

## II

(Muud kui seadusandlikud aktid)

## MÄÄRUSED

## KOMISJONI MÄÄRUS (EL) nr 61/2011,

24. jaanuar 2011,

millega muudetakse määrust (EMÜ) nr 2568/91 oliiviõlide ja pressimisjääkide omaduste ja asjakohaste analüüsimeetodite kohta

EUROOPA KOMISJON,

võttes arvesse Euroopa Liidu toimimise lepingut,

võttes arvesse nõukogu 22. oktoobri 2007. aasta määrust (EÜ) nr 1234/2007, millega kehtestatakse põllumajandusturgude ühine korraldus ning mis käsitleb teatavate põllumajandustoodete erisätteid (ühise turukorralduse ühtne määrus), <sup>(1)</sup> eriti selle artikli 113 lõike 1 punkti a ja artikli 121 punkti h koostoimes artikliga 4,

ning arvestades järgmist:

- (1) Komisjoni määruses (EMÜ) nr 2568/91 <sup>(2)</sup> on määratletud oliiviõlide ja oliivijääkide füüsikalised ja keemilised omadused ning nende hindamise meetodid. Neid meetodeid ning õlide teatavate omaduste piirväärtusi tuleb ajakohastada vastavalt keemiaekspertide seisukohtadele ning lähtudes rahvusvahelise oliiviõlinõukogu raames läbiviidud uurimustest.
- (2) Kuna keemiaekspertid on jõudnud järeldusele, et rasvhapete etüülestrite ja metüülestrite sisaldus on ekstra neitsioliiviõlide kvaliteeti iseloomustav kasulik näitaja, on kohane kehtestada osutatud estrite sisalduse piirväärtused ja meetod nende sisalduse määramiseks.
- (3) Uute normidega kohanemise võimaldamiseks ja nende rakendusmeetmete kehtestamiseks ning häirimatu kauplemise tagamiseks on otstarbekas hakata käesoleva määrusega sätestatud muudatusi kohaldama alates 1. aprillist 2011. Samadel põhjustel tuleks ette näha, et enne nimeetatud kuupäeva ELis seaduslikult valmistatud ja märgistatud või ELi õiguspäraselt imporditud ja selles vabasse ringlusse lubatud oliiviõli ja oliivijääkõli võib turustada kuni asjaomaste laovarude lõppemiseni.

(4) Seepärast tuleks määrust (EMÜ) nr 2568/91 vastavalt muuta.

(5) Käesoleva määrusega ettenähtud meetmed on kooskõlas põllumajandusturgude ühise korralduse komitee arvamusega,

ON VASTU VÕTNUD KÄESOLEVA MÄÄRUSE:

Artikkel 1

Määrust (EMÜ) nr 2568/91 muudetakse järgmiselt.

1) Artikli 2 lõikesse 1 lisatakse järgmine taane:

„— vahade, rasvhapete metüülestrite ja etüülestrite sisaldus määratakse kindlaks gaasikromatograafiliselt XX lisas sätestatud meetodil;”

2) lisade loendit täiendatakse järgmiselt:

„XX lisa: Meetod vahade, rasvhapete metüülestrite ja etüülestrite sisalduse määramiseks kapillaargaasikromatograafiaga;”

3) I lisa asendatakse käesoleva määruse I lisa tekstiga;

4) Lisatakse XX lisa, mis on sätestatud käesoleva määruse II lisas.

Artikkel 2

Tooteid, mis on ELis õiguspäraselt valmistatud ja märgistatud või mis on ELi õiguspäraselt imporditud ja seal vabasse ringlusse lubatud enne 1. aprilli 2011, võib turustada kuni laovarude lõppemiseni.

<sup>(1)</sup> ELT L 299, 16.11.2007, lk 1.

<sup>(2)</sup> EÜT L 248, 5.9.1991, lk 1.

*Artikkel 3*

Käesolev määrus jõustub kolmandal päeval pärast selle avaldamist *Euroopa Liidu Teatajas*.

Seda kohaldatakse alates 1. aprillist 2011.

Käesolev määrus on tervikuna siduv ja vahetult kohaldatav kõikides liikmesriikides.

Brüssel, 24. jaanuar 2011

*Komisjoni nimel*  
*president*  
José Manuel BARROSO

---

## OLIIVIÕLIDE OMADUSED

Kategooria	Rasvhapete metüülestrid (FAME) ja etüülestrid (FAEE)	Happelisus (%) (*)	Peroksiidid mekv O <sub>2</sub> /kg (*)	Vahad mg/kg (**)	2-glütserüülmonopalmitaat (%)	Stigmastadien mg/kg (1)	ECN42 (HPLC) ja teoreetilise (arvutatud) ECN42 vahe	K <sub>232</sub> (*)	K <sub>270</sub> (*)	Δ-K (*)	Organoleptiline hindamine puuduse mediaan (Md) (*)	Organoleptiline hindamine viljale iseloomulikkuse mediaan (Mf) (*)
1. Ekstra neitsioliiviõli	Σ FAME + FAEE ≤ 75 mg/kg või 75 mg/kg < Σ FAME + FAEE ≤ 150 mg/kg ja (FAEE/FAME) ≤ 1,5	≤ 0,8	≤ 20	≤ 250	≤ 0,9 kui palmitiinhappe % kokku ≤ 14% ≤ 1,0 kui palmitiinhappe % kokku > 14 %	≤ 0,10	≤ 0,2	≤ 2,50	≤ 0,22	≤ 0,01	Md = 0	Mf > 0
2. Neitsioliiviõli	—	≤ 2,0	≤ 20	≤ 250	≤ 0,9 kui palmitiinhappe % kokku ≤ 14 % ≤ 1,0 kui palmitiinhappe % kokku > 14 %	≤ 0,10	≤ 0,2	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,01	Md ≤ 3,5	Mf > 0
3. Lambiõli	—	> 2,0	—	≤ 300 (3)	≤ 0,9 kui palmitiinhappe % kokku ≤ 14 % ≤ 1,1 kui palmitiinhappe % kokku > 14 %	≤ 0,50	≤ 0,3	—	—	—	Md > 3,5 (2)	—
4. Rafineeritud oliiviõli	—	≤ 0,3	≤ 5	≤ 350	≤ 0,9 kui palmitiinhappe % kokku ≤ 14 % ≤ 1,1 kui palmitiinhappe % kokku > 14 %	—	≤ 0,3	—	≤ 1,10	≤ 0,16	—	—
5. Rafineeritud oliiviõlidest ja neitsioliiviõlidest koosnev oliiviõlisegu	—	≤ 1,0	≤ 15	≤ 350	≤ 0,9 kui palmitiinhappe % kokku ≤ 14 % ≤ 1,0 kui palmitiinhappe % kokku > 14 %	—	≤ 0,3	—	≤ 0,90	≤ 0,15	—	—
6. Töötlemata oliivijääkõli oliiviõlisegu	—	—	—	> 350 (4)	≤ 1,4	—	≤ 0,6	—	—	—	—	—
7. Rafineeritud oliivijääkõli	—	≤ 0,3	≤ 5	> 350	≤ 1,4	—	≤ 0,5	—	≤ 2,00	≤ 0,20	—	—
8. Oliivijääkõli	—	≤ 1,0	≤ 15	> 350	≤ 1,2	—	≤ 0,5	—	≤ 1,70	≤ 0,18	—	—

(1) Isomeeride summa, mida on (või ei ole) võimalik eraldada kapillaarkoloni abil.

(2) Või kui puuduse mediaan on kuni 3,5 ning viljale iseloomulikkuse mediaan on 0.

(3) Õlisid, mille vahasisaldus on 300–350 mg/kg, käsitletakse lambiõlidena juhul, kui alifaatsete alkoholide üldsisaldus on kuni 350 mg/kg või kui erütrodiooli ja uvaooli sisaldus on kuni 3,5%.

(4) Õlisid, mille vahasisaldus on 300–350 mg/kg, käsitletakse töötlemata oliivijääkõlidena juhul, kui alifaatsete alkoholide üldsisaldus on suurem kui 350 mg/kg ja kui erütrodiooli ja uvaooli sisaldus on suurem kui 3,5%.

Kategooria	Hapete sisaldus <sup>(1)</sup>						Oleiin- happe transiso- meeride summa (%)	Linoolja linoleen- happe transiso- meeride summa (%)	Teerolide Koostis						Steroolid kokku (mg/kg)	Erütrodiool ja uvaool (% (**))
	Müristiin- hape (%)	Linoleen- hape (%)	Arahiin- hape (%)	Eikoseen- hape (%)	Beheen- hape (%)	Lignotse- riinhape (%)			Kolesterool (%)	Brassikas- terool (%)	Kampeste- rool (%)	Stigmaste- rool (%)	β-sitoste- rool (% ( <sup>2</sup> ))	Δ7- stigma- stenoool (%)		
1. Ekstra neitsioliiviõli	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
2. Neitsioliiviõli	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
3. Lambiõli	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,10	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5 <sup>(3)</sup>
4. Rafineeritud oliiviõli	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
5. Rafineeritud oliiviõlidest ja neitsioliiviõlidest koosnev oliiviõlisegu	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
6. Töötlemata oliivijääkõli	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,20	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 2 500	> 4,5 <sup>(4)</sup>
7. Rafineeritud oliivijääkõli	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 800	> 4,5
8. Oliivijääkõli	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 600	> 4,5

<sup>(1)</sup> Muud sisalduvad rasvhapped (%): palmitiinhape: 7,5–20,0; palmitoleiinhape: 0,3–3,5; heptadekaanhape: ≤ 0,3; heptadetsenhape: ≤ 0,3; steariinhape: 0,5–5,0; oleiinhape: 55,0–83,0; linoolhape: 3,5–21,0

<sup>(2)</sup> Δ<sup>5-23</sup>-stigmastadienool + klerosterool + β-sitosterool + sitostanool + Δ<sup>5</sup>-avenasterool + Δ<sup>5-24</sup>-stigmastadienool.

<sup>(3)</sup> Õlisid, mille vahasisaldus on 300–350 mg/kg, käsitatakse lambiõlidena juhul, kui alifaatsete alkoholide üldsisaldus on kuni 350 mg/kg või kui erütrodiooli ja uvaooli sisaldus on kuni 3,5%.

<sup>(4)</sup> Õlisid, mille vahasisaldus on 300–350 mg/kg, käsitatakse töötlemata oliivijääkõlidena juhul, kui alifaatsete alkoholide üldsisaldus on suurem kui 350 mg/kg ja kui erütrodiooli ja uvaooli sisaldus on suurem kui 3,5%.

Notes:

- a) Analüüside tulemused peavad olema väljendatud sama arvu kümnendkohtadega, nagu iga omaduse puhul on ette nähtud. Viimast numbrit tuleb suurendada ühe ühiku võrra, kui järgmine number on suurem kui 4.
- b) Õli kategooriat võib muuta või deklareerida selle käesoleva määruse osas mittepuhtaks, kui ainult üks omadus ei vasta märgitud väärtusele.
- c) Kui omadus on märgistatud tärniga (\*), osutades õli kvaliteedile, tähendab see järgmist:  
— lambiõli puhul ei tarvitse kõik asjaomased näitajad korraga vastata märgitud piirmääradele;  
— neitsioliiviõlide puhul muudetakse õli kategooriat, kui kas või ainult üks piirmäärdest erineb märgitud väärtusest, olgugi et õli liigitatakse ikkagi ühte neitsioliiviõli kategooriasse.
- d) Kui omadus on tähistatud kahe tärniga (\*\*), osutab see sellele, et kõikide oliivijääkõli liikide puhul ei tarvitse kõik asjaomased näitajad korraga vastata märgitud piirmääradele."

## II LISA

## „XX LISA

**Meetod vahade, rasvhapete metüülestrite ja etüülestrite sisalduse määramiseks kapillaargaasikromatograafiaga**

## 1. EESMÄRK

Käesolev meetod on ette nähtud vahade ning rasvhapete metüül- ja etüülestrite määramiseks oliiviõlides. Üksikud vahad ja alküülestrid eraldatakse üksteisest vastavalt süsinikuaatomite arvule. Meetodit soovitatakse vahendina, mis võimaldab eristada oliiviõli ja oliivijääkõli, samuti on see meetod ekstra neitsioliiviõli kvaliteedinäitaja, mis võimaldab kindlaks teha võltsinguid, milles ekstra neitsioliiviõlisisid on segatud madalamakvaliteediliste õlidega – neitsiõlide, lambiõlide või ka mõne lõhnatustatud õliga.

## 2. PÕHIMÕTE

Rasvainele lisatakse sobivaid sisestandardeid ja seejärel fraktsioneeritakse rasvaine kromatograafiliselt, kasutades hüdrateeritud silikageelkolonni. Katsetingimustel elueeritud fraktsioon, mille polaarsus on väiksem kui triatsüülglütseriididel, eraldatakse ning seda analüüsitakse kapillaargaasikromatograafia abil.

## 3. VAHENDID

3.1. **25-milliliitrine Erlenmeyeri kolb**

3.2. **Klaasist vedelikkromatograafiakolonn** sisediameeteriga 15 mm ja pikkusega 30–40 cm, mis on varustatud sobiva kraaniga

3.3. Sobiv kapillaarkolonniga **gaasikromatograaf**, mis on varustatud süsteemiga, mis võimaldab otse kolonni süstimist ja koosneb järgmistest osadest:

3.3.1. **Termostaadiga ahi, mille temperatuuri saab muuta vastavalt programmile**

3.3.2. **Külminjektor** proovi viimiseks otse kolonni

3.3.3. **Leekionisatsioonidetektor ja muundurvõimendi**

3.3.4. **Meerikuga integraator** (vt märkus 1), mida saab kasutada koos muundurvõimendiga (punkt 3.3.3), mille reageerimisaja on kuni 1 sekund ning mille paberikiirust on võimalik muuta

*Märkus 1.* Võib kasutada ka arvutiga ühendatud süsteeme, kus gaasikromatograafia andmed sisestatakse personaalarvuti kaudu.

3.3.5. **Sulatatud ränidioksiidist kapillaarkolonn vahade ning rasvhapete metüül- ja etüülestrite analüüsiks**, pikkus 8–12 m, sisediameeter 0,25–0,32 mm, mis on seestpoolt kaetud vedelfaasiga (vt märkus 2), mille kihi paksus on ühtlaselt 0,10–0,30 µm

*Märkus 2.* Müügil on selleks otstarbeks sobivad vedelfaasid, nagu SE52, SE54 jne.

3.4. **Mikrosüstal**, 10 µl, otse kolonni süstimiseks, mille nõelal on tugevdatud pinnakiht

3.5. **Elektriline vibraator**

3.6. **Pöördauruti**

3.7. **Muhvelahi**

3.8. **Analüütiline kaal**, mis võimaldab kaaluda täpsusega ± 0,1 mg

3.9. Harilikud laboratoorsed klaasnõud

#### 4. REAKTIIVID

- 4.1. **Silikageel**, terasuurus 60–200 µm. Silikageel pannakse vähemalt neljaks tunniks muhvelahju temperatuuriga 500 °C. Lastakse jahtuda, seejärel lisatakse vett koguses, mis vastab 2 %-le silikageeli massist. Loksutatakse korralikult ühtlase suspensiooni saamiseks ja hoitakse enne kasutamist eksikaatoris vähemalt 12 tundi.
- 4.2. **n-heksaan**, kromatograafia jaoks või jäägivaba (puhtust on vaja kontrollida)

ETTEVAATUST! Aur on süttimisohtlik! Hoidke eemal soojusallikatest, sädemetest ja lahtisest leegist. Jälgige, et pudel oleks alati kindlalt suletud. Kasutamise ajal peab ruumis olema korralik ventilatsioon. Vältige aurude kogunemist ja eemaldage kõik tuleohtu allikad, nagu soojendusriistad või elektriparaadid, mis ei ole süttimisohtust materjalist. Sissehingamisel kahjulik, kuna võib kahjustada närvirakke. Vältige aurude sissehingamist. Vajaduse korral kasutage sobivat respiraatorit. Vältige sattumist nahale või silma.

#### 4.3. Dietüüleeter kromatograafia jaoks

ETTEVAATUST! Väga tuleohtlik ja mõõdukalt mürgine. Ärritab nahka. Sissehingamisel kahjulik. Võib kahjustada silmi. Toime võib avalduda alles hiljem. Võib moodustada plahvatusohtlikke peroksiide. Aur on süttimisohtlik. Hoidke eemal soojusallikatest, sädemetest ja lahtisest leegist. Jälgige, et pudel oleks alati kindlalt suletud. Kasutamise ajal peab ruumis olema korralik ventilatsioon. Vältige aurude kogunemist ja eemaldage kõik tuleohtu allikad, nagu soojendusriistad või elektriparaadid, mis ei ole süttimisohtust materjalist. Ärge aurutage kuivaks või peaaegu kuivaks. Vee või sobiva taandava reagenti lisamine võib vähendada peroksiidide moodustumist. Mitte juua. Vältige aurude sissehingamist. Vältige kestvate või korduvat kokkupuudet nahaga.

#### 4.4. n-heptaan kromatograafias kasutamiseks või isooktaan

ETTEVAATUST! Tuleohtlik. Sissehingamisel kahjulik. Hoidke eemal soojusallikatest, sädemetest ja lahtisest leegist. Jälgige, et pudel oleks alati kindlalt suletud. Kasutamise ajal peab ruumis olema korralik ventilatsioon. Vältige aurude sissehingamist. Vältige kestvate või korduvat kokkupuudet nahaga.

#### 4.5. Laurüülarahidaadi (vt märkus 3) standardlahus 0,05 % (m/V) heptaanis (vahade sisestandard)

Märkus 3. Võib kasutada ka palmitüülpalmitaati, müristüülstearaati või arahidüüllauraati.

#### 4.6. Metüülheptadekanaadi standardlahus 0,02 % (m/V) heptaanis (metüül- ja etüülestrite sisestandard)

#### 4.7. Sudaan 1 (1-fenüülaso-2-naftool)

#### 4.8. Kandegaas: vesinik või heelium gaasikromatograafias kasutamiseks

##### HOIATUS

**Vesinik.** Väga tuleohtlik, kokkusurutud gaas. Hoidke eemal soojusallikatest, sädemetest, lahtisest leegist ja elektriparaatidest, mis ei ole süttimisohtust materjalist. Jälgige, et balloonikraan oleks suletud, kui vesinikku ei kasutata. Kasutage alati rõhureduktorit. Enne balloonikraani avamist vabastage reduktori vedru pingelt. Ärge seiske ballooniava ees kraani avamise ajal. Kasutamise ajal peab ruumis olema korralik ventilatsioon. Ärge kandke vesinikku üle ühest balloonist teise. Ärge segage gaase balloonis. Kinnitage balloon, et seda ei saaks ümber ajada. Hoidke balloone eemal päiksevalgusest ja soojusallikatest. Hoidke balloone keskkonnas, kus need ei puutu kokku söövitavate ainetega. Ärge kasutage kahjustatud või etiketita balloone.

**Heelium.** Kokkusurutud gaas kõrge rõhu all. Heelium vähendab sissehingamisel kättesaadava hapniku hulka. Jälgige, et balloon oleks suletud. Kasutamise ajal peab ruumis olema korralik ventilatsioon. Ärge sisenege gaasiballoonide hoidmise ruumi, kui seal ei ole korralikku ventilatsiooni. Kasutage alati rõhureduktorit. Enne balloonikraani avamist vabastage reduktori vedru pingelt. Ärge kandke gaasi üle ühest balloonist teise. Kinnitage balloon, et seda ei saaks ümber ajada. Ärge seiske ballooniava ees kraani avamise ajal. Hoidke balloone eemal päiksevalgusest ja soojusallikatest. Hoidke balloone keskkonnas, kus need ei puutu kokku söövitavate ainetega. Ärge kasutage kahjustatud või etiketita balloone. Ärge hingake gaasi sisse. Kasutage ainult tehniliseks otstarbeks.

#### 4.9. Abigaasid:

- vesinik, puhas, gaasikromatograafias kasutamiseks;
- õhk, puhas, gaasikromatograafias kasutamiseks.

#### HOIATUS

Õhk. Kokkusurutud gaas kõrge rõhu all. Olge ettevaatlik, kui kasutate põlevate ainete juuresolekul, kuna enamiku orgaaniliste ainete isesüttimistemperatuur õhus on kõrgel rõhul oluliselt madalam. Jälgige, et balloonikraan oleks suletud, kui ballooni ei kasutata. Kasutage alati rõhureduktorit. Enne balloonikraani avamist vabastage reduktori vedru pingelt. Ärge seiske ballooniava ees kraani avamise ajal. Ärge kandke gaasi üle ühest balloonist teise. Ärge segage gaase balloonis. Kinnitage ballooni, et seda ei saaks ümber ajada. Hoidke balloone eemal päikesevalgusest ja soojusallikatest. Hoidke balloone keskkonnas, kus need ei puutu kokku söövitavate ainetega. Ärge kasutage kahjustatud või etiketita balloone. Tehniliseks otstarbeks ettenähtud õhku ei kohti kasutada sissehingamiseks või hingamisaparatuurides.

#### 5. MÄÄRAMISE KÄIK

##### 5.1. Kromatograafiakoloni valmistamine

*n*-heksaanis (4.2) suspendeeritakse 15 g silikageeli (4.1) ning viiakse kolonni (3.2). Lastakse settida. Ühtlasema kromatograafiakoloni saamiseks töödeldakse kolonni pärast spontaanse settimise lõppu elektrilise vibraatoriga. Lisandite eemaldamiseks voolutatakse kolonni 30 ml *n*-heksaaniga. Analüütilise kaaluga (3.8) kaalutakse 25 ml kolbi (3.1) täpselt ligikaudu 500 mg proovi ning lisatakse sobiv kogus sisestandardit (4.5), olenevalt eeldatavast vahasisaldustest, nt oliiviõli puhul lisatakse 0,1 mg ja oliivijääkõli puhul 0,25–0,5 mg lauriülarahidaati ja oliiviõlide puhul 0,05 mg metüülheptadekanaati (4.6).

Ettevalmistatud proov kantakse kahe 2 ml *n*-heksaanikoguse (4.2) abil kromatograafiakoloni.

Lahustil lastakse voolata, kuni absorbendi pinna kohale jääb 1 mm kiht vedelikku. Kolonni voolutatakse täiendavalt *n*-heksaani-dietüüleetri seguga (99:1) kiirusel umbes 15 tilka 10 sekundi kohta ja kogutakse 220 ml lahust. (**See fraktsioon sisaldab metüül- ja etüülestreid ning vahasid**). (Vt märkused 4 ja 5.)

Märkus 4. *n*-heksaani-dietüüleetri segu (99:1) tuleb valmistada igal päeval uuesti.

Märkus 5. Vahade elueerimise täielikkuse visuaalseks kontrollimiseks võib proovi lahusele lisada 100 µl värvaine sudaan I 1-protsendilist lahust elueerimissegus.

Sudaan I retentsiooniaeg on vahade ja triatsüülgütseriidide vahel. Kui värvaine jõuab kolonni põhjani, tuleb elueerimine peatada, kuna selleks ajaks on kõik vahad kolonnist väljunud.

Tekkinud fraktsioone aurustatakse vaakumpöördaurutis, kuni peaaegu kogu lahusti on eemaldatud. Viimased 2 ml eemaldatakse nõrga lämmastikuvoolu läbijuhtimisel. Metüül- ja etüülestreid sisaldav fraktsioon viiakse lahusesse 2–4 ml *n*-heptaani või isooktaaniga.

##### 5.2. Gaasikromatograafiline analüüs

###### 5.2.1. Ettevalmistus

Kolonni pannakse gaasikromatograafi (3.3), sisselaskekoht ühendatakse *on-column*-süsteemiga ja väljalaskekoht detektoriga. Kontrollitakse gaasikromatograafiaseadet (gaasijuhtmete tööd, detektori ja meeriku toimimist jne).

Kui kolonni kasutatakse esimest korda, on soovitatav see tasakaalustada. Kolonni juhitakse nõrk gaasivool, seejärel lülitatakse gaasikromatograafiaseadet sisse. Umbes 4 tunniga tõstetakse temperatuur järk-järgult kuni 350 °C-ni.

Sellist temperatuuri hoitakse vähemalt 2 tundi, seejärel reguleeritakse seadet, kuni jõutakse töötingimusteni (reguleeritakse gaasi juurdevoolu, süüdatakse leek, ühendatakse elektrilise meerikuga (3.3.4), reguleeritakse kolonniahju temperatuuri, detektorit jne). Registreeritakse signaal vähemalt kaks korda suuremal tundlikkusel, kui on analüüsi läbiviimiseks nõutud. Tekkiv nulljoon peaks olema lineaarne, ilma piikideta ega tohi triivida.

Sirgjooneline negatiivne triiv näitab, et kolonni ühendused ei ole korras, samas kui positiivne triiv näitab, et kolonn ei ole korralikult töökorda viidud.

#### 5.2.2. Töötingimuste valimine vahade ning metüül- ja etüülestrite määramiseks (märkus 6)

Töötingimused on reeglina järgmised:

— kolonni temperatuur:

20 °C/min 5 °C/min

alguses 80 °C (1') — 140 °C — 335 °C (20);

— detektori temperatuur: 350 °C;

— süstitav ainekogus: 1 µl lahust *n*-heptaanis (2–4 ml);

— kandegaas: heelium või vesinik asjaomase gaasi optimaalsel voolukiirusel (vt liide A);

— seadme tundlikkus: piisav eespoolnimetatud tingimuste täitmiseks.

Märkus 6. Kõrge lõpptemperatuuri tõttu on lubatud positiivne triiv, kuid see ei tohi olla suurem kui 10 % täisskaalast.

Neid tingimusi võib muuta kolonni ja gaasikromatograafi omaduste arvessevõtmiseks, et eraldada kõik vahad ja rasvhapete metüül- ja etüülestrid ning saavutada rahuldav piikide lahutus (vt joonised 2, 3 ja 4) ning sisestandardi laurüülarahidaadi retentsiooniaeg  $18 \pm 3$  minutit. Kõige suurem vahade piik peab olema üle 60 % koguskaalast ning metüül- ja etüülestrite sisestandardi metüülheptadekanaadi piik peab ulatuma skaala lõpuni.

Piigi integreerimisparameetrid tuleks määrata kindlaks nii, et uuritavaid piigipindalaid oleks võimalik õigesti hinnata.

#### 5.3. Analüüsi läbiviimine

Võetakse 10 µl mikrosüstlaga kuni 10 µl lahust ja tõmmatakse kolb tagasi, kuni süstla nõel on tühi. Nõel viiakse injektsioonisüsteemi ning 1–2 sekundi pärast süstitakse kiiresti. Umbes 5 sekundi pärast tõmmatakse nõel ettevaatlikult välja.

Tulemusi registreeritakse seni, kuni vahad või stigmastadieenid on täielikult elueeritud, olenevalt analüüsistavast fraktsioonist.

Nulljoon peab kogu aeg vastama nõuetele.

#### 5.4. Piikide määramine

Piigid määratakse retentsiooniaegade põhjal, võrreldes samadel tingimustel analüüsitud vahasegudega, mille retentsiooniajad on teada. Alküülestrid määratakse oliiviõlides esinevate peamiste rasvhapete (palmitiin- ja oleiinhape) metüül- ja etüülestrite segust.

Joonisel 1 on esitatud neitsioliiviõli vahade kromatogramm. Joonistel 2 ja 3 on näidatud kahe jaemüügis oleva ekstra neitsioliiviõli kromatogrammid, neist üks on metüül- ja etüülestritega ja teine ilma. Joonisel 4 on väga kvaliteetse ekstra neitsioliiviõli kromatogramm ja sellise segu kromatogramm, milles samale õlile on lisatud 20 % lõhnatustatud õli.



### 5.5. Vahade kvantitatiivne määramine

Sisestandardile lauruülarahidaadile ja alifaatsetele estritele C<sub>40</sub>-C<sub>46</sub> vastavate piikide pindala arvutatakse integraatori abil.

Kõigi üksikute vahade sisalduse (mg rasva kg kohta) liitmisega määratakse vahade summaarne sisaldus järgmise valemiga:

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

kus:

A<sub>x</sub> = igale üksikule estrile vastava piigi pindala, leitud arvutiga;

A<sub>s</sub> = sisestandardile lauruülarahidaadile vastava piigi pindala, leitud arvutiga;

m<sub>s</sub> = lisatud sisestandardi lauruülarahidaadi mass milligrammides;

m = määramisel kasutatud proovi mass (g).

#### 5.5.1. Metüül- ja etüülestrite kvantitatiivne määramine

Integraatori abil määratakse sisestandardile metüülheptadekanaadile vastava piigi ning C<sub>16</sub>- ja C<sub>18</sub>-rasvhapete metüül- ja etüülestritele vastavate piikide pindalad.

Iga alküülestri sisaldus (mg rasva kg kohta) määratakse järgmise valemiga:

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

kus:

A<sub>x</sub> = igale üksikule C<sub>16</sub>- ja C<sub>18</sub>-estrile vastava piigi pindala, leitud arvutiga;

A<sub>s</sub> = sisestandardile metüülheptadekanaadile vastava piigi pindala, leitud arvutiga;

m<sub>s</sub> = lisatud sisestandardi metüülheptadekanaadi mass milligrammides;

m = määramisel kasutatud proovi mass (g).

## 6. TULEMUSTE VÄLJENDAMINE

Esitatakse eri vahade (C<sub>40</sub>-C<sub>46</sub> (vt märkus 7)) sisalduste summa milligrammides rasva kilogrammi kohta.

Esitatakse metüül- ja etüülestrite (C<sub>16</sub>-C<sub>18</sub>) sisalduste summa ja kahe kõnealuse väärtuse kogusumma.

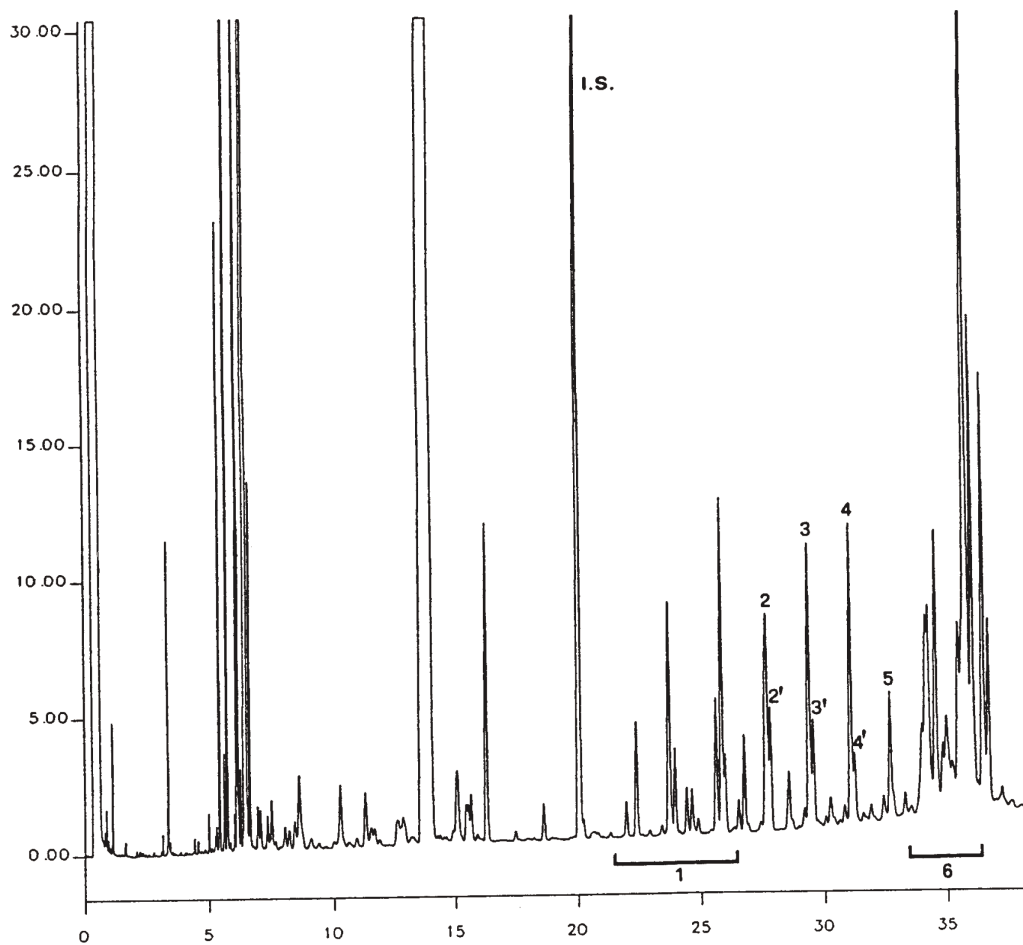
Tulemused ühikutes mg/kg ümardatakse lähima täisarvuni.

*Märkus 7.* Koguseliselt määratavate komponentide sisaldus leitakse paarisarvulise süsinikuarvuga C<sub>40</sub>- kuni C<sub>46</sub>-estrite piikidest, vastavalt juurdelisatud joonisel esitatud oliiviõli vahade näidiskromatogrammile. Kui C<sub>46</sub>-estri piik on lõhestunud, soovatakse komponentide kindlakstegemiseks analüüsida oliivijääkõli vahade fraktsiooni, milles C<sub>46</sub> piik on eristatav, kuna see on selgelt suurem.

Esitatakse etüülestrite ja metüülestrite suhtarv.

Joonis 1

## Oliiviõli vahafraktsiooni gaasikromatogrammi näide (\*)



Rasvhapete metüül- ja etülestriite piigid retentsioonijaga 5–8 minutit:

Selgitus:

I.S. = laurüülarahidaat (sisestandard)

1 = diterpeenestrid

2+2' = C<sub>40</sub>-estrid

3+3' = C<sub>42</sub>-estrid

4+4' = C<sub>44</sub>-estrid

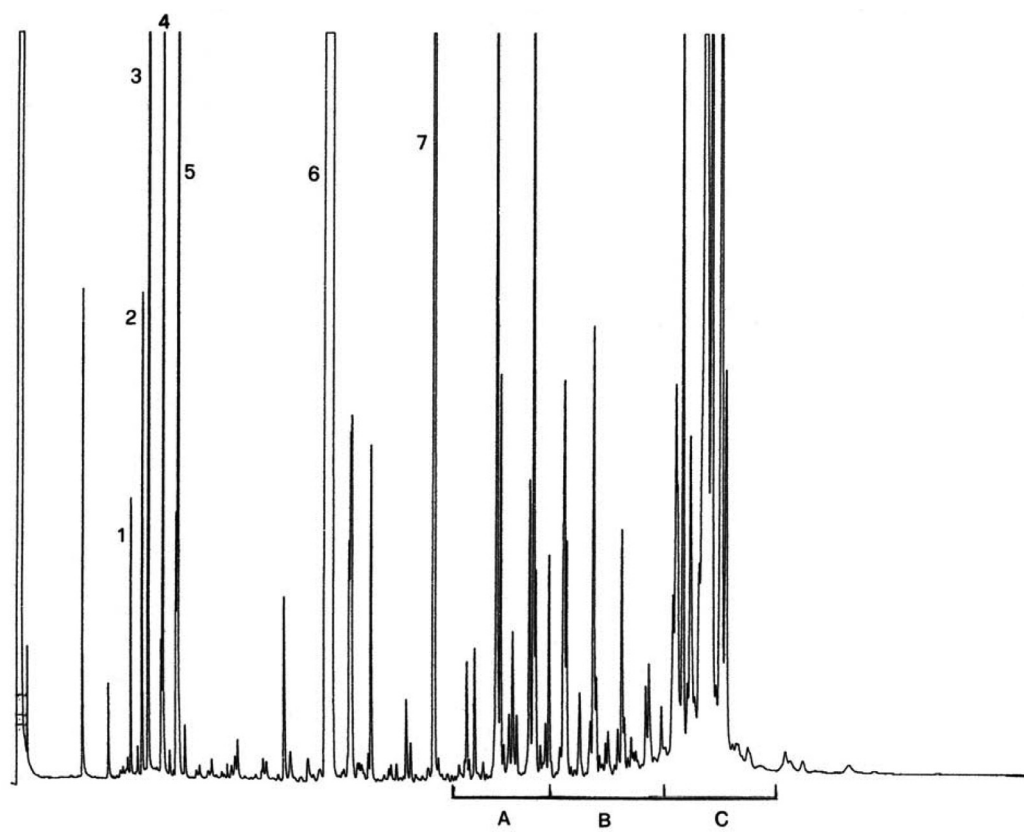
5 = C<sub>46</sub>-estrid

6 = steroolestrid ja triterpeenalkoholid

(\*) Pärast steroolestrite väljumist ei tohi kromatogrammil enam ilmuda märkimisväärseid piike (triatsüülgliiseriide).

Joonis 2

## Neitsioliiviõli metüülestrid, etüülestrid ja vahad

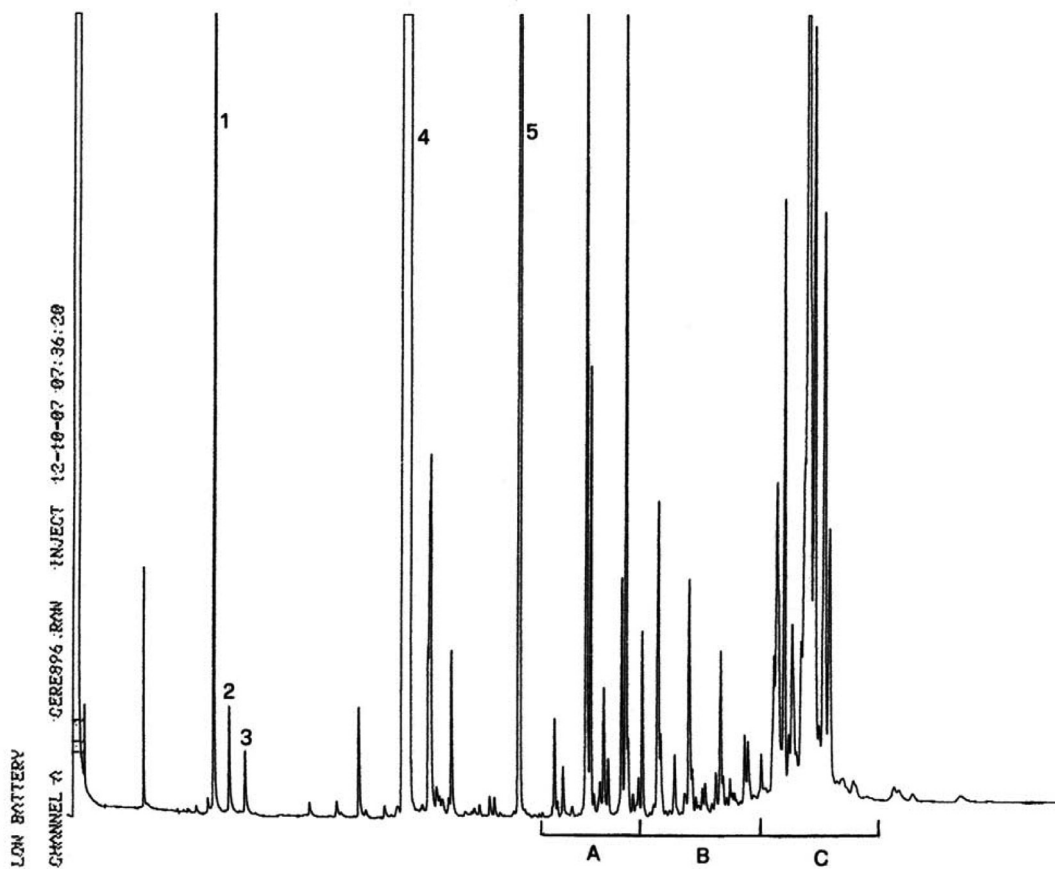


Selgitus:

- 1 – metüül-C<sub>16</sub>
- 2 – etüül-C<sub>16</sub>
- 3 – metüülheptadekanaat (sisestandard)
- 4 – metüül-C<sub>18</sub>
- 5 – etüül-C<sub>18</sub>
- 6 – skvaleen
- 7 – lauriülarahidaat (sisestandard)
- A – diterpeenestrid
- B – vahad
- C – steroolestrid ja triterpeenestrid

Joonis 3

## Ekstra neitsioliiviõli metüülestrid, etüülestrid ja vahad

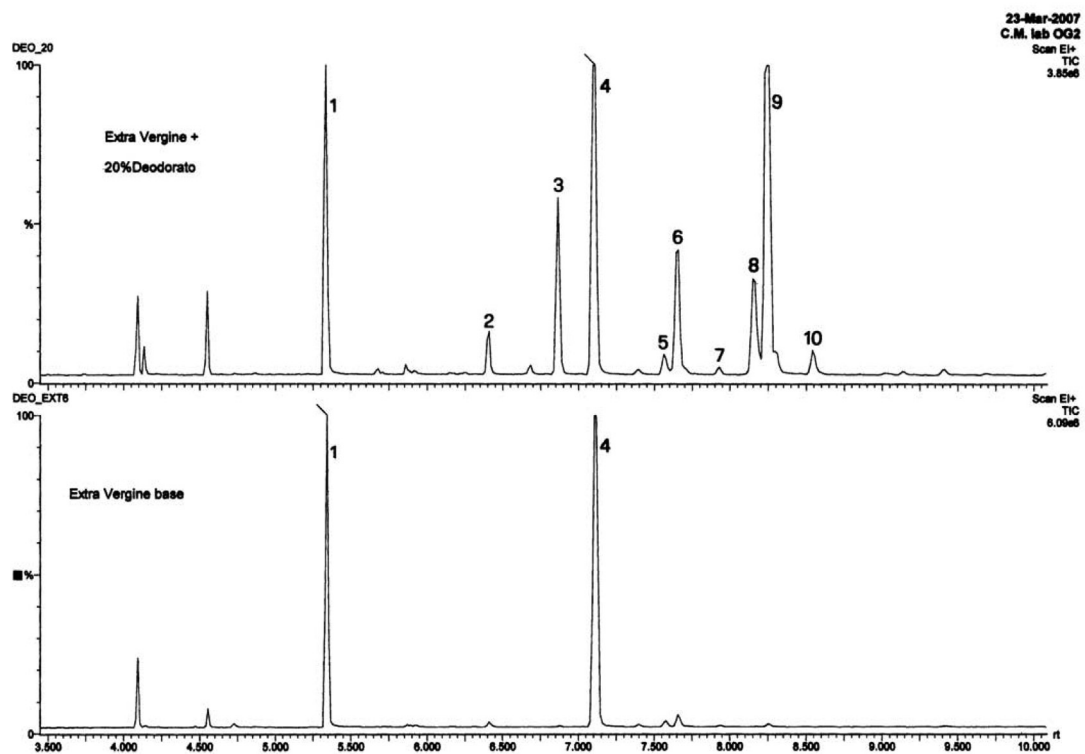


Selgitus:

- 1 – metüülheptadekanaat (sisestandard)
- 2 – metüül-C<sub>18</sub>
- 3 – etüül-C<sub>18</sub>
- 4 – skvaleen
- 5 – lauruülarahidaat (sisestandard)
- A – diterpeenestrid
- B – vahad
- C – steroolestrid ja triterpeenestrid

Joonis 4

Osa ekstra neitsioliiviõli kromatogrammist ja sellise segu kromatogrammist, milles samale õlile on lisatud lõhnatud õli



Selgitus:

- 1 – metüülmüristaat (sisestandard)
- 2 – metüülpalmitaat
- 3 – etüülpalmitaat
- 4 – metüülheptadekanaat (sisestandard)
- 5 – metüüllinoleaat
- 6 – metüüloleaat
- 7 – metüülstearaat
- 8 – etüüllinoleaat
- 9 – etüüloleaat
- 10 – etüülstearaat

*Liide A***Gaasi voolukiiruse määramine**

Pärast gaasikromatograafi viimist tavapärastele töötingimustele süstitakse sellesse 1–3 µl metaani (või propaani). Mõõdetakse aeg, mis kulub gaasi voolamiseks läbi kolonni alates süstimisest kuni piigi ilmumiseni (tM).

Voolukiirus cm/s avaldub valemiga  $L/tM$ , kus L on kolonni pikkus sentimeetrites ja tM on mõõdetud aeg sekundites.”

---