

32013R0299

L 90/52

SLUŽBENI LIST EUROPSKE UNIJE

28.3.2013.

PROVEDBENA UREDBA KOMISIJE (EU) br. 299/2013**od 26. ožujka 2013.****o izmjeni Uredbe (EEZ) br. 2568/91 o karakteristikama 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 njezin članak 113. stavak 1. točku (a) i članak 121. stavak 1. točku (a) u vezi s člankom 4.,

budući da:

- (1) Uredbom Komisije (EEZ) br. 2568/91 od 11. srpnja 1991. o karakteristikama maslinovog ulja i ulja komine maslina te o odgovarajućim metodama analize⁽²⁾ definiraju se kemijska i senzorska svojstva maslinovog ulja i ulja komine maslina te određuju metode ocjenjivanja tih karakteristika. Te metode treba ažurirati na temelju mišljenja kemijskih stručnjaka te u skladu s obavljenim radom u okviru Međunarodnog vijeća za masline (dalje u tekstu „IOC“).
- (2) Sukladno članku 113. stavku 3. Uredbe (EZ) br. 1234/2007, države članice trebaju provjeriti jesu li maslinova ulja i ulja komine masline u skladu s tržišnim standardima utvrđenim u Uredbi (EEZ) br. 2568/91 te trebaju, kad je to primjereno, primijeniti sankcije. Člancima 2. i 2.a Uredbe (EEZ) br. 2568/91 utvrđuju se detaljna pravila za te provjere sukladnosti. Ta pravila trebaju osigurati da maslinovo ulje za koje je utvrđen standard kvalitete bude stvarno usklađeno s tim standardom. Pravila treba detaljnije opisati i ona trebaju uključivati analizu rizika. Za potrebe tih provjera sukladnosti treba definirati pojam „maslinovo ulje stavljeno na tržište“.
- (3) Iskustvo je pokazalo da određeni rizici od prijevare onemogućavaju cjelokupni učinak zaštite potrošača koju pruža Uredba (EEZ) br. 2568/91. Posjednici maslinovog ulja stoga trebaju za svaku kategoriju ulja voditi registar ulaza i izlaza. U svrhu izbjegavanja prekomjernih administrativnih opterećenja, a ne ugrožavajući ciljeve registra maslinovog ulja, prikupljanje podataka treba ograničiti do faze punjenja maslinovog ulja u boce.
- (4) U svrhu osiguravanja praćenja i procjene mjera Uredbe (EEZ) br. 2568/91 države članice trebaju obavješćivati Komisiju ne samo o nacionalnim provedbenim mjerama,

nego trebaju izvješćivati i o rezultatima provjera sukladnosti.

- (5) Kako bi se nastavio postupak usklađivanja s međunarodnim normama koje je utvrdio IOC, određene metode analize utvrđene u Uredbi (EEZ) br. 2568/91 treba ažurirati. Slijedom toga, metodu analize predviđenu u Prilogu XVIII. toj Uredbi treba zamijeniti učinkovitijom metodom. Također je primjereno otkloniti neke nedosljednosti i nesavršenosti metoda analize predviđenih u njezinom Prilogu IX.
- (6) Državama članicama je potrebno prijelazno razdoblje kako bi primijenile nova pravila utvrđena ovom Uredbom.
- (7) Komisija je razvila informacijski sustav koji omogućuje elektroničko upravljanje dokumentima i postupcima u vlastitim internim radnim postupcima i u odnosu s tijelima uključenim u zajedničku poljoprivrednu politiku. Smatra se da se obveze obavješćivanja predviđene u Uredbi (EEZ) br. 2568/91 mogu ispuniti putem tog sustava u skladu s Uredbom Komisije (EZ) br. 792/2009 od 31. kolovoza 2009. o utvrđivanju detaljnih pravila u skladu s kojima države članice moraju Komisiji dostavljati podatke i dokumente pri provedbi zajedničke organizacije tržišta, sustava izravnih plaćanja, promidžbe poljoprivrednih proizvoda i režima koji se primjenjuju na najudaljenije regije i manje egejske otoke⁽³⁾.
- (8) Uredbu (EEZ) br. 2568/91 stoga treba na odgovarajući način izmijeniti.
- (9) Upavljački odbor za zajedničku organizaciju poljoprivrednih tržišta nije dostavio svoje mišljenje u roku koji je odredio njegov predsjednik,

DONIJELA JE OVU UREDBU:

Članak 1.

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

1. Članak 2.a zamjenjuje se sljedećim:

„Članak 2.a

1. Za potrebe ovog članka, „maslinovo ulje stavljeno na tržište“ znači ukupna količina maslinovog ulja i ulja komine maslina odnosno države članice koje se konzumira u toj državi članici ili se izvozi iz te države članice.

⁽¹⁾ SL L 299, 16.11.2007., str. 1.⁽²⁾ SL L 248, 5.9.1991., str. 1.⁽³⁾ SL L 228, 1.9.2009., str. 3.

2. Države članice osiguravaju da se provjere sukladnosti provode selektivno i odgovarajućom učestalošću te na temelju analize rizika kako bi se osiguralo da maslinovo ulje stavljeno na tržište bude u skladu s deklariranim kategorijom.

3. Kriteriji za procjenu rizika mogu uključivati:

- (a) kategoriju ulja, razdoblje proizvodnje, cijenu ulja u odnosu na druga biljna ulja, postupke miješanja i pakiranja, skladišne prostore i uvjete, zemlju podrijetla, zemlju odredišta, prijevozno sredstvo ili količinu serije;
- (b) položaj gospodarskih subjekata u trgovinskom lancu, opseg i/ili vrijednost koju stavljaju na tržište, raspon kategorija ulja koja stavljaju na tržište, vrstu poslovanja koje obavljaju, kao što su mljevenje, skladištenje, rafiniranje, miješanje, pakiranje ili maloprodaja;
- (c) nalaze prijašnjih provjera koji uključuju broj i vrstu utvrđenih nedostataka, uobičajenu kvalitetu ulja stavljenih na tržište, učinkovitost korištene tehničke opreme;
- (d) pouzdanost sustava osiguranja kvalitete ili sustava samo-provjere gospodarskih subjekata vezanih uz usklađenost s tržišnim standardima;
- (e) mjesto provođenja provjere, posebno ako se radi o prvom mjestu ulaska u Uniju, posljednjem mjestu izlaska iz Unije ili mjestu gdje se ulja proizvode, pakiraju, utovaruju ili prodaju krajnjem potrošaču;
- (f) sve druge informacije koje bi mogle ukazivati na rizik nesukladnosti.

4. Države članice unaprijed utvrđuju:

- (a) kriterije za procjenu rizika nesukladnosti serija;
- (b) na temelju analize rizika za svaku kategoriju rizika, najmanji broj gospodarskih subjekata ili serija i/ili količine koje podliježu provjeri sukladnosti.

Godišnje se provodi najmanje jedna provjera sukladnosti na tisuću tona maslinovog ulja stavljenog na tržište u državi članici.

5. Države članice provjeravaju sukladnost:

- (a) provođenjem, bilo kojim redosljedom, analiza utvrđenih Prilogom I.; ili
- (b) sljedeći redosljed utvrđen u Prilogu I.b na shemi odlučivanja sve dok se ne postigne jedna od odluka sa sheme odlučivanja.”

2. Članak 3. zamjenjuje se sljedećim:

„Članak 3.

Ako se utvrdi da ulje ne odgovara opisu svoje kategorije, dotična država članica, ne dovodeći u pitanje druge sankcije, primjenjuje učinkovite, proporcionalne i odvraćajuće sankcije koje se određuju s obzirom na ozbiljnost otkrivene nepravilnosti.

Ako provjere otkriju značajne nepravilnosti, države članice povećavaju učestalost provjera u odnosu na fazu prodaje, kategoriju ulja, podrijetlo ili druge kriterije.”

3. Umeće se sljedeći članak 7.a:

„Članak 7.a.

Fizičke ili pravne osobe i skupine osoba koje drže maslinovo ulje i ulje komine masline od faze ekstrakcije u uljari do uključivo faze punjenja u boce, u bilo koje profesionalne ili komercijalne svrhe, za svaku kategoriju tih ulja vode registar ulaza i izlaza.

Država članica osigurava propisno ispunjavanje obveze utvrđene u stavku 1.”

4. Članak 8. zamjenjuje se sljedećim:

„Članak 8.

1. Države članice obavješćuju Komisiju o mjerama kojima se provodi ova Uredba. One obavješćuju Komisiju o svim naknadnim izmjenama.

2. Najkasnije do 31. svibnja svake godine države članice Komisiji dostavljaju izvješće o provedbi ove Uredbe tijekom prethodne kalendarske godine. Izvješće sadrži najmanje rezultate provjera sukladnosti provedenih na maslinovim uljima u skladu s obrascima iz Priloga XXI.

3. Obavijesti navedene u ovoj Uredbi sastavljaju se u skladu s Uredbom Komisije (EZ) br. 792/2009. (*).

(*) SL L 228, 1.9.2009., str. 3.”

5. Prilog V. zamjenjuje se tekстом iz Priloga I. ovoj Uredbi.

6. Prilog XVIII. zamjenjuje se tekстом iz Priloga II. ovoj Uredbi.

7. Dodaje se Prilog XXI. čiji je tekst naveden u Prilogu III. ovoj Uredbi.

Članak 2.

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

Primjenjuje se od 1. siječnja 2014. Međutim, članak 8. stavak 2. primjenjuje se od 1. siječnja 2015.

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

Sastavljeno u Bruxellesu 26. ožujka 2013.

Za Komisiju
Predsjednik
José Manuel BARROSO

PRILOG I.

„PRILOG IX.

SPEKTROFOTOMETRIJSKA ANALIZA U ULTRALJUBIČASTOM PODRUČJU

UVOD

Spektrofotometrijska analiza u ultraljubičastom području može dati informacije o kvaliteti masti, njezinom stanju očuvanosti i promjenama prouzročenim tehnološkim procesima.

Do apsorpcije na valnim duljinama navedenim u metodi dolazi zbog prisutnosti konjugiranih dienskih i trienskih sustava. Te se apsorpcije iskazuju kao specifične ekstinkcije $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ (ekstinkcija 1 %-tne otopine masti u specificiranom otapalu, s duljinom puta od 1 cm) i dogovorno se označavaju s K (naziva se i 'koeficijentom ekstinkcije').

1. OPSEG

Ova metoda opisuje postupak provođenja spektrofotometrijske analize maslinovog ulja (kao što je opisano u Dodatku) u ultraljubičastom području.

2. NAČELO METODE

Predmetna mast otapa se u predviđenom otapalu, a zatim se izmjeri ekstinkcija otopine na određenim valnim duljinama u odnosu na čisto otapalo. Specifične ekstinkcije izračunavaju se iz spektrofotometrijskih očitavanja. Izračunava se specifična apsorbancija na 232 nm i 268 nm u izo-oktanu ili 232 nm i 270 nm u cikloheksanu za koncentraciju od 1 g/100 ml u kiveti od 10 mm.

3. OPREMA

3.1. Spektrofotometar za mjerenje ekstinkcije u ultraljubičastom području između 220 i 360 nm, s mogućnošću očitavanja pojedinačnih nanometrijskih jedinica. Prije uporabe se preporučuje provjeriti ljestvice valnih duljina i apsorbancija spektrometra na sljedeći način.

3.1.1. *Ljestvica valnih duljina:* Ona se može provjeriti korištenjem referentnog materijala koji se sastoji od filtra od optičkog stakla koji sadrži holmijev oksid s jasnim apsorpcijskim frekvencijama. Referentni je materijal namijenjen provjeri i baždarenju ljestvica valnih duljina vidljivih i ultraljubičastih spektrofotometara s nominalnim spektralnim frekvencijskim širinama od 5 nm ili manje. Mjeri se apsorbancija staklenog filtra s holmijevim oksidom u odnosu na zrak kao slijepu probu u rasponu valnih duljina od 640 do 240 nm. Za svaku spektralnu frekvencijsku širinu (0,10 – 0,25 – 0,50 – 1,00 – 1,50 – 2,00 i 3,00) provodi se ispravljanje bazne linije s praznim nositeljem kivete. Valne duljine spektralne frekvencijske širine navedene su u certifikatu referentnog materijala u normi ISO 3656.

3.1.2. *Ljestvica apsorbancije:* Ona se može provjeriti korištenjem referentnog materijala koji se sastoji od 4 otopine kalijeva dikromata u perklornoj kiselini zatvorenog u četiri UV kvarcne kivete za mjerenje referentne vrijednosti linearnosti i fotometrijske točnosti u UV-području. Kivete punjene kalijevim dikromatom (40 mg/ml, 60 mg/ml, 80 mg/ml i 100 mg/ml) mjere se u odnosu na slijepu probu perklorne kiseline. Neto vrijednosti apsorbancije navedene su u certifikatu referentnog materijala u normi ISO 3656.

3.2. Pravokutne kvarcne kivete, s poklopcima, s optičkom duljinom od 1 cm. Kivete napunjene vodom ili drugim prikladnim otapalom ne smiju pokazivati međusobne razlike u ekstinkciji veće od 0,01 ekstinkcijskih jedinica.

3.3. Odmjerne tikvice od 25 ml.

3.4. Analitička vaga, s točnošću od 0,0001 g.

4. REAGENSI

Koristite samo reagense priznate analitičke čistoće, osim ako nije navedeno drukčije.

Otapalo: Izo-oktan (2,2,4-trimetilpentan) za mjerenje pri 232 nm i 268 nm ili cikloheksan za mjerenje pri 232 nm i 270 nm, s apsorbancijom manjom od 0,12 pri 232 nm i manjom od 0,05 pri 250 nm u odnosu na destiliranu vodu, izmjereno u kiveti od 10 mm.

5. POSTUPAK

5.1. Predmetni uzorak mora biti potpuno homogen i bez potencijalnih nečistoća. Ulja koja su tekuća pri sobnoj temperaturi treba filtrirati preko papira pri temperaturi od oko 30 °C, čvrste masti treba homogenizirati i filtrirati pri temperaturi od najviše 10 °C iznad tališta.

- 5.2. Od tako pripremljenog uzorka precizno odvagajte približno 0,25 g (s točnošću od 1 mg) tako pripremljenog uzorka u odmjerenoj tikvici od 25 ml, nadopunite specifičnim otapalom do oznake i homogenizirajte. Dobivena otopina mora biti savršeno bistra. Ako je došlo do opalescencije ili mutnoće, brzo je profilirajte preko filter papira.
- 5.3. Napunite kvarcnu kivetu dobivenom otopinom i izmjerite ekstinkcije na odgovarajućoj valnoj duljini između 232 i 276 nm, koristeći upotrijebljeno otapalo kao referencu.

Očitane vrijednosti ekstinkcije moraju biti unutar intervala od 0,1 do 0,8. Ako nije tako, mjerenja se moraju ponoviti koristeći otopine veće ili manje koncentracije, ovisno o slučaju.

NAPOMENA: Možda neće biti potrebno mjeriti apsorbanciju za cijeli raspon valnih duljina.

6. IZRAŽAVANJE REZULTATA

- 6.1. Zabilježite specifične ekstinkcije (koeficijente ekstinkcije) na različitim valnim duljinama, izračunate kako slijedi:

$$K_{\lambda} = \left(\frac{E_{\lambda}}{c \cdot s} \right)$$

gdje je:

K_{λ} = specifična ekstinkcija pri valnoj duljini λ ;

E_{λ} = Izmjerena ekstinkcija pri valnoj duljini λ ;

c = koncentracija otopine u g/100 ml;

s = debljina kvarcne kivete u cm.

Rezultate treba iskazati s dva decimalna mjesta.

6.2. Varijacija specifične ekstinkcije (ΔK)

Spektrofotometrijska analiza maslinovog ulja u skladu sa službenom metodom u zakonodavstvu Unije uključuje i određivanje varijacije apsolutne vrijednosti specifične ekstinkcije (ΔK) prema sljedećem izrazu:

$$\Delta K = \left| K_m - \left(\frac{K_{m-4} + K_{m+4}}{2} \right) \right|$$

gdje je K_m specifična ekstinkcija pri valnoj duljini m , valna duljina za maksimalnu apsorpciju ovisi o upotrijebljenom otapalu: 270 za cikloheksan i 268 za izo-oktan.

SVOJSTVA MASLINOVOG ULJA

Kategorija	Metilni esteri masnih kiselina (FAME) i etilni 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 (*) „K 270 ili K 268 (3)“	Delta-K (*) (5)	Senzorska analiza Medijan mana (Mm) (*)	Senzorska analiza Medijan vočnosti (Mv) (*)
1. Ekstra djevičansko maslinovo ulje	Σ FAME + FAEE ≤ 75 mg/kg ili 75 mg/kg < Σ FAME + FAEE ≤ 150 mg/kg i (FAEE/FAME) ≤ 1,5	≤ 0,8	≤ 20	≤ 250	≤ 0,9 ako je udio palmitinske kiseline % ≤ 14 %	≤ 0,10	≤ 0,2	≤ 2,50	≤ 0,22	≤ 0,01	Mm = 0	Mv > 0
					≤ 1,0 ako je udiopalmitinske kiseline % > 14 %							
2. Djevičansko maslinovo ulje	—	≤ 2,0	≤ 20	≤ 250	≤ 0,9 ako je udio palmitinske kiseline % ≤ 14 %	≤ 0,10	≤ 0,2	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,01	Mm ≤ 3,5	Mv > 0
					≤ 1,0 ako je udio palmitinske kiseline % > 14 %							
3. Maslinovo ulje lampante	—	> 2,0	—	≤ 300 (3)	≤ 0,9 ako je udio palmitinske kiseline % ≤ 14 %	≤ 0,50	≤ 0,3	—	—	—	Mm > 3,5 (2)	—
					≤ 1,1 ako je udiopalmitinske kiseline % > 14 %							
4. Rafinirano maslinovo ulje	—	≤ 0,3	≤ 5	≤ 350	≤ 0,9 ako je udio palmitinske kiseline % ≤ 14 %	—	≤ 0,3	—	≤ 1,10	≤ 0,16	—	—
					≤ 1,1 ako je udio palmitinske kiseline % > 14 %							
5. Maslinovo ulje sastavljeno od rafiniranog i djevičanskih maslinovih ulja	—	≤ 1,0	≤ 15	≤ 350	≤ 0,9 ako je udiopalmitinske kiseline % ≤ 14 %	—	≤ 0,3	—	≤ 0,90	≤ 0,15	—	—
					≤ 1,0 ako je udiopalmitinske kiseline % > 14 %							
6. Sirovo ulje komine maslina	—	—	—	> 350 (4)	≤ 1,4	—	≤ 0,6	—	—	—	—	—
7. Rafinirano ulje komine maslina	—	≤ 0,3	≤ 5	> 350	≤ 1,4	—	≤ 0,5	—	≤ 2,00	≤ 0,20	—	—
8. Ulje komine maslina	—	≤ 1,0	≤ 15	> 350	≤ 1,2	—	≤ 0,5	—	≤ 1,70	≤ 0,18	—	—

(1) Ukupni izomeri koji bi se mogli (ili ne) odvojiti kapilarnom kolonom.

(2) Ili ako je Medijan mana ≤ 3,5, a Medijan vočnosti = 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 ≤ 350 mg/kg ili ako je udio eritrodioila i uvaola ≤ 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 eritrodioila i uvaola > 3,5 %.

(5) K 270 ako je otopina cikloheksan, K 268 ako je otopina izo-oktan.

PRILOG II.

„PRILOG XVIII.

ODREĐIVANJE RAZLIKE IZMEĐU STVARNE I TEORETSKE KOLIČINE TRIACILGLICEROLA S ECN 42

1. OPSEG

Određivanje apsolutne razlike između eksperimentalnih vrijednosti triacilglicerola (TAG) s ekvivalentnim ugljikovim brojem 42 (ECN42_{HPLC}) dobivenog određivanjem u ulju visoko djelotvornom tekućinskom kromatografijom i teoretske vrijednosti TAG-a s ekvivalentnim ugljikovim brojem 42 (ECN 42_{teoretski}) izračunato na temelju sastava masnih kiselina.

2. PODRUČJE PRIMJENE

Ova se norma primjenjuje na maslinova ulja. Metoda se primjenjuje za dokazivanje prisutnosti malih količina sjemenskih ulja (bogatih linolnom kiselinom) u svim kategorijama maslinovih ulja.

3. PRINCIP

Udio triacilglicerola s ECN 42 određen HPLC metodom i teoretski udio triacilglicerola s ECN 42 (izračunan na temelju sastava masnih kiselina utvrđenog plinsko-tekućinskom kromatografijom) podudaraju se unutar određenih granica za čista ulja. Razlika veća od vrijednosti utvrđenih za pojedine vrste ulja ukazuju na to da ulje sadrži sjemenska ulja.

4. METODA

Metoda izračunavanja teoretskog udjela triacilglicerola s ECN 42 te razlike između teoretskog udjela i rezultata dobivenih HPLC metodom, u osnovi predstavlja uspoređivanje analitičkih podataka dobivenih pomoću drugih metoda. Mogu se razlikovati tri faze: određivanje sastava masnih kiselina kapilarnom plinskom kromatografijom, izračunavanje teoretskog sastava triacilglicerola s ECN 42 te određivanje triacilglicerola s ECN 42 HPLC metodom.

4.1. **Aparatura**

4.1.1. Tikvice s okruglim dnom, 250 i 500 ml.

4.1.2. Laboratorijske čaše, 100 ml.

4.1.3. Staklena kromatografska kolona unutarnjeg promjera 21 mm, duljine 450 mm, s pipcem i normiranim konusnim nastavkom (s unutarnje strane) pri vrhu.

4.1.4. Lijeveći za odjeljivanje od 250 ml, s normiranim konusnim nastavkom (s vanjske strane) na dnu, prikladni za spajanje na vrh kolone.

4.1.5. Stakleni štapić duljine 600 mm.

4.1.6. Stakleni lijevak promjera 80 mm.

4.1.7. Odmjerne tikvice od 50 ml.

4.1.8. Odmjerne tikvice od 20 ml.

4.1.9. Rotirajući uparivač.

4.1.10. Tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti koji omogućuje termostatsku kontrolu temperature kolone.

4.1.11. Jedinica za injektiranje 10 µl.

4.1.12. Detektor: diferencijalni refraktometar. Osjetljivost na punoj skali treba biti najmanje 10⁻⁴ jedinica indeksa refrakcije.

4.1.13. Kolona: cijev od nehrđajućeg čelika duljine 250 mm i unutarnjeg promjera 4,5 mm, napunjena zrcima silikagela promjera 5 µm s 22 do 23 % ugljika u obliku oktadecilsilana.

4.1.14. Softver za obradu podataka.

4.1.15. Posude od oko 2 ml, s teflonskim zatvaračima i čepovima s navojem.

4.2. **Reagensi**

Reagensi moraju biti analitičke čistoće. Otapala za eluiranje moraju biti takva da se mogu nekoliko puta reciklirati, a da to ne utječe na odvajanja, i iz njih moraju biti odstranjeni svi plinovi.

- 4.2.1. Petroleter 40 do 60 °C za kromatografiju ili heksan.
- 4.2.2. Svježe destilirani etil eter bez peroksida.
- 4.2.3. Otopalo za eluiranje za čišćenje ulja kolonskom kromatografijom, smjesa petroletera/etil etera 87/13 (v/v).
- 4.2.4. Silikagel, 70-230 mesha, tip Merck 7734, sa standardiziranim udjelom vode od 5 % (w/w/).
- 4.2.5. Staklena vuna.
- 4.2.6. Aceton za HPLC.
- 4.2.7. Acetonitril ili propionitril za HPLC.
- 4.2.8. Otopalo za eluiranje za HPLC: acetonitril + aceton (omjere treba prilagoditi tako da se postigne željeni stupanj razdvajanja; započinje se sa smjesom 50:50) ili propionitril.
- 4.2.9. Otopalo za rastapanje: aceton.
- 4.2.10. Referentni trigliceridi: mogu se koristiti trigliceridi dostupni na tržištu (tripalmitin, triolein itd.) u kojem se slučaju vremena zadržavanja bilježe u skladu s ekvivalentnim ugljikovim brojem ili se pak mogu koristiti referentni kromatogrami dobiveni iz sojinog ulja, smjese sojina i maslinova ulja u omjeru 30:70 te čistog maslinovog ulja (vidjeti napomene 1. i 2. te slike 1. do 4.).
- 4.2.11. 6-mililitarska kolona za ekstrakciju na čvrstoj fazi, s fazom 1 g silikagela.

4.3. Priprema uzoraka

Budući da niz interferentnih tvari može dovesti do lažnih pozitivnih rezultata, uzorak se svaki put mora pročistiti prema IUPAC metodi br. 2.507 koja se koristi za određivanje polarnih tvari u oksidiranim uljima.

4.3.1. Priprema kromatografske kolone

Napunite kolonu (4.1.3.) s oko 30 ml otopala za eluiranje (4.2.3.), a zatim u kolonu unijeti malo staklene vune (4.2.5.) gurajući je do dna kolone staklenim štapićem (4.1.5.).

U laboratorijskoj čaši od 100 ml pripremiti suspenziju 25 g silikagela (4.2.4.) u 80 ml elucijske mješavine (4.2.3.) te je prebaciti u kolonu pomoću staklenog lijevka (4.1.6.).

Kako bi se osiguralo da je silikagel u potpunosti prenesen u kolonu, čaša se nekoliko puta ispere smjesom otopala za eluiranje, prebacujući i to u kolonu.

Otvaranjem pipca pri dnu kolone, otopalo se ispusti do visine od 1 cm iznad površine silikagela.

4.3.2. Kromatografija na koloni

S točnošću od 0,001 g odvagnuti $2,5 \pm 0,1$ g prethodno filtriranog, homogeniziranog i osušenog ulja, ako je potrebno, u odmjernu tikvicu volumena 50 ml (4.1.7.).

Otopiti u oko 20 ml otopala za eluiranje (4.2.3.). Ako je potrebno, lagano zagrijati da bi se lakše otopilo. Ohladiti na sobnu temperaturu i prilagoditi volumen otopalom za eluiranje.

Pomoću volumetrijske pipete unijeti 20 ml otopala u kolonu pripremljenu u skladu s 4.3.1., otvoriti pipac i pustiti da otopina eluira do razine sloja silikagela.

Potom eluirati sa 150 ml otopala za eluiranje (4.2.3.), prilagođavajući protok otopala na oko 2 ml/min (za 150 ml treba 60 do 70 minuta da prođe kroz kolonu).

Eluat se skuplja u tikvicu okruglog dna volumena 250 ml (4.1.1.) prethodno tariranu u peći i točno izvaganu. Otopalo se ukloni na rotirajućem vakuum uparivaču (4.1.9.) te zatim izvaže ostatak u tikvici koji će se koristiti za pripremu otopine za HPLC analizu i za pripremu metil estera.

Udio sakupljenog uzorka iz kolone mora biti najmanje 90 % za kategorije ekstra djevičanskog, djevičanskog, običnog i rafiniranog maslinovog ulja te najmanje 80 % za maslinovo ulje lampante i ulje komine maslina.

4.3.3. Čišćenje s ekstrakcijom na čvrstoj fazi

Kolona sa silikagelom za ekstrakciju na čvrstoj fazi aktivira se sa 6 ml heksana (4.2.3.) u vakuumu, izbjegavajući isušenje.

S točnošću od 0,0001 g izvagati 0,12 g u posudi od 2 ml (4.1.15.) i otopiti s 0,5 ml heksana (4.2.3.).

Otopinu unijeti u kolonu za ekstrakciju na čvrstoj fazi i eluirati s 10 ml heksana-dietil etera (87:13 v/v) (4.2.3.) pod vakuumom.

Sakupljena frakcija se u rotacijskom isparivaču (4.1.9.) upari do suhoće pod sniženim tlakom na sobnoj temperaturi. Ostatak se otopi u 2 ml acetona (4.2.6.) za analizu triacilglicerola (TAG).

4.4. Analiza HPLC metodom

4.4.1. Priprema uzoraka za kromatografiju

5 %-tna otopina uzorka koji će se analizirati priprema se vaganjem $0,5 \pm 0,001$ g uzorka u odmjerne tikvici od 10 ml te nadopunjavanjem do 10 ml otapalom (4.2.9.).

4.4.2. Postupak

Postaviti sustav za kromatografiju. Upumpati otapalo za eluiranje (4.2.8.) brzinom od 1,5 ml/min da bi se pročistio cijeli sustav. Pričekati dok se ne dobije stabilna bazna linija.

Injektirati 10 μ l uzorka pripremljenog kao u točki 4.3.

4.4.3. Izračunavanje i izražavanje rezultata

Koristiti metodu normalizacije površine, odnosno, pretpostavlja se da zbroj površina pikova koji odgovaraju TAG-ovima od ECN42 do ECN52 iznosi 100 %.

Izračunati relativni postotak svakog triglicerida pomoću formule:

% triglicerida = površina pika \times (100/zbroj površina pikova).

Rezultate treba izraziti s najmanje dva decimalna mjesta.

Vidjeti napomene 1. do 4.

4.5. Izračun sastava triacilglicerola (Mol %) na temelju podataka o sastavu masnih kiselina (% površina)

4.5.1. Određivanje sastava masnih kiselina

Sastav masnih kiselina utvrđuje se u skladu s normom ISO 5508 pomoću kapilarne kolone. Metil esteri pripremaju se na temelju COI/T.20/dok. br. 24.

4.5.2. Masne kiseline koje se uzimaju u obzir za izračunavanje

Gliceridi se grupiraju prema njihovom ekvivalentnom broju ugljika (ECN), uzimajući u obzir sljedeće ekvivalentnosti između ECN-a i masnih kiselina. U obzir se uzimaju samo masne kiseline sa 16 i 18 atoma ugljika jer su samo one bitne za maslinovo ulje. Masne kiseline bi trebalo normalizirati do 100 %.

Masna kiselina (MK)	Kratice	Molekularna masa (Mm)	ECN
Palmitinska kiselina	P	256,4	16
Palmitoleinska kiselina	Po	254,4	14
Stearinska kiselina	S	284,5	18
Oleinska kiselina	O	282,5	16
Linolna kiselina	L	280,4	14
Linolenska kiselina	Ln	278,4	12

4.5.3. Preračunavanje površina (%) u molove za sve masne kiseline (1)

$$\text{Mol P} = \left(\frac{(\% \text{ površine P})}{(\text{MM P})} \right) \quad \text{Mol S} = \left(\frac{(\% \text{ površine S})}{(\text{MM S})} \right) \quad \text{Mol Po} = \left(\frac{(\% \text{ površine Po})}{(\text{MM Po})} \right)$$

$$\text{Mol O} = \left(\frac{(\% \text{ površine O})}{(\text{Mm O})} \right) \quad \text{Mol L} = \left(\frac{(\% \text{ površine L})}{(\text{Mm L})} \right) \quad \text{Mol Ln} = \left(\frac{(\% \text{ površine Ln})}{(\text{Mm Ln})} \right)$$

4.5.4. Normalizacija masnih kiselina na 100 % (2)

$$\text{Mol \% P (1,2,3)} = \frac{\text{Mol P} * 100}{\text{Mol (P + S + Po + O + L + Ln)}}$$

$$\text{Mol \% S (1,2,3)} = \frac{\text{Mol S} * 100}{\text{Mol (P + S + Po + O + L + Ln)}}$$

$$\text{Mol \% Po (1,2,3)} = \frac{\text{Mol Po} * 100}{\text{Mol (P + S + Po + O + L + Ln)}}$$

$$\text{Mol \% O (1,2,3)} = \frac{\text{Mol O} * 100}{\text{Mol (P + S + Po + O + L + Ln)}}$$

$$\text{Mol \% L (1,2,3)} = \frac{\text{Mol L} * 100}{\text{Mol (P + S + Po + O + L + Ln)}}$$

$$\text{Mol \% Ln (1,2,3)} = \frac{\text{Mol Ln} * 100}{\text{Mol (P + S + Po + O + L + Ln)}}$$

Kao rezultat se dobiva udio svake masne kiseline u molnim postocima s obzirom na sve položaje u triaglicidima (1,2,3-).

Zatim se izračunava zbroj zasićenih masnih kiselina P i S (ZMK) te nezasićenih masnih kiselina Po, O, L i Ln (NMK) (3):

$$\text{Mol \% ZMK} = \text{Mol \% P} + \text{Mol \% S}$$

$$\text{Mol \% NMK} = 100 - \text{Mol \% ZMK}$$

4.5.5. Izračunavanje sastava masnih kiselina na 2- i 1, 3-položaju TAG-a

Masne kiseline raspoređene su u tri skupine kako slijedi: dvije istovjetne skupine za 1- i 3- položaj te jedna za 2- položaj, s različitim koeficijentima za zasićene (P i S) i nezasićene masne kiseline (Po, O, L i Ln).

4.5.5.1. Zasićene masne kiseline na 2-položaju [P(2) i S(2)] (4):

$$\text{Mol \% P(2)} = \text{Mol \% P (1,2,3)} * 0,06$$

$$\text{Mol \% S(2)} = \text{Mol \% S (1,2,3)} * 0,06$$

4.5.5.2. Nezasićene masne kiseline na 2-položaju [Po(2), O(2), L(2) i Ln(2)] (5):

$$\text{Mol \% Po(2)} = \frac{\text{Mol \% Po(1,2,3)}}{\text{Mol \% NMK}} * (100 - \text{Mol \% P(2)} - \text{Mol \% S(2)})$$

$$\text{Mol \% O(2)} = \frac{\text{Mol \% O(1,2,3)}}{\text{Mol \% NMK}} * (100 - \text{Mol \% P(2)} - \text{Mol \% S(2)})$$

$$\text{Mol \% L(2)} = \frac{\text{Mol \% L(1,2,3)}}{\text{Mol \% NMK}} * (100 - \text{Mol \% P(2)} - \text{Mol \% S(2)})$$

$$\text{Mol \% Ln(2)} = \frac{\text{Mol \% Ln(1,2,3)}}{\text{Mol \% NMK}} * (100 - \text{Mol \% P(2)} - \text{Mol \% S(2)})$$

4.5.5.3. Masne kiseline u 1,3-položajima [P(1,3), S(1,3), Po(1,3), O(1,3), L(1,3) i Ln(1,3)] (6):

$$\text{Mol \% P(1,3)} = \frac{\text{Mol \% P(1,2,3)} - \text{Mol \% P(2)}}{2} + \text{Mol \% P(1,2,3)}$$

$$\text{Mol \% S(1,3)} = \frac{\text{Mol \% S(1,2,3)} - \text{Mol \% S(2)}}{2} + \text{Mol \% S(1,2,3)}$$

$$\text{Mol \% Po(1,3)} = \frac{\text{Mol \% Po(1,2,3)} - \text{Mol \% Po(2)}}{2} + \text{Mol \% Po(1,2,3)}$$

$$\text{Mol \% O(1,3)} = \frac{\text{Mol \% O(1,2,3)} - \text{Mol \% O(2)}}{2} + \text{Mol \% O(1,2,3)}$$

$$\text{Mol \% L(1,3)} = \frac{\text{Mol \% L(1,2,3)} - \text{Mol \% L(2)}}{2} + \text{Mol \% L(1,2,3)}$$

$$\text{Mol \% Ln(1,3)} = \frac{\text{Mol \% Ln(1,2,3)} - \text{Mol \% Ln(2)}}{2} + \text{Mol \% Ln(1,2,3)}$$

4.5.6. Izračunavanje triacilglicerola

4.5.6.1. TAG s jednom masnom kiselinom (AAA, ovdje LLL, PoPoPo) (7)

$$\text{Mol \% AAA} = \frac{\text{Mol \% A(1,3)} * \text{Mol \% A(2)} * \text{Mol \% A(1,3)}}{10\ 000}$$

4.5.6.2. TAG s dvije masne kiseline (AAB, ovdje PoPoL, PoLL) (8)

$$\text{Mol \% AAB} = \frac{\text{Mol \% A(1,3)} * \text{Mol \% A(2)} * \text{Mol \% B(1,3)} * 2}{10\ 000}$$

$$\text{Mol \% ABA} = \frac{\text{Mol \% A(1,3)} * \text{Mol \% B(2)} * \text{Mol \% A(1,3)}}{10\ 000}$$

4.5.6.3. TAG s tri različite masne kiseline (ABC, ovdje OLLn, PLLn, PoOLn, PPOln) (9)

$$\text{Mol \% ABC} = \frac{\text{Mol \% A(1,3)} * \text{Mol \% B(2)} * \text{Mol \% C(1,3)} * 2}{10\ 000}$$

$$\text{Mol \% BCA} = \frac{\text{Mol \% B(1,3)} * \text{Mol \% C(2)} * \text{Mol \% A(1,3)} * 2}{10\ 000}$$

$$\text{Mol \% CAB} = \frac{\text{Mol \% C(1,3)} * \text{Mol \% A(2)} * \text{Mol \% B(1,3)} * 2}{10\ 000}$$

4.5.6.4. Triacilgliceroli s ECN 42

Sljedeći triacilgliceroli s ECN 42 uzimaju su u obzir prema jednadžbama 7, 8 i 9, redosljedom očekivanog eluiranja pri analizi HPLC metodom (obično samo tri pika):

LLL

PoLL i pozicijski izomer LPoL

OLLn i pozicijski izomeri OLnL i LnOL

PoPoL i pozicijski izomer PoLPo

PoOLn i pozicijski izomeri OPOln i OLnPo

PLLn i pozicijski izomeri LLnP i LnPL

PoPoPo

SLnLn i pozicijski izomer LnSLn

PPOln i pozicijski izomeri PPLnPo i PoPLn

Triacilgliceroli s ECN 42 izraženi su kao zbroj ovih devet triacilglicerola, uključujući njihove pozicijske izomere. Rezultate treba izraziti s najmanje dva decimalna mjesta.

5. OCJENJIVANJE REZULTATA

Izračunati teoretski udio uspoređuje se s udjelom utvrđenim HPLC analizom. Ako je apsolutna razlika koju dobijemo kad od podataka HPLC oduzmemo teoretske podatke veća od vrijednosti navedenih za odgovarajuću kategoriju ulja u normi, uzorak sadrži sjemensko ulje.

Rezultati se izražavaju s dva decimalna mjesta.

6. PRIMJER (BROJEVI SE ODOSE NA ODJELJKE U TEKSTU METODE)

- 4.5.1. *Izračunavanje molarnih % masnih kiselina iz podataka dobivenih plinsko-tekućinskom kromatografijom (normalizirana površina %)*

Plinsko-tekućinskom kromatografijom dobivaju se sljedeći podaci o sastavu masnih kiselina:

MK	P	S	Po	O	L	Ln
Mm	256,4	284,5	254,4	282,5	280,4	278,4
% površine	10,0	3,0	1,0	75,0	10,0	1,0

- 4.5.3. *Preračunavanje % površina u molove za sve masne kiseline (vidjeti formulu (1))*

$$\text{Mol P} = \frac{10}{256,4} = 0,03900 \text{ mola P}$$

$$\text{Mol S} = \frac{3}{284,5} = 0,01054 \text{ mola S}$$

$$\text{Mol Po} = \frac{1}{254,4} = 0,00393 \text{ mola Po}$$

$$\text{Mol O} = \frac{75}{282,5} = 0,26549 \text{ mola O}$$

$$\text{Mol L} = \frac{10}{280,4} = 0,03566 \text{ mola L}$$

$$\text{Mol Ln} = \frac{1}{278,4} = 0,00359 \text{ mola Ln}$$

$$\text{Ukupno} \quad \quad \quad =$$

$$0,35821 \text{ Mol TAG}$$

- 4.5.4. *Normalizacija masnih kiselina na 100 % (vidjeti formulu (2))*

$$\text{Mol \% P(1,2,3)} = \frac{0,03900 \text{ mola P} * 100}{0,35821 \text{ mola}} = 10,887 \%$$

$$\text{Mol \% S(1,2,3)} = \frac{0,01054 \text{ mola S} * 100}{0,35821 \text{ mola}} = 2,942 \%$$

$$\text{Mol \% Po(1,2,3)} = \frac{0,00393 \text{ mola Po} * 100}{0,35821 \text{ mola}} = 1,097 \%$$

$$\text{Mol \% O(1,2,3)} = \frac{0,26549 \text{ mola O} * 100}{0,35821 \text{ mola}} = 74,116 \%$$

$$\text{Mol \% L(1,2,3)} = \frac{0,03566 \text{ mola L} * 100}{0,35821 \text{ mola}} = 9,955 \%$$

$$\text{Mol \% Ln(1,2,3)} = \frac{0,00359 \text{ mola Ln} * 100}{0,35821 \text{ mola}} = 1,002 \%$$

$$\text{Ukupno Mol \%} = 100 \%$$

Zbroj zasićenih i nezasićenih masnih kiselina na 1,2,3-položaju TAG (vidjeti formulu (3)):

$$\text{Mol \% ZMK} = 10,887 \% + 2,942 \% = \mathbf{13,829 \%}$$

$$\text{Mol \% NMK} = 100,000 \% - 13,829 \% = \mathbf{86,171 \%}$$

— 4.5.5. *Izračunavanje sastava masnih kiselina na 2- i 1,3-položaju TAG*

— 4.5.5.1. Zasićene masne kiseline na 2-položaju [P(2) i S(2)] (vidjeti formulu (4))

$$\text{Mol \% P(2)} = 10,887 \% * 0,06 = 0,653 \text{ Mol \%}$$

$$\text{Mol \% S(2)} = 2,942 \% * 0,06 = 0,177 \text{ Mol \%}$$

— 4.5.5.2. Nezasićene masne kiseline na 2-položaju [Po(1,3), O(1,3), L(1,3) i Ln(1,3)] (vidjeti formulu (5))

$$\text{Mol \% Po(2)} = \frac{1,097 \%}{86,171 \%} * (100 - 0,653 - 0,177) = 1,262 \text{ Mol \%}$$

$$\text{Mol \% O(2)} = \frac{74,116 \%}{86,171 \%} * (100 - 0,653 - 0,177) = 85,296 \text{ Mol \%}$$

$$\text{Mol \% L(2)} = \frac{9,955 \%}{86,171 \%} * (100 - 0,653 - 0,177) = 11,457 \text{ Mol \%}$$

$$\text{Mol \% Ln(2)} = \frac{1,002 \%}{86,171 \%} * (100 - 0,653 - 0,177) = 1,153 \text{ Mol \%}$$

— 4.5.5.3. Masne kiseline na 1,3-položajima [P(1,3), S(1,3), Po(1,3), O(1,3), L(1,3) i Ln(1,3)] (vidjeti formulu (6))

$$\text{Mol \% P(1,3)} = \frac{10,887 - 0,653}{2} + 10,887 = 16,004 \text{ mola \%}$$

$$\text{Mol \% S(1,3)} = \frac{2,942 - 0,177}{2} + 2,942 = 4,325 \text{ mola \%}$$

$$\text{Mol \% Po(1,3)} = \frac{1,097 - 1,262}{2} + 1,097 = 1,015 \text{ mola \%}$$

$$\text{Mol \% O(1,3)} = \frac{74,116 - 85,296}{2} + 74,116 = 68,526 \text{ mola \%}$$

$$\text{Mol \% L(1,3)} = \frac{9,955 - 11,457}{2} + 9,955 = 9,204 \text{ mola \%}$$

$$\text{Mol \% Ln(1,3)} = \frac{1,002 - 1,153}{2} + 1,002 = 0,927 \text{ mola \%}$$

— 4.5.6. *Izračunavanje triacilglicerola*

Iz izračunatog sastava masnih kiselina na sn-2- i sn-1,3-položajima:

MK u	1,3-položaju	2-položaju
P	16,004 %	0,653 %
S	4,325 %	0,177 %
Po	1,015 %	1,262 %
O	68,526 %	85,296 %
L	9,204 %	11,457 %
Ln	0,927 %	1,153 %
Zbroj	100,0 %	100,0 %

izračunavaju se sljedeći triacilgliceroli:

LLL

PoPoPo

PoLL s jednim pozicijskim izomerom

SLnLn s jednim pozicijskim izomerom

PoPoL s jednim pozicijskim izomerom

PPoLn s dva pozicijska izomera

OLLn s dva pozicijska izomera

PLLn s dva pozicijska izomera

PoOLn s dva pozicijska izomera

— 4.5.6.1. TAG s jednom masnom kiselinom (LLL, PoPoPo) (vidjeti formulu (7))

$$\text{Mol \% LLL} = \frac{9,204 \% * 11,457 \% * 9,204 \%}{10\ 000} = \mathbf{0,09706 \text{ Mol LLL}}$$

$$\text{Mol \% PoPoPo} = \frac{1,015 \% * 1,262 \% * 1,015 \%}{10\ 000} = \mathbf{0,00013 \text{ Mol PoPoPo}}$$

— 4.5.6.2. TAG s dvije masne kiseline (PoLL, SLnLn, PoPoL) (vidjeti formulu (8))

$$\text{Mol \% PoLL} + \text{LLPo} = \frac{1,015 \% * 11,457 \% * 9,204 \% * 2}{10\ 000} = 0,02141$$

$$\text{Mol \% LPoL} = \frac{9,204 \% * 1,262 \% * 9,204 \%}{10\ 000} = 0,01069$$

0,03210 Mol PoLL

$$\text{Mol \% SLnLn} + \text{LnLnS} = \frac{4,325 \% * 1,153 \% * 0,927 \% * 2}{10\ 000} = 0,00092$$

$$\text{Mol \% LnSLn} = \frac{0,927 \% * 0,177 \% * 0,927 \%}{10\ 000} = 0,00002$$

0,00094 Mol SLnLn

$$\text{Mol \% PoPoL} + \text{LPoPo} = \frac{1,015 \% * 1,262 \% * 9,204 \% * 2}{10\ 000} = 0,00236$$

$$\text{Mol \% PoLPo} = \frac{1,015 \% * 11,457 \% * 1,015 \%}{10\ 000} = 0,00118$$

0,00354 Mol PoPoL

— 4.5.6.3. TAG s tri različite masne kiseline (PoPLn, OLLn, PLLn, PoOLn) Vidjeti formulu (9)

$$\text{Mol \% PPoLn} = \frac{16,004 \% * 1,262 \% * 0,927 \% * 2}{10\ 000} = 0,00374$$

$$\text{Mol \% LnPPo} = \frac{0,927 \% * 0,653 \% * 1,015 \% * 2}{10\ 000} = 0,00012$$

$$\text{Mol \% PoLnP} = \frac{1,015 \% * 1,153 \% * 16,004 \% * 2}{10\ 000} = 0,00375$$

0,00761 Mol PPoLn

$$\text{Mol \% OLLn} = \frac{68,526 \% * 11,457 \% * 0,927 \% * 2}{10\ 000} = 0,14556$$

$$\text{Mol \% LnOL} = \frac{0,927 \% * 85,296 \% * 9,204 \% * 2}{10\ 000} = 0,14555$$

$$\text{Mol \% LLnO} = \frac{9,204 \% * 1,153 \% * 68,526 \% * 2}{10\ 000} = 0,14544$$

0,43655 Mol OLLn

$$\text{Mol \% PLLn} = \frac{16,004 \% * 11,457 \% * 0,927 \% * 2}{10\ 000} = 0,03399$$

$$\text{Mol \% LnPL} = \frac{0,927 \% * 0,653 \% * 9,204 \% * 2}{10\ 000} = 0,00111$$

$$\text{Mol \% LLnP} = \frac{9,204 \% * 1,153 \% * 16,004 \% * 2}{10\ 000} = 0,03397$$

0,06907 Mol PLLn

$$\text{Mol \% PoOLn} = \frac{1,015 \% * 85,296 \% * 0,927 \% * 2}{10\ 000} = 0,01605$$

$$\text{Mol \% LnPoO} = \frac{0,927 \% * 1,262 \% * 68,526 \% * 2}{10\ 000} = 0,01603$$

$$\text{Mol \% OLnPo} = \frac{68,526 \% * 1,153 \% * 1,015 \% * 2}{10\ 000} = 0,01604$$

0,04812 Mol PoOLn

ECN42 = 0,69512 Mol TAG

Napomena 1.: Redoslijed eluiranja može se odrediti izračunavanjem ekvivalentnog broja ugljika, što se najčešće definira izrazom $ECN = CN - 2n$, pri čemu je CN broj atoma ugljika, a n broj dvostrukih veza; preciznije se može izračunati tako da se u obzir uzme izvor dvostruke veze. Ako su n_o , n_l i n_{ln} brojevi dvostrukih veza koje se pripisuju oleinskoj, linolnoj i linolenskoj kiselini, ekvivalentni broj ugljika se može izračunati pomoću izraza:

$$EN = CN - d_o n_o - d_l n_l - d_{ln} n_{ln}$$

pri čemu se koeficijent d_o , d_l i d_{ln} može izračunati pomoću referentnih triglicerida. U uvjetima propisanim ovom metodom, približno vrijedi sljedeći odnos:

$$ECN = CN - (2,60 n_o) - (2,35 n_l) - (2,17 n_{ln})$$

Napomena 2.: S nekoliko je referentnih triglicerida također moguće izračunati rezoluciju u odnosu na triolein:

$$\alpha = RT^1 / RT \text{ triolein}$$

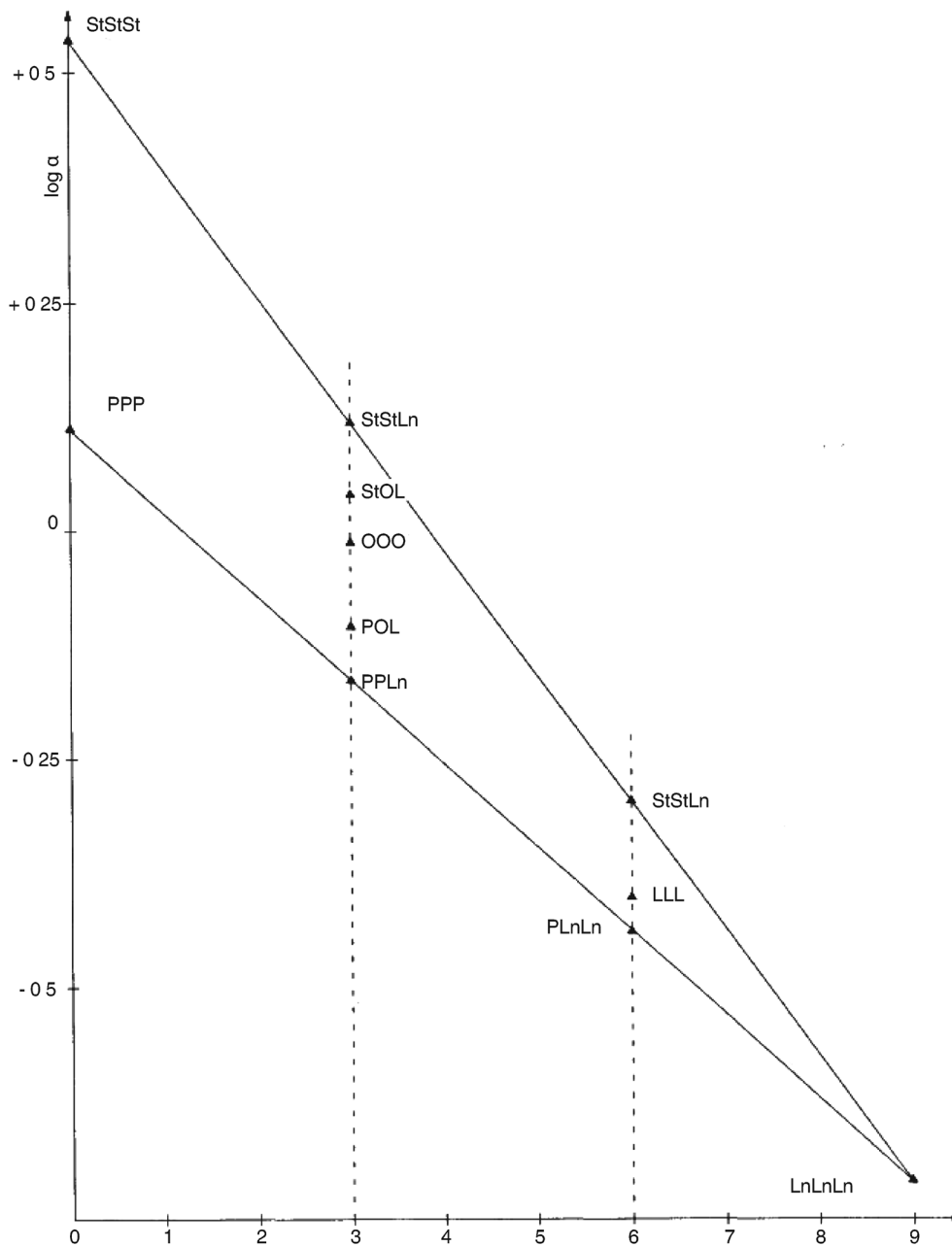
primjenom korigiranog (smanjenog) vremena zadržavanja $RT^1 = RT - RT \text{ otapalo}$

Graf $\log \alpha$ u ovisnosti o f (broj dvostrukih veza) omogućuje određivanje vremena zadržavanja za sve trigliceride masnih kiselina koji su prisutni u referentnim trigliceridima — vidjeti sliku 1.

Napomena 3.: Učinkovitost kolone mora omogućiti jasno odvajanje pika trilinoleina od pikova triglicerida sa susjednim RT. Eluiranje se provodi do pika ECN 52.

Napomena 4.: Ispravno određivanje površina svih pikova važnih za analizu je osigurano ako drugi pik koji odgovara ECN 50 doseže 50 % pune skale pisača.

Slika 1.

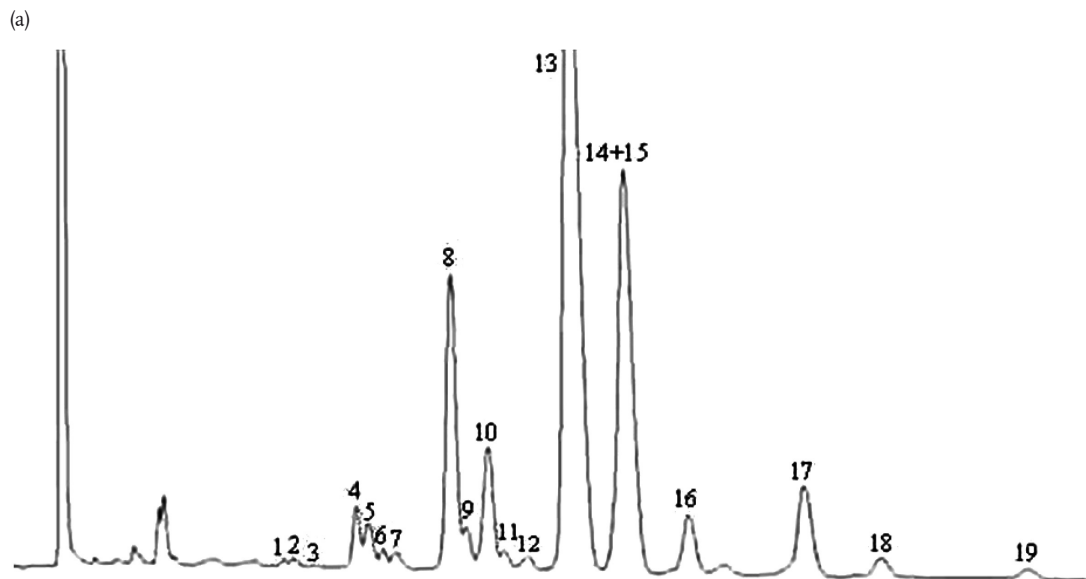
Graf ovisnosti $\log \alpha$ o f (broj dvostrukih veza)

Broj dvostrukih veza

La: laurinska kiselina; My: miristinska kiselina; P: palmitinska kiselina; St: stearinska kiselina; O: oleinska kiselina; L: linolna kiselina; Ln: linolenska kiselina

Slika 2.

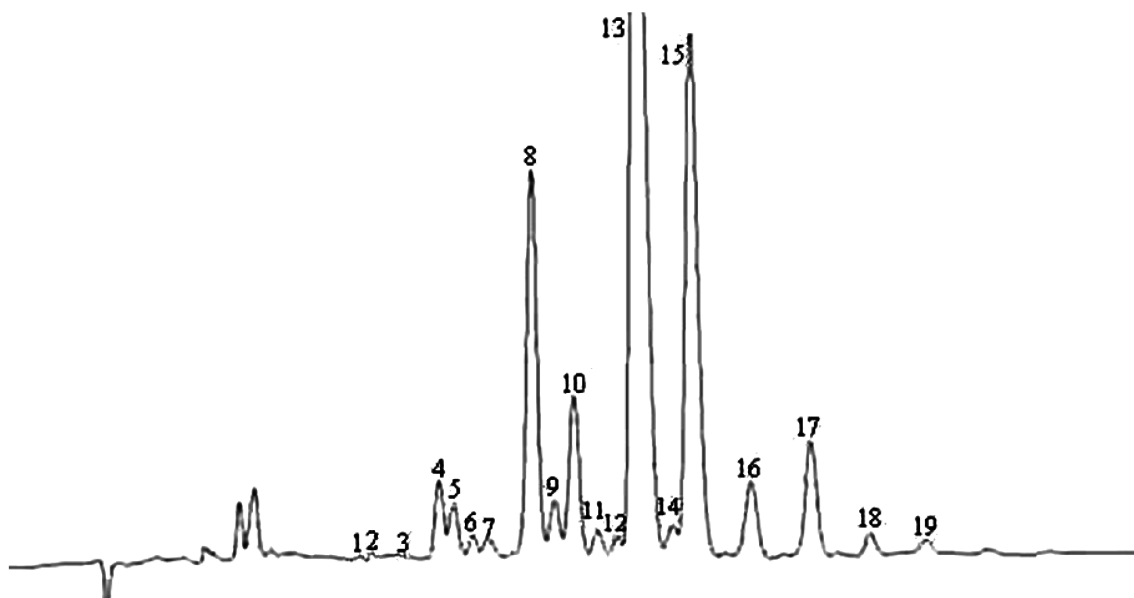
Maslinovo ulje s niskim udjelom linolne kiseline



S otapalom: Aceton/Acetonitril.

PROFIL a: Glavne komponente kromatografskih pikova: **ECN42**: (1) LLL + PoLL; (2) OLLn + PoOLn; (3) PLLn; **ECN44**: (4) OLL + PoOL; (5) OOLn + PLL; (6) POLn + PPOo; (7) OOL + PoOO; **ECN46**: (8) OOL + LnPP; (9) PoOO; (10) SLL + PLO; (11) PoOP + SPoL + SOLn + SPoPo; (12) PLP; **ECN48**: (13) OOO + PoPP; (14 + 15) SOL + POO; (16) POP; **ECN50**: (17) SOO; (18) POS + SLS.

(b)

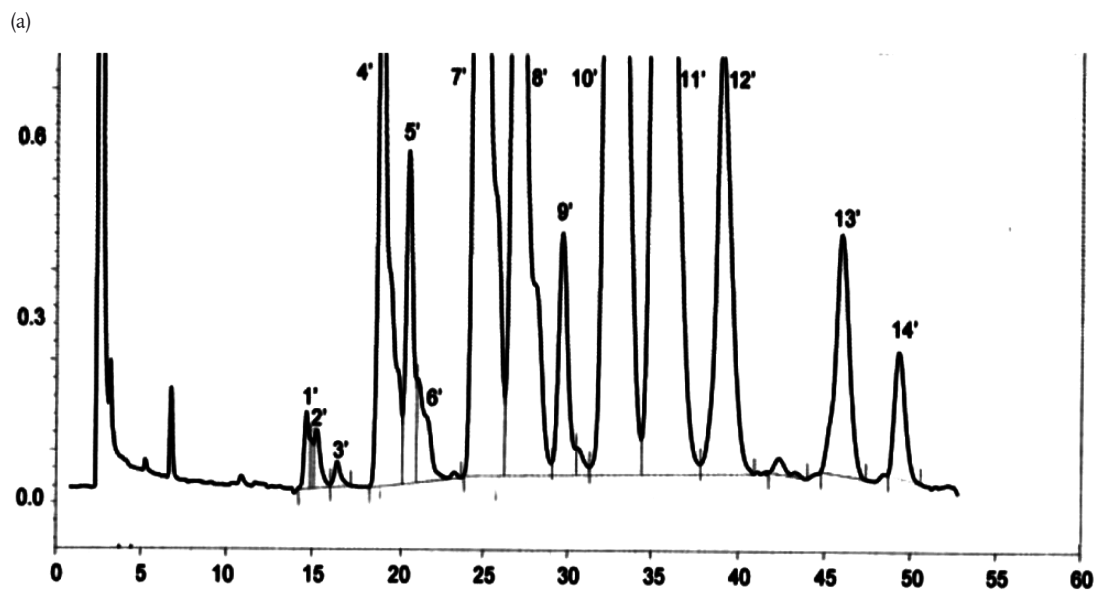


S otapalom: Propionitril

PROFIL b: Glavne komponente kromatografskih pikova: **ECN42**: (1) LLL; (2) OLLn + PoLL; (3) PLLn; **ECN44**: (4) OLL; (5) OOLn + PoOL; (6) PLL + PPOo; (7) POLn + PPOo + PPOl; **ECN46**: (8) OOL + LnPP; (9) PoOO; (10) SLL + PLO; (11) PoOP + SPoL + SOLn + SPoPo; (12) PLP; **ECN48**: (13) OOO + PoPP; (14) SOL; (15) POO; (16) POP; **ECN50**: (17) SOO; (18) POS + SLS

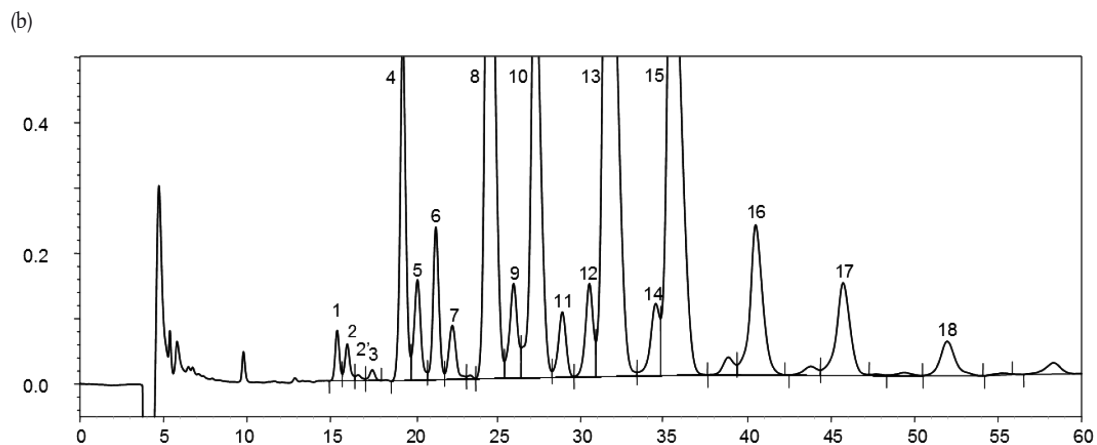
Slika 3.

Maslinovo ulje s visokim udjelom linolne kiseline



S otapalom: Aceton/Acetonitril (50:50).

Profil a: Glavne komponente kromatografskih pikova: **ECN42:** (1') LLL + PoLL; (2') OLLn + PoOLn; (3') PLLn; **ECN44:** (4') OLL + PoOL; (5') OOLn + PLL; (6') POLn + PPOPo; **ECN46:** (7') OOL + PoOO; (8') PLO + SLL + PoOP; (9') PLP + PoPP; **ECN48:** (10') OOO; (11') POO + SLL + PPO; (12') POP + PLS; **ECN50:** (13') SOO; (14') POS + SLS



S otapalom: Propionitril.

Profil b: Glavne komponente kromatografskih pikova: **ECN42:** (1) LLL; (2 + 2') OLLn + PoLL; (3) PLLn; **ECN44:** (4) OLL; (5) OOLn + PoOL; (6) PLL + PoPoO; (7) POLn + PPOPo + PPO; **ECN46:** (8) OOL + LnPP; (9) PoOO; (10) SLL + PLO; (11) PoOP + SPoL + SOLn + SPoPo; **ECN48:** (12) PLP; (13) OOO + PoPP; (14) SOL; (15) POO; (16) POP; **ECN50:** (17) SOO; (18) POS + SLS; **ECN52:** (19) AOO."

Rezultati provjera sukladnosti provedenih na maslinovim uljima iz članka 8. stavka 2.

Uzorak	Kategorija	Zemlja podrijetla	Mjesto inspekcijskog nadzora ⁽¹⁾	Označivanje						Kemijski parametri			Senzorska svojstva ⁽⁴⁾			Konačan zaključak		
				Pravni naziv	Oznaka izvornosti	Uvjeti skladištenja	Pogrešne informacije	Čitljivost	U/NU ⁽³⁾	Parametri izvan graničnih vrijednosti DA/NE	Ako je tako, navedite koji ⁽²⁾	U/NU ⁽³⁾	Medijan mana	Medijan voćnosti	U/NU ⁽³⁾	Potrebna mjera	Sankcija	

⁽¹⁾ Unutarnje tržište (uljara, punitelji u boce, faza maloprodaje), izvoz, uvoz.

⁽²⁾ Svaka karakteristika maslinovog ulja navedena u Prilogu I. ima oznaku.

⁽³⁾ Usklađeno/neusklađeno.

⁽⁴⁾ Nije potrebno za maslinovo ulje i ulje komine maslina.”