

31991R2568

1991.9.5.

AZ EURÓPAI KÖZÖSSÉGEK HIVATALOS LAPJA

L 248/1

A BIZOTTSÁG 2568/91/EGK RENDELETE**(1991. július 11.)****az olívaolaj és az olívmaradék-olaj jellemzőiről és az ezekre vonatkozó elemzési módszerekről**

AZ EURÓPAI KÖZÖSSÉGEK BIZOTTSÁGA,

tekintettel az Európai Gazdasági Közösséget létrehozó szerződésre,

tekintettel a legutóbb a 3577/90/EGK rendelettel ⁽¹⁾ módosított, az olajok és zsírok piaca közös szervezésének létrehozásáról szóló, 1966. szeptember 22-i 136/66/EGK tanácsi rendeletre ⁽²⁾ és különösen annak 35a. cikkére,

mivel a 136/66/EGK rendelet melléklete tartalmazza az egyes tagállamokban, a Közösségen belül és a harmadik országokkal folytatott kereskedelemben forgalmazott olívaolajok és az olívmaradék-olajok jellemzését és meghatározását;

mivel az érintett termékek tisztaságának és minőségének szavatolása érdekében, más fennálló rendelkezések sérelme nélkül a különböző típusú olajok megkülönböztetésére meg kell határozni fizikai és kémiai jellemzőiket és a szűzolaj érzékszervekkel meghatározható jellemzőit;

mivel a különböző típusú olajok jellemzőit a Közösség egész területén azonos módon kell meghatározni; mivel ebből a célból ki kell alakítani a vegyi elemzés és érzékszervi értékelés közösségi módszereit; mivel egy átmeneti időszakra engedélyezni kell a tagállamokban használt egyéb analitikai módszerek alkalmazását is, azzal a feltétellel, hogy amennyiben eltérés mutatkozik az eredmények között, akkor a közös módszer segítségével kapott eredmény a meghatározó;

mivel az olívaolajok fizikai és kémiai jellemzőinek és az elemzés módszereinek meghatározása a Kombinált Nomenklátúra 15. árucsoportja kiegészítő megjegyzéseinek módosítását vonja maga után;

mivel a szűzolaj érzékszervekkel meghatározható jellemzőinek értékelése magában foglalja válogatott és szakképzett kóstoló csoportok felállítását; mivel meg kell határozni az ilyen rendszer

felállításához szükséges időt; mivel tekintetbe véve azokat a problémákat, amelyek néhány tagállam esetén ezeknek a kóstoló csoportoknak a felállítása során felmerülhetnek, engedélyezni kell más tagállamokban működő kóstoló csoportok igénybevételét;

mivel annak biztosítására, hogy az olíva-maradékanyagok behozatalára alkalmazott lefőlések rendszere megfelelően működjön, egységes módszert kell megállapítani a szóban forgó termékek olajtartalmának meghatározására;

mivel a kereskedelem megzavarásának elkerülése érdekében rendelkezni kell az ennek a rendeletnek a hatálybalépését megelőzően csomagolt olajok korlátozott időn belül történő felhasználásáról;

mivel hatályon kívül kell helyezni a legutóbb az 1858/88/EGK rendelettel ⁽³⁾ módosított 1058/77/EGK bizottsági rendeletet ⁽⁴⁾;

mivel az Olaj- és Zsíripiaci Irányítóbizottság nem nyújtott be véleményt az elnöke által meghatározott határidőn belül,

ELFOGADTA EZT A RENDELETET:

1. cikk

(1) Azok az olajok, amelyeknek jellemzői megegyeznek az e rendelet I. mellékletének 1., 2. és 3. pontja szerintiakkal, szűz olívaolajnak minősülnek a 136/66/EGK rendelet mellékletének 1a), b) és c) pontja értelmében.

(2) Az az olaj, amelynek jellemzői megegyeznek az e rendelet I. mellékletének 4. pontja szerintiakkal, lampante szűz olívaolajnak minősül a 136/66/EGK rendelet mellékletének 1d) pontja értelmében.

(3) Az az olaj, amelynek jellemzői megegyeznek az e rendelet I. mellékletének 5. pontja szerintiakkal, finomított olívaolajnak minősül a 136/66/EGK rendelet mellékletének 2. pontja értelmében.

⁽¹⁾ HL L 353., 1990.12.17., 23. o.

⁽²⁾ HL 172., 1966.9.30., 3025/66. o.

⁽³⁾ HL L 166., 1988.7.1., 10. o.

⁽⁴⁾ HL L 128., 1977.5.24., 6. o.

(4) Az az olaj, amelynek jellemzői megegyeznek az e rendelet I. mellékletének 6. pontja szerintiekkel, tiszta olívaolajnak minősül a 136/66/EGK rendelet mellékletének 3. pontja értelmében.

(5) Az az olaj, amelynek jellemzői megegyeznek az e rendelet I. mellékletének 7. pontja szerintiekkel, olívamadaradék-olajnak minősül a 136/66/EGK rendelet mellékletének 4. pontja értelmében.

(6) Az az olaj, amelynek jellemzői megegyeznek az e rendelet I. mellékletének 8. pontja szerintiekkel, finomított olívamadaradék-olajnak minősül a 136/66/EGK rendelet mellékletének 5. pontja értelmében.

(7) Az az olaj, amelynek jellemzői megegyeznek az e rendelet I. mellékletének 9. pontja szerintiekkel, olívamadaradék-olajnak minősül a 136/66/EGK rendelet mellékletének 6. pontja értelmében.

2. cikk

(1) Az olajok I. melléklet szerinti jellemzőinek megállapítása a következő elemzési módszerekkel történik:

- a szabad zsírsavak mennyiségének az olajsav százalékban történő meghatározása a II. melléklet szerinti módszerrel,
- a peroxid-index meghatározása a III. melléklet szerinti módszerrel,
- a nyílt szénláncú alkoholok meghatározása a IV. melléklet szerinti módszerrel,
- a szterintartalom meghatározása a V. melléklet szerinti módszerrel,
- az eritrodiol és az uvaol meghatározása a VI. melléklet szerinti módszerrel,
- a triglicerid 2. pozícióján található telített zsírsavak meghatározása a VII. melléklet szerinti módszerrel,
- a trilinolein-tartalom meghatározása a VIII. melléklet szerinti módszerrel,
- a spektrofotometriai elemzés a IX. melléklet szerinti módszerrel,
- a zsírsavösszetétel meghatározása a X. A. és a X. B. melléklet szerinti módszerrel,
- az illékony halogénezett oldószerek meghatározása a XI. melléklet szerinti módszerrel,
- a szűz olívaolaj érzékszervekkel meghatározható tulajdonságainak értékelése a XII. melléklet szerinti módszerrel,
- a finomítás tényének bizonyítása a XIII. melléklet szerinti módszerrel.

(2) Az érzékszervi tulajdonságok értékelését egy elemző, amennyiben szükséges, egy szakértő közreműködésével végzi, a kóstolásra vonatkozó tudnivalók tekintetében a XII. mellékletben szabályozott eljárásnak megfelelően. Amennyiben az elemzés a termék leírásában szereplőktől eltérő jellemzőket mutat, akkor a mintát a XII. melléklet rendelkezéseinek megfelelően kóstolói csoportnak kell megvizsgálnia.

A csoport bármely további vizsgálatot az említett rendelkezéseknek megfelelően végez.

Az intervenció rendszerrel kapcsolatos műveletek tekintetében az érzékszervekkel meghatározható jellemzők biztosítása érdekében a kóstolói csoport a XII. melléklet rendelkezéseinek megfelelően végzi az értékelést.

3. cikk

1992. október 31-ig a 2. cikk szerinti elemzési módszerek bevezetése nem gátolja meg, hogy a tagállamok eltérő, tesztelt, tudományosan alátámasztott módszereket használjanak, feltéve hogy ez biztosítja a közösségi módszerekre vonatkozó hatályos előírásoknak megfelelőként elismert termékek szabad forgalmát. Az eltérő módszerek alkalmazása előtt az érintett tagállamok értesítik arról a Bizottságot.

Amennyiben valamely eltérő módszer a közösségi módszertől eltérő eredményre vezet, akkor az utóbbi módszerrel kapott eredmény az irányadó.

4. cikk

(1) Az érzékszervekkel meghatározható tulajdonságok értékelésére a tagállamok képzett és válogatott kóstolókból álló csoportot hoznak létre a XII. mellékletben szabályozott eljárásnak megfelelő szabályok szerint.

(2) Amennyiben valamely tagállam számára problémát jelent, hogy a területén felállítsa a csoportot, igénybe veheti egy más tagállam területén működő kóstolói csoport szolgáltatásait.

5. cikk

A Kombinált Nomenklatúra 15. árucsoportjának 2., 3. és 4. kiegészítő megjegyzése helyébe a XIV. melléklet szerinti rendelkezések lépnek.

6. cikk

(1) Az olívaolaj kinyeréséből származó olajpogácsa és egyéb maradékanyagok (KN-kód: 2306 90 11 és 2306 90 19) olajtartalmának meghatározása a XV. mellékletben szabályozott módszerrel történik.

(2) Az (1) bekezdésben említett olajtartalmat az olaj súlyának a szárazanyag súly százalékos arányában fejezik ki.

7. cikk

A XI. mellékletben említettek kivételével a nemkívánatos anyagokra vonatkozó közösségi rendelkezéseket kell alkalmazni.

8. cikk

(1) A tagállamok értesítik a Bizottságot az e rendelet végrehajtására hozott intézkedéseikről.

(2) A tagállamok minden félév elején egy, a megelőző félévben végrehajtott tesztek elemzési adatait tartalmazó beszámolót küldenek a Bizottságnak.

Az eredményeket az Olaj- és Zsírpiaci Irányítóbizottság a 136/66/EGK rendelet 39. cikkében szabályozott eljárásnak megfelelően veszi tekintetbe.

9. cikk

A 1058/77/EGK rendelet hatályát veszti.

Ez a rendelet teljes egészében kötelező és közvetlenül alkalmazandó valamennyi tagállamban.

Kelt Brüsszelben, 1991. július 11-én.

a Bizottság részéről

Ray. MAC SHARRY

a Bizottság tagja

10. cikk

(1) Ez a rendelet az *Európai Közösségek Hivatalos Lapjában* való kihirdetését követő harmadik napon lép hatályba.

A XII. melléklet szerinti módszer azonban 1992. január 1-jétől hatályos, kivéve az *intervenció rendszer működésével kapcsolatos műveleteket*.

(2) E rendeletet nem kell alkalmazni a hatálybalépését megelőzően csomagolt és 1992. október 31-ig forgalomba hozott olívaolajra és olívamadaradék-olajra.

MELLÉKLETEK

ÖSSZEFOGLALÁS

	Oldalszám
I. melléklet: Az olívaolaj jellemzői	372
II. melléklet: A szabad zsírsavak meghatározása	374
III. melléklet: A peroxidszám meghatározása	376
IV. melléklet: A nyílt szénláncú alkoholok mennyiségének meghatározása kapilláris gázkromatográfiával	378
V. melléklet: A szterinek összetételének és mennyiségének meghatározása kapillárisoszlop gázkromatográfiával	383
VI. melléklet: Az eritrodiol és az uvaol meghatározása	391
VII. melléklet: A triglicerid 2. pozícióján lévő telített zsírsavak meghatározása	393
VIII. melléklet: A trilinolein összetételének meghatározása	397
IX. melléklet: Spektrofotometrikus vizsgálat ultraibolya fényben	401
X.A. melléklet: A zsírsavak metil-észtereinek gázkromatográfiás elemzése	405
X.B. melléklet: A zsírsavak metil-észtereinek előállítása	413
XI. melléklet: Az olívaolaj illékony halogénezett oldószereinek meghatározása	417
XII. melléklet: A szűz olívaolaj érzékszervekkel meghatározható tulajdonságainak értékelése	418
XIII. melléklet: A finomítás tényének bizonyítása	444
XIV. melléklet: A Kombinált Nomenklatura 15. árucsoportjának 2., 3. és 4. kiegészítő megjegyzései	446
XV. melléklet: Az olívamadarék olajtartalma	449
XVI. melléklet: A jódszám meghatározása	451

I. MELLÉKLET

AZ OLÍVAOLAJ JELLEMZŐI

Típus	Savasság %	Peroxid-szám meq/O ₂ /kg	Halogénezett oldoszeker mg/kg ⁽¹⁾	Nyílt szénláncú alkoholok mg/kg	Telített zsírsavak a triglicerid 2. pozíciójában %	Eritrodiool és uvaol %	Trilinolein %	Koleszterin %	Brasszika-szterin %	Campe-szterin %	Stigma-szterin %	Beta-szitoszterin % ⁽²⁾	Delta-7-sigma-szterin %	Összes szterin mg/kg
1. Extra szűz olívaolaj	M 1,0	M 20	M 0,20	M 300	M 1,3	M 4,5	M 0,5	M 0,5	M 0,2	M 4,0	< Camp.	m 93,0	M 0,5	m 1 000
2. Szűz olívaolaj	M 2,0	M 20	M 0,20	M 300	M 1,3	M 4,5	M 0,5	M 0,5	M 0,2	M 4,0	< Camp.	m 93,0	M 0,5	m 1 000
3. Közönséges szűz olívaolaj	M 3,3	M 20	M 0,20	M 300	M 1,3	M 4,5	M 0,5	M 0,5	M 0,2	M 4,0	< Camp.	m 93,0	M 0,5	m 1 000
4. Szűz lampante olívaolaj	> 3,3	> 20	> 0,20	M 400	M 1,3	M 4,5	M 0,5	M 0,5	M 0,2	M 4,0	–	m 93,0	M 0,5	m 1 000
5. Finomított olívaolaj	M 0,5	M 10	M 0,20	M 350	M 1,5	M 4,5	M 0,5	M 0,5	M 0,2	M 4,0	< Camp.	m 93,0	M 0,5	m 1 000
6. Olívaolaj	M 1,5	M 15	M 0,20	M 350	M 1,5	M 4,5	M 0,5	M 0,5	M 0,2	M 4,0	< Camp.	m 93,0	M 0,5	m 1 000
7. Nyers olívaolajmaradék-olaj	m 2,0	–	–	–	M 1,8	m 12	M 0,5	M 0,5	M 0,2	M 4,0	–	m 93,0	M 0,5	m 2 500
8. Finomított olívaolajmaradék-olaj	M 0,5	M 10	M 0,20	–	M 2,0	m 12	M 0,5	M 0,5	M 0,2	M 4,0	< Camp.	m 93,0	M 0,5	m 1 800
9. Olívaolajmaradék-olaj	M 1,5	M 15	M 0,20	–	M 2,0	> 4,5	M 0,5	M 0,5	M 0,2	M 4,0	< Camp.	m 93,0	M 0,5	m 1 800

M = maximum, m = minimum

⁽¹⁾ Összesített felső határ az elektronbefogós detektor által érzékelt vegyületekre. A különállóan érzékelt vegyületek felső határa 0,10 mg/kg.⁽²⁾ Delta-5-23-stigmastadienol + koleszterin + szitoszterin + szitosztanol + delta-5-avenoszterin + delta-5-24-stigmastadienol.

Megjegyzés:

Egy olaj abban az esetben nem fogadható el, amennyiben bármely jellemzője kívül esik a meghatározott határértékeken.

Típus	Savösszetétel							K ₂₁₂	K ₂₇₀	K ₂₇₀ timföldön történt átvezetést követően (%)	Delta K	Kóstoló csoport teszthe
	Mirisztinsav %	Linolénsav %	Arachidén-sav %	Eicosanoinsav %	Behénsav %	Lignocerin-sav %	K ₂₇₀					
1. Extra szűz-olívaolaj	M 0,1	M 0,9	M 0,7	M 0,5	M 0,3	M 0,5	M 2,40	M 0,20	M 0,10	M 0,01	≥ 6,5	
2. Szűz olívaolaj	M 0,1	M 0,9	M 0,7	M 0,5	M 0,3	M 0,5	M 2,50	M 0,25	M 0,10	M 0,01	≥ 5,5	
3. Közönséges szűz-olívaolaj	M 0,1	M 0,9	M 0,7	M 0,5	M 0,3	M 0,5	M 2,50	M 0,25	M 0,10	M 0,01	≥ 3,5	
4. Szűz lampante olívaolaj	M 0,1	M 0,9	M 0,7	M 0,5	M 0,3	M 0,5	M 3,70	> 0,25	M 0,11	–	< 3,5	
5. Finomított olívaolaj	M 0,1	M 0,9	M 0,7	M 0,5	M 0,3	M 0,5	M 3,40	M 1,20	–	M 0,16	–	
6. Olívaolaj	M 0,1	M 0,9	M 0,7	M 0,5	M 0,3	M 0,5	M 3,30	M 1,00	–	M 0,13	–	
7. Nyers olívaolaj	M 0,1	M 0,9	M 0,7	M 0,5	M 0,3	M 0,5	–	–	–	–	–	
8. Finomított olívaolaj	M 0,1	M 0,9	M 0,7	M 0,5	M 0,3	M 0,5	M 5,50	M 2,50	–	M 0,25	–	
9. Olívaolaj	M 0,1	M 0,9	M 0,7	M 0,5	M 0,3	M 0,5	M 5,30	M 2,00	–	M 0,20	–	

Megjegyzés:

(1) Azon olajok esetében, amelyek savassága meghaladja a 3,3 %-ot, és a K₂₇₀ meghaladja a 0,11 értéket a timföldön történtő keresztülvizetést követően, el kell végezni a XIII. melléklet szerinti finomítási tesztet. A tisztaság meghatározása céljából, amennyiben a K₂₇₀ meghaladja az érintett kategóriára vonatkozó határértéket, a tisztaságot a timföldön való átvezetésen ismételt meg kell határozni.

II. MELLÉKLET

A SZABAD ZSÍRSAVAK MEGHATÁROZÁSA

1. A SAVASSÁG MEGHATÁROZÁSA

A szabad zsírsavak meghatározása az olívaolajban. A szabad zsírsavtartalmat a hagyományosan számított savasság alapján adják meg.

1.1. Alapelv

A mintát feloldják oldószerek keverékében és a jelen lévő szabad zsírsavakat kálium-hidroxid etanolos oldatával titrálják.

1.2. Reagensok

Minden esetben elismert analitikai minőségű reagensket és desztillált vagy hasonló minőségű vizet kell használni.

1.2.1. Dietil-éter; 95 % etanol (v/v), azonos térfogatarányú keveréke.

Megjegyzés: A dietil-éter kiemelten tűzveszélyes és robbanó peroxidokat képezhet. Használata során különleges óvatosságra van szükség.

Semlegesítse pontosan a felhasználás pillanatában kálium-hidroxid oldattal (1.2.2.), 100 ml keverékenként 0,3 ml fenolftalein oldat (1.2.3.) hozzáadásával.

Megjegyzés: Amennyiben nincs mód dietil-étert használatára, etanol és metil-benzolt tartalmazó oldószerkeverék használható. Szükség esetén az etanol propanol-2-vel helyettesíthető.

1.2.2. Kálium-hidroxid, titrált etanolos oldat, c(KOH), megközelítőleg 0,1 mol/l vagy szükség esetén c(KOH), megközelítőleg 0,5 mol/l.

A kálium-hidroxid etanolos oldatának pontos töménységét ismerni és ellenőrizni kell közvetlenül a felhasználás előtt. Használjon a felhasználás előtt legalább öt nappal korábban készült, barna üvegben tárolt és gumidugóval lezárt oldatot. Az oldatnak színtelennek vagy szalmaszínűnek kell lennie.

Megjegyzés: A kálium-hidroxid stabil színtelen oldatát a következő módon lehet elkészíteni. Forraljon fel 1 000 ml etanol 8 g kálium-hidroxiddal és 0,5 g alumíniumreszeléssel és folytassa a forralást egy órán keresztül. Közvetlenül ezután desztillálja. A desztillátumban oldjon fel szükséges mennyiségű kálium-hidroxidot. Hagyja néhány napig állni, majd öntse le az átlátszó felső folyadékot a leülepedett kálium-karbonátról.

Az oldat desztilláció nélkül is elkészíthető a következő módon: 1 000 ml etanolhoz adjon 4 ml alumínium-butilátot és hagyja állni a keveréket néhány napig. Öntse le a felül lévő folyadékot és oldja fel a kívánt mennyiségű kálium-hidroxidot. Az oldat használatra készen áll.

1.2.3. Fenolftalein 10 g/l oldata 95-96 % (v/v) etanolban vagy alkáli-kékben (erősen színezett zsírok esetén 20 g/l oldat 95-96 % (v/v) etanolban).

1.3. Berendezés

Szokványos laboratóriumi berendezés, beleértve a következőket:

1.3.1. analitikai mérleg;

1.3.2. 250 ml-es kúpos fenekű lombik;

1.3.3. 10 ml-es buretta 0,05 ml-es beosztással.

1.4. Eljárás

1.4.1. A minta előkészítése a tesztre

(Végezze el a tesztet a leszűrt mintán. Amennyiben a nedvesség és a szennyeződések együttesen nem haladják meg az 1 %-ot, a mintát használja további kezelés nélkül; amennyiben meghaladják az 1 %-ot, le kell szűrni).

1.4.2. Mintavételezés

A mintavételezést a várható savszámnak megfelelően végezze, a következő táblázat szerint:

Várható savszám	Minta tömege (g)	Mérési pontosság (g)
< 1	20	0,05
1–4	10	0,02
4–15	2,5	0,01
15–75	0,5	0,001
> 75	0,1	0,0002

Mérje meg a mintát a kúpos fenekű lombikban (1.3.2.).

1.4.3. Meghatározás

Oldja fel a mintát (1.4.2.) dietil-éter és etanol (1.2.1.) 50-150 ml korábban semlegesített keverékében.

Keverés közben végezzen titrálást 0,1 mol/l kálium-hidroxid oldattal (1.2.2.) (lásd a 2. megjegyzést), amíg az indikátor változni kezd (a fenolftalein rózsaszín színe legalább 10 másodpercig nem múlik el).

1. megjegyzés: A kálium-hidroxid etanos titrált oldata (1.2.2.) helyett kálium vagy nátrium hidroxid vizes oldata is használható, amennyiben a hozzáadott víz mennyisége nem vált ki fázisátváltást.
2. megjegyzés: Amennyiben a szükséges 0,1 mol/l kálium-hidroxid oldat mennyisége meghaladja a 10 ml-t, használjon 0,5 mol/l oldatot.
3. megjegyzés: Amennyiben az oldat titrálás közben átlátszatlaná válik, adjon hozzá megfelelő mennyiségű oldószert (1.2.1.), hogy átlátszó oldatot kapjon.

1.5. Savasság: az olajsav százalékában kifejezve

A savasság súlyszázaléka a következő:

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

ahol:

V = a felhasznált titrált kálium-hidroxid oldat térfogata ml-ben;

c = a felhasznált titrált kálium-hidroxid oldat pontos koncentrációja mol/l-ben;

M = a használt sav molsúlya g/mol-ban az eredmény kifejezésére (= 282);

m = a minta súlya g-ban.

Eredményként a két elvégzett meghatározás számtani közepét kell venni.

III. MELLÉKLET

A PEROXIDSZÁM MEGHATÁROZÁSA

1. CÉL

Ez az előírás olajok és zsírok peroxidszámának meghatározását írja le.

2. ALKALMAZÁSITERÜLET

Az előírás állati és növényi eredetű olajokra és zsírokra alkalmazható.

3. MEGHATÁROZÁS

A peroxidszám a mintában található azon anyagok mennyisége aktív oxigén/kg milliekvivalensben kifejezve, amelyek kálium-jodidot oxidálnak a megadott üzemi körülmények között.

4. ALAPELV

A vizsgált mennyiség ecetsavas és kloroformos oldatának kezelése kálium-jodid oldattal. A felszabadított jódtitrálása standardizált nátrium-tioszulfát oldattal.

5. BERENDEZÉS

Minden felhasznált berendezésnek redukáló- vagy oxidálóanyagoktól mentesnek kell lennie.

Megjegyzés: Ne zsírozza be a csiszolt felületeket.

5.1. 3 ml-es üvegkanál.

5.2. Megközelítőleg 250 ml térfogatú lombikok csiszolt nyakkal és dugókkal, előzetesen kiszárítva és tiszta, száraz inert gázzal (nitrogénnel vagy lehetőleg széndioxiddal) feltöltve.

5.3. 25 vagy 50 ml-es buretta 0,1 ml-es beosztással.

6. REAGENSEK

6.1. Analitikai reagens minőségű kloroform, amelyet mentesítettek az oxigéntől a rajta átbuborékolatott tiszta, száraz inert gázárammal.

6.2. Analitikai reagens minőségű jégacet, amelyet mentesítettek az oxigéntől a rajta átbuborékolatott tiszta, száraz inert gázárammal.

6.3. Kálium-jodid frissen készített, jódtól és jódsavaktól mentes, telített vizes oldata.

6.4. Nátrium-tioszulfát 0,01 vagy 0,002 mol/l pontosan standardizált vizes oldata, közvetlenül a felhasználás előtt standardizálva.

6.5. Keményítőoldat, 10 g/l vizes diszperzió, frissen készítve természetes oldható keményítőből.

7. MINTA

Figyeljen, Hogy a minta vételezése és tárolása fénytől védve történjen, és hidegben, teljesen megtöltött üvegedényekben, csiszolt üveg parafadugóval lezárva legyen tárolva.

8. ELJÁRÁS

A tesztet szórt nappali fény vagy mesterséges megvilágítás mellett kell végezni. A minta tömegét mérje meg üvegkanálban (5.1.) vagy ennek hiányában lombikban (5.2.) a legközelebbi 0,001 g-ra kerekítve, a várt peroxidszámnak megfelelően a következő táblázat szerint:

Várható peroxidszám (meq)	A vizsgált mennyiség súlya (g)
0–12	5,0–2,0
12–20	2,0–1,2
20–30	1,2–0,8
30–50	0,8–0,5
50–90	0,5–0,3

Vegye le a lombik (5.2.) dugóját és tegye bele a vizsgált mennyiséget tartalmazó üvegkanalat. Adjon hozzá 10 ml kloroformot (6.1.). Keveréssel oldja fel gyorsan a vizsgált mennyiséget. Adjon hozzá 15 ml ecetsavat (6.2.), majd 1 ml kálium-jodid oldatot (6.3.). Tegye rá gyorsan a dugót, rázza egy percen keresztül, majd hagyja állni pontosan öt percig fénytől védve, 15–25 °C hőmérsékleten.

Adjon hozzá megközelítőleg 75 ml desztillált vizet. Titrálja a felszabadított jódot a nátrium-tioszulfát oldattal (6.4.) (0,002 Mol/l oldat a várhatóan 12-nél alacsonyabb peroxidszám esetén és 0,01 Mol/l a várhatóan 12-nél magasabb peroxidszám esetén), miközben erőteljesen rázza, indikátorként keményítőoldatot (6.5.) használva.

Egy tesztminta esetén végezzen két meghatározást.

Ezzel egyidejűleg végezzen ellenőrző tesztet. Amennyiben az ellenőrző teszt eredménye meghaladja a 0,05 ml 0,01 mol/l nátrium-tioszulfát (6.4.) értéket, cserélje ki az elszennyeződött reagenseket.

9. AZ EREDMÉNYEK KIFEJEZÉSE

A peroxidszám (PV) aktív oxigén/kg milliekvivalensben kifejezve a következő képlettel határozható meg:

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

ahol:

V = a teszthez felhasznált standardizált nátrium-tioszulfát oldat (6.4.) ml-jeinek száma, az ellenőrző teszt figyelembevételével korrigálva;

T = a felhasznált nátrium-tioszulfát oldat (6.4.) pontos moláris koncentrációja;

m = a vizsgált adag súlya g-ban;

Eredményként a két elvégzett meghatározás számtani közepét kell venni.

IV. MELLÉKLET

A NYÍLT SZÉNLÁNCÚ ALKOHOLOK MENNYISÉGÉNEK MEGHATÁROZÁSA KAPILLÁRIS GÁZKROMATOGRÁFIÁVAL

1. CÉL
Az eljárás az olajok és a zsírok nyílt szénláncú alkoholtartalmának meghatározását írja le.
2. A MÓDSZERALAPELVE
A zsírszerű anyagot, amelyhez belső standardként 1-eikozanol adnak, etanolos kálium-hidroxiddal szappanosítják, majd a nem szappanosítható anyagot dietil-éterrel kivonják.

Az alkoholos frakciót kromatográfia segítségével leválasztják a nem szappanosítható anyagról egy kálium-hidroxiddal impregnált szilikagél rétegen; a szilikagélből visszanyert alkoholokat trimetil-szilil-éterre alakítják és kapilláris gázkromatográfia segítségével elemzik.
3. BERENDEZÉS
 - 3.1. 250 ml gömbölyű fenekű lombik visszafolyós hűtővel és csiszolt üveg csatlakozásokkal.
 - 3.2. 500 ml térfogatú választótölcsérek.
 - 3.3. 250 ml térfogatú lombikok.
 - 3.4. Kromatográfiai tartály vékonyrétegű kromatográfiai analízishez, 20 × 20 cm üveg tárgylemezekkel.
 - 3.5. 366 vagy 254 nm hullámhosszúságú ultraibolya fény a TLC tárgylemez vizsgálatához.
 - 3.6. Mikrofecskendő 100 µl és 500 µl adagolásához.
 - 3.7. Részlegesen ömlesztett porózus G 3 (15–40 µm porozitás) préselt üveg szűrőtölcsér megközelítőleg 2 cm átmérőjű és megközelítőleg 5 cm magas, vákuum alatti szűrésre alkalmas, 12/21 csiszolt üveg apacsatlakozóval.
 - 3.8. 50 ml térfogatú vákuum lombik 12/21 csiszolt üveg anyacsatlakozóval a szűrőtölcsérrel (3.7.) való használathoz.
 - 3.9. 10 ml térfogatú kúpos fenekű kémcsődugóval.
 - 3.10. Gázkromatográf kapilláris oszloppal történő használatra, a következőkből álló bontórendszerrel felszerelve:
 - 3.10.1. termosztatikus kamra az oszlopok számára (oszlopkemence) a kívánt hőmérséklet ± 1 °C pontosságú tartásához;
 - 3.10.2. termosztatikus gőzölögtető berendezés (befecskendező nyílás) szilánborítású üveggel;
 - 3.10.3. láng-ionizációs detektor és konverter erősítő;
 - 3.10.4. regisztráló-integrátor berendezés a konverter erősítővel (3.10.3.) történő használatra, amelynek a válaszi-deje nem haladja meg az egy másodpercet és változtatható papírsebességű.
 - 3.11. Üvegből vagy ömlesztett szilícium-dioxidból készült 20–30 mm hosszúságú, 0,25–0,32 mm belső átmé-rőjű kapilláris oszlop SE–52 vagy SE–54, illetve azzal egyenértékű folyadékfázissal, amelynek rétegvastag-sága 0,10–0,30 µm.
 - 3.12. 10 µl térfogatú mikrofecskendő gázkromatográfiához, keményített tűvel.
4. REAGENSEK
 - 4.1. Kálium-hidroxid, megközelítőleg 2 mol/l etanolos oldat: 130 g kálium-hidroxid (minimum 85 % koncent-rációjú) hűtés közben feloldva 200 ml desztillált vízben, majd etanollal feltöltve egy liter mennyiségűre. Az oldatot jól lezárt, sötét színű üvegben kell tárolni.
 - 4.2. Analízishez való tiszta dietil-éter.
 - 4.3. Analízishez való tiszta, vízmentes nátrium-szulfát.

- 4.4. Szilikagél TLC üveg tárgylemezek, fluoreszcencia indikátor nélkül, 0,25 mm vastagságú (kereskedelmi forgalomban kapható).
- 4.5. Kálium-hidroxid, megközelítőleg 2 mol/l etanolos oldat: 13 g kálium-hidroxid feloldva 20 ml desztillált vízben, majd etanollal feltöltve egy liter mennyiségűre.
- 4.6. Benzol a kromatográfiához (lásd 5.2.2.).
- 4.7. Aceton a kromatográfiához (lásd 5.2.2.).
- 4.8. Hexán a kromatográfiához (lásd 5.2.2.).
- 4.9. Dietil-éter a kromatográfiához (lásd 5.2.2.).
- 4.10. Kloroform a kromatográfiához.
- 4.11. Referenciaoldat a vékonyréteg-kromatográfiához: 5 % C₂₀ – C₂₈ alkoholok keveréke kloroformban.
- 4.12. 2,7-dikloro-fluoreszcein 0,2 %-os oldata etanolban. Ez egy kissé bázikussá téve néhány csepp 2 mol/l kálium-hidroxid oldat hozzáadásával.
- 4.13. Vízmentes piridin a kromatográfiához.
- 4.14. Hexametil-diszilán.
- 4.15. Trimetil-kloroszilán.
- 4.16. Trimetilszil-éterek standard oldatai C₂₀ – C₂₈ nyílt szénláncú alkoholokban. Ezek előállíthatók tiszta alkoholok keverékéből akkor, mikor felhasználásukra szükség van.
- 4.17. 1-eikozanol 0,1 %-os (m/v) oldata CHCl₃-ban (belső standard).
- 4.18. Vivőgázok: hidrogén és hélium, gázkromatográfiai felhasználáshoz megfelelő tisztaságú.
- 4.19. Segédgázok:
 - hidrogén, gázkromatográfiai felhasználáshoz megfelelő tisztaságú,
 - levegő, gázkromatográfiai felhasználáshoz megfelelő tisztaságú.

5. ELJÁRÁS

- 5.1. Nem szappanosítható anyag készítése.
 - 5.1.1. Egy 500 µl mikrofecskendő segítségével tegyen a 250 ml gömbölyű fenekű lombikba olyan mennyiségű 0,1 %-os 1-eikozanol (1-heneikozanol is használható) oldatot (4.17.), amelyben az 1-eikozanol mennyisége az analízishez vett minta nyílt szénláncú alkoholtartalmának megközelítőleg 10 %-a. Például 5 g mintához adjon 250 µl 0,1 %-os 1-eikozanol oldatot, ha olívaolajat vagy magolajat analizál, és 1 500 µl-t, ha a minta olívmaradék-olaj. Párolgassa a belső standard oldatot N alatti szárazságúra.

Mérjen a lombikba megközelítőleg 5 g száraz, átszűrt mintát.

- 5.1.2. Adjon hozzá 50 ml 2 mol/l etanolos kálium-hidroxid oldatot, csatlakoztassa a visszafolyós hűtőt és gőzfürdőben főzze fokozatosan, a melegítés során folyamatosan keverje, amíg a szappanképződés meg nem indul (az oldat tisztává válik). Folytassa a melegítést további 20 percen keresztül, majd adjon hozzá 50 ml desztillált vizet a kondenzátoron keresztül, ezután szerelje le a kondenzátort és hűtse le a lombikot megközelítőleg 30 °C-ra.
- 5.1.3. A lombik tartalmát töltsse át egy 500 ml térfogatú választótölcsérbe, a lombikot pedig mossa át 2 × 25 ml desztillált vízzel. Adjon hozzá megközelítőleg 80 ml dietil-étert és erőteljesen rázza 30 másodpercen keresztül, majd hagyja a két fázist szétválni (1. megjegyzés).

Az alsó vizes fázist töltsse át egy másik választótölcsérbe. Végezzen két további kivonást a vizes fázisból hasonló módszerrel, mindkét alkalommal 60–70 ml dietil-éter hozzáadásával.

1. megjegyzés: Az emulziók megszüntethetők permetszerűen hozzáadott, kis mennyiségű etilalkohol vagy metilalkohol segítségével.

- 5.1.4. A dietil-éter kivonatokat keverje össze a választótölcsérben, majd mossa azt át desztillált vízzel (50 ml-enként), amíg a mosóvíz semleges reakciót nem mutat.

Öntse ki a vizes fázist, szárítsa meg az éterfázist vízmentes nátrium-szulfáttal, szűrje át egy 250 ml térfogatú lombikba, amelynek súlyát előzőleg lemérte, a tölcser és a szűrőt mossa ki kis mennyiségű dietil-éterrel, amely hozzáadódik az összes mennyiséghez.

- 5.1.5. Párolgassa el az étert óvatosan melegítve néhány ml mennyiségűre, majd gyenge vákuum vagy nitrogénáram alatt szárítsa ki; a szárítást kemencében fejezze be 100 °C hőmérsékleten, megközelítőleg 15 perc alatt, majd egy szárítóberendezésben történő lehűtés után mérje meg a maradék súlyát.
- 5.2. Az alkoholos frakciók elkülönítése.
- 5.2.1. Készítsen elő bázikus vékonyfilm-kromatográfia lapokat (TLC lapokat) (4.4.), merítse be a lapokat teljesen 0,2 mol/l kálium-hidroxid oldatba (4.5.) 10 másodpercre, majd hagyja őket elszívófülkében száradni két óráig, majd végül helyezze őket 100 °C hőmérsékletű kemencébe egy órára.
- Vegye ki a lapokat a kemencéből, és felhasználásig tegye őket kalcium-klorid szárítóberendezésbe. Az így kezelt lapokat két héten belül fel kell használni.
2. megjegyzés: Amennyiben bázikus szilikagéllapokat használ az alkoholos frakció leválasztásához, akkor nincsen szükség a nem szappanosítható anyagok Al_2O_3 -mal történő kezelésére. Ebből az következik, hogy minden savkomponens (zsírsavak és egyéb savak) visszamarad a kiindulásnál, és így alakulnak ki a nyílt szénláncú alkohol és a terpénalkohol sávok, amelyek elkülönülve jönnek létre a szterinsávból.
- 5.2.2. Benzol és acetone 95:5 térfogatarányú oldatát vezesse be egy kifejlesztő kamrába megközelítőleg 1 cm mélységben. Az előbbi helyett használhatja hexán és dietil-éter 65:35 térfogatarányú oldatát is. Zárja le a tartályt és hagyja legalább egy fél órán keresztül, hogy beálljon az egyensúly a gőz és a folyadék között. Eluálószerbe mártott szűrőpapírcsíkok erősíthetők a tartály belső felületére, hogy megközelítőleg egyharmadával csökkenjen a kifejlesztési idő és egyenletesebb legyen az összetevők leoldása.
3. megjegyzés: A kifejlesztő oldatot minden analízishez cserélni kell, hogy reprodukálható kifejlesztési körülmények álljanak fenn.
- 5.2.3. Készítsen a nem szappanosítható anyagból (5.1.5.) megközelítőleg 5 %-os kloroformos oldatot, és ebből 300 µl-t a 100 µl térfogatú mikrofecskendő segítségével kenjen fel egyenletes csíkokban, minimális vastagságban egy TLC lapra, a TLC lap aljától megközelítőleg 2 cm-re. A nyílt szénláncú alkoholsáv kifejlesztés utáni azonosítására a csíkokhoz igazodva vigyen fel 2–3 µl nyílt szénláncú alkohol referenciaoldatot (4.11.).
- 5.2.4. A lemezt helyezze az 5.2.2. pont szerinti kifejlesztő tartályba. A hőmérsékletet 15–20°C között kell tartani. A tartályt azonnal zárja le és a mintát hagyja eluálódni, ameddig az oldószer eleje el nem éri a lemez tetejétől számított 1 cm távolságot. Ekkor vegye ki a lemezt a kifejlesztő tartályból és meleglevegő-áram segítségével párolgassa el az oldószert vagy hagyja a lemezt egy időre az elszívófülkében.
- 5.2.5. Kismértékben és egyenletesen bepermetezve a lemezt 2,7-diklorofluoroszcein oldattal, amikor ultraibolya fényben nézi a lapot, a nyílt szénláncú alkohol sávot a közvetlenül alatta lévő, triterpénes alkohol sávban található nyílt szénláncú alkohollal történő összehasonlítás alapján lehet felismerni, ez a két sáv együtt látszik.
4. megjegyzés: A nyílt szénláncú alkoholos sáv és a triterpénes alkoholos sáv eltávolítása azért szükséges, mert az egyes nyílt szénláncú alkoholok átvándorolhatnak a triterpénes alkoholos sávba.
- 5.2.6. A körvonalazott területen található szilikagélt kaparja le egy fémspatulával. Az eltávolított anyagot tördelje szét apró darabokra és vezesse be egy szűrőtölcsérbe (3.7.), adjon hozzá 10 ml forró kloroformot és alaposan keverje össze fémspatula segítségével, majd vákuumban szűrje le, a szűrletet gyűjtse össze egy lombikban (3.8.), amely a szűrőtölcsérhez van csatlakoztatva.
- A tölcsérben bennmaradó anyagot mossa ki 3 × 10 ml etil-éterrel, a szüredéket gyűjtse ugyanabba a tölcsérhez csatlakoztatott lombikba. Párolja be a szüredéket megközelítőleg 4–5 ml térfogatúra, és a maradék oldatot töltsse egy 10 ml térfogatú kémcsőbe (3.9.), amelynek súlyát előzőleg lemérte, a kémcsövet szárítsa ki enyhe melegítéssel gyenge nitrogénáramban. Oldja fel újra a maradékot néhány csepp acetonnal, szárítsa meg, majd helyezze egy kemencébe 105 °C hőmérsékletre 10 percre, ezután vegye ki és hűtse le a szárítóberendezésben és mérje meg a súlyát.
- A kémcsőben maradt anyag az alkoholos frakció.
- 5.3. Trimetilsziles éterek készítése.
- 5.3.1. Töltse az alkoholos frakciót tartalmazó kémcsőbe a szililesedés reagensét, amely 9:3:1 térfogatarányú (5. megjegyzés) piridin-hexametildiszilizin-trimetilkloroszilán keverékből áll, az alkohol minden milligramjához 50 µl-nyi mennyiségben úgy, hogy közben ne vegyen fel nedvességet (6. megjegyzés).
5. megjegyzés: A használatra kész oldatok kereskedelmi forgalomban kaphatók; szilanizációs reagensek, mint például N, 0-bis (trimetilszilil) trifluoroacetamid + 1 % trimetilkloroszilán azonos térfogatú víztelen piridinnel való keveréshez.

- 5.3.2. Dugózza le a kémcsövet és óvatosan, felfordítás nélkül rázza addig, amíg az alkoholok feloldódnak. Ezután hagyja legalább 15 percig szobahőmérsékleten állni, majd ezt követően centrifugálja néhány percig; a tiszta oldat gázkromatográfiás vizsgálatra kész.
6. megjegyzés: Bármilyen kismértékű opalosság kialakulása normális jelenség és nem zavaró. A fehér csomók kialakulása vagy a rózsaszín elszíneződés megjelenése a nedvesség jelenlétét vagy a reagens elhasználódását jelzik. Ebben az esetben a tesztet meg kell ismételni.
- 5.4. Gázkromatográfiás elemzés.
- 5.4.1. Előzetes műveletek és a kapilláris oszlop kondicionálása.
- 5.4.1.1. A kapilláris oszlopot illessze be a gázkromatográfiás készülékbe úgy, hogy az oszlop bemenetét csatlakoztassa ahhoz a párologtatóhoz, amely a hasítórendszerhez csatlakozik, az oszlop kimenetét pedig a detektorhoz.
- Végezze el a gázkromatográfiás berendezés általános ellenőrzését (gázszerelvények tömítettsége, a detektor hatásfoka, a hasítórendszer és a felvevőberendezés hatásfoka stb.).
- 5.4.1.2. Az első alkalommal használt kapilláris oszlopokat kondicionálni kell. Fúvasson át egy kevés vivőgázt a kapilláris oszlopon, majd kapcsolja be a gázkromatográfiás berendezést és melegítse addig, amíg a hőmérséklet legalább 20 °C-kal meghaladja az üzemi hőmérsékletet (7. megjegyzés). Ezt a hőmérsékletet tartsa legalább két órán keresztül, majd hozza a berendezést üzemi körülmények közé (gázáram szabályozása, bontóláng begyújtása, csatlakoztatás az elektronikus íróhoz, a kapilláris oszlopot fűtő kemence, a detektor és az injektor hőmérsékletének beállítása stb.) és állítsa be a jelet az analízis során tervezett legmagasabb szintnél legalább kétszer nagyobb érzékenységre. Az alapvonalnak lineárisnak kell lennie, illetve mindenemű csúcstól és ingadozástól mentesnek.
- A negatív egyenes vonalú drift az oszlop tökéletlen tömítettségét jelzi, míg a pozitív drift az oszlop nem megfelelő kondicionálását jelzi.
7. megjegyzés: A kondicionálás hőmérsékletének legalább 20 °C-kal alacsonyabbnak kell lennie, mint az alkalmazott folyadékfázis esetén várható maximális hőmérséklet.
- 5.4.2. Az üzemi körülmények megválasztása.
- 5.4.2.1. Az irányadó üzemi körülmények a következők:
- oszlophőmérséklet: a kiindulási izotermát állítsa 180 °C-ra 8 percig, majd programozza percenkénti 5 °C emelkedéssel 260 °C-ra, majd további 15 percen keresztül tartsa 260 °C-on,
 - a párologtató hőmérséklete: 280 °C,
 - a detektor hőmérséklete: 290 °C,
 - a vivőgáz lineáris sebessége: hélium 20–35 cm/s, hidrogén 30–50 cm/s,
 - bontási tényező: 1:50–1:100,
 - a berendezés érzékenysége: a minimális elnyelés 4–16-szorosa,
 - a rögzítés érzékenysége: 1–2 mV fs,
 - a papírsebesség: 30–60 cm/h,
 - a befecskendezett anyag mennyisége: 0,5–1 µl TMSE oldat.
- A fenti feltételek az oszlop és a gázkromatográf jellemzőinek megfelelően módosíthatók, hogy a kapott kromatogramok megfeleljenek a következő feltételeknek:
- a C₂₆ alkohol retenciósideje 18 ± 5 perc legyen,
 - a C₂₂ alkohol csúcsa az olívaolaj teljes skálaértékének 80 ± 20 %-a, a magolaj a teljes skála értékének 40 ± 20 %-a legyen.
- 5.4.2.2. Ellenőrizze a fenti követelmények teljesülését a standard TMSE alkoholkeverék ismételt befecskendezésével, és az üzemi feltételeket módosítsa úgy, hogy a lehető legjobb eredményeket kapja.
- 5.4.2.3. A csúcsok integrálásához a paramétereket úgy kell beállítani, hogy az lehetővé tegye az érintett csúcsok területeinek pontos becslését.
- 5.4.3. Az elemzés végrehajtása.
- 5.4.3.1. A 10 µl térfogatú mikrofecskendő segítségével szívjon fel 1 µl hexánt, majd 0,5 µl levegőt, ezt követően pedig 0,5–1 µl mintaoldatot; a mikrofecskendő dugattyúját felfelé mozgatva ürítse ki a tűt.
- A tűt vezesse be a befecskendező berendezés válaszfalán, majd egy-két másodperc elmúltával fecskendezze be gyorsan az oldatot és öt másodperc múlva lassan húzza ki a tűt.
- 5.4.3.2. Addig folytassa a rögzítést, ameddig a jelenlévő alkoholok TMSE keveréke teljesen eluálódott. Az alapvonalnak minden esetben meg kell felelnie az 5.4.1.2. pont szerinti előírásoknak.
- 5.4.4. A csúcsok azonosítása.
- Az egyes csúcsok azonosítását a retencióside alapján és az azonos körülmények között analízált standard TMSE keverékkel összehasonlítva végezze.
- A szűz olívaolaj alkoholos frakciójának kromatogramja az 1. ábrán látható.
- 5.4.5. Mennyiségi értékelés.
- 5.4.5.1. Az 1-eikoszanol és a nyílt szénláncú C₂₂–C₂₈ alkoholok csúcsainak területét elektronikus integrálással számítsa ki.

5.4.5.2. Az egyes alkoholok mg/100 g zsírszerű anyagban kifejezett tartalmát a következő módon lehet kiszámítani:

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

ahol:

A_x = az x alkohol csúcsának területe négyzetmilliméterben;

A_s = az 1-eikoszanol csúcsának területe négyzetmilliméterben;

m_s = az 1-eikoszanol tömege milligrammban;

m = a meghatározni kívánt minta tömege grammban.

6. AZ EREDMÉNYEK KIFEJEZÉSE

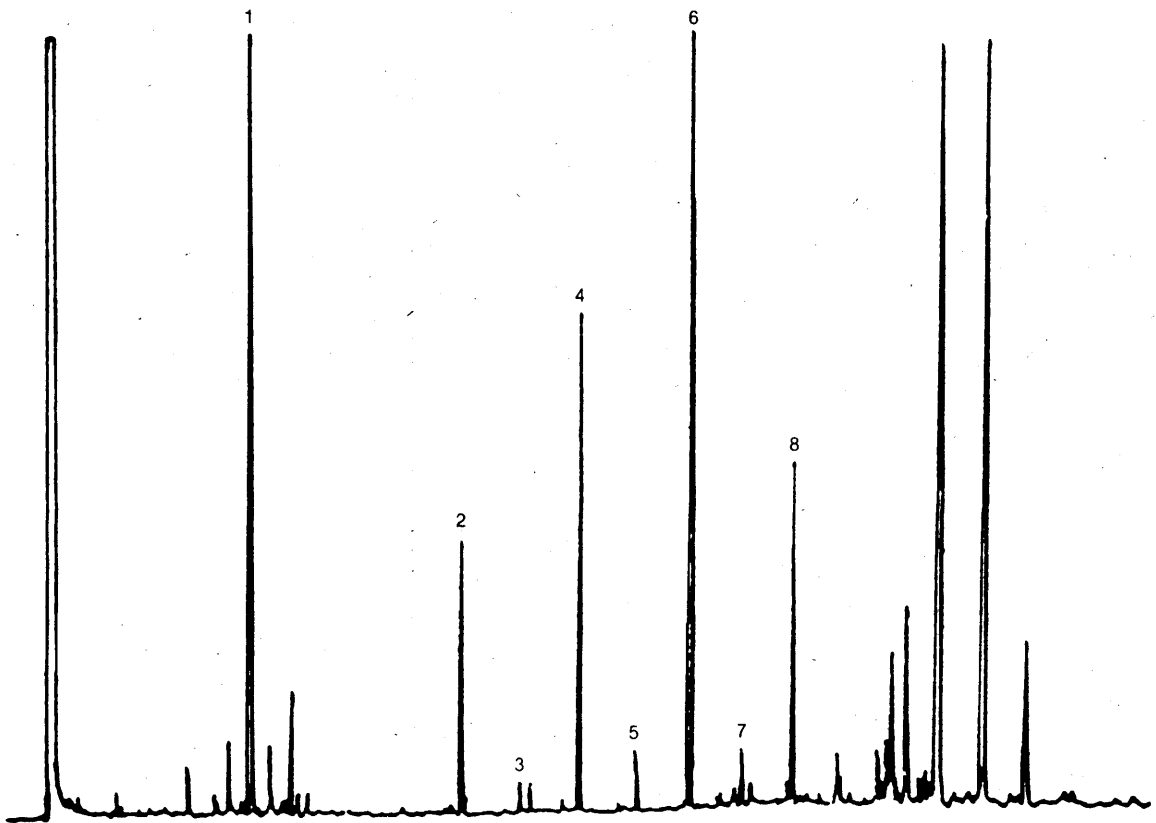
jegyezze fel az egyes nyílt szénláncú alkoholok mennyiségét mg/100 g zsírszerű anyagban megadva, illetve összegüket az „összes nyílt szénláncú alkohol” mennyiségként.

FÜGGELÉK

A gáz lineáris sebességének meghatározása

Fecskendezzen 1–3 µl metánt vagy propánt a normál üzemi körülményekre beállított gázkromatográfba, és stopperórával mérje meg a metán vagy propán oszlopon történő átáramlásának idejét a befecskendezés pillanatától a csúcs eluálásának pillanatáig (t_M).

A cm/s-ben megadott lineáris sebesség az L/t_M kifejezésből adódik, ahol az L az oszlop hossza centiméterben, a t_M pedig a stopperórával mért idő másodpercben.



1. ábra: A szűz olívaolaj alkoholos frakciójának kromatogramja

1 = Eikoszanol (SI)

2 = Dokozsanol,

3 = Trikoszanol,

4 = Tetraokszanol,

5 = Pentakozsanol,

6 = Hexakozsanol,

7 = Heptakozsanol,

8 = Oktakozsanol.

V. MELLÉKLET

A SZTERINEK ÖSSZETÉTELÉNEK ÉS MENNYISÉGÉNEK MEGHATÁROZÁSA KAPILLÁRIS-OSZLOP GÁZKROMATOGRÁFIÁVAL

1. CÉL

A módszer a zsírszerű anyagok egyedi és összes szterintartalmának meghatározását írja le.
2. A MÓDSZER ALAPELVE

A zsírszerű anyagot, amelyhez belső standardként β -koleszتانint adnak, etanolos kálium-hidroxid oldattal szappanosítják, majd a nem szappanosítható anyagot dietil-éterrel kivonják.

A szterin frakciót kromatográfia segítségével leválasztják a nem szappanosítható anyagról egy bázikus szilikagél rétegen. A szilikagélből visszanyert szterineket trimetil-szilil-éterre alakítják és kapilláris-oszlop gázkromatográfia segítségével elemzik.
3. BERENDEZÉS
 - 3.1. 250 ml térfogatú gömbölyű fenekű lombik visszafolyós hűtővel és csiszolt üveg csatlakozásokkal.
 - 3.2. 500 ml térfogatú választótölcsérek.
 - 3.3. 250 ml térfogatú lombikok.
 - 3.4. Komplet elemzőberendezés vékonyréteg kromatográfiához, 20 × 20 cm nagyságú üveg tárgylemezekkel.
 - 3.5. 366 vagy 254 nm hullámhosszúságú ultraibolya lámpa.
 - 3.6. 100 μ l és 500 μ l térfogatú mikrofecskendő.
 - 3.7. Hengeres szűrőtölcsér G 3 porozus válaszfalal (15–40 μ m porozitás), megközelítőleg 2 cm átmérőjű és megközelítőleg 5 cm magas, vákuum alatti szűrésre alkalmas, 12/21 csiszolt üveg apacsatlakozóval.
 - 3.8. 50 ml térfogatú vákuum lombik 12/21 csiszolt üveg anyacsatlakozóval a szűrőtölcsérral (3.7.) való használathoz.
 - 3.9. 10 ml térfogatú kúpos fenekű kémcső dugóval.
 - 3.10. Gázkromatográf kapilláris oszloppal történő használatra, a következőkből álló bontórendszerrel felszerelve:
 - 3.10.1. termosztatikus kamra az oszlopok számára (oszlopkemence) a kívánt hőmérséklet ± 1 °C pontosságon belüli tartásához;
 - 3.10.2. szabályozható hőmérsékletű gőzölögtető berendezés perszilán borítású üveggel;
 - 3.10.3. láng-ionizációs detektor és konverter erősítő;
 - 3.10.4. regisztráló-integrátor berendezés a konverter erősítővel (3.10.3.) történő használatra, amelynek a válaszi-deje nem haladja meg az egy másodpercet, változtatható papírsebességű.
 - 3.11. Üvegből vagy ömlesztett szilícium-dioxidból készült 20–30 m hosszúságú, 0,25–0,32 mm belső átmérőjű kapilláris oszlop SE–52 vagy SE–54, illetve azzal egyenértékű folyadékfázissal teljesen és egyenletesen bevonva, amelynek rétegvastagsága 0,10–0,30 μ m.
 - 3.12. 10 μ l térfogatú mikrofecskendő gázkromatográfiához, keményített tüvel.
4. REAGENSEK
 - 4.1. Kálium-hidroxid, megközelítőleg 2 mol/L etanolos oldat: 130 g kálium-hidroxid (minimum 85 % koncentrációjú) hűtés közben feloldva 200 ml desztillált vízben, majd etanollal feltöltve egy liter mennyiségűre. Az oldatot jól lezárt, sötét színű üvegben kell tárolni.

- 4.2. Analízishez megfelelő tisztaságú dietil-éter.
- 4.3. Analízishez megfelelő tisztaságú vízmentes nátrium-szulfát.
- 4.4. Szilikagél bevonatú, 0,25 mm vastagságú üveg tárgylemezek, fluoreszcencia indikátor nélkül (kereskedelmi fogalomban kapható).
- 4.5. Kálium-hidroxid, megközelítőleg 2 mol/L etanolos oldat: 13 g kálium-hidroxid feloldva 20 ml desztillált vízben, majd etanollal feltöltve egy liter mennyiségűre.
- 4.6. Benzol a kromatográfiához (lásd 5.2.2.).
- 4.7. Aceton a kromatográfiához (lásd 5.2.2.).
- 4.8. Hexán a kromatográfiához (lásd 5.2.2.).
- 4.9. Dietil-éter a kromatográfiához (lásd 5.2.2.).
- 4.10. Analízishez megfelelő tisztaságú kloroform (lásd 5.2.2.).
- 4.11. Referenciaoldat a vékonyréteg-kromatográfiához: koleszterin vagy fitoszterinek 5 %-os oldata kloroformban.
- 4.12. 2,7-dikloro-fluorescein 0,2 %-os oldata etanolban. Ez egy kissé bázikus téve néhány csepp 2 mól/L alkoholos kálium-hidroxid oldat hozzáadásával.
- 4.13. Vízmentes piridin a kromatográfiához.
- 4.14. Hexametil-diszilán.
- 4.15. Trimetil-kloroszilán.
- 4.16. Szterin-trimetilszil-éterek referenciaoldatai. A felhasználáskor kell előállítani az azokat tartalmazó olajokból származó tiszta szterinekből vagy szterinek keverékéből.
- 4.17. β -kolesztanin, 0,2 % (m/V) oldata kloroformban (belső standard).
- 4.18. Vivőgázok: hidrogén és hélium, gázkromatográfiai felhasználáshoz megfelelő tisztaságú.
- 4.19. Segédgázok:
 - hidrogén, gázkromatográfiai felhasználáshoz megfelelő tisztaságú,
 - levegő, gázkromatográfiai felhasználáshoz megfelelő tisztaságú.

5. ELJÁRÁS

- 5.1. Nem szappanosítható anyag készítése.
 - 5.1.1. Egy 500 μ l mikrofecskendő segítségével tegyen a 250 ml-es lombikba olyan mennyiségű 0,2 %-os β -kolesztanin kloroformos oldatot (4.17.), amelyben a kolesztanin mennyisége az analízishez vett minta szterintartalmának megközelítőleg 10 %-a. Például 5 g mintához adjon 500 μ l 0,2 %-os β -kolesztanin oldatot, ha olívaolajat analizál, és 1 500 μ l-t, ha magolajat vagy olívaolajpogácsa-olajat analizál.
 Nitrogénáramban való párologtatással szárítsa ki, mérjen pontosan 5 g-ot a száraz, szűrt mintából ugyanabba a lombikba.
 Az észlelhető mennyiségű koleszterint tartalmazó növényi olajok és zsírok esetében olyan csúcsok jelennek meg, amelyek retenció ideje megegyezik a kolesztaninéval. Ennek előfordulása esetén a szterinfrakciót kétszer kell elemezni, egyszer belső standard nélkül, egyszer pedig belső standarddal.
 - 5.1.2. Adjon hozzá 50 ml 2 mol/L etanolos kálium-hidroxid oldatot, csatlakoztassa a visszafolyós hűtőt és vízfürdőben fokozatosan hevítse forrásig, a melegítés során erőteljesen keverve, amíg a szappanképződés meg nem indul (az oldat tisztává válik). Folytassa a melegítést további 20 percen keresztül, majd adjon hozzá 50 ml desztillált vizet a kondenzátor tetején keresztül, ezután szerelje le a kondenzátort és hűtse le a lombikot megközelítőleg 30 °C-ra.
 - 5.1.3. A lombik tartalmát töltse át egy 500 ml térfogatú választótölcsérbe többszöri, összesen megközelítőleg 50 ml desztillált vízzel történő öblítés mellett. Adjon hozzá megközelítőleg 80 ml dietil-étert és 30 másodpercen keresztül rázza erőteljesen, majd hagyja a két fázist szétválni (1. megjegyzés).
 Válassza le az alsó vizes fázist, és gyűjtse össze egy másik választótölcsérbe. Végezzen két további kivonást a vizes fázison hasonló módon, esetenként 60–70 ml etil-éter felhasználásával.

1. megjegyzés: Az emulziók megszüntethetők permetszerűen hozzáadott kis mennyiségű etilalkohol vagy metilalkohol segítségével.

- 5.1.4. Az éter-kivonatokat keverje össze egy közös választótölcsérben, majd mossa át desztillált vízzel (50 ml-enként), amíg a mosóvíz semleges reakciót nem mutat.

A mosóvíz eltávolítását követően szárítsa meg az éterfázist vízmentes nátrium-szulfáttal, szűrje át vízmentes nátrium-szulfáton egy 250 ml térfogatú lombikba, amelynek súlyát előzőleg lemérte, a tölcsért és a szűrőt mossa ki kis mennyiségű dietil-éterrel.

- 5.1.5. Párolgassa el az étert néhány ml mennyiségűre, majd gyenge vákuum vagy nitrogénáram alatt szárítsa ki; a szárítást kemencében fejezze be 100 °C hőmérsékleten, megközelítőleg negyed órán keresztül, majd egy szárítóberendezésben történő lehűtés után mérje meg a súlyát.

- 5.2. A szterinfrakciók elkülönítése.

- 5.2.1. Készítsen elő bázikus lapokat. Merítse be a szilikagél lapokat (4.4.) teljesen 0,2 mol/l etanos kálium-hidroxid oldatba (4.5.) 10 másodpercre, majd hagyja őket füstszekrényben száradni két óráig, végül helyezze őket 100 °C hőmérsékletű kemencébe egy órára.

Vegye ki a lapokat a kemencéből és felhasználásig tegye őket kalcium-klorid szárítóberendezésbe. Az így kezelt lapokat 15 napon belül fel kell használni.

2. megjegyzés: Amennyiben bázikus szilikagél lapokat használ a szterin-frakció leválasztásához, akkor nincsen szükség a nem-szappanosítható anyagok timfölddel történő kezelésére. Ebből az következik, hogy minden savas jellegű komponens (zsírsavak és egyéb savak) visszamarad a kiindulásnál és a szterinek sávja egyértelműen elválik a nyílt szénláncú alkohol- és a triterpénalkohol sávoktól.

- 5.2.2. Benzol és aceton 95:5 térfogatarányú (v/v) oldatát vezesse be egy lemezkifejlesztő kamrába megközelítőleg 1 cm mélységben. Az előbbi helyett használhatja hexán és etil-éter 65:35 térfogatarányú (v/v) oldatát is. Zárja le a tartályt és hagyja megközelítőleg egy fél órán keresztül, hogy beálljon az egyensúly a gőz és a folyadék között. Eluálószerbe mártott szűrőpapírcsíkok erősíthetők a tartály belső felületére, hogy megközelítőleg egyharmadával csökkenjen a kifejlesztési idő és egyenletesebb legyen az összetevők leoldása.

3. megjegyzés: A kifejlesztő keveréket minden analízishez cserélni kell, hogy reprodukálható leoldási körülmények álljanak fenn.

- 5.2.3. Készítsen a nem szappanosítható anyagból (5.1.5.) megközelítőleg 5 %-os kloroformos oldatot és a 100 µl térfogatú mikrofecskendő segítségével ebből 300 µl-t kenjen fel a lehető legegyszerűbb és lehető legvékonyabb csíkokban, minimális vastagságban egy kromatográf lapra (5.2.1.), a lap valamely végétől megközelítőleg 2 cm-re. A szterinsáv kifejlesztés utáni azonosítására a csíkokhoz igazodva vigyen fel 2–3 µl szterin referenciaoldatot (4.1.1.).

- 5.2.4. A lemezt helyezze az 5.2.2. pont szerint előkészített kifejlesztő tartályba. A környezeti hőmérsékletet 15–20°C között kell tartani. A tartályt azonnal fedéllel zárja le és a mintát hagyja eluálódni, ameddig az oldószer eleje el nem éri a lemez felső élétől számított 1 cm távolságot. Ekkor vegye ki a lemezt a kifejlesztő tartályból és melegelevegő-áram segítségével vagy rövid időre az elszívófülkébe helyezve párolgassa el az oldószert.

- 5.2.5. Kismértékben és egyenletesen permetezze be a lemezt 2,7-diklorofluorescein oldattal. Mikor ultraibolya fényben nézi a lapot, a szterinsávot a referenciaoldat elszíneződésével történő összehasonlítás alapján lehet felismerni. A fluoreszkáló terület mentén jelölje be a sáv határait fekete ceruzával.

- 5.2.6. A kijelölt területen található szilikagélt kaparja le egy fémspatulával. Az eltávolított és apróra zúzott anyagot tegye egy szűrőtölcsérbe (3.7.). Adjon hozzá 10 ml forró kloroformot és alaposan keverje össze fémspatula segítségével, majd vákuumban szűrje le, a szűrletet gyűjtse össze a kúpos fenekű lombikban (3.8.), amely a szűrőtölcsérhez van csatlakoztatva.

A tölcsérben bennmaradó anyagot mossa ki háromszor dietil-éterrel (minden alkalommal megközelítőleg 10 ml-rel), a szüredéket gyűjtse ugyanabba a tölcsérhez csatlakoztatott lombikba. Párolja be a szüredéket megközelítőleg 4–5 ml térfogatra, és a maradék oldatot töltsen egy 10 ml térfogatú kémcsőbe (3.9.), amelynek súlyát előzőleg lemérte; a kémcsövet gyenge nitrogénáramban kismértékű melegítéssel párolja be. Oldja fel ismét a maradékot néhány csepp acetonnal, ismét szárítsa meg, párolja, majd helyezze egy kemencébe 105 °C hőmérsékletre 10 percre, ezután vegye ki, hűtse le a szárítóberendezésben és mérje meg a súlyát.

A kémcsőben maradt anyag a szterinfrakció.

- 5.3. Trimetilsziles éterek készítése

- 5.3.1. Töltsen a szterinfrakciót tartalmazó kémcsőbe a szililesedés reagensét, amely 9:3:1 térfogatarányú (v/v/v) (4. megjegyzés) piridin-hexametildiszilizin-trimetilkloroszilán keverékből áll, a szterinek minden milligramm-jához 50 µl-nyi mennyiségben úgy, hogy közben ne vegyen fel nedvességet (5. megjegyzés).

4. megjegyzés: A használatra kész oldatok kereskedelmi forgalomban kaphatók. Egyéb szilanizációs reagens, mint például trimetilszilil, trifluoroacetamid + 1 % trimetilkloroszilán, amelyet azonos térfogatú víztelen piridin-nel kell hígítani, szintén kaphatók.

5.3.2. Dugózza le a kémcsövet, és óvatosan (felfordítás nélkül) rázza addig, amíg a szterinek teljesen feloldódnak. Ezután hagyja legalább 15 percig szobahőmérsékleten állni, majd ezt követően centrifugálja néhány percre. A tiszta oldat gázkromatográfiás vizsgálatra kész.

5. megjegyzés: Kismértékű opálosság kialakulása, ami normális jelenség, nem okoz problémát. A fehér csomók kialakulása vagy a rózsaszín elszíneződés megjelenése a nedvesség jelenlétét, illetve a reagens elhasználódását jelzi. Ebben az esetben a tesztet meg kell ismételni.

5.4. Gázkromatográfiás elemzés.

5.4.1. Előzetes műveletek és az oszlop tömítése.

5.4.1.1. A kapilláris oszlopot illessze be a gázkromatográfba úgy, hogy az oszlop bemenetét csatlakoztassa ahhoz a párologtatóhoz, amely a bontórendszerhez csatlakozik, az oszlop kimenetét pedig a detektorhoz.

Végezze el a gázkromatográfiás berendezés általános ellenőrzését (gázszerelvények szivárgása, a detektor hatásfoka, a hasítórendszer és a felvevő rendszer hatásfoka stb.).

5.4.1.2. Amennyiben első alkalommal használja az oszlopot, célszerű azt kondicionálni. Fúvasson át egy kevés vivőgázt a kapilláris oszlopon, majd kapcsolja be a gázkromatográfiás berendezést, és kezdje el fokozatosan melegíteni addig, amíg a hőmérséklet legalább 20 °C-kal meghaladja az üzemi hőmérsékletet (6. megjegyzés). Ezt a hőmérsékletet tartsa legalább két órán keresztül, majd helyezze az egész berendezést üzemi körülmények közé (gázáramok és a bontás szabályozása, bontóláng begyújtása, csatlakoztatás az elektronikus írőhoz, az oszlopkamra beszabályozása, a detektor és az injektor hőmérséklete stb.) és rögzítse a jelet az analízis során tervezett legmagasabb szintnél legalább kétszer nagyobb érzékenységgel. Az alapvonalnak lineárisnak kell lennie, illetve mindennemű csúcstól és ingadozástól mentesnek.

A negatív egyenes vonalú drift az oszlop csatlakozásainak tökéletlen tömítettségét jelzi, míg a pozitív drift az oszlop nem megfelelő kondicionálását jelzi.

6. megjegyzés: A kondicionálás hőmérsékletének legalább 20 °C-kal alacsonyabbnak kell lennie, mint az alkalmazott stationer fázis esetén várható maximális hőmérséklet.

5.4.2. Az üzemi körülmények megválasztása.

5.4.2.1. Az irányadó üzemi körülmények a következők:

- oszlophőmérséklet: 260 °C ± 5 °C,
- a párologtató hőmérséklete: 280 °C,
- a detektor hőmérséklete: 290 °C,
- a vivőgáz lineáris sebessége: hélium 20–35 cm/s, hidrogén 30–50 cm/s,
- bontási tényező: 1:50–1:100,
- a berendezés érzékenysége: a minimális elnyelés 4–16-szorosa,
- a rögzítés érzékenysége: 1–2 mV fs,
- papírsebesség: 30–60 cm/h,
- a befecskendezett anyag mennyisége: 0,5–1 µl TMSE oldat.

A fenti feltételek az oszlop és a gázkromatográf jellemzőinek megfelelően módosíthatók, hogy a kapott kromatogramok megfeleljenek a következő feltételeknek:

- a β-szitoszterin retenció idejének 20 ± 5 percre kell lennie,
- a kampeszterin csúcshoz olívaolaj esetén (átlagos tartalom 3 %) a teljes skála 15 ± 5 %-ának, szójaolaj esetén (átlagos tartalom 20 %) a teljes skála 80 ± 10 %-ának kell lennie,
- minden jelenlévő szterint szét kell választani. A szétválasztáson túl minden csúcstól teljesen fel kell bontani, azaz a csúcshoz tartozó csúcshoz kezdete előtt vissza kell térnie az alapvonalhoz. Azonban a nem teljes felbontás elfogadható abban az esetben, ha a TRR 1,02-nél lévő csúcshoz a függőleges segítségével kiszámítható.

5.4.3. Az elemzési eljárás.

5.4.3.1. A 10 µl térfogatú mikrofecskendő segítségével szívjon fel 1 µl hexánt majd 0,5 µl levegőt, ezt követően pedig 0,5–1 µl mintaoldatot. A mikrofecskendő dugattyúját felfelé mozgatva ürítse ki a tüt. A tüt vezesse be a befecskendező berendezés válaszfalán, majd 1–2 másodperc elmúltával fecskendezze be gyorsan az oldatot és 5 másodperc múlva lassan húzza ki a tüt.

5.4.3.2. Folytassa a rögzítést, ameddig a jelenlévő szterinek TMSE keveréke teljesen eluálódik.

Az alapvonalnak továbbra is meg kell felelnie az előírásoknak (5.4.1.2.).

5.4.4. A csúcsok azonosítása

Az egyes csúcsok azonosítását a retenció idő alapján és az azonos körülmények között analizált szterin TMSE keverékkel összehasonlítva végezze.

A szterinek a következő sorrendben eluálódnak: koleszterin, brasszikaszterin, 24-metilén koleszterin, kampeszterin, kampeszterin, sztigmaszterin, Δ 7-kampeszterin, Δ 5,23-sztigmaszteradienol, kleroszterin, β-sziztoszterin, sziztoszterin, Δ 5-avenaszterin, Δ 5, 24-sztigmaszteradienol, Δ 7-sztigmaszterin, Δ 7-avenaszterin.

Az SE-52 és SE-54 oszlopok szitoszterinjének retenció ideje az 1. táblázatban látható.

Az 1. ábrán és a 2. ábrán néhány olaj jellegzetes kromatogramja látható.

5.4.5. Mennyiségi értékelés.

5.4.5.1. Az β -kolesztanol és a szterin csúcsainak területét az integrátor segítségével számítsa ki. Ne vegye figyelembe az 1. táblázat felsorolásában nem szereplő vegyületektől származó csúcsokat. Az β -kolesztanol reakció együtthatójának értékét vegye 1-nek.

5.4.5.2. Az egyes szterinek mg/100 g zsírszerű anyagban megadott koncentrációját a következő módon lehet kiszámítani:

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

ahol:

A_x = az x szterin csúcsának területe négyzetmilliméterben;

A_s = a β -kolesztanin csúcsának területe négyzetmilliméterben;

m_s = a hozzáadott β -kolesztanin tömege milligrammban;

m = a meghatározni kívánt minta tömege grammban.

6. AZ EREDMÉNYEK KIFEJEZÉSE

6.1. Jegyezze fel az egyes szterinek mg/100 g zsírszerű anyagban megadott mennyiségét, illetve összegüket az „összes szterin” mennyiségeként.

6.2. Az egyes szterinek koncentrációját a vonatkozó csúcs területének és az összes szterincsúcs területének hányadosából határozza meg.

$$\% \text{ szterin x} = \frac{A_x}{\sum A} \cdot 100,$$

ahol

A_x = az x szterin csúcsának területe,

$\sum A$ = az összes szterincsúcs alatti terület.

FÜGGELÉK

A gáz lineáris sebességének meghatározása

Fecskendezzen 1–3 μ l metánt vagy propánt a normál üzemi körülményekre beállított gázkromatográfba, és mérje meg a metán vagy propán oszlopon történő átáramlásának idejét a befecskendezés pillanatától a csúcs megjelenésének pillanatáig (t_M).

A cm/s-ben megadott lineáris sebesség az L/t_M kifejezésből adódik, ahol az L az oszlop hossza centiméterben, a t_M pedig a stopperórával mért idő másodpercben.

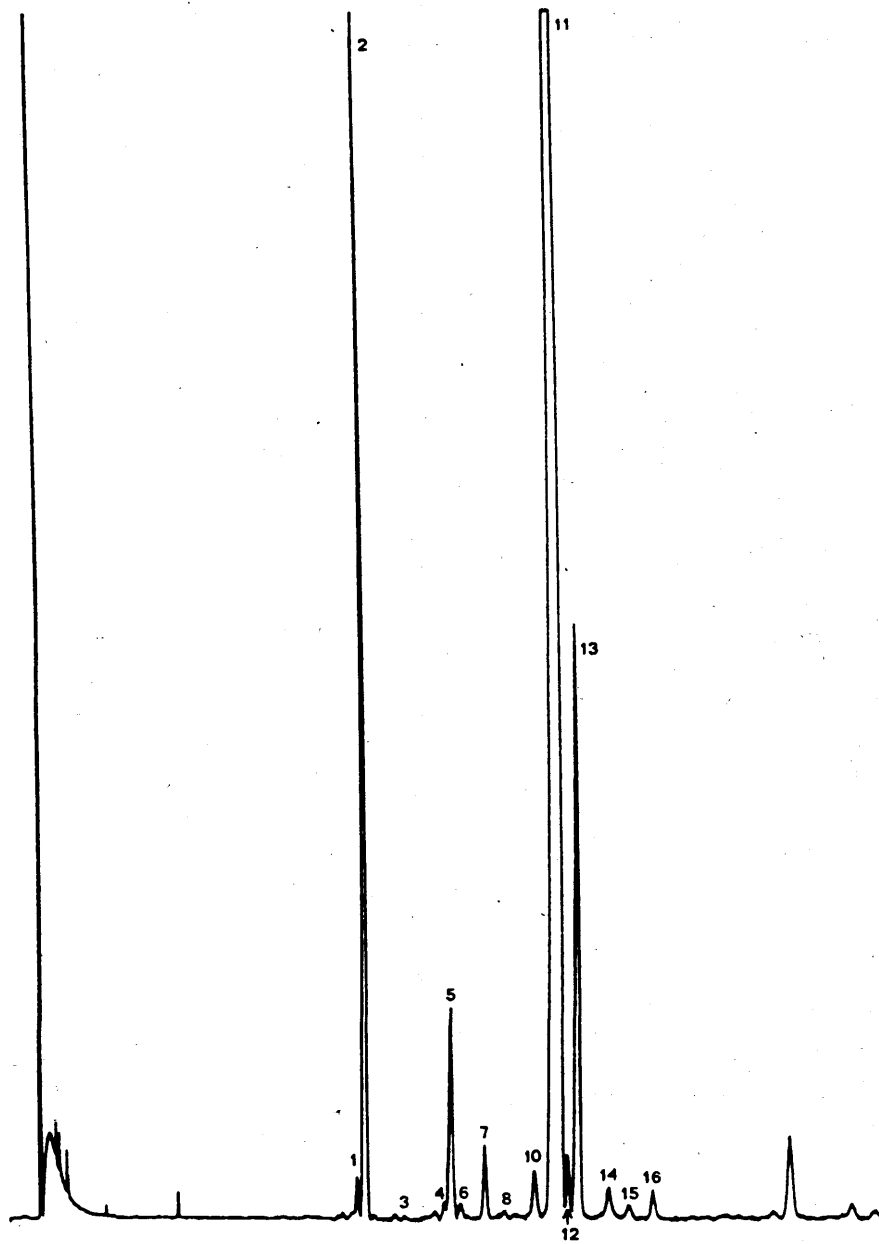
1. táblázat

A szterinek relatív retenciósi ideje

Csúcs	Megnevezés		Relatív retenciósi idő	
			SE 54 oszlop	SE 52 oszlop
1	koleszterin	Δ -5-kolszten-3 β -ol	0,67	0,63
2	kolesztanol	5 α -olesztan-3 β -ol	0,68	0,64
3	brasszikaszterin	[24S]-24-metil- Δ -5,22-kolesztadien-3 β -ol	0,73	0,71
4	24-metilén-koleszterin	24-metilén- Δ -5,24-kolesztenn-3 β -ol	0,82	0,80
5	kampeszterin	[24R]-24-metil- Δ -5-koleszten-3 β -ol	0,83	0,81
6	kampesztanol	[24R]-24-metil-kolesztan-3 β -ol	0,85	0,82
7	sztigmaszterin	[24R]-24-etil- Δ -5,22-kolesztadien-3 β -ol	0,88	0,87
8	Δ -7-kampeszterin	[24R]-24-metil- Δ -7-kolesztadien-3 β -ol	0,93	0,92
9	Δ -5,23-sztigmasztadienol	[24R,S]-24-etil- Δ -5,23-kolesztadien-3 β -ol	0,95	0,95
10	kleroszterin	[24S]-24-etil- Δ -5,25-kolasztadien-3 β -ol	0,96	0,96
11	β -szitoszterin	[24R]-24-etil- Δ -5-kolasztan-3 β -ol	1,00	1,00
12	szitosztanol	24-etil-kolasztan-3 β -ol	1,02	1,02
13	Δ -5-avenaszterin	[24Z]-24-etilidén-5- koleszten-3 β -ol	1,03	1,03
14	Δ -5,24-sztigmasztadienol	[24R,S]-24-etil- Δ -5,24-kolesztadien-3 β -ol	1,08	1,08
15	Δ -7-sztigmasztenol	[24R,S]-24-etil- Δ -7,24-kolesztadienn-3 β -ol	1,12	1,12
16	Δ -7-avenaszterin	[24Z]-24-etilidén- Δ -7-koleszten-3 β -ol	1,16	1,16

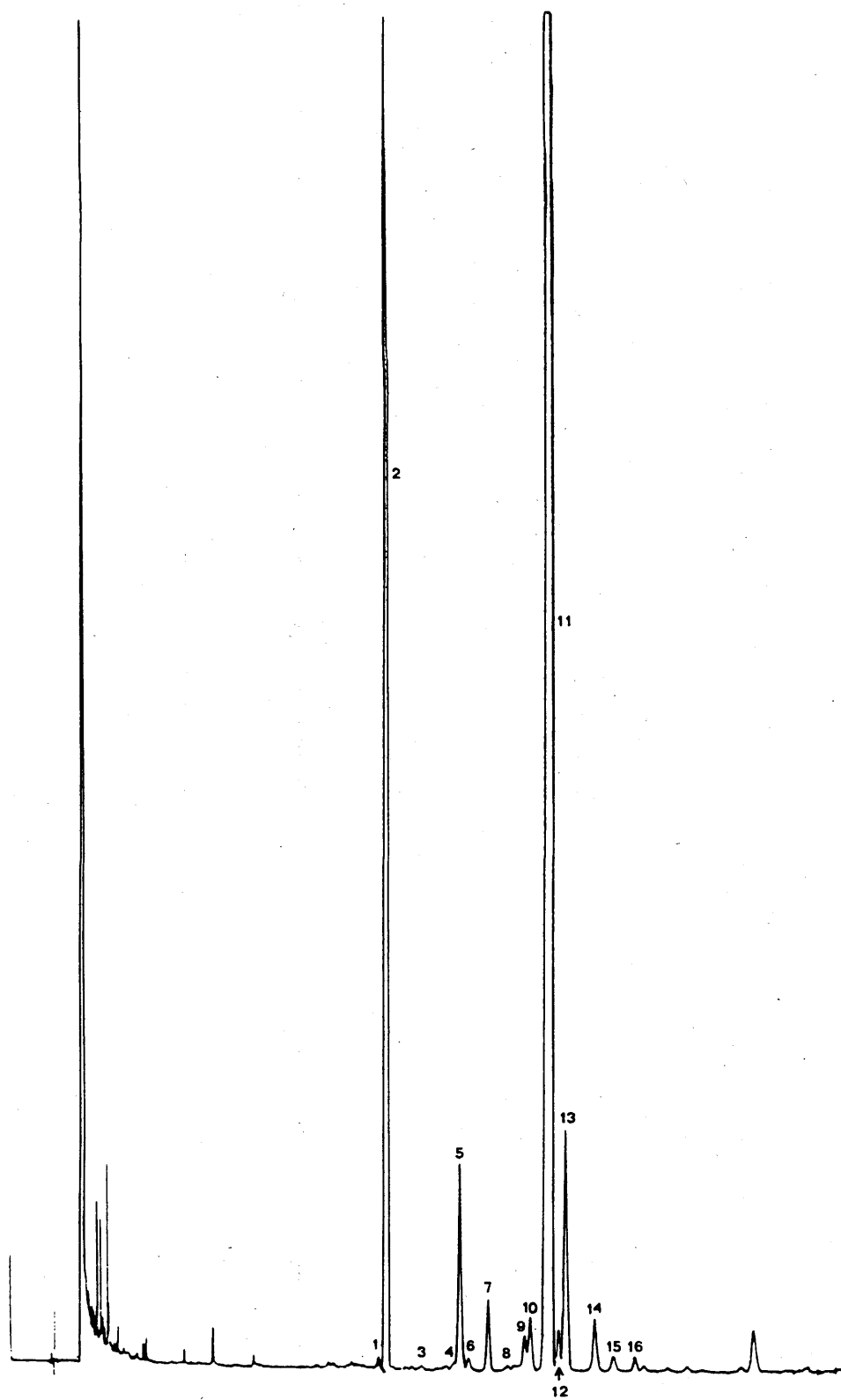
1. ábra

Egy nyers olívaolaj szterinfrakciójának gázkromatogramja



2. ábra

Egy finomított olívaolaj szterinfrakciójának gázkromatogramja



VI. MELLÉKLET

AZ ERITRODIOL ÉS AZ UVAOL MEGHATÁROZÁSA

BEVEZETÉS

Az eritrodiol (gyakran az eritrodiolt és az uvaolt közösen glikoloknak nevezik) néhány zsírszerű anyagra jellemző, a nem szappanosítható frakció egy összetevője. Az oldószeresen extrahált olívaolajban lényegesen magasabb koncentrációban található, mint egyéb olajokban, mint például a sajtolt olívaolajban és a szőlőmagolajban, ami szintén tartalmazza, így az eritrodiol jelenléte az oldószeresen extrahált olívaolajra utalhat.

1. CÉL

A módszer az eritrodiol kimutatását írja le zsírszerű anyagokban.

2. A MÓDSZER ALAPELVE

A zsírszerű anyagot kálium-hidroxid etanolos oldatával szappanosítják. Ezután a nem szappanosítható frakciót dietil-éterrel kivonják és timföldoszlopon történő átvezetéssel tisztítják.

A nem szappanosítható anyagokat szilikagél lapokon vékonyréteg-kromatográfias vizsgálattal elemzik, míg szét nem válnak a szterin- és az eritrodiol-frakciónak megfelelő sávok. A lapról visszanyert szterint és eritrodiolt feloldják trimetilszil-éterekben, majd a keveréket gázkromatográfias eljárással elemzik.

Az eredményt az eritrodiol és szterinek keverékében található eritrodiol százalékában adják meg.

3. BERENDEZÉS

- 3.1. Az v. mellékletben (a szterintartalom meghatározása) szereplő berendezés.

4. REAGENSEK

- 4.1. Az v. mellékletben (a szterintartalom meghatározása) szereplő reagensek.
4.2. Eritrodiol referenciaoldata, 0,5 %-os oldat kloroformban.

5. ELJÁRÁS

5.1. **A nem szappanosítható anyagok előkészítése.**

Az V. melléklet 5.1.2. bekezdése szerint.

5.2. **Az eritrodiol és a szterinek leválasztása.**

- 5.2.1. Lásd az V. melléklet 5.2.1. bekezdését.
5.2.2. Lásd az V. melléklet 5.2.2. bekezdését.
5.2.3. Készítsen a nem szappanosítható anyagból 5 %-os kloroformos oldatot.

A 0,1 ml térfogatú mikrofecskendő segítségével ebből az oldatból 0,3 ml-t kenjen fel a lehető legegyszerűsebb és lehető legvékonyabb csíkokban egy kromatográfia lapra, a lap alsó végétől megközelítőleg 1,5 cm-re.

A lap egyik végére helyezzen néhány mikroliter koleszterin- és eritrodiololdatot referenciaként.

- 5.2.4. A lemezt helyezze az 5.2.1. szerint előkészített kifejlesztő tartályba. A környezeti hőmérsékletet megközelítőleg 20 °C körül kell tartani. A tartályt azonnal zárja le a fedéllel, és a mintát hagyja eluálódni, ameddig az oldószer eleje el nem éri a lemez felső élétől számított 1 cm távolságot. Ekkor vegye ki a lemezt a kifejlesztő tartályból, és melegelevegő-áram segítségével párologtassa el az oldószert.
5.2.5. Kismértékben és egyenletesen permetezze be a lemezt 2,7-diklorofluoroszcein alkoholos oldattal. Ultrabolya fényben nézve a lapot, a szterin és az eritrodiol sávot a referenciaoldat elszíneződésével történő összehasonlítás alapján lehet felismerni. A fluoreszkáló terület mentén jelölje be a sáv határait.

5.2.6. A kijelölt területen található szilikagélt kaparja le egy fémspatulával. A lapról eltávolított anyagot tegye egy 50 ml térfogatú lombikba. Adjon hozzá 15 ml forró kloroformot, rázza össze és szűrje át egy szinterelt-üveg szűrőlapú tölcséren, hogy a szilikagél átkerüljön a szűrőre. Mossa ki háromszor (minden alkalommal 10 ml) forró kloroformmal, és gyűjtse össze a szűrletet egy 100 ml térfogatú lombikba. A szűrletet párolja 4-5 ml térfogatúra, öntse át egy kalibrált 10 ml térfogatú kúpos fenekű centrifugakémcsőbe, nitrogénáramban gyengén hevítve szárítsa ki, majd mérje meg a súlyát.

5.3. **A trimetilszil-észterek készítése.**

Az V. melléklet 5.3. bekezdése szerint.

5.4. **Gázkromatográfias analízis.**

A fenti eljárás 5.4. bekezdése szerint. A gázkromatográf üzemi körülményeinek az analízis során olyanoknak kell lenniük, hogy elvégezhető legyen a szterinek elemzése, és leválasztható legyen az eritrodiolból és az uvaolból a TMSE.

A minta befecskendezését követően addig folytassa a rögzítést, amíg a szterinek jelen vannak, illetve az eritrodiol és az uvaol eluálódott. Ezután azonosítsa a csúcsokat (az eritrodiol és az uvaol β -szitoszterinhez képest meghatározott retenciósideje megközelítőleg 1,45, illetve 1,55), majd számítsa ki a területeket.

6. **AZ EREDMÉNYEK KIFEJEZÉSE**

$$\text{Eritrodiol \%} = \frac{A_1 + A_2}{A_1 + A_2 + \sum A_{\text{szterinek}}} \times 100$$

ahol:

A_1 = az eritrodiolcsúcs területe négyzetmilliméterben;

A_2 = az uvaolcsúcs területe négyzetmilliméterben;

$\sum A_{\text{szterinek}}$ = az összes szterincsúcs alatti terület négyzetmilliméterben.

Az eredményt egy tizedesjegy pontossággal kell megadni.

VII. MELLÉKLET

OLAJOK ÉS ZSÍROK TRIGLICERIDJEINEK 2. POZÍCIÓJÁN LÉVŐ ZSÍRSAVAK MEGHATÁROZÁSA

1. CÉL

Ez az előírás egy olajnak vagy zsírnak a glicerin 2–pozícióján (vagy belső pozícióján) észteresedő zsírsav frakció összetételének meghatározását írja le.

2. ALKALMAZÁSI TERÜLET

Ezt az előírást olyan olajokra és zsírokra kell alkalmazni, amelyek olvadáspontja a pankreatin lipáz hatásának sajátságai miatt 45 °C alatt van.

Ezt az előírást nem lehet fenntartások nélkül alkalmazni a következőkből jelentős mennyiséget tartalmazó olajokra és zsírokra: 12 vagy annál kevesebb szénatomot tartalmazó zsírsavak (kókuszdíó- és pálmamagolajok, vajzsír) vagy nagymértékben telítetlen zsírsavak (több mint négy kettős kötéssel), amelyek 20 vagy több szénatomot tartalmaznak (hal és tengeri állatok olaja), vagy a savcsoporton kívül oxidált csoportokat tartalmazó zsírsavak.

3. ALAPELV

A savas olajok és zsírok semlegesítése oldószerben. Tisztítás timföldoszlopon történő keresztülvezetéssel. Trigliceridek részleges hidrolízise pankreatin-lipázzal, meghatározott időn keresztül. A kialakult monogliceridek leválasztása vékonyréteg-kromatográfiai módszer segítségével és a monogliceridek metanolízise. A metil-észterek elemzése gáz-folyadék kromatográfiai módszer segítségével.

4. BERENDEZÉSEK

- 4.1. 100 ml térfogatú gömbölyű fenekű lombik.
- 4.2. 25 ml térfogatú gömbölyű fenekű lombik.
- 4.3. 1 m hosszú levegőkondenzátor, amely illeszkedik a 4.2. lombikba.
- 4.4. 250 ml térfogatú kúpos lombik.
- 4.5. 50 ml térfogatú főzőpohár.
- 4.6. 500 ml térfogatú választótölcsér.
- 4.7. 13 mm belső átmérőjű, 400 mm hosszú kromatográfiai üvegoszlop összesített üveglemezzel a csapnál.
- 4.8. 10 ml térfogatú centrifugakémcső csiszolt üvegdugóval.
- 4.9. 5 ml térfogatú buretta 0,05 ml-es beosztással.
- 4.10. 1 ml-es fecskendő vékony tűvel.
- 4.11. Mikrofecskendő 3–4 µl-es cseppek adagolásához.
- 4.12. Anyagelosztó eszköz vékonyréteg-kromatográfiai vizsgálatához.
- 4.13. 20 × 20 cm méretű üveglapok vékonyréteg-kromatográfiai vizsgálatához.
- 4.14. Üveg kifejlesztőtartály vékonyréteg-kromatográfiai vizsgálatához, csiszolt üveg fedéllel, a 20 × 20 cm méretű üveglapok fogadására alkalmas.
- 4.15. Vékonyréteg-kromatográfiai vizsgálatához való permet.
- 4.16. 103 ± 2 °C hőmérsékletre beállított kemence.
- 4.17. 30–45°C között 0,5 °C-onként szabályozható termosztát.
- 4.18. Forgó párologtató.
- 4.19. Vibráló elektromos keverő, amely lehetővé teszi a centrifugakémcső erőteljes keverését.
- 4.20. Ultraibolya lámpa a vékonyréteg-lemezek vizsgálatához.

A lipázaktivitás beállításához:

- 4.21. pH-mérő.
- 4.22. Spirálkeverő.
- 4.23. 5 ml-es büretta.
- 4.24. Stopperóra.

A lipáz esetleges előkészítéséhez:

- 4.25. Laboratóriumi keverő, amely alkalmas heterogén anyagok diszpergálására és keverésére.
5. REAGENSEK
- 5.1. *n*-hexán vagy ennek hiányában könnyűbenzin (bp 30-50 °C), kromatográfiás eljáráshoz megfelelő minőségű.
 - 5.2. 2-propanol vagy etanol, 95 (v/v), analitikai reagens minőségű.
 - 5.3. 2-propanol vagy etanol 1/1 vizes oldat.
 - 5.4. Dietil-éter, peroxidoktól mentes.
 - 5.5. Aceton.
 - 5.6. Hangyasav legalább 98 %-os (m/m) töménységben.
 - 5.7. Kifejlesztőoldat: *n*-hexán (5.1.), dietil-éter (5.4.) és hangyasav (5.6.) 70/30/1 (v/v/v) arányú keveréke.
 - 5.8. Aktivált timföld kromatográfiás eljáráshoz, semleges, Brockmann I. fokozatú.
 - 5.9. Szilícium-dioxid por kötőanyaggal, a vékonyréteg-kromatográfiás eljáráshoz megfelelő minőségű.
 - 5.10. Megfelelő minőségű pankreatin lipáz (1. és 2. megjegyzés).
 - 5.11. Nátrium-hidroxid, 120 g/l vizes oldat.
 - 5.12. Sósav, 6 Mol/l vizes oldat.
 - 5.13. Kalcium-klorid (CaCl₂), 220 g/l vizes oldat.
 - 5.14. Nátrium-kolát (enzim minőségű), 1 g/l vizes oldat.
 - 5.15. Pufferoldat: tris-hidroxi-metilaminometán 1 M vizes oldatát állítsa be pH 8 értékre sósav (5.12.) hozzáadásával (ellenőrizze kompenzátorral).
 - 5.16. Fenoltalein, 10 g/l oldat 95 % (v/v) etanolban.
 - 5.17. 2', 7'-diklorofluoreszcein, 2 g/l oldat 95 % (v/v) etanolban, 100 ml-enként egy csepp 1 N nátrium-hidroxid oldattal kissé lúgossá téve.

A lipázaktivitás beállításához:

- 5.18. Semlegesített olaj.
- 5.19. Nátrium-hidroxid, 0,1 M vizes oldat.
- 5.20. Nátrium-kolát (enzim minőségű), 200 g/l vizes oldat.
- 5.21. Gumiarábikum, 100 g/l vizes oldat.

6. A MINTA ELŐKÉSZÍTÉSE

Amennyiben a minta savassága a II. melléklet szerint meghatározva 3 % alatti, akkor közvetlenül timföldön tisztítsa, a 6.2. szerint.

Amennyiben a minta savassága a II. melléklet szerint meghatározva 3 % feletti, akkor oldószer jelenlétében lúggal semlegesítse a 6.1. szerint, majd szűrje át timföldön a 6.2. szerint.

- 6.1. Semlegesítés lúggal oldószer jelenlétében.

Töltsön egy választótölcsérbe (4.6.) megközelítőleg 10 g nyers olajat és adjon hozzá 100 ml hexánt (5.1.), 50 ml 2-propanolt (5.2.), néhány csepp fenoltalein-oldatot (5.16.) és az olaj szabad savasságának megfelelő mennyiségű nátrium-hidroxid oldatot (5.11.) plusz 0,3 %-ot feleslegben. Egy percen keresztül rázza erőteljesen, majd adjon hozzá 50 ml desztillált vizet, majd rázza fel ismét, ezután hagyja leülepedni.

A leválasztást követően távolítsa el az alsó szappanréteget. Távolítsa el az esetleges többi réteget (nyálka, oldhatatlan anyag) is. Mossa át a semlegesített olaj hexánoldatát többször 25–30 ml 2-propanol oldatban (5.3.), amíg a fenoltalein rózsaszín árnyalata el nem tűnik.

A hexán nagyobbik részét távolítsa el vákuum alatt végzett bepárlással a forgó párologtatóban (4.18.), szárítsa ki az olajat 30–40°C hőmérsékleten, vákuumban vagy tiszta nitrogénáram segítségével, amíg a hexán teljesen el nem távozik.

6.2. Tisztítás timföldön történő keresztülvezetéssel.

Készítsen 15 g aktivált timföld (5.8.) szuszpenziót 50 ml hexánban (5.1.), keverés közben öntse a kromatográfiás oszlopra (4.7.). Hagyja a timföldet egyenletesen leülepedni és hagyja az oldószer szintet az abszorber fölötti 1–2 mm-re süllyedni. Óvatosan öntsön az oszlopra 25 ml hexánban (5.1.) feloldott 5 g olajat. Gyűjtse össze az oszlopból kifolyó anyagot egy kerek fenekű lombikban (4.1.).

7. A KROMATOGRÁFIÁS LEMEZ ELŐKESZÍTÉSE.

Alaposan tisztítsa meg az üveglapokat (4.13.) etanollal, könnyűbenzinnel és acetonnal, hogy a zsírszerű anyagok minden maradékát eltávolítsa.

Egy kúpos lombikba (4.4.) tegyen 30 g szilícium-dioxid port (5.9.). Adjon hozzá 60 ml desztillált vizet. Zárja le dugóval és egy percen keresztül rázza hevesen. A szuszpenziót azonnal öntse az anyagelosztó eszközre (4.12.), majd vonja be a tiszta üveglapokat 0,25 mm vastagon.

Szárítsa az üveglapokat 15 percig a levegőn, majd ezt követően egy órán keresztül a kemencében (4.16.) 103 ± 2 °C hőmérsékleten. Használat előtt szárítóberendezésben hűtse le a lapokat szobahőmérsékletre.

A kész lapok kereskedelmi forgalomban kaphatók.

8. ELJÁRÁS

8.1. Hidrolízis pankreatin-lipázzal.

Mérjen a centrifugakémcsőbe (4.8.) megközelítőleg 0,1 g előkészített mintát; amennyiben a minta folyékony olaj, a következők szerint járjon el.

Adjon hozzá 20 mg lipázt (5.10.) és 2 ml pufferoldatot (5.15.). Rázza fel alaposan, de óvatosan, majd ezt követően adjon hozzá 0,5 ml nátrium-kolát oldatot (5.14.) és 0,2 ml kalcium-klorid oldatot (5.13.). Zárja le a kémcsövet a csiszolt dugóval, rázza fel óvatosan (kerülje a benedvesedését), majd azonnal tegye a kémcsövet a $40 \pm 0, 5$ °C hőmérsékleten tartott termosztátba (4.17.), ezután kézzel rázza pontosan egy percig.

Vegye ki a kémcsövet a termosztátból, az elektromos keverő (4.19.) segítségével keverje fel alaposan, pontosan két percig.

Hűtse le rögtön folyó víz alatt; adjon hozzá 1 ml sósavat (5.12.) és 1 ml dietil-étert (5.4.). Zárja le a dugóval és az elektromos keverő segítségével alaposan keverje el. Hagyja állni, és a fecskendő (4.10.) segítségével távolítsa el a szerves réteget, amennyiben a centrifugálást követően szükséges.

8.2. A monogliceridek leválasztása vékonyréteg-kromatográfiás eljárással.

A mikrofecskendő (4.11.) segítségével vigye fel a kivonatot a kromatográfiás lapra megközelítőleg 1,5 cm-re az alsó éltől, a lehető legkeskenyebb vékony, egyenletes vonalban. Állítsa a lemezt a telített kifejlesztőtartályba (4.14.), és a kifejlesztő oldószerrel (5.7.) fejlessze ki megközelítőleg 20 °C-os hőmérsékleten, a lemez felső élétől megközelítőleg 1 cm-ig.

Szárítsa meg a lemezt a tartály hőmérsékletével megegyező hőmérsékletű levegőn, majd permetezze be a 2', 7'-diklorofluoreszcein oldattal (5.17.). Azonosítsa a monogliceridsávot (R_f megközelítőleg 0,035) ultraibolya fény alatt (4.20.).

8.3. A monogliceridek elemzése gáz-folyadék kromatográfiás eljárással.

Spatula segítségével távolítsa el a 8.2. pontban előállított sávot (az alapvonalon található komponenseket ne távolítsa el) és tegye a metilező lombikba (4.2.).

Az összegyűjtött szilícium-dioxidot kezelje közvetlenül a X. B. melléklet szerinti módszerek valamelyikével, hogy a monoglicerideket metil-éterekké alakítsa, majd vizsgálja meg az észtereket gázkromatográfiás eljárással a X. A. mellékletnek megfelelően.

9. AZ EREDMÉNYEK KIFEJEZÉSE

A 2-pozícióban található zsírsavösszetételt egy tizedesjegy pontossággal számítsa ki (3. megjegyzés).

10. MEGJEGYZÉSEK

1. megjegyzés: A lipáz aktivitásának beállítása

Megfelelő keverőben 165 ml gumiarábikum-oldat (5.21.), 15 g jégzúzalék és 20 ml semlegesített olaj (5.18.) keverékének összerázásával készítsen olajemulziót.

Egy főzőpohárba (4.5.) tegyen 10 ml-t ebből az emulzióból, majd ezután 0,3 ml nátrium-kolát oldatot (5.20.) és 20 ml desztillált vizet.

Tegye a főzőpoharat egy $37 \pm 0,5$ °C hőmérsékleten tartott termosztátba (4. megjegyzés); helyezze bele egy pH-mérő (4.21.) elektródáit és egy keverőspirált (4.22.).

Egy buretta (4.23.) segítségével cseppenként adagolja a nátrium-hidroxid oldatot (5.19.), amíg a pH-érték 8,5 nem lesz.

Adjon hozzá megfelelő mennyiséget a lipáz vizes szuszpenziójából (lásd alább). Amint a pH-mérő 8,3-at mutat, indítsa el a stopperórát (4.24.), és olyan sebességgel csepegtesse a nátrium-hidroxid oldatot (5.19.), hogy a 8,3 pH-érték megmaradjon. Minden percben olvassa le a felhasznált lúgotartó térfogatát.

A megfigyeléseket rögzítse grafikonon, az időértékeket használva abszcisszaként, az állandó pH-érték fenntartásához szükséges lúgotartó ml-ben kifejezett térfogatát pedig ordinataként. Lineáris grafikont kell kapnia.

A fentiekben szereplő lipázszuszpenzió 1/1000 (m/m) vizes szuszpenzió. A tesztekhez annyit kell ebből a szuszpenzióból használni, hogy megközelítőleg 1 ml lúgos oldat fogyjon 4–5 perc alatt. Rendszerint megközelítőleg 1–5 mg porra van szükség.

A lipázegység definíciója a következő: az az enzimmennyiség, amely percenként 10 µ-savekvivalenst szabadít fel. A felhasznált por lipáz egység/mg-ban kifejezett „A” aktivitása a következő képlettel határozható meg:

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

ahol V a percenként felhasznált nátrium-hidroxid oldat (5.19.) száma a grafikonból kiszámítva, m a por vizsgált mennyiségének tömege mg-ban.

2. megjegyzés: A lipáz elkészítése.

Kielégítő lipázaktivitású lipázok kaphatók kereskedelmi forgalomban, de lehetséges laboratóriumi elkészítésük is a következők szerint:

Hűtsön le 5 kg friss sertés-hasnyálmirigyet 0 °C hőmérsékletűre, távolítsa el a környező szilárd zsiradékot és a kötőszövetet, majd dörzsölje szét egy keverőgépben, hogy pépes folyadékot kapjon. A keverővel (4.25.) keverje össze a pépet 2,5 l vízmentes acetonnal 4-6 órán keresztül, majd centrifugálja. Extrahálja a maradékot még háromszor, azonos mennyiségű acetonnal, majd két alkalommal aceton és dietil-éter 1/1 (V/V) keverékével, majd kétszer dietil-éterrel.

Szárítsa a maradékot *in vacuo* 48 órán keresztül, hogy stabil port kapjon, amely hűtőszekrényben tárolható.

3. megjegyzés: Minden esetben javasolt ugyanannak a mintának meghatározni a zsírsav-összetételét, mivel ennek a 2-pozícióban lévő savak összetételével történő összehasonlítása segít a kapott számok értelmezésében.

4. megjegyzés: A hidrolízis hőmérséklete 37 °C-ra van beállítva, mivel folyékony olajat használunk. A vizsgált minta hőmérséklete azonban 40 °C, hogy a legfeljebb 45 °C olvadáspontú zsírok vizsgálata is lehetséges legyen.

VIII. MELLÉKLET

A TRILINOLEINTARTALOM MEGHATÁROZÁSA

1. CÉL

Az olívaolajokban található triglicerid összetételének meghatározása egyenértékű szénszámukkal, nagyteljesítményű folyadék-kromatográfiás eljárással.

Ez a módszer a növényi olajokban található triglicerid leválasztására és összetételének molekulasúlyban és telítetlenségi fokban történő mennyiségi meghatározására szolgál az egyenértékű szénszám függvényében (lásd az 1. megjegyzést).

2. ALKALMAZÁSI TERÜLET

Ez a módszer minden hosszú szénláncú, zsírsavas trigliceridet tartalmazó növényi olajra alkalmazható. A módszer különösen a félzsíros (lenolajsavban gazdag) olajok kis mennyiségeinek elsődleges telítetlen zsírsavként olajsavat tartalmazó növényi olajokban, mint az olívaolaj, történő kimutatására alkalmas.

3. ALAPELV

A trigliceridek szétválasztása szénegyenérték-számuk alapján nagyteljesítményű folyadék-kromatográfiás eljárással (fordított fázis polaritással) és a kromatogramok értelmezése.

4. BERENDEZÉS

4.1. Nagyteljesítményű folyadék-kromatográf, amely lehetővé teszi az oszlop hőmérsékletének termostatikus szabályozását.

4.2. Befecskendező egység 10 µl befecskendezéséhez.

4.3. Detektor: differenciál-refraktométer. A teljes skálán mért érzékenység legalább 10^{-4} egység refraktív index.

4.4. Oszlop: 250 mm hosszú és 4,5 mm belső átmérőjű rozsdamentes acél cső, megtöltve 5 µm átmérőjű szilícium-dioxid részecskékkal 22-23 % oktadecilszilán alakban lévő szénnel (2. megjegyzés).

4.5. Író- és/vagy integrálóberendezés.

5. REAGENSEK

A reagenseknek analitikai tisztaságúaknak kell lenniük. Az eluáló oldószereket gáztalanítani kell, és többször visszaforgathatók a szétválasztásra gyakorolt hatás nélkül.

5.1. Kloroform.

5.2. Aceton.

5.3. Acetonitril.

5.4. Eluáló oldószer: acetonitril + aceton (az arányokat a kívánt szétválasztásnak megfelelően kell beállítani, kezdje 50:50 arányú keverékkel).

5.5. Oldáskönnyítő oldószer: aceton vagy 1:1 aceton–kloroform keverék.

5.6. Referencia-trigliceridek: használhatók a kereskedelmi forgalomban kapható trigliceridek (tripalmitin, triolein stb.), ekkor a retenciós időket az ekvivalens szénszám függvényében ábrázolják, vagy használható egy szójaolajról készült referencia-kromatogram (lásd a 3. és 4. megjegyzést, illetve az 1. és 2. ábrát).

6. A MINTÁK ELŐKÉSZÍTÉSE

A vizsgálati mintákból Készítsen 5 %-os oldatot úgy, hogy mérjen a mintából $0,5 \pm 0,001$ g-ot egy 10 ml térfogatú, beosztásos lombikba és az oldáskönnyítő oldószerezrel (5.5.) öntse fel 10 ml-re.

7. ELJÁRÁS

- 7.1. Állítsa össze a kromatográfias rendszert. Az egész rendszer kitisztításához szivattyúzza 1,5 ml/mm sebességgel az eluáló oldószert (5.4.). Várjon, ameddig kialakul egy stabil alapvonal.

Fecskendezzen be 10 µl mennyiségű, a 6. pont szerint előkészített mintát.

8. AZ EREDMÉNYEK KISZÁMÍTÁSA ÉS KIFEJEZÉSE

Használja a belső standardizálás módszerét, azaz tegye fel, hogy a különböző triglicerideknek megfelelő csúcsok területeinek összege 100 %-kal egyenlő. Számítsa ki az egyes trigliceridek relatív százalékát a következő képlet segítségével:

$$\text{triglycerid \%} = \frac{\text{csúcs alatti terület}}{\text{csúcsok alatti területek összege}} \times 100$$

Az eredményt egy tizedesjegy pontossággal számítsa ki.

1. megjegyzés: Az eluálási sorrend meghatározható az ekvivalens szénszámok kiszámításával. Gyakran az $ECN = CN - 2n$ összefüggés adja meg, ahol CN a szénatomszám, n pedig a kettős kötések száma, amely a kettős kötések eredetének figyelembevételével sokkal pontosabban kiszámítható. Amennyiben n_0 , n_1 és n_{1n} az olajsavra, lenolajsavra, illetve a linolénsavra jellemző kettős kötések, akkor az ekvivalens szénszám a következő képlet összefüggése alapján számítható ki:

$$ECN = CN - d_0 n_0 - d_1 n_1 - d_{1n} n_{1n}$$

ahol a d_0 , d_1 és d_{1n} együtthatókat a referencia-trigliceridek alapján lehet meghatározni. Az e módszerben meghatározott feltételek mellett a kapott összefüggés megközelítőleg a következő:

$$ECN = CN - [2,6 n_0] - [2,35 n_1] - [2,17 n_{1n}]$$

2. megjegyzés: Példák: Lichrosorb (Merck) RP18 Art 50333;

Lichrosphere vagy azzal egyenértékű (Merck) 100 CH18 Art 50377.

3. megjegyzés: Több referencia-trigliceriddel a triolein feloldásának kiszámítása is lehetséges.

$\alpha = RT'/RT'$ olajsav

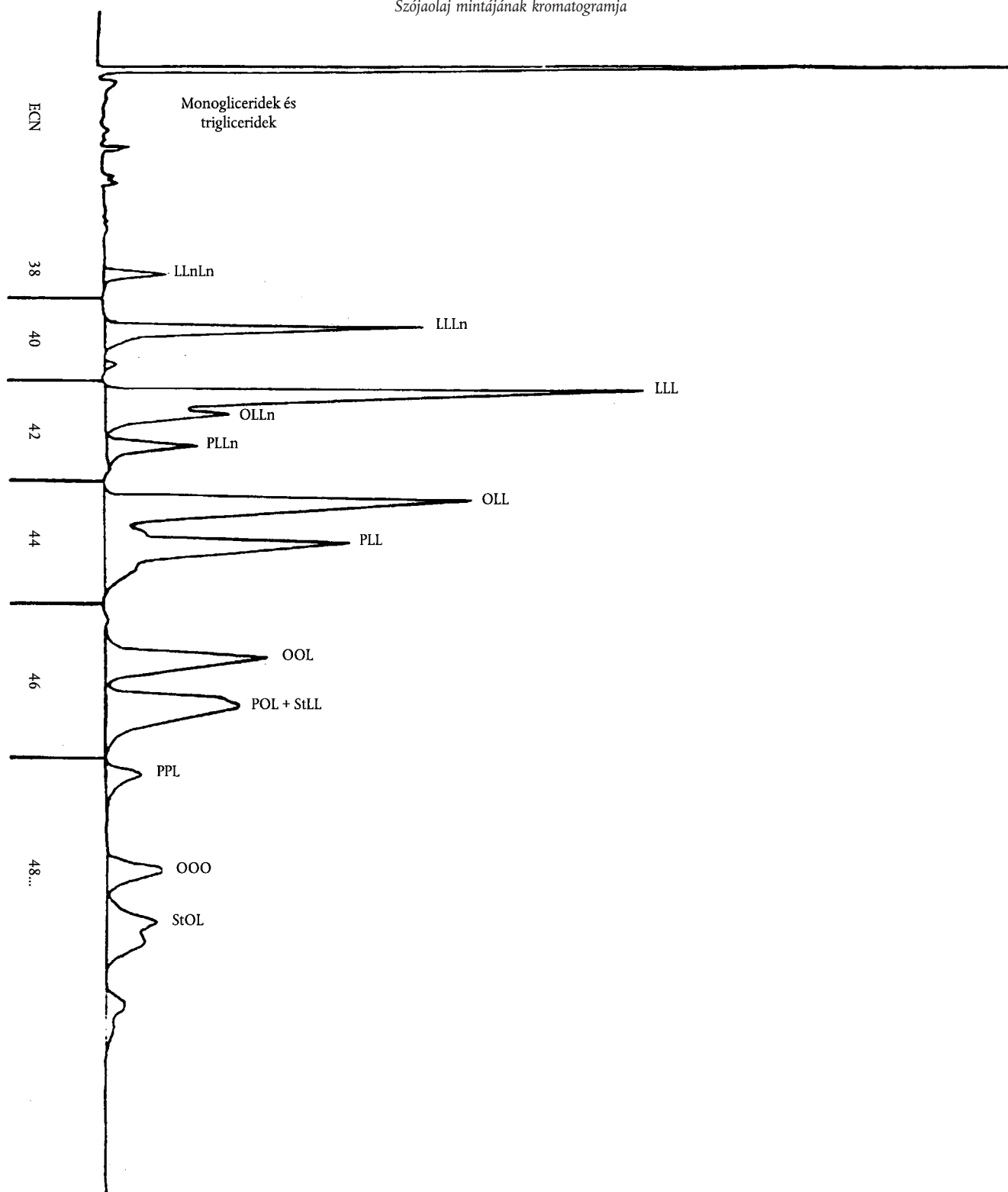
a csökkentett retenciós idő felhasználásával $RT' = RT - RT_{\text{oldószert}}$

A log α és az f (kettős kötések száma) grafikonja lehetővé teszi a retenciós értékek kiszámítását a zsírsavak mindegyik, a referencia trigliceridek között szereplő trigliceridjének esetére – lásd a 2. ábrát.

4. megjegyzés: Az oszlop határfoka tegye lehetővé a trilinolein csúcsának a szomszédos töménységű trigliceridektől történő megkülönböztetését.

1. ábra

Szójaolaj mintájának kromatogramja



P = Palmitinsav

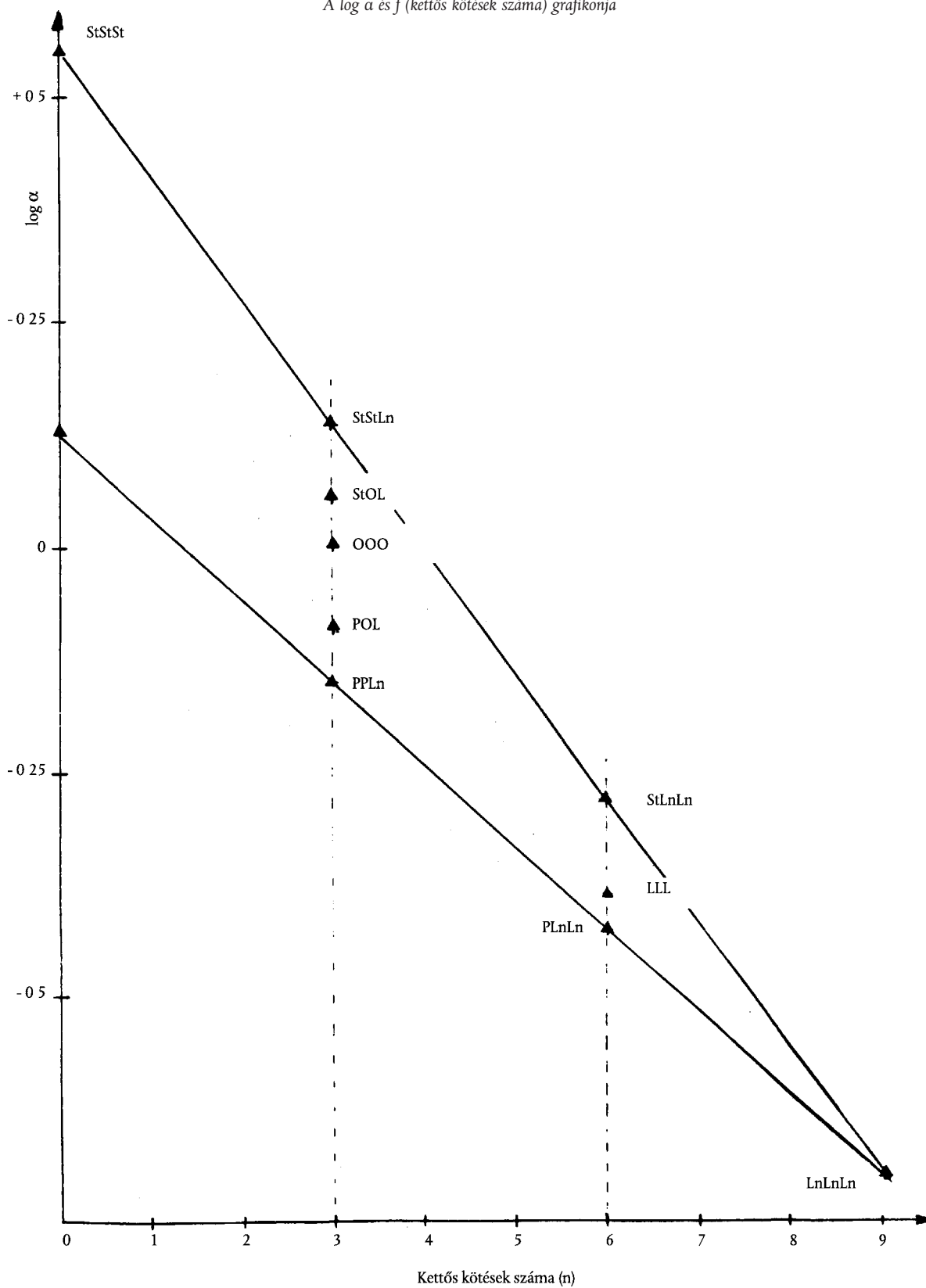
St = Sztearinsav

O = Olajsav

L = Linolsav

ln = Linolénsav

2. ábra

A $\log \alpha$ és f (kettős kötések száma) grafikonja

La = Laurinsav

My = Mirisztinsav

P = Palmitinsav

St = Sztearinsav

O = Olajsav

L = Linolsav

Ln = Linolénsav

IX. MELLÉKLET

SPEKTROFOTOMETRIKUS VIZSGÁLAT ULTRAIBOLYA FÉNYBEN

ELŐSZÓ

Az ultraibolya fény alatt végzett spektrofotometriás vizsgálat segítségével a zsír minőségével, tartósítási állapotával és a technológiai folyamatok által benne okozott változásokkal kapcsolatos információk állapíthatók meg.

A módszernél megadott hullámhossz elnyelése a jelen lévő konjugált dién- és triénrendszereknek köszönhető. Ezeket az abszorpciókat fajlagos kioltásban $E^{1\%}_{1\text{cm}}$ (kioltás a zsír meghatározott 1 %-os oldatában, 1 cm vastagságban) fejezik ki, amelyet egyezményesen K-val („kioltási tényezőnek” is nevezik) jelölnek.

1. CÉL

A módszer az olívaolajok ultraibolya fényben történő spektrofotometrikus vizsgálatának eljárását írja le.

2. A MÓDSZER ALAPELVE

A kérdéses zsírt feloldják a szükséges oldószerben, majd az adott hullámhossztartományban meghatározzák az oldat kioltását a tiszta oldathoz viszonyítva. A fajlagos kioltást a spektrofotométer által mutatott értékből számítják ki.

3. BERENDEZÉS

- 3.1. Spektrofotométer a 220-360 nm hullámhosszúságú ultraibolya tartományban a kioltás mérésére, az egyes nanométerértékek leolvasásának lehetőségével.
- 3.2. 1 cm optikai hosszúságú szögletes kvarcküvetta fedéllel. Vízzel vagy más megfelelő oldószerrel feltöltve a küvetta között nem lehet nagyobb eltérés, mint 0,01 kioltási egység.
- 3.3. 25 ml térfogatú, beosztásos lombikok.
- 3.4. 450 mm hosszú, 35 mm átmérőjű kromatográfiás oszlop megközelítőleg 10 mm átmérőjű kivezető csővel.

4. REAGENSEK

- 4.1. Spektrofotometriailag tiszta izo-oktán (2,2,4-trimetilpentán). A desztillált vízhez képest ennek a transzmissziós tényezője legalább 60 % a 220 nm hullámhosszon és legalább 95 % a 250 nm hullámhosszon, vagy
 - spektrofotometriailag tiszta ciklohexán: a desztillált vízhez képest ennek a transzmissziós tényezője legalább 40 % a 220 nm hullámhosszon és legalább 95 % a 250 nm hullámhosszon, vagy
 - más megfelelő oldószer, amely képes a zsírt teljesen feloldani (például etil-alkohol a ricinusolajhoz).
- 4.2. Lúgos timföld az oszlop-kromatográfiához, az I. függelék szerint előkészítve és ellenőrizve.
- 4.3. n-hexán a kromatográfiához.

5. ELJÁRÁS

- 5.1. A kérdéses mintának teljesen homogénnek kell lennie és nem lehetnek benne feltételezett szennyeződések. A szobahőmérsékleten folyékony olajokat megközelítőleg 30 °C hőmérsékleten át kell szűrni papíron, a kemény zsírokat homogenizálni kell, és át kell szűrni az olvadáspontjukat legfeljebb 10 °C-kal meghaladó hőmérsékleten.

- 5.2. Mérje meg pontosan a súlyát megközelítőleg 0,25 g ilyen módon előkészített mintának, tegye egy 25 ml térfogatú beosztásos lombikba és töltsse fel a jelig a megadott oldószerrel, majd homogenizálja. A kapott oldatnak teljesen tisztának kell lennie. Amennyiben opálosság vagy zavarosság lép fel, gyorsan szűrje át papíron.
- 5.3. Töltsön meg egy küvétát a kapott oldattal, majd a referenciaként használt oldat segítségével mérje meg a kioltást a megfelelő hullámhosszon a 232–276 nm-es tartományban.

A kapott kioltási értékeknek a 0,1–0,8 tartományba kell esniük. Amennyiben ettől eltérnek, a mérést meg kell ismételni sűrűbb, illetve hígabb oldattal.

- 5.4. Amennyiben a fajlagos kioltást timföldön való átvezetést követően kell meghatározni, a következők szerint járjon el. Tegyen a kromatográfiás oszlopba 30 g lúgos timföld–hexán szuszpenziót. Az adszorbens leülepedését követően távolítsa el a felesleges hexánt, a timföld fölött megközelítőleg 1 cm magasságig.

Oldjon fel az 5.1. pont szerint homogenizált és szűrt zsírból 10 g-ot 100 ml hexánban és öntse az oldatot az oszlopba. Gyűjtse össze az eluátumot, párologtassa el az összes oldószert vákuum alatt megközelítőleg 25 °C hőmérsékleten.

Az így kapott zsírral azonnal járjon el az 5.2. pont szerint.

6. AZ EREDMÉNYEK KIFEJEZÉSE

- 6.1. Jegyezze fel a Különböző hullámhosszokon a következő módon kiszámított fajlagos kioltásokat (kioltási tényezőket):

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

ahol:

K_{λ} = fajlagos kioltás a λ hullámhosszon;

E_{λ} = a mért kioltás a λ hullámhosszon;

c = az oldat koncentrációja g/100 ml-ben;

s = a küvetta vastagsága cm-ben.

Az eredményeket két tizedesjegyre adjja meg.

- 6.2. Az olívaolajok spektrofotometriás elemzése az EGK-rendeleteknek megfelelő hivatalos módszer szerint kiterjed a fajlagos kioltás izo-oktán oldatban 232 és 270 nm hullámhosszon történő meghatározására, illetve a K meghatározására, amely a következő képlettel számítható ki:

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

ahol K_m az m – maximális elnyelésű – 270 nm körüli hullámhosszon mért fajlagos kioltás.

I. FÜGGELÉK

A timföld előkészítése és aktivitásának ellenőrzése

A.1.1. A timföld előkészítése

Tegyen egy hermetikusan lezárt tartályba előzőleg kemencében három órán keresztül 380–400 °C hőmérsékleten kiszáritott timföldet, adjon hozzá minden 100 g timföldhöz 5 ml desztillált vizet, zárja le azonnal a tartályt, rázza fel többször, majd használat előtt legalább 12 óráig hagyja állni.

A.1.2. A timföld aktivitásának ellenőrzése

Készítsen elő egy kromatográfiás oszlopot 30 g timfölddel. Az 5.4. pontban leírtak szerint vezesse keresztül az oszlopon a következő keveréket:

- 95 % szűz olívaolaj, amelynek a 268 nm hullámhosszon a fajlagos kioltása kevesebb, mint 0,18,
- 5 % őrlötmogyoró-olaj, amelyet a finomítási folyamat során olyan festékfölddel kezeltek, amelynek a 268 nm

hullámhosszon a fajlagos kioltása legalább 4.

Amennyiben az oszlopon történő átvezetést követően a keverék fajlagos kioltása 268 nm hullámhosszon több, mint 0,11, akkor a timföld megfelelő, ha kevesebb, akkor növelni kell a dehidratációs szintet.

II. FÜGGELÉK

A spektrofotométer kalibrálása

- A.2. A berendezést időközönként (legalább hathavonta) ellenőrizni kell hullámhossz-átvitel, illetve átviteli pontosság szempontjából.
- A.2.1. A hullámhossz ellenőrizhető higanygőzlámpa vagy megfelelő szűrők segítségével.
- A.2.2. A fotocella és a fényszorozó átvitelének ellenőrzéséhez a következők szerint járjon el: mérjen ki 0,2000 g kálium-kromátot a spektrofotometriához és oldja fel 0,05 N kálium-hidroxid oldatban egy 1 000 ml térfogatú beosztásos lombikban, majd tölts fel a jelölésig. Az így kapott oldatból vegyen pontosan 25 ml-t, tegye át egy 500 ml térfogatú beosztásos lombikba, majd ugyanazzal a kálium-hidroxid oldattal tölts fel ismét a jelig.

Mérje meg az így kapott oldat kioltását a 275 nm hullámhosszon, referenciaként a kálium-hidroxid oldatot használva. Az 1 cm-es küvetával mért kioltásnak $0,200 \pm 0,005$ értékűnek kell lennie.

X. A. MELLÉKLET

A ZSÍRSAVAK METIL-ÉSZTEREINEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS ELEMZÉSE

1. CÉL

Ez a módszer általános iránymutatót ad a töltetes vagy kapilláris oszlopokat használó gázkromatográfiás vizsgálat alkalmazására, a X. B. mellékletben megállapított módszer segítségével kapott zsírsavakból és metil-észterekből álló keverék minőségi és mennyiségi jellemzőinek meghatározására.

A módszer nem alkalmazható polimerizált zsírsavak esetében.

2. REAGENSEK

2.1. **Vivőgáz**

Inert gáz (nitrogén, hélium, argon, hidrogén stb.), alaposan kiszárítva, az oxigéntartalma kevesebb, mint 10 mg/kg.

1. megjegyzés: A hidrogén, amelyet csak a kapilláris oszlopokban használnak vivőgázként, megkészszeresheti az elemzés sebességét, de veszélyes. Rendelkezésre állnak a védőfelszerelések.

2.2. **Segédgázok**

2.2.1. Hidrogén (tisztaság $\geq 99,9\%$), szerves szennyeződésektől mentes.

2.2.2. Levegő vagy oxigén, szerves szennyeződésektől mentes.

2.3. **Referenciaminta**

Tiszta zsírsavak metil-észterei, illetve ismert összetételű zsírok metil-észterei keveréke, lehetőség szerint a vizsgált zsíros anyaghoz hasonló.

Meg kell akadályozni a politelítetlen zsírsavak oxidációját.

3. BERENDEZÉS

A következő útmutató A betétes és/vagy kapilláris oszlopokat és láng-ionizációs detektort alkalmazó gázkromatográfiához használt szokásos felszerelésre vonatkozik. Minden berendezés megfelelő, amely a 4.1.2. pontban meghatározott határfokot és felbontást biztosítja.

3.1. **Gázkromatográf**

A gázkromatográf a következő elemekből áll:

3.1.1. Befecskendező rendszer

A befecskendező rendszert használhatja

- a lehető legkisebb holtterű betétes oszlopokkal (ebben az esetben a befecskendező rendszernek el kell viselnie az oszlop hőmérsékleténél 20–50°C-kal magasabb hőmérsékletre történő hevítést), vagy
- kapilláris oszlopokkal, amely esetben a befecskendező rendszernek kifejezetten az ilyen oszlopokkal történő használatra tervezettnek kell lennie. A befecskendező rendszer lehet osztott típusú vagy az oszlopon lévő osztatlan típusú.

2. megjegyzés: Amennyiben nem fordulnak elő 16 szénatomnál kevesebbet tartalmazó zsírsavak, mozgó tűs injektor használható.

3.1.2. Kemence

A kemencének képesnek kell lennie az oszlop legalább 260 °C hőmérsékletre történő hevítésére, illetve a kívánt hőmérséklet tartására betétes oszlop esetében 1 °C-on belüli pontossággal, kapilláris oszlop esetében 0,1 °C pontossággal. Az utóbbi követelmény különösen fontos ömlesztett szilícium-dioxid csövek használata esetén.

A hőmérséklet-programozott fűtés használata minden esetben ajánlatos, különösen a 16-nál kevesebb szénatomot tartalmazó zsírsavak esetén.

3.1.3. Betétes oszlop

3.1.3.1. Az elemezni kívánt anyaggal szemben semleges anyagból (úgy mint üveg vagy rozsdamentes acél) készült oszlop, a következő méretekkel:

- a) hossz: 1–3 m. Hosszú láncú zsírsavak jelenléte esetén (C_{20} felett) viszonylag rövid oszlopot kell használni. A 4 vagy 6 szénatomú savak elemzésekor ajánlatos 2 m hosszú oszlopot kell használni;
- b) belső átmérő: 2–4 mm.

3. megjegyzés: Amennyiben több, mint három kettős kötést tartalmazó politelítetlen komponens van jelen, azok rozsdamentes acél oszlopban elbomolhatnak.

4. megjegyzés: Használható betétes ikeroszlopból álló rendszer is.

3.1.3.2. Betét a következő összetevőkből:

- a) *talapzat*: savazott és szilanizált kovaföld vagy egyéb megfelelő semleges talapzat, kis tartományon belüli szemcsemérettel (125–200 μm határértékek között 25 μm -es tartományon belül), az átlagos szemcseméret arányos az oszlop belső átmérőjével és hosszával;
- b) *stacionerfázis*: poliészter típusú poláris folyadék (például dietilén-glikol-poliszukcinát, butándiol-poliszukcinát, etilnglikol-poliadipát stb.), cianoszilikonok vagy egyéb olyan folyadék, amely lehetővé teszi a kívánt kromatográfiás leválasztást (lásd a 4. pontot). A stacionerfázisnak a betét 5–20 %-át (m/m) kell kitennie. A nem-poláris stacionerfázis felhasználható bizonyos leválasztásokhoz.

3.1.3.3. Az oszlop kondicionálása

Amennyiben lehetséges, az oszlop detektorról leválasztott állapotában fokozatosan hevítse a kemencét 185 °C hőmérsékletre és a frissen előkészített oszlopon vezessen keresztül inert gáz áramot 20–60 ml/perc sebességgel ezen a hőmérsékleten legalább 16 órán keresztül, majd további 2 órán keresztül 195 °C hőmérsékleten.

3.1.4. Kapilláris oszlop

3.1.4.1. A vizsgált anyagok tekintetében semleges anyagból (általában üveg vagy szilícium-dioxid) készült cső. A belső átmérője 0,2–0,8 mm. A belső felületét a stacionerfázisból álló bevonat felvitele előtt megfelelően kezelni kell (például felületkikészítés, inaktiválás). A legtöbb esetben a 25 mm hosszúság elegendő.

3.1.4.2. Stacionerfázis, rendszerint poliglikol (poli(etilén glikol) 20 000), poliészter (butándiol-poliszukcinát) vagy poláris polisziloxán (cianoszilikonok) típusú. A kötött (keresztbe kapcsolt) oszlopok használhatók.

5. megjegyzés: Fennáll a veszélye, hogy a poláris polisziloxánok megnehezítik a linolénsav és a C_{20} savak azonosítását és leválasztását.

A bevonatoknak vékonyak, azaz 0,1–0,2 μm -eknek kell lenniük.

3.1.4.3. Az oszlop összeszerelése és kondicionálása

Tartsa be a kapillárisoszlopok összeszerelésének normál szabályait, vagyis az oszlopok elrendezése a kemencén (talapzaton), szerelvények kiválasztása és összeszerelése (szivárgásmentesség), az oszlop végének elhelyezése a befecskendező rendszerben és a detektorban (a holtterek csökkentése). Helyezze az oszlopot vivőgáz árama alá (például 0,3 bar (30 kPa) 25 mm hosszú és 0,3 mm belső átmérőjű oszlop esetén).

Kondicionálja az oszlopot a kemence környezeti hőmérsékletéről induló, a stacioner fázis lebomlási határa alatti 10 °C-ig terjedő, 3 °C/perc sebességű felfűtésével. Tartsa a kemencét ezen a hőmérsékleten egy órán keresztül, a nullapont stabilizálódásáig. Az izotermikus körülmények között történő munkához állítsa vissza 180 °C hőmérsékletre.

6. megjegyzés: A megfelelően kondicionált oszlopok kereskedelmi forgalomban kaphatók.

3.1.5. Olyan detektor, amelyet fel lehet hevíteni az oszlop hőmérséklete fölé.

3.2. Fecskendő

A fecskendő maximális térfogata 10 μl , 0,1 μl -es beosztásokkal.

3.3. Íróberendezés

Amennyiben a vizsgált keverék összetételének kiszámítása regisztrálógörbe alapján történik, szükség van egy nagy pontosságú, a használt berendezésekkel kompatibilis elektronikus íróberendezésre. Az íróberendezésnek a következő jellemzőkkel kell rendelkeznie:

- a) a működési sebesség 1,5 s alatt, lehetőleg 1 s (a működési sebesség az író tollnak egy 100 %-os jel hirtelen bevezetésekor a 0-tól a 90 %-os helyzetbe történő elmozdulásához szükséges idő);

- b) papír szélessége: minimum 20 cm;
- c) papírsebesség: 0,4–2,5 cm/perc között állítható.

3.4. Integrátor

Egy elektronikus integrátor segítségével gyors és pontos számítások végezhetők. Az integrátornak megfelelő érzékenységűnek kell lennie, lineáris válaszjelet kell adnia, és a nullpont-eltérés korrekciónak megfelelőnek kell lennie.

4. ELJÁRÁS

A 4.1–4.3. pontban leírt műveletek a láng-ionizációs detektor használatára vonatkoznak.

Választható a hővezetőképesség-mérő detektort alkalmazó (a hővezetési képesség változásának elvén működő) gázkromatográf is. Ekkor az üzemi körülmények a 6. pontban leírtak szerint módosulnak.

4.1. Tesztkörülmények

4.1.1. Az optimális üzemi körülmények megválasztása

4.1.1.1. Betétes oszlop

A tesztkörülmények megválasztása során a következő változókat kell figyelembe venni:

- a) az oszlop hossza és átmérője;
- b) a stacionerfázis jellege és mennyisége;
- c) az oszlop hőmérséklete;
- d) a vivőgáz térfogatárama;
- e) a kívánt felbontás;
- f) a vizsgált adag mennyisége, amelyet úgy kell megválasztani, hogy a detektorból és az elektrométerből álló berendezés lineáris válaszjelet adjon;
- g) az elemzés időtartama.

Az 1. táblázatban és a 2. táblázatban megadott értékek általában a kívánt eredményekhez vezetnek, azaz metil-sztearát és eluátuma esetén az oszlop métereként legalább 2 000 elvi lap 15 percen belül.

Amennyiben a berendezés lehetővé teszi, a befecskendező rendszernek megközelítőleg 200 °C hőmérsékletűnek kell lennie, a detektor hőmérsékletének meg kell egyeznie vagy magasabbnak kell lennie az oszlopénál.

Rendszerint a láng-ionizációs detektorba bevezetett hidrogén és a vivőgáz térfogatáramának aránya 1:2–1:1 között változik, az oszlop átmérőjének függvényében. Az oxigén térfogatárama a hidrogén térfogatáramának 5–10-szerese.

1. táblázat

Az oszlop belső átmérője mm	A vivőgáz térfogatárama ml/perc
2	15–25
3	20–40
4	40–60

2. táblázat

A stacionerfázis koncentrációja % (m/m)	Az oszlop hőmérséklete °C
5	175
10	180
15	185
20	185

4.1.1.2. Kapilláris oszlop

A kapilláris oszlopok hatásfok- és permeabilitási jellemzői azt jelentik, hogy az összetevők közötti szétválasztás és az elemzés időtartama nagymértékben függ a vivőgáz oszlopbeli sebességétől. Ezért az üzemi körülmények optimalizálására van szükség ennek a paraméternek (egyszerűbben az oszlop fejvesztésének) a változtatásával, attól függően, hogy a leválasztást szeretnénk növelni vagy gyorsabb analízist szeretnénk végezni.

4.1.2. Az elméleti lapok számának (hatásfok), valamint a felbontásnak a meghatározása (lásd az 1. ábrát).

Végezze el az azonos mennyiségű metil-sztearátból és metil-oleátból álló keverék elemzését (például metil-észterek kakaóvajból).

Úgy válassza meg az oszlop és a vivőgáz-áram hőmérsékletét, hogy a metil-sztearátcsúcs maximuma az oldószercsúcs után megközelítőleg 15 perccel jelentkezzen. Olyan mennyiségű metil-észter keveréket használjon, amennyi ahhoz kell, hogy a metil-sztearátcsúcs a teljes skála háromnegyedét foglalja el.

A következő képlet segítségével számítsa ki az elméleti lapok n számát (hatásfok):

$$n = 16 \left[\frac{dr_1}{\omega_1} \right]^2$$

illetve az R felbontást, a következő képlet segítségével:

$$R = \frac{2\Delta}{\omega_1 + \omega_2},$$

ahol:

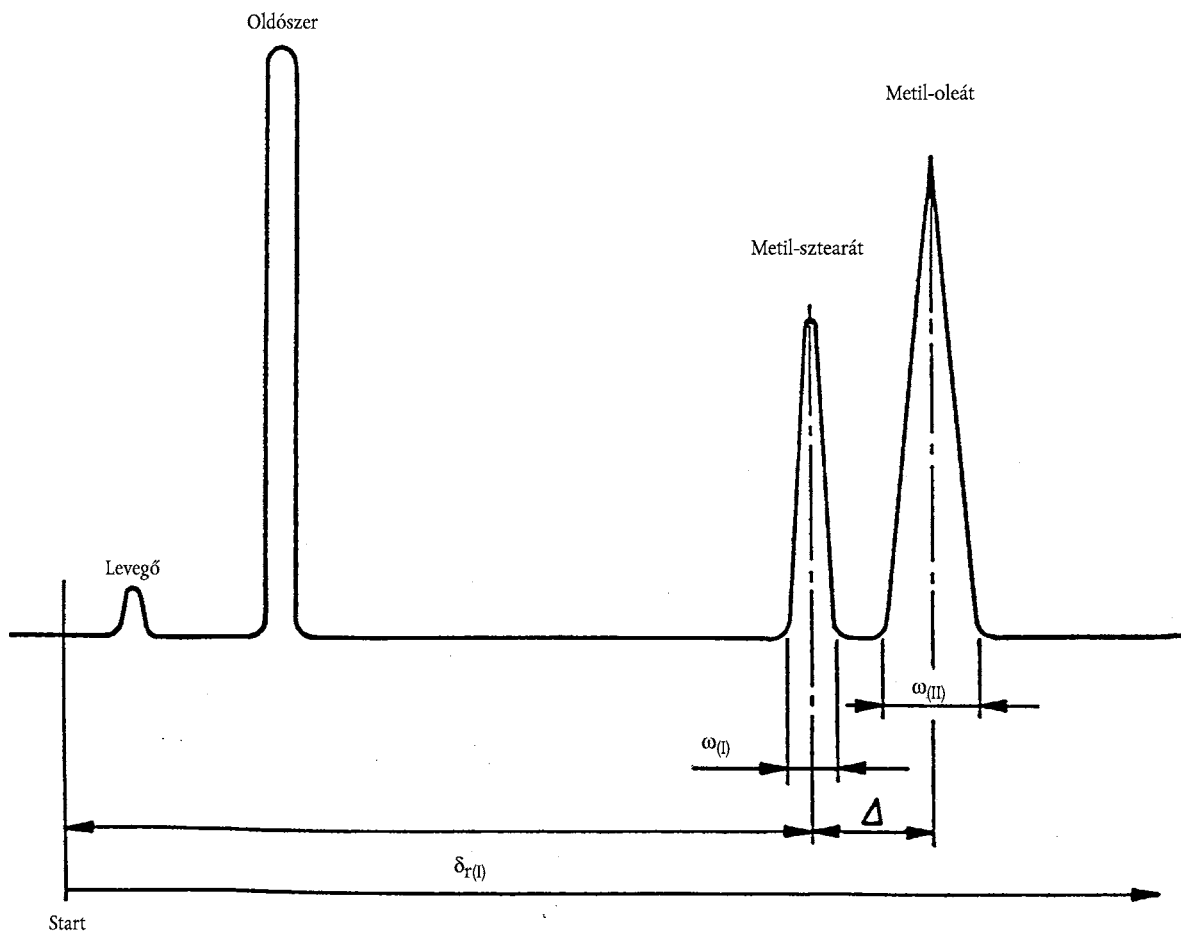
dr_1 a retenció távolság mm-ben, a kromatogram kezdetétől a metil-sztearát csúcs maximumáig;

ω_1 és ω_2 : a metil-sztearát és a metil-oleát csúcsok szélessége mm-ben, a görbék inflexió pontjaiban vett érintőinek az alapvonallal való metszéspontjai között mérve;

Δ : a metil-sztearát és a metil-oleát csúcsok maximumai közötti távolság mm-ben.

1. ábra

Kromatogram az elméleti lapok (hatásfok) számának és a felbontás meghatározásához



Olyan üzemi körülményeket kell választani, amelyek metil-sztearát esetén az oszlop hosszának egy méterére legalább 2 000 elméleti lapot és legalább 1,25 felbontást eredményeznek.

4.2. Vizsgált adag

A fecskendővel (3.2.) szívjon fel 0,1–0,2 μl , a X. B. melléklet szerint elkészített metil-észter oldatot és fecskendezze az oszlopba.

A nem oldott észterek esetén készítsen megközelítőleg 100 mg/ml kromatografikus tisztaságú heptánoldatot, és ebből fecskendezzen be 0,1–1 ml mennyiséget.

Amennyiben a csak nyomokban jelenlévő összetevőket elemzi, a vizsgált mennyiség növelhető (legfeljebb a 10-szereséig).

4.3. Elemzés

Az üzemi körülményeknek rendszerint a 4.1.1. pontban meghatározottak szerintieknek kell lenniük.

A 12-nél kevesebb szénatomot tartalmazó zsírsavak meghatározása esetén azonban alacsonyabb, a 20-nál több szénatomot tartalmazó zsírsavak meghatározásánál pedig magasabb oszlophőmérsékletet lehet alkalmazni. Alkalmanként hőmérséklet-programozást lehet alkalmazni mindkét esetben. Például amennyiben a minta 12-nél kevesebb szénatomot tartalmazó zsírsavak metil-észtereit tartalmazza, a mintát 100 °C hőmérsékleten fecskendezze be (vagy 50–60 °C hőmérsékleten, amennyiben vajsav is jelen van), és azonnal kezdje meg a hőmérséklet emelését percenként 4–8 °C-kal az optimális értékre. Bizonyos esetekben a két eljárás kombinálható.

A programozott melegítést követően folytassa az eluálást állandó hőmérsékleten, ameddig mindegyik komponens eluálódik. Amennyiben a berendezés nem rendelkezik programozható fűtéssel, akkor használja 100 °C és 195 °C között beállított két fix hőmérsékleten.

Amennyiben szükséges, javasolt, hogy végezzen elemzést két különböző polaritású rögzített fázison a fedett csúcsok kizárhatóságának igazolására, például abban az esetben, mikor a $C_{18:3}$ és $C_{20:0}$ vagy $C_{18:3}$ és $C_{18:2}$ konjugáltak egyszerre vannak jelen.

4.4. A referenciakromatogram és a referenciagrafikok elkészítése

Elemesse a standard referenciakeveréket (2.3.) ugyanazon üzemeltetési körülmények mellett, mint a mintát, és mérje meg az alkotó zsírsavak retenciós idejeit vagy retenciós távolságait. Féllogaritmusos papíron szerkessze meg minden telítetlenségi fokhoz a retenciós idő vagy távolság logaritmusának és a szénatomok számának grafikonját. Izotermikus körülmények között az azonos telítetlenségi fokú egyenes láncú savak grafikonjainak egyeneseknek, valamint megközelítőleg párhuzamosoknak kell lenniük.

El kell kerülni az olyan körülményeket, mint például a „fedett csúcsok jelenléte”, azaz amikor a felbontás nem elegendő a két összetevő elválasztásához.

5. AZ EREDMÉNYEK KIFEJEZÉSE

5.1. Minőségi elemzés

Azonosítsa a minta metil-észter csúcsait a 4.4. pont szerint grafikonokból, amennyiben szükséges, interpolálással.

5.2. Mennyiségi elemzés

5.2.1. Az összetétel meghatározása

Eltételezve a kivételes esetektől, használja a belső normalizációs módszert, azaz induljon ki abból, hogy a minta minden összetevője szerepel a kromatogramon, így a csúcsok alatti összes terület az összetevők 100 %-át jelenti (teljes eluálás).

Amennyiben a berendezések között integrátor is van, használja az abból származó adatokat. Amennyiben nincsen, határozza meg az egyes csúcsok alatti területeket úgy, hogy a csúcsok magasságát szorozza meg a közepes magasságukban mérhető szélességükkel, és amennyiben szükséges, vegye figyelembe a rögzítés során használt különféle csillapításokat.

5.2.2. A számítási módszer

5.2.2.1. Általános eset

Számítsa ki egy adott i összetevő esetében a mennyiséget a metil-észterek tömegének százalékában kifejezve úgy, hogy meghatározza az adott összetevő csúcsa alatti terület nagyságát az összes csúcs alatti területhez képest, a következő képlet segítségével:

$$\frac{A_i}{\sum A} \times 100,$$

ahol:

A_i az i komponensnek megfelelő csúcs alatti terület;

$\sum A$ az összes csúcs alatt található területek összege.

Az eredményt egy tizedes pontossáig adja meg.

7. megjegyzés: Ebben az általános esetben a relatív területeken alapuló számítások eredményét súlyszázaléknak tekintjük. Azokban az esetekben, mikor ez a feltevés nem alkalmazható, lásd az 5.2.2.2. pontot.

5.2.2.2. A korrekciós tényezők használata

Bizonyos esetekben, például nyolcnál kevesebb szénatomot tartalmazó zsírsavak vagy másodlagos csoportokat tartalmazó savak jelenlétében, hővezetőképesség-detektorok használatakor vagy amikor kifejezetten a legnagyobb pontosságra van szükség, korrekciós tényezőket kell használni a csúcsterületek százalékarányainak az összetevők tömegszázalékára történő átváltásához.

A korrekciós tényezőket a metil-észterek ismert összetételű referenciakeverékének a mintáival megegyező üzemi körülmények mellett végzett elemzése során kapott kromatogramja segítségével határozza meg.

Ennél a referenciakeveréknél az i összetevő tömegszázaléka a következő képlet segítségével adható meg:

$$\frac{m_i}{\sum m} \times 100,$$

ahol:

m_i az i összetevő tömege a referenciakeverékben;

$\sum m$ a referenciakeverékben lévő különböző összetevők összes tömege.

A referenciakerék (4.4.) kromatogramjából számítsa ki az i összetevő (terület/terület) százalékát a következő képlet segítségével:

$$\frac{A_i}{\sum A} \times 100,$$

ahol:

A_i az i komponensnek megfelelő csúcs alatti terület;

$\sum A$ az összes csúcs alatt található területek összege.

A korrekciós tényező ezután a következő módon számítható ki:

$$K_i = \frac{m_i \times \sum A}{A_i \times \sum m}$$

A korrekciós tényezőt általában a K_{C16} - hoz viszonyítva szokták megadni, így a relatív tényező a következő:

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

A minta esetén az egyes i komponensekre, a metil-észterek tömegének százalékában kifejezve:

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

Az eredményeket egy tizedes pontosságig adja meg.

5.2.2.3. A belső standard használata

Bizonyos elemzések esetén (például amikor nem mindegyik zsírsav mennyiségét határozzuk meg, amikor négy és hat szénatomot tartalmazó savak vannak jelen a 16 és 18 szénatomos savak mellett, vagy ha egy mintában az egyik zsírsav pontos mennyiségét kell meghatározni) belső standardot kell használni. Leggyakrabban az 5, 15 vagy 17 szénatomos zsírsavakat használják. A belső standardhoz (amennyiben szükséges) meg kell határozni a korrekciós tényezőt.

Az i összetevő metil-észterekhez viszonyított tömegszázalékát a következő képlet segítségével lehet kiszámítani:

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

ahol:

A_i az összetevő csúcsa alatti terület;

A_s a belső standard csúcsa alatti terület;

K'_i az i összetevő korrekciós tényezője (a K_{C16} -ra vonatkoztatva);

K'_s a belső standard korrekciós tényezője (a K_{C16} -ra vonatkoztatva);

m a vizsgált mennyiség tömege grammban;

m_s a belső standard tömege grammban.

Az eredményeket egy tizedes pontosságig adja meg.

6. KÜLÖNLEGES ESET – (A HŐVEZETŐKÉPESSÉG VÁLTOZÁSÁNAK ELVÉN MŰKÖDŐ) HŐVEZETŐKÉPESSÉG-MÉRŐ DETEKTOR HASZNÁLATA

A zsírsavak és metil-észterek keveréke minőségi és mennyiségi összetételének meghatározásához a hővezetőképesség változásának elvén működő detektorral (hővezetőképesség-mérő) felszerelt gázkromatográf is használható. Ilyen berendezés használatakor a 3. és a 4. pontban meghatározott körülményeket a 3. táblázatnak megfelelően módosítani kell.

A mennyiségi elemzéshez használja az 5.2.2.2. pontban megadott korrekciós tényezőket.

3. táblázat

Változó	Érték / körülmény
Oszlop	Hossz: 2–4 m Belső átmérő: 4 mm
Talapzat	Szemcseméret: 160–200 µm
A stacionerfázis töménysége	15–25 % (m/m)
Vivőgáz	Hélium, vagy ennek hiányában hidrogén, a lehető legkisebb oxigéntartalommal
Segédgázok	Nincs
Befecskendezési hőmérséklet	Az oszlop hőmérsékleténél 40–60°C-kal magasabb
Oszlop hőmérséklete	180–200°C
A vivőgáz térfogatárama	Rendszerint 60–80 ml/perc
A vizsgált minta befecskendezett mennyisége	Rendszerint 0,5–2 µl

7. VIZSGÁLATI JEGYZŐKÖNYV

A vizsgálati jegyzőkönyvnek tartalmaznia kell a Metil-észterek és a gázkromatográfiás elemzés előkészítésének módszerét, valamint a kapott eredményeket. Meg kell említeni benne minden, e Nemzetközi Szabványban nem szereplő vagy opcionálisnak tekinthető üzemi körülményt vagy az eredményekre esetlegesen hatással lévő bármilyen eseményt.

A vizsgálati jegyzőkönyvben szerepelnie kell a minta azonosításához szükséges összes adatnak.

X. B. MELLÉKLET

A ZSÍRSAVAK METIL-ÉSZTEREINEK ELŐÁLLÍTÁSA A 72/77/EGK RENDELET VI. MELLÉKLETÉNEK I. ÉS II. CÍME VAGY A KÖVETKEZŐ MÓDSZER SZERINT

ELŐSZÓ

A folyamat kiválasztása a vizsgált zsírszerű anyag savösszetétele és savassága, illetve az elvégzendő gázkromatográfiás elemzés alapján történik.

Részletesebben:

- 12-nél kevesebb szénatomú zsírsavakat tartalmazó zsírszerű anyagok esetén kizárólag zárt fiolás eljárás vagy dimetil-szulfátos eljárás alkalmazható,
- a 3 %-osnál nagyobb savasságú zsírszerű anyagok esetében kizárólag a metanol-sósav vagy a metil-szulfát eljárás alkalmazható,
- a transz-izomerek gázkromatográfiás méréséhez kizárólag a nátrium-metilátot vagy a dimetil-szulfátot alkalmazó eljárások használhatók,
- a vékonyréteg kromatográfiás eljárással végzett leválasztás esetén a zsírsavak kis mennyiségű metil-észtereknek előkészítéséhez a metanol-hexán-kénsavas eljárást kell alkalmazni.

A nem-szappanosítható anyagok figyelmen kívül hagyhatók, amennyiben mennyiségük nem haladja meg a 3 %-ot, ellenkező esetben a metil-észtereket zsírsavakból kell előállítani.

1. ÉRVÉNYESÉGI TERÜLET ÉS HATÁLY

A következőkben részletezett öt módszer alkalmazható a metil-észternek a zsírszerű anyagokból történő előállítására:

- a) nátrium-metiláttal;
- b) nátrium-metiláttal zárt fiolásban;
- c) metanol-sósavval zárt fiolásban;
- d) dimetil-szulfáttal;
- e) metanol-hexán-kénsavval.

A. módszer

2. ALAPELV

Az elemezni kívánt zsírszerű anyagokat visszaáramoltatás mellett melegítik metil-alkohollal és nátrium-metiláttal. Az így kapott metil-észtereket etil-éter segítségével kivonják.

3. BERENDEZÉS

- 3.1. 100 ml térfogatú lombik visszafolyós hűtővel, a tetején nátronmeszes csővel, csiszolt üveg csatlakozásokkal.
- 3.2. 50 ml térfogatú mérőpoharak.
- 3.3. 5 ml térfogatú mérőpipetta 0,1 ml-es beosztással.
- 3.4. 250 ml térfogatú választótölcsérek.
- 3.5. 200 ml térfogatú lombikok.

4. REAGENSEK

- 4.1. Vízmentes metanol.

- 4.2. Nátrium-metilát megközelítőleg 1 %-os metanolos oldata, 0,34 g fémes nátrium 100 ml vízmentes metanolban történő feloldásával készítve.
- 4.3. Etil-éter.
- 4.4. 10 %-os nátrium-klorid oldat.
- 4.5. 40–60 °C hőmérsékletű petroléter.

5. ELJÁRÁS

- 5.1. Az előzőleg nátrium-szulfáton kiszárított és leszűrt zsírszerű anyagból tegyen 2 grammot a 100 ml térfogatú lombikba. Adjon hozzá 35 ml metanol, csatlakoztassa a visszafolyós hűtőt és visszafolyatás mellett forralja néhány percig.
- 5.2. Hagyja abba a melegítést, vegye le a visszafolyós hűtőt, adjon hozzá gyorsan 3,5 ml nátrium-metilát oldatot, helyezze vissza a visszafolyós hűtőt és a visszafolyatás mellett forralja legalább 3 órán keresztül. A metilezés akkor kész, mikor az összes zsírszerű anyag cseppfolyósodott és a reagenskeverék szobahőmérsékleten teljesen tiszta.
- 5.3. Hűtse le és öntse a reagenskeveréket egy 250 ml térfogatú választótölcsérbe, adjon hozzá 35–40 ml etil-étert, 100 ml vizet és 5–6 ml 10 %-os nátrium-klorid oldatot. Rázza össze és hagyja a rétegeket szétválni. Öntse át a vizes fázist egy másik választótölcsérbe, és végezze el ismét a kivonást 25 ml etil-éterrel.

Adjon hozzá az összeöntött éter-kivonatokhoz 50 ml 40–60 °C hőmérsékletű petrolétert. A víz különválik és eltávolítható.

Az éterfázist mossa át háromszor 10–15 ml vízzel, szárítsa ki nátrium-szulfáton és papíron szűrje le, a szűrletet gyűjtse a 200 ml térfogatú lombikba.

Párolja be az oldószert 20 ml mennyiségűre úgy, hogy a folyamatot vízfürdő felett fejezze be tisztanitrogén-áramban.

B. módszer

2. ALAPELV

Az elemezni kívánt zsírszerű anyagot zárt fiolában 85–90 °C hőmérsékleten nátrium-metilát metanolos oldatával kezelik.

3. BERENDEZÉS

- 3.1. Megközelítőleg 5 ml térfogatú (40–45 mm magas, 14–16 mm átmérőjű) erős üvegfioła.
- 3.2. 1 ml-es mérőpipetta 0,1 ml-es beosztással.

4. REAGENSEK

- 4.1. Nátrium-metilát megközelítőleg 1,5 %-os metanolos oldata. Az oldat 0,50 g fém nátrium 100 ml víztelen metanolban történő feloldásával készül.

5. ELJÁRÁS

- 5.1. Tegyen az üvegfiolába 2 g-ot az előzőleg nátrium-szulfáton kiszárított és leszűrt zsírszerű anyagból. Adjon hozzá 0,3 g (megközelítőleg 0,4 ml) nátrium-metilát oldatot és hegessze le a fiolát.
- 5.2. Merítse a fiolát 2 óra hosszára 85–90 °C hőmérsékletű fürdőbe, időnkénti rázogató mellett. Az észteresedési folyamat akkor fejeződik be, amikor a fiola tartalma tisztává válik a glicerin és a reagens maradáknak leülepedését követően.
- 5.3. Hűtse le a fiolát szobahőmérsékletre. A fiolát akkor nyissa ki, mikor a metil-észterek felhasználásra kerülnek. A metil-észterek a gázkromatográfiás készülékbe történő behelyezést megelőzően nem igényelnek további kezelést.

C. módszer

2. ALAPELV

Az elemezni kívánt zsírszerű anyagot zárt fiolában 100 °C hőmérsékleten metanol-sósav oldatban kezelik.

3. BERENDEZÉS

- 3.1. Megközelítőleg 5 ml térfogatú (40-45 mm magas, 14-16 mm átmérőjű) erős üvegfioła.
- 3.2. 1 és 2 ml-es kalibrált pipetta.

4. REAGENSEK

- 4.1. Sósav 2 %-os metanolos oldata. Az oldat sósav gázból és vízmentes metanolból készül (1. megjegyzés).
- 4.2. Hexán a gázkromatográfiás eljáráshoz.

5. ELJÁRÁS

- 5.1. Tegyen az üvegfiołába 0,2 g-ot az előzőleg nátrium-szulfáton kiszárított és leszűrt zsírszerű anyagból. Adjon hozzá 2 ml sósav-metanol oldatot. Hegessze le a fiołát.
- 5.2. Merítse a fiołát 40 percre 100 °C hőmérsékletű fürdőbe.
- 5.3. Hűtse le a fiołát csapvíz alatt, nyissa ki, adjon hozzá 2 ml desztillált vizet és 1 ml hexánt. Centrifugálja, majd vonja ki a hexánfázist, amely használatra kész.

D. módszer**2. ALAPELV**

A vizsgálni kívánt zsírszerű anyagot kálium-hidroxid metilalkoholos oldatával szappanosítják, majd ezt követően dimetil-szulfáttal kezelik. A keletkezett metil-észterek sósav hozzáadásakor automatikusan leválasztódnak. Timfölddel történő ismételt kezeléssel nagyon tiszta metil-észterek nyerhetők.

3. BERENDEZÉS

- 3.1. Megközelítőleg 20 ml térfogatú erős kémcső, 10/19 csiszolt üveg dugóval és biztonsági kapcsolokkal.
- 3.2. Visszafolyós hűtő 10/19 csiszolt üvegcsatlakozóval.
- 3.3. G2 méretű, 20 mm átmérőjű szinterelt lemezes üvegszűrők.
- 3.4. Kúpos talpú, megközelítőleg 10 ml térfogatú kémcsövek.
- 3.5. 1 és 5 ml-es fecskendők.

4. REAGENSEK

- 4.1. Kálium-hidroxid 10 %-os metilalkoholos oldata a gázkromatográfiás eljáráshoz.
- 4.2. Zöld bromokrezol indikátor: 0,05 %-os metilalkoholos oldat.
- 4.3. Dimetil-szulfát (p = 1,335 15 °C-on).
- 4.4. Tömény sósav (p = 1,19) azonos mennyiségű metilalkohollal hígítva a gázkromatográfiás eljáráshoz.
- 4.5. Brockmann alumínium-oxid az adszorpciós kromatográfiás eljáráshoz.

5. ELJÁRÁS

- 5.1. Tegyen a 20 ml térfogatú kémcsőbe 2,2 ml-t az előzőleg nátrium-szulfáton kiszárított és leszűrt zsírszerű anyagból. Adjon hozzá 5 ml kálium-hidroxid oldatot és néhány kvarcsemcsét a forrás szabályozásához. Csatlakoztassa a visszafolyós hűtőt, majd rázogatás mellett kis lángon melegítse öt percen keresztül. A szappanosodás akkor fejeződik be, amikor az oldat tisztává válik. Végül csapvíz alatt hűtse le, és távolítsa el a visszafolyós hűtőt.

- 5.2. A fecskendő segítségével adjon hozzá lassan két csepp indikátort és 1 ml dimetil-szulfátot. Hermetikusan zárja le a kémcsövet és rázza két-három percen keresztül, miközben gyakran mártsa a kémcső alját forrásban lévő vízbe. A reakció akkor kész, mikor az indikátor színe kékről sárgára változik. Végül hűtse le a kémcsövet csapvíz alatt, majd nyissa fel, adjon hozzá 5 ml metanolos sósavoldatot.
- 5.3. Néhány másodperces rázást követően tegye le a kémcsövet ferde szögben, és gyengén ütögesse meg a kémcsövet; ez segíti a metil-észterek olajos anyagként történő felszínre emelkedését (A. megjegyzés).
- A. megjegyzés: Amennyiben a metil-észterek leválasztódása nem történik meg spontán módon, tegyen a kémcsőbe 5 ml vizet és rázza fel.

E. módszer

2. ALAPELV

Az elemezni kívánt zsírszerű anyagokat visszaáramoltatás mellett melegítik metanol-hexán-kénsavval. Az így kapott metil-észtereket petroléter segítségével kivonják.

3. BERENDEZÉS

- 3.1. Mintegy 20 ml térfogatú, megközelítőleg 1 m hosszú levegő-visszaforgató hűtővel felszerelt kémcső, csiszolt üveg csatlakozásokkal.
- 3.2. 5 ml-es kalibrált pipetta.
- 3.3. 50 ml térfogatú választótölcsér.
- 3.4. 10 ml és 25 ml térfogatú mérőpoharak.
- 3.5. 15 ml térfogatú kúpos aljú kémcső.

4. REAGENSEK

- 4.1. Metilezési reagens: vízmentes metanol-hexán-tömény kénsav ($p = 1,84$) 75:25:1 (V/V/V) arányban.
- 4.2. 40–60 °C hőmérsékletű petroléter.
- 4.3. Vízmentes nátrium-szulfát.

5. ELJÁRÁS

- 5.1. Tegye a lemezről származó anyagot a 20 ml-es kémcsőbe, és adjon hozzá 5 ml metilező reagenst.
- 5.2. Szerelje fel a visszaforgató hűtőt és forró vízfürdőben melegítse 30 percen keresztül (2. megjegyzés).
- 5.3. 10 ml desztillált víz és 10 ml petroléter hozzáadásával öntse a keveréket egy 50 ml-es választótölcsérbe.
- 5.4. Erőteljesen rázza fel, hagyja a fázisokat szétválasztódni, távolítsa el a vizes fázist, és az éteres fázist mossa át kétszer 20 ml desztillált vízzel. Tegyen a választótölcsérbe egy kis mennyiségű vízmentes nátrium-szulfátot, rázza fel, majd hagyja néhány percig ülepedni, ezután szűrje le, és gyűjtse a szűrletet egy 15 ml-es kúpos fenekű kémcsőbe.

Párolgassa el az oldószert vízfürdő felett nitrogénáramban.

1. megjegyzés: Kismennyiségű sósavgáz könnyen előállítható laboratóriumban a kereskedelemben kapható oldatokból ($p = 1,18$) tömény kénsav ($p = 1,84$) belesöpögtetésével történő kizorítással. A felszabadított gáz könnyen kizárható tömény kénsavon történő átbuborékolatással. Mivel a sósav nagyon könnyen adszorbeálódik metanolban, javasolt az oldáskor a szokásos óvintézkedések betartása, azaz a gázt egy kis, felfordított tölcséren keresztül bevezetni, amelynek a pereme éppen csak érinti a folyadékot. A sósav metanolos oldatából, amennyiben üveg dugós palackban sötét helyen tárolják, nagy mennyiség elkészíthető előre.
2. megjegyzés: A forráspont szabályozásához tegyen egy üvegrudat a kémcsőbe, és csökkentse a vízfürdő hőmérsékletét 90 °C-ra.

XI. MELLÉKLET

AZ OLÍVAOLAJ ILLÉKONY HALOGÉNEZETT OLDÓSZEREINEK MEGHATÁROZÁSA

1. MÓDSZER

A gőztér-mintavételezési technikán alapuló gázkromatográfias elemzés.

2. BERENDEZÉS

- 2.1. Elektronbefogásos detektorral (ecd) felszerelt gázkromatográfias berendezés.
- 2.2. Gőztér-mintavételező berendezés.
- 2.3. Üvegből készült 2 m hosszú, 2 mm átmérőjű gázkromatográfias oszlop, stationer fázis. OV101 10 % vagy avval egyenértékű a kalcinált, savazott, szilanizált és 80–100 szemcse nagyságú kovaföld impregnálásához.
- 2.4. Vivő- és segédgázok: az elektronbefogásos detektáláshoz alkalmas nitrogén a gázkromatográfias eljáráshoz.
- 2.5. 10 ml és 15 ml térfogatú teflonborítású üveglombikok alumíniumdugóval, a fecskendő bevezetésére alkalmas kialakítással.
- 2.6. Hermetikus zárású bilincsek.
- 2.7. 0,5–2,0 ml térfogatú gázfecskendő.

3. REAGENSEK

Standard: a gázkromatográfias eljáráshoz megfelelő tisztaságú halogénezett oldószerek.

4. ELJÁRÁS

- 4.1. Mérjen pontosan 3 g olajat egy üveglombikba (újból nem felhasználható); zárja le hermetikusan. Tegye egy termosztátban 70 °C hőmérsékletre egy óra hosszára. Egy fecskendő segítségével óvatosan szívjon ki a gőztérből 0,2-0,5 ml-t. A fecskendő tartalmát fecskendezze be a következő módon beállított gázkromatográfias berendezés oszlopába:

- injektor hőmérséklete: 150 °C,
- oszlop hőmérséklete: 70–80 °C,
- detektor hőmérséklete: 200–250 °C.

Ettől eltérő hőmérsékletek is beállíthatók, amennyiben az eredmények egyenértékűek lesznek.

- 4.2. Referenciaoldatok: készítsen a mintában feltételezett tartalomnak megfelelő 0,05–1 ppm (mg/kg) töménységű standard oldatokat olyan finomított olívaolajból, amelyben oldószerek nyomokban sem találhatók meg. A halogénezett oldószerek pentán segítségével hígíthatók.
- 4.3. Mennyiségi becslés: hasonlítsa össze a minta, illetve a feltételezett töménységhez legközelebb álló standard oldat csúcsainak magasságát vagy területét. Amennyiben az eltérés 10 %-nál nagyobb mértékű, akkor az elemzést meg kell ismételni egy másik standard oldattal történő összehasonlítással, egészen addig, ameddig az eltérés 10 %-on belüli nem lesz. A tartalmazott mennyiség meghatározása az elemi befecskendezések átlaga alapján történik.
- 4.4. Az eredmények kifejezése: ppm-ben (mg/kg). Az eljárás érzékelési korlátja 0,01 mg/kg.

XII. MELLÉKLET

A SZŰZ OLÍVAOLAJ ÉRZÉKSZERVEKSEL MEGHATÁROZHATÓ TULAJDONSÁGAINAK ÉRTÉKELÉSE

1. CÉL

A következő módszer célja a szűz olívaolaj aromajellemzőinek értékeléséhez szükséges kritériumok meghatározása és az értékelés metodikájának kialakítása.

2. ALKALMAZÁSI TERÜLET

A következőkben leírt módszer csak a közvetlen fogyasztásra alkalmas szűz olívaolaj érzékszervekkel történő értékelésére alkalmazható. A módszer a szűz olaj ízhatásainak érzékelésére vonatkozó, numerikus skálán történő osztályozásra korlátozódik, csoportban tevékenykedő, válogatott kóstolók egy csoportjának értékelése alapján.

3. AZ ÉRZÉKSZERV ELEMZÉS ÁLTALÁNOS ALAPSZÓKÉSZLETE

Lásd az „Érzékszervi elemzés: általános alapszókészlet” című fejezetet.

4. AZ OLÍVAOLAJJAL KAPCSOLATOS SZAKKIFEJEZÉSEK

Mandula: ez az aroma két alakban jelenhet meg: az egyik a friss mandulára jellemző, a másik a szárított, egészséges mandulára, amely könnyen összetéveszthető a kezdődő avasodással. A megkülönböztetés egy utólagos aroma alapján történik, amikor az olaj érintkezésben marad a nyelvvel és a szájpadlással. Állott szagú, édes olívaolajokra jellemző.

Alma: olívaolaj olyan aromája, amely erre a gyümölcsre emlékeztet.

„Atrojado” (dohos): olyan olajok jellegzetes aromája, amelyek előrehaladott erjedésben lévő, halmokban tárolt olívaolajból készültek.

Keserű: a zöld vagy színüket váltó olívaolajokból készült olajok jellegzetes aromája. Intenzitásától függően lehet többé-kevésbé kellemes.

Sós: sós oldatokban tartósított olívaolajokból nyert olajok jellegzetes aromája.

Uborka: azokban az esetekben kialakuló aroma, amikor valamilyen olajat túl hosszú ideig tartanak hermetikusan lezárva, különösen konzervdobozban; az aroma kialakulása a 2,6 nonadienál kialakulásának köszönhető.

Földszagú: olyan olívaolajokból nyert olaj jellegzetes aromája, amelyeket földesen, sárosan takarítottak be, és lemosásuk elmaradt. Ezt az aromát esetenként dohos-páras szag kíséri.

Eszpartó: új eszpartó-fű-szítán kipréselt olívaolajokból származó olajok jellegzetes aromája. Az aroma változhat aszerint, hogy a sajtolást zöld eszpartó-fűvön vagy száraz eszpartó-fűvön végezték.

Íztelen vagy sima: olyan olívaolaj aromája, amelynek az aromikus jellemzők elvesztése miatt az érzékszervekkel érezhető jellemzői nagyon gyengék.

Gyümölcsös: olyan aroma, amely mind ízben, mind pedig illatban az érési folyamatának optimális szakaszában leszedett egészséges, friss gyümölcsre emlékeztet.

Fű: néhány olaj jellegzetes aromája, amely a frissen vágott fűre emlékeztet.

Zsíros: annak az olívaolajnak a szaga, amelyet olyan üzemben préseltek, ahol az olaj-, zsír- vagy ásványolaj-maradékanyagokat nem megfelelően távolították el a gépekről.

Zöld levelek (keserű): kifejezetten zöld vagy levelekkel és gallyakkal együtt darált olívaolajokból származó olívaolaj aromája.

Férges: olyan olívaolajokból származó olívaolaj jellegzetes aromája, amelyet nagymértékben elleptek az olajbogyó-fúrólégy (*Dacus oleae*) lárvái.

Nyers: olyan olajok által keltett jellegzetes érzés, amelyek a kóstolásnál szájösszehúzó reakciót váltanak ki.

Széna: bizonyos olajok aromája, amely többé-kevésbé száraz fűre emlékeztet.

Melegített vagy égetett: olyan olajok jellegzetes aromája, amelyet a feldolgozás során túlzott mértékű és/vagy túlzott idejű melegítés okoz, különösen akkor, amikor az olívbogyó-pépet termikusan összekeverik, ha ezt nem megfelelő körülmények között végzik.

Fémes: fémre emlékeztető aroma. Olyan olajok jellemzője, amelyek a darálás, keverés, sajtolás vagy tárolás során nem megfelelő körülmények között hosszabb időre kapcsolatba kerültek élelmiszerekkel vagy féme-lületekkel.

Izapos-üledékes: a föld alatti tartályokból és kádakból lefejtett üledékből visszanyert olaj aromája.

Dohos-párás: olyan terméskből nyert olajok jellegzetes aromája, amelyben nagymennyiségű gomba és élesztőgomba fejlődött ki annak következtében, hogy több napon keresztül párás helyen ömlesztve tárolták.

Állott: olyan olaj jellegzetes aromája, amelyet túlságosan sokáig tartottak tartályokban. Olyan olajban is megjelenhet, amelyet túl régen csomagoltak.

Olajseprő: jellegzetes aroma, amely az olívaolaj-pogácsára emlékeztet.

Sajtolószita: olyan olívbogyókból nyert olaj jellegzetes aromája, amelyeket olyan szennyezett sajtolószitaikon dolgoztak fel, amelyeken erjedt maradékokat hagytak.

Avas: minden olajra és zsírra jellemző, a levegővel való hosszú időtartamú érintkezés miatt kialakuló auto-oxidációból eredő jellegzetes aroma. Ez az aroma kellemetlen és nem lehet korrigálni.

Érett gyümölcsös: érett olívbogyóból nyert olívaolaj aromája, általában kismértékben illatos, édes ízű.

Fanyar: egyes olajok által keltett jellegzetes hatás, melyek kóistoláskor pépes, tézstaszzerű érzést keltenek.

Szappanos: a kenőszappanra emlékeztető illat- és ízérzetet keltő aroma.

Édes: kellemes íz, nem pontosan cukorízű, de olyan olajban fordul elő, ahol a keserű, erős és átható komponensek nem dominálnak.

Növényi nedv: jellegzetes aroma, amely az olaj nem megfelelő lefejtése és a növényi nedvekkel történő hosszantartó érintkezése következtében alakul ki.

Boros-ecetes: Egyes olajok borra vagy ecetre emlékeztető aromája. Oka elsősorban az olívaolajban szokásosnál nagyobb mértékben keletkező ecetsav, ecetsav-etil-észter és etanol.

5. POHÁR AZ OLAJKÓSTOLÁSHOZ

Lásd az „Olajkóstoló pohár” című fejezetet.

6. VIZSGÁLÓTEREM

Lásd a „Segédlet vizsgálóterem kialakításához” című fejezetet.

7. BERENDEZÉS

A kóstolók számára a feladatuk megfelelő ellátásához szükséges következő felszerelést minden kóstolófülkében biztosítani kell és annak könnyen elérhetőnek kell lennie:

- a mintákat tartalmazó (azonos méretű) poharak, két véletlenszerűen kiválasztott számmal vagy számmal és betűvel megjelölve. A jelöléseket letörölhetetlen, szagtalan ceruzával kell készíteni,
- azonos jelölésű óraüvegek a poharak letakarásához,
- értékelő lap (lásd a 2. ábrát), a használatára vonatkozó utasításokkal,
- ceruza vagy toll,
- kis tálcán almaszeletek,
- egy pohár környezeti hőmérsékletű víz.

8. MÓDSZER

Ez a fejezet a szűz olívaolajok érzékszervi elemzésének végrehajtásához szükséges előzetes ismeretek meghatározására, illetve az ezeken a teszteken részt vevő kóstolók viselkedésének és eljárásának egységesítésére szolgál, akiknek tisztában kell lenniük az olívaolaj-kóstolás általános és különös ajánlásaival.

8.1. A csoport szervezőjének vagy felügyelőjének (vagy a csoportnak) a feladatai

A csoport szervezője egy megfelelő képzettséggel és ismeretekkel rendelkező személy, aki a munkája során előforduló olajfajták terén szakértelemmel rendelkezik. Ez a személy a csoport kulcsembere, ő felelős a csoport munkájának megszervezéséért és lebonyolításáért. Ez a személy hívja be a kóstolókat megfelelő időben, és tisztázza a tesztek elvégzésével kapcsolatban esetleg felmerülő problémákat, de tartózkodik a mintákkal kapcsolatos bármilyen véleménynyilvánítástól.

Ennek a személynek a feladata a berendezések leltározása, azok megfelelő tisztántartásának biztosítása, a minták előkészítése, kódolása és a mintáknak a kóstolást végző személy részére a megfelelő kísérleti körülmények között történő átadása, valamint a kapott adatok összegyűjtése és azok statisztikai feldolgozása, hogy a lehető legkevesebb erőfeszítéssel a legjobb eredményt érje el.

A csoport felügyelőjének a munkájához érzékszervi képességekre, a minták előkészítésénél és precíz elrendezésénél pontosságra van szüksége, valamint képesnek kell lennie a tesztek türelmes tervezésére és végrehajtására. A csoport felügyelőjének feladata a kóstolócsoport tagjainak ösztönzése, az érdeklődésük, kíváncsiságuk felkeltése a köztük kialakított versenyszellem révén. Biztosítja azt, hogy a véleményét ne ismerjék meg, illetve megakadályozza, hogy az esetleges vezető személyiségek nézeteiket rákényszerítsék a többi kóstolóra. Ennek a személynek a feladata a kóstolók képzése, kiválasztása és ellenőrzése, továbbá az arról történő meggyőződés, hogy megfelelő szinten tartják képességeiket.

8.2. Tesztkörülmények

8.2.1. Minta mérete

Mindegyik pohárban 15 ml olaj van.

8.2.2. Tesztelési hőmérséklet

A vizsgált olajmintákat $28\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ hőmérsékleten kell a poharakban tárolni. Azért erre a hőmérsékletre esett a választás, mert ezen a normál hőmérsékleten, amelyen az olajokat fűszerként használják, a legmegfelelőbb az érzékszervekkel meghatározható tulajdonságok különbségeinek észlelése. Egy másik tényező, amely emellett a hőmérséklet mellett szól, az, hogy alacsonyabb vagy magasabb hőmérsékleteken az aromatikus összetevők alig párolognak, vagy olyan illékony komponensek keletkeznek, amelyek a melegített olajra jellemzőek.

8.2.3. Vizsgálati idő

Az olajok kóstolására reggel a legalkalmasabb. Bizonyított tény, hogy vannak a nap folyamán optimális íz- és illatérzékelési periódusok.

Az étkezések előtt megfigyelhető egy időszak, amikor az illat- és ízlelési érzékenység megnövekszik, míg az étkezéseket követően csökken az érzékelő képesség.

Ezt a feltételt azonban nem szabad szélsőségesen kihasználni, mikor az éhség megzavarja a kóstolókat és ezáltal csökkenti a megkülönböztetési képességüket, különösen preferencia-, illetve elfogadási feltételeiket.

9. KÓSTOLÓK

Az étkezési olívaolajok érzékszervekkel meghatározható tulajdonságait vizsgáló tesztekben kóstolóként résztvevő személyeket a hasonló minták megkülönböztetésére vonatkozó képességeik alapján kell képezni és kiválasztani; figyelembe kell venni, hogy a pontosságuk a képzéssel fokozható (lásd a megfelelő fejezetet).

A tesztekhez 8–12 kóstolóra van szükség, azonban javasolt néhány további kóstolót tartalékként behívni az esetleges hiányzások áthidalására.

9.1. Általános ajánlások a jelöltek és a kóstolók számára

Ezek az ajánlások a jelöltek és a kóstolók munkájuk során tanúsított viselkedésére vonatkoznak.

A kóstolónak, amikor a csoport felügyelője behívja egy érzékszervi vizsgálaton történő részvételre, meg kell jelennie a korábban megadott időpontban és be kell tartania a következőket:

- 9.1.1. A teszt meghatározott kezdési ideje előtt legalább 30 perccel nem dohányozhat.
- 9.1.2. Nem használhat semmilyen illatosító szert, kozmetikai szert vagy szappant, amelynek az illata eltart a teszt kezdetéig. Az illatok megszüntetésére megfelelő időközönként, a kézmosáshoz illatmentes vagy enyhén illatosított szappant használhat, amit azután lemos és megszárit.
- 9.1.3. A teszt végzése előtt legalább egy órával nem ehet.
- 9.1.4. Fizikai rosszullét esetén, különösen ha ez érinti a szaglási vagy ízlelési képességet, vagy ha bármilyen olyan pszichológiai hatás alatt áll, amely megakadályozza abban, hogy a munkájára figyeljen, a kóstoló értesíti erről a csoport felügyelőjét a teszten való részvétel alóli felmentés vagy megfelelő döntés meghozatala céljából, figyelembe véve a csoport fennmaradó részének középértékétől való lehetséges eltérést.
- 9.1.5. Amennyiben a fentieknek megfelel, a kóstoló a lehető legszabályosabb és legcsendesebb módon elfoglalja a számára kijelölt filkét.
- 9.1.6. Amikor leült, ellenőrzi, hogy rendelkezésre állnak-e a megfelelő berendezések és azok megfelelően vannak-e elrendezve, és meggyőződik róla, hogy az óraüvegen lévő jelzés megegyezik a poháron lévő jelzéssel.
- 9.1.7. Figyelmesen elolvassa az értékelő lapon lévő utasításokat, és addig nem kezdi meg a minta vizsgálatát, amíg teljesen biztos nem lesz az elvégzendő feladatban. Amennyiben valamilyen kétsége merülne fel, személyesen megbeszéli a tapasztalt problémákat a csoport felügyelőjével.
- 9.1.8. A kóstoló felveszi a poharat, ekkor még rajta tartja a poháron az óraüveget, és kissé megdönti; ezután ebben a helyzetben körbeforgatja a poharat, hogy a lehető legnagyobb mértékben benedvesítse a pohár belső felületét. Amikor eddig a fázisig elért, leveszi az óraüveget és egyenesen, lassú, mély lélegzetvételekkel megszagolja a mintát, ameddig ki nem alakította a vizsgált olajról alkotott véleményét. A szaglás nem tarthat tovább 30 másodpercnél. Amennyiben ez alatt az idő alatt nem született meg a döntés, akkor az újbóli próbálkozás előtt rövid pihenőt kell tartania. A kóstoló a szaglási teszt befejezését követően az aromát (teljes szaglási-ízlelési- tapintási érzet) vizsgálja. Ennek elvégzéséhez kortyol egy kicsit (megközelítőleg 3 ml) az olajból. Nagyon fontos, hogy az olajat elossa a teljes szájüregben, a száj és a nyelv elejétől kezdődően végig az oldalak mentén a hátsó részig és a szájpadlásig, mivel ismert tény, hogy a négy alapíz, az édes, a sós, a savanyú és a keserű érzékelése a nyelv és a szájpadlás különböző területein változó intenzitású.

Elengedhetetlen az, hogy a kóstoló a nyelv hátsó részén megfelelő mennyiségű olajat lassan terítsen szét a torok irányába, mialatt arra figyel, hogy milyen sorrendben jelennek meg a keserű és a csípős ingerek; amennyiben ez nem történik meg, egyes olajok esetén mindkét inger elkerülheti a figyelmet, vagy a keserű ingert elnyomhatja a csípős inger.

A szájon keresztül történő gyors, egymást követő belégzések nem csak a minta egész szájban történő szétterítését teszik lehetővé a kóstoló számára, hanem azt is, hogy az orr hátulján keresztül érzékelje az illékony aromás összetevőket.

Az érintéssel történő érzékelést is figyelembe kell venni. Észlelésük esetén tehát le kell jegyezni a cseppfolyóságot, a ragadóságot és a kaparást vagy szúrást, és amennyiben a teszt ezt előírja, intenzitásukat számszerűsíteni kell.

- 9.1.9. A szűz olívaolajok érzékszervekkel történő vizsgálata során minden olajból csak egy minta vizsgálható minden sorozatban, hogy elkerülhető legyen a többi minta közvetlenül ezt követő kóstolása által okozott kontraszthatás.

Mivel az egymást követő kóstolások az érzékelő képesség kifáradását vagy elvesztését okozzák, olyan terméket kell használni, amely képes az előző kóstolás során a szájban maradó olaj eltávolítására.

Egy kis szelet alma (megközelítőleg 15 g) használata javasolt, amely összerágás után a köpöcsésébe köpöthető. Ezután ki kell öblíteni a száját kis mennyiségű, szobahőmérsékletű vízzel. Egy kóstolás befejezése és egy újabb megkezdése előtt legalább 15 perccel kell elteltetnie.

9.2. A jelöltek kiválogatása

Ezt a feladatot a csoport szervezője végzi, aki személyes interjút készít a jelöltekkel, hogy megismerje személyiségüket és környezetüket. Az előírt fiziológiai és pszichológiai feltételek nem túlzottan szigorúak, mivel elméletileg bármely átlagos személy alkalmas lehet a részvételre. Az olyan tényezőket, mint a nem, életkor, különleges szokások (dohányzás) stb. újabb olyan más tényezők váltották fel, mint az egészségi állapot, a személyes érdeklődés és a munka elvégzésére rendelkezésre álló szabadidő.

Az interjú során a csoport szervezője elmagyarázza a feladat jellegét a jelöltnak, valamint azt, hogy ez megközelítőleg mennyi időt igényel. Ezután tájékozik a jelölt érdeklődéséről és motivációjáról, illetve hogy mennyi idő áll ténylegesen rendelkezésére. Referenciaként a következő kérdőív használható.

KÉRDŐÍV

Kérem, válaszoljon a következő kérdésekre:

- | | | |
|--|----------------------------------|---------------------------------|
| | Igen | Nem |
| 1. Szeretne részt venni az ezzel a témával kapcsolatos munkában? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 2. Véleménye szerint ez a munka hozzájárulhat az élelmiszerek minőségének javulásához hazai és nemzetközi viszonylatban? | Igen
<input type="checkbox"/> | Nem
<input type="checkbox"/> |
| 3. Amennyiben igen, miért ⁽¹⁾ ? | | |
| | | |
| | | |
| 4. Tisztában kell lennie azzal, hogy akkor kell az olajokat kóstolnia, mikor erre felkérést kap. Felkészült erre? | Igen
<input type="checkbox"/> | Nem
<input type="checkbox"/> |
| 5. Szeretné-e összehasonlítani szagló-ízlelő képességeit a kollégáival? | Igen
<input type="checkbox"/> | Nem
<input type="checkbox"/> |
| 6. Van-e ideje a részvételre? Megfelelő függetlenséggel rendelkezik-e ahhoz, hogy maga ossza be a napi munkáját? | Igen
<input type="checkbox"/> | Nem
<input type="checkbox"/> |
| 7. Amennyiben felettesétől függ, véleménye szerint engedélyezi-e az ön számára, hogy a rendszeres munkájából több alkalommal fél órára hiányozzon valamilyen okból kifolyólag több egymást követő napon? | Igen
<input type="checkbox"/> | Nem
<input type="checkbox"/> |
| 8. Be tudja-e pótolni a munkájából a kóstolási vizsgálatokon való részvétel miatt kiesett időt? | Igen
<input type="checkbox"/> | Nem
<input type="checkbox"/> |
| 9. Véleménye szerint jár-e önnek ezért a munkáért honorárium? | Igen
<input type="checkbox"/> | Nem
<input type="checkbox"/> |
| 10. Milyen formában? | Igen
<input type="checkbox"/> | Nem
<input type="checkbox"/> |

A csoport szervezője ezeket az információkat használja a jelöltek kiválogatására és elutasítja azokat, akik kevés érdeklődést mutatnak az ilyen jellegű munka iránt, akik nem állnak rendelkezésre vagy akik nem tudják világosan kifejezni magukat.

9.3. A csoport „átlagos küszöbértékének” meghatározása a „karakterisztikus jellemzők” terén

Válasszon ki gondosan négy olajat, amelyek mindegyike a következő jellemzők valamelyikének egy képviselője: „atrojado” (dohos), boros, avas és keserű, valamint a lehető legtisztább és legnagyobb intenzitású.

Vegyen azonos mennyiséget mindegyik olajból, és készítsen olyan mintasorozatokat, amelyek elemeinek koncentrációja 2-szeres arányban áll egymással, és az egymást követő oldatokból, illetve megfelelő vívőanyagból állnak, egészen addig, amikor már nem lehet megkülönböztetni a tisztán vívőanyagot tartalmazó poharat az utolsó kettő vagy három oldattól. Az utolsó két pohár csak vívőanyagot tartalmaz.

Egészítse ki a sorozatot magasabb koncentrációt tartalmazó poharakkal, hogy összesen nyolc elemből álló sorozatot kapjon.

Készítsen az így előkészített különböző koncentrációjú mintákból megfelelő mennyiségűt, hogy valamennyi jelöltnek mindegyik jellemző teljes sorozatából adhasson.

A jelöltek egyes jellemzők szerinti „átlagos küszöbértékének” meghatározásához adjon mindegyiküknek egy poharat, amelyben az előkészített koncentrációjú olaj van, és egy másikat, amelyben 15 ml tiszta vívőanyag van. A teszt elvégzését követően a jelöltnek jeleznie kell, hogy a két minta azonos-e vagy sem.

Ismételje meg ugyanezt a tesztet az adott jellemző megmaradt mintáival.

Jegyezze fel az egyes koncentrációról az összes jelölttől kapott helyes válaszok számát, és adja meg ezt a számot az összes elvégzett teszt százalékában.

⁽¹⁾ Írja le, véleménye szerint mi lehet egy élelmiszer, vagy még inkább az olívaolaj érzékszervekkel végezhető vizsgálatának a haszna.

Ezután vegye fel abszcisszatengelyként növekvő sorrendben a tesztelt koncentrációkat, ordinátaként pedig az egyes koncentrációk helyes felismeréseinek százalékos értékét.

Az 1. ábrán ezeknek az utasításoknak egy gyakorlati megvalósítása látható. Az érzékelési küszöböt a 75 %-os helyes felismerést jelentő ordinátapontnak a görbéről az abszcisszára történő extrapolálásával kapjuk.

E „küszöbérték”-koncentrációnak – amely minden kiindulásként használt olaj esetében más és más lehet, mivel a jelenlévő jellemző intenzitásától függ – azonosnak kell lennie a különböző csoportokba jelöltek eltérő csoportjai esetében; ez nem függ össze semmiféle szokással vagy jellegzetes preferenciával. Ebből következően ez egy közös referenciapont, amely minden megszokott embercsoportnál azonos, és a különböző csoportoknak kizárólag a szagló-ízlelő érzékenységük alapján történő homogenizálására használható.

A csoportra megállapított küszöbérték-koncentráció alapján a következő módon járjon el:

Készítsen növekvő és csökkenő koncentrációjú oldatsorozatokat úgy, hogy a „küszöbérték-koncentráció” legyen a sorozat 10. helyén, így természetesen a 11. és a 12. helyen lévő koncentrációk hígabbak lesznek, aminek következtében nehezebb lesz észrevenni a kiválasztott jellemzőt tartalmazó olaj jelenlétét.

A C_{10} koncentrációt véve alapként, a többi minta a következő képlet alapján készíthető el:

$C_{10} \times a^n$, ahol az „a” egy állandó, a hígítási tényező, amelynek értéke = 1,5 és az „n” az a kitevő, amelynek értéke 9 és -2 között változik.

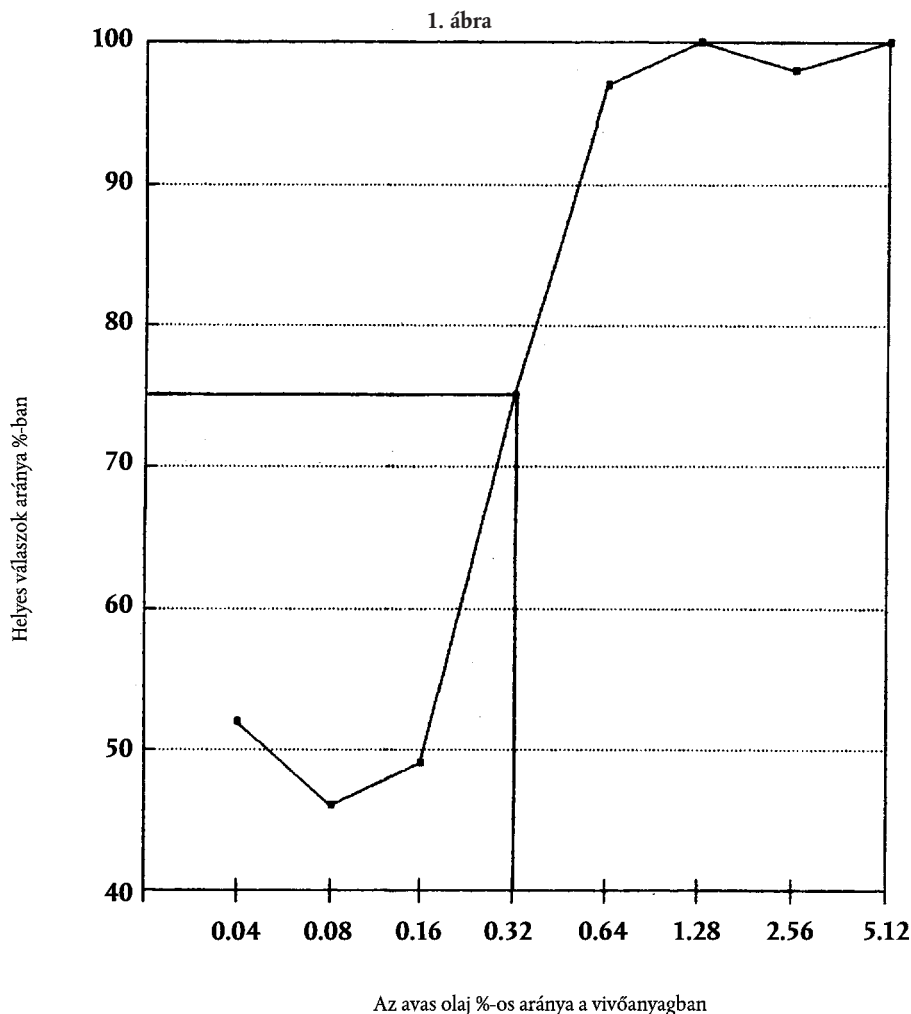
Példa: tegyük fel, hogy az avas olaj esetében megállapított küszöbérték 0,32; $C_{10} = 0,32$, aminek alapján, mivel az „a” = 1,5, a mintasorozat a következő koncentrációjú:

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

Amennyiben a fenti eljárást megismétlik a fennmaradó három jellemzőre, azok megállapított küszöbértékei alapján, amelyeket szintén a fenti módszerrel határoznak meg, meghatározhatók az egyes ingerek azonos aromatikus intenzitású skálái minden laboratóriumra, még abban az esetben is, mikor a kiindulási olajok hibái csak különböző intenzitás esetén érzékelhetők.

9.4. A kóstolók kiválasztása az intenzitásosztályozásos módszer alapján

A kiválasztási eljárás során kétszer-háromszor annyi jelöltnek kell lennie, mint amennyi a csoport munkájához szükséges, így kiválaszthatók a legérzékenyebb vagy a legjobb megkülönböztető képességekkel rendelkező emberek. Minden esetben javasolt ugyanolyan terméket használni a kiválasztásnál, mint amelynek a vizsgálatát végezni fogják (ebből következően minden esetben olívaolajat fognak használni).



A módszer kiválasztásánál nem szabad megfeledkezni arról, hogy a hatékonyságon túl az elfogadott módszernek a felhasznált olaj mennyisége, az elküldött minták száma és a kiválasztásra fordított idő tekintetében a lehető legtakarékosabbnak kell lennie. A kiválasztási eljárás hatékonysága a következő három függő változó optimális szintjének megválasztásán múlik: a) „költség”, amelyet a tesztek száma határoz meg; b) a potenciálisan megfelelő jelöltek közül a szűrés során véletlenül kizártak „aránya”; c) azon jelölteknek „aránya”, akik a nem megfelelő anyag ellenére véletlenül átjutottak a kiválasztási folyamaton.

A kiválasztott szelekciós eljárás, azaz az intenzitást értékelő teszt, amely az ASTM (Amerikai Vizsgálati és Anyagtársaság) STP (Különleges Műszaki Kiadványa) 440. számának 53. oldalán található, megadott négy pontja a következők szerint módosul:

1. a minták számának csökkentése a sorozatokban;
2. az ingerek körének bővítése, tekintettel azon szaglási-ízlelési feljegyzett elemek számának növelésére, amelyeken a kiválasztás alapul, hogy az olívaolajoknál leggyakrabban tapasztalt hibákhoz igazítsák őket;
3. a koncentrációs arányok változtatása a sorozatokban; és
4. az eredmények statisztikai feldolgozása.

A szükséges berendezés

- 1 500 ml térfogatú palackok vagy üveglombikok,
- sötét színű kóstoló poharak,
- 10, 15, 1 000 és 1 500 ml térfogatú beosztásos kémcsövek.

A szükséges termékek

- Merck paraffin (referencia: 7 160, DAB 8, USP XX), illetve íz- vagy szagmentes olajos vivőanyag (például frissen finomított olívaolaj vagy más hasonló olaj),
- a következő olajok: „atrojado” (dohos), boros, avas és keserű.

9.4.1. Eljárás

Az oldatok elkészítését követően folytassa külön-külön egyes ingerekre a kiválasztási folyamatot 25 jelölttel a következő eljárás szerint:

1. Készítsen 12, kóddal megjelölt kóstoló pohárból álló sorozatokat (minden jelölt részére egy sorozatot). Öntsön 15 ml-t az egyes kóstoló poharakba a $C_{10x_a}^n$ képlet alapján készített különböző koncentrációjú oldatokból.
2. A kóstoló poharaknak a megtöltésüket követően a kóstolás megkezdését megelőzően legalább egy óráig az óraüvegekkel letakarva kell maradniuk a kóstolóhelyiségben 20–22 °C hőmérsékleten, hogy homogénizálódjon a hőmérsékletük a környezeti hőmérséklettel.
3. Ezután a szervező sorozatonként, csökkenő koncentráció szerinti sorrendben sorba rendezi a 12 kóstoló poharat.

Következő lépésként megkéri mindegyik jelöltet, hogy egymaga végezze el a tesztet a következő utasítások betartása mellett:

9.4.2. A jelölteknek szóló utasítások

Az egyes jelöltek elé elhelyezett 12 kóstoló pohár az „atrojado” (dohos), boros, avas és keserű ingereket kiváltó oldatok valamelyikét tartalmazza. A kóstoló poharak tartalma közötti megkülönböztetés alapja az illat intenzitása. A legintenzívebb illatú pohár a bal szélen található, a többi pohár jobbra csökkenő szagintenzitási sorrendben van elhelyezve. A jobb szélső kóstoló pohár olyan kis szagintenzitású lehet, hogy már nem is lehet érzékelni.

A következő módon járjon el: ismerkedjen meg a sorozatban lévő mindegyik kóstoló pohár illatával. Ezt kezdje a jobb oldalról (a 12-es számú) és anélkül, hogy kifáradna, próbálja megjegyezni mindegyik szag intenzitását.

Amikor úgy érzi, hogy hozzászokott a szagkoncentráció-skálához, hagyja el a helyiséget.

Eközben a szervező eltávolítja az egyik kóstoló poharat a sorozatból, és a jobb oldali utolsó pohárral azonos szintre állítja, majd a többi balra eltolja, hogy megszüntesse közöttük a rést. Ezután térjen vissza a helyiségbe és folytassa a tesztet.

A teszt a következőket foglalja magában:

A sorozatból kiemelt kóstoló poharat vissza kell tenni a pontos helyére. Ennek végrehajtásához szagolja meg a mintát és hasonlítsa össze a többivel annyiszor, ahányszor akarja, miközben ne feledje, hogy a megfelelő helyre történő visszahelyezéshez erősebb szagúnak kell lennie, mint a tőle közvetlenül jobbra lévő minta, és gyengébb szagúnak, mint a tőle közvetlenül balra lévő minta. A tesztet három másik pohárral is megismétlik.

A fenti utasítások mellett minden jelöltnek adnak egy űrlapot, hogy a teszt és a válaszok begyűjtése könnyebben elvégezhető legyen.

A JELÖLTEK KIVÁLASZTÁSA

Teszt száma: Jellemző:

A kivett pohár a számú pozícióhoz tartozik.

Dátum: Név:

9.4.3. Az eredmények összegyűjtése

A csoport szervezője az elrendezésük megkönnyítése céljából a következő módon jegyzi fel az egyes jelöltekkel kapcsolatos adatokat:

A jelölt neve	A vizsgált jellemző	A megadott (K')	A pontos sorszám (K)	Minősítés (K' — K) ²
.....
.....

9.4.4. Statisztikai minősítési eljárás

Ennek a kiválasztási eljárásnak az esetében a pontos helyükre visszahelyezendő kóstoló poharak minden jelölt esetében ugyanazok. Az ebből a célból végzett statisztikai számításokhoz ezek az egyes jellemzők sorozatainak következő pozícióin lévő poharak:

„Atrojado” – dohos (Fy)	Boros (W)	Avas (Rd)	Keserű (Bt)
Pohár száma (10, 5, 7, 2)	Pohár száma (11, 3, 8, 6)	Pohár száma (7, 4, 10, 2)	Pohár száma (6, 3, 11, 9)

A poharak sorozatokban elfoglalt pozícióinak megfelelő szám nem változhat, mivel az erre a tesztre kidolgozott statisztikai számítás tekintetbe veszi a poharak pontos helyükre történő véletlenszerű visszatételének valószínűségét is.

Annak érdekében, hogy a jelöltek között az információk átadását nagymértékben megnehezítse, a csoport szervezője biztosítja a következőket:

1. a jelöltek között ne legyen semmiféle érintkezés. Az egyes jelöltek esetében eltérő jelöléseket alkalmazzanak;
2. a jelöltek semmilyen módon ne következethessék ki a kivett poharak pozícióját;
3. ha az összes jelöltnek ugyanazokat a korábban bejelölt poharakat adják is, a jelölteknek való átadásuk sorrendjét meg kell változtatni.

Minden jelöltet minősíteni kell a teljesítményének megfelelően, a következő módon:

Legyen az $e_1^i, e_2^i \dots e_{12}^i$ a 12 különböző koncentrációjú „i” jellemzőt tartalmazó 12 pohár (az „i” bármely jellemző lehet: „atrojado” – dohos, boros, avas és keserű) csökkenő intenzitási sorrendben.

Legyen az e_k^i az egyik kiválasztott pohár, K' pedig az a hely, ahová a jelölt visszatette a sorozatban. Így a K és a K' értékek a kiválasztott pohár tényleges pozíciójának megfelelő, illetve a jelölt által választott, 1-től 12-ig terjedő egész számok.

Legyen a T (maximális megengedett eltérés) egy előzőleg megállapított érték, ami a mi esetünkben 3, így ha $K'-K > T$, a jelölt automatikusan kiesik ⁽¹⁾.

Amennyiben a $K'-K \leq T$, a jelölt elméletileg elfogadható és folytathatja a tesztet, mivel képes az ingert a pontos helyére vagy ahhoz nagyon közel visszatenni.

Ebben az esetben a valamelyik adott ingert (koncentrációt), például az „atrojado” – dohos (Fy) sorozatot meghatározó jelöltnek adott minősítés megegyezik a pohár sorozatban elfoglalt tényleges száma és a jelölt által kiválasztott pozíció száma közötti különbség négyzetével. Azaz:

$$P_h^{(Fy)} = (K' - K)^2$$

Mivel ezt a műveletet minden jelölt esetében elvégzik négy ingerre (koncentrációra) mindegyik jellemzővel, az egyik – például a dohos (Fy) – jellemző rész-minősítése a következő:

$$Z^{Fy} = P_h^{Fy} + P_j^{Fy} + P_l^{Fy} + P_m^{Fy}$$

A következőkben néhány példa látható a művelet megértésének elősegítésére:

1. példa:

Tegyük fel, hogy az „A” jelölt által az „i” jellemző sorozatából kiemelt négy ingerre adott válaszok a következők:

A pohár pontos helye a sorozatban (K)	A jelölt által kiválasztott pozíció (K')	Eltérés a pontos pozíciótól (K'-K)
7	7	7-7 = 0
4	5	4-5 = -1
10	6	10-6 = 4 ⁽¹⁾
2	4	2-4 = -2

⁽¹⁾ Ez a jelölt kizárásra került, mert a teszt során $T > 3$ eredményt ért el.

⁽¹⁾ A csoport szervezője hívja fel a jelölt figyelmét, hogy ésszerűen járjon el, azaz ne veszítsen az érzékenységből a szaglás kifáradása miatt.

2. példa:

Tegyük fel, hogy az egyik jelölt a következő módon rendezte el valamelyik jellemző sorozatának poharait:

A pohár pontos helye a sorozatban (K)	A jelölt által kiválasztott pozíció (K')	Eltérés a pontos pozíciótól (K'-K)
7	7	7-7 = 0
4	4	4-4 = 0
10	7	10-7 = 3
2	3	2-3 = -1

Ez a jelölt nem kerül kizárásra. A következő minősítést kapja:

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

A jelölt végső minősítése a válaszai alapján történik, amiknek alapján kizárják vagy elfogadják kóstolóknak, a négy kérdéses jellemző esetén a következő:

$$P_h^{Fy} + P_j^{Fy} + P_l^{Fy} + P_m^{Fy} = Z^{Fy}$$

$$P_h^W + P_j^W + P_l^W + P_m^W = Z^W$$

$$P_h^{Rd} + P_j^{Rd} + P_l^{Rd} + P_m^{Rd} = Z^{Rd}$$

$$P_h^{Bt} + P_j^{Bt} + P_l^{Bt} + P_m^{Bt} = Z^{Bt}$$

$$\underline{Z \text{ végső} = Z^{Fy} \dots Z^{Bt}}$$

Ahol Fy = „Atrojado” – dohos
W = Boros
Rd = Avas
Bt = Keserű

Most a kérdés annak meghatározása, hogy milyen maximális Z értékig tekinthető úgy, hogy a jelölt megfelelő színvonalú érzékszervi képességekkel, szaglási memóriával és értelmi képességekkel rendelkezik a négy kérdéses inger megválaszolására. Nyilvánvalóan Z minden esetben egy nem-negatív érték, $Z = 0$ esetén a jelölt a neki bemutatott mind a 16 intenzitású mintát (minden jellemzőből négyet) felismerte és megfelelően számszerűsítette. A Z nullától eltérő értékei azt jelzik, hogy a jelölt felismerte azokat a skálatartományokat, amelyekből a kiválasztott intenzitású minták valók, de ezeken a területeken belül nem volt képes meghatározni a pontos pozíciót, mivel a neki bemutatott egy vagy több inger intenzitáskálájára vonatkozó megkülönböztetési képessége nem kielégítő.

Ezért meg kell határozni egy kritikus értéket (Z_c) úgy, hogy amennyiben a jelölt a poharakat az általa korábban felismert területekre véletlenszerűen visszahelyezi, annak valószínűsége, hogy a Z végső minősítése kisebb legyen, mint Z_c , egy megfelelően alacsony szám (α), amelyet előzőleg meg lehet határozni. Más szavakkal, biztosítani kell azt, hogy ennek az eljárásnak a használata során annak valószínűsége, hogy a csoportba olyan kóstolót választanak be, akinek a kiválasztási eljárás során használt ingerek intenzitásának terén mutatott megkülönböztetési képessége nem megfelelő, kisebb, mint α .

Az a értékének megállapításakor (esetünkben $\alpha = 0,05$) a $Z_c - t$ a Z változó valószínűségi eloszlásából kapjuk, amely viszont a P változók (K') valószínűségi eloszlásától függ.

A megfelelő statisztikai számításokat elvégezve a Z_c értékére 34 adódik.

Mikor megszületett az összes jelölt Z minősítése, minden 34 fölötti minősítésű jelöltet kizárnak.

Példaként tekintse meg az A és a B jelölt minősítését:

Jellemző	A jelölt	B jelölt
„Atrojado” – Dohos (Fy)	$Z^{Fy} = 10$	$Z^{Fy} = 12$
Boros (W)	$Z^W = 10$	$Z^W = 11$
Avas (Rd)	$Z^{Rd} = 10$	$Z^{Rd} = 15$
Keserű (Bt)	$Z^{Bt} = 4$	$Z^{Bt} = 0$
	$\Sigma = 34$	$\Sigma = 38$

Mivel a két jelölt 34-es és 38-as Z értéket ért el, A. jelölt megfelel, B. jelöltet pedig kizárják. Mikor minden 34 fölötti minősítésű jelöltet kizártak, a bennmaradókat a kapott Z értékük alapján osztályozzák, amíg a 12 legjobbat ki nem választják.

9.5. Képzés

A képzési szakasz fő céljai:

- a) a kóstolók megismertetése a szűz olívaolajokban előforduló többszörös szaglási-ízlelési-tapintási variánsokkal;
- b) a kóstolók megismertetése a különleges érzékelési módszerekkel;
- c) az érzékelhető jellemzők felismerése, azonosítása és számszerűsítése egyéni képességeinek fejlesztése; és
- d) az érzékenység és a memória fejlesztése a különböző vizsgált jellemzők terén, hogy a végeredmény pontos és konzisztens értékelés legyen.

A képzési szakasz rendszerint számos alkalmat ölel fel a csoport számára rendelkezésre álló lehetőségektől függően, amelyek során az olajok egyénileg történő elemzését követően a kóstolók megvitatják a csoport szervezőjével azokat a problémákat, amelyekkel találkoztak, és magyarázatokat fűznek az adott osztályzatokhoz, hogy azonos ismérveket és véleményeket alakítsanak ki.

A képzésen a meghatározott alkalom után elért szintet a pontos válaszok százalékos arányának növekedésében mérik – amennyiben megkülönböztető próbákat végeznek –, vagy a fokozatokat használó tesztekben a csoport átlagos egyéni eredményei változásának elemzésével.

A képzési időszak gyakorlati hasznossága régóta vitatott, de jelenleg nagyon hatékonynak, sőt elengedhetetlennek tartják az egzakt és pontos érzékszervi adatok gyűjtéséhez.

9.6. A teljesítmény ellenőrzése

A gyakorlott kóstolókból álló csoportok általában rendszeresen és folyamatosan végeznek kóstolásokat, beleértve azokat az érzékszervi tesztek is, amelyek nagy erőfeszítéssel járnak részükről. Az esetek többségében jelentős technológiai és gazdasági jelentőségű döntések múlnak az ítéletükön. Ezért a kiválasztást és képzést követően ellenőrizni kell a kóstolók teljesítményét, annak biztosítása érdekében, hogy az eredményeik pontosak legyenek.

A csoportok összeállítását és a rutinpróbák elvégzését követően nyilvánvalóan megfelelő időközönként ellenőrizni kell a teljesítményüket.

10. A SZŪZ OLÍVAOLAJ ÉRZÉKSZERVEKKEL MEGHATÁROZHATÓ JELLEMZŐI ÉRTÉKELÉSÉNEK ELJÁRÁSA

Amennyiben teljesülnek a fenti előírások, a szükséges berendezések rendelkezésre állnak és a csoportot kiválasztották, mindegyik kóstoló megszagolja és megkóstolja ⁽¹⁾ a kóstoló pohárban lévő olajmintát, melyet elemznie kell. A kóstoló a 2. ábra szerinti lap segítségével elemzi a szaglási-ízlelési-tapintási-mozgási érzeteket, feljegyzi a megfigyelhető „ismérveket” és intenzitásuk mértékét. A következő lépés számukra az olaj minőségének minősítése.

10.1. A 2. ábra szerinti lap használata (az aroma leírása és a minőség minősítése)

Az olívaolajokban a leggyakrabban megtalálható egyes legjellemzőbb érzékszervi hatások, amelyek az aromát jellemzik, a lap bal oldalán vannak felsorolva. Amennyiben a kóstoló bármilyen más olyan ingerrel találkozik, amely nem felel meg a felsorolt jellemzőknek, feljegyzi azt a „megjegyzések” rovatba, azokkal a jellemzőkkel, amelyek a lehető legpontosabban leírják.

Az érzékelhető ingereket az intenzitásuk aránya alapján értékelik, amelyet egy kereszttel (+) jelölnek a megfelelő rovatban, a következő kritériumok alapján:

- 1: alig érzékelhető,
- 2: csekély,
- 3: átlagos,
- 4: jelentős,
- 5: kiemelkedő.

A lap jobb oldalán található 1–9-ig terjedő skálát (a 9 jelenti a kivételes minőséget, az 1 a legrosszabb minőséget) használják a kóstolók a vizsgált olaj jellemzőinek egyszeri, átfogó minősítésére. Ennek a minősítésnek igazodnia kell az olajnak a lap bal oldalára már korábban feljegyzett előnyeihez és hibáihoz.

⁽¹⁾ A kóstoló tartózkodhat a kóstolástól, amennyiben rendkívüli módon vagy nagymértékben kellemetlen jellemzőt talál az illatban, és ezt feljegyzi a minősítő lapon rendkívüli esethez.

A minősítő táblázat első oszlopa (hibák) öt részre van felosztva. Ebből következően az olajok osztályozása elsősorban a kedvezőtlen aromák teljes hiányán vagy meglétén alapul, illetve azon, hogy ezek az aromák milyen jelentőségűek vagy intenzitásúak. Mivel azonban a minősítő táblázat 9 pontig terjed, figyelembe kell venni bizonyos csekély különbségeket vagy szempontokat, amelyek segítik a végső minősítés meghatározását, és amelyek a második oszlopban szerepelnek a „jellemzők” alatt.

10.2. Végső minősítés

A csoport felügyelője összegyűjti az egyes kóstolók által kitöltött űrlapokat, és ellenőrzi, hogy az érzékszervi jellemzők, illetve azok érzékelt és az értékelő lapon rögzített intenzitása megfelel-e az adott olaj esetében várható értékeknek. Amennyiben jelentős különbség van, a felügyelő felkéri a kóstolót a minősítő lapjának ellenőrzésére.

Szükség esetén a kóstolónak meg kell ismételnie a tesztet.

Végül a csoport felügyelője összeállít egy táblázatot, amely a csoport minden tagja által adott minősítést tartalmazza, és kiszámítja azok számtani közepét, illetve a (közéérték) hibájának mértékét.

A csoportnak csak a felülvizsgálati elemzés esetén kell megismételnie a teszteket, hogy a mintáról harmadik értékelés is rendelkezésére álljon, az egy tizedesjegyet tartalmazó végleges minősítés az így kialakított három minősítés számtani középértéke.

Amennyiben a keserűség és/vagy a csípősség közepes intenzitása magasabb 2,5-nél, az olajat ennek megfelelően meg kell jelölni, és fel kell jegyezni, hogy az olaj keserű és/vagy csípős.

Az eredmények kifejezése: az átlagos minősítés alapján a csoport felügyelője meghatározza, hogy a mintát milyen kategóriába sorolják, az I. mellékletben megállapított határértékeknek megfelelően. Az elemzési jegyzőkönyvben csak ez a kategória szerepel.

Megjegyzés: A mintáknak az elemzés megkezdéséig hűtőszekrényben kell maradniuk lezárva, és minden elemzést követően vissza kell kerülniük a hűtőszekrénybe, ameddig a tesztet háromszor el nem végezték.

2. ábra
Szűz olívaolaj

Értékelő lap
Szaglási – ízlelő – tapintási feljegyzések ⁽²⁾

	0	1	2	3	4	5
Olíva gyümölcs (érett és zöld) ⁽¹⁾						
Alma						
Egyéb érett gyümölcs						
Zöld (levelek, fű)						
Keserű						
Csípős						
Édes						
Egyéb elfogadható jellemző(k)						
(Részletezze:						
.....)						
Savanyú/boros/ecetes/savas ⁽¹⁾						
Fanyar						
Fémes						
Dohos/párás ⁽¹⁾						
Izapos-üledékes						
Dohos („Atrojado”)						
Avas						
Egyéb nem elfogadható						
(Részletezze:						
.....)						

Minősítő táblázat

Hibák	Jellemzők	Végző osztályzat: pontok
Nincs	Olíva gyümölcs	9
	Olíva gyümölcs és egyéb friss gyümölcs aromája	8
		7
Kismértékű és alig érzékelhető	Gyenge gyümölcsös íz	6
Érzékelhető	Tökéletlen gyümölcs-síz, rendellenes szagok és ízek	5
Jelentős, az elfogadhatóság határán	Egyértelműen hibás, rossz szag és íz	4
Nagymértékű és /vagy jelentős, tisztán érezhető		3
	Fogyasztáshoz teljesen megengedhetetlen szagok és ízek	2
		1

Megjegyzések:

A kóstoló neve:

A minta jele:

Dátum:

⁽¹⁾ A nem kívánt részt törölni kell.

⁽²⁾ Érzékelés:

0: (?)

1: alig érzékelhető,

2: kismértékű,

3: átlagos,

4: nagymértékű,

5: igen nagy mértékű.

ÉRZÉKSZERV ELEMZÉS: ÁLTALÁNOS ALAPSZÓKÉSZLET

1. CÉL

E minta célja az érzékszervi elemzés során használt általános kifejezések és magyarázatuk összegyűjtése.

2. SZÓKÉSZLET

2.1. **Általános terminológia**

Érzékszervi elemzés (főnév):

egy termék érzékszervekkel meghatározható jellemzőinek vizsgálata az érzékszervek segítségével.

Érzékelés (főnév):

külső tárgyak vagy események érzékeken keresztül történő felfogása.

Érzékszervekkel meghatározható (melléknév) (jellemező):

egy termék azon jellemzője, hogy érzékszervekkel érzékelhető.

Szakértő (főnév):

(az érzékszervekkel meghatározható jellemzők vizsgálata tekintetében)

egy meghatározott termék érzékszervi elemzésére specializálódott kóstoló, aki alapvető ismeretekkel rendelkezik a termék előállítására és a piaci preferenciák terén.

Kóstoló (főnév):

olyan világosan gondolkodó, kifinomult érzékelésű, képzett személy, akit élelmiszerek érzékszervekkel történő értékelésére választottak ki.

Csoport:

speciálisan képzett és kiválasztott szakértőkből álló, a kérdéses termék érzékszervi elemzésének ellenőrzött körülmények között történő elvégzésére összegyűlt csoport.

Érzet (főnév):

szubjektív jelenség, amely az érzékelő rendszerben inger hatására jelentkezik. Ez a jelenség szubjektíven megkülönböztethető vagy objektíven meghatározható az érintett érzékszervvel, az ingerlés természetétől vagy jellegétől és intenzitásától függően.

Érzékenység (főnév):

kis intenzitású inger érzékszerveken keresztüli mennyiségi és minőségi érzékelésének vagy az ingerek közötti kis különbségek érzékelésének képessége.

Kóstolás (főnév):

olyan művelet, amely egy termék érzékszervekkel meghatározható jellemzőinek érzékelését, elemzését és megítélését jelenti, különösen egy élelmiszer szaglási, ízlelési, tapintási és mozgási jellemzőinek tekintetében.

Elfogadás (főnév):

egy személy vagy közösség olyan cselekedete, amikor szívesen elfogad egy terméket.

Harmónia (főnév):

a termék általános kellemes érzetét keltő jellemzője. Ezt az érzetet a szaglási, ízlelési, tapintási és mozgási jellemzői ingereinek összessége alakítja ki, amikor azok megfelelő koncentrációarányban vannak jelen.

Elfogadhatóság (főnév):

egy termék azon állapota, amikor az érzékszervekkel meghatározható jellemzői alapján valamely személy vagy közösség szívesen elfogadja.

Megkülönböztetés (főnév):

kettő vagy több inger közötti minőségi és/vagy mennyiségi különbségtétel.

Kompenzáció (főnév):

az ingerek kombinációja oly módon történő egymásra hatásának eredménye, hogy mindegyikük kisebb intenzitású érzékelést vált ki, mint ha csak egymagában hatott volna.

Jelleg (főnév):

a vizuálisan érzékelt, érzékszervekkel meghatározható jellemzők kombinációja: méret, alak, szín, felépítés, zavarosság, tisztaság, folyékonyág, habzás és pezsgés. A megjelenés kifejezéssel szemben inkább ezt a kifejezést alkalmazzuk.

Jellemző (főnév):

egy érzékelhető tulajdonság.

2.2. **Fiziológiai kifejezések**

Inger (főnév):

fizikai vagy kémiai stimuláció, amely specifikusan kiváltja a külső vagy belső érzékelő idegvégződések reakcióját.

Ízlelés (főnév):

(ízlelési képesség)

az az érzék, melynek idegvégződései a szájban, különösen a nyelven találhatók, és amelyeket különböző oldatokban lévő vegyületek aktiválnak.

Ízlelési (melléknév):

egy termék olyan jellemzőit írja le, amelyek az ízlelő szerveket ingerlik a négy alapíz: az édes, a sós, a savanyú és a keserű egyikéhez vagy többjéhez tartozó érzetek felkeltésével.

Idegvégződés (főnév):

egy érzékszerv jellegzetes struktúrája, amely izgatható és képes az ingerek felfogására és azok ingerületté történő átalakítására.

Megjegyzés: Az idegvégződések az ingerhez tartozó energia (fény, hő, hang stb.) alapján csoportosíthatók.

Szaglás (főnév):

a szaglószernek közvetlenül vagy közvetve az orron keresztül a külső környezetből gáz formában beérkező molekulákat észlelő és megkülönböztető funkciója.

Intenzitás (főnév):

egy jellemző energiájának nagysága, amely a küszöbértéket meghaladó értékek számszerűsíthető skáláján mérhető.

Hozzászokás (főnév):

az érzékenység időszakos módosulása az érzékszervi ingerek érzékelése terén egy folyamatos, ismétlődő inger vagy ahhoz hasonló inger hatására.

Gátlás (főnév):

valamely érzékszerv vagy egy része reagálásának hiánya az érzékelési küszöb feletti, megfelelő inger hatása esetén.

Reagálás (főnév):

az a működésként, amelyet az érzékelő sejtek végeznek az adott érzékszervre jellemző egy vagy több inger hatására.

Testesség (főnév):

a szájban érzékelt tapintási érzet, amely megmutatja egy termék sűrűségének, viszkozitásának, konzisztenciájának, illetve tömörségének mértékét.

Illat (főnév):

friss, kellemes, élvezetes szag.

Szagolni (ige):

(a szaglásra alkalmazott cselekvő ige)

egy szag érzékelését írja le.

Objektív (melléknév):

a) azt írja le, ami a tárgy valóságos, ellenőrizhető jellemzését adja az emberi tényezők (például preferencia, szokások, hajlam) minimalizálásával;

b) azt a technikát írja le, amely érzékszervi vagy műszeres úton minimalizálja a saját hibákat.

Megjegyzés: A „műszeres” kifejezés szinonimaként történő használata nem javasolt.

Subjektív (melléknév):

azt írja le, ami nem kizárólag inger által okozott, hanem a saját gondolkodásunk és érzéseink által keltett érzet.

Mozgásérzékelés:

a minta által a szájiüregben történő mozgással keltett nyomásból eredő érzet, illetve az ujj által észlelt (például a sajt ujjal történő megnyomása) érzetek.

Küszöbérték (főnév):

Abszolút küszöbérték:

az érzékelhető inger minimális értéke, amelynek hatására:

- megjelenik az érzet (ingerküszöbérték vagy érzékelési küszöbérték), vagy
- lehetséges az érzékelés azonosítása (felismerési küszöbérték).

Megkülönböztetési küszöbérték:

az érzékszervi inger olyan minimális értéke, amelynél észrevehető különbségek jelennek meg az érzet intenzitásában.

Végső küszöbérték:

az inger maximális értéke, amely fölött az intenzitás növelése nem érződik.

Preferencia-küszöbérték:

egy inger minimális mennyiségi értéke, vagy ennek az ingernek a küszöbérték feletti kritikus értéke, amelynél a semleges ingerhez képest egy elfogadási, illetve elutasítási reakció alakul ki, például a cukros oldat és a víz közötti választás.

Megjegyzés: Különbséget kell tenni az abszolút preferencia-küszöbérték és a megkülönböztetési preferencia-küszöbérték között.

Küszöbérték alatti (melléknév):

az abszolút küszöbérték alatt.

Küszöbérték feletti (melléknév):

az abszolút küszöbérték felett.

Érzékelési kifáradás:

az érzékelési alkalmazkodás egy speciális formája, amikor az érzékenység csökkenése lép fel.

Kompenzáció (főnév):

az ingerek kombinációja kölcsönhatásának eredményeként mindegyikük kisebb intenzitással érződik, mint ha egymagukban hatnának.

Szinergikus (melléknév):

meghatározott anyagok közös hatása, melynek során a kombinációnak köszönhetően az érzékszervekkel meghatározható jellemzők intenzitása magasabb az egyes összetevők hatásainak összegénél.

Kontraszthatás:

növekedés a két egyszerre vagy egymást követően fellépő inger közötti különbségre adott reakcióban.

A konvergenciahatás ellentéte.

Konvergenciahatás:

csökkenés a két egyszerre vagy egymást követően fellépő inger közötti különbségre adott reakcióban. A kontraszthatás ellentéte.

2.3. Az érzékszervekkel meghatározható jellemzőkkel kapcsolatos terminológia

Savas (melléknév):

- a) a legtöbb savas anyag (például citromsav, tejsav, borkősav) híg vizes oldata által keltett elsődleges ízt írja le;
- b) az ezen ízt kiváltó tiszta anyagok vagy keverékek jellemzőjét írja le.

A hozzá tartozó főnév: savasság.

Savanyú (melléknév):

azt az ízlelési-szaglási érzetet írja le, amely az erjedéssel keletkezett savakban és az ezen érzetet keltő élelmiszerekben általában túlsúlyban van.

Néhány tényező, amely hozzájárul ehhez a jellemzőhöz, az erjedéssel kapcsolatos, például az élelmiszerek tejsavas vagy ecetsavas erjedése.

Keserű (melléknév):

- a) a különféle anyagok, mint például a kinin, koffein és néhány alkaloida híg vizes oldata által keltett elsődleges ízt írja le;
- b) az ezen ízt kiváltó tiszta anyagok vagy keverékek jellemzőjét írja le.

A hozzá tartozó főnév: keserűség.

Sós (melléknév):

- a) ízlelésen keresztül érzékelt jellegzetes érzet, amelynek legjellegzetesebb példáját a nátrium-klorid oldat adja;
- b) az ezen ízt kiváltó tiszta anyagok vagy keverékek jellemzőjét írja le.

A hozzá tartozó főnév: sósság.

Édes (melléknév):

- a) a különféle anyagok, mint például a szacharóz vizes oldata által keltett elsődleges ízt írja le;
- b) az ezen ízt kiváltó tiszta anyagok vagy keverékek jellemzőjét írja le.

A hozzá tartozó főnév: édesség.

Fanyar (melléknév):

- a) az olyan termékek, mint például az egyes csersavak (például: ázsiai datolyaszilvafa csersava, kökény csersava) híg vizes oldata által a szájban keltett komplex érzetet írja le;
- b) az ezt az érzetet kiváltó tiszta anyagok vagy keverékek jellemzőjét írja le.

A hozzá tartozó főnév: csersavasság.

Zamat (főnév):

a zamat a szaglási-ízlelési-tapintási és a mozgási érzetek kombinációja, amely lehetővé teszi, hogy az értékelő egy többszintű kedvező vagy kedvezőtlen ismérvet állapítson meg.

Íz (főnév):

- a) az ízlelőbimbók egyes oldható anyagok által történő ingerlésekor kialakuló érzés.
- b) az ezekkel az anyagokkal keltett speciális érzés jellemzője.

Alapíz (főnév):

a négy ismert megkülönböztető íz valamelyike: édes, sós, savanyú, keserű.

Szag (főnév):

- a) a szaglászerv által illóanyagok felszippantásakor felfogott érzetek kombinációja;
- b) a fenti anyagok bármelyike által keltett speciális érzés jellemzője.

Aroma (főnév):

- a) valamely étel ízlelésekor a szaglászerv által indirekt módon felfogott kellemes érzés;
- b) az illatszerek terén és a köznapi nyelvben ezt a kifejezést használják az orron keresztül közvetlenül felfogott hasonló érzésekre is.

Utóíz, maradék íz (főnév):

az inger szájban való megszűnését követően felfogott érzések kombinációja, amely különbözik az előzőleg felfogott érzéstől.

Aromás (melléknév):

- a) azoknak a tiszta anyagoknak vagy keverékeknek a jellemzőjét írja le, amelyek az ízlelésükkor az aromaként ismert érzéseket keltik;
- b) azokat a termékeket írja le, amelyek közvetlenül az orron keresztül vizsgálva illat vagy frissesség érzeteit keltik.

Struktúra (főnév):

egy termék szilárd vagy áramlástani állapotának jellemzői, amelyek kombinációi kóstolás közben ingerelhetik a mechanikai receptorokat, különösen azokat, amelyek a szájban találhatóak.

Megjegyzés: Ez a kifejezés kizárólag az objektív jellemzőkre vonatkozik, nem pedig az olyan létrejövő egyéb érzésekre, amelyeket általánosságban konzisztenciának, rostszerűségnek, zsírosságnak stb. neveznek.

Száj átöblítése:

az a tevékenység, amelynek során a szájban lévő étel érintkezésbe lép a száj összes érzékeny területével, hogy az általa keltett orális hatások érzékelhetőek legyenek.

Megjegyzés: Ez a szóképzés kibővíthető az ISO 5492 szabványok I–V. részeinek és egyéb kiadványoknak, mint például J. L. Magnen „*Les cahiers techniques du Centre National de Coordination des Etudes et Recherches sur la Nutrition et l'Alimentation*” című művének; stb. figyelembevételével.

OLAJKÓSTOLÓ POHÁR

1. CÉL

Ezen előírás célja, hogy leírja az étkezési olajok érzékszervekkel történő elemzése (szag, íz, zamat) során használt pohár jellemzőit.

Ezenfelül leírja az e vizsgálathoz szükséges megfelelő hőmérséklet fenntartásához elfogadott fűtőberendezést is.

2. A POHÁR LEÍRÁSA

Az 1. ábrán látható rajz célja az ilyen berendezés szükséges jellemzőinek megállapítása, amelyek a következők:

- a) maximális szilárdság, hogy a pohár ne dőljön el és az olaj ne ömöljön ki;
- b) olyan talp, amely könnyen illeszkedik a fűtőberendezés bemélyedéseibe, hogy a pohár alja egyenletesen melegedjen;
- c) olyan alak, amely az aljánál a legszélesebb, hogy az olaj illékony összetevői könnyen felszabaduljanak, de a szájánál keskenyedik, hogy ezek az összetevők koncentráldjanak, így biztosítva azt, hogy könnyebben legyenek érzékelhetőek és azonosíthatók az orr számára;
- d) sötét színű üvegből készül, hogy megakadályozza a kóstolót az olaj színének érzékelésében, megelőzve mindennemű előítéletet és a részrehajlás vagy a célzatosság esetleges megjelenését.

2.1. Méretek

A pohár rajza az 1. ábrán látható, méretei pedig a következők:

– teljes térfogat	130 ml ± 10 ml,
– teljes magasság	60 mm ± 1 mm,
– a száj átmérője	50 mm ± 1 mm,
– a pohár legszélesebb átmérője	70 mm ± 1 mm,
– a talp átmérője	35 mm ± 1 mm,
– a pohár falvastagsága	1,5 mm ± 0, 2 mm,
– a pohár talpának vastagsága	5 mm ± 1 mm.

Minden pohárhoz kell egy óraüveg, amely átmérőjének 10 mm-rel nagyobbak kell lennie a pohár szájánál. Ez az óraüveg használható az aroma elvesztését, illetve a porosodást megakadályozó fedélként.

2.2. Gyártási jellemzők

A pohárnak ellenálló üvegből kell készülnie és sötét színűnek kell lennie, hogy tartalmának színe ne legyen felismerhető, valamint karcoktól és zárványoktól mentesnek kell lennie.

A karimájának simának, peremesnek kell lennie, valamint egy szintben kell lennie.

Az üveget meg kell edzeni, hogy elviselje a teszt során adódó hőmérséklet-változásokat.

2.3. Felhasználási útmutató

A poharakat tisztítsa meg illatmentes szappannal vagy tisztítószerrel, majd folytassa addig az öblítést, amíg a tisztítószer teljesen el nem tűnik. Az utolsó öblítést desztillált vízzel végezze, majd hagyja a poharat lecsöpögni és szárítóberendezésben szárítsa ki.

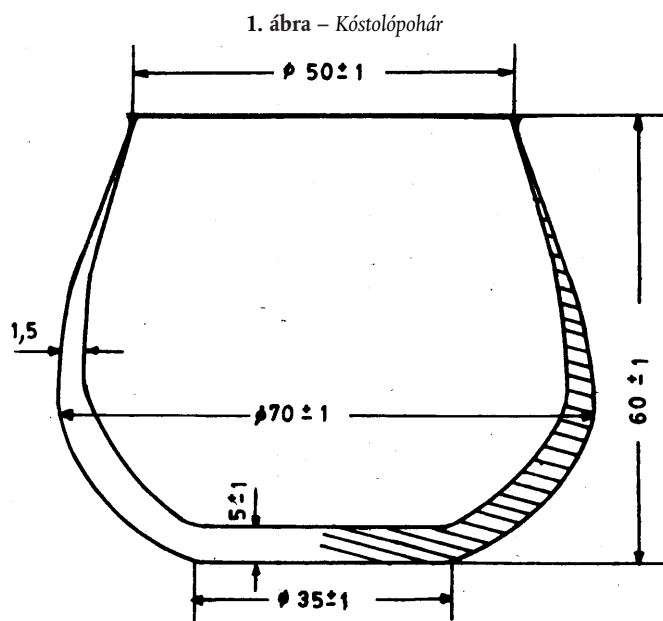
Nem használhatók sem tömény savak, sem krómsavkeverékek.

A poharakat tartsa addig a szárítóban, ameddig felhasználásra kerülnek, vagy tartsa olyan szekrényben, ahol védve vannak idegen szaggal történő szennyeződéstől.

Felhasználás előtt szagoljon meg minden poharat, hogy meggyőződjön arról, hogy nincsen jelen semmilyen idegen szag. A teszt előkészítése során gondolni kell a poharak és az azokban lévő olajok megjelölésére. A teszt szervezője lehet az egyetlen személy, aki ismeri a jelek és az olajok közötti kapcsolatot.

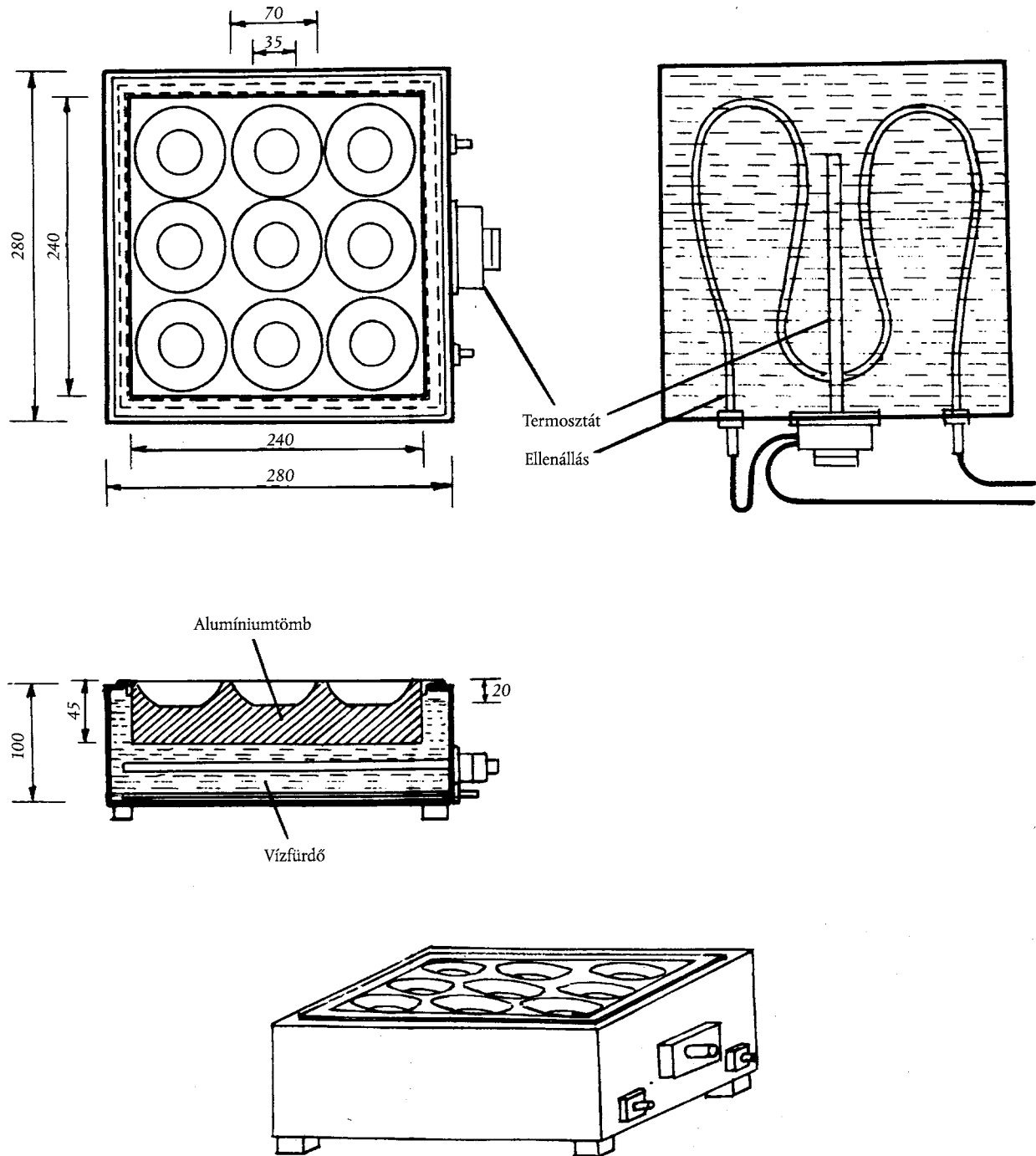
3. A MINTÁK MELEGÍTÉSÉRE SZOLGÁLÓ BERENDEZÉS

A minták érzékszervi vizsgálatát egy meghatározott hőmérsékleten kell végezni, amely olajok esetén 28 ± 2 °C. Ezért minden fülkében egy melegítő berendezést (lásd a 2. ábrát) kell felállítani a kóstoló számára elérhető módon. A melegítő berendezés egy szabályozható hőmérsékletű vízfürdőbe merülő alumínium tömbből áll, hogy állandó hőmérsékletet tudjon tartani. Az alumíniumtömbön több bemélyedés található, amelyekbe illeszkednek a poharak aljai. A melegítő berendezés és a különböző bemélyedéseibe helyezett poharakban lévő olaj hőmérséklete közötti különbség nem haladhatja meg a ± 2 °C-ot.



(méretek milliméterben)

2. ábra – A mintákat melegítő berendezés (méretek milliméterben)



ÚTMUTATÓ A VIZSGÁLATI TEREM BERENDEZÉSÉHEZ

1. BEVEZETÉS

A vizsgálati termet arra tervezték, hogy olyan megfelelő, kényelmes, szabványos környezetet teremtsen az érzékszervi teszten résztvevő csoport számára, amely megkönnyíti a munkát és segít az eredmények megismételhetőségének és reprodukálhatóságának javításában.

2. CÉL

Ennek az előírásnak a célja azon alapfeltételek meghatározása, amelyeket a vizsgálati terem felszerelésekor be kell tartani.

3. A FELSZERELÉS ÁLTALÁNOS LEÍRÁSA

A helyiségeknek attól függetlenül, hogy mekkora méretűek (lásd a 3.1. pontot), meg kell felelniük a következő jellemzőknek:

A helyiségeket kellemes és megfelelő (lásd a 3.2. pontot), de semleges stílusú megvilágítással kell ellátni. Ehhez javasolható a falakat csillapító, egyszerű világos színűre festeni, hogy megnyugtató környezet alakuljon ki ⁽¹⁾.

A helyiségeknek könnyen takaríthatónak és bármilyen zajforrástól elszigeteltnek kell lenniük; ezért lehetőleg hangszigeteltnek kell lenniük. Ezen felül lehetőleg mentesek legyenek minden külső szagtól, ezért amennyiben lehetséges, hatékony szellőztető berendezéssel kell felszerelni. Amennyiben a környezeti hőmérséklet ingadozása azt szükségessé teszi, a termet légkondicionáló berendezéssel kell felszerelni, hogy a hőmérsékletet megközelítőleg 20–22 °C hőmérsékleten tartsa.

3.1. Méretek

A helyiségek méretei gyakran a laboratóriumok vagy a vállalkozások lehetőségeitől függenek. Általában megfelelő méretűnek kell lenniük ahhoz, hogy 10 kóstolófülkét fel lehessen állítani, és egy minta-előkészítő területet ki lehessen alakítani bennük.

Nyilvánvaló azonban, hogy jobb minél nagyobb területet erre a célra elkülöníteni, mivel ekkor kiegészítő területeket lehet kialakítani, például a berendezések tisztítására, a konyhai előkészületek és a nyílt csoportok gyülekezése számára.

3.2. Világítás

Az általános megvilágításnak, legyen az napfény vagy mesterséges fény (például fénycsővek), egyenletesnek, szabályozhatónak és diffúznak kell lennie.

3.3. Hőmérsékleti és nedvességi jellemzők

A helyiségben folyamatosan kellemes hőmérsékletet és páratartalmat kell biztosítani. Különleges körülménytől eltekintve a 20–22 °C-os hőmérséklet és a 60–70 %-os relatív páratartalom javasolható.

4. A KÓSTOLÓFÜLKÉK LEÍRÁSA

4.1. Általános jellemzők

Az érzékszervi elemzéshez használt fülkéket a helyiségekben egymás mellé kell elhelyezni. Azonosaknak kell lenniük, és a helyüket elfoglalt kóstolók egymástól történő elválasztásához megfelelő magasságú és szélességű válaszfallal kell ellátni őket.

A fülkék bármilyen megfelelő anyagból készülhetnek, amely könnyen tisztítható és gondozható (például fából, furnérlemezről, rétegelt lemezből stb.). Amennyiben festést alkalmaznak, annak a száradást követően teljesen szagmentesnek kell lennie.

A fülkékben elhelyezett székeknek kényelmeseknek és állítható magasságúaknak kell lenniük.

Minden fülkében egyedi világításnak kell lennie, amelynek iránya és erőssége szabályozható.

Különösen ajánlott a fülkéket felszerelni egy külső lámpához csatlakoztatott jelzőgombbal, amelynek segítségével a kóstoló, anélkül, hogy zavarná a többi kóstolót, jelezheti a külső felügyelőnek, hogy elkészült a tesztel, további mintákra van szüksége, hiányzik valamilyen felszerelési tárgy, valamilyen rendellenességet fedezett fel, vagy információra van szüksége stb.

⁽¹⁾ A helyiség színsémája és megvilágítása befolyásolhatja az érzékszervi elemzés eredményeit.

4.2. Méretek

A fülkéknek megfelelő méretűeknek és kényelmeseknek kell lenniük. Általában a következő méretűeknek kell lenniük:

- szélesség:
 - 0,75 m (mosogató nélkül)
 - 0,85 m (mosogatóval),
- hosszúság:
 - 0,50 m (asztal)
 - további 0,20 m a válaszfal számára,
- az elválasztó falak magassága:
 - 0,60 m az asztaltól számítva,
- az asztal magassága:
 - 0,75 m.

4.3. Berendezés

Az asztal felületének könnyen tisztíthatónak kell lennie.

Ennek a felületnek egy részét ivóvíz minőségű folyóvízzel ellátott mosogató kialakítására kell felhasználni. Amennyiben ez nem valósítható meg, a hely felhasználható egy tálca, köpöcsésze vagy hasonló berendezés részére.

Amennyiben a teszt során a mintákat a környezeti hőmérséklet alatti vagy feletti állandó hőmérsékleten kell tartani, ajánlott egy erre a célra szolgáló eszköz (vízfürdő, főzőlap stb.) használata.

Felszerelhető egy, a talaj felett 1,10 m magasságú polc a különböző felszerelési tárgyak (poharak, kisebb berendezések stb.) elhelyezésére.

Amennyiben a fülkék elhelyezkedése a vizsgálati teremben lehetővé teszi, érdemes felszerelni egy, a minták átadását megkönnyítő szerkezetet. Ez lehet tolóablak (1. ábra), a poharak vagy csészék (magas tartályok) számára megfelelő függőleges tengelyű forgószerkezet (2. ábra), vagy ha a mintákat tartalmazó edények kicsik, akkor egy vízszintesen nyíló tolóablak (3. ábra). Azt kell biztosítani, hogy a nyílás megfelelő méretű legyen a mintákat tartalmazó tálcák és poharak átadásához.

A 4. ábrán egy példa látható a vizsgálati terem és a további helyiségek elhelyezésére.

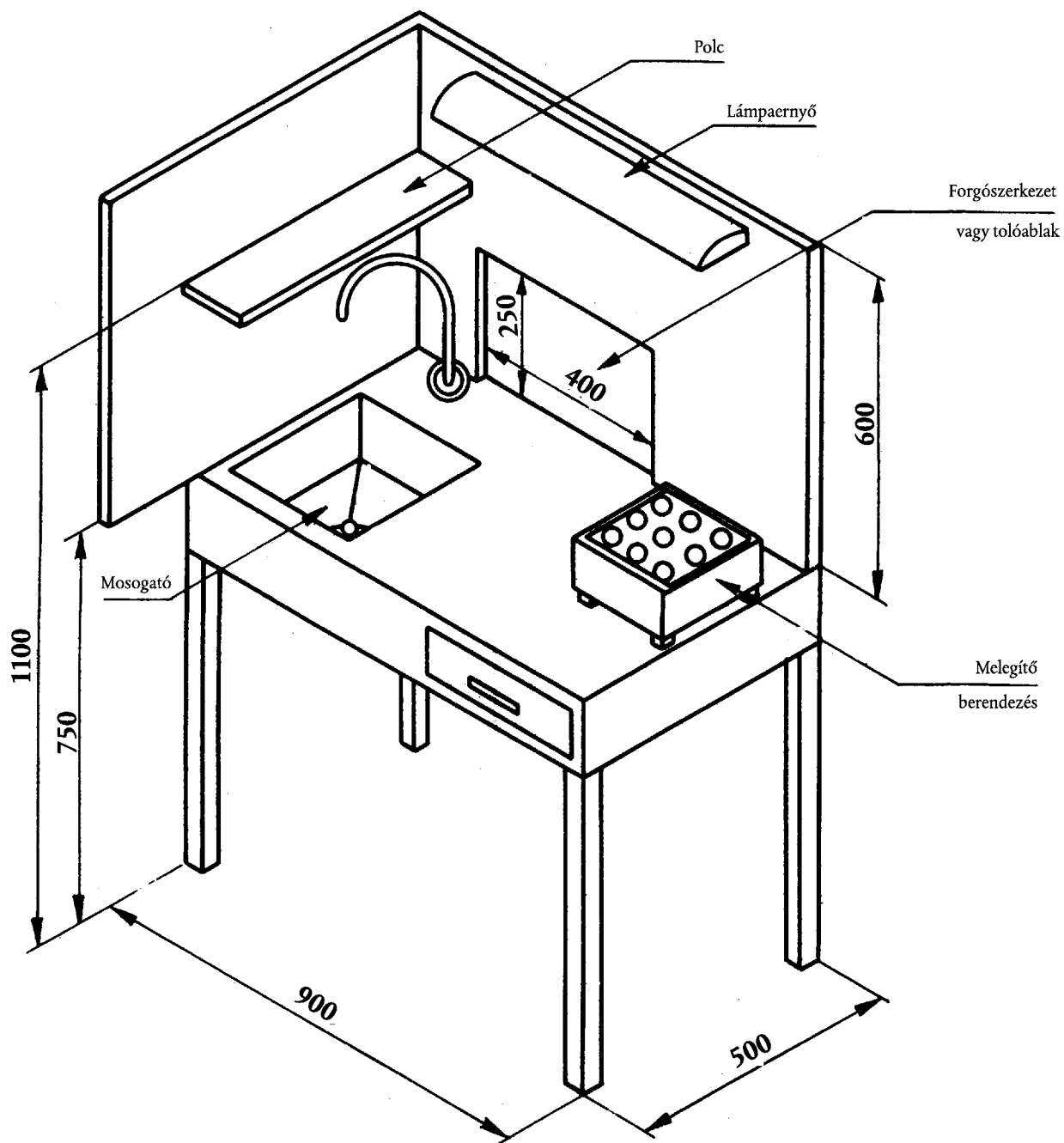
5. TOVÁBBI HELYSÉGEK

Amennyiben elegendő a hely, javasolható, hogy külön helyiség álljon rendelkezésre a minták (konyhai vagy egyéb) előkészítésére, a poharak vagy berendezések elrendezésére és a tesztek megelőző vagy követő megbeszélések megtartására. Amennyiben lehetséges, a helyiségeket tisztán kell tartani; ezekből a helyiségekből semmilyen körülmények között nem szűrődhet át semmilyen szag, zaj vagy beszélgetés, amely zavarhatná a vizsgálati teremben dolgozó kóstolókat.

Megjegyzések: A fentiekben az ideális körülmények szerepelnek. Amennyiben nem lehetséges kizárólag az érzékszervi vizsgálat számára biztosítani ezeket a létesítményeket, akkor a tesztek elvégezhetőek a minimális feltételeket (megvilágítás, hőmérséklet, zaj, szagok) teljesítő helyiségekben, összecsukszó elemekből álló mobil fülkék felállításával, olyan módon, hogy legalább a kóstolókat elkülönítsék egymástól.

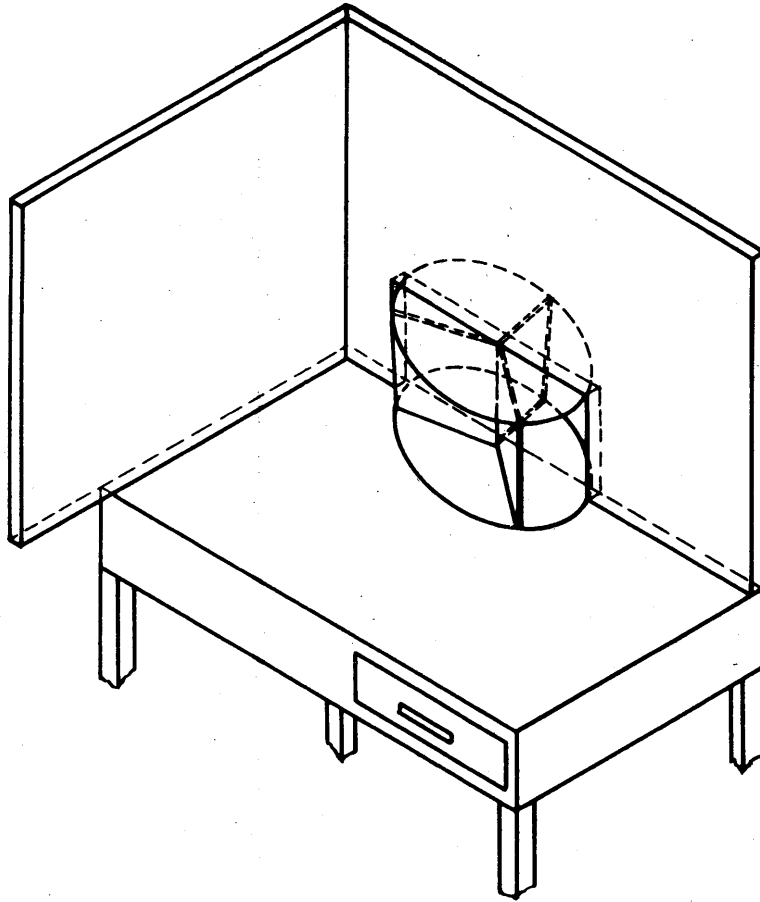
A FÜLKE BERENDEZÉSE

1. ábra



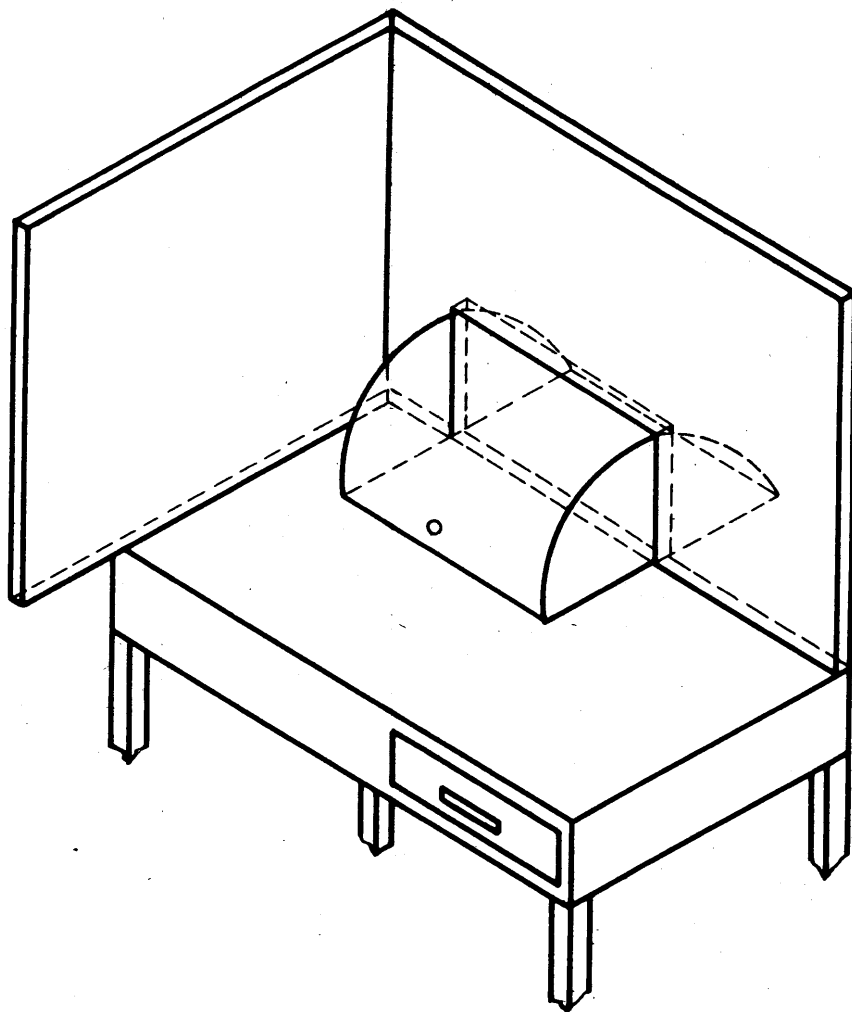
A MINTÁK ÁTADÁSÁRA SZOLGÁLÓ FORGÓSZERKEZET

2. ábra



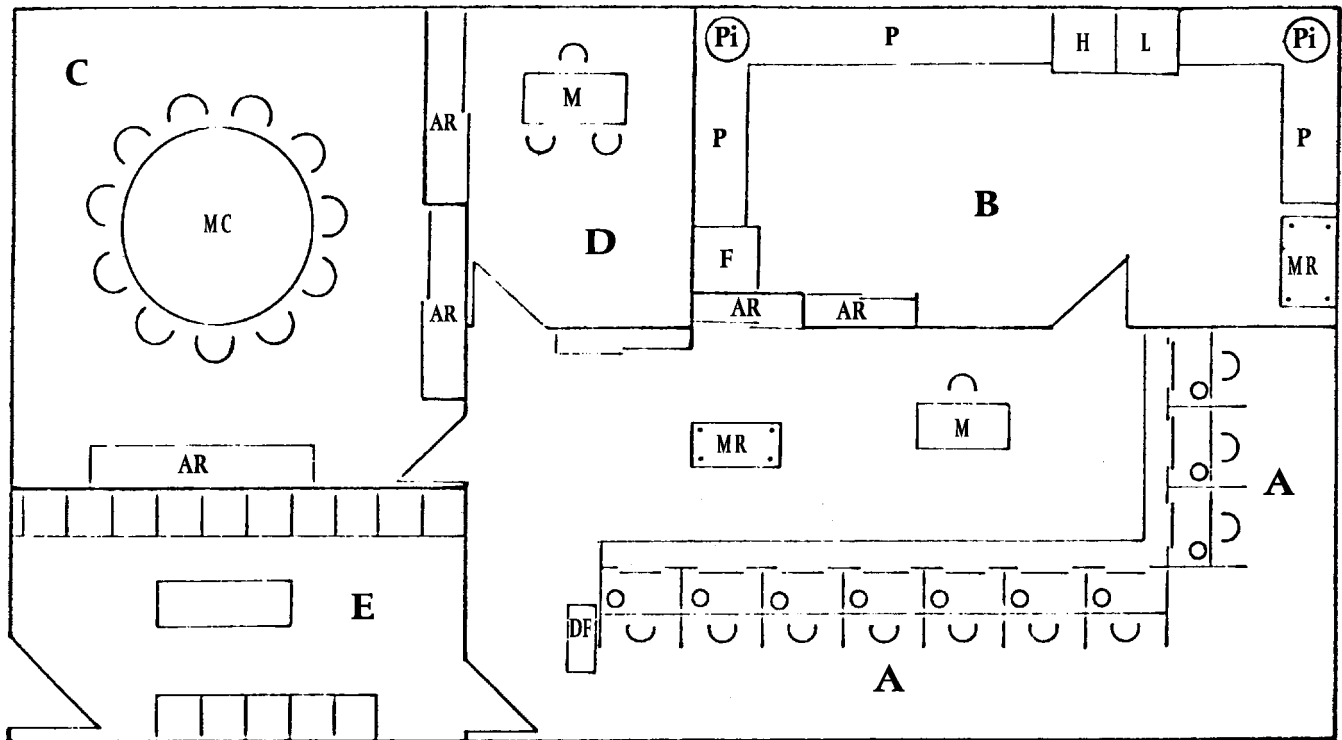
A MINTÁK ÁTADÁSÁRA SZOLGÁLÓ TOLÓABLAK

3. ábra



ÉRZÉKSZERV ELEMZŐ LABORATÓRIUM (Példa)

4. ábra – Példa a vizsgálati terem elrendezésére



- A: kóstolófülkék,
 B: a berendezések tisztítására és a minták előkészítésére szolgáló helyiség,
 C: csoport gyülekezőhelye,
 D: iroda,
 E: váróterem,
 F: hűtőszekrény,
 H: tűzhely,
 L: mosogatógép,
 Pi: mosogató,
 AR: szekrény,
 MR: kocsi,
 DF: nyomtatványok szétosztása,
 MC: kerek asztal,
 P: munkalap.

XIII. MELLÉKLET

A FINOMÍTÁS TÉNYÉNEK BIZONYÍTÁSA

1. AZ OLÍVAOLAJ LABORATÓRIUMBAN TÖRTÉNŐ SEMLEGESÍTÉSE ÉS SZÍNTELENÍTÉSE

1.1. Az olívaolaj semlegesítése

1.1.1. Berendezés

- 300 ml térfogatú, magas főzőpohár,
- laboratóriumi centrifuga 100 ml térfogatú kémcsövekkel,
- 250 ml térfogatú főzőpohár,
- 100 ml térfogatú gömbölyű fenekű lombik,
- 1 liter térfogatú választótölcsér.

1.1.2. Reagensek

- nátrium-hidroxid 12 %-os vizes oldata,
- fenolftalein 1 %-os etilalkoholos oldata,
- tiszta hexán, AR,
- tiszta propán-2-l, AR.

1.1.3. Eljárás

a) *Az olajsavként kifejezett szabad zsírsavból 30 %-nál kevesebbet tartalmazó olajok*

Tegyen 50 g nyers olajat a 300 ml térfogatú, magas főzőpohárba és melegítse 65 °C hőmérsékletre vízfürdőben. Folyamatos keverés közben adjon hozzá az olaj szabad savtartalmának megfelelő 12 %-os nátrium-hidroxid oldatot 5 % feleslegben. Folytassa a keverést öt percen keresztül, miközben tartsa a hőmérsékletet 65 °C-on.

Öntse át a keveréket 100 ml térfogatú centrifugához használatos kémcsövekbe, és centrifugálással választsa le a szappanszerű pépet. A tisztított olajat öntse át a 250 ml térfogatú főzőpohárba, és mossa át 50–60 ml forrásban lévő desztillált vízzel, a vizet szifonon keresztül távolítva el. Addig folytassa a mosást, amíg a maradék szappan nyomai el nem tűnnek (a fenolftaleinben megszűnik a rózsaszín elszíneződés).

Centrifugázza az olajat a kis mennyiségű maradékvíz eltávolítására.

b) *Az olajsavként kifejezett szabad zsírsavból 30 %-nál többet tartalmazó olajok*

Öntsön 50 g nyers olajat, 200 ml hexánt, 100 ml propán-2-ol-t és az olaj szabad savtartalmának megfelelő 12 %-os nátrium-hidroxid oldatot 0,3 % feleslegben az 1 literes választótölcsérbe.

Keverje alaposan egy percen keresztül. Adjon hozzá 100 ml desztillált vizet, keverje meg ismét, majd hagyja állni.

A rétegek szétválását követően folyassa ki az alsó, a szappanokat tartalmazó réteget. A két réteg között (felül az olajos, alul a vizes) gyakran kialakul egy nyálkás anyagból és nem oldódó anyagból álló közbenső réteg, amelyet szintén el kell távolítani.

1.2. A semlegesített olaj szintelenítése

1.2.1. Berendezés

- 250 ml térfogatú gömbölyű fenekű lombik három csiszolt nyakkal a következők csatlakoztatásához:
 - a) fokbeosztásos hőmérő, amelyen leolvasható a 90 °C hőmérséklet;
 - b) percenként 250–300 fordulaton működő mechanikus keverő, a vákuumban történő működtetéshez megfelelően felszerelve;
 - c) vákuumszivattyú csatlakozója,
- 15–30 millibar maradéknyomás előállítására képes vákuumszivattyú manométerrel.

1.2.2. Eljárás

Mérjen ki megközelítőleg 100 g semlegesített olajat a háromnyakú lombikba. Helyezze be a hőmérőt és a keverőt, csatlakoztassa a vákuumszivattyút és folyamatos keverés mellett melegítse fel 90 °C hőmérsékletre. A hőmérséklet tartása mellett folytassa addig a keverést, ameddig a vizsgált olaj teljesen vízmentes nem lesz (megközelítőleg 30 perc). Ezt követően szüntesse meg a vákuumot, és adjon hozzá 2–3 g aktív festékföldet.

Állítsa vissza a vákuumot 15–30 millibar értékű maradéknyomásra a 90 °C hőmérséklet fenntartása mellett, keverje 30 percig megközelítőleg 250 percenkénti fordulaton.

Még forró állapotban szűrje le egy termosztatikus kemencében (50–60 °C).

XIV. MELLÉKLET

A KOMBINÁLT NÓMENKLATÚRA 15. ÁRUCSOPORTJÁNAK 2., 3. ÉS 4. KIEGÉSZÍTŐ MEGJEGYZÉSEI

1. „2. A. megjegyzés: A 1509 és a 1510 KN-kódok alkalmazásában az »olívaolaj« a kizárólag az olívaolajból származó olajokat jelenti, nem beleértve az újraészterezett olívaolajokat és az olívaolaj más olajokkal való keverékét.

Az újraészterezett olívaolaj vagy egyéb olajok jelenléte az V., VII., IX., X. és XII. mellékletben szereplő módszerek segítségével állapítható meg. A 1509 és 1510 KN-kódok szerinti olívaolajak szterin- és savösszetételének analitikai jellemzői a következő táblázatban találhatóak:

I. táblázat – Savas összetétel az összes mennyiséghez viszonyítva		II. táblázat – Szterinösszetétel az összes mennyiséghez viszonyítva	
Mirisztinsav	M 0,1	Koleszterin	M 0,5
Linolénsav	M 0,9	Brasszikaszterin	M 0,2
Arachidsav	M 0,7	Kampeszterin	M 4,0
Eikoszansav	M 0,5	Sztigmaszterin	< kampeszterin
Behénsav	M 0,3	Betaszitoszterin ⁽¹⁾	m 93,0
Lignocerin-sav	M 0,5	Δ 7-sztigmaszterin	M 0,5

M = Maximum

m = minimum

⁽¹⁾ 1 Delta-5-23-Sztigma szterin + Koleszterin + Betaszitoszterin + Szitosztanol + Delta-5-Avenaszterin + Delta-5-24-Sztigmasztadienol.

2. B. megjegyzés:

A »szűz olívaolaj« jelentése olyan olaj, amely kizárólag az olívaolajból származik, olyan körülmények mellett, különösen olyan termikus körülmények mellett, amelyek nem okozzák az olaj károsodását, és amely olajok a mosás, leöntés, centrifugálás vagy szűrés kivételével nem estek át semmilyen kezelésen, kizárva az olívaolajból oldószerrel kinyert (1510) és a következő I. és II. szakaszban meghatározott olajokat.

- I. Az 1509 10 10 alszám alkalmazásában a »szűz lampante olívaolaj« a savasságától függetlenül a következő jellemzőkkel rendelkező olívaolajokat jelenti:

- a) 400 mg/kg-ot meg nem haladó nyíltszénlácúalkohol-tartalom,
- b) 4,5 %-ot meg nem haladó eritrodiol- és uvaol- tartalom,
- c) 1,3 %-ot meg nem haladó telített zsírsav-tartalom a trigliceridek 2-pozícióján és/vagy
- d) a következő jellemzők valamelyike:
 - (d1) a 20 meq O₂/kg-ot meghaladó peroxid-szám,
 - (d2) a 0,2 mg/kg-ot meghaladó összes illékonyhalogénezettoldószer-mennyiség vagy a 0,1 mg/kg-ot meghaladó mennyiség bármelyik oldószerből,
 - (d3) 0,250-nél magasabb és az olaj aktivált timfölddel történő kezelését követően 0,11-nél nem magasabb K₂₇₀ (100) kioltási együttható. Néhány olajnak, amelyek olajsavban kifejezett szabad zsírsavtartalma az aktivált timföldön történő keresztlúveztést követően több, mint 3,3 g/100 g a XV. mellékletben leírt módszer szerint lehet 0,11-et meghaladó K₂₇₀ kioltási együtthatója. Ebben az esetben a laboratóriumi semlegesítést és a színtelenítést követően a következő jellemzőkkel kell rendelkezniük:

- 1,20-nál nem magasabb K_{270} kioltási együttható,
- a kioltási tényező eltérése (ΔK) ⁽¹⁾ a 270 nm-es tartományban magasabb, mint 0,01, de nem magasabb, mint 0,16,
- (d4) érzékszervekkel meghatározható jellemzők, amelyek az elfogadási határértékeket meghaladó, észrevehető hibákat tartalmaznak, és a csoport által adott vizsgálati pontszám alacsonyabb, mint 3,5.

II. Az 1509 10 90 alszám alkalmazásában a »szűzolaj« jelentése olyan olívaolaj, amely a következő jellemzőkkel rendelkezik:

- a) az olajsavban kifejezett savtartalma nem haladja meg a 3,3 g/100 g-ot;
- b) a 20 meq O_2 /kg-ot nem meghaladó peroxid-szám;
- c) 300 mg/kg-ot meg nem haladó nyíltszénláncúalkohol-tartalom;
- d) a 0,2 mg/kg-ot nem meghaladó összes illékony halogénezettoldószer-mennyiség, illetve a 0,1 mg/kg-ot nem meghaladó mennyiség bármelyik oldószerből;
- e) 0,250-nél nem magasabb, és az olaj aktivált timfölddel történő kezelését követően 0,10-nél nem magasabb K_{270} kioltási együttható ⁽²⁾ ;
- f) a kioltási tényező eltérése (ΔK) a 270 nm-es tartományban nem magasabb, mint 0,010;
- g) érzékszervekkel meghatározható jellemzők, amelyek tartalmazhatnak az elfogadási határértékeken belül észrevehető hibákat és a csoport által adott vizsgálati pontszám magasabb, mint 3,5;
- h) 4,5 %-ot nem meghaladó eritrodol- és uvaoltartalom;
- i) 1,3 %-ot meg nem haladó telített zsírsavtartalom a trigliceridek 2–pozícióján.

2. C. megjegyzés: Az 1509 90 00 alszám olyan olívaolajakat foglal magában, amelyeket az 1509 10 10 vagy az 1509 10 90 alatti olívaolajok kezelése révén nyertek, függetlenül attól, hogy keverték-e szűz olívaolajjal és a következő jellemzőkkel rendelkeznek:

- a) az olajsavban kifejezett savtartalom nem haladja meg a 3,3 g/100 g-ot;
- b) 350 mg/kg-ot meg nem haladó nyíltszénláncúalkohol-tartalom;
- c) 0,250-nél magasabb és 1,20-nál nem magasabb, és az olaj aktivált timfölddel történő kezelését követően 0,10-nél magasabb K_{270} (100) kioltási együttható ;
- d) a kioltási tényező eltérése (ΔK) a 270 nm-es tartományban magasabb, mint 0,010, de nem magasabb, mint 0,160;
- e) 4,5 %-ot nem meghaladó eritrodol- és uvaoltartalom;
- f) 1,5 %-ot meg nem haladó telített zsírsav-tartalom a trigliceridek 2–pozícióján.

2. D. megjegyzés: Az 1510 00 10 alszám alkalmazásában a »nyers olaj« jelentése olyan olaj, különösen olívamaradék-olaj, amely a következő jellemzőkkel rendelkezik:

- a) az olajsavban kifejezett savtartalma több, mint 2 g/100 g;
- b) 12 %-ot meghaladó eritrodol- és uvaoltartalom;
- c) 1,8 %-ot meg nem haladó telített zsírsavtartalom a trigliceridek 2–pozícióján.

2. E. megjegyzés: Az 1510 00 90 alszám alá azok az olajok tartoznak, függetlenül attól, hogy keverték-e azokat szűz olívaolajjal vagy sem, amelyeket az 1510 00 10 alszám alá tartozó olajok kezelésével nyertek, és nem rendelkeznek az I. és II. pont szerinti jellemzőkkel, amennyiben a telített zsírsavtartalmuk a trigliceridek 2–pozícióján nem haladja meg a 2 %-ot.”

⁽¹⁾ $\Delta K = K_m - 0,5 (K_{m-4} + K_{m+4})$

K_m a kioltási tényező az adszorpciós görbe csúcsának hullámhosszánál a 270 nm tartományban.

K_{m-4} és a K_{m+4} a K_m hullámhossznál 4 nm-rel alacsonyabb, illetve magasabb hullámhosszakon.

⁽²⁾ Amennyiben a K_{270} értéke meghaladja a 0,25-öt, a tesztet meg kell ismételni aktivált timföldön történő átvezetést követően. K_{270} nem haladhatja meg a 0,10-et.

2. „3. megjegyzés: A 1522 00 31 és a 1522 00 39 alszám nem tartalmazza a következőket:
- a) a XVI. melléklet szerinti módszerrel meghatározva 70-nél alacsonyabb vagy 100-nál magasabb jódszámú olajat tartalmazó zsírszerű anyagok kezeléséből származó maradékok;
 - b) 70-nél nem alacsonyabb vagy 100-nál nem magasabb jódszámú olajat tartalmazó zsírszerű anyagok kezeléséből származó maradékok, amelyek esetében a következő 4. kiegészítő megjegyzésben szereplő rendelet melléklete szerint meghatározott szitoszterin retenciós térfogatát jelentő csúcs alatti terület kisebb, mint az összes szterin terület 93 %-a.”
3. „4. megjegyzés: A fenti termékek jellemzőinek meghatározására szolgáló analitikai módszerek a 2568/91/EGK rendelet mellékleteiben szerepelnek.”
-

XV. MELLÉKLET

1. AZ OLÍVAMARADÉK OLAJTARTALMA

1.1. Berendezés

- megfelelő extrakciós berendezés, 200-250 ml térfogatú gömbölyű aljú lombikkal felszerelve,
- elektromos fűtésű fürdő (például homokfürdő, vízfürdő) vagy főzőlap,
- analitikai mérleg,
- maximum 80 °C-ig szabályozható kemence,
- 103 ± 2 °C pontossággal szabályozható termosztáttal felszerelt elektromos fűtésű kemence, amely levegőárammal átjárható vagy csökkentett nyomáson üzemeltethető,
- mechanikai őrlő, amely könnyen tisztítható és lehetővé teszi az olívmaradékanyagok hőmérséklet-emelkedés nélküli, illetve nedvességtartalmuk, illóanyag-tartalmuk vagy a hexánnal kivonható anyagartalmuk érzékelhető változása nélküli zúzását,
- extraháló hüvely és pamutvatta vagy szűrőpapír, amelyekről a hexánnal kivonható anyagokat előzőleg már eltávolították,
- szárítóberendezés,
- 1 mm átmérőjű nyílásokkal rendelkező szita,
- előzőleg kiszárított apró habkődarabok.

1.2. Reagens

Műszaki fokozatú közönséges hexán, amely elpárolgását követően kevesebb, mint 0,002 g/100 ml maradékot hagy.

2. ELJÁRÁS

2.1. A tesztminta előkészítése

A minta megőrlésére szükség esetén használja az előzőleg megfelelően megtisztított mechanikus őrlőt, hogy olyan méretű részecskéket kapjon, amelyek maradék nélkül átjutnak a szitán.

Az őrlő tisztítására használja fel a minta megközelítőleg huszadrészét, ezt az őrléményt öntse ki, őrlje meg a fennmaradó mennyiséget, keverje össze óvatosan, majd késedelem nélkül elemezze.

2.2. A vizsgálati anyag mennyisége

Közvetlenül az őrlés befejezését követően a teszthez mérjen meg a mintából megközelítőleg 10 g mennyiséget 0,01 g pontossággal.

2.3. Az extraháló hüvely

Tegye a vizsgált mennyiséget a hüvelybe és pamutvattával dugózza le. Amennyiben szűrőpapírt használ, csomagolja bele az anyagot.

2.4. Előzetes szárítás

Amennyiben az olívmaradék nagyon nedves (azaz a nedvességtartalma és az illóanyag-tartalma meghaladja a 10 %-ot), helyezze a betöltött hüvelyt (vagy szűrőpapírt) megfelelő időre egy legfeljebb 80 °C hőmérsékletre felfűtött kemencébe és végezzen előzetes szárítást, hogy a nedvességtartalmat és az illóanyag-tartalmat 10 % alá csökkentse.

2.5. A gömbölyű fenekű lombik előkészítése

Mérje meg a korábban egy 103 ± 2 °C hőmérsékletű kemencében kiszárított és szárítóban legalább 1 órán keresztül hűtött, 1-2 darab habkővet tartalmazó lombikot 1 mg pontossággal.

2.6. Előzetes extrahálás

Helyezze be a vizsgált anyagot tartalmazó hüvelyt (vagy szűrőpapírt) az extraháló berendezésbe. Öntse a lombikba a szükséges mennyiségű hexánt. Illessze a lombikot az extraháló berendezésbe, és helyezze ezt az összeállítást az elektromos fűtésű fürdőre. Állítsa be úgy a fűtési sebességet, hogy a visszaáramlás sebessége másodpercenként legalább 3 csepp legyen (mérsékelt, nem heves forrás). Négyórás extrahálást követően hagyja lehűlni. Vegye ki a hüvelyt az extraháló berendezésből és helyezze levegőáramba, hogy kihajtsa a beleivódott oldószert.

2.7. Második kivonás

Öntse a hüvely tartalmát a mikroörlőbe és őrölje meg a lehető legfinomabbra. Öntse vissza a megőrölt keveréket veszteség nélkül a hüvelybe és helyezze vissza az extraháló berendezésbe.

Ugyanannak a kezdeti kivonatot tartalmazó lombiknak a segítségével folytassa az extrahálást további két órán keresztül.

A lombikban így kapott oldatnak tisztának kell lennie. Amennyiben mégse, szűrje át szűrőpapíron, és mossa át néhányszor az eredeti lombikot és a szűrőpapírt hexánnal. A szűrletet és a mosáshoz használt hexánt gyűjtse egy másik gömbölyű fenekű lombikba, amelyet előzőleg kiszárított és 1 mg pontossággal megmért.

2.8. Az oldószer eltávolítása és a kivonat mérése

Az oldószer nagyobbik részét desztillálással távolítsa el elektromos fűtésű fürdőn. Az oldószer többi részét a lombik 103 ± 2 °C hőmérsékletű kemencében történő 20 perces hevítésével távolítsa el. Az oldószer eltávolítását rendszeres légbefúvással vagy lehetőleg inertgáz-befúvással, illetve a nyomás csökkentésével segítse.

Hagyja a lombikot a szárítóberendezésben legalább egy órán keresztül lehűlni, majd mérje meg 1 mg pontossággal.

Melegítse ismét 10 percen keresztül a fenti módszerrel és hűtse le a szárítóberendezésben, majd mérje meg újra.

A két mérés közötti különbség nem haladhatja meg a 10 mg-ot. Amennyiben meghaladja, végezzen 10 perces melegítéseket és hűtéseket mindaddig, amíg az eltérés 10 mg vagy kevesebb. Jegyezze fel a lombik utoljára mért tömegét.

Végezzen ismételt meghatározást a vizsgálati mintán.

3. AZ EREDMÉNYEK KIFEJEZÉSE

3.1. A számítási módszer és képlet

a) A kivonat a kapott termék tömegszázalékában kifejezve:

$$S = m_1 \times \frac{100}{m_0},$$

ahol: S a kivonat a kapott termék tömegszázalékában kifejezve,
 m_0 a vizsgált mennyiség tömege grammban,
 m_1 a kivonat tömege a szárítást követően, grammban.

Amennyiben a megismételhetőség feltétele teljesül, a két mérés számtani középértékét tekintse eredménynek.

Az eredményeket egy tizedesjegy pontossággal adja meg.

b) A kivonat olajtartalma szárazanyagtartalomban kifejezve, a következő képlet segítségével:

$$S \times \frac{100}{100 - U} = \text{a kivonat olajtartalma a szárazanyagtartalom százalékában kifejezve,}$$

ahol: S = a kivonat a kapott termék tömegszázalékában kifejezve (lásd az (a) pontot),

U = annak nedvesség- és illóanyag-tartalma.

3.2. Megismételhetőség

Az egyidőben vagy az ugyanazon elemző által gyors egymásutánban megismételt meghatározással kapott két eredmény közötti különbség nem haladhatja meg a 0,2 g hexán kivonat/100 g mintaértéket.

Amennyiben ez a feltétel nem teljesül, ismétlje meg az elemzést két újabb vizsgálati anyagon. Amennyiben a különbség ebben az esetben is meghaladja a 0,2 g-ot, akkor a négy meghatározás számtani középértékét tekintse eredménynek.

XVI. MELLÉKLET

A JÓDSZÁM MEGHATÁROZÁSA

1. CÉL

Ez a nemzetközi szabvány az állati és növényi zsírok és olajok, a továbbiakban: zsírok, jódszáma megállapításának módszerét írja le.

2. MEGHATÁROZÁS

E nemzetközi szabvány alkalmazásában a következő meghatározások érvényesek:

2.1. *jódszám*: a minta által e nemzetközi szabványban meghatározott üzemi körülmények mellett abszorbeált jódtömege.

A jódszámot g jódt/100 g minta mértékegységben fejezik ki.

3. ALAPELV

A minta feloldása oldószerben, majd wijs reagens hozzáadása. egy meghatározott idő elteltével kálium-jodid oldat és víz hozzáadása, majd a felszabadított jódtitrálása nátrium-tioszulfát oldattal.

4. REAGENSEK

Minden reagensnek elismert analitikai minőségűnek kell lennie:

4.1. *víz*, az ISO 3696 előírásainak megfelelő, 3. fokozat.4.2. *kálium-jodid*, 100 g/l oldat, nem tartalmaz jódsavat vagy szabad jódot.4.3. *keményítő*, oldat.

Keverjen el 5 g oldható keményítőt 30 ml vízben, adja ezt a keveréket 1 000 ml forrásban lévő vízhez, forralja három percig, majd hagyja lehűlni.

4.4. *nátrium-tioszulfát*, standard volumetrikus oldat, $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}) = 0,1 \text{ mol/l}$, használat előtt hét napnál nem régebben standardizálva.4.5. *oldószer*, azonos térfogatú ciklohexán és ecetsav összekeverésével készült,4.6. *Wijs reagens*, jódt-monoklorid ecetsavban. Használható a kereskedelmi forgalomban kapható Wijs reagens.

5. BERENDEZÉS

A szokásos laboratóriumi berendezés, valamint a következők:

5.1. *üveg mérőkanalak*, a vizsgált mennyiséghez és a lombikba történő benyúláshoz megfelelőek (6.2.),5.2. *kúpos fenekű lombikok*, 500 ml térfogatúak, csiszolt üvegdugóval ellátva, teljesen szárazak.

6. A VIZSGÁLATI MINTA ELŐKÉSZÍTÉSE

Szárítsa ki a homogenizált mintát nátrium-szulfáton, majd szűrje le.

7. ELJÁRÁS

7.1. *Vizsgált mennyiség*

A vizsgált mennyiség tömege a várható jódszám függvényében változik az 1. táblázat szerint.

1. táblázat

Várható jódszám	A vizsgált mennyiség tömege (g)
kevesebb, mint 5	3,00
5–20	1,00
21–50	0,40
51–100	0,20
101–150	0,13
151–200	0,10

Mérje meg a vizsgált mennyiséget egy üveg mérőkanállal (5.1.) 0,1 mg pontossággal.

7.2. Meghatározás

Helyezze a vizsgált mennyiséget az 500 ml térfogatú kémcsőbe (6.2.). Adjon hozzá 20 ml oldószert (4.5.), hogy feloldja a zsírt. Adjon hozzá pontosan 25 ml Wijs reagenst (4.6.), tegye be a dugót, forgassa össze a lombik tartalmát, és tegye a lombikot sötét helyre. A Wijs reagenshez ne használjon pipettát.

Készítsen vakpróbát hasonlóképpen az oldószerral és reagenssel, de a vizsgált anyag kihagyásával.

A 150-nél alacsonyabb jódszámú minták esetén egy óráig, a 150-nél magasabb jódszámú minták, illetve a polimerizált termékek, és a jelentős mértékben oxidálódott termékek esetén két óráig hagyja a lombikot a sötétben.

A fenti idő elteltével adjon mindegyik kémcsőhöz 20 ml kálium-jodid oldatot (4.2.) és 150 ml vizet (4.1.).

Végezzen titrálást a standard volumetrikus nátrium-tioszulfát oldattal (4.4.), ameddig a jód miatt kialakult sárga szín majdnem teljesen eltűnik. Adjon hozzá néhány csepp keményítődoldatot (4.3.), és folytassa a titrálást, ameddig a kék szín heves rázás mellett el nem tűnik.

Megjegyzés: Megengedett a végpont potenciometrikus meghatározása.

7.3. A meghatározások száma

Végezzen a mintán két meghatározást.

8. AZ EREDMÉNYEK KIFEJEZÉSE

A jódszám a következő képlettel adható meg:

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

ahol:

c = a felhasznált standard volumetrikus nátrium-tioszulfát oldat (4.4.) pontos töménységének számértéke mól/l-ben;

V_1 = a vakpróbához felhasznált standard volumetrikus nátrium-tioszulfát oldat (4.4.) térfogata ml-ben;

V_2 = a meghatározáshoz felhasznált standard volumetrikus nátrium-tioszulfát oldat (4.4.) térfogata ml-ben;

m = a vizsgált anyag (7.1.) tömege g-ban.

A két meghatározás számtani középértéket tekintse eredményként, amennyiben teljesül a megismételhetőség követelménye (9.2.).