

Επίσημη Εφημερίδα

των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων

ISSN 0250-8168

L 248

34ο έτος

5 Σεπτεμβρίου 1991

Έκδοση
στην ελληνική γλώσσα

Νομοθεσία

Περιεχόμενα

I Πράξεις για την ισχύ των οποίων απαιτείται δημοσίευση

- ★ Κανονισμός (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91 της Επιτροπής της 11 Ιουλίου 1991 σχετικά με τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών των ελαιολάδων και των πυρηνελαιίων καθώς και με τις μεθόδους προσδιορισμού 1

Τιμή: 12 Ecu

Οι πράξεις οι τίτλοι των οποίων έχουν τυπωθεί με ημίμαυρα στοιχεία αποτελούν πράξεις τρεχούσης διαχείρισεως που έχουν θεσπισθεί στο πλαίσιο της γεωργικής πολιτικής και είναι γενικά περιορισμένης χρονικής ισχύος.

Οι τίτλοι όλων των υπολοίπων πράξεων έχουν τυπωθεί με μαύρα στοιχεία και επισημαίνονται με αστερίσκο.

I

(Πράξεις για την ισχύ των οποίων απαιτείται δημοσίευση)

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 εξα-

σκηθεί 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 τυποποιημένου ελαιολάδου πρό της ενάρξεως του παρόντος κανονισμού·

ότι είναι σκόπιμο να καταργηθεί ο κανονισμός (ΕΟΚ) αριθ. 1058/77 της Επιτροπής ⁽³⁾, όπως τροποποιήθηκε τελευταία από τον κανονισμό (ΕΟΚ) αριθ. 1858/88 ⁽⁴⁾·

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 ελαιόλαδο, 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.

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

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

⁽³⁾ ΕΕ αριθ. L 128 της 24. 5. 1977, σ. 6.

⁽⁴⁾ ΕΕ αριθ. L 166 της 1. 7. 1988, σ. 10.

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.

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 αλφατικών 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 Α και Β.
- 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 έξευγενισμού, η μέθοδος που αναφέρεται στο παράρτημα XIII.

2. Ο αναλυτής, ο οποίος επικουρείται από εμπειρογνώμονες, 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 παράρτημα XII.

Άρθρο 3

Έως τις 31 Οκτωβρίου 1992, 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 τα οποία συμμορφώνονται προς την εφαρμοζόμενη ρύθμιση των κοινοτικών μεθόδων. 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.

Άρθρο 4

1. Για την αξιολόγηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, τα κράτη μέλη συγκροτούν ομάδας δοκιμαστών, οι οποίοι έχουν επιλεγεί και εξασκηθεί σύμφωνα με τους προβλεπόμενους κανόνες στη μέθοδο του παραρτήματος XII.

2. Στην περίπτωση κατά την οποία κάποιο κράτος μέλος συναντά δυσκολίες στη συγκρότηση ομάδας δοκιμαστών στο έδαφός του, μπορεί να καταφύγει σε ομάδα που λειτουργεί σ' ένα άλλο κράτος μέλος.

Άρθρο 5

Οι συμπληρωματικές εξηγήσεις 2, 3 και 4 του κεφαλαίου 15 της συνδυασμένης ονοματολογίας αντικαθίστανται από τις συμπληρωματικές εξηγήσεις 2, 3 και 4 που αναφέρονται στο παράρτημα XIV.

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.

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

Βρυξέλλες, 11 Ιουλίου 1991.

Για την Επιτροπή
Ray MAC SHARRY
Αντιπρόεδρος

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 1η Ιανουαρίου 1992, εξαιρουμένων των διαδικασιών των σχετικών με την παρέμβαση.

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.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

Σύνοψη

	Σελίδα
Παράρτημα I: Χαρακτηριστικά των ελαιολάδων	4
Παράρτημα II: Προσδιορισμός οξύτητας	6
Παράρτημα III: Προσδιορισμός του αριθμού υπεροξειδίων	8
Παράρτημα IV: Προσδιορισμός των περιεχομένων αλειφατικών αλκοολών δι' αερίου χρωματογραφίας με τριχοειδή στήλη	10
Παράρτημα V: Προσδιορισμός της σύνθεσης και του περιεχομένου των στερολών δι' αερίου χρωματογραφίας με τριχοειδή στήλη	15
Παράρτημα VI: Προσδιορισμός ερυθροδιόλης και ουβαόλης	23
Παράρτημα VII: Προσδιορισμός λιπαρών οξέων στη 2-δέση στα τριγλυκερίδια ελαίων και λιπών	25
Παράρτημα VIII: Προσδιορισμός περιεκτικότητας τριγλυκερίδιων	29
Παράρτημα IX: Φασματοφωτομετρική έρευνα στο υπεριώδες	33
Παράρτημα XA: Ανάλυση μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων δι' αερίου χρωματογραφίας	36
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	44
Παράρτημα XI: Προσδιορισμός της ποσότητας του ελαιολάδου σε αλογονούχους πτητικούς διαλύτες	48
Παράρτημα XII: Οργανοληπτική αξιολόγηση του παρθένου ελαιολάδου	49
Παράρτημα XIII: Δοκιμή εξευγενισμού	75
Παράρτημα XIV: Συμπληρωματικές σημειώσεις 2,3 και 4 του κεφαλαίου 15 της συνδυασμένης ονοματολογίας	77
Παράρτημα XV: Περιεκτικότητα σε έλαιο των ελαιοπυρήνων	80
Παράρτημα XVI: Προσδιορισμός του αριθμού ιωδίου	82

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΕΛΑΙΟΛΑΔΩΝ

Κατηγορία	Οξύτητα %	Δείκτης υπεροξειδίου μεq O ₂ /kg	mg/kg (¹)	Λιπαστικές αλκοόλες mg/kg	Κορεσμένα λιπαρά οξέα στη θέση 2 τριγλυκερίδια %	Ερυθροδιόλη % + Ουβαόλη	Τριλινοϊέννη %	Χολη-στερόλη %	Βρασκα-στερόλη %	Καμπι-στερόλη %	Στιγμα-στερόλη %	Β-σιτο-στερόλη % (²)	δ-7 στιγμα-στερόλη %	Σύνολο στερόλες mg/kg
1. Εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο	M 1,0	M 20	M 0,20	M 300	M 1,3	M 4,5	M 0,5	M 0,5	M 0,2	M 4,0	< Camp.	m 93,0	M 0,5	m 1 000
2. Παρθένο ελαιόλαδο	M 2,0	M 20	M 0,20	M 300	M 1,3	M 4,5	M 0,5	M 0,5	M 0,2	M 4,0	< Camp.	m 93,0	M 0,5	m 1 000
3. Κουράντε παρθένο ελαιόλαδο	M 3,3	M 20	M 0,20	M 300	M 1,3	M 4,5	M 0,5	M 0,5	M 0,2	M 4,0	< Camp.	m 93,0	M 0,5	m 1 000
4. Μειονεκτικό παρθένο ελαιόλαδο	> 3,3	> 20	> 0,20	M 400	M 1,3	M 4,5	M 0,5	M 0,5	M 0,2	M 4,0	—	m 93,0	M 0,5	m 1 000
5. Εξευγενισμένο ελαιόλαδο	M 0,5	M 10	M 0,20	M 350	M 1,5	M 4,5	M 0,5	M 0,5	M 0,2	M 4,0	< Camp.	m 93,0	M 0,5	m 1 000
6. Ελαιόλαδο	M 1,5	M 15	M 0,20	M 350	M 1,5	M 4,5	M 0,5	M 0,5	M 0,2	M 4,0	< Camp.	m 93,0	M 0,5	m 1 000
7. Ακάθαρτο πυρηνέλλαιο	m 2,0	—	—	—	M 1,8	m 12	M 0,5	M 0,5	M 0,2	M 4,0	—	m 93,0	M 0,5	m 2 500
8. Εξευγενισμένο πυρηνέλλαιο	M 0,5	M 10	M 0,20	—	M 2,0	m 12	M 0,5	M 0,5	M 0,2	M 4,0	< Camp.	m 93,0	M 0,5	m 1 800
9. Πυρηνέλλαιο	M 1,5	M 15	M 0,20	—	M 2,0	> 4,5	M 0,5	M 0,5	M 0,2	M 4,0	< Camp.	m 93,0	M 0,5	m 1 800

M = μέγιστο
m = ελάχιστο

(¹) Συνολικό μέγιστο ανώτατο όριο για τις ενόσεις που ανηγούνται με ανηγμένη σύλληψη ηλεκτρονίων. Για τα στοιχεία που ανηγούνται μεμονωμένα, το ανώτατο όριο είναι 0,10 mg/kg.

(²) (δ-5-23-στιγμασταδιενόλη + Κλαροστερόλη + Σιτοστερόλη + Στεοστερόλη + Στεοστανόλη + 5-24-στιγμασταδιενόλη)

Σημείωση: Αρκεί ένα χαρακτηριστικό να είναι εκτός των ενδεικνυόμενων τιμών για να μη θεωρηθεί το έλαιο γνήσιο ή να υποβαθμισθεί. Στην περίπτωση ελαίων με οξύτητα άνω του 3,3 % εάν μετά από διάβαση μέσω οργαλοξείδιου ο συντελεστής K270 είναι μεγαλύτερος του 0,11, πρέπει να πραγματοποιηθεί η δοκιμή εξευγενισμού που αναφέρεται στο παράρτημα XIII. Προκειμένου να καθοριστεί η γνησιότητά τους, όταν το K270 ξεπερνά το όριο της σχετικής κατηγορίας, πρέπει να πραγματοποιηθεί ένας νέος προσδιορισμός του K270 μετά από διάβαση μέσω οργαλοξείδιου.

Κατηγορία	Περιεκτικότητα σε οξεία							Κ ₂₇₀	Κ ₂₇₀ après alumine +	Δέλτα Κ	Panel test
	Μυριστικό %	Λινολενικό %	Αραχιδικό %	Εικοσανικό %	Βεχνικό %	Λιγνοπτηρικό %	Κ ₂₃₂				
1. Εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο	M 0,1	M 0,9	M 0,7	M 0,5	M 0,3	M 0,5	M 2,40	M 0,20	M 0,10	M 0,01	≥6,5
2. Παρθένο ελαιόλαδο	M 0,1	M 0,9	M 0,7	M 0,5	M 0,3	M 0,5	M 2,50	M 0,25	M 0,10	M 0,01	≥5,5
3. Κουράντε παρθένο ελαιόλαδο	M 0,1	M 0,9	M 0,7	M 0,5	M 0,3	M 0,5	M 2,50	M 0,25	M 0,10	M 0,01	≥3,5
4. Μειονεκτικό παρθένο ελαιόλαδο	M 0,1	M 0,9	M 0,7	M 0,5	M 0,3	M 0,5	M 3,70	> 0,25	M 0,11	—	<3,5
5. Εξυγνετισμένο ελαιόλαδο	M 0,1	M 0,9	M 0,7	M 0,5	M 0,3	M 0,5	M 3,40	M 1,20	—	M 0,16	—
6. Ελαιόλαδο	M 0,1	M 0,9	M 0,7	M 0,5	M 0,3	M 0,5	M 3,30	M 1,00	—	M 0,13	—
7. Ακόθαρτο πυρηνέλιο	M 0,1	M 0,9	M 0,7	M 0,5	M 0,3	M 0,5	—	—	—	—	—
8. Εξυγνετισμένο πυρηνέλιο	M 0,1	M 0,9	M 0,7	M 0,5	M 0,3	M 0,5	M 5,50	M 2,50	—	M 0,25	—
9. Πυρηνέλιο	M 0,1	M 0,9	M 0,7	M 0,5	M 0,3	M 0,5	M 5,30	M 2,00	—	M 0,20	—

Σημείωση: Στην περίπτωση ελαίων με οξύτητα άνω του 3,3 % εάν μετά από διάβαση μέσω οργαλοξείδιου ο συντελεστής Κ₂₇₀ είναι μεγαλύτερος του 0,11, πρέπει να πραγματοποιηθεί η δοκιμή εξυγνετισμού που αναφέρεται στο παράρτημα XIII. Προκειμένου να καθορισθεί η γνησιότητά τους, όταν το Κ₂₇₀ ξεπερνά το όριο της σχετικής κατηγορίας, πρέπει να πραγματοποιηθεί ένας νέος προσδιορισμός του Κ₂₇₀ μετά από διάβαση μέσω αργλοξείδιου.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ II

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΞΥΤΗΤΑΣ

1. ANTIKEIMENO

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 διαιθυλαθέρος αιθανόλης 95 % [με αναλογία 1:1 (V/V)].

Προσοχή: Ο διαιθυλαθέρας είναι εξαιρετικά εύφλεκτος και μπορεί να σχηματίσει 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 φαινολοφθαλεΐνης (1.2.3) ανά 100 ml μείγματος.

Σημείωση: Εάν δεν είναι δυνατό να χρησιμοποιηθεί διαιθυλαθέρας, 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 ρινομάτων 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 διήθησή 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. Φαινολοφθαλεΐνη, διάλυμα 10 g/l σε αιθανόλη 95-96 (V/V) ή κυανούνης της βρωμοφαινόλης (στην περίπτωση λιπών με έντονο χρώμα), διάλυμα 20 g/l σε αιθανόλη 95-96 (V/V).

1.3. Όργανα

Συνήθισμένος 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.

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 διαθιυλαϊθέρου 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 φαινολοφθαλεϊνης επικρατεί επί τουλάχιστον 10 δευτερόλεπτα).

Σημειώσεις: 1. 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.

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

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

1.5. Έκφραση της οξύτητας επί τοις % συγκέντρωσης ελαϊκού οξέος

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

$$V \times c \times \frac{M}{1\,000} \times \frac{100}{m} = \frac{V \times c \times M}{10 \times m}$$

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 των 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

Η προδιαγραφή 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 αναλύσεως.

4. ΑΡΧΗ

Το ληφθέν δείγμα διαλύεται σε μείγμα οξεϊκού οξέος και χλωροφόρμιο 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 εσμορισμένες επιφάνειες.

5.1. Γυάλινο κουτάλι των 3 ml.

5.2. Εσμορισμένες φιάλες με πώματα, χωρητικότητας περίπου 250 ml, οι οποίες προηγουμένως έχουν ξηρανθεί και στις οποίες έχει διαβιβάσει 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 οξεϊκό 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 δειοθειικού 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 φως, 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.

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

Αποπωματίζεται 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). Πωματίζεται γρήγορα, γίνεται ανάδευση επί ένα λεπτό, και αφήνεται για 5 λεπτά ακριβώς, μακριά από το φως 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 ζωρή ανάδευση, χρησιμοποιώντας διάλυμα αμόλου (6.5) σαν δείκτη.

Εκτελούνται δύο ποσοδιορισμοί 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:

$$AY = \frac{V \times T \times 1\,000}{m}$$

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.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ IV

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ ΑΛΕΙΦΑΤΙΚΩΝ ΑΛΚΟΟΛΩΝ ΔΓ' ΑΕΡΙΟΥ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ ΜΕ ΤΡΙΧΟΕΙΔΗ ΣΤΗΛΗ

1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ

Η μέθοδος περιγράφει διαδικασία προσδιορισμού των περιεχομένων αλειφατικών αλκοολών μεμονωμένων και ολικών λιπαράς ουσίας.

2. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η λιπαρή ουσία, με προσθήκη εικοσανόλης -1, ως εσωτερικό πρότυπο, σαπωνοποιείται με διάλυμα υδροξειδίου του καλίου σε αιθανόλη, έπειτα τα ασαπωνοποίητα συστατικά εκχυλίζονται με αιθυλικό αιθέρα. Το κλάσμα των αλκοολών διαχωρίζεται από τα ασαπωνοποίητα συστατικά δια χρωματογραφίας επί βασικής πλάκας silica gel, οι ανακτώμενες αλκοόλες από το silica gel μετατρέπονται σε τριμεθυλοσιλαιθέρες και αναλύονται δια χρωματογραφίας αέριας φάσης σε τριχοειδή στήλη.

3. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

- 3.1. Σφαιρική φιάλη των 250 ml, εφοδιασμένη με κάθετο ψυκτήρα με εσφυρισμένα άκρα.
- 3.2. Διαχωριστική χοάνη των 500 ml.
- 3.3. Σφαιρική φιάλη 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 μl.
- 3.7. Κυλινδρική διηθητική χοάνη με πορώδες φίλτρο G 3 (πορώδες 15 έως 40 μm) διαμέτρου περίπου 2 cm και ύψους 5 cm, με άκρο κατάλληλο για διήθηση εν κενώ και εσφυρισμένο αρσενικό άκρο 12/21.
- 3.8. Κωνική φιάλη κενού των 50 ml με εσφυρισμένο θηλυκό άκρο 12/21 που μπορεί να προσαρμοστεί στη διηθητική χοάνη (3.7).
- 3.9. Δοκιμαστικός σωλήνας των 10 ml με κωνικό άκρο και πόμα ασφαλείας.
- 3.10. Χρωματογράφος αέριας φάσης κατάλληλος για λειτουργία με τριχοειδή στήλη, εξοπλισμένος με σύστημα κλασματοποίησης, αποτελούμενο από:
 - 3.10.1. Θερμοστατούμενο θάλαμο για τη στήλη, που επιτρέπει να διατηρείται η επιθυμητή θερμοκρασία με ακρίβεια ± 1 °C.
 - 3.10.2. Σύστημα εξαέρωσης με ρυθμιζόμενη θερμοκρασία και με γυάλινο σιλιανισμένο χώρο.
 - 3.10.3. Ανιχνευτή ιονισμού φλόγας και μεταλλάκτη ενισχυτή.
 - 3.10.4. Καταγραφέα-ολοκληρωτή κατάλληλο για λειτουργία με μεταλλάκτη ενισχυτή.
- 3.11. Τριχοειδής στήλη, γυάλινη ή από τεπηγμένο οξειδίο του πυριτίου, μήκους 20-30 m, εσωτερικής διαμέτρου 0,25-0,32 mm, μαλυμένη εσωτερικώς από υγρό SE-52 ή SE-54 ή ανάλογο, πάχους μεταξύ 0,10 και 0,30 μm.
- 3.12. Μικροσύριγγα για χρωματογραφία αέριας φάσης, των 10 μl, με σκληρυμένη βελόνη.

4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- 4.1. Αιθανολικό διάλυμα υδροξειδίου του καλίου περίπου 2N: διαλύονται, ψύχοντας ταυτόχρονα, 130 g υδροξειδίου του καλίου (κατώτατου τίτλου 85 %) σε 200 ml απεσταγμένου ύδατος, και συμπληρώνονται με αιθανόλη μέχρι το ένα λίτρο. Το διάλυμα διατηρείται σε σκοτεινές φιάλες, καλά κλεισμένες.
- 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 ήδη έτοιμες προς χρήση).
- 4.5. Αιθανολικό διάλυμα, υδροξειδίου του καλίου 0,2 N: διαλύονται 13 g υδροξειδίου του καλίου σε 20 ml απεσταγμένου ύδατος και συμπληρώνονται με αιθανόλη μέχρι το ένα λίτρο.
- 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 λεπτής στοιβάδος. Ένα διάλυμα % μείγματος αλκοολών C₂₀ έως C₂₈ σε χλωροφόρμιο.
- 4.12. Αιθανολικό διάλυμα 2'-7'διχλωροφλουορεσκεΐνης 0,2%. Καθίσταται ελαφρώς αλκαλικό δια της προσθήκης μερικών σταγόνων αλκοολικού διαλύματος 2N υδροξειδίου του καλίου.
- 4.13. Άνυδρη πυριδίνη, χρωματογραφικής καθαρότητας.
- 4.14. Εξαμεθυλοδισιλαζάνιο.
- 4.15. Τριμεθυλοχλωροσιλάνιο.
- 4.16. Πρότυπα διαλύματα τριμεθυλοσιλαιθέρων των αλειφατικών αλκοολών από C₂₀ έως C₂₈. Πρέπει να παρασκευάζονται κατά τη στιγμή της χρήσης τους από μείγματα καθαρών αλκοολών.
- 4.17. Διάλυμα 0,1 % (m/V) εικοσανόλης-1 σε χλωροφόρμιο (εσωτερικό πρότυπο).
- 4.18. — Φέρον αέριον: υδρογόνο ή ήλιο χρωματογραφικής καθαρότητας.
- 4.19. — Βοηθητικά αέρια: υδρογόνο, χρωματογραφικής καθαρότητας.

5. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

5.1. Παρασκευή των ασαπωνοποίητων συστατικών

- 5.1.1. Εισάγεται στη σφαιρική φιάλη των 250 ml, με τη μικροσύριγγα των 500 μl, όγκος διαλύματος εικοσανόλης-1 (*) 0,1 % σε χλωροφόρμιο (4.17), που περιέχει ποσότητα εικοσανόλης-1 που αντιστοιχεί στο 10% περίπου των περιεχομένων αλειφατικών αλκοολών στο δείγμα που πρέπει να ληφθεί για τον προσδιορισμό. Για παράδειγμα, για 5 g δείγματος, πρέπει να προστεθούν 250 μl του διαλύματος εικοσανόλης-1 0,1 % αν πρόκειται για δείγμα ελαιόλαδου ή σπορέλαιου, και 1 500 μl, αν πρόκειται για έλαιο ελαιοπυρήνων.

Εξατμίζεται το χλωροφόρμιο σε ρεύμα αζώτου μέχρι να ξηραθεί και ζυγίζονται με ακρίβεια 5 g ξηρού διηθημένου δείγματος στην ίδια σφαιρική φιάλη.

- 5.1.2. Προστίθενται 50 ml αιθανολικού διαλύματος υδροξειδίου του καλίου 2 N, συνδέεται ο κάθετος ψυκτήρας, θερμαίνεται σε υδρόλουτρο μέχρις ελαφράς ζέσεως, εξακολουθώντας να αναταράσσεται ισχυρώς έως ότου περατωθεί η σαπωνοποίηση (το διάλυμα καθίσταται διαυγές). Εξακολουθεί η θέρμανση επί 20 λεπτά, έπειτα προστίθενται 50 ml απεσταγμένου νερού από το επάνω μέρος του ψυκτήρα, αποσυνδέεται ο ψυκτήρας και ψύχεται η σφαιρική φιάλη περίπου σε 30 °C:

- 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, αναταράσσεται ισχυρώς επί 30 δευτερόλεπτα περίπου και αφήνεται να γίνει ο διαχωρισμός (Σημείωση 1).

Διαχωρίζεται η κάτω υδατική φάση συλλέγοντάς την σε άλλη διαχωριστική χοάνη. Πραγματοποιούνται δύο ακόμη εκχυλίσσεις στην υδατική φάση, κατά τον ίδιο τρόπο, χρησιμοποιώντας κάθε φορά 60-70 ml αιθυλικού αιθέρα.

Σημείωση 1: Τα γαλακτώματα που ενδεχομένως δημιουργηθούν καταστρέφονται προσθέτοντας πολύ μικρή ποσότητα αιθυλικής ή μεθυλικής αλκοόλης.

- 5.1.4. Συγκεντρώνονται τα αιθερικά εκχυλίσματα σε μία μόνο διαχωριστική χοάνη και πλένονται με απεσταγμένο νερό (50 ml κάθε φορά) μέχρις ουδέτερης αντίδρασης του νερού πλύσης.

Απομακρύνεται το νερό της πλύσης, στεγνώνονται τα αιθερικά εκχυλίσματα με άνυδρο θειικό νάτριο και διηθούνται, επί άνυδρου θειικού νατρίου σε προζυγισμένη σφαιρική φιάλη 250 ml πλένοντας φύσιγγα και φίλτρο με μικρές ποσότητες αιθυλικού αιθέρα.

(*) Μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί ενεικοσανόλη-1.

5.1.5. Αποστάζεται ο αιθέρας έως ότου απομείνει μικρή ποσότητα, έπειτα ξηραίνεται υπό ελαφρύ κενό ή σε ρεύμα αζώτου, ολοκληρώνεται η ξήρανση στον κλίβανο 100°C επί ένα τέταρτο της ώρας περίπου και ζυγίζεται αφού ψυχθεί σε ξηραντήρα.

5.2. Διαχωρισμός του κλάσματος των αλκοολών.

5.2.1. Προετοιμασία των βασικών πλακών: εμβαπτίζονται οι silica gel πλάκες (4.4), τελείως, στο αιθανολικό διάλυμα 0,2 N υδροξειδίου του καλίου (4.5) επί 10 δευτερόλεπτα, έπειτα αφήνονται να στεγνώσουν για δύο ώρες 0,2 σε σκοτινό θάλαμο και, τέλος, τοποθετούνται οι πλάκες σε κλίβανο 100°C επί μία ώρα.

Αποσύρονται από τον κλίβανο σε ξηραντήρα με χλωριούχο ασβέστιο έως ότου χρησιμοποιηθούν (οι πλάκες που έχουν επεξεργαστεί κατ' αυτόν τον τρόπο πρέπει να χρησιμοποιηθούν εντός 15 ημερών).

Σημείωση 2: Η χρήση βασικών πλακών silica gel για το διαχωρισμό του κλάσματος των αλκοολών καταργεί την ανάγκη επεξεργασίας των ασαπωνοποιητών συστατικών με αλουμίνα. Κατ' αυτόν τον τρόπο, όλα τα όξινα συστατικά (λιπαρά οξέα και άλλα) συγκρατούνται στη γραμμή εναπόθεσης. Λαμβάνεται έτσι η στοιβάδα των αλειφατικών και τερπενικών αλκοολών που διαχωρίζεται σαφώς από την στοιβάδα των στερολών.

5.2.2. Τοποθετείται στο θάλαμο αναπτύξεως μείγμα βενζολίου-ακετόνης 95/5 (V/V) μέχρι περίπου το ύψος του 1 cm. Μπορεί αντ' αυτού να χρησιμοποιηθεί και μείγμα εξανίου-αιθυλικού αιθέρα 65/35 (V/V). Σκεπάζεται ο θάλαμος και αφήνεται τουλάχιστον μισή ώρα, ώστε να αποκατασταθεί η ισοροπία υγρού/ατμού. Είναι δυνατόν να τοποθετηθούν, στα εσωτερικά τοιχώματα του θαλάμου, λωρίδες διηθητικού χάρτου βυθισμένες στο υγρό αναπτύξεως. Με τον τρόπο αυτό θα ελαττωθεί στο ένα τρίτο ο χρόνος μετακίνησης του μετάπου του υγρού και θα επιτευχθεί πιο ομοιόμορφη έκλουση.

Σημείωση 3: Προκειμένου να υπάρχουν συνθήκες έκλουσης που να μπορούν να αναπαραχθούν, το μείγμα πρέπει να αλλάζεται σε κάθε δοκιμή.

5.2.3. Παρασκευάζεται διάλυμα 5 % περίπου των ασαπωνοποιητών συστατικών (5.1.5) σε χλωροφόρμιο. Με μικροσύριγγα των 100 ml τοποθετείται επί της χρωματογραφικής πλάκας (5.2.1), σε απόσταση 2 cm από το ένα άκρο, 0,3 ml του προαναφερθέντος διαλύματος σε συνεχή γραμμή, όσο γίνεται πιο λεπτή και ομοιόμορφη. Στην ίδια ευθεία με τη γραμμή εναπόθεσης, τοποθετούνται, στο ένα άκρο της πλάκας, 2-3 ml του διαλύματος αναφοράς των αλειφατικών αλκοολών (4.11), προκειμένου να προσδιοριστεί η στοιβάδα των αλειφατικών αλκοολών μετά το πέρας της ανάπτυξης.

5.2.4. Τοποθετείται η πλάκα, που προετοιμάστηκε όπως περιγράφεται στο 5.2.2, στο θάλαμο αναπτύξεως. Η θερμοκρασία του χώρου πρέπει να διατηρείται μεταξύ 15 και 20 °C. Κλείνεται αμέσως ο θάλαμος με το σκέπασμα και αφήνεται να αναπτυχθεί μέχρις ότου το μέτωπο του διαλύτου ανέλθει σε ύψος 1 cm κάτω από το άνω ακρό της πλάκας. Εξάγεται έπειτα η πλάκα από το θάλαμο αναπτύξεως και ακολουθεί εξάτμιση του διαλύτη εντός ρεύματος θερμού αέρα ή αφήνοντας την πλάκα, για λίγο, σε απαγωγό.

5.2.5. Ψεκάζεται η πλάκα ελαφρά και ομοιόμορφα με το διάλυμα της 2'-7'δichλωροφλουορεσκεΐνης. Ταυτοποιείται η στοιβάδα των αλειφατικών αλκοολών, γάρη στην ευθυγράμμιση με την κηλίδα που λαμβάνεται με το διάλυμα αναφοράς· σημειώνεται με μαύρο μολύβι το σύνολο της στοιβάδας των αλειφατικών αλκοολών και της αμέσως ανώτερης που αντιστοιχεί στις τερπενικές αλκοόλες.

Σημείωση 4: Η διευκρίνιση να ληφθεί μαζί με τη στοιβάδα των αλειφατικών αλκοολών, και η στοιβάδα των τερπενικών, οφείλεται στο γεγονός ότι σε αυτή, υπό τις συνθήκες της μεθόδου, συγκεντρώνονται σημαντικές ποσότητες αλειφατικών αλκοολών.

5.2.6. Ξύνεται με μεταλλική σπάτουλα το silica gel που βρίσκεται στη στοιβάδα που προσδιορίστηκε. Το υλικό που συλλέγεται λεπτά κονιοποιημένο, εσάγεται σε διηθητική χοάνη (3.7)· προστίθενται 10 ml θερμού χλωροφόρμιου, ανακατεύεται προσεκτικά με τη μεταλλική σπάτουλα και διηθείται εν κενώ· έπειτα συλλέγεται το διήθημα στη φιάλη (3.8) που συνδέεται με τη διηθητική χοάνη.

Ξεπλένεται το υπόλειμμα στη χοάνη τρεις φορές με αιθυλικό αιθέρα (περίπου 10 ml κάθε φορά) και συλλέγεται και πάλι το διήθημα στη φιάλη που έχει προσαρμοστεί στη διηθητική χοάνη. Εξατμίζεται το διήθημα μέχρι όγκου περίπου 4-5 ml, μεταγγίζεται το υπόλοιπο διάλυμα στον προζυγισμένο σωλήνα των 10 ml (3.9), ξηραίνεται, θερμαίνοντας ελαφρώς σε ελαφρύ ρεύμα αζώτου, προστίθενται μερικές σταγόνες ακετόνης, ξηραίνεται και πάλι, τοποθετείται για 10 λεπτά περίπου σε κλίβανο 105 °C και έπειτα αφήνεται να ψυχθεί στον ξηραντήρα και ζυγίζεται.

Το υπόλειμμα που μένει στο σωλήνα αποτελείται από το αλκοολικό κλάσμα.

5.3. Παρασκευή των τριμεθυλοσιλιλαιθέρων

5.3.1. Προστίθεται, στο σωλήνα που περιέχει το αλκοολικό κλάσμα, το αντιδραστήριο σιλανοποίησης, που αποτελείται από μείγμα πυριδίνης-εξαμεθυλοδισιλαζανίου-τριμεθυλοχλωροσιλανίου 9/3/1 (V/V/V) (Σημείωση 5), σε αναλογία 50 ml ανά mg αλειφατικών αλκοολών, αποφεύγοντας οποιαδήποτε απορρόφηση υγρασίας (Σημείωση 6).

Σημείωση 5: Στο εμπόριο υπάρχουν διαλύματα έτοιμα προς χρήση· εξάλλου, άλλα αντιδραστήρια σιλανοποίησης όπως είναι παραδείγματος χάρι, η δις-τριμεθυλοσιλιτριφλουορ ακεταμίδη + 1% τριμεθυλοχλωροσιλιάνιο που διαλύεται σε ίσο όγκο άνυδρης πυριδίνης, είναι επίσης διαθέσιμα.

- 5.3.2. Κλείνεται ο σωλήνας, ανακινείται προσεκτικά (χωρίς να τον αναστρέψουμε), μέχρι πλήρους διαλυτότητας των αλειφατικών αλκοολών. Αφήνεται σε ηρεμία επί 15 λεπτά τουλάχιστον, σε θερμοκρασία δωματίου, έπειτα φυγοκεντρείται για μερικά λεπτά: το διαυγές διάλυμα είναι έτοιμο για αεριαχρωματογραφική ανάλυση.
- Σημείωση 6:* 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 αντιδραστήριου. Σ' αυτή την περίπτωση, η δοκιμή πρέπει να επαναληφθεί.
- 5.4. Ανάλυση δια χρωματογραφίας αέριας φάσης
- 5.4.1. Προκαταρκτικές ενέργειες, ρύθμιση συνθηκών λειτουργίας της στήλης.
- 5.4.1.1. Τοποθετείται η στήλη στο χρωματογράφο αέριας φάσης, συνδέοντας το άκρο εισόδου στον εξαερωτή που είναι συνδεδεμένος με το σύστημα κλασματοποίησης και το άκρο εξόδου προς τον ανιχνευτή. Ελέγχεται γενικά η μονάδα του αερίου χρωματογράφου (διαρροές στα κυκλώματα των αερίων, διαχωριστική ικανότητα του ανιχνευτή, διαχωριστική ικανότητα του συστήματος κλασματοποίησης και του συστήματος καταγραφής κ.λπ.).
- 5.4.1.2. Αν η στήλη χρησιμοποιείται για πρώτη φορά, συνιστάται να πραγματοποιηθεί κοντισιονάρισμα. Αφήνεται να διέλθει μια ελαφρά ροή αερίου διαμέσου της στήλης, ανάβεται ο αέριος χρωματογράφος και θερμαίνεται σταδιακά έως ότου επιτευχθεί θερμοκρασία τουλάχιστον 20 °C μεγαλύτερη από εκείνη της λειτουργίας (Σημείωση 7). Διατηρείται τη θερμοκρασία αυτή τουλάχιστον επί δύο ώρες, έπειτα τίθεται το σύστημα σε λειτουργία (ρύθμιση της ροής αερίων και του splitting, 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 με ευαισθησία τουλάχιστον δύο φορές μεγαλύτερη από εκείνη που προβλέπεται για την πραγματοποίηση της ανάλυσης. Το ίχνος της γραμμής βάσεως που λαμβάνεται πρέπει να είναι γραμμικό χωρίς κορυφές οιασδήποτε φύσεως και δεν πρέπει να παρουσιάζει παρεκκλίσεις.
- Ευθύγραμμη αρνητική παρέκκλιση αποτελεί ένδειξη διαρροής στις συνδέσεις της στήλης· θετική παρέκκλιση αποτελεί ένδειξη ανεπαρκούς κοντισιοναρίσματος της στήλης.
- Σημείωση 7:* Η θερμοκρασία κοντισιοναρίσματος πρέπει να είναι πάντα τουλάχιστον 20 °C μισότερη από τη μέγιστη προβλεπόμενη θερμοκρασία για τη χρησιμοποιούμενη στατική φάση της στήλης.
- 5.4.2. Επιλογή των συνθηκών λειτουργίας
- 5.4.2.1. Οι προτεινόμενες συνθήκες λειτουργίας είναι οι ακόλουθες:
- θερμοκρασίες της στήλης: ισόθερμη εκκίνηση 8' σε 180 °C, έπειτα προγραμματισμός 5 °C/λεπτό έως τους 260 °C, έπειτα 15' στους 216 °C,
 - θερμοκρασία του συστήματος εξαέρωσης: 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 των οργάνων από 4 έως 16 φορές της ελάχιστης ευαισθησίας,
 - ευαισθησία καταγραφής: 1 έως 2 mV στην βασική κλίμακα,
 - ταχύτητα του χαρτίου: 30 έως 60 cm/ώρα,
 - ποσότητα της εγχέομενης ουσίας: 0,5 σε 1 μl του διαλύματος των TMSE.
- Οι προϋποθέσεις αυτές μπορούν να τροποποιηθούν, ανάλογα με τα χαρακτηριστικά της στήλης της χρωματογραφίας αέριας φάσης, κατά τέτοιο τρόπο ώστε να λαμβάνονται χρωματογραφήματα που να πληρούν τους ακόλουθους όρους:
- ο χρόνος κατακράτησης της αλκοόλης στο C₂₆ πρέπει να είναι 18 ± 5 λεπτά.
 - η κορυφή της αλκοόλης στο C₂₂ πρέπει να είναι 80 ± 20 % της πλήρους κλίμακας για ελαιόλαδα και, για το σπορέλαιο, 40 ± 20 % της κλίμακας.
- 5.4.2.2. Για να εξακριβωθούν οι προϋποθέσεις που αναφέρονται παραπάνω, πραγματοποιούνται επανειλημμένες εγχύσεις με τα δείγματα του μείγματος των TMSE των αλκοολών και βελτιώνονται οι συνθήκες λειτουργίας έως ότου επιτευχθούν τα καλύτερα αποτελέσματα.
- 5.4.2.3. Οι παράμετροι ολοκλήρωσης των κορυφών πρέπει να τίθενται κατά τέτοιο τρόπο ώστε να λαμβάνονται οι σωστές τιμές για τις εξεταζόμενες κορυφές.
- 5.4.3. Εκτέλεση της ανάλυσης.
- 5.4.3.1. Λαμβάνεται, με τη μικροσύριγγα των 10 μl εξανίου, αναρροφούνται 0,5 μl αέρα και έπειτα 0,5 + 1 μl του διαλύματος του δείγματος· επίσης, πρέπει να τραβηχτεί το έμβολο της σύριγγας, ώστε η βελόνα να είναι άδεια. Εισάγεται η βελόνα δια της μεμβράνης του συστήματος έγχυσης και, μετά από 1-2 δευτερόλεπτα, πραγματοποιείται η έγχυση γρήγορα και βγαίνει η βελόνα αργά, μετά από 5 δευτερόλεπτα περίπου.
- 5.4.3.2. Προχωρεί η καταγραφή μέχρι πλήρους έκλουσης των TMSE των υπαρχουσών αλειφατικών αλκοολών.
- Η γραμμή βάσης πρέπει πάντα να πληροί τις απαιτούμενες προϋποθέσεις (5.4.1.2).
- 5.4.4. Ταυτοποίηση των κορυφών.
- Η ταυτοποίηση των κορυφών πραγματοποιείται με βάση το χρόνο κατακράτησης και σε σύγκριση με το μείγμα των TMSE των αλειφατικών αλκοολών, που αναλύθηκε υπό τις ίδιες συνθήκες. Το σχήμα 1 παρουσιάζει χρωματόγραμμα του αλκοολικού κλάσματος παρθένου ελαιολάδου.
- 5.4.5. Ποσοτική αξιολόγηση
- 5.4.5.1. Πραγματοποιείται με τον ολοκληρωτή ο υπολογισμός του εμβαδού των κορυφών της εικοσανόλης-1 και των αλειφατικών αλκοολών από το C₂₂ ως το C₂₈.

- 5.4.5.2. Υπολογίζεται η συγκέντρωση για κάθε αλειφατική αλκοόλη, σε mg/100 g της λιπαρής ουσίας, ως εξής:

$$\text{αλκοόλη } x = \frac{A_x \cdot m_s \cdot 100}{A_s \cdot m}$$

όπου:

A_x = εμβαδόν κορυφής της αλκοόλης x, σε τετραγωνικά χιλιοστά,

A_s = εμβαδόν κορυφής της εικοσανόλης-1, σε τετραγωνικά χιλιοστά,

m_s = βάρος εικοσανόλης-1 που προστέθηκε, σε χιλιοστά του γραμμαρίου,

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

6. ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

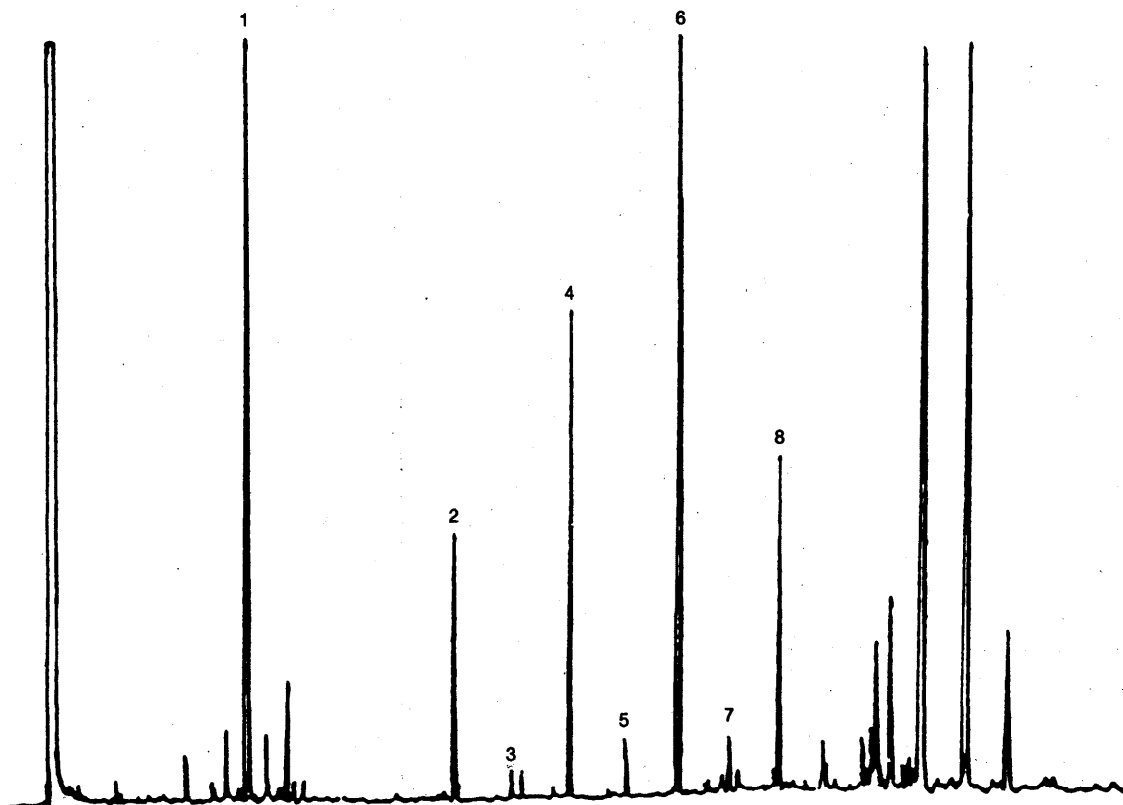
Αναφέρονται α συγκεντρώσεις σε μομονωμένες αλειφατικές αλκοόλες σε mg/100 g λιπαρής ουσίας, και το σύνολο τους ως «ολικές αλειφατικές αλκοόλες».

ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑ

Προσδιορισμός της γραμμικής ταχύτητας του αερίου.

Στο χρωματογράφο αέριας φάσης, ο οποίος έχει ρυθμιστεί σε κανονικές συνθήκες λειτουργίας, εγχέονται 1 έως 3 μl μεθανίου (ή προπανίου) και χρονομετρείται ο χρόνος που χρειάζεται το αέριο για να διέλθει μέσω της στήλης, από τη στιγμή της έγχυσης έως την εμφάνιση της κορυφής (t_M).

Η γραμμική ταχύτητα σε cm/s δίδεται από το L/t_M , όπου L είναι το μήκος της στήλης σε εκατοστά και t_M ο χρόνος που έχει χρονομετρηθεί σε δευτερόλεπτα.



Σχήμα 1: Χρωματογράμμα αλκοολικού κλάσματος παρθένου ελαιόλαδου

- | | |
|-------------|-------------|
| 1 = αλκοόλη | 5 = αλκοόλη |
| 2 = αλκοόλη | 6 = αλκοόλη |
| 3 = αλκοόλη | 7 = αλκοόλη |
| 4 = αλκοόλη | 8 = αλκοόλη |

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 τριμεθυλοσιλilαιθέρες 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 ιονισμού φλόγας 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 διάλυμα διατηρείται μέσα σε 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 0,5 % σε χλωροφόρμιο.
- 4.12. Αιθανολικό διάλυμα 2'-7' διχλωροφλονορεσκείνης 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 ασαπωνοποιητών 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 α-χολεπανόλης 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 ml διαλύματος α-χολεστανόλης 0,2 %, εάν πρόκειται για δείγμα ελαιολάδου, και 1 500 ml, εάν πρόκειται για σπορέλαιο ή ηρηνέλαιο.

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

Στην περίπτωση των ελαίων και ζωικών ή φυτικών λιπών 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.
 - 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 σαπωνοποίηση (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.
 - 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 εκχυλίσσεις 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 έκλυση.
- Σημείωση 3:* Για να υπάρξουν αναπαραγώγιμες συνθήκες έκλυσης, 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 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' διχλωροφλουοροσκείνης. 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 κονιοποιημένο, 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, μεταγγίζεται 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-εξαμεθυλοδιισιλαζάνιου-τριμεθυλοχλωρισιλάνιου 9/3/1 (V/V/V) (Σημείωση 4) σε αναλογία 50 μl ανά χιλιστό του γραμμαρίου των στερολών, αποφεύγοντας κάθε απορρόφηση υγρασίας (Σημείωση 5).
- Σημείωση 4:* Υπάρχουν στο εμπόριο διαλύματα έτοιμα προς χρήση: επιπλέον, άλλα αντιδραστήρια σιλανοποίησης όπως, για παράδειγμα, το δις-τριμεθυλοσιλακαταμίδιο + 1% τριμεθυλοχλωρισιλάνιο διαλυμένο με τον ίδιο όγκο ανόδρης 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 αντιδραστήριου. 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 εξαερωτή 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 κοντισιοναριστεί. Περνάται ένα ελαφρό ρεύμα αερίου δια μέσου αυτής της στήλης, έπειτα ανάβεται το σύνολο της χρωματογραφίας 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 κλίμακας, για το σογέλαιο (μέσο περιεχόμενο 20%) 80 ± 10% της πλήρους κλίμακας,
 - πρέπει να γίνεται διαχωρισμός όλων των υπαρχουσών 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 ψερα βγαίνει η βελόνα αργά, μετά από 5 δευτερόλεπτα περίπου.
- 5.4.3.2. Η καταγραφή προχωρά μέχρι την πλήρη έκλυση 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
- 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 εκλύονται με την ακόλουθη σειρά: χοληστερόλη, βρασικαστερόλη, 24-μεθυλένιο-χοληστερόλη, καμπεστερόλη, καμπεστανόλη, στιγμαστερόλη, Δ7 καμπεστερόλη, Δ5, 23 στιγμασταδιενόλη, χλεροστερόλη, Β-σιτοστερόλη, σιτοστανόλη, Δ5-αβεναστερόλη, 5,24 στιγμασταδιενόλη, Δ7-στιγμαστανόλη, 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, σε τετραγωνικά χιλιοστά,
 A_s = εμβαδόν της κορυφής της α-χολεστανόλης, σε τετραγωνικά χιλιοστά,
 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 όλων 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 χρονομετράται 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.

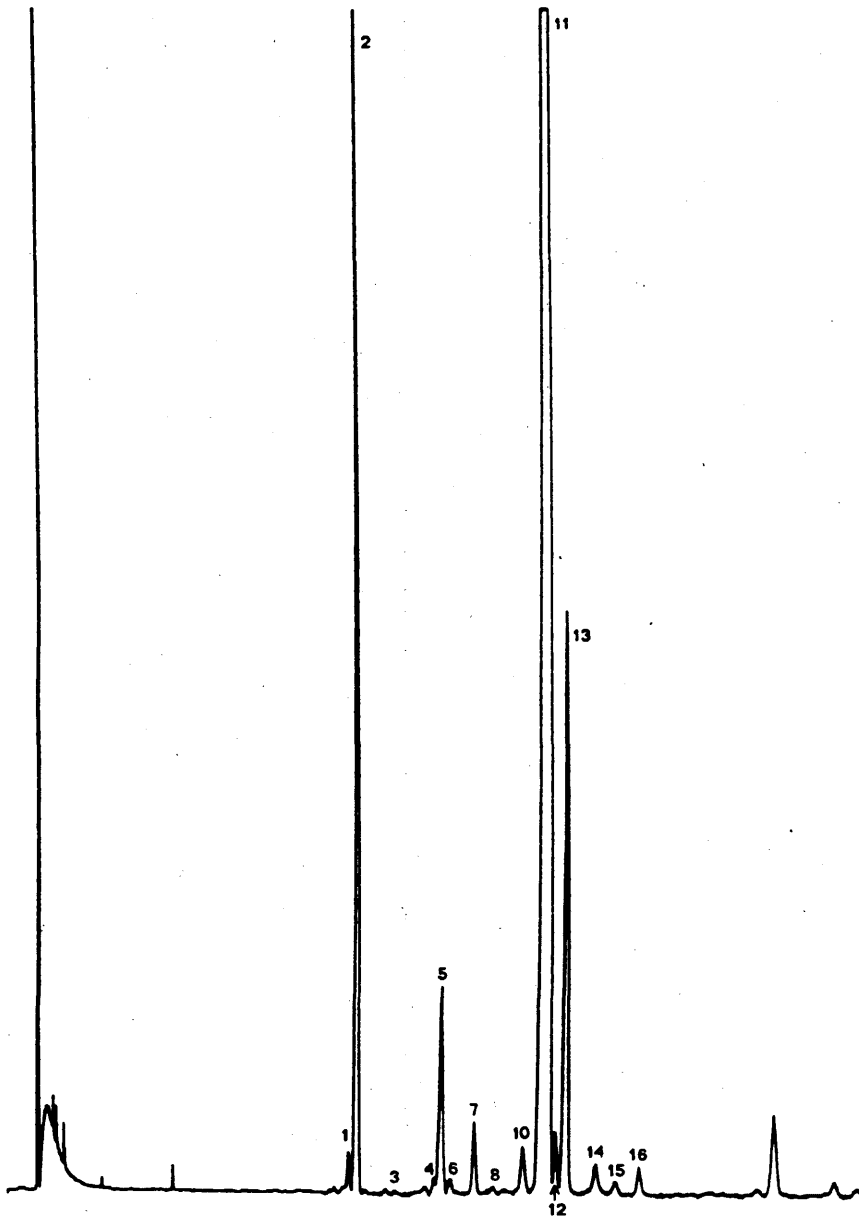
Πίνακας I

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	χοληστανόλη	5α-χολησταν-3β-ολη	0,68	0,64
3	βρασικαστερόλη	[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	χλεροστερόλη	[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 στιγμαστα-διενόλη	[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	αβεναστερόλη	[24Z]-24-αιθυλιδεν-Δ7-χολεστεν-3β-ολη	1,16	1,16

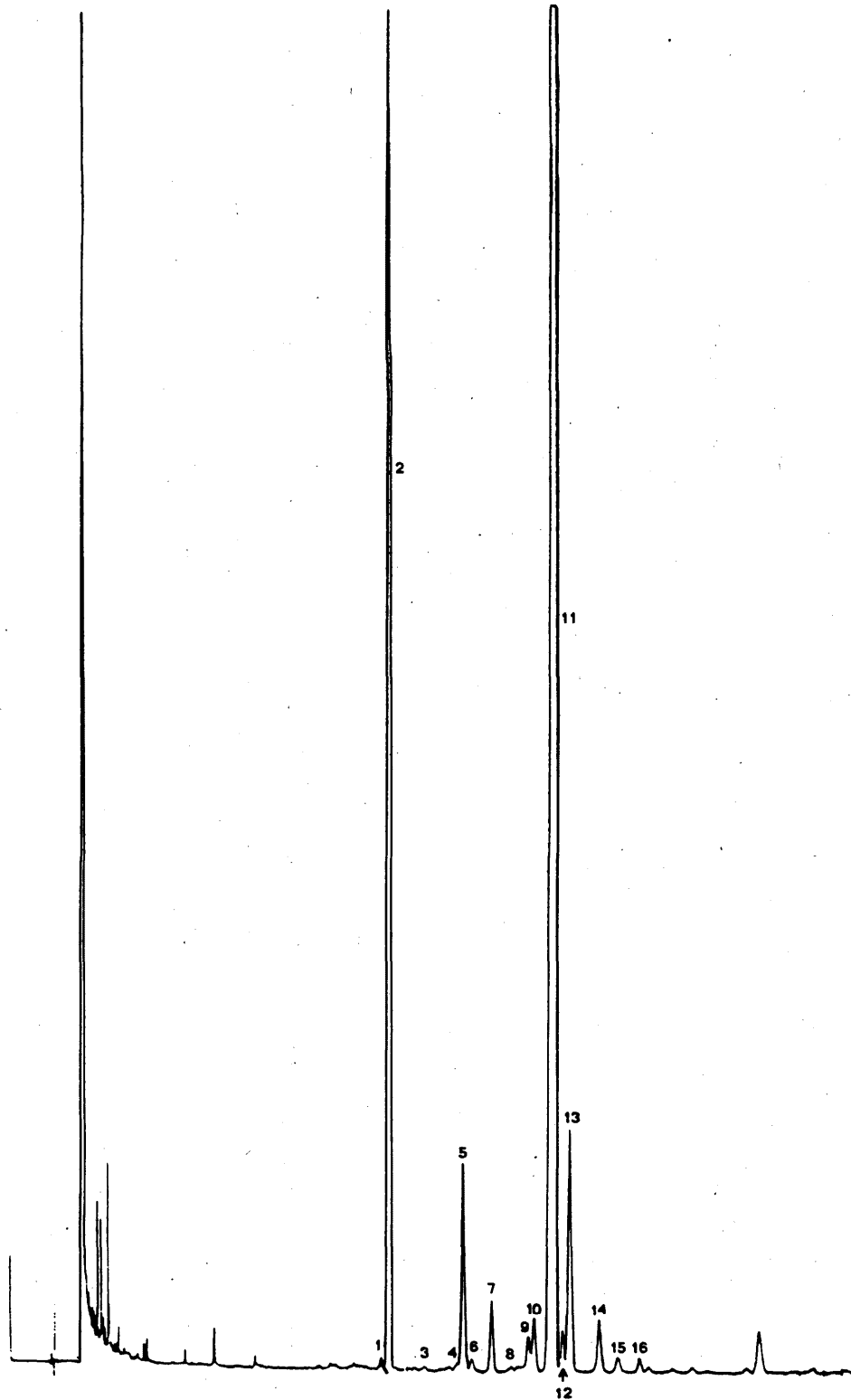
Σχήμα 1

Χρωματογραφία αέριας φάσης του στερολικού κλάσματος ακατέργαστου ελαιολάδου



Σχήμα 2

Χρωματογραφία αέριας φάσης του στερολικού κλάσματος εξευγενισμένου ελαιολάδου



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 αλουμίνας.

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 τριμεθυλοσιλυλοαιθέρους 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 ασαπωνοποιητών.

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 ασαπωνοποιητών 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.

5.2.5. Η πλάκα ψεκάζεται ελαφρά και ομοιόμορφα με το αλκοολικό διάλυμα της 2'-7' διχλωροφθοροισκεΐνης. Όταν η πλάκα παρατηρείται υπό υπεριώδες φως, οι στοιβάδες των στερολών και της ερυθροδιόλης μπορούν να αναγνωρισθούν από την ευθυγράμμισή 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 τριμεθυλοσιλυλοαιθέρων.

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:

A_1 = εμβαδό κορυφής ερυθροδιόλης, σε τετραγωνικά χιλιοστόμετρα,

A_2 = εμβαδό κορυφής ουβαόλης, σε τετραγωνικά χιλιοστόμετρα,

$\Sigma A_{\text{στερολών}}$ = ολικό εμβαδό κορυφών στερολών, σε τετραγωνικά χιλιοστόμετρα.

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 μέθοδο προσδιορισμού της σύστασης 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 των ιδιομορφιών της 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 αλουμίνιας. 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 αέρια-υγρή 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 πώμα.
- 4.8. Σωλήνας φυγοκέντρησης των 10 ml, με πώμα από αδιαφανές γυαλί.
- 4.9. Προχοίδα 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 εκαερωτής.
- 4.19. Δονούμενος ηλεκτρικός αναμεικτής, κατάλληλος για ζωρή ανατάραξη του σωλήνα της φυγοκέντρησης.
- 4.20. Λυχνία υπεριώδους 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-εξάνιο, 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. Υδροξείδιο νατρίου σε υδατικό διάλυμα (120 g/l).
- 5.12. Υδροχλωρικό οξύ σε υδατικό διάλυμα (6 N).
- 5.13. Χλωριούχο ασβέστιο (CaCl_2) 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 τρι-υδροξυμεθυλαμινομεθανίου φέρεται σε pH 8 με προσθήκη υδροχλωρικού οξέος (5.12) (έλεγχος με ποτενσιόμετρο).
- 5.16. Φαινολοφθαλείνη σε διάλυμα (10 g/l) σε 95 % (V/V) αιθανόλη.
- 5.17. 2',7' Διχλωροφλουορεσκείνη 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. Υδροξείδιο νατρίου σε υδατικό διάλυμα (0,1 N).
- 5.20. Χολικό νάτριο (ενζυματική ποιότητα) σε υδατικό διάλυμα (200 g/l).
- 5.21. Αραβικό κόμμι 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 άλκαλι παρουσία διαλύτη κατά την 6.1, κατόπιν διέρχεται από αλουμίνα όπως υποδεικνύεται στο σημείο 6.2.

- 6.1. Εξουδετέρωση άλκαλι 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 (5.2), λίγες σταγόνες διαλύματος φαινολοφθαλείνης (5.16) και μία ποσότητα του διαλύματος υδροξειδίου νατρίου (5.11) αντιστοιχούσα στην ελεύθερη οξύτητα του ελαίου συν 0,3 % επιπλέον. Δοноούνται ζωηρά επί ένα λεπτό, προστίθενται 50 ml απεσταγμένου νερού, δοноούνται ξανά και αφήνονται να ηρεμήσουν.

Μετά το διαχωρισμό, απομακρύνεται το στρώμα σάβωνα 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 φαινολοφθαλείνης 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 τελείως 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 εκλούσματος 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 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 πάμα, αναδεύεται προσεκτικά (αποφεύγεται η ύγρανση του πάματος) 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 ανατάρασσεται 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.

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

8.3. Ανάλυση των μονογλυκεριδίων με αέρια-υγρή 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 σύσταση 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 ελαίου (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. Αναγινώσκεται ο όγκος του διαλύματος αλκάλειας 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 χρησιμοποιηθείσας 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 συνδεδετικός ιστός και 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 1/1 (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.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ VIII

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΩΝ

1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ

Προσδιορισμός της περιεκτικότητας των τριγλυκεριδίων σε υγρά φυτικά έλαια σε όρους του ισοδύναμου αριθμού άνθρακος αυτών με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης.

Το παρόν κείμενο περιγράφει μια μέθοδο διαχωρισμού και ποσοτικού προσδιορισμού της σύστασης των τριγλυκεριδίων φυτικών ελαίων σε όρους του μοριακού τους βάρους και το βαθμό ακορεστότητας σαν συνάρτηση του ισοδύναμου αριθμού άνθρακα αυτών (βλέπε σημείωση 1).

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 ημι-στερεών 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 ανοξείδωτο 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 απαερωμένοι, 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, τριολείνη 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).

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 μl 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 $ECN = CN - 2n$, 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 n_0 , n_1 και n_{11} είναι οι αριθμοί των διπλών δεσμών που αποδίδονται στο ελαϊκό, λινελαϊκό και λινολενικό οξύ αντίστοιχα, ο ισοδύναμος αριθμός άνθρακα μπορεί να υπολογιστεί μέσα από μία σχέση της μορφής:

$$ECN = CN - d_0 n_0 - d_1 n_1 - d_{11} n_{11},$$

όπου οι συντελεστές d_0 , d_1 και d_{11} μπορούν να υπολογιστούν με χρήση των τριγλυκεριδίων αναφοράς. Κάτω από τις συνθήκες που καθορίζονται σε αυτή τη μέθοδο, η λαμβανόμενη σχέση θα είναι περίπου:

$$ECN = CN - (2,60 n_0) - (2,35 n_1) - (2,17 n_{11})$$

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 τριελαΐνη,

$$\alpha = RT'/RT'_{\text{ολεΐνης}}$$

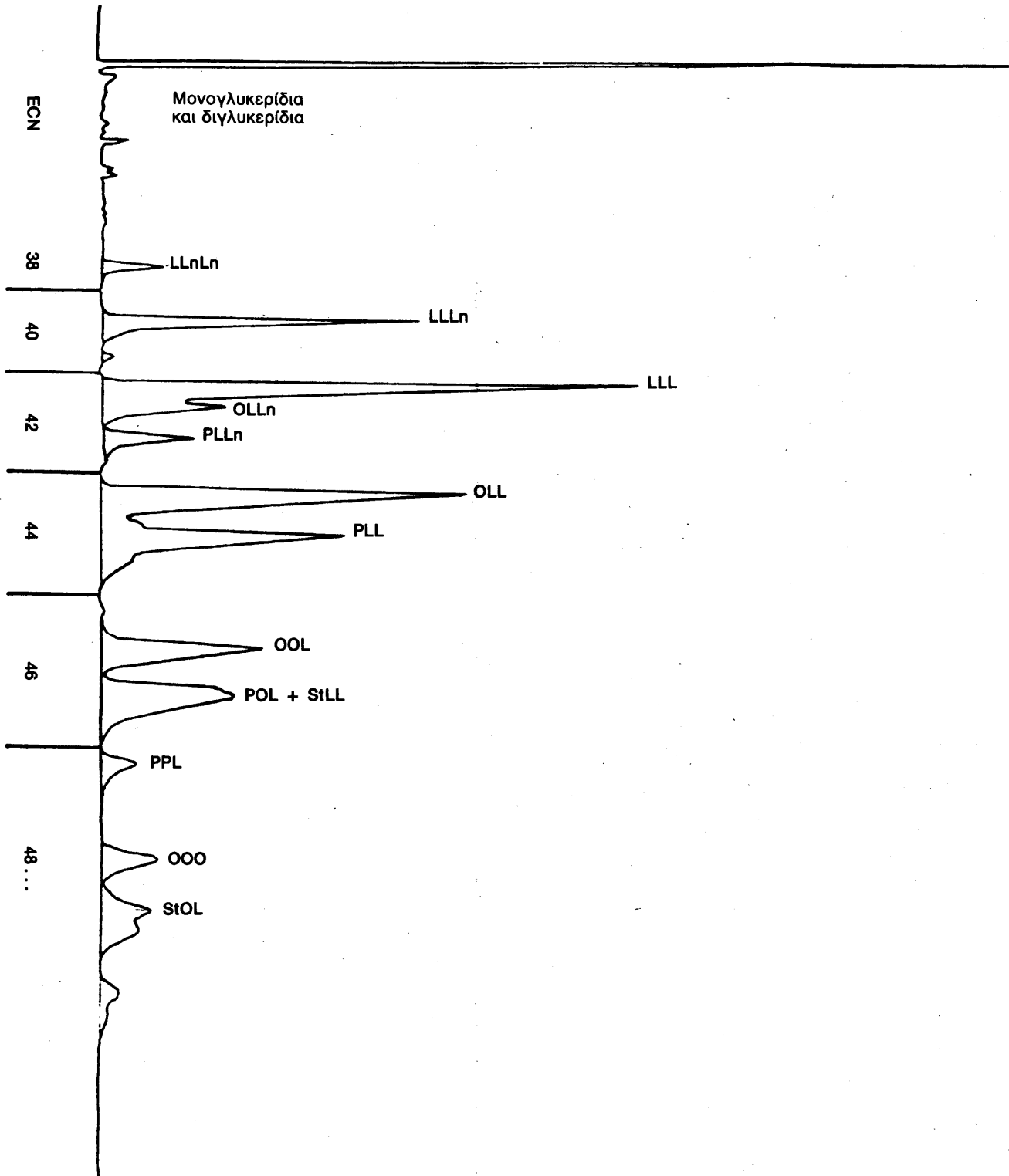
χρησιμοποιώντας τον ανηγμένο χρόνο κατακράτησης $RT' = RT - RT_{\text{διαλύτη}}$

Το διάγραμμα των τιμών του $\log \alpha$ 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 τριλινολεΐνης από της κορυφές των τριγλυκεριδίων με συνεχόμενο RT.

Σχήμα 1

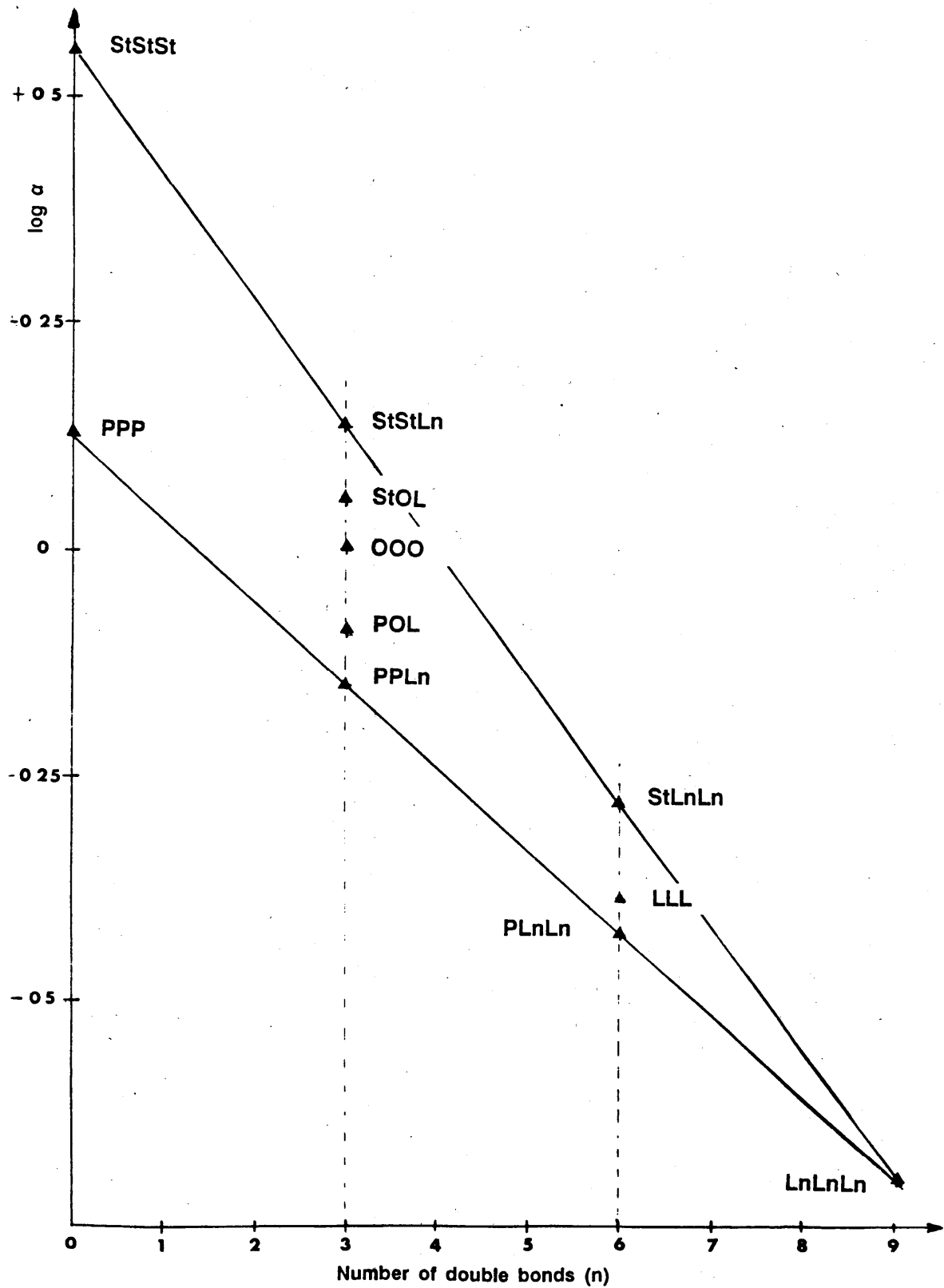
Χρωματογράφημα δείγματος σογιέλαιου



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

Σχήμα 2

Διάγραμμα του log α σε συνάρτηση του f (αριθμός διπλών δεσμών)



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

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΧ

ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ ΣΤΟ ΥΠΕΡΙΩΔΕΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

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

Η απορρόφηση στα μήκη κύματος που καθορίζονται στη μέθοδο οφείλεται στη παρουσία συστημάτων συζευγμένων διένιων και τριένιων. Οι απορροφήσεις αυτές εκφράζονται ως ειδικές αποσβέσεις $E_{1\text{ cm}} 1\%$ (η απόσβεση διαλύματος 1% του λίπους στον ορισμένο διαλύτη, σε πάχος 1 cm) συμβατικά παριστάμενες 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.
- 3.4. Χρωματογραφική στήλη μήκους 450 mm και διαμέτρου 35 mm με σωλήνα εκροής διαμέτρου περίπου 10 mm.

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,
ή
— άλλο κατάλληλο διαλύτη ικανό να διαλύει πλήρως το λίπος (παραδείγματος χάρη αιθυλική αλκοόλη για καστορέλαιο).
- 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 μέσα από χάρτη σε θερμοκρασία περίπου 30 °C, σκληρά λίπη πρέπει να 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 μέσα από χάρτη.
- 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 διέλευση μέσα, από αλουμίνα, 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 εξάνιο και το διάλυμα εκχέεται 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.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ I

Προετοιμασία της αλουμίνας και έλεγχος της ενεργότητάς της

A1.1. Προετοιμασία της αλουμίνας

Αλουμίνα, προηγούμενα αποξηραθείσα 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,
- 5 % αραχιδέλαιο επεξεργασμένο με γη κατά τη διαδικασία εξευγενισμού, με ειδική απόσβεση όχι μικρότερη από 4 στα 268 nm μέσα από τη στήλη.

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 αφυδρογόνωσης.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ II

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 $0,2 \pm 0,005$.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Χ«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 (ραικεδ) 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 ΧΒ.

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 ξηραθεί 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 οργανικές προσμείξεις.

2.3. Πρότυπο αναφοράς

Μείγμα μεθυλεστέρων 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 φλογός ιονισμού. 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 στοιχεία:

3.1.1. Σύστημα έγχυσης του δείγματος

Χρησιμοποιείται σύστημα έγχυσης του δείγματος

α) είτε με κοινές στήλες, με το λιγότερο δυνατό μη 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.

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 διοξείδιο του πυρυτίου.

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 (pocued 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 άλυσο (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 πλήρωσεως της στήλης, που αποτελείται από τα ακόλουθα στοιχεία:
- α) *υπόστρωμα:* Γη διατόμων, που έχει υποβληθεί σε έκπλυση με οξύ και σιλανοποίηση 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 βουτανодиόλη, πολυοδιθική αιθυλενογλυκόλη κ.λπ.), κυανοσιλικόνες ή οποιαδήποτε άλλη φάση επιτρέπει τον απαιτούμενο διαχωρισμό (βλέπει διάταξη 5). Η ακίνητη φάση θα πρέπει να καταλαμβάνει ποσοστό 5% (m/m) έως 20% (m/m) του υλικού πλήρωσεως. 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 διοξείδιο 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 (πολυαιθυλενογλυκόλη) 20 000, πολυεστέρα (πολυηλεκτρική βουτανодиόλη) 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 0,2 μm.
- 3.1.4.3. Συναρμολόγηση και προετοιμασία (κοντισιονάρισμα) της στήλης. Κατά τη συναρμολόγηση των τριχοειδών στηλών τηρούνται οι συνθήκες 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 25 mm 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 γραμμική 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 καταγραφά, απαιτείται ηλεκτρονικός καταγραφάας μεγάλης ακρίβειας, συμβατός με τις χρησιμοποιούμενες συσκευές. Ο καταγραφάας 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 καταγραφάα 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 8,4 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·
- 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

Συγκέντρωση 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, έστω 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:

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

ενώ η διακριτική ικανότητα, R με τον τύπο:

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

όπου:

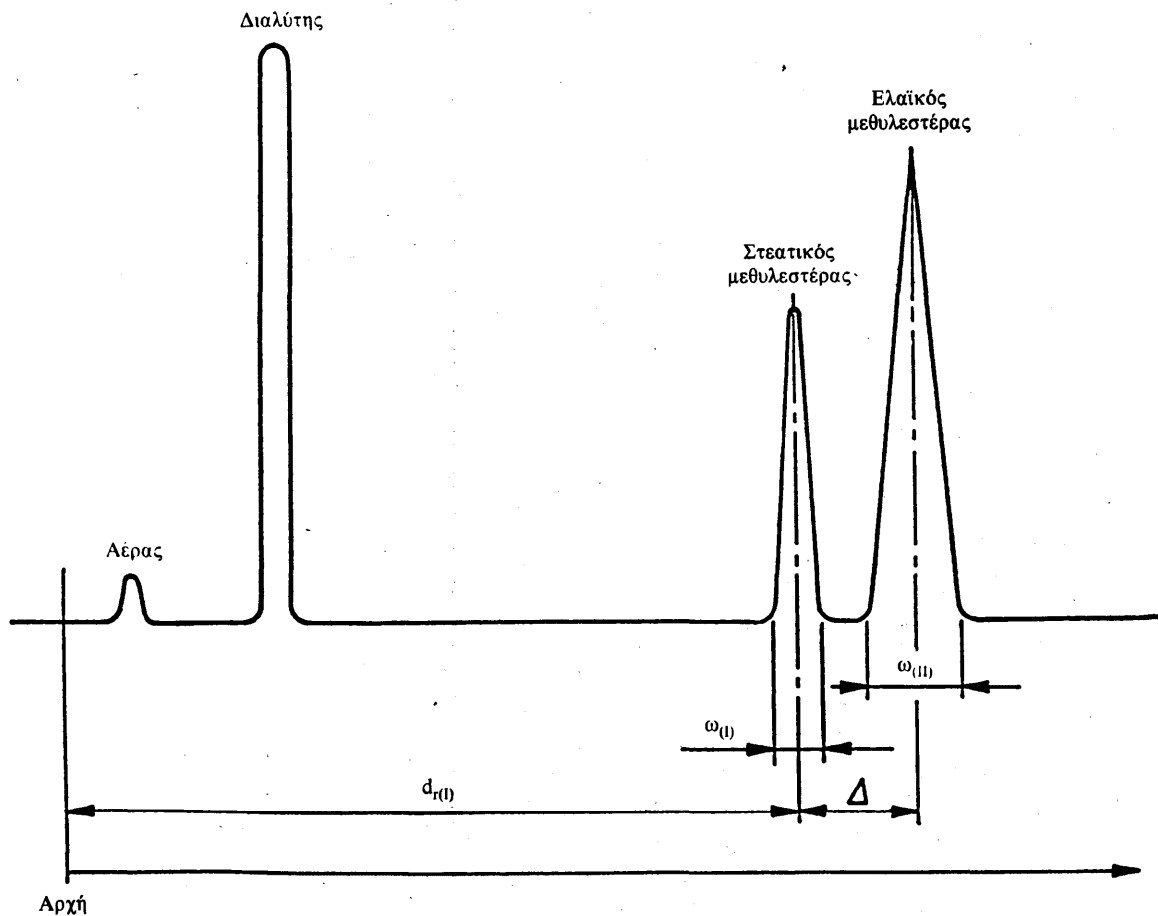
$d_{r(I)}$ = είναι η απόσταση κατακράτησης, σε χιλιοστόμετρα, από την αρχή του χρωματογραφήματος μέχρι το μέγιστο της κορυφής που αντιστοιχεί στο στεατικό μεθυλεστέρα,

$\omega_{(I)}$ και $\omega_{(II)}$ = είναι τα πλάτη, σε χιλιοστόμετρα, 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 χιλιοστόμετρα, μεταξύ των μεγίστων των κορυφών που αντιστοιχούν στο στεατικό μεθυλεστέρα και στον ελαϊκό μεθυλεστέρα.

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 εγχέονται στη στήλη.

Σε περίπτωση που οι εστέρες δεν είναι διαλυμένοι, παρασκευάζεται διάλυμα συγκεντρώσεως περίπου 100 mg/ml σε επτάνιο χρωματογραφικής καθαρότητας, από το οποίο εγχέονται 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 άριστη τιμή με ταχύτητα 4 °C/min έως 8 °C/min. Σε ορισμένες περιπτώσεις, μπορεί να γίνει συνδυασμός των δύο τεχνικών.

Μετά τη θέρμανση με προγραμματισμό θερμοκρασίας, συνεχίζεται η έκλουση σε σταθερή θερμοκρασία, μέχρι να εκλουθούν 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 $C_{28:8}$ 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 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:

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

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.

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, βλέπε σημείο 5.2.2.2.

5.2.2.2. Χρήση συντελεστών διορθώσεως

Σε ορισμένες περιπτώσεις, παραδείγματος χάρι 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:

$$\frac{m_i}{\Sigma_m} \times 100$$

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

$$K_i = \frac{m_i \times \Sigma_A}{A_i \times \Sigma_m}$$

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 χάρι όταν ο ποσοτικός προσδιορισμός δεν αφορά όλα τα λιπαρά οξέα, όπως στην περίπτωση ταυτόχρονης παρουσίας οξέων με 4 και 6 άτομα 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_{C16}),

K'_s = είναι ο συντελεστής διορθώσεως για το εσωτερικό πρότυπο (σχετικός, ως προς τον K_{C16}),

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.

6. 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 (καθαρομετρο). 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.

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

7. ΕΚΘΕΣΗ ΔΟΚΙΜΗΣ

Στην έκθεση δοκιμής περιγράφονται αναλυτικά 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«B»

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

Η παρουσία ασαφονοποίητων 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 θεικό διμεθυλεστέρα·
- ε) με μεθανόλη-εξάνιο θεικού 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 εσμυρισμένους συνδέσμους.
- 3.2. Ογκομετρικός κύλινδρος των 50 ml.
- 3.3. Βαθμολογημένο σιφώνιο των 5 ml με υποδιαίρεσεις 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.
- 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 προξηραθεί 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 σιφώνιο του 1 ml με υποδιαίρεσεις 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 προξηραθεί 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.

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 πλήρωσεως 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 φυγοκέντρηση 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 διαχρίζονται 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 πόμα 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.
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 θεικού 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 κυανόν 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 1/4 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. Σιφόνιο 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: άνυδρη 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 μεταγίγεται ποσοτικά σε διαχωριστική χοάνη των 50 ml, με τη βοήθεια 10 ml αποσταγμένου νερού και 10 ml πετρελαϊκού αιθέρα. Η χοάνη ανακινείται ζωηρά 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 θειικού νατρίου και το μείγμα αναδεύεται, αφήνεται σε ηρεμία λίγα λεπτά και διηθείται: το διάλυμα 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 θειικού οξέος ($p = 1,84$). Το εκλυόμενο αέριο ξηραίνεται εύκολα με τη διοχέτευσή του μέσω πυκνού θειικού 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 πώμα, 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 ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΣΕ ΑΛΟΓΟΝΟΥΧΟΥΣ ΠΗΤΤΙΚΟΥΣ 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, σε 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, προσαρμοσμένη στην ανίχνευση με σύλληψη ηλεκτρονίων.
 - 2.5. Γυάλινα φιαλίδια 10 ως 15 ml, με επένδυση από τεφλόν και ένα πάμα 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 πηττικοί διαλύτες σε βαθμό καθαρότητας κατάλληλο για χρησιμοποίηση αερίου χρωματογραφίας.
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 εγχύουμε 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. Ποσοτικός περιορισμός. 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 τυπώνονται 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 ΛΕΞΙΟΛΟΓΙΟ ΤΗΣ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

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

4. ΕΙΔΙΚΟ ΛΕΞΙΟΛΟΓΙΟ ΓΙΑ ΤΟ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ

Αγγούρι: Γεύση ελαίου που δημιουργείται μετά από εξαιρετικά παρατεταμένης διάρκειας συσκευασία σε ερμητικά κλειστούς χώρους, ιδίως σε δοχεία από λευκοσίδηρο, και που αποδίδεται στο σχηματισμό της 2-6 εννεανοδιενάλης.

Άλμη: Γεύση του ελαίου που λαμβάνεται από ελιές διατηρημένες σε αλατούχα διαλύματα.

Αμύγδαλο: Η γεύση αυτή μπορεί να έχει δύο διαφορετικούς τύπους: ένας είναι η τυπική γεύση του ωπού αμύγδαλου, ο άλλος είναι εκείνη του ξηρού και υγιούς αμύγδαλου που μπορεί να εκληφθεί και ως αρχή «ταγγίσματος». Στο τέλος αφήνει μία εντελώς μοναδική γεύση που γίνεται αντιληπτή όταν το έλαιο παραμένει σε επαφή με τη γλώσσα και τον ουρανίσκο. Συνδέεται με τα γλυκά έλαια και το άτονο άρωμα.

Γλυκιά: Ευχάριστη γεύση του ελαίου, όχι σαφώς σακχαρώδης, στην οποία δεν κυριαρχούν τα χαρακτηριστικά του πικρού, του στυφού ή της δριμύτητας στη γεύση.

Επίπεδη ή εξαλειμμένη: Γεύση ελαιόλαδου του οποίου τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά είναι πολύ ελαφρά λόγω της απώλειας των αρωματικών συστατικών τους.

Λάσπες: Χαρακτηριστική γεύση του ελαίου που λαμβάνεται από λάσπες που μεταγγίζονται σε ληκθούς ελαίου και σε υπόγειες αποθήκες.

Λιπαντικά: Άρωμα του ελαίου που έχει ληφθεί σε ελαιουργία της οποίας ο εξοπλισμός εκθλίψεως δεν έχει αποτελέσει το αντικείμενο της κατάλληλης εξέλιξης των υπολειμμάτων πετρελαίου, λίπους ή ορυκτέλαιου.

Μεταλλική: Γεύση που θυμίζει μέταλλα. Είναι χαρακτηριστική του ελαίου που έχει μείνει για μεγάλο χρονικό διάστημα σε επαφή με τρόφιμα ή μεταλλικές επιφάνειες, υπό ακατάλληλες συνθήκες, κατά τη διαδικασία της άλεσης, της μάλαξης, της πίεσης ή της αποθήκευσης.

Μήλο: Η γεύση του ελαιόλαδου που θυμίζει αυτό το φρούτο.

Μουχλιασμένο: Χαρακτηριστική γεύση του ελαίου που έχει ληφθεί από ελιές που έχουν συλλεχθεί σε προχωρημένο στάδιο ζύμωσης (Atrochado).

Νερό βλάστησης: Χαρακτηριστική γεύση που προσδίδεται στο έλαιο μετά από κακή μετάγγιση και παρατεταμένη επαφή με νερά βλάστησης.

Ξηρό χόρτο: Χαρακτηριστική γεύση ορισμένων ελαίων που θυμίζει εκείνη του λίγο ως πολύ ξηραμένου χόρτου.

Οινώδες-οξώδες: Χαρακτηριστική γεύση ορισμένων ελαίων που θυμίζουν το κρασί ή το ξύδι. Η γεύση αυτή οφείλεται κυρίως στο σχηματισμό οξικού οξέος, οξικού αιθυλίου και αιθανόλης, σε ποσότητες μεγαλύτερες από το κανονικό, στο άρωμα του ελαιόλαδου.

Παλιό ή ταγγισμένο: Χαρακτηριστική γεύση του ελαίου όταν παραμένει πολύ καιρό στα δοχεία αποθήκευσης. Μπορεί επίσης να παρουσιαστεί και σε έλαια που έχουν συσκευασθεί για εξαιρετικά παρατεταμένη περίοδο.

Πικρή: Χαρακτηριστική γεύση του ελαίου που λαμβάνεται από πράσινες ελιές ή από ελιές που βρίσκονται στο στάδιο που λαμβάνουν το χρώμα της ωρίμανσης. Μπορεί να είναι λίγο ως πολύ ευχάριστη, ανάλογα με την έντασή της.

Πράσινα φύλλα (πικρό): Γεύση του ελαίου που λαμβάνεται από πολύ πράσινες ελαιές που αλέστηκαν αναμειγμένες με φύλλα και κλαδιά.

Πυρήνες: Χαρακτηριστική γεύση που θυμίζει εκείνη των ελαιοπυρήνων.

Σάκοι: Χαρακτηριστική γεύση του ελαίου που λαμβάνεται από ελιές που έχουν υποστεί έκθλιψη σε σάκους ακάθαρτους με υπολείμματα που έχουν υποστεί ζύμωση.

Σαπωνώδης: Γεύση που δημιουργεί οσφρητικο-γευστική αίσθηση που θυμίζει το πράσινο σαπούνι.

Σκουλήκι: Χαρακτηριστική γεύση του ελαίου που προέρχεται από ελιές που έχουν προσβληθεί σοβαρά από νόμφες δάκου (*Dacus Deae*).

Σπάρτο: Χαρακτηριστική γεύση του ελαίου που λαμβάνεται από ελιές που έχουν υποστεί έκθλιψη μέσα σε καινούργιους σάκους από σπάρτο. Η γεύση αυτή μπορεί να διαφέρει ανάλογα αν πρόκειται για σάκους που έχουν κατασκευαστεί από πράσινο ή από ξηρό σπάρτο.

Στυφή: Χαρακτηριστική αίσθηση σε ορισμένα έλαια των οποίων η πρόγευση προκαλεί μυική αντίδραση στυπικότητας απτής στη στοματική κοιλότητα.

Τάγγισμα: Γεύση χαρακτηριστική και κοινή σε όλα τα έλαια και λίπη που έχουν υποστεί διαδικασία αυτοξειδωσης, μετά από παρατεταμένη επαφή με τον ατμοσφαιρικό αέρα. Η γεύση αυτή είναι δυσάρεστη και ανεξίτηλη.

Υγρή-μουχλιασμένη: Χαρακτηριστική γεύση του ελαιόλαδου που λαμβάνεται από ελαιές που έχουν πληγεί από μύκητες και ζυμομύκητες μετά από παραμονή των καρπών επί πολλές μέρες και στην υγρασία.

Φρουτώδης: Γεύση που θυμίζει ταυτόχρονα το άρωμα και τη γεύση του νωπού φρούτου που βρίσκεται σε άριστη κατάσταση και το οποίο έχει συλλεγεί στην άριστη φάση της ωριμότητάς του.

Χονδροειδής: Αίσθηση χαρακτηριστική σε ορισμένα έλαια των οποίων η πρόγευση προκαλεί μια αίσθηση πηχτή και ζυμώδη.

Χόρτο: Χαρακτηριστική γεύση ορισμένων ελαίων που θυμίζει εκείνη του χόρτου που έχει κοπεί πρόσφατα.

Χώμα: Χαρακτηριστική γεύση ελαίου που λαμβάνεται από ελιές συλλεγείσες με χώμα ή λάσπες και οι οποίες δεν έχουν πλυθεί. Σε ορισμένες περιπτώσεις, η γεύση αυτή μπορεί να συνοδεύεται από εκείνη της μούχλας.

Ψημένο ή καμμένο: Χαρακτηριστική γεύση ελαίου προερχομένου από υπερβολική ή/και παρατεταμένη θέρμανση κατά την απόληψή του και κυρίως κατά τη θερμο-μάλαξη της ελαιόπαστας, αν πραγματοποιηθεί σε ακατάλληλες συνθήκες.

(Γεύση) ώριμου φρούτου: Γεύση του ελαιόλαδου που έχει ληφθεί από ώριμους καρπούς, συνήθως χωρίς άρωμα και με σακχαρώδη γεύση.

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 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 καπνίσει το λιγότερο 30 λεπτά πριν από την καθορισμένη ώρα της δοκιμής.

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

σαπούνη, 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 κανόντητες θα ήταν προσπονητές, 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 προειδοποιήσει 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 γουλιά 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 τσούξιμο, 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.

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 σκοπο 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, κατάρχην, 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 (*) | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | ναι | όχι |
| 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"/> |
| | ναι | όχι |
| 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 είσαστε διατεθειμένος να ανακατήσετε 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, οινόδες, 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 μπορείτε να παραδώσετε ολοκληρωμένες σειρές από κάθε ιδιότητα σε κάθε υποψήφιο.

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

(*) 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.

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 έθιμο, 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:

$C_{10} \times \alpha^n$, όπου: «α» 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 χάρι: 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 «α» είναι ίσο με 1,5, η σειρά των δειγμάτων θα έχει τις ακόλουθες συγκεντρώσεις:

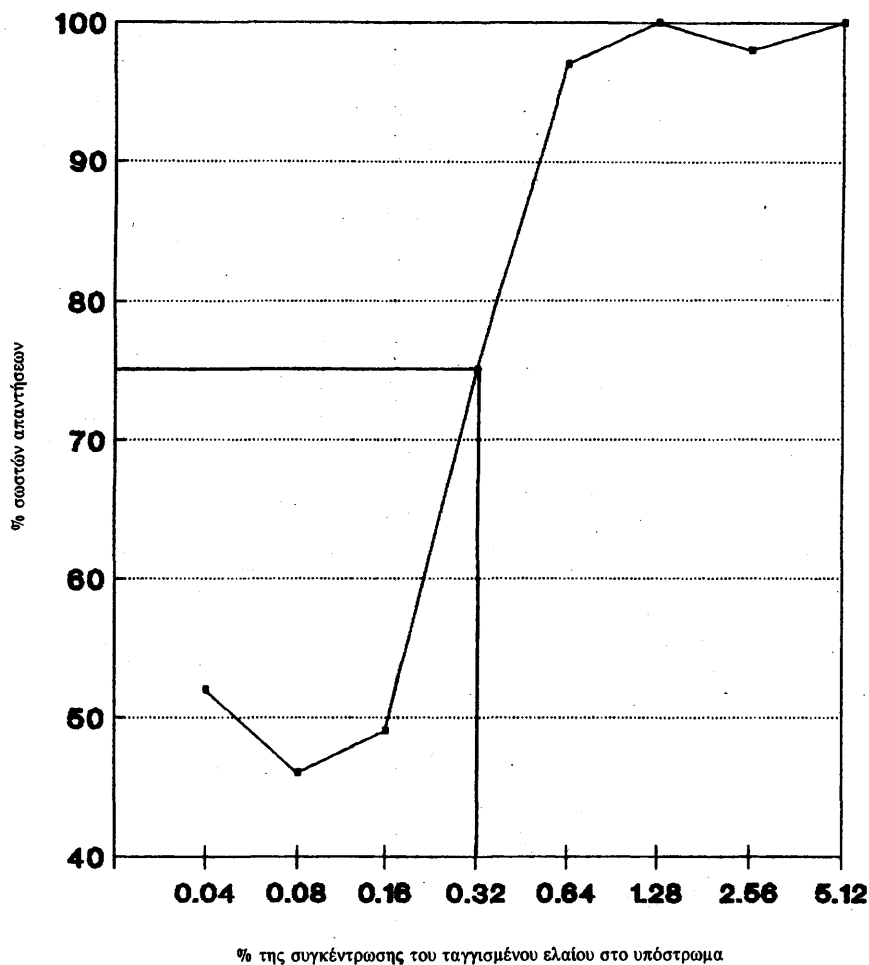
Δείγμα	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Συγκέντρωση	12,30	8,20	5,47	3,65	2,43	1,62	1,08	0,72	0,48	0,32	0,21	0,14

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 αντίληπτά 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 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 δυνητικώς 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 ταξινομήσεως 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:

- 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 ραφινρισμένο),
- έλαια: μουχλιασμένο, οινώδες, ταγγισμένο και πικρό.

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

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 $C_{10} \times \alpha'$.
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, οινόδης, 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 αναδινόμενων 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 υπόλοιπα 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 (Μ)	Οινώδης (Ο)	Ταγγισμένος (Τ)	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 $e_1^i, e_2^i, \dots, e_{12}^i$ 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 e_i^k 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 αντιστοιχούν 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» (Μ), 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 (Μ για παράδειγμα) θα είναι η ακόλουθη:

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

Προκειμένου να κατανοήσετε καλύτερα, παραθέτουμε τα εξής παραδείγματα:

Παράδειγμα αριθ. 1:

Ας υποθέσουμε ότι οι απαντήσεις του υποψήφιου Α 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.

⁽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 κόουραση.

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

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

$$Z^i = 0^2 + 0^2 + 3^2 + (-1)^2 = 10$$

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:

$$P_{\eta}^M + P_{\theta}^M + P_{i\beta}^M + P_{i\gamma}^M = Z^M$$

$$P_{\eta}^O + P_{\theta}^O + P_{i\beta}^O + P_{i\gamma}^O = Z^O$$

$$P_{\eta}^T + P_{\theta}^T + P_{i\beta}^T + P_{i\gamma}^T = Z^T$$

$$P_{\eta}^{\pi} + P_{\theta}^{\pi} + P_{i\beta}^{\pi} + P_{i\gamma}^{\pi} = Z^{\pi}$$

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

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 πρωτίτερα, 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

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 προγεύσεις, 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 επιλεγεί 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 (!) 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 εμφάνιση τους και την τιμή που αποδίδει στην έντασή τους. Στη συνέχεια πρέπει να περάσει στη φάση της βαθμολογίας της ποιότητας του ελαίου.

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 ελαίου. 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.

(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 περίπτωση.

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, η κλίμακα αξιολόγησης έχοντας 9 βαθμούς, 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.

Έκφραση των αποτελεσμάτων: Ο υπεύθυνος της εξεταστικής επιτροπής καθορίζει βάσει της μέσης βαθμολογίας την κατηγορία, στην οποία κατατάσσεται το δείγμα σύμφωνα με τα όρια που προβλέπονται στο παράρτημα I. Η έκθεση της ανάλυσης αναφέρει μόνον αυτή την κατηγορία.

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.

Σχήμα 2

Παρθένο ελαιόλαδο

Φύλλο χαρακτηριστικών
Βαθμοί αισθήσεων όσφρησης-γεύσης-αφής (²)

	0	1	2	3	4	5
Φρουτώδες της ελιάς (ώριμο ή πράσινο)						
Μήλο						
Άλλο(α) ώριμο(α) φρούτο(α)						
Πράσινο (φύλλο, χόρτο)						
Πικρό						
Δριμό						
Γλυκό						
Άλλη(ες) ανεκτή(ές) ιδιότητα(ες)						
(Ποια ή ποιες):						
.....						
Ευνό/Οινώδες/Οξώδες/Οξύ (¹)						
Στυφό						
Μεταλλικό						
Μουχλιασμένο-Υγρό						
Λάσπη-Μούργα						
Μουχλιασμένο (Atrohado)						
Ταγγισμένο						
Άλλη(ες) μη αποδεκτή(ές) ιδιότητα(ες) ..						
(Ποια ή ποιες)						
.....						

Πίνακας βαθμολογίας

Μειονεκτήματα	Χαρακτηριστικά	Συνολική αξιολόγηση: βαθμοί
Κανένα	Φρουτώδες της ελιάς	9
	Φρουτώδες της ελιάς και άλλων φρέσκων φρούτων	8
		7
Ελαφρά ή μόλις αντιληπτά	Οποιαδήποτε εξαλειμμένη φρουτώδης γεύση	6
Αντιληπτά	Φρουτώδης γεύση ελάχιστα κακή, οσμές και γεύσεις μη κανονικές	5
Στο όριο της αποδοχής	Καθαρώς ελαττωματική, δυσάρεστες οσμές και γεύσεις	4
Μεγάλα ή/και σοβαρά, καθαρώς αντιληπτά		3
	Οσμές και γεύσεις απαράδεκτες για την κατάναλωση	2
		1

Παρατηρήσεις:

Όνομα δοκιμαστή

Κωδικός του δείγματος

Ημερομηνία:

(¹) Διαγράψτε την περιττή ένδειξη

(²) Αντίληψη

1 = Μόλις αντιληπτή

2 = Ελαφριά

3 = Μέση

4 = Μεγάλη

5 = Ακραία (έντονη)

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.

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.

Εμπειρογνώμων (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.

Εναισθησία (ουσιαστικό):

Ικανότητα των οργάνων των αισθήσεων να αντιλαμβάνονται, ποιοτικώς και ποσοτικώς, 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 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):

Αποτέλεσμα της αλληλέπληλης διαντίδρασης 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 σε διάλυμα.

Γευστικός (επίθετο):

Περιγράφει την ιδιότητα προϊόντος ικανού να ερεθίσει το μηχανισμό της γεύσης, διεγείροντας τις αισθήσεις που αντιστοιχούν σε ένα ή περισσότερα από τα βασικά γευστικά αισθήματα: 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 κατωφλίου.

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 κατωφλίου.

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.

Ενωδιά (ουσιαστικό):

Δροσερή, ευχάριστη και απολαυστική μυρωδιά.

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 παρουσία του αντικειμένου, 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.

Κιναισθησία (ουσιαστικό):

Σύνολο αισθήσεων που προκαλούνται από πίεση που ασκείται στο δείγμα από κίνηση 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 οδηγούν 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 ποσοτική αξία ερεθισμού ή κρίσιμη υπερωριακή τιμή του ερεθισμού αυτού, που αντιστοιχεί στην εμφάνιση έλξης ή απώθησης σε σχέση με έναν ερεθισμό ουδέτερο, παραδείγματος χάρη η επιλογή μεταξύ σακχαρούχου διαλύματος και νερού.

Σμείωση: 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 διαντίδρασης επί συνόλου ερεθισμών, εις τρόπον ώστε κάθε ερεθισμός γίνεται αντιληπτός με λιγότερη ένταση από ό,τι αν ήταν απομονωμένος.

Συnergικός (επίθετο):

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.

Δριμύς (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 χάρι 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.

Σύνθετη γεύση (ουσιαστικό με επιθετικό προσδιορισμό):

Ως σύνθετη γεύση νοείται το σύνολο των αντιλαμβανόμενων ερεθισμών όσφρησης-γεύσης, αφής και κιναισθησης, που επιτρέπει σε κάποιον να χαρακτηρίσει ένα προϊόν διατροφής, 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 αισθητικότητων 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.

Αρωμα (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 αισθητικότητων 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 INSO 5492-Μέρη I έως V, και άλλα έργα, όπως εκείνο που συνέγραψε 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 βρώσιμων ελαίων (οσμή, γεύση, σύνθετη γεύση).

Εξάλλου, 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 βασικές όψεις 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 την αναγνώριση·
- 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 σχηματίζει γνώμες ικανές να επηρεάσουν αρνητικά την αντικειμενικότητα του προσδιορισμού.

2.1. Διαστάσεις

Το σκίτσο του ποτηριού είναι το θέμα του σχήματος 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.

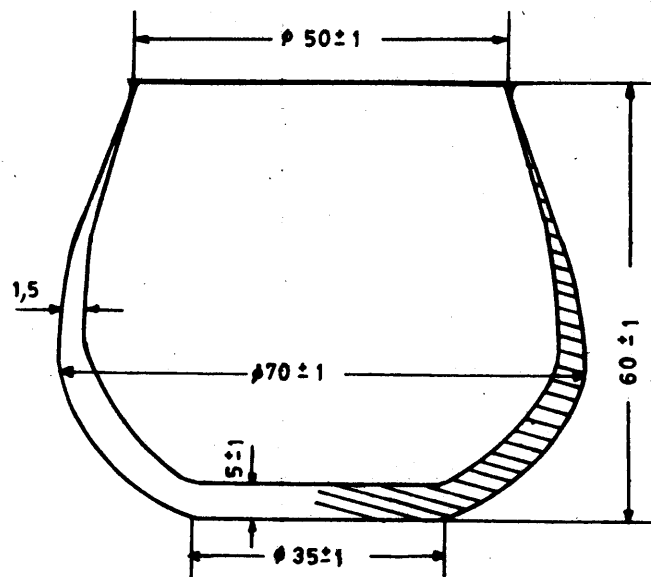
Τα ποτήρια πρέπει να κρατούνται στον κλίβανο μέχρι τη χρησιμοποίησή τους, ή να διατηρούνται καλά μέσα σ' ένα ντουλάπι προστατευόντάς τα από ανεπιθύμητες οσμές.

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

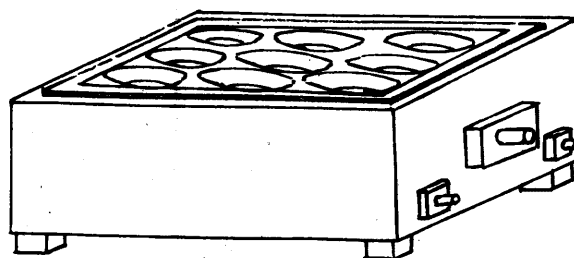
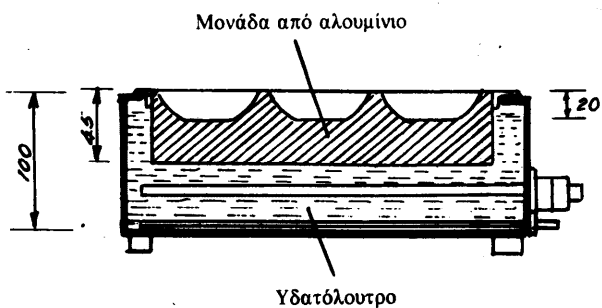
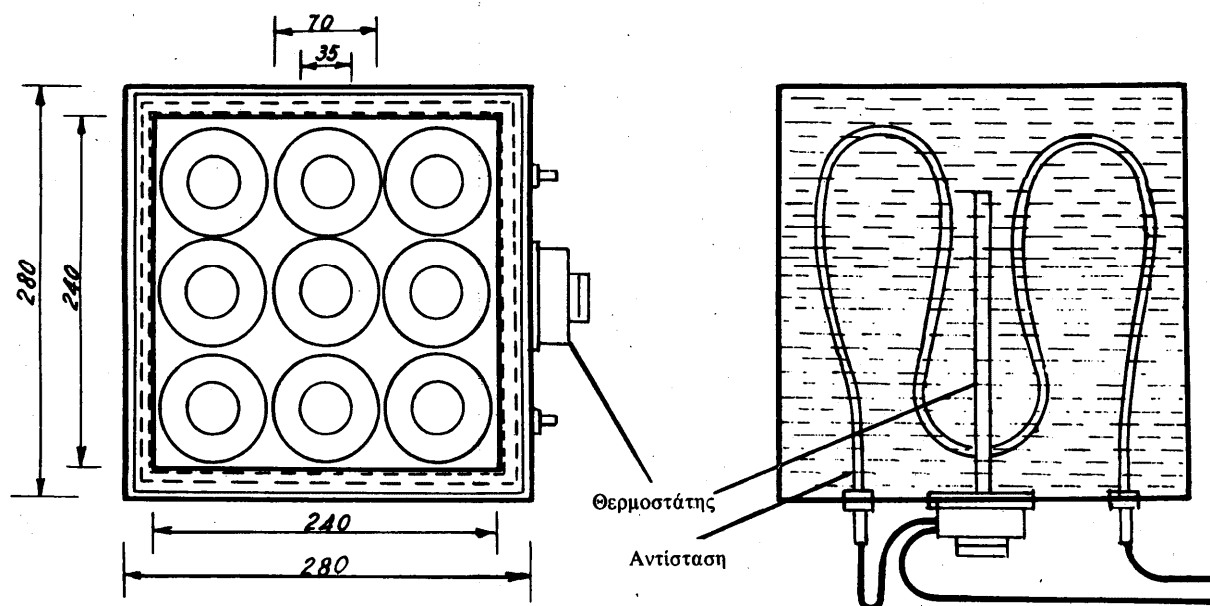
Η οργανοληπτική εξέταση των δειγμάτων πρέπει να γίνεται σε μία δεδομένη θερμοκρασία που βρίσκεται για τα βρώσιμα έλαια, στους 28 ± 2 °C. Για να επιτευχθεί η θερμοκρασία αυτή, πρέπει να εγκαταστήσουμε στο εσωτερικό κάθε θαλάμου, μηχανισμό θέρμανσης (βλέπε σχήμα 2), ευπρόσιτο για το δοκιμαστή. Αυτός ο 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)

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 διευθέτηση 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 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, βαλοποιημένο 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.

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 γ' 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 η κύπελλα, ή «πιάσου 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 μίρασμα των δίσκων σερβιρίσματος και των ποτηριών που περιέχουν τα δείγματα προς εξέταση.

5. ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΑ ΔΩΜΑΤΙΑ

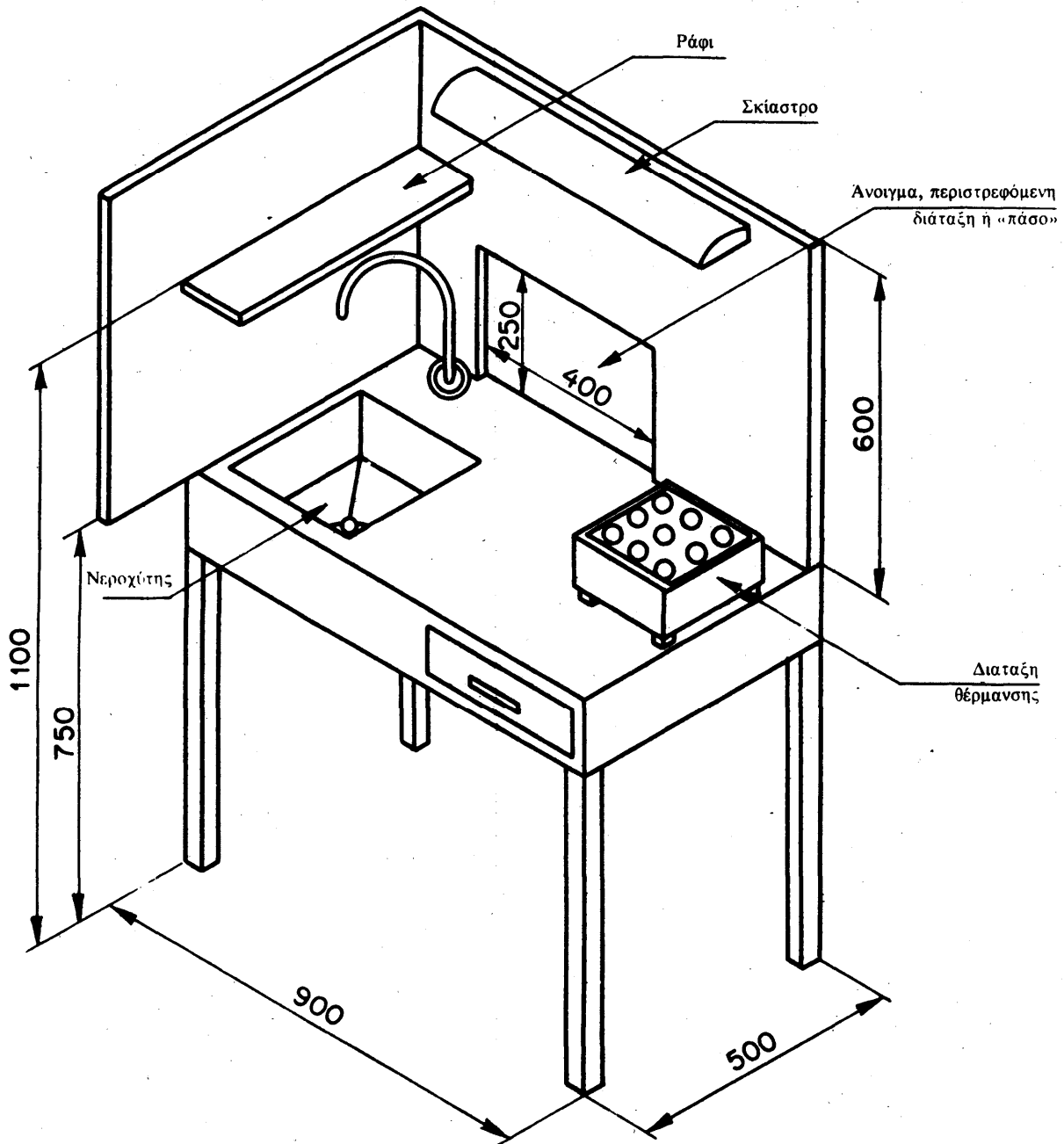
Εάν ο διαθέσιμος χώρος το επιτρέπει, θα αρκούσε να προβλεφθούν χωριστά δωμάτια για την παρασκευή των δειγμάτων (για σκοπούς μαγειρικούς ή άλλους), την τακτοποίηση των ποτηριών ή των εργαλείων, καθώς και για τις συζητήσεις πριν ή μετά τις δοκιμές. Αν αυτό συμβαίνει θα πρέπει να διασφαλιστεί ώστε αυτοί 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.

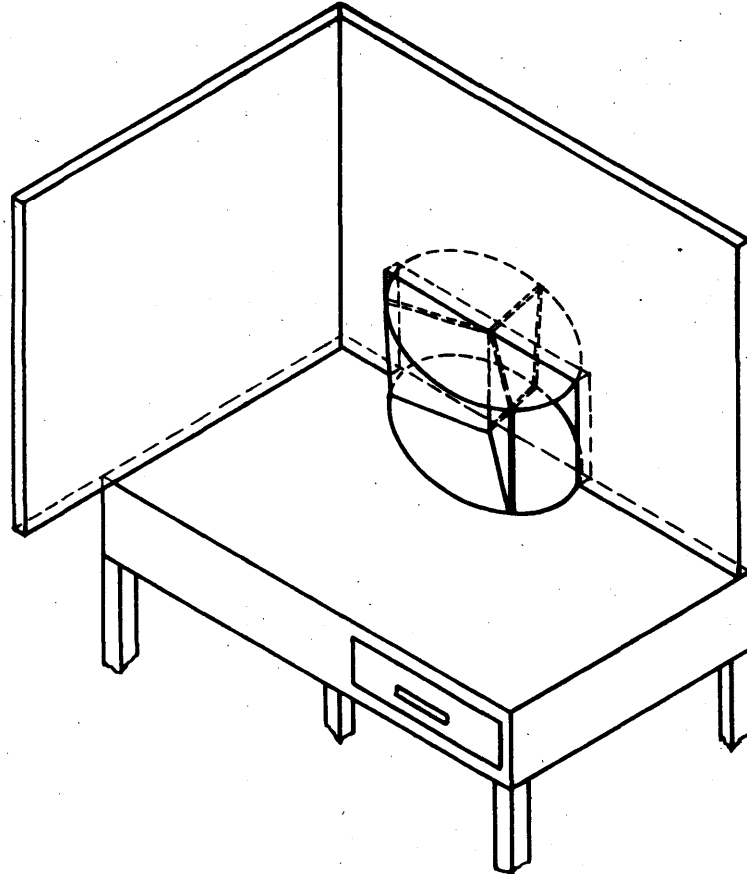
ΔΙΑΡΡΥΘΜΙΣΗ ΤΟΥ ΘΑΛΑΜΟΥ

Σχήμα 1



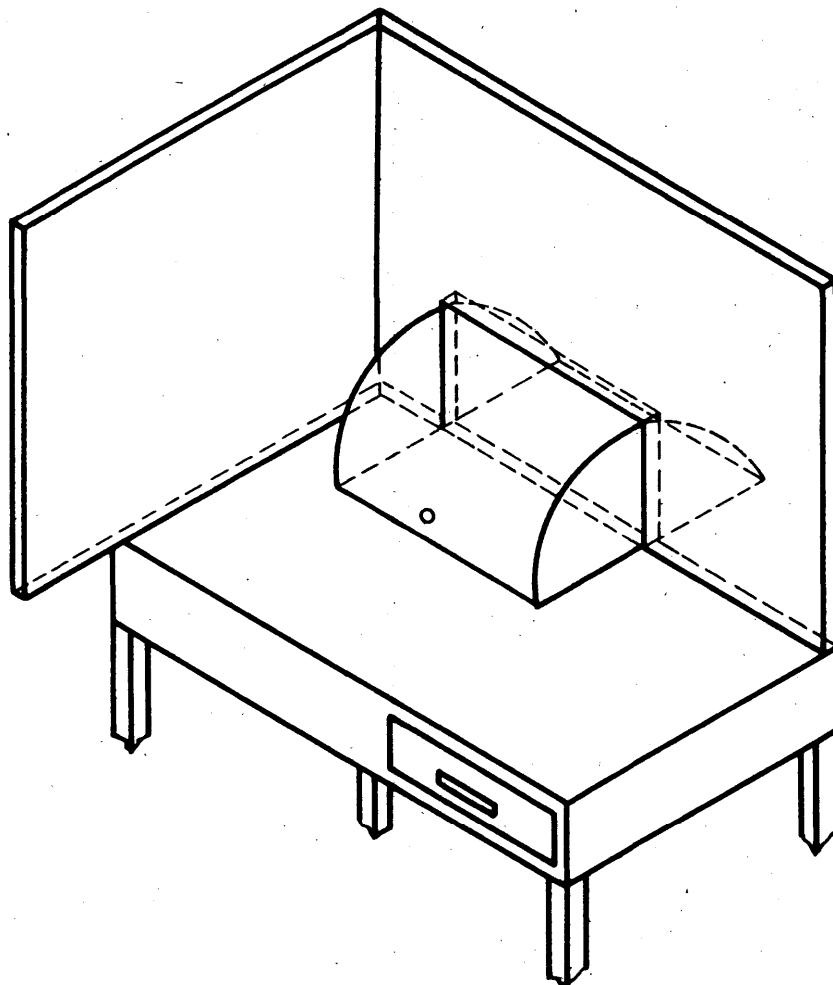
ΔΙΑΤΑΞΗ ΠΕΡΙΣΤΡΕΦΟΜΕΝΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Σχήμα 2



«ΠΑΣΟ» ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

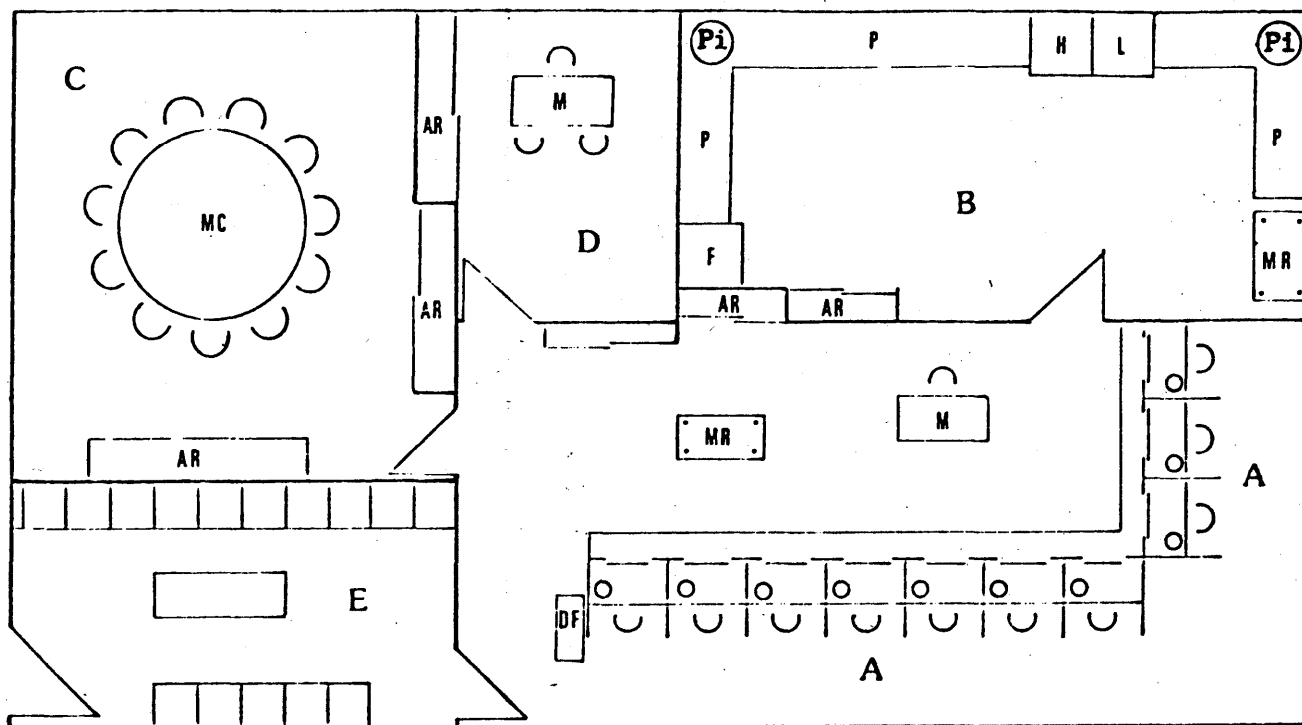
Σχήμα 3



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: Κλίβανος-φούρνος
- L: Πλυντήριο πιάτων
- Pi: Νεροχύτης
- AR: Ντουλάπι
- MR: Βοηθητικό κυλιόμενο τραπέζι
- DF: Διανομή εντόπων
- MC: Στρογγυλό τραπέζι
- M: Τραπέζι
- P: Πάγκος

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ XIII

ΔΟΚΙΜΗ ΕΞΩΓΕΝΙΣΜΟΥ

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% φαινολοφθαλείνης,
- εξάνιο καθαρό, p.a.,
- ισοπροπυλική αλκοόλη p.a.

1.1.3. Τρόπος εργασίας

- α) Έλαια οξύτητας έκπεφρασμένη σε ελαϊκό οξύ μέχρι 30 %.

Τοποθετούμε 50 g ακατεργάστου ελαίου μέσα σε υψηλό ποτήρι 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 φαινολοφθαλείνης).

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

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

Εντός διαχωριστικής χοάνης του ενός λίτρου διαβιβάζουμε 50 g ακατεργάστου ελαίου, 200 ml εξανίου, 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 κατώτερη στοιβάδα, που περιέχει τους σάπωνες. Μεταξύ των δύο στοιβάδων (ελαιώδης προς τα άνω και υδατίνη προς τα κάτω) δημιουργείται συχνά μια ενδιάμεση στοιβάδα από μυκηλίωμα 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 λαμπούς εσφυρισμένους για την τοποθέτηση:
 - α) θερμομέτρου βαθμολογημένου σε βαθμούς και επιτρέποντος τη λήψη ενδείξεων μέχρι τους 90 °C.
 - 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 εντός 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 ρυθμιζόμενης θερμοκρασία (50 έως 60 °C).

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ XIV

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

1. «Σημείωση 2Α. Για τους σκοπούς των κλάσεων ΣΟ 1509 και 1510, ως «ελαιόλαδο» νοείται το έλαιο που παράγεται κατ' αποκλειστικότητα από την επεξεργασία ελαίων, εξαιρουμένου του επανεστεροποιημένου ελαιολάδου και των μειγμάτων ελαιολάδου με άλλα έλαια.

Η παρουσία επανεστεροποιημένου ελαιολάδου ή άλλων ελαίων διαπιστώνεται με τις μεθόδους που αναφέρονται στα παραρτήματα V, VII, IX, X και XII. Στον παρακάτω πίνακα παρατίθενται τα αναλυτικά χαρακτηριστικά της σύνθεσης όλων των ελαιολάδων που υπάγονται στις κλάσεις ΣΟ 1509 και 1510.

Πίνακας I — Περιεκτικότητα σε οξέα επί % του συνόλου		Πίνακας II — Περιεκτικότητα σε στερόλες επί % του συνόλου	
Μυριστικό οξύ	M 0,1,	Χοληστερόλη	M 0,5,
Λινολενικό οξύ	M 0,9,	Βρασικαστερόλη	M 0,2,
Αραχιδικό οξύ	M 0,7,	Κομπιστερόλη	M 4,0,
Εικοσανικό οξύ	M 0,5,	Στιγμαστερόλη	≤ Κομπιστερόλη
Βεχενικό οξύ	M 0,3,	β-Σιτοστερόλη (*)	m 93,0,
Λιγνοκηρικό οξύ	M 0,5.	7-Στιγμαστερόλη	M 0,5.

m = ελάχιστη

M = μέγιστη

(*) (δ-5,23-Στιγμασταδιενόλη + Κλεροστερόλη + β-Σιτοστερόλη + Σιτοστανόλη + δ-5-Αβηναστερόλη + δ-5-24-Στιγμασταδιενόλη)

- Σημείωση 2B. Ως «παρθένα ελαιόλαδα» νοούνται έλαια που λαμβάνονται κατ' αποκλειστικότητα από ελιές με τη χρήση μηχανικών ή άλλων φυσικών μέσων υπό συνθήκες, και ιδιαίτερα υπό συνθήκες θερμοκρασίας, που δεν προκαλούν αλλοίωση του ελαίου, και τα οποία έχουν υποστεί άλλη επεξεργασία πέραν του πλυσίματος, στραγγίσματος, φυγοκεντρήσεως ή διηθήσεως, εξαιρουμένων των ελαίων που λαμβάνονται από ελιές με τη βοήθεια διαλυτών (1510) και που καθορίζονται στα σημεία I και II παρακάτω.

- I. Για τους σκοπούς της διάκρισης 1509 10 10, νοείται ως «μειονεκτικό (λαμπάντε) παρθένο ελαιόλαδο», ανεξάρτητα από την οξύτητά του, το ελαιόλαδο με:

- περιεκτικότητα σε αλειφατικές αλκοόλες που δεν υπερβαίνει τα 400 mg/kg·
- περιεκτικότητα σε ερυθροδιόλη και συβαόλη όχι ανώτερη του 4,5 %·
- περιεκτικότητα σε κορεσμένα λιπαρά οξέα στη θέση 2 στα τριγλυκερίδια που να μην υπερβαίνει το 1,3 %·
- ή/και ένα από τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:
 - δ1) δείκτη υπεροξειδίου άνω, των 20 meq O₂/kg,
 - δ2) περιεκτικότητα σε πτητικούς αλογονωμένους διαλύτες που υπερβαίνει τα 0,2 mg/kg συνολικά και τα 0,1 mg/kg για κάθε διαλύτη,
 - δ3) ένα συντελεστή αποσβέσεως K₂₇₀ μεγαλύτερο του 0,25 και, μετά από επεξεργασία του ελαίου με ενεργοποιηθείσα αλουμίνα, όχι μεγαλύτερο από 0,11. Δεδομένου ότι ορισμένα έλαια έχουν περιεκτικότητα σε ελεύθερα λιπαρά οξέα, εκφραζόμενα ως ελαϊκό οξύ, μεγαλύτερη των 3,3 g ανά 100 g μετά από διαβίβαση μέσω ενεργοποιηθέντος αργιλιοξειδίου, σύμφωνα με τη μέθοδο που καθορίζεται στο παράρτημα XV, δύνανται να έχουν συντελεστή αποσβέσεως K₂₇₀ μεγαλύτερο από 0,11. Στην περίπτωση αυτή, μετά από εξουδετέρωση και αποχρωματισμό στο εργαστήριο, πρέπει να έχουν τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

- συντελεστή αποσβέσεως K_{270} όχι μεγαλύτερο από 1,20,
- διακύμανση (ΔK) (*) του συντελεστή αποσβέσεως στην περιοχή των 270 nm μεταξύ 0,01 και 0,16,

δηλαδή:

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

Το K_m αντιπροσωπεύει το συντελεστή αποσβέσεως στο μήκος κύματος του μέγιστου σημείου της καμπύλης αποσβέσεως στην περιοχή των 270 nm, τα K_{m-4} και K_{m+4} αντιπροσωπεύουν τους συντελεστές αποσβέσεως στα μήκη κύματος που είναι μικρότερα ή μεγαλύτερα κατά 4 nm από αυτά του K_m ,

- δ4) οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που να περιλαμβάνουν ανιχνεύσιμα ελαττώματα που ξεπερνούν τα όρια αποδοχής, και βαθμολογία της δοκιμασίας του panel (ομάδας) χαμηλότερη του 3,5.

II. Για τους σκοπούς της διάκρισης 1509 10 90, νοείται ως «παρθένο ελαιόλαδο» το ελαιόλαδο που έχει τα εξής χαρακτηριστικά:

- a) περιεκτικότητα σε οξέα, εκφραζόμενη ως ελαϊκό οξύ, όχι μεγαλύτερη από 3,3 g ανά 100 g
- β) δείκτη υπεροξειδίου όχι μεγαλύτερο των 20 meq O₂/kg
- γ) περιεκτικότητα σε αλειφατικές αλκοόλες όχι μεγαλύτερη των 300 mg/kg
- δ) περιεκτικότητα σε πτητικούς αλογονωμένους διαλύτες όχι μεγαλύτερη από 0,2 mg/kg συνολικά, και όχι μεγαλύτερη του 0,1 mg/kg για κάθε διαλύτη
- ε) συντελεστή αποσβέσεως K_{270} (100) όχι μεγαλύτερο από 0,25 και, μετά την επεξεργασία του ελαίου με ενεργοποιηθέν αργλιοξειδίο, όχι μεγαλύτερο από 0,10⁽¹⁾
- ς) διακύμανση συντελεστή αποσβέσεως (ΔK), στην περιοχή των 270 nm, όχι υψηλότερη από 0,01
- η) οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που δύνανται να περιλαμβάνουν ανιχνεύσιμα ελαττώματα εντός των ορίων αποδοχής και βαθμολογία της δοκιμασίας του panel υψηλότερη των 3,5
- θ) περιεκτικότητα σε ερυθροδιόλη και συβαόλη όχι μεγαλύτερη του 4,5 %
- ι) περιεκτικότητα σε κορεσμένα λιπαρά οξέα στη θέση 2 στα τριγλυκερίδια που να μην υπερβαίνει το 1,3 %.

Σημείωση 2Γ. Η διάκριση 1509 90 00 καλύπτει το ελαιόλαδο που λαμβάνεται δι' επεξεργασίας ελαιολάδων που παράγονται στις διακρίσεις 1509 10 10 ή 1509 10 90, ανεξαρτήτως του αν είναι αναμειγμένο με παρθένο ελαιόλαδο, και το οποίο έχει τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

- a) περιεκτικότητα σε οξέα, εκφραζόμενη ως ελαϊκό οξύ, όχι μεγαλύτερη των 3,3 g ανά 100 g
- β) περιεκτικότητα σε αλειφατικές αλκοόλες όχι μεγαλύτερη των 350 mg/kg
- γ) συντελεστή αποσβέσεως K_{270} (100) υψηλότερο του 0,25 και όχι υψηλότερο του 1,1 και, μετά από επεξεργασία του δείγματος με ενεργοποιηθέν αργλιοξειδίο, υψηλότερο του 0,10
- δ) διακύμανση του συντελεστή αποσβέσεως (ΔK) στην περιοχή των 270 nm υψηλότερο του 0,01 και όχι υψηλότερο του 0,16
- ε) περιεκτικότητα σε ερυθροδιόλη και συβαόλη όχι μεγαλύτερη του 4,5 %
- ς) περιεκτικότητα σε κορεσμένα λιπαρά οξέα στη θέση 2, όχι μεγαλύτερη του 1,5 %.

Σημείωση 2Δ. Για τους σκοπούς της διάκρισης 1510 00 10, ως «ακατέργαστα έλαια» νοούνται έλαια, ιδίως πυρηνέλαια, που έχουν τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

- a) περιεκτικότητα σε οξέα, εκφραζόμενη ως ελαϊκό οξύ, μεγαλύτερη των 2 g ανά 100 g
- β) περιεκτικότητα σε ερυθροδιόλη και συβαόλη που υπερβαίνει το 12 %
- γ) περιεκτικότητα σε κορεσμένα λιπαρά οξέα, στη θέση 2 στα τριγλυκερίδια, όχι μεγαλύτερη του 1,8 %.

Σημείωση 2Ε. Τα έλαια που παράγονται στη διάκριση 1510 00 90 περιλαμβάνουν έλαια που λαμβάνονται δι' επεξεργασίας ελαιών που παράγονται στη διάκριση 1510 00 10, ανεξαρτήτως του εάν είναι αναμειγμένα ή όχι με παρθένο ελαιόλαδο, τα οποία δεν έχουν τα χαρακτηριστικά των ελαιών που αναφέρονται στα σημεία I και II, εφόσον έχουν περιεκτικότητα σε κορεσμένα λιπαρά οξέα στη θέση 2 στα τριγλυκερίδια όχι μεγαλύτερη του 2 %.

(¹) Όταν το K_{270} είναι μεγαλύτερο από 0,25 θα πρέπει να προβούμε σε ένα νέο προσδιορισμό μετά από διάβαση μέσω αργλιοξειδίου το K_{270} δεν πρέπει να ξεπερνά το 0,10.

2. «Σημείωση 3. Οι διακρίσεις 1522 00 31 και 1522 00 99 δεν καλύπτουν:

- α) υπολείμματα της επεξεργασίας λιπαρών υλών που περιέχουν έλαιο με δείκτη ιωδίου, καθοριζόμενο σύμφωνα με τη μέθοδο που ορίζεται στο παράρτημα XVI, χαμηλότερο του 70 και όχι υψηλότερο του 100·
- β) υπολείμματα της επεξεργασίας λιπαρών υλών που περιέχουν έλαιο με δείκτη ιωδίου όχι χαμηλότερο του 70 ή υψηλότερο του 100, του οποίου το εμβαδόν επάρματος που αντιπροσωπεύει τον όγκο συγκρατήσεως της σιτοστερόλης, όπως καθορίζεται σύμφωνα με το παράρτημα του κανονισμού που αναφέρεται στη συμπληρωματική σημείωση 4 παρακάτω, είναι μικρότερο του 93 % του εμβαδού των επαρμάτων των συνολικών στερολών.»

3. «Σημείωση 4. Οι αναλυτικές μέθοδοι για τον καθορισμό των χαρακτηριστικών των προϊόντων που αναφέρονται ανωτέρω είναι αυτές που ορίζονται στα παραρτήματα του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91.»

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ XV

1. ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΕ ΕΛΑΙΟ ΤΩΝ ΕΛΑΙΟΠΥΡΗΝΩΝ

1.1. Εξοπλισμός

- κατάλληλη συσκευή εκχυλίσσεως 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 εμφυσήσεως αέρος η 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,
- δακτύλιος εκχυλίσσεως και εριοβάμβαξ ή διηθητικός χάρτης, απαλλαγμένα συστατικών εκχυλιζόμενων 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 εριοβάμβακα. 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 τοποθέτησεως του ετοιμού δακτύλιου (ή του διηθητικού χάρτου) επί τι χρονικό διάστημα μέσα σε φούρνο θερμανθέντα σε θερμοκρασία όχι ανώτερη των 80 °C για 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 για διάστημα τουλάχιστον μίας ώρας.

2.6. Πρώτη εκχύλιση

Μέσα στη συσκευή εκχυλίσσεως εισάγουμε το δακτύλιο (ή το διηθητικό χάρτη) που περιέχει την ποσότητα δοκιμής. Χύνουμε εντός της σφαιρικής φιάλης την απαραίτητη ποσότητα εξανίου. Συνδέουμε τη φιάλη με τη συσκευή εκχυλίσσεως και το σύνολο τοποθετείται στο ηλεκτρικά θερμαινόμενο λουτρό. Ρυθμίζουμε τη θέρμανση κατά τέτοιο τρόπο ώστε η ταχύτης επαναροής να είναι τουλάχιστον 3 σταγόνες το δευτερόλεπτο (βρασμός μέτριος, όχι ισχυρός).

Μετά τέσσερις ώρες εκχυλίσσεως ψύχουμε. Απομακρύνουμε το δακτύλιο από τη συσκευή εκχυλίσσεως και το θέτουμε σε ρεύμα αέρος για να απομακρύνουμε τον εμποτισθέντα διαλύτη.

2.7. Δεύτερη εκχύλιση

Αδειάζουμε το δακτύλιο εντός μικρο-αλεστήρος και αλέθουμε σε όσο το δυνατό λεπτότερα τμήματα. Επαναφέρουμε το μείγμα πάλι μέσα στο δακτύλιο 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 διαλύτη 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.

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 περιεκτικότης σε υγρασία και πτητικές ύλες.

3.2. Επαναληπτικότης

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

Το διεθνές αυτό πρότυπο καθορίζει μέθοδο προσδιορισμού του αριθμού ιωδίου στα ζωικά και φυτικά λίπη και έλαια το οποία αναφέρονται στο εξής ως λιπαρές ουσίες.

2. ΟΡΙΣΜΟΣ

Για τους σκοπούς του παρόντος διεθνούς προτύπου 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 αναλυτική καθαρότητας.

4.1. Ιωδιούχο κάλιο, διάλυμα 100 g/l, απαλλαγμένο ιωδικών ιόντων ή ελευθέρου ιωδίου.

4.2. Διάλυμα αμόλου

Αναμειγνύονται 5 g διαλυτού αμόλου 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 πώματα 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 1

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 ζυγίσσεως (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 αντιδραστήριου Wijs (4.5), τοποθετείται το πώμα, η φιάλη ανακινείται και τοποθετείται σε σκοτεινό μέρος. Για τη λήψη του αντιδραστήριου 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:

$$\frac{12,69 \cdot c \cdot (V_1 - V_2)}{m}$$

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.