυξημένη. Συνιστάται

▼B

πάντως να πραγματοποιούνται οι δοκιμές με το ίδιο προϊόν, το οποίο θα είναι το αντικείμενο της ανάλυσης στη συνέχεια (σε ειδική περίπτωση, πρέπει να χρησιμοποιείται πάντα ελαιόλαδο).

Σχήμα 1



Για την επιλογή της μεθόδου, πρέπει να λαμβάνεται υπόψη, ανεξάρτητα από την αποτελεσματικότητά της, ότι η διαδικασία που θα γίνει αποδεκτή πρέπει να είναι η όσο το δυνατόν πιο οικονομική όσον αφορά την ποσότητα του ελαίου, τον αριθμό των δειγμάτων που θα χρησιμοποιηθούν και το χρόνο ο οποίος αφιερώνεται στην επιλογή. Η αποτελεσματικότητα μιας διαδικασίας επιλογής χαρακτηρίζεται από την εκλογή των άριστων επιπέδων των τριών ανεξάρτητων μεταβλητών που ακολουθούν: α) «κόστος» καθορισμένο από τον αριθμό των δοκιμών, β) «αναλογία» υποψηφίων δυννητικώς ικανών αλλά οι οποίοι, κατά τύχη διαγράφηκαν, δυστυχώς, κατά την επιλογή και γ) «αναλογία» των όχι ικανών υποψηφίων αλλά οι οποίοι, κατά ευνοϊκή τύχη, έγιναν αποδεκτοί ενώ δεν θα έπρεπε.

Η διαδικασία επιλογής η οποία γίνεται αποδεκτή είναι αυτή η οποία περιγράφεται υπό τον τίτλο «The Intensity Rating Test» (δοκιμασία ταξινόμησης της έντασης) στους κανονισμούς ASTM⁽¹⁾, STP⁽¹⁾ αριθ. 440, σελίδα 53, τροποποιημένη σε τέσσερα σημεία:

1. μείωση του αριθμού των δειγμάτων μέσα στη σειρά·
2. επέκταση των ερεθισμών, έτσι ώστε να αυξηθεί ο αριθμός των οσφρητικο-γευστικών ενδείξεων πάνω στις οποίες είναι βασισμένη η επιλογή, προσπαθώντας να προσαρμοστούν στα πιο κοινά αντιληπτά μειονεκτήματα του ελαιόλαδου·
3. μεταβολή της σχέσης συγκέντρωσης μέσα στη σειρά·
4. στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

Αναγκαίο υλικό:

⁽¹⁾ American Society for Testing and Materials (ASTM), Special Technical Publication (STP).

▼B

- μπουκάλια ή σφαιρικές γυάλινες φιάλες των 1 500 ml,
- σκουρόχρωμα ποτήρια πρόγευσης,
- δοκιμαστικοί σωλήνες των 10 ml, 15 ml, 1 000 ml και 1 500 ml.

Αναγκαία προϊόντα:

- Παραφίνη Merck (αριθμός αναφοράς: 7.160, DAB 8, USP XX) ή ελαιώδες υπόστρωμα άοσμο και άγευστο (ελαιόλαδο ή άλλο παρόμοιο, προσφάτως ραφιναρισμένο),
- έλαια: μουχλιασμένο, οινώδες, ταγγισμένο και πικρό.

9.4.1. Τρόπος εργασίας

Αφού έχετε παρασκευάσει τα διαλύματα, περάστε στην επιλογή ξεκινώντας από 25 υποψήφιους, σύμφωνα με την μεθοδολογία που θα εξηγηθεί παρακάτω για κάθε ερεθισμό:

1. Ετοιμάστε τις σειρές των 12 ποτηριών προς πρόγευση, σημειωμένα με κωδικό αριθμό (μια σειρά ανά υποψήφιο). Ρίξτε σε κάθε ποτήρι 15 ml από καθεμία από τις διαφορετικές συγκεντρώσεις, οι οποίες παρασκευάστηκαν σύμφωνα με τον τύπο $C_{10} \times a^x$.
2. Αφού πληρωθούν και σκεπαστούν με την ύαλο ωρολογίου, τα ποτήρια πρέπει να μείνουν στην αίθουσα πρόγευσης σε μια θερμοκρασία 20-22 °C για μία ώρα το λιγότερο πριν ξεκινήσουν οι δοκιμές, έτσι ώστε να ομοιογενοποιηθεί η θερμοκρασία τους με τη θερμοκρασία περιβάλλοντος.
3. Έπειτα ο υπεύθυνος της δοκιμής θα τακτοποιήσει τα 12 ποτήρια κάθε σειράς, κατά φθίνουσα τάξη συγκεντρώσεων.

Στη συνέχεια, κάθε υποψήφιος καλείται να πραγματοποιήσει τη δοκιμή ξεχωριστά, ακολουθώντας τις εξής οδηγίες:

9.4.2. Οδηγίες για τον υποψήφιο

Τα 12 ποτήρια τοποθετημένα στη γραμμή μπροστά στον υποψήφιο περιέχουν διαλύματα του κάθε ερεθισμού: μουχλιασμένος, οινώδης, ταγγισμένος ή πικρός, ανάλογα με την περίπτωση. Τα ποτήρια διακρίνονται μεταξύ τους από την ένταση της οσμής, δεδομένου ότι εκείνο που έχει την πιο έντονη οσμή είναι τοποθετημένο στο αριστερό άκρο, η ένταση της οσμής των υπόλοιπων ποτηριών μειώνεται βαθμιαία προς τα δεξιά. Το τελευταίο ποτήρι στα δεξιά μπορεί να παρουσιάζει μια οσμή τόσο αδύναμη που θα είναι ίσως αδύνατο να την ανιχνεύσουμε.

Προχωρήστε ως εξής: εξοικειωθείτε με τις οσμές που αναδύονται από τα ποτήρια της σειράς. Για να γίνει αυτό, ξεκινήστε από αυτό που βρίσκεται στα δεξιά (αριθ. 12) και προσπαθήστε να συγκρατήσετε την ένταση των οσμών, χωρίς εντούτοις να κουραστείτε.

Από τη στιγμή που εκτιμάτε ότι έχετε συνηθίσει την κλίμακα της συγκέντρωσης των αναδιδόμενων οσμών από τα ποτήρια της σειράς, βγείτε από το δωμάτιο.

Στο μεταξύ, ο υπεύθυνος της δοκιμής θα διαλέξει ένα ποτήρι της σειράς και θα το τοποθετήσει στο ίδιο επίπεδο με το τελευταίο δεξιά (αριθ. 12), πλησιάζοντας ταυτόχρονα τα υπολοιπα ποτήρια για να καλύψει το κενό το οποίο άφησε από εκείνο που διάλεξε. Ξαναγυρίστε τότε στο δωμάτιο για να συνεχίσετε τη δοκιμή.

Η ζητούμενη απόδειξη είναι η ακόλουθη:

Το ποτήρι το οποίο επιλέχθηκε από τον υπεύθυνο της δοκιμής πρέπει να ξανατοποθετηθεί στη σωστή του θέση στη σειρά. Για να γίνει αυτό, μπορείτε να το οσφρανθείτε και να το συγκρίνετε με τα υπόλοιπα ποτήρια όσες φορές είναι απαραίτητο, δεδομένου ότι αν θέλετε να το ξανατοποθετήσετε στη σωστή του θέση στη σειρά, δεν πρέπει να ξεχνάτε ότι η οσμή την οποία αναδίνει πρέπει να είναι πιο έντονη από αυτή του ποτηριού του τοποθετημένου αμέσως δεξιά και λιγότερο έντονη από αυτή του ποτηριού του τοποθετημένου αμέσως αριστερά. Η δοκιμή πρέπει να επαναληφθεί με άλλα τρία ποτήρια.

Με σκοπό να διευκολυνθεί η εργασία και η συλλογή των απαντήσεων, πρέπει να δοθεί σε κάθε υποψήφιο, εκτός από τις προηγούμενες οδηγίες, και το ακόλουθο δελτίο:



ΕΠΙΛΟΓΗ ΥΠΟΨΗΦΙΩΝ

Δοκιμή αριθ. Ερεθισμός

Το ξεχωριστό ποτήρι πρέπει να ξανατοποθετηθεί στη θέση αριθ.

Ημερομηνία Όνομα

9.4.3. Έκφραση των αποτελεσμάτων

Για να διευκολυνθεί η κατάταξη των δεδομένων κάθε υποψήφιου, ο υπεύθυνος της επιτροπής πρέπει να τα σημειώσει με τον ακόλουθο τρόπο:

Όνομα του υποψήφιου	Μελετούμενος ερεθισμός	Ενδεδειγμένος αριθμός τάξης (K')	Ακριβής αριθμός τάξης (K)	Βαθμολογία (K' - K) ²
.....
.....

9.4.4. Στατιστική διαδικασία βαθμολογίας

Στην ειδική περίπτωση της πραγματοποιηθείσας επιλογής τα ποτήρια, που πρέπει να ξανατοποθετηθούν στη σωστή τους θέση, πρέπει να είναι τα ίδια για όλους τους υποψήφιους. Σύμφωνα με τους στατιστικούς υπολογισμούς που έγιναν γι' αυτό το σκοπό, αυτά τα ποτήρια αντιστοιχούν στη τάξη της σειράς, στις ακόλουθες θέσεις για κάθε ερεθισμό:

Μουχλιασμένος (M)	Οινώδης (O)	Ταγγισμένος (T)	Πικρός (Π)
Ποτήρι αριθ. (10, 5, 7, 2)	Ποτήρι αριθ. (11, 3, 8, 6)	Ποτήρι αριθ. (7, 4, 10, 2)	Ποτήρι αριθ. (6, 3, 11, 9)

Το νούμερο το οποίο αντιστοιχεί στη θέση που κατείχαν τα ποτήρια ακολουθώντας τη σειρά δεν μπορεί να μεταβληθεί, δεδομένου ότι οι στατιστικοί υπολογισμοί για τη δοκιμή έγιναν παίρνοντας υπόψη την πιθανότητα ότι τα σημειωμένα ποτήρια θα ξανατοποθετηθούν στη σωστή τους θέση κατά τύχη.

Εντούτοις, προκειμένου να αποφευχθεί η διαρροή πληροφοριών από τον έναν υποψήφιο στον άλλο, ο υπεύθυνος της επιτροπής πρέπει να φροντίζει ώστε:

- 1) Να εμποδίζεται κάθε επικοινωνία μεταξύ των υποψήφιων. Να μεταβάλλεται ο κώδικας για κάθε υποψήφιο.
- 2) Να εμποδίζεται να γνωρίζουν οι υποψήφιοι τη θέση την οποία κατείχαν τα ποτήρια τα οποία έχουν αποσυρθεί.
- 3) Να μεταβάλλεται η σειρά της ανατοποθέτησης των ποτηριών, σε κάθε υποψήφιο, αν και αυτά θα είναι τα ίδια για όλους.

Κάθε υποψήφιος θα πάρει στη συνέχεια μια βαθμολογία σύμφωνα με τα αποτελέσματα που θα επιτευχθούν. Για να γίνει αυτό, ενεργήστε ως εξής:

Ορίστε με $\varepsilon_1^i, \varepsilon_2^i, \dots, \varepsilon_{12}^i$ τα 12 ποτήρια που περιέχουν τις 12 συγκεντρώσεις, οι οποίες αντιστοιχούν σ' έναν ερεθισμό «i» (i = οποιοσδήποτε από τους τέσσερις ερεθισμούς: μουχλιασμένος, οινώδης, ταγγισμένος και πικρός), παρατεταγμένα κατά φθίνουσα τάξη έντασης του θεωρούμενου ερεθισμού.

Ορίστε με ε_{ξ}^i ένα από τα διαλεγμένα ποτήρια και με K' τη θέση που θα έχει δώσει ο υποψήφιος στο ποτήρι τη στιγμή της ξανατοποθέτησής του στη σειρά. Οι τιμές των K και K' είναι, κατά συνέπεια, ακέραιοι αριθμοί μεταξύ του 1 και του 12, και αντιστοι-

▼B

χούν στην πραγματική και την ορισμένη από τον υποψήφιο θέση, αντιστοίχως.

Ορίστε με T (μέγιστη αποδεκτή απόκλιση) μία τιμή, καθορισμένη εκ των προτέρων, στην περίπτωση μας ίση με 3, έτσι ώστε αν $K' - K > T$, ο υποψήφιος εξαιρείται αυτομάτως⁽¹⁾.

Αντιθέτως, αν $K' - K \leq T$, ο υποψήφιος, καταρχήν, δεν διαγράφεται και μπορεί επομένως να συνεχίσει τη δοκιμή, λόγω του ότι αποδεικνύεται ικανός να ξανατοποθετήσει το θεωρούμενο ερεθισμό στη σωστή του θέση ή το λιγότερο στις αμέσως πλησιέστερες θέσεις.

Σε αυτή την περίπτωση, η ορισμένη βαθμολογία για έναν υποψήφιο μόλις αξιολογεί έναν καθορισμένο ερεθισμό (συγκέντρωση), για παράδειγμα της σειράς «μουχλιασμένος» (M), είναι ίση με το τετράγωνο της διαφοράς ανάμεσα στο νούμερο της τάξης το οποίο αντιστοιχεί στη σωστή θέση, που κατέχει το ποτήρι στη σειρά και στη θέση στην οποία ξανατοποθετήθηκε από τον υποψήφιο, δηλαδή:

$$P^{(M)} = (K' - K)^2.$$

Δεδομένου ότι αυτή η εργασία πρέπει να γίνει για κάθε υποψήφιο σε τέσσερις συγκεντρώσεις της σειράς κάθε ερεθισμού, η μερική βαθμολογία για το λεγόμενο ερεθισμό (M για παράδειγμα) θα είναι η ακόλουθη:

$$Z^M = P_{\mu}^M + P_{\sigma}^M + P_{\beta}^M + P_{\gamma}^M$$

Προκειμένου να κατανοήσετε καλύτερα, παραθέτουμε τα εξής παραδείγματα:

Παράδειγμα αριθ. 1:

Ας υποθέσουμε ότι οι απαντήσεις του υποψήφιου A όσον αφορά τις τέσσερις συγκεντρώσεις του ερεθισμού (i) οι οποίες αποσύρθηκαν από τη σειρά είναι οι ακόλουθες:

Σωστή θέση του ποτηριού στη σειρά (K)	Θέση στην οποία το ποτήρι τοποθετήθηκε από τον υποψήφιο (K')	Απόκλιση από τη σωστή θέση ($K' - K$)
7	7	$7 - 7 = 0$
4	5	$4 - 5 = -1$
10	6	$10 - 6 = 4$ ⁽¹⁾
2	4	$2 - 4 = -2$

⁽¹⁾ Αυτός ο υποψήφιος εξαιρείται, λόγω του ότι η τιμή του T είναι μεγαλύτερη από 3.

Παράδειγμα αριθ. 2:

Ας υποθέσουμε ότι ένας άλλος υποψήφιος ξανατοποθετεί τις τέσσερις συγκεντρώσεις του αναφερόμενου ερεθισμού ως εξής:

Σωστή θέση του ποτηριού στη σειρά (K)	Θέση στην οποία το ποτήρι τοποθετήθηκε από τον υποψήφιο (K')	Απόκλιση από τη σωστή θέση ($K' - K$)
7	7	$7 - 7 = 0$
4	4	$4 - 4 = 0$
10	7	$10 - 7 = 3$
2	3	$2 - 3 = -1$

⁽¹⁾ Ο υπεύθυνος της εξεταστικής επιτροπής θα πρέπει να επιμείνει στον υποψήφιο, έτσι ώστε η δοκιμή να γίνει λογικά, δηλαδή χωρίς να υπάρχει απώλεια της οξύτητας από οσφρητική κούραση.

▼B

Αυτός ο υποψήφιος δεν εξαιρείται, η βαθμολογία η οποία του ορίστηκε σε σχέση με αυτό τον ερεθισμό είναι:

$$Z^i = O^2 + O^2 + 3^2 + (-1)^2 = 10$$

Η τελική βαθμολογία του υποψήφιου με σκοπό την επιλογή του ή όχι ως δοκιμαστή, σύμφωνα με τις απαντήσεις του ως προς τους 4 αναφερόμενους ερεθισμούς, παρουσιάζεται ως εξής:

$$\begin{array}{l} P_{\eta}^M + P_{\theta}^M + P_{i\beta}^M + P_{i\gamma}^M = Z^M \\ P_{\eta}^O + P_{\theta}^O + P_{i\beta}^O + P_{i\gamma}^O = Z^O \\ P_{\eta}^T + P_{\theta}^T + P_{i\beta}^T + P_{i\gamma}^T = Z^T \\ P_{\eta}^{\pi} + P_{\theta}^{\pi} + P_{i\beta}^{\pi} + P_{i\gamma}^{\pi} = Z^{\pi} \end{array}$$

$$Z \text{ τελικό} = Z^M + \dots + Z^{\pi}$$

όπου:

M = Μουχλιασμένος

O = Οινώδης

T = Ταγγισμένος

Π = Πικρός.

Πρόκειται τώρα να καθορίσουμε μέχρι ποια μέγιστη τιμή του Z είναι δυνατό να θεωρηθεί ότι ο υποψήφιος έχει καλά επίπεδα αντίληψης, οσφρητική μνήμη και νοητική οργάνωση για να δώσει την ανάλογη απάντηση ως προς τους 4 αναφερόμενους ερεθισμούς. Προφανώς, το Z είναι πάντα μη αρνητική τιμή και Z = 0 σημαίνει ότι ο υποψήφιος αναγνώρισε και μέτρησε ποσοτικά σωστά το σύνολο των 16 εντάσεων οι οποίες του παρουσιάστηκαν (4 για κάθε ερεθισμό). Τιμές του Z διάφορες από το 0 δηλώνουν ότι ο υποψήφιος αναγνώρισε τις ζώνες των κλιμάκων που βρίσκονται οι επιλεγμένες εντάσεις, αλλά ότι στο εσωτερικό τους δεν ήταν σε θέση να ξανατοποθετήσει τον ερεθισμό στη σωστή του θέση, λόγω του ότι δεν διαθέτει μια καλή ικανότητα διάκρισης, συνδεδεμένη με το φάσμα έντασης, η οποία του παρουσιάστηκε για έναν ή περισσότερους από τους αναφερόμενους ερεθισμούς.

Έτσι, λοιπόν, θα πρέπει να καθοριστεί μια κριτική τιμή Z τέτοια ώστε, αν υποθέσουμε ότι ο υποψήφιος θα ξανατοποθετήσει τυχαία όλα τα ποτήρια στο εσωτερικό των ζωνών, που αναγνώρισε πρώτιστα, η πιθανότητα μιας οριστικής βαθμολογίας Z, μικρότερης από Z_γ, να είναι μία αρκετά μικρή ποσότητα (α) η οποία θα μπορεί να είναι ορισμένη εκ των προτέρων. Με άλλα λόγια, πρέπει να βεβαιωθούμε ότι η πιθανότητα, με αυτή τη διαδικασία, να επιλέξουμε ένα δοκιμαστή για την ομάδα, ο οποίος δεν συγκεντρώνει επαρκείς ικανότητες διάκρισης για τις εντάσεις των ερεθισμών των χρησιμοποιούμενων για το σκοπό της επιλογής, θα είναι μικρότερη από α.

Αφού καθοριστεί η τιμή του α (στην περίπτωση μας = 0,05), η επίτευξη του Z_γ εξαρτάται από την κατανομή της πιθανότητας της μεταβλητής Z, που και αυτή, με τη σειρά της, εξαρτάται από τις κατανομές της πιθανότητας των μεταβλητών ρ (K').

Αφού πραγματοποιήσουμε τους ανάλογους στατιστικούς υπολογισμούς, η τιμή που παίρνουμε για το Z_γ είναι ίση με 34.

Μόλις επιτευχθεί η βαθμολογία Z για όλους τους υποψήφιους, αυτοί των οποίων η βαθμολογία είναι μεγαλύτερη από 34 πρέπει να εξαιρεθούν.

Βλέπε, παραδείγματος χάρη, τις βαθμολογίες των υποψηφίων A και B:

Ερεθισμός	Υποψήφιος A	Υποψήφιος B
Μουχλιασμένος (M)	Z ^M = 10	Z ^M = 12
Οινώδης (O)	Z ^O = 10	Z ^O = 11
Ταγγισμένος (T)	Z ^T = 10	Z ^T = 15
Πικρός (Π)	Z ^Π = 4	Z ^Π = 0
	Σ = 34	Σ = 38

▼B

Οι τιμές του Z για τους δύο υποτιθέμενους υποψήφιους είναι 34 και 38 αντίστοιχα· ο υποψήφιος A θα παραμείνει, ενώ ο υποψήφιος B θα εξαιρεθεί. Αφού εξαιρεθούν όλοι οι υποψήφιοι οι οποίοι πήραν μια βαθμολογία μεγαλύτερη από 34, οι υπόλοιποι θα καταταγούν σύμφωνα με τις τιμές τους Z μέχρι να συμπληρωθεί η ομάδα των 12 υποψηφίων που επιθυμούμε να συγκεντρώσουμε.

9.5. Εκπαίδευση

Η εκπαίδευση έχει για βασικό σκοπό:

- α) να εξοικειώσει τους δοκιμαστές με τις πολλές ποικιλίες αισθήσεων όσφρησης-γεύσης-αφής, που προσφέρουν τα παρθένα ελαιόλαδα·
- β) να εξοικειώσει τους δοκιμαστές με την ειδική μεθοδολογία οργανοληπτικής αξιολόγησης·
- γ) να αυξήσει την ατομική ικανότητα για την αναγνώριση, τον προσδιορισμό και την ποσοτική μέτρηση των αισθητικών ερεθισμών και
- δ) να βελτιώσει την οξύτητα και τη μνήμη ως προς τους διαφορετικούς αναφερόμενους ερεθισμούς, έτσι ώστε να καταλήξουν σε ουσιαστικές κρίσεις.

Η περίοδος εκπαίδευσης αποτελείται συνήθως από μια σειρά μαθημάτων, σύμφωνα με τις δυνατότητες της ομάδας και της μελέτης, κατά τη διάρκεια των οποίων, αφού αναλύσουν ατομικά τα έλαια, οι δοκιμαστές συζητούν μαζί με τον υπεύθυνο της επιτροπής τις δυσκολίες που συνάντησαν και σχολιάζουν τους χαρακτηρισμούς προκειμένου να ενοποιηθούν τα κριτήρια και οι γνώμες.

Το επίπεδο εκπαίδευσης, το οποίο επιτυγχάνεται μετά από ένα δεδομένο αριθμό «μαθημάτων», αξιολογείται με την αύξηση του ποσοστού των σωστών απαντήσεων, σε περίπτωση που θα χρησιμοποιούσαμε τις δοκιμές διάκρισης, ή αναλύοντας τις διακυμάνσεις των μέσων ατομικών χαρακτηρισμών της ομάδας, όταν πρόκειται για δοκιμές με τη βοήθεια μιας κλίμακας.

Η πρακτική χρησιμότητα αυτής της περιόδου εκπαίδευσης έχει ευρέως συζητηθεί, αλλά σήμερα θεωρείται πολύ αποτελεσματική και απαραίτητη, αν θέλουμε να διαθέτουμε οργανοληπτικά δεδομένα σωστά και ακριβή.

9.6. Έλεγχος

Οι ομάδες των «βετεράνων» δοκιμαστών πραγματοποιούν συνήθως τακτικές και συνεχείς προγέυσεις, με οργανοληπτικές αποδείξεις, που απαιτούν πολύ μεγάλες προσπάθειες από μέρους τους. Αποφάσεις που εμφανίζουν μεγάλη τεχνολογική και εμπορική σημασία εξαρτώνται, αρκετές φορές, από την κρίση τους και γι' αυτό, αφού έχουν επιλεχθεί και εκπαιδευτεί καλά, οι δοκιμαστές πρέπει να υποβάλλονται σε ελέγχους οι οποίοι πρέπει να εγγυώνται την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων.

Προφανώς, θα ήταν απαραίτητο, αφού συνταχθούν οι ομάδες και αφού υποβληθούν σε δοκιμές ρουτίνας, να ελέγχεται κανονικά η «απόδοσή» τους σε κατάλληλα χρονικά διαστήματα.

10. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΟΥ ΠΡΕΠΕΙ ΝΑ ΑΚΟΛΟΥΘΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΟΥ ΠΑΡΘΕΝΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Μόλις πληρωθούν οι όροι που τίθενται στους παραπάνω κανόνες, διατεθούν τα απαραίτητα μέσα και επιλεγεί η ομάδα των δοκιμαστών, καθένας από αυτούς πρέπει να οσφρανθεί, μετά να προγευθεί⁽¹⁾ το έλαιο το οποίο θα υποβληθεί σε εξέταση, το περιεχόμενο στο ποτήρι πρόγευσης, έτσι ώστε να αναλυθούν οι αντιλήψεις όσφρησης, γεύσης, αφής και κιναισθησης, με τη βοήθεια του δελτίου που παρουσιάζεται στο σχήμα 2, στο οποίο πρέπει να σημειώσει την εμφάνισή τους και την τιμή που αποδίδει στην έντασή τους. Στη συνέχεια πρέπει να περάσει στη φάση της βαθμολογίας της ποιότητας του ελαίου.

(1) Μπορεί να απέχει από τη δοκιμή αυτή όταν παρατηρεί κάποια ιδιότητα εξαιρετικά και έντονα δυσάρεστη, και να σημειώσει στο φύλλο της βαθμολογίας αυτή την εξαιρετική ►C1 περίπτωση ◀.

▼ **B**10.1. **Χρήση του φύλλου του σχήματος 2 (περιγραφή της γευστικότητας και βαθμολόγηση της ποιότητας)**

Στο αριστερό τμήμα αυτού του φύλλου βρίσκονται μερικές από τις πιο χαρακτηριστικές οργανοληπτικές αντιλήψεις που βρίσκουμε πιο συχνά στα ελαιόλαδα και οι οποίες περιγράφουν τη γευστικότητα. Στην περίπτωση που θα αντιληφθεί άλλους ερεθισμούς, οι οποίοι δεν αντιστοιχούν στα αριθμημένα ποιοτικά χαρακτηριστικά, ο δοκιμαστής πρέπει να τους σημειώσει κάτω από τον τίτλο «άλλα», χρησιμοποιώντας τον ή τους ποιοτικούς χαρακτηρισμούς που τους περιγράφουν με τη μεγαλύτερη ακρίβεια.

Οι αντιληπτοί ερεθισμοί πρέπει να αξιολογούνται ως προς την έντασή τους ποσοστιαία με την ένδειξη ενός συμβόλου (+) στο αντίστοιχο τετράγωνο, σύμφωνα με το ακόλουθο κριτήριο:

- 1 = μόλις αντιληπτός
- 2 = ελαφρύς
- 3 = μέσος
- 4 = μεγάλος
- 5 = ακραίος (έντονος)

Στο δεξιό τμήμα αυτού του φύλλου βρίσκεται μια κλίμακα από το 1 ως το 9 (9 για την εξαιρετική ποιότητα και 1 για τη χειρότερη), η οποία πρέπει να χρησιμοποιηθεί από το δοκιμαστή για να δώσει μια βαθμολογία ενιαία, συνολική, στα χαρακτηριστικά του έλαιου. Αυτή η βαθμολογία πρέπει να είναι σύμφωνη με τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα που παρατήρησε στο έλαιο και έχει, ήδη, σημειώσει στο αριστερό τμήμα του φύλλου.

Η πρώτη στήλη (μειονεκτήματα) του πίνακα βαθμολογίας περιέχει πέντε κλίμακες· άρα, η κατάταξη των ελαίων πρέπει να βασίζεται κυρίως στην παντελή απουσία ή στην παρουσία της ελαττωματικής γευστικότητας, καθώς και στην περισσότερο ή λιγότερο μεγάλη βαρύτητα ή ένταση των μειονεκτημάτων· εντούτοις, ► **C1** έχοντας 9 βαθμούς στην κλίμακα αξιολόγησης ◄, πρέπει να λαμβάνονται υπόψη μερικές αποχρώσεις ή μερικές απόψεις, οι οποίες περιγράφονται στη δεύτερη στήλη «χαρακτηριστικά», τα οποία συνεισφέρουν με καθοριστικό τρόπο στη λήψη απόφασης πάνω στην ολική βαθμολογία της ποιότητας.

10.2. **Τελική βαθμολογία**

Ο υπεύθυνος της ομάδας πρέπει να συγκεντρώσει τις αποδοθείσες βαθμολογίες από κάθε δοκιμαστή, έπειτα να επαληθεύσει αν οι ιδιότητες και οι εντάσεις με τις οποίες τις αντιλήφθηκε και τις βαθμολόγησε, στο «φύλλο χαρακτηρισμού», συμφωνούν κατά τρόπο αποδεκτό με την αξιολόγηση που αποδόθηκε στο έλαιο στον «πίνακα βαθμολογίας». Στην περίπτωση μιας αισθητής διαφοράς, ο υπεύθυνος θα πρέπει να ζητήσει από το δοκιμαστή να ξαναμελετήσει το φύλλο της βαθμολογίας του.

Αν είναι απαραίτητο, ο δοκιμαστής πρέπει να επαναλάβει τη δοκιμή.

Τέλος, ο υπεύθυνος της επιτροπής πρέπει να τοποθετήσει σε πίνακα τις βαθμολογίες της ομάδας και να υπολογίσει το μέσο όρο (αριθμητικά) που προκύπτει.

Μόνο στην περίπτωση μιας αναθεωρητικής ανάλυσης η ομάδα οφείλει να επαναλαμβάνει τις δοκιμές έως ότου λάβει τρεις αξιολογήσεις ανά δείγμα. Η τελική βαθμολογία είναι το αποτέλεσμα των τριών βαθμολογιών που δόθηκαν στρογγυλεμένο στο πρώτο δεκαδικό ψηφίο.

Εάν ο βαθμός της μέσης έντασης του πικρού ή/και δριμύος είναι μεγαλύτερος από 2,5, πρέπει να δοθεί στο έλαιο η αντίστοιχη βαθμολογία και να σημειωθεί ότι είναι πικρό ή/και δριμύ.

▼ **M12**

Έκφραση των αποτελεσμάτων: ο υπεύθυνος της εξεταστικής επιτροπής, βάσει του μέσου όρου βαθμολογίας, καθορίζει την κατηγορία στην οποία κατατάσσεται το δείγμα σύμφωνα με τα όρια που προβλέπονται στο παράρτημα I. Για το σκοπό αυτό, ο υπεύθυνος της εξεταστικής επιτροπής εφαρμόζει:

- κατά την περίοδο εμπορίας 1992/93, ανοχή + 1,5,
- από την περίοδο εμπορίας 1993/94 και μετά, ανοχή + 1,

εάν η μέση βαθμολογία είναι ίση ή ανώτερη των 5 μονάδων.

▼ M9

Εντούτοις, για τα ελαιόλαδα για τα οποία υπάρχουν εργασίες που συνδέονται με την παρέμβαση, δεν εφαρμόζεται καμία ανοχή.

▼ M5

Η στατιστική διαφορά σχετικά με τις τιμές της επαναληψιμότητας και της αναπαραγωγικότητας μεταξύ του αποτελέσματος της ανάλυσης και του κανονιστικού ορίου περιλαμβάνεται στην ανοχή που αναφέρεται στα προηγούμενα εδάφια.

Στην περίπτωση κατά την οποία, κατά τη διάρκεια των προαναφερθεισών περιόδων εμπορίας, ο ενδιαφερόμενος κατατάσσει το ελαιόλαδο χωρίς να εφαρμόσει την προβλεπόμενη ανοχή, μπορεί να αναγράψει στην άμεση συσκευασία την ελάχιστη οργανοληπτική βαθμολόγηση του προϊόντος που μπορεί να εξακριβωθεί κατά τη διάρκεια της περιόδου εμπορίας.

Ο υπεύθυνος της εξεταστικής επιτροπής αναφέρει στην έκθεση της ανάλυσης μόνο την κατηγορία στην οποία κατατάσσεται το δείγμα. Στην περίπτωση εξέτασης που πραγματοποιεί ο αναλυτής, σύμφωνα με το άρθρο 2 παράγραφος 2 πρώτο εδάφιο, εφαρμόζει την ίδια διαδικασία προσδιορισμού της κατηγορίας.

▼ B

Σημείωση: Τα δείγματα πρέπει να διατηρούνται σε κλειστά δοχεία και στο ψυγείο μέχρι τη στιγμή της ανάλυσης και πρέπει να ξανατοποθετούνται εκεί μέχρι να συμπληρωθούν οι τρεις αξιολογήσεις.

▼ M3

Σχήμα 2

Παρθένο ελαιόλαδο

Φύλλο χαρακτηριστικών
Βαθμοί όσφρησης, γεύσης, αφής

Πίνακας βαθμολογίας

	Ένταση ερεθίσματος (1)					
	0	1	2	3	4	5
Βαθμός ωρίμανσης του ελαιοκάρπου (ώριμος και άωρος) (2)						
Μήλο						
Άλλο ή άλλα ώριμα φρούτα						
Πράσινο (φύλλα, χόρτο)						
Πικρό						
Δριμύ						
Γλυκό						
Άλλη ή άλλες αποδεκτές ιδιότητες (οι εξής)						
.....						
Ευνό/οινόδες/ξιδιασμένο/οξύ (2)						
Χονδροειδές						
Μεταλλικό						
Μουχλιασμένο						
Μούργα						
Με οσμή κλεισούρας («atrojado»)						
Ταγγισμένο						
Άλλη ή άλλες μη αποδεκτές ιδιότητες (οι εξής)						
.....						

Μειονεκτήματα	Χαρακτηριστικά	Συνολική βαθμολογία
Κανένα	Βαθμός ωρίμανσης ελαιοκάρπου	9
	Βαθμός ωρίμανσης ελαιοκάρπου και άλλων καρπών (φρούτων)	8
		7
Μόλις αντιληπτά	Αίσθηση του κάπως ξεθυμασμένου (άτονο ερέθισμα)	6
Ελαφρώς αντιληπτά	Αίσθηση του κάπως μειονεκτικού / οσμή και γεύση ασυνήθιστες	5
Αντιληπτά και μέση ένταση ερεθίσματος	Αίσθηση του σαφώς μειονεκτικού οσμή και γεύση δυσάρεστες	4
Σαφώς αντιληπτά και με εξαιρετικά μεγάλη ένταση	Οσμή και γεύση εντελώς απαράδεκτες για την κατανάλωση	3
		2
		1

Παρατηρήσεις:

.....

Όνομα του δοκιμαστή:

.....

Κωδικός δείγματος:

.....

Ημερομηνία:

(1) Ένταση του ερεθίσματος:

0 = Μηδενικό ερέθισμα (3)

1 = Μόλις αντιληπτό

2 = Ελαφρό

3 = Μέσο

4 = Μεγάλο

5 = Έντονο.

(2) Διαγράφεται η περιττή ένδειξη.

(3) Σημειώνεται με σταυρό η παντελής έλλειψη αντίστοιχου ερεθίσματος.

▼ B

ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ: ΓΕΝΙΚΟ ΒΑΣΙΚΟ ΛΕΞΙΛΟΓΙΟ

1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ

Το παρόν σύνολο κανόνων έχει ως στόχο τη συγκέντρωση των γενικών όρων που χρησιμοποιούνται στην αισθητική ανάλυση και να παρουσιάσει τους ορισμούς των όρων αυτών.

▼ **B**

2. ΛΕΙΞΙΛΟΓΙΟ

2.1. Γενική ορολογία

Οργανοληπτική ανάλυση (ουσιαστικό με επιθετικό προσδιορισμό):

Εξέταση των οργανοληπτικών ιδιοτήτων ενός προϊόντος από τα όργανα των αισθήσεων.

Αίσθηση (ουσιαστικό):

Αντίληψη, δια των αισθήσεων, εξωτερικών αντικειμένων ή γεγονότων.

Οργανοληπτικός (επίθετο) (χαρακτήρας ή ιδιότητα):

Αποδίδεται σε οποιαδήποτε ιδιότητα ενός προϊόντος, η οποία γίνεται αντιληπτή δια των αισθητηρίων οργάνων.

Εμπειρογνόμων (ουσιαστικό) (όσον αφορά την εξέταση των οργανοληπτικών χαρακτήρων):

Δοκιμαστής, ειδικευμένος στην οργανοληπτική ανάλυση ενός ορισμένου προϊόντος, διαθέτων τις βασικές γνώσεις όσον αφορά την παρασκευή του εν λόγω προϊόντος και τις προτιμήσεις της αγοράς.

Δοκιμαστής (ουσιαστικό):

Άτομο οξυδερκές, ευαίσθητο, που έχει επιλεγεί και εκπαιδευτεί, το οποίο αξιολογεί τους οργανοληπτικούς χαρακτήρες ενός προϊόντος δια των οργάνων των αισθήσεων.

Εξεταστική επιτροπή (ουσιαστικό με επιθετικό προσδιορισμό):

Ομάδα δοκιμαστών που έχουν αποτελέσει το αντικείμενο ειδικής επιλογής και εκπαίδευσης, και συνέρχονται για να πραγματοποιήσουν, υπό ελεγχόμενους όρους, την οργανοληπτική ανάλυση του προϊόντος.

Αισθητικότητα (ουσιαστικό):

Υποκειμενικό φαινόμενο που προκύπτει από τον ερεθισμό του συστήματος των αισθήσεων. Το φαινόμενο αυτό μπορεί να αποτελέσει το αντικείμενο υποκειμενικής διάκρισης ή αντικειμενικού ορισμού από το σχετικό όργανο των αισθήσεων, ανάλογα με τη φύση ή την ποιότητα του ερεθισμού, καθώς και με την έντασή του.

Ευαισθησία (ουσιαστικό):

Ικανότητα των οργάνων των αισθήσεων να αντιλαμβάνονται, ποιοτικά και ποσοτικά, ερεθισμό πολύ χαμηλής εντάσεως, ή ελάχιστες διαφορές μεταξύ ερεθισμών.

Πρόγευση (ουσιαστικό):

Ενέργεια που συνίσταται στην αντίληψη, ανάλυση και κρίση των οργανοληπτικών χαρακτήρων και, ιδιαίτερα, των χαρακτήρων της όσφρησης, γεύσης, αφής και κιναισθησίας ενός προϊόντος διατροφής.

Αποδοχή (ουσιαστικό):

Πράξη που συνίσταται στην ευνοϊκή υποδοχή ενός προϊόντος από ένα άτομο ή τον πληθυσμό μιας περιοχής.

Αρμονία (ουσιαστικό):

Ποιότητα προϊόντος που δημιουργεί αίσθηση ευχάριστου συνόλου. Η αίσθηση αυτή οφείλεται στην αντίληψη των συστατικών στοιχείων του προϊόντος ως ερεθισμών της όσφρησης, της γεύσης, της αφής και ►C1 κιναισθησίας ◄, και τούτο λόγω του ότι παρουσιάζονται με σωστές αναλογίες συγκέντρωσης.

(το) *Αποδεκτό* (ουσιαστικοποιημένο επίθετο):

Κατάσταση προϊόντος που γίνεται ευνοϊκά δεκτό από ένα άτομο ή πληθυσμό, ανάλογα με τις οργανοληπτικές του ιδιότητες.

Διάκριση (ουσιαστικό):

Ποιοτική ή/και ποσοτική διαφοροποίηση μεταξύ δύο ή περισσότερων ερεθισμών.

Αντιστάθμιση (ουσιαστικό):

▼B

Αποτέλεσμα της αλληπάλληλης ►C1 ενδοαντιδράσεως ◄ συνόλου ερεθισμών εις τρόπον ώστε κάθε ερεθισμός γίνεται αντιληπτός με λιγότερη ένταση από ό,τι αν ήταν απομονωμένος.

Όψη (ουσιαστικό):

Σύνολο των οργανοληπτικών χαρακτήρων που γίνονται αντιληπτοί με το όργανο της όρασης: μέγεθος, μορφή, χρώμα, σχήμα, θολότητα, διαύγεια, ρευστότης, αφρός και παρουσία λεπτών φυσαλίδων. Προτιμάται η χρησιμοποίηση αυτού του όρου αντί του όρου «εμφάνιση».

Χαρακτηριστικό (ουσιαστικοποιημένο επίθετο):

Χαρακτηριστική αντιληπτή ιδιότητα.

2.2. **Ορολογία σχετική με τη φυσιολογία**

Ερεθισμός (ουσιαστικό):

Φυσικός ή χημικός παράγοντας που προξενεί ειδικώς την ανταπόκριση των εξωτερικών ή εσωτερικών δεκτών των αισθήσεων.

Γεύση (ουσιαστικό) (αίσθηση της γεύσης):

Αίσθηση της οποίας οι δέκτες βρίσκονται στη στοματική κοιλότητα, κυρίως επί της γλώσσας, και οι οποίοι ενεργοποιούνται από διάφορα συστατικά ►C1 εν διαλύσει ◄.

Γευστικός (επίθετο):

Περιγράφει την ιδιότητα προϊόντος ικανού να ερεθίσει το μηχανισμό της γεύσης, διεγείροντας τις αισθήσεις που αντιστοιχούν σε ►C1 μία ή περισσότερες από τις τέσσερις βασικές γεύσεις ◄: γλυκό, αλμυρό, ξινό και πικρό.

Δέκτης (ουσιαστικό):

Ειδική διάρθρωση οργάνου των αισθήσεων, ευερέθιστου και κανού να δεχτεί ερέθισμα και να το μετατρέψει σε νευρικό ερεθισμό.

Σημείωση: Οι δέκτες κατατάσσονται ανάλογα με το είδος της ενέργειας που συνδέεται με το ερέθισμα (φως, ζέστη, ήχος κ.λπ.).

Όσφρηση (ουσιαστικό):

Λειτουργία του οργάνου της όσφρησης, για την αντίληψη και τη διάκριση των μορίων που καταλήγουν, σε αέρια φάση από το εξωτερικό, δια της ρινικής οδού αμέσως ή εμμέσως.

Ένταση (ουσιαστικό):

Βαθμός ενέργειας μιας ποιότητας που μπορεί να μετρηθεί, με τη βοήθεια ποσοτικής κλίμακας τιμών ανώτερων του κατώφλιου.

Οργανοληπτική προσαρμογή (ουσιαστικό με επιθετικό προσδιορισμό):

Προσωρινή τροποποίηση της ικανότητας των αισθήσεων για την αντίληψη των αισθητηριακών ερεθισμών, κατόπιν συνεχούς και επανειλημμένης εκθέσεως στον ίδιο ή σε παρόμοιο ερεθισμό.

Αναστολή (ουσιαστικό):

Απουσία ανταπόκρισης οργάνου των αισθήσεων ή μέρους του εν λόγω οργάνου, παρόλο που υποβάλλεται στη δράση κατάλληλου ερεθισμού, του οποίου η ένταση είναι ανώτερη του κατώφλιου.

Ανταπόκριση (ουσιαστικό):

Δράση δια της οποίας τα κύτταρα των αισθήσεων ανταποκρίνονται στη δράση ενός ή περισσότερων ερεθισμών, σχετικών με κάποια ορισμένη αισθητηριακή ιδιότητα.

Σώμα (ουσιαστικό):

Αίσθηση της αφής που γίνεται αντιληπτή στη στοματική κοιλότητα και που παρέχει ένα βαθμό πυκνού, γλοιώδους, σταθερού, συμπαγούς χαρακτήρα του προϊόντος διατροφής.

Ενωδία (ουσιαστικό):

Δροσερή, ευχάριστη και απολαυστική μυρωδιά.

▼ B

Οσφραίνομαι (ρήμα) (ενεργητική σημασία σχετική με την όσφρηση):

Περιγράφει την ενέργεια αντίληψης μιας οσμής.

Αντικειμενικός (επίθετο):

α) Προσδιορίζει την αισθητικότητα που προκαλείται από την πραγματική και επαληθεύσιμη παρουσίαση του ακτικειμένου, μειώνοντας στο ελάχιστο τους ανθρώπινους παράγοντες (όπως, παραδείγματος χάρη, την προτίμηση, τη συνήθεια, την αποτελεσματικότητα).

β) Περιγράφει την τεχνική η οποία, δι' αισθητηριακών ή τεχνικών μεθόδων, επιτρέπει να μειωθούν στο ελάχιστο τα προσωπικά λάθη.

Σημείωση: Η χρησιμοποίηση του όρου «οργανικός» δεν συνιστάται.

Υποκειμενικός (επίθετο):

Περιγράφει την αισθητικότητα που δημιουργείται από την αντίληψη, επηρεασμένη και από τις σκέψεις και τα συναισθήματα του καθενός και όχι μόνο από τον ερεθισμό.

► C1 *Κιναίσθησις* ◀ (ουσιαστικό):

Σύνολο αισθήσεων που προκαλούνται από πίεση που ασκείται στο δείγμα ► C1 διά της κινήσεως ◀ εντός της στοματικής κοιλότητας ή με τα δάχτυλα (παραδείγματος χάρη, πίεση με τα δάχτυλα στην περίπτωση του τυριού).

Κατώφλι (ουσιαστικό):

Απόλυτο κατώφλι:

Ελάχιστη τιμή ερεθίσματος των αισθήσεων, απαραίτητη:

- για την αφύπνιση κάποιας αίσθησης (κατώφλι εμφάνισης ή ανίχνευσης), ή
- για την αναγνώριση της αντιλαμβανόμενης αισθητικότητας (κατώφλι αναγνώρισης).

Κατώφλι διαφοροποίησης:

Ελάχιστη τιμή ερεθισμού των αισθήσεων ► C1 που οδηγεί ◀ σε διαφορά αντιληπτή στην ένταση της αισθητικότητας.

Τελικό κατώφλι:

Μέγιστη τιμή ερεθισμού πάνω από την οποία δεν υπάρχει αντιληπτή διαφορά στην ένταση της αισθητικότητας.

Προτιμησιακό κατώφλι:

Ελάχιστη ► C1 ποσοτική τιμή ◀ ερεθισμού ή κρίσιμη υπερωριακή τιμή του ερεθισμού αυτού, που αντιστοιχεί στην εμφάνιση έλξης ή απόθησης σε σχέση με έναν ερεθισμό ουδέτερο, παραδείγματος χάρη η επιλογή μεταξύ σακχαρούχου διαλύματος και νερού.

Σημείωση: Πρέπει να γίνεται διάκριση μεταξύ του απόλυτου προτιμησιακού κατωφλίου και του προτιμησιακού κατωφλίου διαφοροποίησης.

Υπο-οριακός (επίθετο):

Περιγράφει ερεθισμό κατώτερο του απόλυτου κατωφλίου.

Υπερ-οριακός (επίθετο):

Περιγράφει ερεθισμό ανώτερο του απόλυτου κατωφλίου.

Αισθητηριακή κόπωση (ουσιαστικό με επιθετικό προσδιορισμό):

Μορφή της οργανοληπτικής προσαρμογής που αντιστοιχεί σε μείωση της ευαισθησίας.

Αντιστάθμιση (ουσιαστικό):

Αποτέλεσμα της αλληπάλληλης ► C1 ενδοαντιδράσεως ◀ επί συνόλου ερεθισμών, εις τρόπον ώστε κάθε ερεθισμός γίνεται αντιληπτός με λιγότερη ένταση από ό,τι αν ήταν απομονωμένος.

Συνεργικός (επίθετο):

▼ **B**

Επίπτωση ή συνδυασμένη δράση καθορισμένων ουσιών, κατά τέτοιο τρόπο ώστε η ένταση των οργανοληπτικών χαρακτήρων που προκύπτουν από το συνδυασμό τους είναι ανώτερη εκείνης που αναμένεται από την απλή πρόσθεση των εντάσεων κάθε χαρακτήρα όταν απομονώνονται.

Αποτέλεσμα αντίθεσης:

Αύξηση της ανταπόκρισης στις διαφορές μεταξύ δύο ερεθισμών ταυτόχρονων ή αλληπάλληλων. Αντίθετο του αποτελέσματος σύγκλισης.

Αποτέλεσμα σύγκλισης:

Μείωση της ανταπόκρισης στις διαφορές μεταξύ δύο ερεθισμών ταυτόχρονων ή αλληπάλληλων. Αντίθετο του αποτελέσματος αντίθεσης.

2.3. Ορολογία σχετική με τις οργανοληπτικές ιδιότητες

Όξινος (επίθετο):

α) Περιγράφει τη βασική γεύση που δημιουργείται από αραιά υδατικά διαλύματα των περισσότερων οξέων (παραδείγματος χάρη νιτρικό οξύ, γαλακτικό οξύ και τρυγικό οξύ).

β) Περιγράφει την ιδιότητα καθαρών σωμάτων ή μειγμάτων των οποίων η πρόγευση προκαλεί αυτό το γευστικό αίσθημα.

Το αντίστοιχο ουσιαστικό είναι η οξύτητα.

Αριμύς (επίθετο):

Περιγράφει την οσφρητικο-γευστική αισθητικότητα με κυριαρχία οξέων τα οποία συνήθως προέρχονται από ζυμώσεις, καθώς και τα είδη διατροφής που παράγουν αυτή την αισθητικότητα.

Ορισμένοι παράγοντες, που συνεισφέρουν σε αυτήν την αισθητικότητα, συνδέονται με τη διαδικασία της ζύμωσης, παραδείγματος χάρη οξικής ή γαλακτικής, ενός προϊόντος διατροφής.

Πικρή (γεύση) (επίθετο):

α) Περιγράφει τη βασική γεύση που δημιουργείται από αραιά υδατικά διαλύματα διαφόρων ουσιών, όπως είναι το κινίνο, η καφεΐνη και ορισμένα συγκεκριμένα αλκαλοειδή.

β) Αποδίδεται στην ιδιότητα καθαρών σωμάτων και μειγμάτων των οποίων η πρόγευση προκαλεί τη γεύση αυτή.

Το αντίστοιχο ουσιαστικό είναι η πικρότητα.

Αλμυρή (γεύση) (επίθετο):

α) Χαρακτηριστική αισθητικότητα που γίνεται αντιληπτή μέσω της αίσθησης της γεύσης· εκείνη που προκαλείται από διάλυμα χλωριούχου νατρίου αποτελεί το τυπικότερο παράδειγμα.

β) Περιγράφει την ιδιότητα καθαρών σωμάτων ή μειγμάτων των οποίων η πρόγευση προκαλεί αυτή τη γεύση.

Το αντίστοιχο ουσιαστικό είναι η αλμυρότητα.

Γλυκιά (γεύση) (επίθετο):

α) Περιγράφει τη βασική γεύση που προκαλείται από υδατικά διαλύματα διαφόρων ουσιών, όπως είναι η σακχαρόζη.

β) Αποδίδεται στην ιδιότητα καθαρών σωμάτων ή μειγμάτων των οποίων η πρόγευση προκαλεί αυτή τη γεύση.

Το αντίστοιχο ουσιαστικό είναι η γλυκύτητα.

Στυφή (γεύση) (επίθετο):

α) Περιγράφει την πολύπλοκη αίσθηση που δημιουργείται στο στόμα από αραιό υδατικό διάλυμα ουσιών όπως οι ταννίνες (παραδείγματος χάρη οι ταννίνες του λωτού ή του αγριοδαμάσκηνου).

β) Αποδίδεται στην ιδιότητα καθαρών σωμάτων ή μειγμάτων που δημιουργούν αυτή την αισθητικότητα.

Το αντίστοιχο ουσιαστικό είναι η στυπτικότητα.

► **C1** *Γευστικοοσφραντική αίσθηση* ◀ (ουσιαστικό με επιδεδικό προσδιορισμό):

▼B

Ως σύνθετη γεύση νοείται το σύνολο των αντιλαμβανόμενων ερεθισμών όσφρησης-γεύσης, αφής και κιναισθησης, που επιτρέπει σε κάποιον να χαρακτηρίσει ένα προϊόν ►C1 διατροφής και να θέσει ◀, να θέσει ένα κριτήριο, σε διαφορετικά επίπεδα, ευμενές ή δυσμενές για το εν λόγω προϊόν.

Γεύση (ουσιαστικό):

- α) Αισθητικότητα που γίνεται αντιληπτή από τις γευστικές θηλές όταν ερεθίζονται από ορισμένες διαλυτές ουσίες.
- β) Ποιότητα της ιδιαίτερης αισθητικότητας που προκαλείται από τις ουσίες αυτές.

Βασική γεύση (ουσιαστικό με επιθετικό προσδιορισμό):

Καθεμία από τις τέσσερις αναγνωρισμένες γεύσεις: γλυκιά, αλμυρή, ξινή πικρή.

Οσμή (ουσιαστικό):

- α) Σύνολο αισθητικοτήτων που γίνονται αντιληπτές από το όργανο της όσφρησης εισπνέοντας ορισμένες πτητικές ουσίες.
- β) Ποιότητα της ιδιαίτερης αισθητικότητας που προκαλείται από καθεμία από τις προαναφερθείσες ουσίες.

Αρώμα (ουσιαστικό):

- α) Ευχάριστες αισθητικότητες που γίνονται αντιληπτές από το όργανο της όσφρησης εμμέσως κατά την πρόγευση ενός προϊόντος διατροφής.
- β) Στην αρωματοποιία και στην καθημερινή γλώσσα ο όρος αυτός ισχύει επίσης και για τις ίδιες αισθητικότητες που γίνονται αντιληπτές δια της ρινικής οδού κατά τρόπο άμεσο.

Επίγευση (ουσιαστικό):

Σύνολο των αισθητικοτήτων που γίνονται αντιληπτές μετά την εξάλειψη του ερεθισμού του στόματος και οι οποίες διαφέρουν από εκείνες που είχαν γίνει αντιληπτές προηγουμένως.

Αρωματικός (επίθετο):

- α) Αποδίδεται στην ιδιότητα καθαρών σωμάτων ή μειγμάτων, των οποίων η πρόγευση προκαλεί αισθητικότητες που περιγράφονται από τον όρο «άρωμα».
- β) Περιγράφει τα προϊόντα διατροφής των οποίων η εξέταση δια της άμεσης ρινικής οδού προκαλεί αισθητικότητες ευωδίας και δροσιάς.

Υφή (ουσιαστικό):

Σύνολο των χαρακτηριστικών της στερεάς ή υγρής κατάστασης ενός προϊόντος διατροφής ικανού να ερεθίσει τους μηχανικούς δέκτες, κατά την πρόγευση, και ιδίως εκείνους που βρίσκονται στην περιοχή του στόματος.

Σημείωση: Ο όρος αυτός ισχύει μόνο για τις αντικειμενικές ιδιότητες και όχι για τις προκαλούμενες αισθητικότητες και οι οποίες ορίζονται με γενικούς όρους όπως είναι: στερεές, ινώδεις, λιπαρές κ.λπ.

Γεύομαι (ρήμα):

Ενέργεια κατά την οποία ένα προϊόν που βρίσκεται μέσα στο στόμα έρχεται σε επαφή με όλες τις ευαίσθητες περιοχές προκειμένου να γίνουν αντιληπτές οι αισθητικότητες που δημιουργεί στο στόμα.

Σημείωση: Το λεξιλόγιο αυτό μπορεί να εμπλουτιστεί αφού συμβουλευθείτε τους κανόνες ►C1 ISO ◀ 5492-Μέρη I έως V, και άλλα έργα, όπως εκείνο που συνέργαψε ο J.L. Magnen «Les cahiers techniques du Centre National de Coordination des Etudes et Recherches sur la Nutrition et l'Alimentation».

ΠΟΤΗΡΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΓΕΥΣΗ ΤΩΝ ΕΛΑΙΩΝ

1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ

Η παρούσα προδιαγραφή έχει ως στόχο να περιγράψει τα χαρακτηριστικά του ποτηριού για την οργανοληπτική ανάλυση των

▼B

βρώσιμων ελαίων (οσμή, γεύση, ►C1 συνολική γευστικοσφραγιστική αίσθηση ◄).

►C1 Επίσης ◄, περιγράφει τον ανάλογο μηχανισμό, τον απαραίτητο για την επίτευξη και τη διατήρηση της κατάλληλης θερμοκρασίας γι' αυτήν την ανάλυση.

2. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΟΥ ΠΟΤΗΡΙΟΥ

Το σκίτσο του σχήματος 1 σχεδιάστηκε για να βελτιστοποιήσει τα επιθυμητά χαρακτηριστικά ενός οργάνου τέτοιας φύσης, του οποίου οι ►C1 βασικές ιδιότητες ◄ καθορίζονται παρακάτω:

- α) μέγιστη σταθερότητα, αποφεύγοντας την ταλάντευση του ποτηριού και το αναποδογύρισμά του, με αποτέλεσμα να χυθεί το έλαιο που περιέχει·
- β) σχήμα που προσαρμόζεται εύκολα στις κοιλότητες μονάδας θέρμανσης, ώστε να επιτρέπει την ομοιόμορφη θέρμανση της βάσης του ποτηριού·
- γ) στένωμα του στομίου, το οποίο ευνοεί τη συγκέντρωση των οσμών και διευκολύνει ►C1 τον προσδιορισμό ή ταυτοποίηση ◄·
- δ) από σκούρο γυαλί, έτσι ώστε ο δοκιμαστής να μην μπορεί να αντιληφθεί το χρώμα του ελαίου, γεγονός το οποίο αποκλείει κάθε προκατάληψη και τη δυνατότητα να σχηματίσει γνώμες ικανές να επηρεάσουν αρνητικά την αντικειμενικότητα του προσδιορισμού.

2.1. Διαστάσεις

Το σκίτσο του ποτηριού ►C1 δίδεται από το σχήμα 1 ◄, με τις ακόλουθες διαστάσεις:

— Ολική χωρητικότητα	130 ml ± 10 ml,
— Ολικό ύψος	60 mm ± 1 mm,
— Διάμετρος του στόμιου	50 mm ± 1 mm,
— Διάμετρος του ευρύτερου τμήματος	70 mm ± 1 mm,
— Διάμετρος της βάσης	35 mm ± 1 mm,
— Πάχος των πλαγίων τοιχωμάτων του ποτηριού	1,5 mm ± 0,2 mm,
— Πάχος του πυθμένα του ποτηριού	5 mm ± 1 mm.

Κάθε ποτήρι πρέπει να συνοδεύεται από μια ύαλο ωρολογίου με διάμετρο η οποία υπερβαίνει κατά 10 mm περίπου αυτή του στομίου. Αυτή η ύαλος θα χρησιμεύσει ως καπάκι για να αποφευχθεί η απώλεια του αρώματος και η είσοδος της σκόνης.

2.2. Χαρακτηριστικά κατασκευής

Το ποτήρι πρέπει να είναι κατασκευασμένο από ανθεκτικό γυαλί, σκούρου χρώματος, για να εμποδίζεται η εκτίμηση του χρώματος του περιεχομένου, να μην είναι χαραγμένο και να μην έχει φυσαλίδες.

Το χείλος πρέπει να είναι κανονικό, λείο και να φέρει στεφάνη.

Το ποτήρι πρέπει να είναι από γυαλί ξαναψημένο, για να αντέχει στις μεταβολές της θερμοκρασίας τις οποίες θα υποστεί κατά τη διάρκεια των δοκιμών.

2.3. Κανόνες χρήσης

Ο καθαρισμός των ποτηριών πρέπει να γίνεται χρησιμοποιώντας σαπούνι ή απορρυπαντικό όχι αρωματισμένο και να ακολουθείται από πολλά ξεβγάλματα μέχρι την τέλεια εξάλειψη του χρησιμοποιηθέντος προϊόντος. Τελικά, πρέπει να ξεβγάζονται με απεσταγμένο νερό, έπειτα, μετά από το στράγγισμα, να στεγνώνονται σε έναν κλίβανο.

Δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται συμπυκνωμένα οξέα, ούτε μείγματα χρωμικού οξέος.

Τα ποτήρια πρέπει να κρατούνται στον κλίβανο μέχρι τη χρησιμοποίησή τους, ή να διατηρούνται καλά μέσα σ' ένα ντουλάπι προστατευόντάς τα από ανεπιθύμητες οσμές.

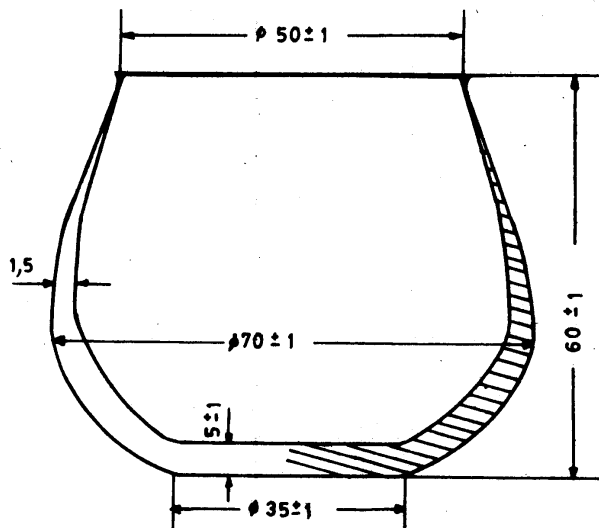
▼B

Πριν από κάθε χρήση, πρέπει να βεβαιώνεται με την όσφρηση ότι τα ποτήρια είναι απαλλαγμένα από αφύσικες οσμές. Κατά την προετοιμασία της δοκιμής, φροντίζετε να σημειώνετε τον κωδικό κάθε ποτηριού και του αντίστοιχου ελαίου. Αυτή η αντιστοιχία κωδικού και ελαίου δεν θα είναι γνωστή παρά μόνο στον υπεύθυνο της δοκιμής.

3. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΘΕΡΜΑΝΣΗΣ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Η οργανοληπτική εξέταση των δειγμάτων πρέπει να γίνεται σε μία δεδομένη θερμοκρασία που βρίσκεται για τα βρώσιμα έλαια, στους 28 ± 2 °C. Για να επιτευχθεί η θερμοκρασία αυτή, πρέπει να εγκαταστήσουμε στο εσωτερικό κάθε θαλάμου, μηχανισμό θέρμανσης (βλέπε σχήμα 2), ευπρόσφορο για το δοκιμαστή. Αυτός ο μηχανισμός αποτελείται από μία μονάδα αλουμινίου, βυθισμένη σε νερό, της οποίας η θερμοκρασία ρυθμίζεται με θερμοστάτη, έτσι ώστε να επιτύχουμε μια ομοιόμορφη θερμοκρασία. Αυτή η μονάδα περιέχει μια σειρά κοιλότητες, για να προσαρμόζεται ο πυθμένας των ποτηριών. Η διαφορά θερμοκρασίας ανάμεσα στο μηχανισμό θέρμανσης και στο περιεχόμενο έλαιο, στα ποτήρια τα τοποθετημένα στις κοιλότητες των διαφόρων μονάδων, δεν πρέπει να είναι μεγαλύτερη από ± 2 °C.

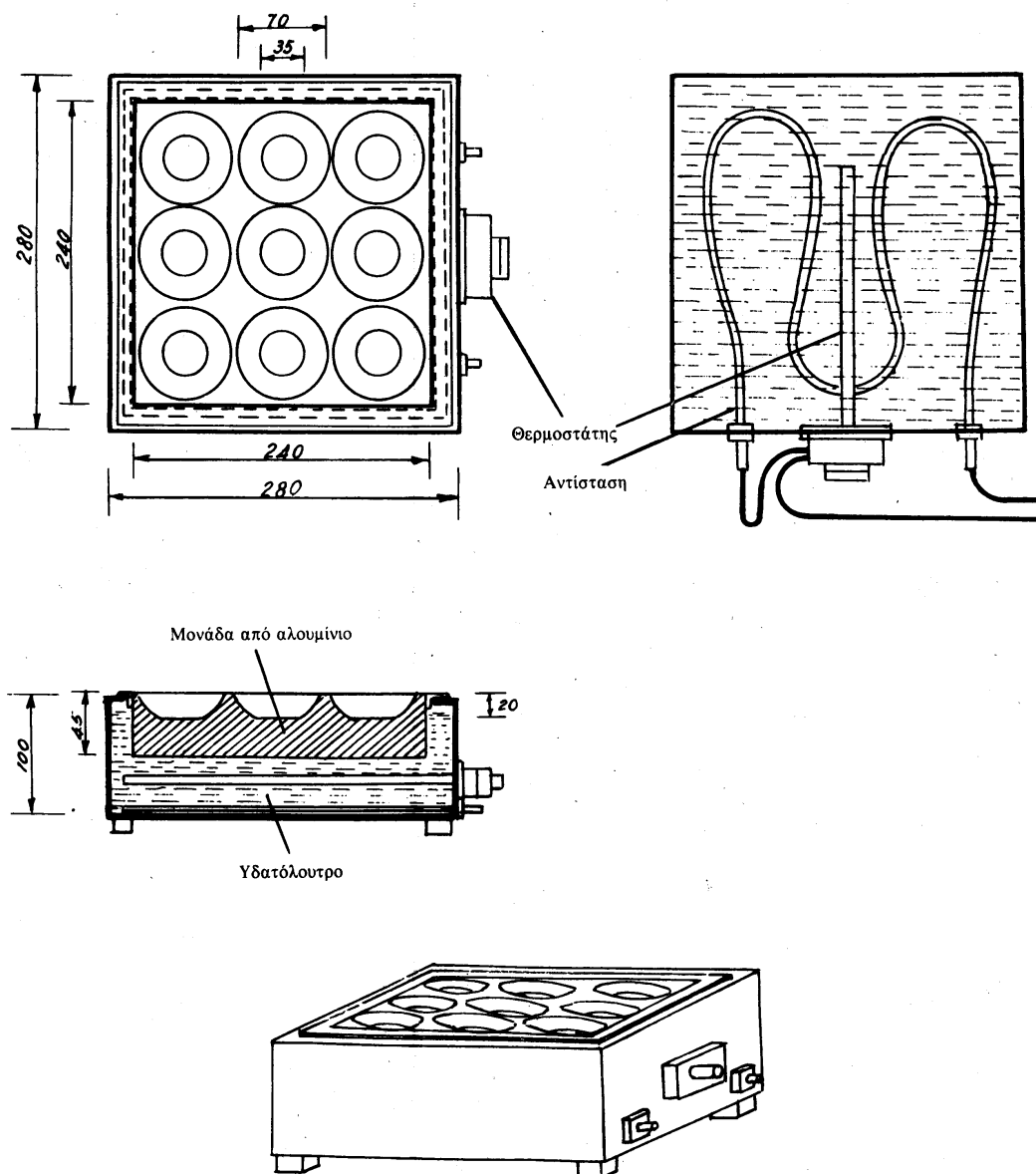
Σχήμα 1 — Ποτήρι πρόγευσης



Διαστάσεις (σε mm)

▼B

Σχήμα 2 — Διάταξη θέρμανσης των δειγμάτων (Διαστάσεις σε mm)



ΟΔΗΓΟΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΑΙΘΟΥΣΑΣ ΠΡΟΓΕΥΣΗΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αίθουσα πρόγευσης έχει ως στόχο να δώσει στην ομάδα των δοκιμαστών οι οποίοι συμμετέχουν στις οργανοληπτικές δοκιμές ένα περιβάλλον κατάλληλο, άνετο και σύμφωνο με τις προδιαγραφές, το οποίο να μπορεί να διευκολύνει την εργασία τους και να συμβάλει στη βελτίωση της επαναληπτικότητας και της αναπαραγωγικότητας των αποτελεσμάτων.

2. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ

Η παρούσα προδιαγραφή έχει ως στόχο να καθορίσει τις κύριες συνθήκες τις οποίες πρέπει να πάρουμε υπόψη μας για τη χωροταξική διεύθυνση αίθουσας πρόγευσης.

3. ΓΕΝΙΚΟΙ ΟΡΙΣΜΟΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΗ

Κάθε δωμάτιο, όποια και αν είναι η επιφάνειά του (βλέπε 3.1), πρέπει να πληροί τους ακόλουθους όρους:

Το δωμάτιο πρέπει να είναι ευχάριστο και αναλόγως φωτισμένο (βλέπε 3.2), διατηρώντας συγχρόνως μια ουδέτερη όψη. Γι' αυτό

▼B

το σκοπό, συνιστάται να χρησιμοποιείται για τους τοίχους ενιαίος χρωματισμός ξεκουραστικός και φωτεινός, έτσι ώστε να δημιουργεί μια ευχάριστη ατμόσφαιρα⁽¹⁾.

Το δωμάτιο πρέπει να μπορεί να καθαρίζεται εύκολα. Επιπλέον, πρέπει να είναι μακριά από κάθε πηγή θορύβου· επομένως, θα είναι, κατά προτίμηση, ηχητικά απομονωμένο. Επίσης, πρέπει να είναι μακριά από κάθε αφύσικη οσμή, λόγος για τον οποίο πρέπει, αν είναι δυνατό, να εφοδιαστεί με έναν αποτελεσματικό μηχανισμό εξαερισμού. Σε περίπτωση αισθητών διακυμάνσεων της θερμοκρασίας του περιβάλλοντος, η αίθουσα πρόγευσης πρέπει να είναι εφοδιασμένη με εγκατάσταση κλιματισμού, έτσι ώστε να διατηρείται η θερμοκρασία γύρω στους 20-22°C.

3.1. Διαστάσεις

Οι διαστάσεις του δωματίου εξαρτώνται συχνά από τις δυνατότητες των εργαστηρίων ή των επιχειρήσεων. Γενικά, το δωμάτιο πρέπει να είναι αρκετά ευρύχωρο για να επιτρέπει την εγκατάσταση περίπου 10 θαλάμων, καθώς και ζώνης για την προετοιμασία των δειγμάτων.

Προφανώς, θα ήταν ακόμη καλύτερα, ο διαθέσιμος χώρος για τις εγκαταστάσεις να είναι πιο μεγάλος, γιατί έτσι θα μπορούσαν να προβλεφθούν πρόσθετες βοηθητικές εγκαταστάσεις, για παράδειγμα τον καθαρισμό του υλικού, την παρασκευή φαγητών, καθώς και για τις συσκευές σε «ανοικτή εξεταστική επιτροπή».

3.2. Φωτισμός

Ο γενικός φωτισμός, είτε προέρχεται από το ηλιακό φως είτε από λάμπες (για παράδειγμα λαμπτήρες τύπου «φως ημέρας») πρέπει να είναι ομοιόμορφος, ρυθμιζόμενος και με διάχυτο φως.

3.3. Θερμοκρασία και υγρομετρική κατάσταση

Ο χώρος πρέπει να διατηρείται συνεχώς σε ευχάριστες θερμικές και υγρομετρικές συνθήκες. Εκτός από ειδικές περιπτώσεις, συνιστάται να διατηρείται μια θερμοκρασία των 20-22 °C και μια υγρομετρική κατάσταση 60-70 % σχετικής υγρασίας.

4. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΩΝ ΘΑΛΑΜΩΝ**4.1. Γενικά χαρακτηριστικά**

Οι θάλαμοι για την οργανοληπτική ανάλυση πρέπει να είναι τοποθετημένοι στο δωμάτιο ο ένας δίπλα στον άλλο.

Πρέπει να είναι όμοιοι και χωρισμένοι μεταξύ τους με διαχωριστικά, αρκετά υψηλά και φαρδιά, για να απομονώνονται οι δοκιμαστές μόλις καθήσουν.

Οι θάλαμοι μπορούν να είναι κατασκευασμένοι από κάθε υλικό κατάλληλο και εύκολο στη συντήρηση (για παράδειγμα, ξύλο, υαλοποιημένο κόντρα πλακέ, πλαστικοποιημένες σανίδες κ.λπ.). Σε περίπτωση χρησιμοποίησης χρωμάτων, αυτά πρέπει να είναι εντελώς άοσμα μετά το στέγνωμα.

Τα προβλεπόμενα καθίσματα σε κάθε θάλαμο πρέπει να είναι άνετα και με ρυθμιζόμενο ύψος.

Κάθε θάλαμος πρέπει να είναι εφοδιασμένος με ανεξάρτητο ρυθμιζόμενο φωτισμό, τόσο όσον αφορά τη διεύθυνση όσο και την ένταση.

Θα ήταν επιθυμητό να εφοδιάζονται οι θάλαμοι με διακόπτη που θέτει σε λειτουργία ένα φωτεινό σηματοδότη, που πρέπει να επιτρέπει στο δοκιμαστή να επικοινωνεί με το πρόσωπο το οποίο ασχολείται μαζί του απ' έξω, χωρίς εν τούτοις να αποσπά την προσοχή των άλλων. Ο σηματοδότης αυτός χρησιμοποιείται από το δοκιμαστή ο οποίος ολοκλήρωσε τη δοκιμή και επιθυμεί να του ξανατοποθετήσουν καινούργια δείγματα, που χρειάζεται ένα οποιοδήποτε εργαλείο ή παρατήρησε κάποια ανωμαλία ή, ακόμα, αν επιθυμεί πληροφορίες κ.λπ.

⁽¹⁾ Το χρώμα του δωματίου και ο φωτισμός του μπορούν να έχουν κάποια επίπτωση στα αποτελέσματα της οργανοληπτικής ανάλυσης.

▼ **B**4.2. **Διαστάσεις**

Οι θάλαμοι πρέπει να είναι αρκετά ευρύχωροι και άνετοι.

Γενικά, πρέπει να είναι των παρακάτω διαστάσεων:

Πλάτος:

0,75 μέτρα (χωρίς νεροχύτη)

0,85 μέτρα (με νεροχύτη)

Μήκος:

0,50 μέτρα (τραπέζι)

0,20 μέτρα (περίσσειμα για το διαχωριστικό)

Ύψος των διαχωριστικών:

0,60 μέτρα το ελάχιστο, μετρημένο από το τραπέζι

Ύψος του τραπεζιού:

0,75 μέτρα

4.3. **Διαρρύθμιση**

Η επιφάνεια του τραπεζιού πρέπει να μπορεί να καθαρίζεται εύκολα.

Ένα τμήμα αυτής της επιφανείας πρέπει να μένει ελεύθερο για την τοποθέτηση νεροχύτη με πόσιμο τρεχούμενο νερό. Σε περίπτωση που αυτό δεν είναι δυνατό να γίνει, αυτός ο χώρος πρέπει να μένει ελεύθερος για να τοποθετήσουμε μια λεκάνη, ένα δοχείο ή κάτι παρόμοιο.

Όταν, κατά τη διάρκεια της δοκιμής, τα δείγματα πρέπει να διατηρούνται σε μια σταθερή θερμοκρασία μεγαλύτερη ή μικρότερη από τη θερμοκρασία περιβάλλοντος, πρέπει να διαθέτουμε ανάλογο εξοπλισμό γι' αυτό το σκοπό (υδρόλουτρο, θερμαντική πλάκα κ.λπ.).

Μπορούμε επίσης να εγκαταστήσουμε ένα ράφι σε ύψος 1,10 μέτρου περίπου από το έδαφος, για να τακτοποιούμε τα διάφορα εξαρτήματα (ποτήρια, μικροεξαρτήματα κ.λπ.).

Σε περίπτωση που η διαρρύθμιση των θαλάμων στην αίθουσα πρόγευσης το επιτρέπει, θα αρκούσε να εγκαταστήσουμε ένα μηχανισμό για τη διευκόλυνση της παρουσίασης των δειγμάτων. Αυτός ο μηχανισμός μπορεί να έχει τη μορφή ανοίγματος (Σχήμα 1), συσκευής που περιστρέφεται καθέτως (Σχήμα 2), πράγμα το οποίο ενδείκνυται ιδιαίτερος για τα ψηλά ποτήρια ή κύπελλα, ή «πάσου οριζόντιου, εάν τα δοχεία στα οποία σερβίρουμε τα δείγματα δεν είναι πολύ ψηλά (Σχήμα 3). Απλώς, ο θάλαμος πρέπει να περιέχει ένα άνοιγμα αρκετό, ώστε να επιτρέπεται το μοίρασμα των δίσκων σερβιρισματος και των ποτηριών που περιέχουν τα δείγματα προς εξέταση.

5. **ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΑ ΔΩΜΑΤΙΑ**

Εάν ο διαθέσιμος χώρος το επιτρέπει, θα αρκούσε να προβλεφθούν χωριστά δωμάτια για την παρασκευή των δειγμάτων (για σκοπούς μαγειρικούς ή άλλους), την τακτοποίηση των ποτηριών ή των εργαλείων, καθώς και για τις συζητήσεις πριν ή μετά τις δοκιμές. Αν αυτό συμβαίνει θα πρέπει να διασφαλιστεί ώστε αυτοί οι χώροι να είναι πάντα καθαροί και να μην ενοχλούν, με τις οσμές τους, τους θορύβους ή τις συζητήσεις των προσώπων που συγκεντρώνονται, την εργασία της επιτροπής στην αίθουσα πρόγευσης.

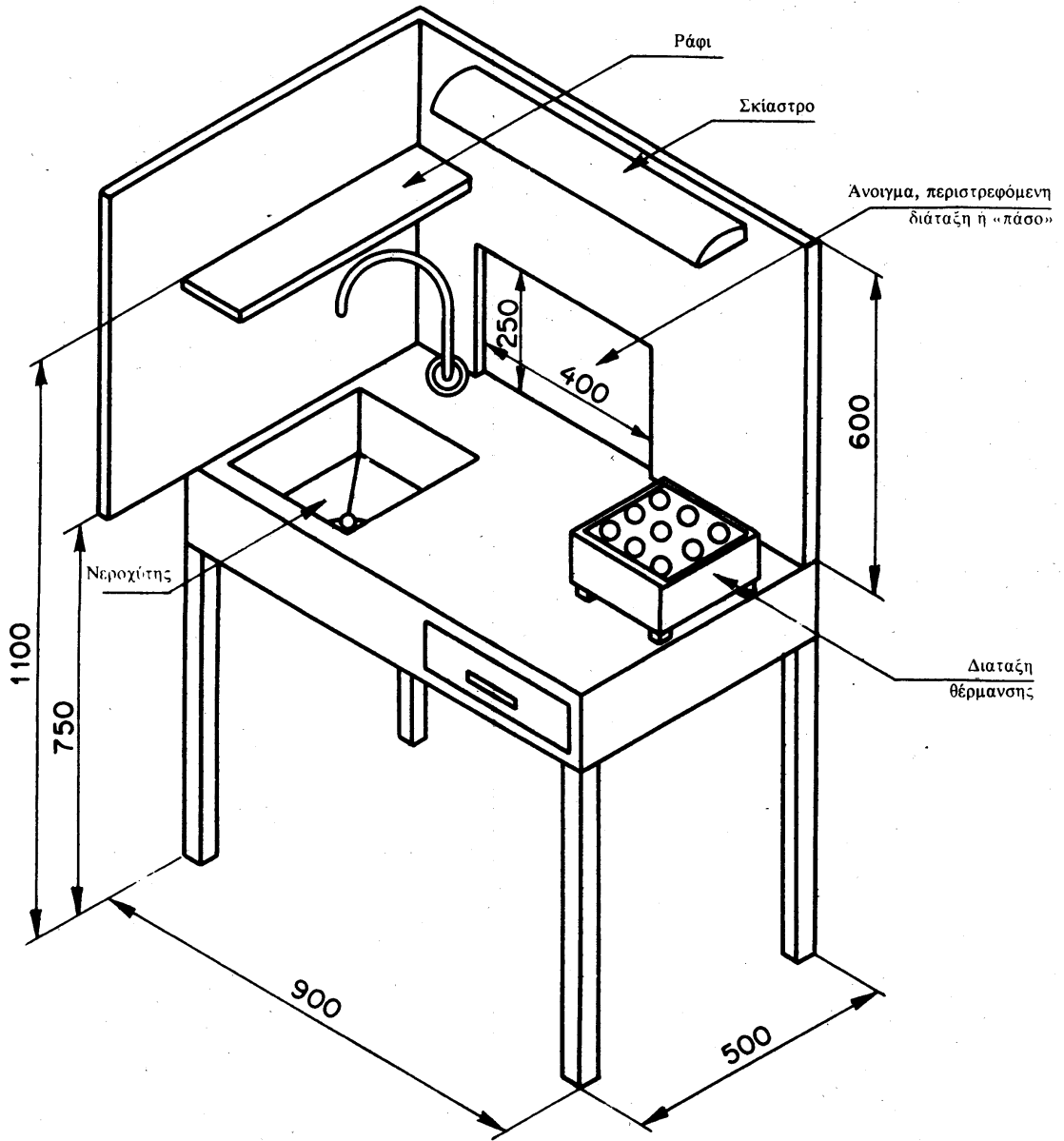
Το σχήμα 4 δίνει ένα σχηματικό παράδειγμα μιας αίθουσας πρόγευσης και των συμπληρωματικών εγκαταστάσεων.

Σημειώσεις: Οι συνθήκες που περιγράφηκαν παραπάνω είναι οι ιδανικές. Παρ' όλα αυτά, σε περίπτωση που δεν θα ήταν δυνατό να διατίθεται μια αίθουσα μόνο για τις οργανοληπτικές αναλύσεις, οι δοκιμές θα μπορούσαν να πραγματοποιούνται σε ένα δωμάτιο το οποίο συγκεντρώνει τις ελάχιστες συνθήκες που περιγράφονται (φως, θερμοκρασία, θόρυβοι, οσμές), εγκαθιστώντας κινητούς θαλάμους με στοιχεία συναρμολογούμενα ή πτυσσόμενα, έτσι ώστε να διασφαλίζεται, τουλάχιστον, ο επιθυμητός διαχωρισμός μεταξύ κάθε δοκιμαστή.

▼B

ΔΙΑΡΡΥΘΜΙΣΗ ΤΟΥ ΘΑΛΑΜΟΥ

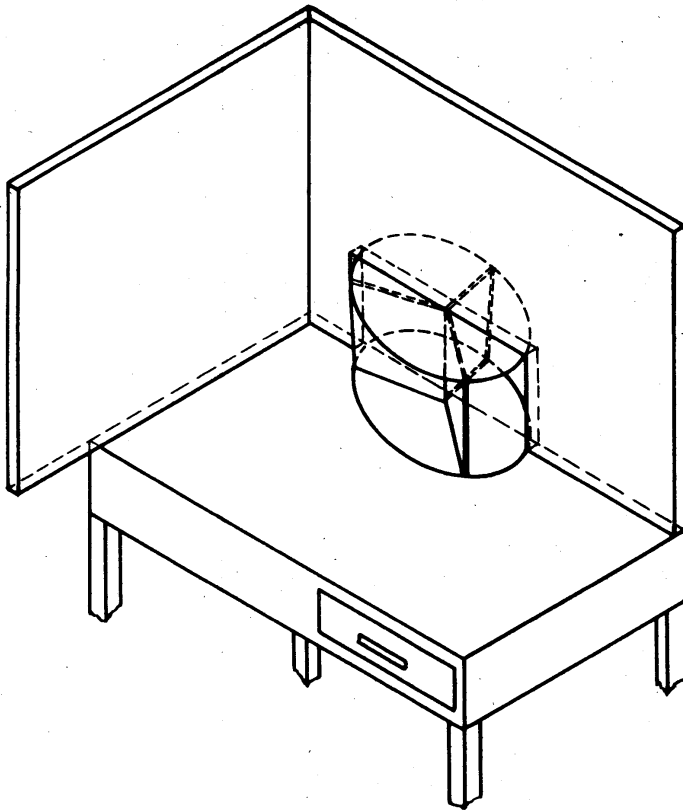
Σχήμα 1



▼B

ΔΙΑΤΑΞΗ ΠΕΡΙΣΤΡΕΦΟΜΕΝΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥ-
ΣΙΑΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

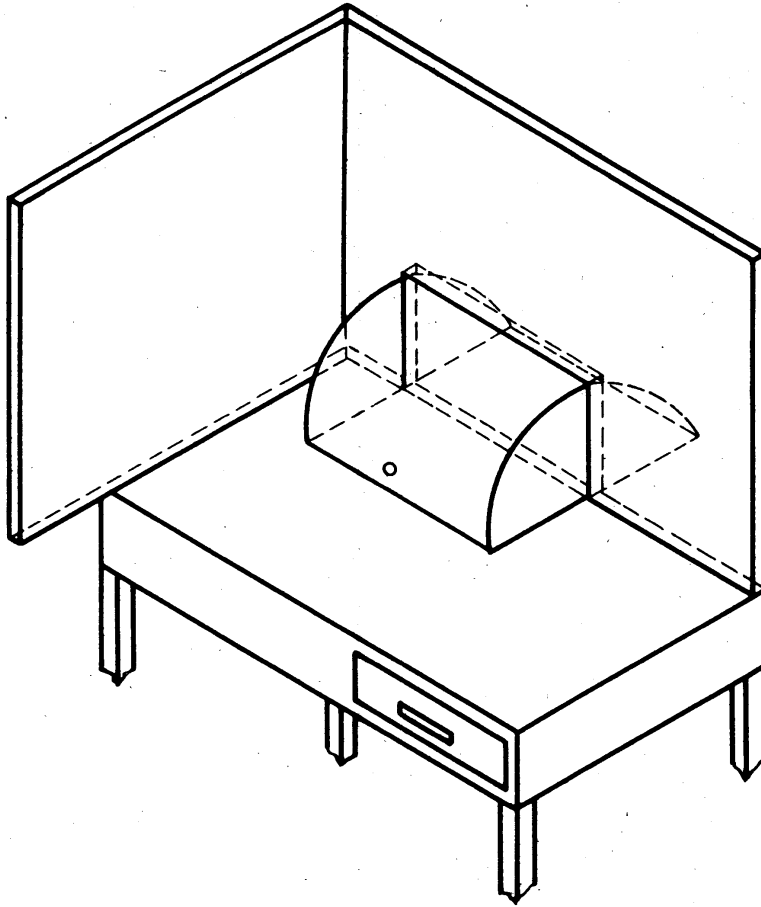
Σχήμα 2



▼B

«ΠΑΣΟ» ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Σχήμα 3

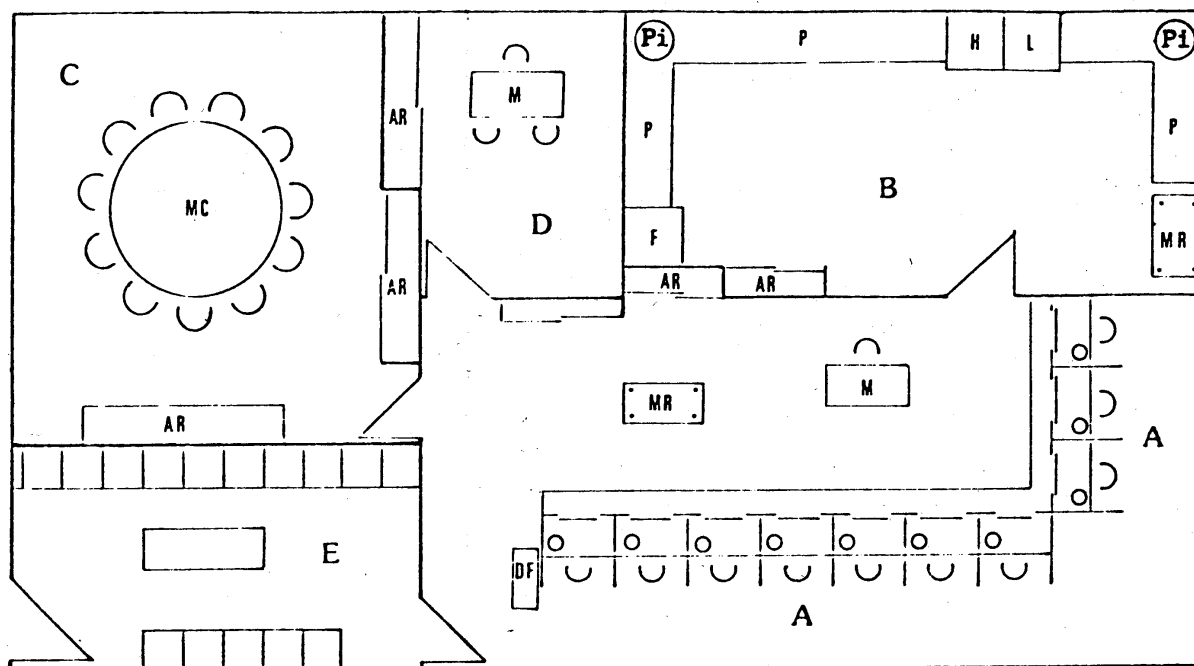


▼B

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

Σχήμα 4

Παράδειγμα μιας αίθουσας πρόγευσης



- A: Θάλαμος
- B: Αίθουσα καθαρισμού του υλικού και προετοιμασίας των δειγμάτων
- C: Αίθουσα για δοκιμή σε ανοιχτή εξεταστική επιτροπή
- D: Γραφείο
- E: Αίθουσα αναμονής
- F: Ψυγείο
- H: Κλιβανος-φούρνος
- L: Πλυντήριο πιάτων
- Pi: Νεροχύτης
- AR: Ντουλάπι
- MR: Βοηθητικό κυλιόμενο τραπέζι
- DF: Διανομή εντύπων
- MC: Στρογγυλό τραπέζι
- M: Τραπέζι
- P: Πάγκος

▼B

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ XIII

▼M6

ΕΞΟΥΔΕΤΕΡΩΣΗ ΚΑΙ ΑΠΟΧΡΩΜΑΤΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ

▼B

1. ΕΞΟΥΔΕΤΕΡΩΣΗ ΚΑΙ ΑΠΟΧΡΩΜΑΤΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ

1.1. Α. Εξουδετέρωση του ελαίου

1.1.1. Εξοπλισμός

- γυάλινο ποτήρι 300 ml υψηλού σχήματος,
- εργαστηριακή φυγόκεντρος με σωλήνες των 100 ml.
- γυάλινο ποτήρι των 250 ml.
- σφαιρικές φιάλες των 100 ml.
- διαχωριστική χοάνη ενός λίτρου.

1.1.2. Αντιδραστήρια

- υδατικό διάλυμα 12 % υδροξειδίου του νατρίου,
- αιθανολικό διάλυμα 1 % φαινολοφθαλεΐνης,
- εξάνιο καθαρό, p.a.,
- ισοπροπυλική αλκοόλη p.a.

1.1.3. Τρόπος εργασίας

- α) Έλαια οξύτητας ►C1 εκπεφρασμένης ◀ σε ελαϊκό οξύ μέχρι 30 %.

Τοποθετούμε 50 g ακατεργάστου ελαίου μέσα σε υψηλό ποτήριo ζέσεως των 300 ml και θερμαίνουμε σε υδρόλουτρο μέχρι τους 65 °C. Αναδεύοντας αργά, προσθέτουμε ποσότητα διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου 12 % αντιστοιχούσα στην ελεύθερη οξύτητα του ελαίου, με περίσσεια 5 %. Συνεχίζουμε την ανάδευση για πέντε λεπτά διατηρώντας τη θερμοκρασία στους 65 °C.

Μεταφέρουμε το μείγμα στους δοκιμαστικούς σωλήνες της φυγόκεντρος των 100 ml, και διαχωρίζουμε το σαπούνι με φυγόκεντρωση. Αποχύνουμε και μεταγγίζουμε το έλαιο σε ποτήρι ζέσεως των 250 ml, το ξεπλένουμε με 50 έως 60 ml ζέοντος απεσταγμένου ύδατος, απομακρύνοντας συγχρόνως τη στοιβάδα του ύδατος με σιφόνιο. Επαναλαμβάνουμε τις εκπλύσεις μέχρις ότου εξαφανισθούν τα ίχνη υπολειμμάτων σάπωνος (εξαφάνιση της ροδαλής χροιάς της φαινολοφθαλεΐνης).

Φυγοκεντρούμε το έλαιο προκειμένου να απομακρύνουμε τις απομένουσες μικρές ποσότητες νερού.

- β) Έλαια οξύτητας εκπεφρασμένης σε ελαϊκό οξύ άνω του 30 %

Εντός διαχωριστικής χοάνης του ενός λίτρου διαβιβάζουμε 50 g ακατεργάστου ελαίου, 200 ml εξάνιου, 100 ml ισοπροπυλικής αλκοόλης και ποσότητα διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου 12 % αντιστοιχούσα στην ελεύθερη οξύτητα του ελαίου με περίσσεια 0,3 %.

Αναδεύουμε ισχυρά για ένα λεπτό. Προσθέτουμε 100 ml απεσταγμένου ύδατος, αναταράσσουμε εκ νέου και αφήνουμε να ηρεμήσει.

Μετά τον διαχωρισμό των στοιβάδων, αφήνουμε να εκχυθεί η καλύτερη στοιβάδα, που περιέχει τους σάπωνες. Μεταξύ των δύο στοιβάδων (ελαιώδης προς τα άνω και υδατίνη προς τα κάτω) δημιουργείται συχνά μια ενδιάμεση στοιβάδα από μικηλίωμα και αδιάλυτα συστατικά η οποία πρέπει επίσης να απομακρυνθεί.

1.2. Β. Αποχρωματισμός του εξουδετερωμένου ελαίου

1.2.1. Εξοπλισμός

- σφαιρική φιάλη των 250 ml με τρεις λαιμούς εσφυρισμένους για την τοποθέτηση:
 - α) θερμομέτρου βαθμολογημένου σε βαθμούς και επιτρεπόντος τη λήψη ενδείξεων μέχρι τους 90 °C.

▼B

- β) μηχανικού αναδευτήρα πραγματοποιούντος 250 έως 300 στροφές το λεπτό, καταλλήλου για εργασία εν κενώ·
 - γ) συνδέσεως με αντλία κενού.
- αντλία κενού εφοδιασμένη με μανόμετρο, δυναμένη να δώσει πιέσεις 15 έως 30 millibars.

1.2.2. Τρόπος εργασίας

Ζυγίζουμε περίπου 100 g εξουδετερωθέντος ελαίου έντος της τριλάιμου σφαιρικής φιάλης. Εισάγουμε το θερμόμετρο και τον αναδευτήρα, συνδέουμε την αντλία κενού και θερμαίνουμε στους 90 °C αναδεύοντας συνεχώς. Διατηρούμε τη θερμοκρασία αυτή, πάντα υπο ανάδευση, μέχρις ότου το προς ανάλυση έλαιο απαλλαγεί πλήρως, από την υγρασία, (περίπου για 30 λεπτά). Τότε διακόπτουμε το κενό και προσθετούμε 2 έως 3 g ενεργού γης. Αποκαθιστούμε το κενό έως ότου η παραμένουσα πίεση φθάσει τα 15 έως 30 millibars και, διατηρώντας τη θερμοκρασία στους 90 °C αναδεύουμε επί τριάντα λεπτά με 250 στροφές ανά λεπτό περίπου.

Εν συνεχεία διηθούμε εν θερμώ εντός κλιβάνου ρυθμιζομένης θερμοκρασία (50 έως 60 °C).

▼ M6

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ XIV

ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ 2, 3 ΚΑΙ 4 ΤΟΥ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ 15 ΤΗΣ ΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΗΣ ΟΝΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑΣ

2. Α. Στις κλάσεις ΣΟ 1509 και 1510 δεν υπάγονται παρά τα έλαια τα οποία παράγονται αποκλειστικώς δι' επεξεργασίας ελαιών και των οποίων τα αναλυτικά χαρακτηριστικά σε ό,τι αφορά την περιεκτικότητα σε λιπαρά οξέα και σε στερόλες έχουν ως εξής:

Πίνακας I: Περιεκτικότητα σε λιπαρά οξέα ως εκατοστιαία αναλογία επί του συνόλου των λιπαρών ουσιών		Πίνακας II: Περιεκτικότητα σε στερόλες ως εκατοστιαία αναλογία επί του συνόλου των στερολών	
Μυριστικό οξύ	M 0,1	Χοληστερόλη	M 0,5
Λινολενικό οξύ	M 0,9	Βρασικαστερόλη	M 0,2
Αραχινικό οξύ	M 0,7	Καμπεστερόλη	M 4,0
Εικοσανικό οξύ	M 0,5	Στιγμαστερόλη (¹)	< Καμπεστερόλη
Βεχενικό οξύ	M 0,3	Σιτοστερόλη (²)	m 93,0
Λιγνοκηρικό οξύ	M 0,5	δ-7-στιγμαστερόλη	M 0,5

m = ελάχιστο ποσοστό

M = μέγιστο ποσοστό

(¹) Ο όρος αυτός δεν ισχύει για τα μειονεκτικά παρθένα ελαιόλαδα (διάκριση 1509 10 10) και για τα ακατέργαστα πυρηνέλαια (διάκριση 1510 00 10).

(²) δ-5, 23-στιγμασταδιενόλη + κλεροστερόλη + β-σιτοστερόλη + σιτοστανόλη + δ-5-αβεναστερόλη + δ-5, 24-στιγμασταδιενόλη.

Δεν υπάγονται στις κλάσεις ΣΟ 1509 και 1510 τα ελαιόλαδα τα χημικώς μετουσιωμένα (κυρίως τα αναστεροποιημένα ελαιόλαδα) και τα μείγματα ελαιολάδου με άλλα έλαια. Η παρουσία αναστεροποιημένου ελαιολάδου ή άλλων ελαιολάδων εντοπίζεται με τη βοήθεια των μεθόδων που περιγράφονται στα παραρτήματα V, VII, X A και X B του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91.

- B. Στη διάκριση 1509 10 δεν υπάγονται παρά τα ελαιόλαδα τα οποία ορίζονται υπό I και II στη συνέχεια και τα οποία παράγονται αποκλειστικώς με μηχανικές μεθόδους ή με άλλες φυσικές μεθόδους υπό συνθήκες, θερμικές κυρίως, που δεν προκαλούν αλλοίωση του ελαίου και τα οποία δεν έχουν υποστεί άλλη επεξεργασία εκτός από πλύσιμο, στράγγιση, φυγοκέντρηση και διήθηση. Τα ελαιόλαδα που λαμβάνονται από τις ελιές με τη βοήθεια διαλυτών υπάγονται στην κλάση ΣΟ 1510.

I. Θεωρείται ως «μειονεκτικό παρθένο ελαιόλαδο» κατά την έννοια της διάκρισης 1509 10 10 και ανεξαρτήτως οξύτητας, το έλλαιο το οποίο έχει:

- α) περιεκτικότητα σε ► M9 κηροί ◀ μη υπερβαίνουσα τα ► M9 350 ◀ mg/kg·
- β) περιεκτικότητα σε ερυθροδιόλη και ουβαόλη όχι μεγαλύτερη από 4,5 %·
- γ) περιεκτικότητα σε κορεσμένα λιπαρά οξέα στη θέση 2 των τριγλυκεριδίων όχι μεγαλύτερη από 1,3 %·
- δ) συνολική περιεκτικότητα σε trans ισομερή του ελαϊκού οξέος μικρότερη από 0,10 % και συνολική περιεκτικότητα σε trans ισομερή του λιγνελικού και του λινολενικού οξέος μικρότερη από 0,10 %·
- ε) και ένα ή περισσότερα από τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:
 1. αριθμό υπεροξειδίου μεγαλύτερο από 20 χιλιοστοϊσοδύναμα ενεργού οξυγόνου ανά χιλιόγραμμα·
 2. συνολική περιεκτικότητα σε πτητικούς αλογονωμένους διαλύτες μεγαλύτερη από 0,2 mg/kg ή μεγαλύτερη από 0,1 mg/kg σε ένα τουλάχιστον εξ αυτών·
 3. συντελεστή αποσβέσεως K_{270} μεγαλύτερο από 0,25 και, μετά από διαβίβαση του ελαίου υπεράνω ενεργοποιηθείσας αλουμίνας, όχι μεγαλύτερο από 0,11· πράγματι, ορισμένα έλαια με περιεκτικότητα σε ελεύθερα λιπαρά οξέα, εκφραζόμενη ως περιεκτικότητα σε ελαϊκό οξύ,

▼ **M6**

μεγαλύτερη από 3,3 g ανά 100 g μπορούν, μετά από διαβίβαση υπεράνω ενεργοποιηθείσας αλουμίνας, και σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται στο παράρτημα IX του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91, να έχουν συντελεστή αποσβέσεως K_{270} μεγαλύτερο από 0,10· σ' αυτήν την περίπτωση, μετά από εξουδετέρωση και αποχρωματισμό που πραγματοποιούνται στο εργαστήριο σύμφωνα με τη μέθοδο του παραρτήματος XIII του εν λόγω κανονισμού, τα έλαια αυτά πρέπει να έχουν τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

- συντελεστή αποσβέσεως K_{270} όχι μεγαλύτερο από 1,20,
- μεταβολή (ΔK) του συντελεστή αποσβέσεως στην περιοχή των 270 nm μεγαλύτερη από 0,01 και όχι μεγαλύτερη από 0,16, ήτοι:

$$\Delta K = K_m - 0,5 (K_{m-4} + K_{m+4}) \text{ όπου:}$$

K_m = ο συντελεστής αποσβέσεως στο μήκος κύματος του μέγιστου της καμπύλης απορρόφησης στην περιοχή των 270 nm και

K_{m-4} και K_{m+4} = οι συντελεστές αποσβέσεως σε μήκη κύματος τα οποία είναι, το μιν κατά 4 nm μικρότερο το δε κατά 4 nm μεγαλύτερο του αντίστοιχου προς το συντελεστή K_m .

4. οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τα οποία αποκαλύπτουν μειονεκτήματα που γίνονται αντιληπτά με ένταση μεγαλύτερη εκείνης που αντιστοιχεί στο όριο ανοχής και με αποτέλεσμα οργανοληπτικής ανάλυσης μικρότερο από 3,5 σύμφωνα με το παράρτημα XII του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91.

II. Θεωρείται ως «άλλου τύπου παρθένο ελαιόλαδο» κατά την έννοια της διάκρισης 1509 10 90, το ελαιόλαδο που έχει:

- α) οξύτητα, εκφραζόμενη ως περιεκτικότητα σε ελαϊκό οξύ, μη υπερβαίνουσα τα 3,3 g/100 g·
 - β) αριθμό υπεροξειδίου όχι μεγαλύτερο από 20 χιλιοστοίσοδυναμα ενεργού οξυγόνου ανά χιλιόγραμμα·
 - γ) περιεκτικότητα σε ► **M9** κηροί ◀ μη υπερβαίνουσα τα ► **M9** 250 ◀ mg/kg·
 - δ) συνολική περιεκτικότητα σε πτητικούς αλογονωμένους διαλύτες όχι μεγαλύτερη από 0,2 mg/kg και όχι μεγαλύτερη από 0,1 mg/kg σε ένα έκαστο εξ αυτών·
 - ε) συντελεστή αποσβέσεως K_{270} όχι μεγαλύτερο από 0,25 και, μετά από διαβίβαση του ελαιολάδου υπεράνω ενεργοποιηθείσας αλουμίνας, όχι μεγαλύτερο από 0,10·
- στ) μεταβολή (ΔK) του συντελεστή αποσβέσεως στην περιοχή των 270 nm όχι μεγαλύτερη από 0,01·
- ζ) οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τα οποία αποκαλύπτουν μειονεκτήματα που γίνονται αντιληπτά με ένταση μικρότερη εκείνης που αντιστοιχεί στο όριο ανοχής και με αποτέλεσμα οργανοληπτικής ανάλυσης μεγαλύτερο ή ίσο του 3,5 σύμφωνα με το παράρτημα XII του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91·
 - η) περιεκτικότητα σε ερυθροδιόλη και ουβαόλη όχι μεγαλύτερη από 4,5 %·
 - θ) περιεκτικότητα σε κορεσμένα λιπαρά οξέα στη θέση 2 των τριγλυκεριδίων όχι μεγαλύτερη από 1,3 %·
 - ι) συνολική περιεκτικότητα σε trans ισομερή του ελαϊκού οξέος μικρότερη από 0,03 % και συνολική περιεκτικότητα σε trans ισομερή του λινελαϊκού και του λινολενικού οξέος μικρότερη από 0,03 %·

Γ. Υάγεται στη διάκριση 1509 90 00 το ελαιόλαδο το οποίο λαμβάνεται με επεξεργασία ελαιολάδων υπαγόμενων στις διακρίσεις 1509 10 10 ή/και 1509 10 90, έστω και αναμειγμένο με παρθένο ελαιόλαδο, και το οποίο έχει:

- α) οξύτητα εκφραζόμενη ως περιεκτικότητα σε ελαϊκό οξύ, μη υπερβαίνουσα τα 3,3 g/100 g·

▼ **M6**

β) περιεκτικότητα σε ► **M9** κηροί ◀ μη υπερβαίνουσα τα 300 mg/kg·

▼ **M9**

γ) συντελεστή αποσβέσεως K_{270} όχι υψηλότερο του 1,20·
 δ) διακύμανση του συντελεστή αποσβέσεως (ΔΚ) στην περιοχή των 270 nm όχι υψηλότερη του 0,16·

▼ **M6**

ε) περιεκτικότητα σε ερυθροδιόλη και ουβαόλη όχι μεγαλύτερη από 4,5 %·
 στ) περιεκτικότητα σε κορεσμένα λιπαρά οξέα στη θέση 2 των τριγλυκεριδίων όχι μεγαλύτερη από 1,5 %·
 ζ) συνολική περιεκτικότητα σε trans ισομερή του ελαϊκού οξέος μικρότερη από 0,20 % και συνολική περιεκτικότητα σε trans ισομερή του λινελαϊκού και του λινολενικού οξέος μικρότερη από 0,30 %·

Δ. Θεωρούνται ως «ακατέργαστα ελαιόλαδα» κατά την έννοια της διάκρισης 1510 00 10, τα ελαιόλαδα, κυρίως δε τα πυρηνέλαια, τα οποία έχουν:

- α) οξύτητα, εκφραζόμενη ως περιεκτικότητα σε ελαϊκό οξύ, ίση ή μεγαλύτερη από 2 g/100 g·
- β) περιεκτικότητα σε ερυθροδιόλη και ουβαόλη ίση ή μεγαλύτερη από 1,8 %·
- γ) περιεκτικότητα σε κορεσμένα λιπαρά οξέα στη θέση 2 των τριγλυκεριδίων όχι μεγαλύτερη από 1,8 %·
- δ) συνολική περιεκτικότητα σε πτητικούς αλογονωμένους διαλύτες όχι μεγαλύτερη από 0,2 mg/kg και όχι μεγαλύτερη από 0,1 mg/kg

Ε. Υπάγονται στη διάκριση 1510 00 90 τα ελαιόλαδα που λαμβάνονται με επεξεργασία ελαιολάδων υπαγόμενων στη διάκριση 1510 00 10, έστω και αναμειγμένα με παρθένο ελαιόλαδο, καθώς και τα ελαιόλαδα που δεν παρουσιάζουν τα χαρακτηριστικά των ελαιολάδων για τα οποία ο λόγος στις συμπληρωματικές σημειώσεις 2 Β, 2 Γ και 2 Δ. Τα ελαιόλαδα της εν λόγω διάκρισης πρέπει να έχουν περιεκτικότητα σε κορεσμένα λιπαρά οξέα στη θέση 2 των τριγλυκεριδίων που να μην υπερβαίνει το 2 % συνολική περιεκτικότητα σε trans ισομερή του ελαϊκού οξέος που να μην υπερβαίνει το 0,40 % και συνολική περιεκτικότητα σε trans ισομερή του λινελαϊκού και του λινολενικού οξέος μικρότερη από 0,35 %.

3. Δεν υπάγονται στις διακρίσεις 1522 00 31 και 1522 00 39:

- α) τα υπολείμματα τα προερχόμενα από επεξεργασία λιπαρών σωμάτων περιεχόντων ελαιόλαδο του οποίου ο δείκτης ιωδίου, προσδιοριζόμενος σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται στο παράρτημα XVI του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91 είναι μικρότερος από 70 ή μεγαλύτερος από 100·
- β) τα υπολείμματα τα προερχόμενα από την επεξεργασία λιπαρών σωμάτων περιεχόντων ελαιόλαδο του οποίου ο δείκτης ιωδίου περιλαμβάνεται μεταξύ 70 και 100 και του οποίου όμως το εμβαδόν της καμπύλης με το χρόνο κατακράτησης της β-σιτοστερόλης⁽¹⁾, προσδιοριζόμενο σύμφωνα με το παράρτημα V του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91, είναι μικρότερο από 93 % του συνολικού εμβαδού των καμπυλών των στερολών.

4. Οι μέθοδοι ανάλυσης που πρέπει να ακολουθούνται για τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών των προϊόντων για τα οποία ο λόγος στα προηγούμενα είναι οι προβλεπόμενες στα παραρτήματα του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91.

⁽¹⁾ δ-5,23-στιγμασταδιενόλη + κλεροστερόλη ► **C2** + β-σιτοστερόλη ◀ + σιτοστανόλη + δ-5-αβεναστερόλη + δ-5,24-στιγμασταδιενόλη.



ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ XV

1. ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΕ ΕΛΑΙΟ ΤΩΝ ΕΛΑΙΟΠΥΡΗΝΩΝ

1.1. Εξοπλισμός

- κατάλληλη συσκευή εκχυλίσεως εφοδιασμένη με σφαιρική φιάλη των 200 έως 250 ml,
- λουτρό ηλεκτρικής θερμάνσεως (αμμόλουτρο, υδρόλουτρο κ.λπ.) θερμαινόμενη πλάκα,
- αναλυτικός ζυγός,
- φούρνος ρυθμισμένος στους 80 °C το μέγιστο,
- φούρνος ηλεκτρικής θερμάνσεως εφοδιασμένος με θερμοστατικό μηχανήμα, ρυθμισμένος στους 103 ± 2 °C με μηχανισμό εμφύσεως αέρος ή μειώσεως της πίεσεως,
- μηχανικός μύλος εύκολα καθαριζόμενος, που να επιτρέπει τη σύνθλιψη, χωρίς να επιφέρει ανύψωση της θερμοκρασίας ή αισθητή μεταβολή της περιεκτικότητας σε υγρασία και έλαιο,
- ►C1 φύσιγγα εκχυλίσεως και υδρόφιλος βάμβαξ ◄ ή διηθητικός χάρτης, απαλλαγμένα συστατικών εκχυλιζομένων με το εξάνιο,
- ξηραντήρας,
- κόσκινο διαμέτρου οπών 1 mm,
- μικρά τεμαχίδια ξηρανθείσης ελαφρόπετρας.

1.2. Αντιδραστήρια

Κανονικό εξάνιο (technical grade), το οποίο μετά από πλήρη εξάτμιση να αφήνει υπόλειμμα το πολύ 0,002 g ανά 100 ml.

2. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

2.1. Παρασκευή του δείγματος δοκιμής

Αλέθουμε το εργαστηριακό δείγμα εάν παρίσταται ανάγκη, με μηχανικό μύλο, καλά καθαρισμένο, ώστε να λάβουμε τεμάχια που να δύνανται να διέλθουν από το κόσκινο.

Χρησιμοποιούμε το εικοστό περίπου του δείγματος για τον πλήρη καθαρισμό του μύλου, απορρίπτουμε το άλεσμα αυτό, αλέθουμε την υπόλοιπη ποσότητα, τη συλλέγουμε, την αναμειγνύουμε προσεκτικά και την αναλύουμε αμέσως.

2.2. Ποσότης δοκιμής

Μόλις ολοκληρωθεί η εργασία λειοτριβήσεως, ζυγίζουμε 10 g του δείγματος δοκιμής με ακρίβεια 0,01 g.

2.3. Προετοιμασία των εκχυλιστικών δακτυλίων (cartouche)

Τοποθετούμε το δείγμα δοκιμής εντός του δακτύλιου και πωματίζουμε με ►C1 υδρόφιλο βάμβακα ◄. Αν χρησιμοποιείται διηθητικός χάρτης, το άλεσμα τυλίγεται μέσα σ' αυτόν.

2.4. Προκαταρκτική ξήρανση

Αν ο ελαιοπυρήνας είναι πολύ υγρός (παραδείγματος χάρη περιεκτικότητα σε υγρασία και πτητικές ύλες άνω του 10 %), ξηραίνουμε αυτόν προκαταρκτικώς διά τοποθετήσεως του ετοιμού δακτυλίου (ή του διηθητικού χάρτου) επί τι χρονικό διάστημα μέσα σε φούρνο θερμανθέντα σε θερμοκρασία όχι ανώτερη των 80 °C γιά να ελαττώσουμε την περιεκτικότητα σε υγρασία και πτητικές ύλες κάτω του 10 %.

2.5. Προετοιμασία της σφαιρικής φιάλης

Ζυγίζουμε, με ακρίβεια 1 mg, φιάλη περιέχουσα ένα ή δύο τεμαχίδια ελαφρόπετρας, προηγουμένως ξηρανθείσα μέσα σε φούρνο στους 103 ± 2 °C και εν συνεχεία ψυχθείσα μέσα σε ξηραντήρα γιά διάστημα τουλάχιστον μίας ώρας.

▼B

2.6. Πρώτη εκχύλιση

Μέσα στη συσκευή εκχυλίσεως εισάγουμε ►C1 τη φύσιγγα ◀ (ή το διηθητικό χάρτη) που περιέχει την ποσότητα δοκιμής. Χύνουμε εντός της σφαιρικής φιάλης την απαραίτητη ποσότητα εξανίου. Συνδέουμε τη φιάλη με τη συσκευή εκχυλίσεως και το σύνολο τοποθετείται στο ηλεκτρικά θερμαινόμενο λουτρό. Ρυθμίζουμε τη θέρμανση κατά τέτοιο τρόπο ώστε η ταχύτης επαναρροής να είναι τουλάχιστον 3 σταγόνες το δευτερόλεπτο (βρασμός μέτριος, όχι ισχυρός).

Μετά τέσσερις ώρες εκχυλίσεως ψύχουμε. Απομακρύνουμε ►C1 τη φύσιγγα ◀ από τη συσκευή εκχυλίσεως και το θέτουμε σε ρεύμα αέρος για να απομακρύνουμε τον εμποτισθέντα διαλύτη.

2.7. Δεύτερη εκχύλιση

Αδειάζουμε ►C1 τη φύσιγγα ◀ εντός μικρο-αλεστήρος και αλέθουμε σε όσο το δυνατό λεπτότερα τεμάχια. Επαναφέρουμε το μείγμα πάλι μέσα ►C1 στη φύσιγγα ◀ ποσοτικά και τοποθετούμε το δακτύλιο μέσα στη συσκευή εκχυλίσεως.

Συνεχίζουμε την εκχύλιση για δύο επιπλέον ώρες, χρησιμοποιώντας την ίδια σφαιρική φιάλη που περιέχει το πρώτο εκχύλισμα.

Το λαμβανόμενο στη φιάλη εκχυλίσεως διάλυμα πρέπει να είναι διαυγές. Αν δεν είναι, το διηθούμε με διηθητικό χάρτη και ξεπλένουμε την αρχική φιάλη και το διηθητικό χάρτη αρκετές φορές με εξάνιο. Συλλέγουμε το διήθημα και το διάλυτη της πλύσεως εντός δευτέρας σφαιρικής φιάλης, η οποία έχει προηγουμένως ξηρανθεί και ζυγισθεί με ακρίβεια 1 mg.

2.8. Απομάκρυνση του διαλύτου και ζύγιση του εκχυλίσματος

Απομακρύνουμε το μεγαλύτερο μέρος του διαλύτου δι' αποστάξεως επί ηλεκτρικώς θερμαινόμενου λουτρού. Απομακρύνουμε τα τελευταία ίχνη του διαλύτου θερμαίνοντας τη φιάλη μέσα σε φούρνο στους $103 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ για 20 λεπτά. Διευκολύνουμε την απομάκρυνση αυτή είτε δι' εμφυσήσεως, κατά διαλείμματα αέρος, ή προτιμότερο αδρανούς αερίου, είτε διά μειώσεως της πίεσεως.

Αφήνουμε τη φιάλη να ψυχθεί μέσα σε ξηραντήρα επί μια τουλάχιστον ώρα και ζυγίζουμε με ακρίβεια 1 mg.

Θερμαίνουμε εκ νέου για 10 λεπτά με τις ίδιες συνθήκες, ψύχουμε μέσα στον ξηραντήρα και ζυγίζουμε.

Η διαφορά μεταξύ των δύο ζυγίσεων δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 10 mg. Αν όχι, θερμαίνουμε εκ νέου για διάστημα 10 λεπτών, ψύχουμε και ζυγίζουμε, επαναλαμβάνοντας την εργασία μέχρις ότου η διαφορά βάρους μεταξύ δύο ζυγίσεων να μην είναι μεγαλύτερη από 10 mg. Λαμβάνουμε υπόψη την τελευταία ζύγιση της φιάλης.

Εκτελούμε δύο προσδιορισμούς επί του αυτού δείγματος δοκιμής.

3. ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

3.1. Τρόπος υπολογισμού και τύπος

α) Το εκχύλισμα εκπεφρασμένο επί τοις εκατό κατά μάζα του προϊόντος ως έχει, ισούται με:

$$S = m_1 \times \frac{100}{m_0}$$

όπου:

S = είναι το ποσοστό επί τοις % κατά μάζα του εκχυλίσματος του προϊόντος ως έχει,

m_0 = είναι η μάζα, σε γραμμάρια, της ποσότητας δοκιμής,

m_1 = είναι η μάζα, σε γραμμάρια, του εκχυλίσματος μετά την ξήρανση.

Λαμβάνουμε ως αποτέλεσμα τον αριθμητικό μέσο όρο των δύο προσδιορισμών εφόσον πληρούνται οι προϋποθέσεις επαναληπτικότητας.

Εκφράζουμε το αποτέλεσμα με ένα δεκαδικό ψηφίο.

▼B

β) Το εκχύλισμα ανάγεται επί ξηράς ουσίας με τον ακόλουθο τύπο:

$$S \times \frac{100}{100 - U} = \text{εκχύλισμα επί τοις εκατό λιπαρό ξηρό.}$$

όπου:

S = είναι το ποσοστό κατά μάζα του εκχυλίσματος του προϊόντος ως έχει [βλέπε στοιχείο α)],

U = είναι η περιεκτικότητα σε υγρασία και πτητικές ύλες.

3.2. Επαναληπτικότητα

Η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων των δύο προσδιορισμών, οι οποίοι πραγματοποιούνται συγχρόνως ή ταχέως ο ένας μετά τον άλλο από τον ίδιο αναλύτη, δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 0,2 g εκχυλίσματος εξανίου ανά 100 g δείγματος.

Σε αντίθετη περίπτωση, επαναλαμβάνουμε την ανάλυση με δύο άλλες ποσότητες δοκιμής. Αν και πάλι η διαφορά υπερβαίνει τα 0,2 g, λαμβάνουμε ως αποτέλεσμα τον αριθμητικό μέσο όρο των τεσσάρων πραγματοποιηθέντων προσδιορισμών.



ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ XVI

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΑΡΙΘΜΟΥ ΙΩΔΙΟΥ

1. ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

► C1 Η διεθνής αυτή προδιαγραφή περιγράφει ◀ μέθοδο προσδιορισμού του αριθμού ιωδίου στα ζωικά και φυτικά λίπη και έλαια το οποία αναφέρονται στο εξής ως λιπαρές ουσίες.

2. ΟΡΙΣΜΟΣ

► C1 Για τους σκοπούς της παρούσης διεθνούς προδιαγραφής ◀ εφαρμόζεται ο ακόλουθος ορισμός:

2.1. Αριθμός ιωδίου· η μάζα του ιωδίου που απορροφάται από το δείγμα υπό τις συνθήκες εργασίας που καθορίζονται στο παρόν διεθνές πρότυπο.

Ο αριθμός ιωδίου εκφράζεται σε γραμμάρια ιωδίου ανά 100 g δείγματος.

3. ΑΡΧΗ

Διάλυση του δείγματος στο διαλύτη και προσθήκη αντιδραστήριου Wijs. Προσθήκη μετά την πάροδο καθορισμένου χρόνου διαλύματος ιωδιούχου καλίου και νερού και τιτλοδότηση του ιωδίου που ελευθερώθηκε με διάλυμα θειοθειικού νατρίου.

4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι ανεγνωρισμένης αναλυτικής καθαρότητας.

4.1. Ιωδιούχο κάλιο, διάλυμα 100 g/l, απαλλαγμένο ιωδικών ιόντων ή ελευθέρου ιωδίου.

4.2. Διάλυμα αμύλου

Αναμειγνύονται 5 g διαλυτού αμύλου με 30 ml ύδατος, το μείγμα διαλύεται με 1 000 ml ζέοντος ύδατος, ζέεται επί 3 λεπτά και αφήνεται να ψυχθεί.

4.3. Θειοθειικό νάτριο, πρότυπο διάλυμα C ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) = 0,1 mol/l, το οποίο έχει τιτλοδοτηθεί το πολύ 7 ημέρες πριν από τη χρήση.

4.4. Διαλύτης, για την παρασκευή του οποίου αναμείχθηκαν ίσοι όγκοι κυκλοεξανίου και οξικού οξέος.

4.5. Αντιδραστήριο Wijs, ήτοι διάλυμα μονοχλωριούχου ιωδίου σε οξικό οξύ. Χρησιμοποιείται αντιδραστήριο Wijs του εμπορίου.

Σημείωση: Το αντιδραστήριο περιέχει 9 g ICl_3 + 9 g I σε οξικό οξύ.

5. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΟΡΓΑΝΑ ΚΑΙ ΣΚΕΥΗ

Συνήθη εργαστηριακά όργανα και σκεύη και ιδίως τα κατωτέρω:

5.1. Γυάλινα κοχλιάρια ζυγίσεως κατάλληλα για την ελεγχόμενη ποσότητα και για την εισαγωγή της στις φιάλες (5.2).

5.2. Κωνικές φιάλες χωρητικότητας 500 ml με εσφυρισμένα πόματα και τελείως ξηρές.

6. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΠΡΟΣ ΑΝΑΛΥΣΗ

Το ομογενοποιημένο δείγμα ξηραίνεται με θειικό νάτριο και διηθείται.

7. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

7.1. Βάρος δείγματος

Το βάρος του δείγματος ποικίλλει ανάλογα με τον αναμενόμενο αριθμό ιωδίου όπως προκύπτει από τον πίνακα 1.



Πίνακας I

Αναμενόμενος αριθμός ιωδίου	Βάρος δείγματος (g)
μικρότερος από 5	3,00
5 έως 20	1,00
21 έως 50	0,40
51 έως 100	0,20
101 έως 150	0,13
151 έως 200	0,10

Το δείγμα ζυγίζεται με προσέγγιση 0,1 mg στο γυάλινο κοχλιάριο ζυγίσεως (5.1).

7.2. Ποσοτικός προσδιορισμός

Το ζυγισθέν δείγμα φέρεται σε κωνική φιάλη των 500 ml (5.2). Προστίθενται 20 ml διαλύτη (4.4) για τη διάλυση της λιπαράς ουσίας. Ακολούθως προστίθενται επακριβώς 25 ml αντιδραστηρίου Wijs (4.5), τοποθετείται το πάμα, η φιάλη ανακινείται και τοποθετείται σε σκοτεινό μέρος. Για τη λήψη του αντιδραστηρίου Wijs δεν πρέπει να χρησιμοποιηθεί σιφόνιο που απαιτεί αναρρόφηση με το στόμα.

Κατά τον ίδιο τρόπο παρασκευάζεται το τυφλό διάλυμα με διαλύτη και αντιδραστήριο αλλά χωρίς δείγμα.

Για τα δείγματα των οποίων η τιμή ιωδίου είναι μικρότερη από 150, οι φιάλες αφήνονται σε σκοτεινό μέρος επί 1 ώρα. Όταν πρόκειται για δείγματα με αριθμό ιωδίου μεγαλύτερο από 150 και για πολυμερισμένα προϊόντα ή προϊόντα με σημαντικό βαθμό οξειδωσης, οι φιάλες αφήνονται σε σκοτεινό μέρος επί 2 ώρες.

Μετά την πάροδο του απαιτούμενου χρόνου προστίθενται σε καθεμία από τις φιάλες 20 ml διαλύματος ιωδιούχου καλίου (4.1) και 150 ml νερού.

Ακολουθεί ογκομέτρηση με το πρότυπο διάλυμα θειοθειικού νατρίου (4.3) έως ότου εξαφανισθεί σχεδόν τελείως το κίτρινο χρώμα που οφείλεται στο ιώδιο. Προστίθενται λίγες σταγόνες διαλύματος αμύλου (4.2) και η ογκομέτρηση συνεχίζεται μέχρι την πρώτη εξαφάνιση του κυανού χρώματος μετά από ισχυρή ανάδευση.

Σημείωση: Ο ποτενσιομετρικός προσδιορισμός του τέλους της αντιδράσεως επιτρέπεται.

7.3. Αριθμός προσδιορισμών

Για κάθε δείγμα πραγματοποιούνται δύο ποσοτικοί προσδιορισμοί.

8. ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Ο αριθμός ιωδίου δίδεται από τον ακόλουθο τύπο:

$$\frac{12,69 \text{ c} (V_1 - V_2)}{m}$$

όπου:

c = η αριθμητική τιμή της ακριβούς συγκεντρώσεως, σε mol ανά λίτρο, του προτύπου διαλύματος θειοθειικού νατρίου (4.3) που χρησιμοποιήθηκε,

V₁ = η αριθμητική τιμή του όγκου, σε ml, του προτύπου διαλύματος θειοθειικού νατρίου (4.3) που χρησιμοποιήθηκε για την τυφλή δοκιμασία,

V₂ = η αριθμητική τιμή του όγκου, σε ml, του προτύπου διαλύματος θειοθειικού νατρίου (4.3) που χρησιμοποιήθηκε για τον ποσοτικό προσδιορισμό,

m = η αριθμητική τιμή της μάζας, σε g, του δείγματος (7.1).

Λαμβάνεται ως αποτέλεσμα ο αριθμητικός μέσος όρος των δύο προσδιορισμών, υπό την προϋπόθεση ότι τηρούνται οι απαιτήσεις όσον αφορά την επαναληψιμότητα.

▼ **M11***ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ XVII***ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΣΤΙΓΜΑΣΤΑΔΙΕΝΙΩΝ ΣΕ ΦΥΤΙΚΑ ΕΛΑΙΑ****1. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ**

Προσδιορισμός των στιγματαδιενίων σε φυτικά έλαια χαμηλής περιεκτικότητας στους εν λόγω υδρογονάνθρακες, κυρίως σε παρθένα ελαιόλαδα και σε ακατέργαστα πυρηνέλαια.

2. ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος είναι εφαρμόσιμη για όλα τα φυτικά έλαια, οι μετρήσεις όμως είναι αξιόπιστες μόνον όταν η περιεκτικότητα του ελαίου στους εν λόγω υδρογονάνθρακες περιλαμβάνεται μεταξύ των τιμών 0,01 και 4,0 mg/kg. Η μέθοδος προσφέρεται κυρίως για την ανίχνευση της παρουσίας εξευγενισμένων (ραφιναρισμένων) φυτικών ελαίων (ελαιολάδων, πυρηνελαίων, ηλιανθελαίων, φοινικελαίων, κ.λπ.) στο παρθένο ελαιόλαδο, αφού τα εξευγενισμένα έλαια περιέχουν στιγμασταδιένια ενώ τα παρθένα όχι.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Απομόνωση των ασαπωνοποίητων υλών, διαχωρισμός του κλάσματος στεροειδών υδρογονανθράκων με χρωματογραφία στήλης επί πηκτής διοξειδίου του πυριτίου (silica gel) και ανάλυση με αέριο χρωματογραφία τριχοειδούς στήλης.

4. ΣΥΣΚΕΥΕΣ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΑ

- 4.1. Φιάλες των 250 ml με επίπεδο πυθμένα κατάλληλες για χρήση με ψυκτήρα αναρροής.
- 4.2. Διαχωριστικές χοάνες των 500 ml.
- 4.3. Σφαιρικές φιάλες των 100 ml.
- 4.4. Περιστροφικός εξατμιστήρας.
- 4.5. Υάλινη στήλη χρωματογραφίας εσωτερικής διαμέτρου 1,5-2,0 cm και μήκους 50 cm, με στρόφιγγα Teflon και βύσμα από υαλοβάμβακα ή δίσκο από συντετηγμένο γυαλί στον πυθμένα. Για να ετοιμαστεί η στήλη silica gel, εισάγεται μέσα στην υάλινη στήλη εξάνιο μέχρι ύψους 5 cm περίπου και εν συνεχεία η στήλη πληρούται με υδαρές μείγμα silica gel και εξανίου (15 g σε 40 ml) το οποίο προστίθεται τμηματικά. Το περιεχόμενο της στήλης αφήνεται σε ηρεμία και η καθίζηση ολοκληρώνεται με ελαφρά ανατάραξη. Προστίθεται άνυδρο θειικό νάτριο μέχρι ύψους 0,5 cm περίπου και τέλος εκλούεται η περίσσεια εξανίου.
- 4.6. Χρωματογράφος αερίου με ανιχνευτή ιονισμού δια φλογός, split ή διάταξη έγχυσης εν ψυχρώ, ενσωματωμένη στη στήλη και κλίβανος προγραμματιζόμενης θερμοκρασίας με ακρίβεια ± 1 °C.
- 4.7. Τριχοειδής στήλη από τετηγμένο διοξείδιο του πυριτίου για αέριο χρωματογραφία (εσωτερικής διαμέτρου 0,25 ή 0,30 mm και μήκους 25 m), με επίστροφή από 5 % - φαινυλομεθυλοσιλικόνη πάχους 0,25 mm.

Σημείωση 1.

Μπορούν να χρησιμοποιηθούν και άλλες στήλες ανάλογης ή μικρότερης πολικότητας.

- 4.8. Καταγραφέας-ολοκληρωτής με δυνατότητα ολοκλήρωσης κοιλάδα προς κοιλάδα.
- 4.9. Μικροσύριγγα των 5-10 ml για αέριο χρωματογραφία με σκληρυμένη βελόνη.
- 4.10. Ηλεκτρικό θερμαντήρα ή εστία.

5. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας, εκτός εάν διευκρινίζεται διαφορετικά. Το χρησιμοποιούμενο νερό πρέπει να είναι απεσταγμένο ή τουλάχιστον ισοδύναμης καθαρότητας.

▼ **M11**

- 5.1. Εξάνιο ή μείγμα αλκανίων σημείου ζέσεως 65-70 °C, αποσταζόμενο σε αποστακτική ύλη.

Σημείωση 2.

Ο διαλύτης πρέπει να αποστάζεται ώστε να απομακρύνονται οι ξένες προσμείξεις.

- 5.2. Αιθανόλη 96 κ.ό.
5.3. Άνυδρο θειικό νάτριο.
5.4. Αλκοολικό διάλυμα υδροξειδίου του καλίου 10 %. Προστίθενται 10 ml ύδατος σε 50 g υδροξειδίου του καλίου, το διάλυμα αναδεύεται και εν συνεχεία αραιώνεται με αιθανόλη μέχρις όγκου 500 ml.

Σημείωση 3.

Το αλκοολικό διάλυμα ποτάσας γίνεται φαιόχρουν όσο παραμένει· γι' αυτό πρέπει να παρασκευάζεται σε ημερήσια βάση και να φυλάσσεται σε καλώς πωματισμένες σκούρες υάλινες φιάλες.

- 5.5. Silica gel 60 για χρωματογραφία στήλης, άνοιγμα βροχίδων 70-230 (αριθ. αναφ. Merck 7734 ή ανάλογος).

Σημείωση 4.

Η silica gel μπορεί συνήθως να χρησιμοποιείται απευθείας από το δοχείο χωρίς προηγούμενη επεξεργασία. Ωστόσο, μερικές παρτίδες ενδέχεται να παρουσιάσουν χαμηλού βαθμού δραστηριότητα με αποτέλεσμα κακής ποιότητας χρωματογραφικό διαχωρισμό. Σε τέτοιες περιπτώσεις, η επεξεργασία της silica gel πρέπει να γίνεται με τον ακόλουθο τρόπο: αποενεργοποιείται η silica gel με θέρμανση επί τέσσερις τουλάχιστον ώρες σε θερμοκρασία 550 °C. Μετά τη θέρμανση, τοποθετείται σε ξηραντήρα ενόσω ψύχεται, και εν συνεχεία μεταφέρεται σε πωματισμένη φιάλη. Προστίθεται 2 % ύδατος και η φιάλη αναταράσσεται μέχρις ότου δεν υπάρχουν πλέον σβόλοι, αλλά σκόνη που αιωρείται ελεύθερα.

Εάν από διάφορες παρτίδες silica gel ληφθούν χρωματογραφήματα με αλληλεπικαλυπτόμενες κορυφές, η επεξεργασία της πρέπει να γίνει κατά τον ανωτέρω περιγραφόμενο τρόπο. Μια άλλη λύση θα ήταν να χρησιμοποιηθεί silica gel 60 εξαιρετικής καθαρότητας (αριθ. αναφ. Merck 7754).

- 5.6. Μητρικό διάλυμα (200 ppm) χολησταδιενί-3,5-ου (Sigma, καθαρότητας 99 %) σε εξάνιο (10 mg σε 50 ml).
5.7. Πρότυπο διάλυμα (συγκεντρώσεως 20 ppm) χολησταδιενί-3,5-ου σε εξάνιο, λαμβανόμενο με αραιώση του ανωτέρω διαλύματος.

Σημείωση 5.

Διατηρούμενα σε θερμοκρασία κατώτερη των 4 °C, τα διαλύματα των σημείων 5.6 και 5.7 μπορούν να παραμείνουν αναλλοίωτα επί τέσσερις τουλάχιστον μήνες.

- 5.8. Διάλυμα n-εικοσιενεανενίου σε εξάνιο συγκεντρώσεως περίπου 100 ppm.
5.9. Φέρον αέριο για χρωματογραφία: ήλιο ή υδρογόνο καθαρότητας 99,9990 %.
5.10. Βοηθητικά αέρια για ανιχνευτή ιονισμού διά φλογός: υδρογόνο καθαρότητα 99,9990 % και καθαρισμένος αέρας.

6. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

6.1. Προετοιμασία των ασαπωνοποίητων υλών:

- 6.1.1. Ζυγίζονται $20 \pm 0,1$ g ελαίου μέσα σε φιάλη των 250 ml (σημείο 4.1), προστίθεται 1 ml πρότυπου διαλύματος χολησταδιενί-3,5-ου (20mg) και 75 ml αλκοολικού διαλύματος ποτάσας 10 %, συναρμολογείται ο ψυκτήρας αναρροής και ακολουθεί θέρμανση μέχρι ελαφρού βρασμού επί 30 λεπτά. Απομακρύνεται η φιάλη που περιέχει το δείγμα από τη θερμότητα και το διάλυμα αφήνεται να ψυχθεί ελαφρά (το διάλυμα δεν αφήνεται να ψυχθεί εντελώς γιατί τότε το δείγμα θα στερεοποιηθεί). Προστίθενται 100 ml ύδατος και το διάλυμα μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη (σημείο 4.2) με τη βοήθεια 100 ml εξανίου. Το μείγμα ανακινείται ζοηράς επί 30 δευτερόλεπτα και αφήνεται να ηρεμήσει μέχρι να σχηματισθούν οι στιβάδες.

▼ **M11***Σημείωση 6.*

Εάν σχηματισθεί γαλάκτωμα το οποίο διατηρείται, προστίθενται μικρές ποσότητες αιθανόλης.

- 6.1.2. Η υποκείμενη υδατική φάση μεταφέρεται σε δεύτερη διαχωριστική χοάνη και εκχυλίζεται εκ νέου με 100 ml εξανίου. Αφήνεται να εκκρύνει για μια ακόμη φορά η κατώτερη φάση και εκπλύνονται τα εκχυλίσματα εξανίου (συνδυαζόμενα σε μια άλλη διαχωριστική χοάνη) τρεις φορές με 100 ml μείγματος αιθανόλης-ύδατος (1: 1) κάθε φορά, μέχρις ότου επιτευχθεί ουδέτερο pH.
- 6.1.3. Το διάλυμα εξανίου διαβιβάζεται μέσω άνυδρου θειικού νατρίου (50 g), εκπλύνεται με 20 ml εξανίου και εξατμίζεται μέχρι ξηράνσεως μέσα σε περιστροφικό εξατμιστήρα σε θερμοκρασία 30 °C και υπό χαμηλή πίεση.

6.2. Διαχωρισμός του κλάσματος στεροειδών υδρογονανθράκων:

- 6.2.1. Το υπόλειμμα φέρεται στην κλασματική στήλη με τη βοήθεια δύο δόσεων εξανίου του 1 ml η καθεμία, αφήνεται το δείγμα να εκκρύνει επί της στήλης με ταπείνωση της στάθμης του διαλύματος μέχρι της ανωτάτης στάθμης του θειικού νατρίου και αρχίζει η χρωματογραφική έκλυση με εξάνιο με ταχύτητα ροής ίση προς 1 ml/min περίπου. Απορρίπτονται τα πρώτα 25-30 ml του εκλούσματος και συλλέγονται τα επόμενα 40 ml. Το κλάσμα αυτό μεταγγίζεται σε σφαιρική φιάλη των 100 ml.

Σημείωση 7.

Το πρώτο κλάσμα περιέχει κορεσμένους υδρογονάνθρακες (σχήμα 1α) και το δεύτερο κλάσμα περιέχει τους στεροειδείς. Με περαιτέρω έκλυση λαμβάνεται ο υδρογονάνθρακας squalene και συνεχείς ενώσεις. Για να επιτευχθεί ικανοποιητικός διαχωρισμός μεταξύ κορεσμένων και στεροειδών υδρογονανθράκων, οι όγκοι των κλασμάτων πρέπει να είναι οι καταλληλότεροι δυνατοί. Προς τούτο, ο όγκος του πρώτου κλάσματος πρέπει να προσαρμόζεται κατά τρόπον ώστε, κατά την ανάλυση του δεύτερου κλάσματος, οι κορυφές που αντιστοιχούν στους κορεσμένους υδρογονάνθρακες να είναι χαμηλές (βλέπε σχήμα 1γ): αν δεν εμφανισθούν, αλλά η ένταση της κορυφής του πρότυπου διαλύματος είναι χαμηλή, τότε ο όγκος πρέπει να ελαττώνεται. Πάντως, δεν χρειάζεται να γίνεται πλήρης διαχωρισμός μεταξύ των συστατικών του πρώτου και του δεύτερου κλάσματος, αφού κατά την ανάλυση με αέριο χρωματογραφία δεν γίνεται αλληλεπικάλυψη κορυφών, εφόσον έχουν τηρηθεί οι συνθήκες αερίου χρωματογραφίας που αναφέρονται στο σημείο 6.3.1. Ούτε χρειάζεται κατά κανόνα να επιτυγχάνεται ο καταλληλότερος όγκος του δεύτερου κλάσματος, αφού με τα περαιτέρω συστατικά γίνεται ικανοποιητικός διαχωρισμός. Παρ' όλα αυτά, μια υψηλή κορυφή που σημειώνεται σε χρόνο κατακράτησης χαμηλότερο κατά 1,5 min περίπου από τον αντίστοιχο του πρότυπου διαλύματος οφείλεται στον υδρογονάνθρακα squalene και είναι ενδεικτική μη ικανοποιητικού διαχωρισμού.

- 6.2.2. Το δεύτερο κλάσμα εξατμίζεται μέχρι ξηράνσεως μέσα σε εξατμιστήρα σε θερμοκρασία 30 °C και υπό χαμηλή πίεση, και αμέσως, μετά διαλύεται το υπόλειμμα σε 0,2 ml εξανίου. Το διάλυμα φυλάσσεται στο ψυγείο μέχρις ότου αναλυθεί.

Σημείωση 8.

Τα υπολείμματα των σημείων 6.1.3 και 6.2.2 δεν πρέπει να παραμένουν ξηρά και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Μόλις ληφθούν, πρέπει να προστίθεται ο διαλύτης και εν συνεχεία να φυλάσσονται στο ψυγείο.

6.3. Αέριος χρωματογραφία:

- 6.3.1. Συνθήκες εργασίας για διάταξη έγχυσης split:
- Θερμοκρασία στη διάταξη έγχυσης: 300 °C.
 - Θερμοκρασία ανιχνευτή: 320 °C.
 - Καταγραφέας-ολοκληρωτής: οι παράμετροι ολοκλήρωσης πρέπει να καθορίζονται κατά τρόπον ώστε ο υπολογισμός των εμβαδών να είναι ακριβής. Συνιστάται η ολοκλήρωση κοιλάδα προς κοιλάδα.
 - Ευαισθησία: το δεκαεξαπλάσιο περίπου της ελάχιστης εξασθένησης.
 - όγκος εγχεόμενου διαλύματος: 1ml.

▼ **M11**

- Θερμοκρασίες προγραμματισμού του κλιβάνου: αρχικά 235 °C επί 6 min και εν συνεχεία αύξηση κατά 2 °C/min μέχρι θερμοκρασίας 285 °C.
- Έγχυση με μερισμό ροής: 1: 15.
- Φέρον αέριο: ήλιο ή υδρογόνο υπό πίεση 120 kPa περίπου.

Οι συνθήκες αυτές μπορούν να προσαρμόζονται ανάλογα με τα χαρακτηριστικά του χρωματογράφου και της στήλης, κατά τρόπον ώστε τα λαμβανόμενα χρωματογραφήματα να πληρούν τους ακόλουθους όρους: ο χρόνος κατακράτησης του διαλύματος εσωτερικού προτύπου θα αντιστοιχεί προς τους χρόνους που εμφανίζονται στο σημείο 6.3.2 με ακρίβεια ± 5 min· η κορυφή του διαλύματος εσωτερικού προτύπου θα αντιστοιχεί προς το 80 % τουλάχιστον της πλήρους κλίμακας.

Το σύστημα αέριας χρωματογραφίας πρέπει να ελέγχεται με έγχυση μείγματος από το μητρικό διάλυμα χολησταδιενίου (σημείο 5.6) και το διάλυμα n-εικοσιεννεανίου (σημείο 5.8). Η κορυφή που αντιστοιχεί στο χολησταδιέν-3,5-ιο πρέπει να εμφανίζεται πριν από την κορυφή που αντιστοιχεί στο n-εικοσιεννεάνιο (σχήμα 1γ)· εάν αυτό δεν συμβεί, υπάρχουν δύο λύσεις: να μειωθεί η αρχική θερμοκρασία του κλιβάνου ή/και να χρησιμοποιηθεί στήλη αερίου χρωματογραφίας μικρότερης πολικότητας.

6.3.2. Ταυτοποίηση των κορυφών του φάσματος.

Η κορυφή του διαλύματος εσωτερικού προτύπου εμφανίζεται στα 19 min περίπου και το στιγμασταδιέν-3,5-ιο σε σχετικό χρόνο κατακράτησης ίσο προς 1,29 (βλέπε σχήμα 1β). Το στιγμασταδιέν-3,5-ιο συνοδεύεται από μικρές ποσότητες ισομερών και, συνήθως, εμφανίζονται και τα δύο ως μία κορυφή χρωματογραφήματος. Παρόλα αυτά, εάν η στήλη είναι πολύ πολική ή έχει μεγάλη διαχωριστική ικανότητα, το ισομερές μπορεί να εμφανίζεται ως μικρή κορυφή πριν και πολύ κοντά στην κορυφή του στιγμασταδιέν-3,5-ίου (σχήμα 2). Για να εξασφαλιστεί η έκλυση των στιγμασταδιενίων σε μία κορυφή συνιστάται η αντικατάσταση της στήλης με άλλη μικρότερης πολικότητας ή μεγαλύτερης εσωτερικής διαμέτρου.

Σημείωση 9.

Στιγμασταδιένια αναφοράς μπορούν να ληφθούν από την ανάλυση ενός εξευγενισμένου φυτικού ελαίου με τη χρησιμοποίηση μικρότερης ποσότητας δείγματος (1-2 g). Τα στιγμασταδιένια εμφανίζονται ως ευμεγέθους κορυφή που ταυτοποιείται εύκολα.

6.3.3. Ποσοτικός προσδιορισμός

Η περιεκτικότητα σε στιγμασταδένιο προσδιορίζεται βάσει του τύπου:

$$\text{στιγμασταδένια (mg/kg)}: \frac{A_s \times M_c}{A_c \times M_o}$$

όπου: A_b = εμβαδόν της κορυφής που αντιστοιχεί στο στιγμασταδένιο (εάν η κορυφή αυτή χωρίζεται σε δύο, άθροισμα των εμβαδών που αντιστοιχούν στα δύο ισομερή)

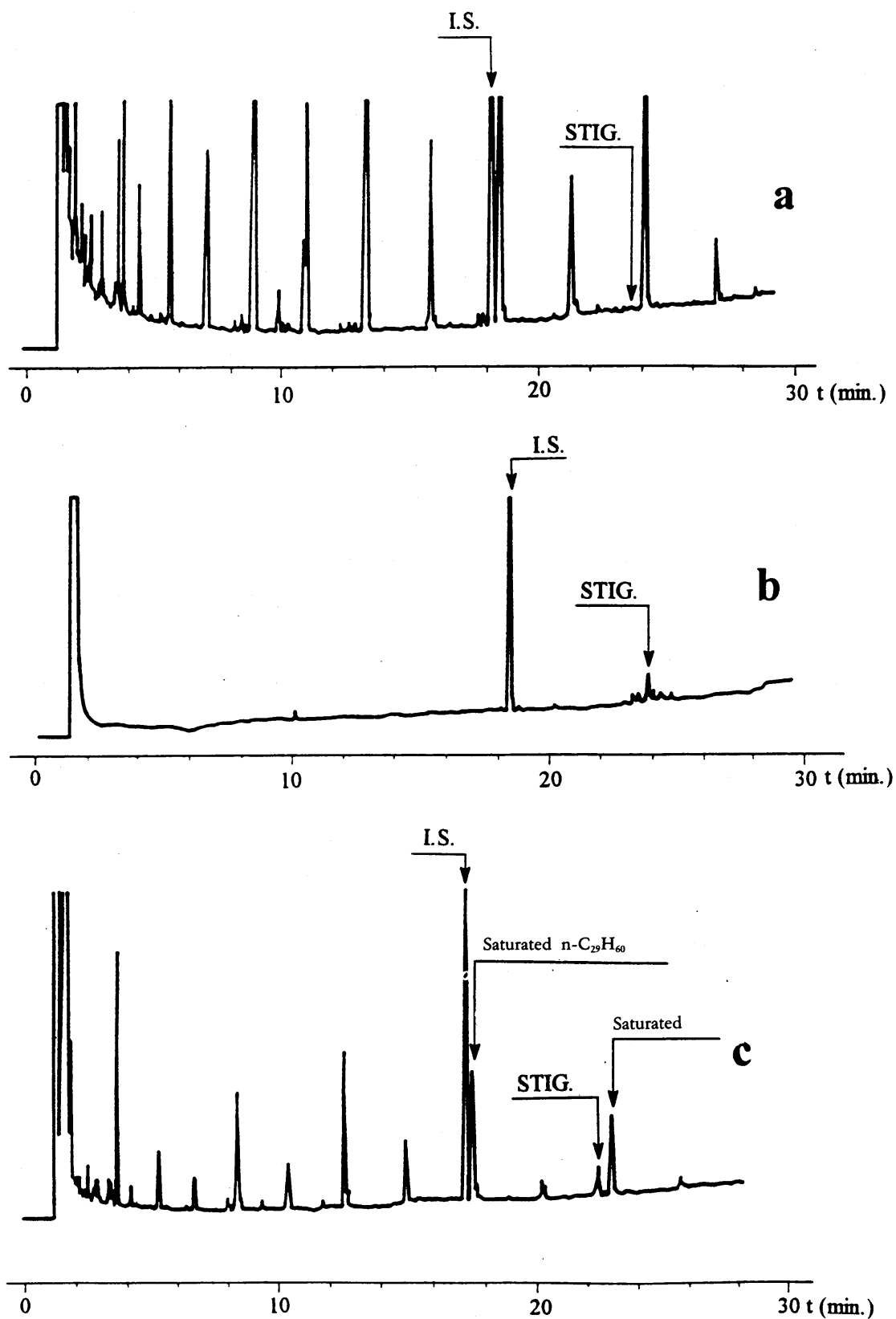
A_c = εμβαδόν της κορυφής του εσωτερικού προτύπου (χολησταδένιο)

M_c = μάζα (σε mg) του προστιθέμενου προτύπου

M_o = μάζα (σε g) του δείγματος ελαίου.

Το όριο ανίχνευσης κυμαίνεται γύρω από την τιμή 0,01 mg/kg.

▼M11



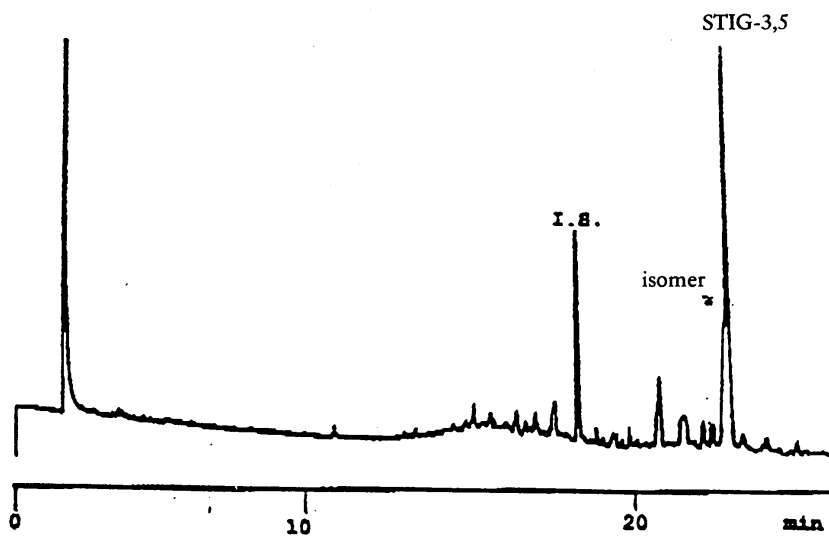
Σχήμα 1

Χρωματογραφήματα αερίου ληφθέντα από δείγματα ελαιολάδου που αναλύθηκαν σε τριχοειδή στήλη (εσωτερικής διαμέτρου 0,25 mm και μήκους 25 m) από τετηγμένο διοξείδιο του πυριτίου, επιχρισμένη με 5 %- φαινυλομεθυλοσιλικόνη πάχους 0,25 mm.

- α) Πρώτο κλάσμα (30 ml) από παρθένο ελαιόλαδο, ενισχυμένο με το πρότυπο διάλυμα.
 β) Δεύτερο κλάσμα (40 ml) από ελαιόλαδο που περιέχει στιγμασταδιένια σε αναλογία 0,10 mg/kg.

▼ M11

γ) Δεύτερο κλάσμα (40 ml) που περιέχει μικρό ποσοστό του πρώτου κλάσματος.



Σχήμα 2

Χρωματογράφημα αερίου από δείγμα εξευγενισμένου ελαιολάδου που αναλύεται στη στήλη DB-5, το οποίο δείχνει το ισομερές του στιγμασταδιεν-3,5-ίου.

▼ **M13***ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ XVIII***ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΩΝ ΜΕ ECN42 (ΔΙΑΦΟΡΑ ΜΕΤΑΞΥ ΔΕΛΟΜΕΝΩΝ ΗPLC ΚΑΙ ΘΕΩΡΗΤΙΚΗΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ)****1. Αντικείμενο**

Ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας των τριγλυκεριδίων (TAG) στα ελαιόλαδα με τη βοήθεια του ισοδύναμου αριθμού άνθρακα από τις διαφορές μεταξύ των αναλυτικών αποτελεσμάτων που λαμβάνονται με γρήγη χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) και της θεωρητικής τιμής περιεκτικότητας, που υπολογίζεται αρχίζοντας από τη σύνθεση των λιπαρών ουσιών.

2. Πεδίο εφαρμογής

Το πρότυπο αυτό εφαρμόζεται στα ελαιόλαδα. Η μέθοδος ισχύει για την ανίχνευση της παρουσίας μικρών ποσοτήτων σπορέλαιων (πλούσιων σε λινελαϊκό οξύ) σε κάθε κατηγορία ελαιολάδων.

3. Αρχή

Στο αυθεντικό ελαιόλαδο, η θεωρητική τιμή της περιεκτικότητας των τριγλυκεριδίων με ECN42 [υπολογιζόμενη με βάση τον προσδιορισμό της σύνθεσης των λιπαρών οξέων με αέρια χρωματογραφία (GLC)] αντιστοιχεί, εντός ορισμένων ορίων με την περιεκτικότητα των τριγλυκεριδίων που προσδιορίζεται με ανάλυση με ECN42. Διαφορές μεγαλύτερες των τιμών που ορίζονται στον κανονισμό για κάθε τύπο ελαιολάδου καταδεικνύουν ότι το λάδι περιέχει σπορέλαια.

4. Μέθοδος

Η μέθοδος για τον υπολογισμό της θεωρητικής τιμής της περιεκτικότητας των τριγλυκεριδίων με ECN42 καθώς και η διαφορά της από την τιμή που λαμβάνεται από την ανάλυση HPLC υπολογίζονται μέσω άλλων μεθόδων. Διακρίνονται τρεις φάσεις: προσδιορισμός της σύνθεσης των λιπαρών οξέων με αέρια χρωματογραφία τριχοειδούς στήλης, υπολογισμός θεωρητικής σύνθεσης τριγλυκεριδίων με ECN42, προσδιορισμός τριγλυκεριδίων με ECN42 με HPLC.

4.1. Όργανα

- 4.1.1. Σφαιρικές φιάλες των 250 και 500 ml.
- 4.1.2. Ποτήρια ζέσεως των 100 ml.
- 4.1.3. Γυάλινη στήλη χρωματογραφίας, εσωτερικής διαμέτρου 21 mm, μήκους 450 mm, εφοδιασμένη με στρόφιγγα και με εσμυρισμένη κωνική υποδοχή στην κορυφή της.
- 4.1.4. Διαχωριστική χοάνη των 250 ml με αρσενικό κωνικό εσμύρισμα κατάλληλο για να προσαρμοστεί στην κορυφή της στήλης.
- 4.1.5. Γυάλινη ράβδος μήκους 600 mm.
- 4.1.6. Γυάλινη χοάνη διαμέτρου 80 mm.
- 4.1.7. Ογκομετρικές φιάλες των 50 ml.
- 4.1.8. Ογκομετρικές φιάλες των 20 ml.
- 4.1.9. Περιστροφικός εξατμιστής.
- 4.1.10. Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης που επιτρέπει τον θερμοστατικό έλεγχο της θερμοκρασίας της στήλης.
- 4.1.11. Βρόγχος εισόδου των 10 μl.
- 4.1.12. Ανιχνευτής: διαφορετικό διαθλασίμετρο. Η ευαισθησία πλήρους κλίμακας πρέπει να είναι τουλάχιστον 10^{-4} μονάδες δείκτη διάθλασης.
- 4.1.13. Στήλη: σωλήνας από ανοξείδωτο χάλυβα μήκους 250 mm και εσωτερικής διαμέτρου 4,5 mm· πληρωμένη με σωματίδια διοξειδίου του πυριτίου με 22-23 % άνθρακα σε μορφή δεκαοκτυλοσιλανίου, διαμέτρου 5 μm (σημείωση 2).

▼ **M13**

4.1.14. Καταγραφέας ή/και ολοκληρωτής.

4.2. **Αντιδραστήρια**

Τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας. Οι διαλύτες έκλουσης πρέπει να είναι απαερωμένοι, και να μπορούν να ανακυκλωθούν αρκετές φορές χωρίς επίδραση στους διαχωρισμούς.

- 4.2.1. Πετρελαϊκός αιθέρας, σ.ζ. 40-60 °C, για χρωματογραφία.
- 4.2.2. Αποσταγμένος αιθυλαιθέρας, απαλλαγμένος υπεροξειδίων.
- 4.2.3. Διαλύτης έκλουσης για χρωματογραφία στήλης: μείγμα πετρελαϊκού αιθέρα/αιθυλαιθέρα 87/13 (v/v).
- 4.2.4. Πηκτή διοξειδίου του πυριτίου (Silica gel), 70-230 mesh, 7734 Merck, σταθερής περιεκτικότητας σε νερό 5 % (w/w).
- 4.2.5. Υαλοβάμβακας.
- 4.2.6. Ακετόνη.
- 4.2.7. Ακετονιτρίλιο.
- 4.2.8. Διαλύτης έκλουσης HPLC: ακετονιτρίλιο + ακετόνη (οι αναλογίες ρυθμίζονται ώστε να επιτευχθεί ο επιθυμητός διαχωρισμός: αναλογία εκκίνησης 50:50).
- 4.2.9. Διαλύτης διαλυτοποίησης: ακετόνη ή μείγμα ακετόνης-χλωροφόρμιου σε αναλογία 1:1.
- 4.2.10. Τριγλυκερίδια αναφοράς: μπορούν να χρησιμοποιηθούν είτε τριγλυκερίδια του εμπορίου (τριπλαιμίνη, τριελαΐνη κ.λπ.) και να σχεδιαστεί καμπύλη των χρόνων κατακράτησης συναρτήσει του ισοδύναμου αριθμού άνθρακα ή εναλλακτικά, χρωματογραφήματα αναφοράς από μείγμα σογιέλαιου-αυθεντικού ελαιόλαδου σε αναλογία 30:70 (βλέπε σημειώσεις 3 και 4 και σχήματα 1, 2, 3 και 4).

4.3. **Προετοιμασία δείγματος**

Δεδομένου ότι η παρεμβολή ορισμένων ουσιών μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένο θετικό αποτέλεσμα, το δείγμα πρέπει πάντα να καθαρίζεται σύμφωνα με τη μέθοδο IUPAC 2.507, που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των πολικών συστατικών σε οξειδωμένα έλαια.

4.3.1. Παρασκευή της χρωματογραφικής στήλης

Η στήλη (4.1.3) πληρούνται με 30 ml περίπου διαλύτη έκλουσης (4.2.3): εισάγεται βύσμα υαλοβάμβακα (4.2.5), που σπρώχνεται με τη γυάλινη ράβδο (4.1.5) μέχρι το άκρο της στήλης.

Μέσα σε ποτήρι ζέσεως των 100 ml, παρασκευάζεται αιώρημα 25 g πηκτής διοξειδίου (4.2.4) μέσα σε 80 ml μείγματος έκλουσης (4.2.3) και μεταγγίζεται στη στήλη με τη βοήθεια χωνιού (4.1.6).

Για να διασφαλιστεί ότι έχει μεταφερθεί όλο το πυριτικό οξύ στη στήλη, το ποτήρι ζέσεως εκπλένεται με το μείγμα έκλουσης και το υγρό της πλύσης μεταφέρεται και αυτό εντός της στήλης.

Η στρόφιγγα της στήλης ανοίγεται και το διάλυμα εκρέει έως ότου η στάθμη του διαλύτη έκλουσης βρίσκεται 1 cm πάνω από το silica gel.

4.3.2. Χρωματογραφία στήλης

Σε ογκομετρική φιάλη των 50 ml (4.1.7) ζυγίζονται $2,5 \pm 0,1$ g με ακρίβεια 0,001 γ. διαθνημένου, ομογενοποιημένου και, αν κρίνεται αναγκαίο, αφυδατωμένου λαδιού, και διαλύονται σε 20 ml περίπου διαλύτη έκλουσης (4.2.3). Αν θεωρείται απαραίτητο, το σύνολο θερμαίνεται ελαφρά για να διευκολυνθεί η διάλυση, στη συνέχεια το διάλυμα ψύχεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και, τέλος, συμπληρώνεται ο όγκος του με διαλύτη έκλουσης.

Με τη βοήθεια βαθμολογημένου σιφονιού, προστίθενται στη στήλη 20 ml διαλύματος, όπως παρασκευάστηκε στο σημείο (4.3.1). Η στρόφιγγα ανοίγεται και ο διαλύτης εκρέει, έως ότου η στάθμη του εξισωθεί με τη στάθμη του silica gel.

▼ **M13**

Εν συνεχεία, εκλούονται 150 ml διαλύτη έκλουσης (4.2.3), η δε παροχή ρυθμίζεται σε 2 ml/min (κατά τρόπο ώστε τα 150 ml να εκρεύουν από τη στήλη σε 60-70 λεπτά).

Το έκλουσμα συλλέγεται σε σφαιρική φιάλη (4.1.1) των 250 ml, που έχει προηγουμένως ξηρανθεί μέχρι σταθερού βάρους και ζυγιστεί με ακρίβεια. Ο διαλύτης απομακρύνεται υπό ελαττωμένη πίεση (Rotavapor) και ζυγίζεται το υπόλειμμα το οποίο θα χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή του διαλύματος για την ανάλυση HPLC και την παρασκευή των μεθυλεστέρων.

Η ανάκτηση του δείγματος από τη στήλη πρέπει να είναι κατά 90 % τουλάχιστον για τις κατηγορίες εξαιρετικό παρθένο, παρθένο, κοινό εξευγενισμένο και ελαιόλαδο και τουλάχιστον 80 % για το μειονεκτικό παρθένο ελαιόλαδο και τα πυρηνέλαια.

4.4. **Ανάλυση HPLC**

4.4.1. Προετοιμασία των δειγμάτων για χρωματογραφική ανάλυση

Σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml, παρασκευάζεται διάλυμα 5 % του δείγματος προς ανάλυση δια ζυγίσεως $0,5 \pm 0,001$ g του δείγματος και συμπλήρωση του όγκου με το διαλύτη διαλυτοποίησης μέχρι τα 10 ml (4.2.9).

4.4.2. Τρόπος εργασίας

Το χρωματογραφικό σύστημα τίθεται σε λειτουργία. Ο διαλύτης έκλουσης (4.2.8) αντλείται με παροχή 1,5 ml/min για να καθαριστεί ολόκληρο το σύστημα. Αφήνεται έως ότου ληφθεί μία σταθερή γραμμή βάσης.

Εγχέονται 10 μl του δείγματος, όπως αυτό παρασκευάστηκε στο 4.3.

4.4.3. Υπολογισμός και έκφραση των αποτελεσμάτων

Χρησιμοποιείται η μέθοδος κανονικοποίησης, δηλαδή υποτίθεται ότι το άθροισμα των εμβαδών των κορυφών που αντιστοιχούν στα τριγλυκερίδια από ECN 42 έως ECN 52 ισούται με 100 %. Η σχετική εκατοστιαία αναλογία κάθε τριγλυκεριδίου υπολογίζεται χρησιμοποιώντας τον τύπο:

ποσοστό επί % τριγλυκεριδίου = εμβαδόν κορυφής × 100 / άθροισμα εμβαδών κορυφών,

Τα αποτελέσματα πρέπει να περιέχουν τουλάχιστον δύο δεκαδικά ψηφία.

Σημείωση 1: Η σειρά έκλουσης μπορεί να προσδιοριστεί υπολογίζοντας τους ισοδύναμους αριθμούς άνθρακα, συχνά καθοριζόμενους από τη σχέση $ECN = CN - 2n$, όπου CN είναι ο αριθμός άνθρακα και n ο αριθμός των διπλών δεσμών. Μπορεί, όμως, να υπολογιστεί με μεγαλύτερη ακρίβεια λαμβάνοντας υπόψη την προέλευση των διπλών δεσμών. Εάν n_o , n_i και n_m είναι οι αριθμοί των διπλών δεσμών που αποδίδονται στο ελαϊκό, λινολεϊκό και λινολενικό οξύ αντίστοιχα, ο ισοδύναμος αριθμός άνθρακα μπορεί να υπολογιστεί από μία σχέση της μορφής::

$$ECN = CN - d_o n_o - d_i n_i - d_m n_m,$$

όπου οι συντελεστές d_o , d_i και d_m μπορούν να υπολογιστούν με χρήση των τριγλυκεριδίων αναφοράς. Στις συνθήκες που καθορίζονται σε αυτή τη μέθοδο, η σχέση που λαμβάνεται είναι περίπου:

$$ECN = CN - (2,60 n_o) - (2,35 n_i) - (2,17 n_m)$$

Σημείωση 2: Παραδείγματα: Lichrosorb (Merck) RP18 Art 50333

Lichrosphere ή αντίστοιχο (Merck) 100 CH18 Art 50377.

Σημείωση 3: Με αρκετά τριγλυκερίδια αναφοράς είναι επίσης δυνατό να υπολογιστεί η διακριτική ικανότητα αναφορικά με την τριελαϊνή,

▼ **M13**

$$\alpha = RT' = RT' \text{ τριελαΐνης}$$

χρησιμοποιώντας τον ανηγμένο χρόνο κατακράτησης $RT' = RT - RT$ διάλυτη

Η καμπύλη τιμών του $\log \alpha$ συναρτήσει του f (αριθμός διπλών δεσμών) επιτρέπει τον προσδιορισμό των τιμών του χρόνου κατακράτησης για όλα τα τριγλυκερίδια των λιπαρών οξέων που περιέχονται στα τριγλυκερίδια αναφοράς (βλέπε σχήμα 2).

Σημείωση 4: Η αποτελεσματικότητα της στήλης πρέπει να επιτρέπει σαφή διαχωρισμό της κορυφής της τριλινελαΐνης από τις κορυφές των τριγλυκεριδίων με παραπλήσιο RT . Η έκλουση πραγματοποιείται μέχρι την κορυφή ECN 52.

Σημείωση 5: Για να διασφαλιστεί η ορθή μέτρηση των εμβαδών όλων των κορυφών, πρέπει η δεύτερη κορυφή που αντιστοιχεί στο ECN 50 να είναι το 50 % της πλήρους κλίμακος του καταγραφέα.

4.5. Υπολογισμός της σύστασης των τριγλυκεριδίων

4.5.1. Προσδιορισμός της σύστασης λιπαρών οξέων

Η σύσταση των λιπαρών οξέων προσδιορίζεται με βάση τη μέθοδο αέριας χρωματογραφίας (ΕΟΚ), η οποία αναφέρεται στο παράρτημα Χ κεφάλαιο Α του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91, και κατά την οποία χρησιμοποιείται τριχοειδής στήλη. Η παρασκευή των μεθυλεστέρων πραγματοποιείται σύμφωνα με τη μέθοδο που αναφέρεται στο παράρτημα Χ κεφάλαιο Β (αντίδραση με μεθυλικό νάτριο σε διάλυμα ακλοόλης) του ίδιου κανονισμού.

4.5.2. Λιπαρά οξέα που λαμβάνονται υπόψη κατά τους υπολογισμούς

Τα γλυκερίδια κατατάσσονται σε κατηγορίες ανάλογα με τους ισοδύναμους αριθμούς άνθρακα (ECN), λαμβάνοντας υπόψη τους ακόλουθες ισοδυναμίες μεταξύ του ECN και των λιπαρών οξέων. Λήφθηκαν υπόψη μόνο τα λιπαρά οξέα με 16 ή 18 άτομα άνθρακα διότι μόνο αυτά έχουν σημασία στην περίπτωση του ελαιόλαδου.

Λιπαρό οξύ (ΛΟ)	Συντομογραφία	Μοριακό βάρος (MB)	ECN
Παλμιτικό οξύ	P	256,4	16
Παλμιτελαϊκό οξύ	Po	254,4	14
Στεατικό οξύ	S	284,5	18
Ελαϊκό οξύ	O	282,5	16
Λινελαϊκό οξύ	L	280,4	14
Λινολενικό οξύ	Ln	278,4	12

4.5.3. Μετατροπή του ποσοστού % του εμβαδού σε moles για όλα τα λιπαρά οξέα

$$\left. \begin{aligned} \text{moles P} &= \frac{\% \text{ εμβαδ. P}}{\text{PM P}} & \text{moles S} &= \frac{\% \text{ εμβαδ. S}}{\text{PM S}} & \text{moles Po} &= \frac{\% \text{ εμβαδ. Po}}{\text{PM Po}} \\ \text{moles O} &= \frac{\% \text{ εμβαδ. O}}{\text{PM O}} & \text{moles L} &= \frac{\% \text{ εμβαδ. L}}{\text{PM L}} & \text{moles Ln} &= \frac{\% \text{ εμβαδ. Ln}}{\text{PM Ln}} \end{aligned} \right\} (1)$$

▼ **M13**

4.5.4. Κανονικοποίηση των moles λιπαρών οξέων σε 100 %

$$\left. \begin{aligned} \% \text{ moles P (1,2,3)} &= \frac{\text{moles P} * 100}{\text{moles (P + S + Po + O + L + Ln)}} \\ \% \text{ moles S (1,2,3)} &= \frac{\text{moles S} * 100}{\text{moles (P + S + Po + O + L + Ln)}} \\ \% \text{ moles Po (1,2,3)} &= \frac{\text{moles Po} * 100}{\text{moles (P + S + Po + O + L + Ln)}} \\ \% \text{ moles O (1,2,3)} &= \frac{\text{moles O} * 100}{\text{moles (P + S + Po + O + L + Ln)}} \\ \% \text{ moles L (1,2,3)} &= \frac{\text{moles L} * 100}{\text{moles (P + S + Po + O + L + Ln)}} \\ \% \text{ moles Ln (1,2,3)} &= \frac{\text{moles Ln} * 100}{\text{moles (P + S + Po + O + L + Ln)}} \end{aligned} \right\} (2)$$

Το αποτέλεσμα δίνει την εκατοστιαία αναλογία κάθε λιπαρού οξέως σε % moles στο σύνολο των θέσεων 1,2,3-των TAG.

Στη συνέχεια, υπολογίζεται το άθροισμα των κεκορεσμένων λιπαρών οξέων P και S (SFA) καθώς και των ακόρεστων λιπαρών οξέων Po, O, L και Ln (UFA):

$$\left. \begin{aligned} \% \text{ moles SFA} &= \% \text{ moles P} + \% \text{ moles S} \\ \% \text{ moles UFA} &= 100 - \% \text{ moles AGS.} \end{aligned} \right\} (3)$$

4.5.5. Υπολογισμός της σύνθεσης των TAG σε λιπαρά οξέα στις θέσεις 2- και 1,3-

Τα λιπαρά οξέα κατανέμονται σε τρία σύνολα κατά τον ακόλουθο τρόπο: δύο πανομοιότυπα για τις θέσεις 1- και 3- και ένα για τη θέση 2-, με διαφορετικούς συντελεστές για τα κεκορεσμένα οξέα (P και S) και για τα ακόρεστα (Po, O, L και Ln).

4.5.5.1. Κεκορεσμένα λιπαρά οξέα στη θέση 2- [P(2) και S(2)]

$$\left. \begin{aligned} \% \text{ moles P(2)} &= \% \text{ moles P (1,2,3)} * 0,06 \\ \% \text{ moles S(2)} &= \% \text{ moles S (1,2,3)} * 0,06 \end{aligned} \right\} (4)$$

4.5.5.2. Ακόρεστα λιπαρά οξέα στη θέση 2- [Po(2), O(2), L(2) και Ln(2)]:

$$\left. \begin{aligned} \% \text{ moles Po(2)} &= \frac{\% \text{ moles Po(1,2,3)}}{\% \text{ moles AGI}} * [100 - \% \text{ moles P(2)} - \% \text{ moles S(2)}] \\ \% \text{ moles O(2)} &= \frac{\% \text{ moles O(1,2,3)}}{\% \text{ moles AGI}} * [100 - \% \text{ moles P(2)} - \% \text{ moles S(2)}] \\ \% \text{ moles L(2)} &= \frac{\% \text{ moles L(1,2,3)}}{\% \text{ moles AGI}} * [100 - \% \text{ moles P(2)} - \% \text{ moles S(2)}] \\ \% \text{ moles Ln(2)} &= \frac{\% \text{ moles Ln(1,2,3)}}{\% \text{ moles AGI}} * [100 - \% \text{ moles P(2)} - \% \text{ moles S(2)}] \end{aligned} \right\} (5)$$

▼ M13

4.5.5.3. Λιπαρά οξέα στις θέσεις 1,3- [P(1,3), S(1,3), Po(1,3) O(1,3), L(1,3) και Ln(1,3)]

$$\begin{aligned} \% \text{ moles P}(1,3) &= \frac{\% \text{ moles P}(1,2,3) - \% \text{ moles P}(2)}{2} + \% \text{ moles P}(1,2,3) \\ \% \text{ moles S}(1,3) &= \frac{\% \text{ moles S}(1,2,3) - \% \text{ moles S}(2)}{2} + \% \text{ moles S}(1,2,3) \\ \% \text{ moles Po}(1,3) &= \frac{\% \text{ moles Po}(1,2,3) - \% \text{ moles Po}(2)}{2} + \% \text{ moles Po}(1,2,3) \\ \% \text{ moles O}(1,3) &= \frac{\% \text{ moles O}(1,2,3) - \% \text{ moles O}(2)}{2} + \% \text{ moles O}(1,2,3) \\ \% \text{ moles L}(1,3) &= \frac{\% \text{ moles L}(1,2,3) - \% \text{ moles L}(2)}{2} + \% \text{ moles L}(1,2,3) \\ \% \text{ moles Ln}(1,3) &= \frac{\% \text{ moles Ln}(1,2,3) - \% \text{ moles Ln}(2)}{2} + \% \text{ moles Ln}(1,2,3) \end{aligned} \quad (6)$$

4.5.6. Υπολογισμός των τριγλυκεριδίων

4.5.6.1. TAG με ένα μόνο λιπαρό οξύ (AAA· εν προκειμένω LLL, PoPoPo)

$$\% \text{ moles AAA} = \frac{\% \text{ moles A}(1,3) * \% \text{ moles A}(2) * \% \text{ moles A}(1,3)}{10000} \quad (7)$$

4.5.6.2. TAG με δύο λιπαρά οξέα (AAB· εν προκειμένω PoPoL, PoLL)

$$\begin{aligned} \% \text{ moles AAB} &= \frac{\% \text{ moles A}(1,3) * \% \text{ moles A}(2) * \% \text{ moles B}(1,3) * 2}{10000} \\ \% \text{ moles ABA} &= \frac{\% \text{ moles A}(1,3) * \% \text{ moles B}(2) * \% \text{ moles A}(1,3)}{10000} \end{aligned} \quad (8)$$

4.5.6.3. TAG με τρία διαφορετικά λιπαρά οξέα (ABC· εν προκειμένω OLLn, PLLn, PoOLn, PPoln)

$$\begin{aligned} \% \text{ moles ABC} &= \frac{\% \text{ moles A}(1,3) * \% \text{ moles B}(2) * \% \text{ moles C}(1,3) * 2}{10000} \\ \% \text{ moles BCA} &= \frac{\% \text{ moles B}(1,3) * \% \text{ moles C}(2) * \% \text{ moles A}(1,3) * 2}{10000} \\ \% \text{ moles CAB} &= \frac{\% \text{ moles C}(1,3) * \% \text{ moles A}(2) * \% \text{ moles B}(1,3) * 2}{10000} \end{aligned} \quad (9)$$

4.5.6.4. Τριγλυκερίδια με ECN42

Τα ακόλουθα τριγλυκερίδια με ECN42 υπολογίζονται βάσει των εξισώσεων 7, 8 και 9, ανάλογα με τη σειρά της αναμενόμενης έκλουσης στην HPLC (κανονικά μόνο τρεις κορυφές).

LLL

PoLL και το ισομερές θέσης LPoL

OLLn και τα ισομερή θέσης OLnL και LnOL

PoPoL και το ισομερές θέσης PoLPo

PoOLn και τα ισομερή θέσης OPoLn και OLnPo

PLLn και τα ισομερή θέσης LLnP και LnPL

PoPoPo

▼ **M13**

SLnLn και το ισομερές θέσης LnSLn

PPoLn και τα ισομερή θέσης PLnPo και PoPLn

Τα τριγλυκερίδια με ECN42 προκύπτουν από το άθροισμα των εννέα τριακυλογλυκερολών, συμπεριλαμβανομένων των ισομερών θέσης τους. Τα αποτελέσματα πρέπει να περιέχουν τουλάχιστον δύο δεκαδικά ψηφία.

5. **Αξιολόγηση των αποτελεσμάτων**

Συγκρίνεται η υπολογιζόμενη θεωρητικός τιμή περιεκτικότητας με αυτή που προσδιορίστηκε από την ανάλυση HPLC. Εάν η διαφορά των θεωρητικών δεδομένων από τα δεδομένα της HPLC είναι μεγαλύτερη από τις τιμές που ορίζονται για την ανάλογη κατηγορία στον κανονισμό, αυτό σημαίνει ότι το δείγμα περιέχει σπορέλαιο.

Σημείωση: τα αποτελέσματα εκφράζονται με ακρίβεια ενός δεκαδικού ψηφίου.

6. **Παράδειγμα (οι αριθμοί αναφέρονται στα τμήματα του καμένου της μεθόδου)**

4.5.1. Υπολογισμός των % moles των λιπαρών οξέων από δεδομένα GLC (% του εμβαδού)

Τα ακόλουθα δεδομένα για τη σύνθεση των λιπαρών οξέων λαμβάνονται με αέρια χρωματογραφία:

ΛΟ MB	P 256,4	S 284,5	Po 254,4	O 282,5	L 280,4	Ln 278,4
% του εμβ.	10,0	3,0	1,0	75,0	10,0	1,0

4.5.3. Μετατροπή του ποσοστού % του εμβαδού σε moles για όλα τα λιπαρά οξέα

$$\text{moles P} = \frac{10}{256,4} = 0,03900 \text{ moles P} \quad \text{Βλέπε τύπο (1)}$$

$$\text{moles S} = \frac{3}{284,5} = 0,01054 \text{ moles S} \quad \text{Βλέπε τύπο (1)}$$

$$\text{moles Po} = \frac{1}{254,4} = 0,00393 \text{ moles Po} \quad \text{Βλέπε τύπο (1)}$$

$$\text{moles O} = \frac{75}{282,5} = 0,26549 \text{ moles O} \quad \text{Βλέπε τύπο (1)}$$

$$\text{moles L} = \frac{10}{280,4} = 0,03566 \text{ moles L} \quad \text{Βλέπε τύπο (1)}$$

$$\text{moles Ln} = \frac{1}{278,4} = 0,003594 \text{ moles Ln} \quad \text{Βλέπε τύπο (1)}$$

$$\text{Άθροισμα} = 0,35822 \text{ moles TG}$$

4.5.4. Κανονικοποίηση των moles λιπαρών οξέων σε 100 %

$$\% \text{ moles P}(1,2,3) = \frac{0,03900 \text{ moles P} * 100}{0,35822 \text{ moles}} = 10,888 \% \quad \text{Βλέπε τύπο (2)}$$

$$\% \text{ moles S}(1,2,3) = \frac{0,01054 \text{ moles S} * 100}{0,35822 \text{ moles}} = 2,944 \% \quad \text{Βλέπε τύπο (2)}$$

$$\% \text{ moles Po}(1,2,3) = \frac{0,00393 \text{ moles Po} * 100}{0,35822 \text{ moles}} = 1,097 \% \quad \text{Βλέπε τύπο (2)}$$

$$\% \text{ moles O}(1,2,3) = \frac{0,26549 \text{ moles O} * 100}{0,35822 \text{ moles}} = 74,113 \% \quad \text{Βλέπε τύπο (2)}$$

▼ **M13**

$$\% \text{ moles L}(1,2,3) = \frac{0,03566 \text{ moles L} * 100}{0,35822 \text{ moles}} = 9,956 \% \quad \text{Βλέπε τύπο (2)}$$

$$\% \text{ moles Ln}(1,2,3) = \frac{0,00359 \text{ moles Ln} * 100}{0,35822 \text{ moles}} = 1,003 \% \quad \text{Βλέπε τύπο (2)}$$

$$\text{Συνολικά \% moles} = 100,0 \%$$

Άθροισμα των κεκορεσμένων και των ακόρεστων λιπαρών οξέων στις θέσεις 1,2,3- των TAG:

$$\% \text{ moles AGS} = 10,888 \% + 2,944 \% = 13,831 \% \quad \text{Βλέπε τύπο (3)}$$

$$\% \text{ moles AGI} = 100,000 \% - 13,831 \% = 86,169 \% \quad \text{Βλέπε τύπο (3)}$$

4.5.5. Υπολογισμός της σύνθεσης των TAG σε λιπαρά οξέα στις θέσεις 2- και 1,3-

4.5.5.1. Κεκορεσμένα οξέα στη θέση 2- [P(2) και S(2)]

$$\% \text{ moles P}(2) = 10,888 \% * 0,06 = 0,653 \% \quad \text{Βλέπε τύπο (4)}$$

$$\% \text{ moles S}(2) = 2,944 \% * 0,06 = 0,177 \% \quad \text{Βλέπε τύπο (4)}$$

4.5.5.2. Ακόρεστα λιπαρά οξέα στις θέσεις 1,3 [Po(1,3), O(1,3), L(1,3) και Ln(1,3)]

$$\% \text{ moles Po}(2) = \frac{1,097 \%}{86,169 \%} * (100 - -0,659 - 0,177) = 1,263 \% \text{ moles} \quad \text{Βλέπε τύπο (5)}$$

$$\% \text{ moles O}(2) = \frac{74,113 \%}{86,169 \%} * (100 - -0,659 - 0,177) = 85,295 \% \text{ moles} \quad \text{Βλέπε τύπο (5)}$$

$$\% \text{ moles L}(2) = \frac{9,956 \%}{86,169 \%} * (100 - -0,659 - 0,177) = 11,458 \% \text{ moles} \quad \text{Βλέπε τύπο (5)}$$

$$\% \text{ moles Ln}(2) = \frac{1,003 \%}{86,169 \%} * (100 - -0,659 - 0,177) = 1,154 \% \text{ moles} \quad \text{Βλέπε τύπο (5)}$$

4.5.5.3. Λιπαρά οξέα στις θέσεις 1,3 [P(1,3), S(1,3), Po(1,3), O(1,3), L(1,3) και Ln(1,3)]

$$\% \text{ moles P}(1,3) = \frac{10,888 - 0,659}{2} = 10,888 = 16,005 \% \text{ moles} \quad \text{Βλέπε τύπο (6)}$$

$$\% \text{ moles S}(1,3) = \frac{2,944 - 0,177}{2} = 2,944 = 4,327 \% \text{ moles} \quad \text{Βλέπε τύπο (6)}$$

$$\% \text{ moles Po}(1,3) = \frac{1,097 - 1,263}{2} = 1,097 = 1,015 \% \text{ moles} \quad \text{Βλέπε τύπο (6)}$$

$$\% \text{ moles O}(1,3) = \frac{74,113 - 85,295}{2} = 74,113 = 68,522 \% \text{ moles} \quad \text{Βλέπε τύπο (6)}$$

$$\% \text{ moles L}(1,3) = \frac{9,956 - 11,458}{2} = 9,956 = 9,205 \% \text{ moles} \quad \text{Βλέπε τύπο (6)}$$

$$\% \text{ moles Ln}(1,3) = \frac{1,003 - 1,154}{2} = 1,003 = 0,927 \% \text{ moles} \quad \text{Βλέπε τύπο (6)}$$

4.5.6. Υπολογισμός των τριακυλογλυκερολών

Από την υπολογιζόμενη περιεκτικότητα σε λιπαρά οξέα στη θέση 2- και στις θέσεις 1,3- (βλέπε παραπάνω):

ΛΟ σε	Θέσεις 1,3-	Θέση 2-
P	16,005 %	0,653 %

▼ M13

ΛΟ σε	Θέσεις 1,3-	Θέση 2-
S	4,327 %	0,177 %
Po	1,015 %	1,263 %
O	68,522 %	85,295 %
L	9,205 %	11,458 %
Ln	0,927 %	1,154 %
Σύνολο	100,0 %	100,0 %

υπολογίζονται οι ακόλουθες τριακυλογλυκερόλες:

LLL

PoPoPo

PoLL με 1 ισομερές θέσης

S LnLn με 1 ισομερές θέσης

PoPoL με 1 ισομερές θέσης

PPoLn με 2 ισομερή θέσης

OLLn με 2 ισομερή θέσης

PLLn με 2 ισομερή θέσης

PoOLn με 2 ισομερή θέσης

4.5.6.1. TAG με ένα λιπαρό οξύ (LLL, PoPoPo) Βλέπε τύπο (7)

$$\% \text{ moles LLL} = \frac{9,205 \% * 11,458 \% * 9,205 \%}{10\,000} = 0,09708 \text{ mol LLL}$$

$$\% \text{ moles PoPoPo} = \frac{1,015 \% * 1,263 \% * 1,015 \%}{10\,000} = 0,00013 \text{ mol PoPoPo}$$

4.5.6.2. TAG με δύο λιπαρά οξέα (PoLL, S LnLn, PoPoL) Βλέπε τύπο (8)

$$\% \text{ moles PoLL} + \text{LLPo} = \frac{1,015 \% * 11,458 \% * 9,205 \% * 2}{10\,000} = 0,02141$$

$$\% \text{ moles LPoL} = \frac{9,205 \% * 1,263 \% * 9,205 \%}{10\,000} = 0,01070$$

0,03211 mol PoLL

$$\% \text{ moles S LnLn} + \text{LnLnS} = \frac{4,327 \% * 1,154 \% * 0,927 \% * 2}{10\,000} = 0,00093$$

$$\% \text{ moles LnSLn} = \frac{0,927 \% * 0,177 \% * 0,927 \%}{10\,000} = 0,00002$$

0,00095 mol S LnLn

$$\% \text{ moles PoPoL} + \text{LPoPo} = \frac{1,015 \% * 1,263 \% * 9,205 \% * 2}{10\,000} = 0,00236$$

$$\% \text{ moles PoLPo} = \frac{1,015 \% * 11,458 \% * 1,015 \%}{10\,000} = 0,00118$$

0,00354 mol PoPoL

4.5.6.3. TAG με τρία διαφορετικά λιπαρά οξέα (PoPLn, OLLn, PLLn, PoOLn) Βλέπε τύπο (9)

$$\% \text{ moles PPOLn} = \frac{16,005 \% * 1,263 \% * 0,927 \% * 2}{10\,000} = 0,00375$$

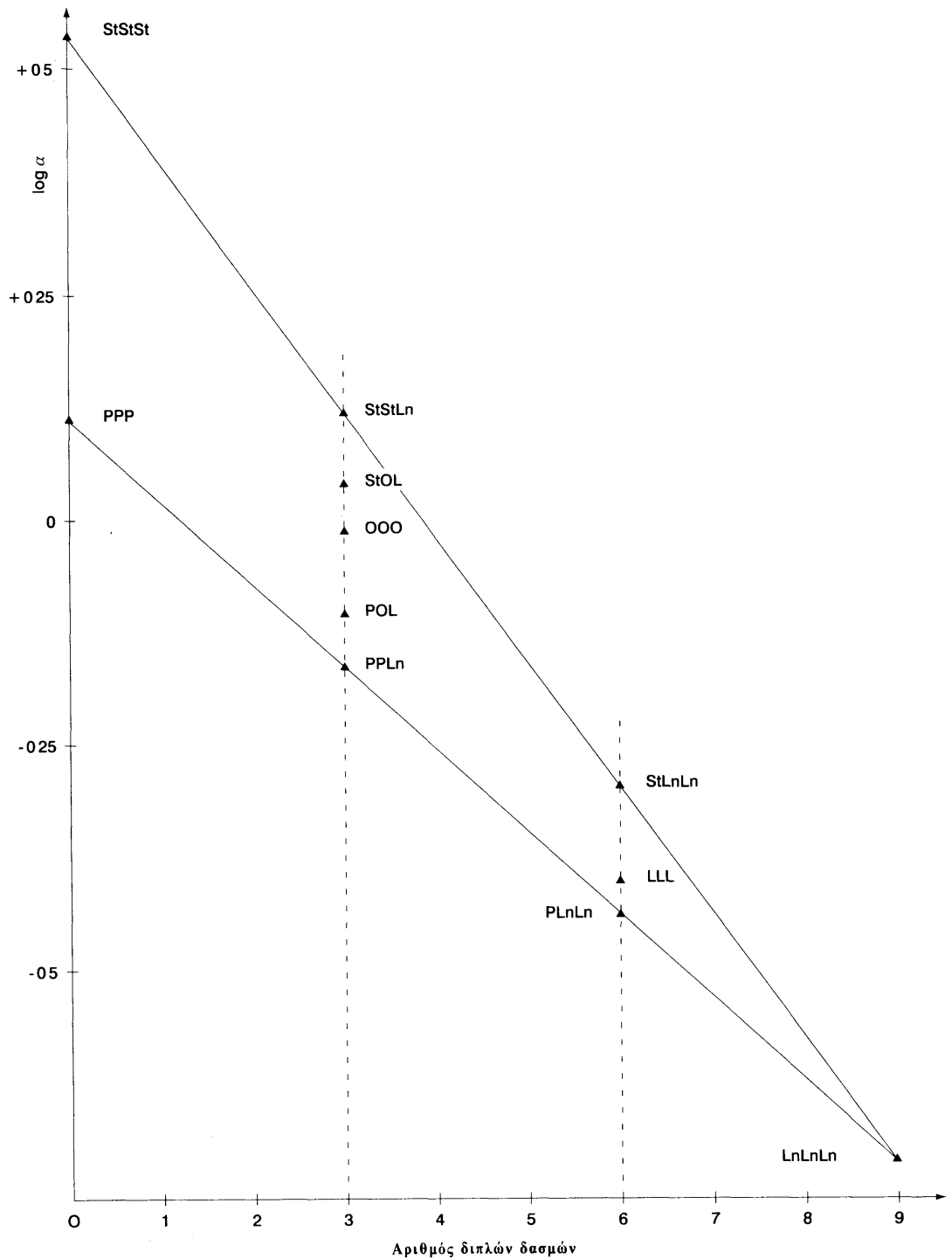
$$\% \text{ moles LnPPo} = \frac{0,927 \% * 0,653 \% * 1,015 \% * 2}{10\,000} = 0,00012$$

▼ **M13**

$$\begin{aligned}
\% \text{ moles PoLnP} &= \frac{1,015 \% * 1,154 \% * 16,005 \% * 2}{10\,000} = 0,00375 \\
&0,00762 \text{ mol PPoln} \\
\% \text{ moles OLLn} &= \frac{68,522 \% * 11,458 \% * 0,927 \% * 2}{10\,000} = 0,14577 \\
\% \text{ moles LnOL} &= \frac{0,927 \% * 85,295 \% * 9,205 \% * 2}{10\,000} = 0,14577 \\
\% \text{ moles LLnO} &= \frac{9,205 \% * 1,154 \% * 68,522 \% * 2}{10\,000} = 0,14577 \\
&0,43671 \text{ mol OLLn} \\
\% \text{ moles PLLn} &= \frac{16,005 \% * 11,458 \% * 0,927 \% * 2}{10\,000} = 0,03400 \\
\% \text{ moles LnPL} &= \frac{0,927 \% * 0,653 \% * 9,205 \% * 2}{10\,000} = 0,00111 \\
\% \text{ moles LLnP} &= \frac{9,205 \% * 1,154 \% * 16,005 \% * 2}{10\,000} = 0,03400 \\
&0,06911 \text{ mol PLLn} \\
\% \text{ moles PoOLn} &= \frac{1,015 \% * 85,295 \% * 0,927 \% * 2}{10\,000} = 0,01605 \\
\% \text{ moles LnPoO} &= \frac{0,927 \% * 1,263 \% * 68,522 \% * 2}{10\,000} = 0,01605 \\
\% \text{ moles OLnPo} &= \frac{68,522 \% * 1,154 \% * 1,015 \% * 2}{10\,000} = 0,01605 \\
&0,04815 \text{ mol PoOLn} \\
\text{ECN42} &= 0,69540 \text{ mol TAG}
\end{aligned}$$

▼ **M14**

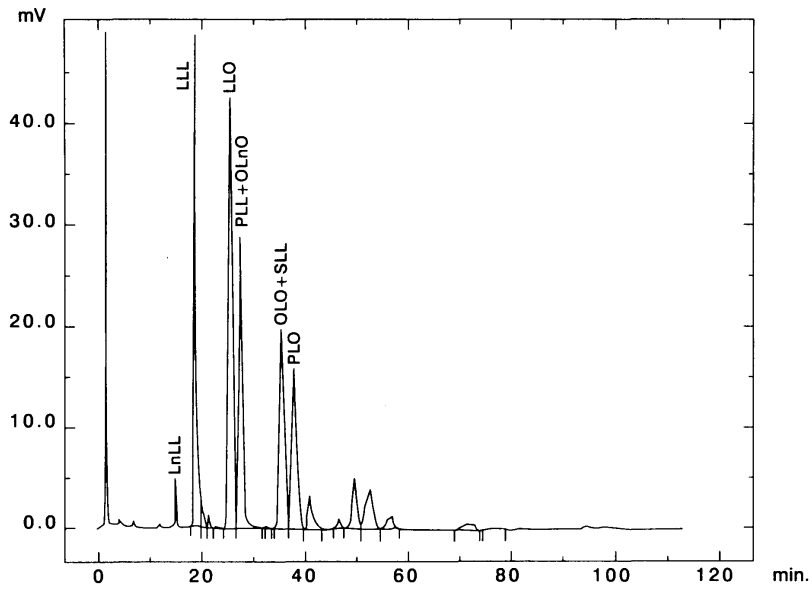
Σχήμα 1: Διάγραμμα του $\log \alpha$ σε συνάρτηση του f (αριθμός διπλών δεσμών)



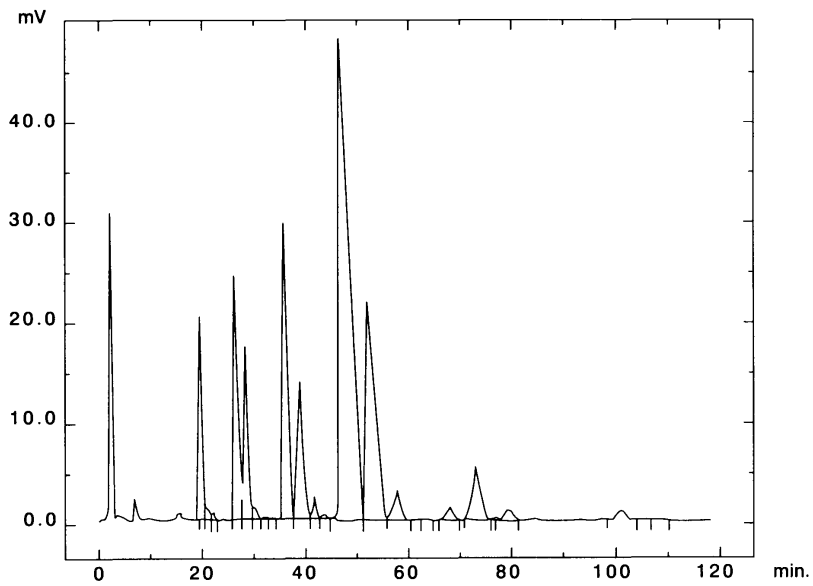
Σχήμα: La = Laurinsäure; My = Myristinsäure; P = Palmitinsäure; St = Stearinsäure; O = Ölsäure; L = Linolsäure; Ln = Linolensäure.

▼ M14

Σχήμα 2: Έλαιο σόγιας



Σχήμα 3: Έλαιο σόγιας/Ελαιόλαδο 30/70



▼ **M14****Σχήμα 4:** *Ελαιόλαδο*