

32011R0061

27.1.2011.

SLUŽBENI LIST EUROPSKE UNIJE

L 23/1

UREDBA KOMISIJE (EU) br. 61/2011**od 24. siječnja 2011.****o izmjeni Uredbe (EEZ) br. 2568/91 o svojstvima maslinovog ulja i ulja komine maslina te o odgovarajućim metodama analize**

EUROPSKA KOMISIJA,

uzimajući u obzir Ugovor o funkcioniranju Europske unije,

uzimajući u obzir Uredbu Vijeća (EZ) br. 1234/2007 od 22. listopada 2007. o uspostavljanju zajedničke organizacije poljoprivrednih tržišta i o posebnim odredbama za određene poljoprivredne proizvode (Uredba o jedinstvenom ZOT-u) ⁽¹⁾, a posebno članke 113. stavak 1. točku (a) i 121. točku (h) u vezi njezina članka 4.,

budući da:

- (1) Uredbom Komisije (EEZ) br. 2568/91 ⁽²⁾ utvrđuju se fizikalna i kemijska svojstva maslinovih ulja i ulja komine maslina, te metode analize ovih svojstava. Ove metode i granične vrijednosti svojstava ulja trebaju se ažurirati na temelju mišljenja kemijskih stručnjaka i sukladno s poslom koji je obavljen u okviru Međunarodnog Vijeća za maslinu.
- (2) Posebno, budući da su kemijski stručnjaci zaključili da je sadržaj etil estera masnih kiselina (FAEE) i metil estera masnih kiselina (FAME) koristan parametar kakvoće ekstra djevičanskog maslinovog ulja, potrebno je unijeti granične vrijednosti za ove estere kao i metodu za određivanje njihovih sadržaja.
- (3) Kako bi se omogućilo razdoblje prilagodbe novim standardima, kako bi se dalo vremena za uvođenje sredstava njihove primjene i kako bi se izbjeglo ometanje trgovinskih transakcija, izmjene donesene ovom Uredbom primjenjuju se od 1. travnja 2011. Iz istih razloga treba donijeti odredbu za maslinovo ulje i ulja komine maslina koja se zakonito proizvode i označavaju u Uniji ili se zakonito uvoze u Uniju i koja se puštaju u slobodan promet na tržište prije toga datuma, sve do isteka svih zaliha.

(4) Uredbu (EEZ) br. 2568/91 treba stoga na odgovarajući način izmijeniti.

(5) Mjere predviđene ovom Uredbom u skladu su s mišljenjem Upravnog odbora za zajedničko uređenje tržišta poljoprivrednih proizvoda,

DONIJELA JE OVU UREDBU:

Članak 1.

Uredba (EEZ) br. 2568/91 mijenja se kako slijedi:

1. U članku 2. stavku 1. dodaje se sljedeća alineja:

„— za određivanje sadržaja voskova, metil estera masnih kiselina i etil estera masnih kiselina kapilarnom plinskom kromatografijom, metoda navedena u Prilogu XX.”

2. U sažetku Priloga, dodaje se sljedeće:

„Prilog XX.: Metoda za utvrđivanje sadržaja voska, metil estera masnih kiselina i etil estera masnih kiselina kapilarnom plinskom kromatografijom.”

3. Prilog I. zamjenjuje se tekстом iz Priloga I. ovoj Uredbi.

4. Prilog XX. se dodaje kako je navedeno u Prilogu II. ovoj Uredbi.

Članak 2.

Proizvodi koji su zakonito proizvedeni i označeni u Uniji ili koji su zakonito uvezeni u Uniju i pušteni u slobodan promet prije 1. travnja 2011. mogu se prodavati sve do isteka zaliha.

⁽¹⁾ SL L 299, 16.11.2007., str. 1.

⁽²⁾ SL L 248, 5.9.1991., str. 1.

Članak 3.

Ova Uredba stupa na snagu trećeg dana od dana objave u *Službenom listu Europske unije*.

Primjenjuje se od 1. travnja 2011.

Ova je Uredba u cijelosti obvezujuća i izravno se primjenjuje u svim državama članicama.

Sastavljeno u Bruxellesu 24. siječnja 2011.

Za Komisiju
Predsjednik
José Manuel BARROSO

SVOJSTVA MASLINOVOG ULJA

Vrsta	Metil esteri masnih kiselina (FAME) i etil esteri masnih kiselina (FAEE)	Kiselost (%) (*)	Peroksidni broj mEq/O ₂ /kg (*)	Voskovi mg/kg (**)	2-gliceril monopalmitat (%)	Stigmastadien mg/kg (1)	Razlika: ECN42 (HPLC) i ECN42 (teoretski izračun)	K ₂₃₂ (*)	K ₂₇₀ (*)	Delta-K (*)	Organoleptička procjena Medijan mana(Mm) (*)	Organoleptička procjena Medijan vočnosti (Mv) (*)
1. Ekstra djevičansko maslinovo ulje	Σ FAME + FAEE \leq 75 mg/kg ili 75 mg/kg $<\Sigma$ FAME + FAEE \leq 150 mg/kg i (FAEE/FAME) \leq 1,5	\leq 0,8	\leq 20	\leq 250	\leq 0,9 ako je % udjela palmitinske kiseline \leq 14 % \leq 1,0 ako je % udjela palmitinske kiseline $>$ 14 %	\leq 0,10	\leq 0,2	\leq 2,50	\leq 0,22	\leq 0,01	Mm = 0	Mv $>$ 0
2. Djevičansko maslinovo ulje	—	\leq 2,0	\leq 20	\leq 250	\leq 0,9 ako je % udjela palmitinske kiseline \leq 14 % \leq 1,0 ako je % udjela palmitinske kiseline $>$ 14 %	\leq 0,10	\leq 0,2	\leq 2,60	\leq 0,25	\leq 0,01	Mm \leq 3,5	Mv $>$ 0
3. Maslinovo ulje lampante	—	$>$ 2,0	—	\leq 300 (3)	\leq 0,9 ako je % udjela palmitinske kiseline \leq 14 % \leq 1,1 ako je % udjela palmitinske kiseline $>$ 14 %	\leq 0,50	\leq 0,3	—	—	—	Mm $>$ 3,5 (2)	—
4. Rafinirano maslinovo ulje	—	\leq 0,3	\leq 5	\leq 350	\leq 0,9 ako je % udjela palmitinske kiseline \leq 14 % \leq 1,1 ako je % udjela palmitinske kiseline $>$ 14 %	—	\leq 0,3	—	\leq 1,10	\leq 0,16	—	—
5. Maslinovo ulje sastavljeno od rafiniranih i djevičanskih maslinovih ulja	—	\leq 1,0	\leq 15	\leq 350	\leq 0,9 ako je % udjela palmitinske kiseline \leq 14 % \leq 1,0 ako je % udjela palmitinske kiseline $>$ 14 %	—	\leq 0,3	—	\leq 0,90	\leq 0,15	—	—
6. Sirovo ulje komine maslina	—	—	—	$>$ 350 (4)	\leq 1,4	—	\leq 0,6	—	—	—	—	—
7. Rafinirano ulje komine maslina	—	\leq 0,3	\leq 5	$>$ 350	\leq 1,4	—	\leq 0,5	—	\leq 2,00	\leq 0,20	—	—
8. Ulje komine maslina	—	\leq 1,0	\leq 15	$>$ 350	\leq 1,2	—	\leq 0,5	—	\leq 1,70	\leq 0,18	—	—

(1) Suma izomera koji se mogu (ali ne moraju) odijeliti kapilarnom kolonom.

(2) Ili ako je median mana manja od ili jednaka 3,5, a medijan vočnosti jednak 0.

(3) Ulja s udjelom voskova između 300 mg/kg i 350 mg/kg smatraju se maslinovim uljima lampante ako je ukupni udio alifatskih alkohola manji od ili jednak 350 mg/kg ili ako je udio eritrodila i uvaola manji od ili jednak 3,5 %.

(4) Ulja s udjelom voskova između 300 mg/kg i 350 mg/kg smatraju se sirovim uljima komine maslina ako je ukupni udio alifatskih alkohola iznad 350 mg/kg i ako je udio eritrodila uvaola veći od 3,5 %.

Vrsta	Sastav masnih kiselina ⁽¹⁾						Suma transoleinskih izomera (%)	Suma translinolnih i translinolenskih izomera (%)	Sastav sterola						Ukupni steroli (mg/kg)	Eritro-diol i uvaol (%) (**)
	Miri-stinska (%)	Lino-lenska (%)	Ara-hinska (%)	Eiko-zenska (%)	Behen-ska (%)	Ligno-cerinska (%)			Kole-sterol (%)	Brasika-sterol (%)	Kampe-sterol (%)	Stigma-sterol (%)	Beta-sito-sterol (%) ⁽²⁾	Delta-7 stig-maste-nol (%)		
1. Ekstra djevičansko maslinovo ulje	≤ 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. Djevičansko maslinovo ulje	≤ 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. Maslinovo ulje lampante	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,10	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	—	≤ 93,0	≤ 0,5	≤ 1 000	≤ 4,5 ⁽³⁾
4. Rafinirano maslinovo ulje	≤ 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. Maslinovo ulje od rafiniranih i djevičanskih maslinovih ulja	≤ 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. Sirovo ulje komine maslina	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,20	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	—	≤ 93,0	≤ 0,5	≤ 2 500	> 4,5 ⁽⁴⁾
7. Rafinirano ulje komine maslina	≤ 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. Ulje komine maslina	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	> kamp.	≤ 93,0	≤ 0,5	≤ 1 600	> 4,5

⁽¹⁾ Druge prisutne masne kiseline (%): palmitinska 7,5-20,0; palmitoleinska: 0,3-3,5; heptadekanska: ≤ 0,3; heptadecenska: ≤ 0,3; stearinska: 0,5 do 5,0; oleinska: 55,0 do 83,0; linolna: 3,5 do 21,0.

⁽²⁾ Suma: Delta-5,23-stigmastadienola + klerosterola + beta-sitosterola + sitostanola + delta-5-avenasterola + delta-5,24-stigmastadienola.

⁽³⁾ Ulja s udjelom voskova između 300 mg/kg i 350 mg/kg smatraju se maslinovim uljima lampante ako je ukupni udio alifatskih alkohola ≤ 350 mg/kg ili ako je udio eritrodiole i uvaole ≤ 3,5 %.

⁽⁴⁾ Ulja s udjelom voskova između 300 mg/kg i 350 mg/kg smatraju se sirovim uljima komine maslina ako je ukupni udio alifatskih alkohola > 350 mg/kg i ako je udio eritrodiole i uvaole > 3,5 %.

Napomena:

(a) Rezultati analiza moraju biti izraženi onim brojem decimalnih mjesta kojim je izražena granična vrijednost za pojedino svojstvo.

Zadnja znamenka mora se uvećati za jednu jedinicu ako je znamenka koja slijedi veća od 4.

(b) Ako najmanje jedno od svojstava ne odgovara navedenim vrijednostima, ulje se može ili svrstati u drugu kategoriju ili svrstati u ulje smanjene kakvoće za svrhe ove Uredbe.

(c) Svojstva označena jednom zvjezdicom (*), a odnose se na kakvoću ulja, podrazumijevaju sljedeće:

— kod maslinovog ulja lampante, moguće je da se istodobno oba označena svojstva razlikuju od propisanih vrijednosti.

— kod djevičanskih maslinovih ulja, ako se najmanje jedno od označenih ograničenja razlikuje od navedenih vrijednosti, ulje se svrstava u drugu odgovarajuću kategoriju unutar djevičanskih maslinovih ulja.

(d) Ako je svojstvo označeno s dvije zvjezdice (**), znači da je za sve tipove ulja komine maslina nije nužno da oba označena svojstva istodobno udovoljavaju propisanim vrijednostima."

PRILOG II.

„PRILOG XX.

Metoda određivanja udjela voskova, metil estera masnih kiselina i etil estera masnih kiselina kapilarnom plinskom kromatografijom

1. SVRHA

Ovom se metodom određuje udjel voskova, metil estera masnih kiselina i etil estera masnih kiselina u maslinovim uljima. Pojedini voskovi i alkil esteri razdvajaju se prema broju ugljikovih atoma. Ova se metoda preporuča kao sredstvo za razlikovanje maslinovog ulja i ulja komine maslina te kao parametar kakvoće ekstra djevičanskih maslinovih ulja omogućavajući otkrivanje krivotvorenih mješavina ekstra djevičanskih maslinovih ulja s uljima niže kakvoće, bilo da su djevičanska, od komine maslina ili neka dezodorirana ulja.

2. PRINCIP

Dodavanje ulju odgovarajućih internih standarda i frakcioniranje pomoću kromatografske kolone punjene hidratiziranim silikagelom. Obnova frakcije koja je eluirana pod uvjetima ovog testiranja (polarnost niža od polarnosti triglicerida) i neposredna analiza kapilarnom plinskom kromatografijom.

3. APARATI

3.1. **Erlenmeyerova tikvica, 25 ml.**

3.2. **Staklena kolona** za tekućinsku kromatografiju, unutarnjeg promjera 15 mm, duljine 30-40 cm, s odgovarajućim pipcem.

3.3. **Plinski kromatograf** s kapilarnom kolonom, opremljen sustavom za izravno injektiranje uzorka u kolonu, koji se sastoji od:

3.3.1. **Termostatska komora s regulatorom temperature.**

3.3.2. **Hladni injektor** za izravno unošenje uzorka u kolonu.

3.3.3. **Plameno-ionizacijski detektor i pretvarač-pojačalo.**

3.3.4. **Pisač-integrator** (Napomena 1.) za uporabu s pretvaračem-pojačalom (točka 3.3.3.), s vremenom odziva manjim od 1 sekunde i promjenjivom brzinom papira.

Napomena 1: Također je moguće koristiti računalne sustave ako se podaci o plinskoj kromatografiji unose putem osobnog računala.

3.3.5. **Kapilarna kolona, lijevani silicijev dioksid (za analizu voskova i metil i etil estera)**, dužine 8-12 m, unutarnjeg promjera 0,25-0,32 mm, iznutra ravnomjerno obložene tekućom fazom (Napomena 2.) slojem debljine 0,10-0,30 μm .

Napomena 2.: Na tržištu postoje tekuće faze pogodne za ovu namjenu poput SE52, SE54 itd.

3.4. **Mikrošprica**, od 10 μl , za izravno unošenje uzorka u kolonu, s čvrsto fiksiranom iglom.

3.5. **Elektrovibrator.**

3.6. **Rotacijski vakuum-uparivač.**

3.7. **Visokotemperaturna peć (mufolna peć).**

3.8. **Analitička vaga** osjetljivosti od $\pm 0,1$ mg.

3.9. Uobičajeno laboratorijsko stakleno suđe.

4. REAGENSI

4.1. **Silikagel** veličine zrna 60-200 µm. Staviti silikagel u mufolnu peć na 500 °C najmanje 4 sata. Nakon hlađenja dodati 2 % vode na količinu silikagela. Dobro protresti kako bi se suspenzija homogenizirala i držati na tamnom mjestu najmanje 12 sati prije upotrebe.

4.2. **n-heksan**, kromatografski stupanj ili stupanj ostatka (mora se provjeriti čistoća).

UPOZORENJE - Para se može zapaliti. Držite se podalje od izvora topline, iskrenja ili golog plamena. Uvijek provjerite jesu li boce dobro zatvorene. Osigurajte pravilno provjetranje tijekom uporabe. Treba izbjegavati nakupljanje pare i otkloniti eventualne opasnosti od požara, poput grijača ili električnih aparata koji nisu proizvedeni od nezapaljivog materijala. Opasno je ako se para udiše jer može izazvati oštećenje živčanih stanica. Treba izbjegavati udisanje pare. Ako je potrebno koristite odgovarajuće aparate za disanje. Treba izbjegavati dodir s očima i kožom.

4.3. **Etil eter, za kromatografiju**

UPOZORENJE - Visoko zapaljiv i umjereno toksičan, iritira kožu. Poguban ako se udiše. Može dovesti do oštećenja očiju. Učinci mogu biti odgođeni. To može stvoriti eksplozivne peroksidge. Pare se mogu zapaliti. Držite se podalje od izvora topline, iskrenja ili golog plamena. Uvijek provjerite jesu li boce dobro zatvorene. Osigurajte pravilno provjetranje tijekom uporabe. Treba izbjegavati nakupljanje pare i otkloniti eventualne ugroze od požara, poput grijača ili električnih aparata koji nisu proizvedeni od nezapaljivog materijala. Ne isparavajte do suhog ili gotovo suhog. Dodavanje vode ili odgovarajuće reducirajuće tvari može smanjiti stvaranje peroksidge. Nemojte piti. Treba izbjegavati udisanje pare. Izbjegavajte duži ili višekratni dodir s kožom.

4.4. **n-heptan**, za kromatografiju, ili **izo-oktan**

UPOZORENJE - Nezapaljiv. Opasan ako se udiše. Držite se podalje od izvora topline, iskrenja ili golog plamena. Uvijek provjerite jesu li boce dobro zatvorene. Osigurajte pravilno provjetranje tijekom uporabe. Treba izbjegavati udisanje pare. Izbjegavajte duži ili višekratni dodir s kožom.

4.5. **Standardna otopina lauril arahidata** (Napomena 3.), koncentracije 0,05 % (m/V) u heptanu (interni standard za voskove).

Napomena 3.: Također je moguće koristiti palmitil palmitat, miristil stearat ili arahidil laureat.

4.6. **Standardna otopina metil heptadekanoata, koncentracije 0,02 % (m/V) u heptanu (interni standard za metil i etil estere).**

4.7. **Sudan 1 (1-fenil-azo-2-naftol).**

4.8. **Plin nositelj: vodik ili helij, čistoće za plinsku kromatografiju.**

UPOZORENJE

Vodik. Pod pritiskom vrlo zapaljiv. Držati podalje od izvora topline, iskrenja ili golog plamena. Uvijek provjerite je li ventil boce dobro zatvoren kada nije u uporabi. Uvijek koristite ventil s reduktorom tlaka. Smanjite napetost opruge reduktora prije otvaranja ventila na boci. Kada otvarate ventil nemojte stajati ispred otvora za ispušni izboč. Osigurajte pravilno provjetranje tijekom uporabe. Ne prenosite plin iz jedne boce u drugu. Nemojte miješati plin u boci. Osigurajte da se boce ne mogu prevrnuti. Držite ih dalje od sunčeve svjetlosti i izvora topline. Pohranite u okruženju bez korozije. Ne koristite oštećene ili neoznačene boce.

Helij. Komprimirani plin pod visokim tlakom. Smanjuje količinu kisika za disanje. Držite boce zatvorenima. Osigurajte pravilno provjetranje tijekom uporabe. Ne ulazite u skladište ako nije pravilno provjetreno. Uvijek koristite ventil s reduktorom tlaka. Smanjite napetost opruge reduktora prije otvaranja ventila na boci. Ne prenosite vodik iz jedne boce u drugu. Osigurajte da se boce ne mogu prevrnuti. Kada otvarate ventil nemojte stajati ispred otvora boce. Držite ih dalje od sunčeve svjetlosti i izvora topline. Pohranite ih u okruženju otpornom na koroziju. Ne koristite oštećene ili neoznačene boce. Nemojte udisati. Koristite isključivo za tehničke namjene.

4.9. Pomoćni plinovi:

- čisti vodik, za plinsku kromatografiju,

- čisti zrak, za plinsku kromatografiju.

UPOZORENJE

Zrak. Komprimirani plin pod visokim tlakom. Koristiti s oprezom u prisutnosti zapaljivih tvari budući da je temperatura samozapaljenja većine organskih spojeva u zraku znatno niža pod visokim tlakom. Uvijek provjerite je li ventil boce dobro zatvoren kada nije u uporabi. Uvijek koristiti ventil s reduktorom tlaka. Smanjite napetost opruge reduktora prije otvaranja ventila na boci. Kada otvarate ventil nemojte stajati ispred otvora boce. Ne prenosite plin iz jedne boce u drugu. Nemojte miješati plin u boci. Osigurajte da se boce ne mogu prevrnuti. Držite ih dalje od sunčeve svjetlosti i izvora topline. Pohranite ih u okruženju bez korozije. Ne koristite oštećene ili neoznačene boce. Zrak namijenjen u tehničke svrhe ne smije se koristiti za udisanje ili aparate za disanje.

5. POSTUPAK

5.1. Priprema kromatografske kolone

Otopiti 15 g silikagela (točka 4.1.) u n-heksanu (točka 4.2.) i unijeti u kolonu (točka 3.2.). Ostaviti da se istaloži. Dopršiti taloženje pomoću elektrovibratora da se dobije ujednačeniji kromatografski sloj. Isprati s 30 ml n-heksana da se uklone sve nečistoće. Na vagi odvagati točno 500 mg uzorka u Erlenmeyerovu tikvicu zapremnine 25 ml (točka 3.1.), koristeći analitičku vagu (točka 3.8.), dodati odgovarajući udio internog standarda (točka 4.5.) prema pretpostavljenom udjelu voska. Na primjer, za maslinovo ulje dodati 0,1 mg lauril arahidrata, a za ulje od komine masline 0,25 do 0,50 mg i 0,05 mg metil heptadekanoata za ulja masline (točka 4.6.).

Pripravljeni uzorak prenijeti u kromatografsku kolonu pomoću dva puta po 2 ml n-heksana (točka 4.2.).

Otapalo ispuštati dok ne dostigne 1 mm iznad gornje razine absorbenta. Ispirati dalje mješavinom n-heksana/etilnog etera (omjer 99:1) i sakupiti 220 ml pri brzini protoka od oko 15 kapi svakih 10 sekundi. **(Ova frakcija sadrži metil i etil estere i voskove).** (Napomena 4.) (Napomena 5.).

Napomena 4.: Mješavina n-heksana/etilnog etera (99:1) mora se prirediti svakodnevno.

Napomena 5.: Za vizualnu provjeru ispravnog eluiranja voskova, uzorku otopine može se dodati 100 µl 1 %-tne otopine Sudana 1 u mješavini.

S obzirom da bojilo ima retenciju između voskova i triglicerida, kada obojenje dostigne dno kromatografske kolone, eluiranje treba obustaviti jer su svi voskovi eluirali.

Iz tako dobivene frakcije u rotacijskom vakuum-uparivaču ispariti gotovo cijelo otapalo. Preostala 2 ml otapala treba odstraniti pomoću blagog protoka dušika. Sakupljenu frakciju koja sadrži metil i etil estere razrijediti s 2-4 ml n-heptana ili izo-okšana.

5.2. Analiza plinskom kromatografijom

5.2.1. Pripremni radovi

Postaviti kolonu na plinski kromatograf (točka 3.3.) povezivanjem ulaznog otvora na sustav neposredno na koloni i izlaznog otvora na detektor. Obaviti provjeru plinskog kromatografa (protok plina, rad detektora i pisača itd.).

Ako se kolona koristi prvi put, potrebno ju je najprije kondicionirati. Pustiti da kroz kolonu prođe malo plina, potom uključiti plinski kromatograf. Postepeno zagrijavati tako da se za 4 sata postigne temperatura od 350 °C.

Održavati temperaturu najmanje dva sata, a zatim uređaj podesiti na radne uvjete (postaviti protok plina, zapaliti plamen, povezati na elektronički pisac (točka 3.3.4.), postaviti temperaturu komore za kolonu, regulirati detektor itd.). Zabilježiti signal pri osjetljivosti koja je najmanje dvostruka od one koju zahtijeva analiza. Bazna linija mora biti linearna, bez pikova ili odstupanja.

Negativno odstupanje ukazuje da kolona nije ispravno spojena, dok pozitivno odstupanje ukazuje da kolona nije dovoljno kondicionirana.

5.2.2. Izbor radnih uvjeta za voskove i metil i etil estere (Napomena 6.).

Radni uvjeti su općenito sljedeći:

— Temperatura kolone:

20 °C/min 5 °C/min

Početno 80 °C (1 min.) ————— 140 °C ————— 335 °C (20),

— Temperatura detektora: 350 °C,

— Količina injektiranog uzorka: 1 µl otopine u n-heptanu (2-4 ml),

— Plin nositelj: helij ili vodik pri optimalnoj linearnoj brzini za odabrani plin (vidjeti Dodatak A),

— Osjetljivost instrumenta: pogodno za ispunjenje gore navedenih uvjeta.

Napomena 6: Zahvaljujući visokoj konačnoj temperaturi, dozvoljeno je pozitivno odstupanje od najviše 10 % vrijednosti pune skale.

Uvjete se može promijeniti prema karakteristikama kolone i plinskog kromatografa kako bi se postiglo razdvajanje svih voskova i metil i etil estera masnih kiselina kao i zadovoljavajuće razdvajanje pikova (vidjeti slike 2., 3. i 4.) i vrijeme zadržavanja koje za interni standard lauril arahidata iznosi 18 ± 3 minute. Glavni pik koji pripada voskovima mora dostizati najmanje 60 % vrijednosti pune skale, dok interni standard metilnog heptadekanoata za metil i etil estere mora dosegnuti vrijednost pune skale.

Integracijski parametri pikova moraju biti utvrđeni tako da se dobije ispravna ocjena površina pikova.

5.3. Provođenje analize

Mikrošpricom od 10 µl uzeti 10 µl otopine, povući klip šprice tako da igla bude prazna. Staviti iglu u injektor i nakon 1-2 sekunde brzo ubrizgati. Nakon 5 sekundi polagano izvući iglu.

Registrirati kromatogram sve dok voskovi ili stigmastadieni potpuno ne eluiraju, ovisno o frakciji koja se analizira.

Bazna linija mora stalno zadovoljavati tražene uvjete.

5.4. Identifikacija pikova

Identifikacija pojedinih pikova mora se temeljiti na vremenu zadržavanja, usporedbom s poznatim vremenima zadržavanja mješavina voskova analiziranih pod istim uvjetima. Identifikacija alkil estera vrši se iz mješavina metil i etil estera glavnih masnih kiselina u maslinovim uljima (palmitinskih i oleinskih).

Slika 1. prikazuje kromatogram voskova djevičanskog maslinovog ulja. Slike 2. i 3. prikazuju kromatograme dvije vrste ekstra djevičanskog maslinova ulja u maloprodaji, od kojih jedno posjeduje metil i etil estere, a drugo ne. Na slici 4. su kromatogrami ekstra djevičanskog maslinovog ulja vrhunske kakvoće i istog tog ulja pomiješanog s 20 % dezodoriranog ulja.

5.5 Određivanje udjela voskova

Pomoću integratora izračunani površine pikova internog standarda lauril arahidata i alifatskih estera C₄₀ do C₄₆.

Udio ukupnih voskova izračunavamo dodavanjem svakog pojedinog voska u mg/kg ulja, kako slijedi:

$$\text{Voskovi, mg/kg} = \frac{(\sum A_x) \cdot m_s \cdot 1000}{A_s \cdot m}$$

gdje je:

A_x = površina pika pojedinog estera, računalnim izračunom

A_s = površina pika internog standarda lauril arahidata, računalnim izračunom

m_s = masa dodanog internog standarda lauril arahidata, u miligramima

m = masa uzorka za analizu, u gramima.

5.5.1. Kvantitativna analiza metil i etil estera

Pomoću integratora izračunani površine pikova internog standarda metil heptadekanoata, masnih kiselina metil estera C₁₆ i C₁₈ i masnih kiselina etil estera C₁₆ i C₁₈.

Izračunati udio svakog alkil estera u mg/kg ulja, kako slijedi:

$$\text{Ester, mg/kg} = \frac{A_x \cdot m_s \cdot 1000}{A_s \cdot m}$$

gdje je:

A_x = površina pika pojedinog C₁₆ i C₁₈ estera, računalnim izračunom

A_s = površina pika internog standarda metil heptadekanoata, računalnim izračunom

m_s = masa dodanog internog standarda metil heptadekanoata, u miligramima

m = masa uzorka za izračun, u gramima.

6. IZRAŽAVANJE REZULTATA

Ukupan udio različitih voskova C₄₀ do C₄₆ (Napomena 7.) izražava se u miligramima po kilogramu ulja.

Ukupan udio metil estera i etil estera C₁₆ do C₁₈ i njihov zbroj.

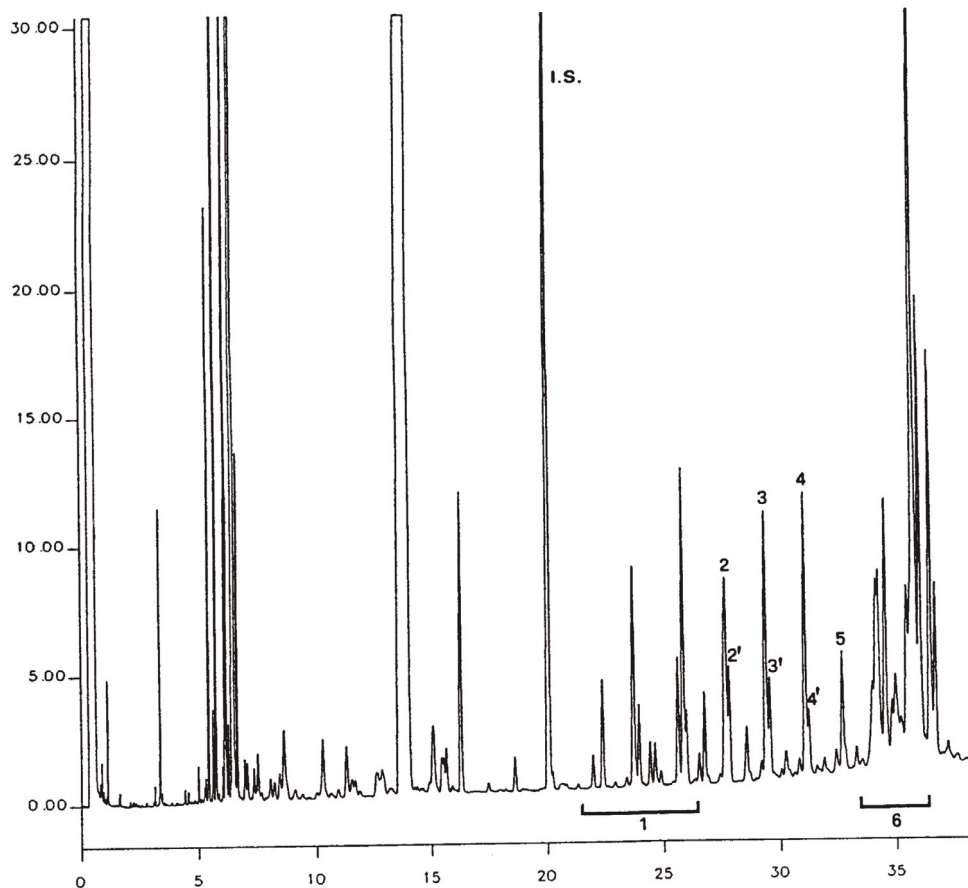
Rezultati trebaju biti izraženi najbliže moguće odnosu mg/kg.

Napomena 7.: Komponente koje treba kvantificirati odnose se na pikove s parnim brojevima ugljika između estera C₄₀-C₄₆, kao primjer može se koristiti kromatogram voskova maslinovog ulja prikazan na priloženoj slici. Ako se C₄₆ ester pojavi dva puta, preporuča se da se za njegovu identifikaciju analizira frakcija voskova ulja komine masline gdje je pik C₄₆ jednostavno identificirati jer je očigledno najveći.

Treba izraziti omjer između etil estera i metil estera.

Slika 1.

Primjer plinskog kromatograma frakcije voska maslinovog ulja (*)



Pikovi s vremenom zadržavanja metil i etil estera masnih kiselina 5-8 minuta.

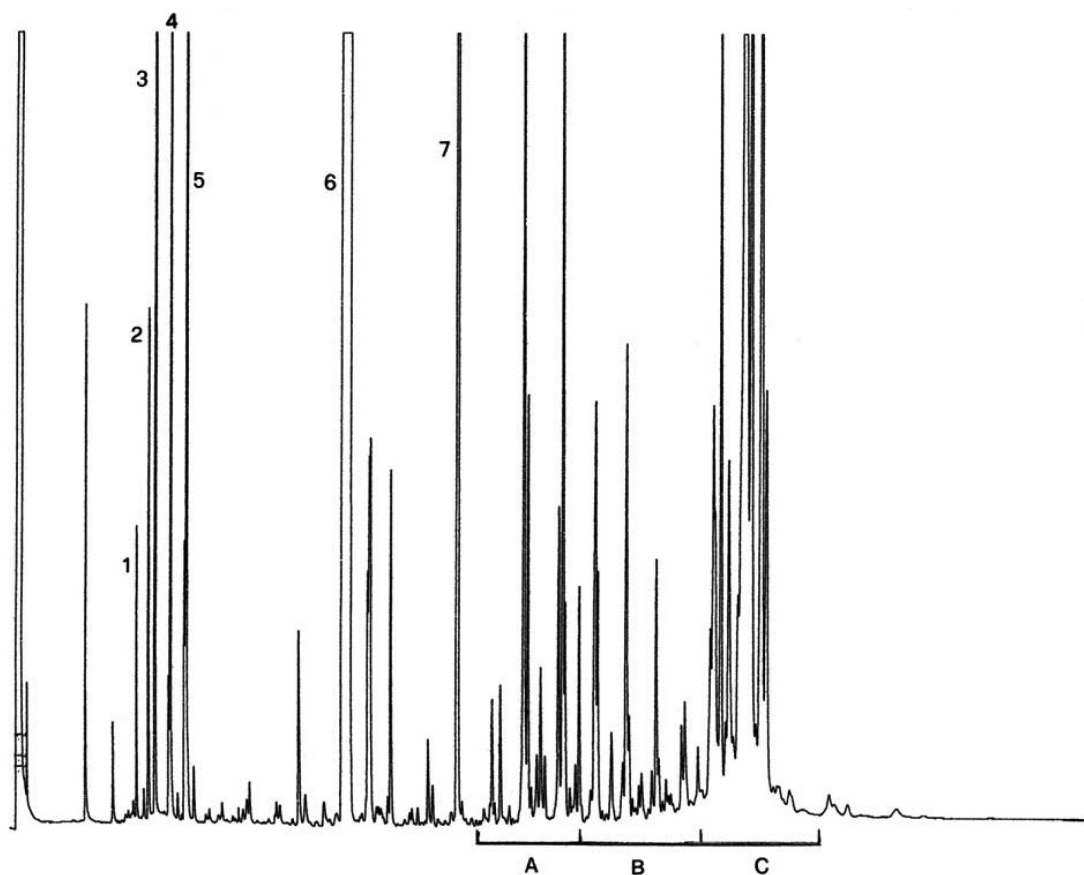
Legenda:

- I.S. = lauril arahidat
- 1 = diterpenski esteri
- 2 + 2' = esteri C₄₀
- 3 + 3' = esteri C₄₂
- 4 + 4' = esteri C₄₄
- 5 = esteri C₄₆
- 6 = sterolni esteri i triterpenski alkohol

(*) Nakon eluiranja sterolnih estera, kromatogram ne smije pokazivati signifikantne pikove (trigliceridi).

Slika 2.

Metil esteri, etil esteri i voskovi u djevičanskom maslinovom ulju

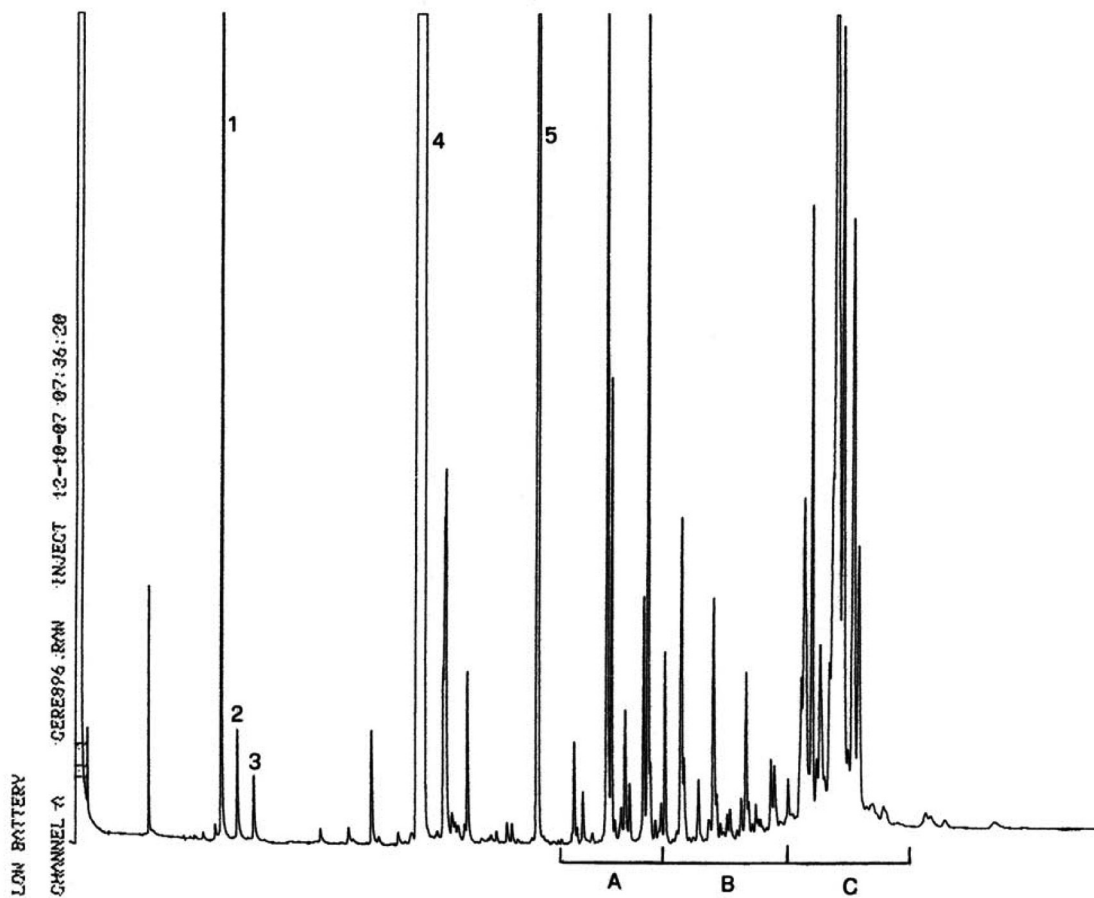


Legenda:

- 1 – Metil C₁₆
- 2 – Etil C₁₆
- 3 – Metil heptadekanoat I.S.
- 4 – Metil C₁₈
- 5 – Etil C₁₈
- 6 – Skvalen
- 7 – Lauril arahidat I.S.
- A – Diterpenski esteri
- B – Voskovi
- C – Sterolni esteri i triterpenski esteri

Slika 3.

Metil esteri, etil esteri i voskovi u ekstra djevičanskom maslinovom ulju

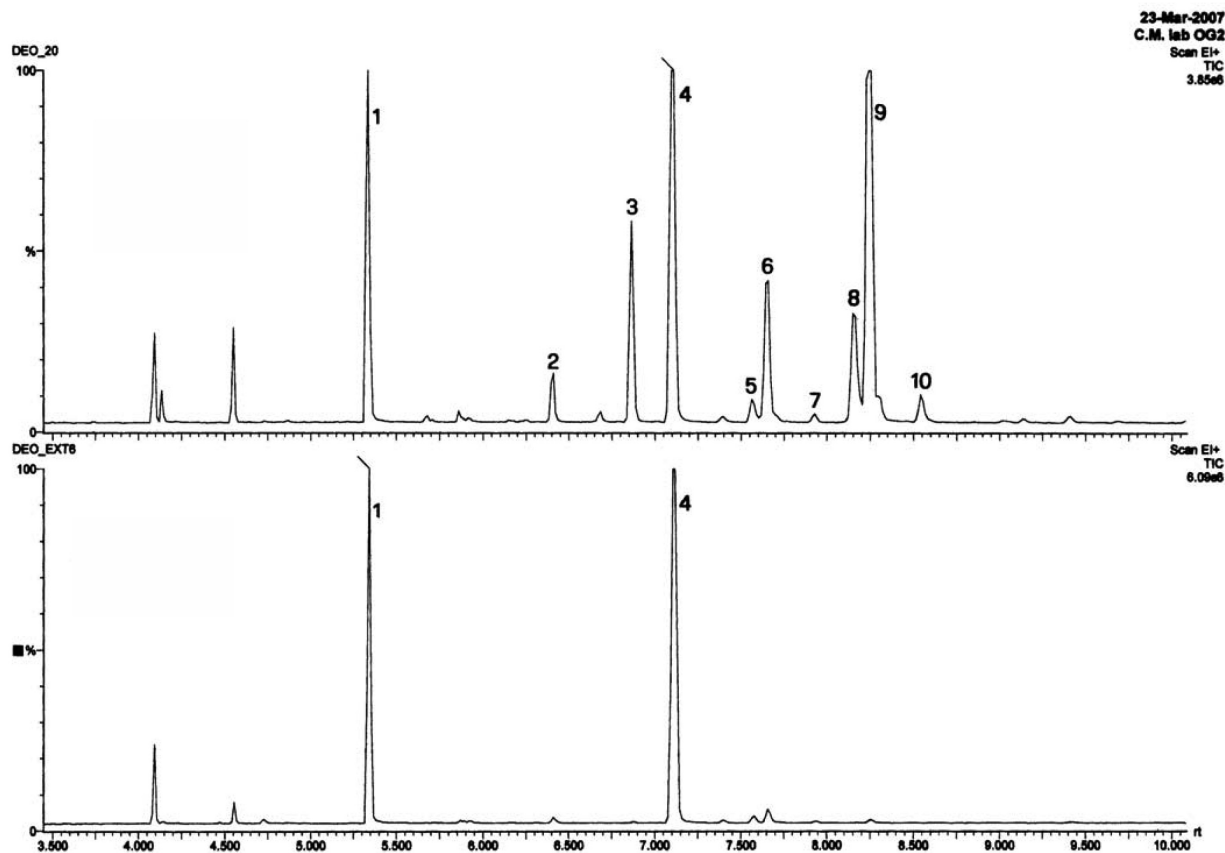


Legenda:

- 1 – Metil heptadekanoat I.S.
- 2 – Metil C₁₈
- 3 – Etil C₁₈
- 4 – Skvalen
- 5 – Lauril arahidat I.S.
- A – Diterpenski esteri
- B – Voskovi
- C – Sterolni esteri i triterpenski esteri

Slika 4.

Dio kromatograma ekstra djevičanskog maslinovog ulja i istog ulja miješanog s dezodoriranim uljem



Legenda:

- 1 – Metil miristat I.S.
- 2 – Metil palmitat
- 3 – Etil palmitat
- 4 – Metil heptadekanoat I.S.
- 5 – Metil linoleat
- 6 – Metil oleat
- 7 – Metil stearat
- 8 – Etil linoleat
- 9 – Etil oleat
- 10 – Etil stearat

*Dodatak A***Određivanje linearne brzine plina**

U plinski kromatograf podešen na normalne radne uvjete injektira se 1 do 3 μ l metana (ili propana). Mjeri se vrijeme koje je potrebno plinu da prođe kroz kolonu, od trenutka injektiranja do pojave pika (t_M).

Linearna brzina, u cm/s, dana je formulom L/t_M , gdje je L duljina kolone u cm, a t_M vrijeme je izmjereno u sekundama.”
