

II

(Įstatymo galios neturintys teisės aktai)

REGLAMENTAI

KOMISIJOS REGLAMENTAS (ES) Nr. 61/2011

2011 m. sausio 24 d.

iš dalies keičiantis Reglamentą (EEB) Nr. 2568/91 dėl maišyto alyvuogių aliejaus ir maišyto alyvuogių išspaudų aliejaus savybių ir dėl atitinkamų analizės metodų

EUROPOS KOMISIJA,

atsižvelgdama į Sutartį dėl Europos Sąjungos veikimo,

atsižvelgdama į 2007 m. spalio 22 d. Tarybos reglamentą (EB) Nr. 1234/2007, nustatantį bendrą žemės ūkio rinkų organizavimą ir konkrečias tam tikriems žemės ūkio produktams taikomas nuostatas (Bendras bendro žemės ūkio rinkų organizavimo reglamentas) ⁽¹⁾, ypač į jo 113 straipsnio 1 dalies a punktą ir 121 straipsnio h punktą kartu su 4 straipsniu,

kadangi:

(1) Komisijos reglamente (EEB) Nr. 2568/91 ⁽²⁾ nustatytos maišyto alyvuogių aliejaus ir maišyto alyvuogių išspaudų aliejaus savybės ir tų savybių analizės metodai. Šiuos aliejų savybėms tirti taikomus metodus ir ribinius dydžius reikia atnaujinti, remiantis chemijos ekspertų nuomone ir atsižvelgiant į Tarptautinės alyvuogių tarybos atliktą darbą.

(2) Visų pirma, kadangi chemijos ekspertai priėjo prie išvados, kad riebiųjų rūgščių etilo esterių (FAEE) ir riebiųjų rūgščių metilo esterių (FAME) kiekis yra naudingas aukščiausios kokybės pirmojo spaudimo alyvuogių aliejų kokybės parametras, yra tikslinga įtraukti ribines šių esterių vertes, o taip pat jų kiekio nustatymo metodiką.

(3) Kad būtų laiko prisitaikyti prie naujų standartų ir jiems taikyti reikalingoms priemonėms įdiegti ir kad nebūtų trikdomos prekybos operacijos, daliniai šiuo Reglamentu atlikti pakeitimai turėtų būti taikomi nuo 2011 m. balandžio 1 d. Dėl tų pačių priežasčių reikėtų nustatyti, kad iki minėtos datos teisėtai pagamintais ir paženklintais etiketėmis Sąjungoje arba teisėtai importuotais į Sąjungą ir išleistais į laisvą apyvartą alyvuogių ir alyvuogių išspaudų aliejais būtų galima prekiauti tol, kol baigsis visos jų atsargos.

(4) Todėl Reglamentas (EEB) Nr. 2568/91 turėtų būti atitinkamai iš dalies pakeistas.

(5) Šiame reglamente nustatytos priemonės atitinka Bendro žemės ūkio rinkų organizavimo vadybos komiteto nuomonę,

PRIĖMĖ ŠĮ REGLAMENTĄ:

1 straipsnis

Reglamentas (EEB) Nr. 2568/91 iš dalies keičiamas taip:

1) 2 straipsnio 1 dalyje įterpiama ši įtrauka:

„— vaškų, riebiųjų rūgščių metilo esterių ir riebiųjų rūgščių etilo esterių kiekio nustatymo kapiliarinės dujų chromatografijos būdu metodika išdėstyta XX priede“

2) Priedų santrauka papildoma taip:

„XX priedas: vaškų, riebiųjų rūgščių metilo esterių ir riebiųjų rūgščių etilo esterių kiekio nustatymo kapiliarinės dujų chromatografijos būdu metodika“

3) I priedas pakeičiamas šio reglamento I priedo tekstu.

4) Pridedamas XX priedas, kaip nurodyta šio reglamento II priede.

2 straipsnis

Iki 2011 m. balandžio 1 d. teisėtai pagamintais ir etiketėmis paženklintais Sąjungoje arba į ją teisėtai importuotais ir į laisvą apyvartą išleistais produktais gali būti prekiaujama, kol baigsis visos jų atsargos.

⁽¹⁾ OL L 299, 2007 11 16, p. 1.

⁽²⁾ OL L 248, 1991 9 5, p. 1.

3 straipsnis

Šis reglamentas įsigalioja trečią dieną po jo paskelbimo *Europos Sąjungos oficialiajame leidinyje*.

Jis taikomas nuo 2011 m. balandžio 1 d.

Šis reglamentas privalomas visas ir tiesiogiai taikomas visose valstybėse narėse.

Priimta Briuselyje 2011 m. sausio 24 d.

Komisijos vardu
Pirmininkas
José Manuel BARROSO

ALYVUOGIŲ ALIEJAUS SAVYBĖS

Kategorija	Riebiųjų rūgščių metilo esteriai (FAME) ir riebiųjų rūgščių etilo esteriai (FAEE)	Rūgštingumas (%) (*)	Peroksidų skaičius, mEq O ₂ /kg (*)	Vaškai mg/kg (**)	2-glicerilo monopalmitatas (%)	Stigastadinai mg/kg (1)	Skirtumas tarp HPLC ECN42 ir teorinio ECN42	K ₂₃₂ (*)	K ₂₇₀ (*)	Delta-K (*)	Organoleptinis trūkumų vidurkio įvertinimas (Md)	Organoleptinis vaisių likučių vidurkio įvertinimas (Mf) (*)
1. Aukščiausios kokybės pirmojo spaudimo alyvuogių aliejus	Σ FAME + FAEE \leq 75 mg/kg or 75 mg/kg $< \Sigma$ FAME + FAEE \leq 150 mg/kg and (FAEE/FAME) \leq 1,5	\leq 0,8	\leq 20	\leq 250	\leq 0,9, jei bendras palmityno rūgšties % \leq 14% \leq 1,0, jei bendras palmityno rūgšties % $>$ 14%	\leq 0,10	\leq 0,2	\leq 2,50	\leq 0,22	\leq 0,01	Md = 0	Mf $>$ 0
2. Pirmojo spaudimo alyvuogių aliejus	—	\leq 2,0	\leq 20	\leq 250	\leq 0,9, jei bendras palmityno rūgšties % \leq 14% \leq 1,0, jei bendras palmityno rūgšties % $>$ 14%	\leq 0,10	\leq 0,2	\leq 2,60	\leq 0,25	\leq 0,01	Md \leq 3,5	Mf $>$ 0
3. Pirmojo spaudimo klasikinis alyvuogių aliejus <i>lampante</i>	—	$>$ 2,0	—	\leq 300 (3)	\leq 0,9, jei bendras palmityno rūgšties % \leq 14% \leq 1,1, jei bendras palmityno rūgšties % $>$ 14%	\leq 0,50	\leq 0,3	—	—	—	Md $>$ 3,5 (2)	—
4. Rafinuotas alyvuogių aliejus	—	\leq 0,3	\leq 5	\leq 350	\leq 0,9, jei bendras palmityno rūgšties % \leq 14% \leq 1,1, jei bendras palmityno rūgšties % $>$ 14%	—	\leq 0,3	—	\leq 1,10	\leq 0,16	—	—
5. Maišytas rafinuoto ir pirmojo spaudimo alyvuogių aliejus	—	\leq 1,0	\leq 15	\leq 350	\leq 0,9, jei bendras palmityno rūgšties % \leq 14% \leq 1,0, jei bendras palmityno rūgšties % $>$ 14%	—	\leq 0,3	—	\leq 0,90	\leq 0,15	—	—
6. Neapdorotas alyvų išspaudų aliejus	—	—	—	$>$ 350 (4)	\leq 1,4	—	\leq 0,6	—	—	—	—	—
7. Rafinuotas alyvų išspaudų aliejus	—	\leq 0,3	\leq 5	$>$ 350	\leq 1,4	—	\leq 0,5	—	\leq 2,00	\leq 0,20	—	—
8. Alyvuogių išspaudų aliejus	—	\leq 1,0	\leq 15	$>$ 350	\leq 1,2	—	\leq 0,5	—	\leq 1,70	\leq 0,18	—	—

(1) Izomerų, kurie (ne)galėtų būti atskirti kapiliarine kolonėle, suma.

(2) Arba kai trūkumų mediana mažesnė arba lygi 2,5; „vaisių“ požymio mediana lygi 0.

(3) Aliejai, kuriuose yra nuo 300mg/kg iki 350 mg/kg vaškų, laikomi *lampante* aliejais, jei bendras alifatinių alkoholių kiekis yra nedidesnis nei 350 mg/kg arba eritrodolio ir uvaolio procentinė dalis yra ne didesnė nei 3,5

(4) Aliejai, kuriuose yra nuo 300mg/kg iki 350 mg/kg vaškų, alyvuogių išspaudų aliejais, laikomi neapdorotais, jei bendras alifatinių alkoholių kiekis yra didesnis nei 350 mg/kg arba

Kategorija	Rūgščių sudėtis ⁽¹⁾						Trans-oleinių ir trans-linoleninių izomerų suma (%)	Trans-oleinių ir trans-linoleninių izomerų suma (%)	sterolių sudėtis						Bendras sterolių kiekis (mg/kg)	Eritrodioolis ir uvaolis (%) (**)
	Miristo (%)	Linoleno (%)	Eikozano (%)	Eikozeno (%)	Beheno (%)	Lignocero (%)			Cholesterolis (%)	Brasikastero (%)	Kampesterol (%)	Stigmasterol (%)	b -sterolis (%) ⁽²⁾	D -7 stigma stenolis (%)		
1. Aukščiausios kokybės pirmojo spaudimo alyvuogių aliejus	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
2. Pirmojo spaudimo alyvuogių aliejus	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
3. Pirmojo spaudimo klasikinis alyvuogių aliejus <i>lampante</i>	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,10	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5 ⁽³⁾
4. Rafinuotas alyvuogių aliejus	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
5. Maišytas rafinuoto ir pirmojo spaudimo alyvuogių aliejus	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
6. Neapdorotas alyvų išspaudų aliejus	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,20	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 2 500	> 4,5 ⁽⁴⁾
7. Rafinuotas alyvų išspaudų aliejus	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 800	> 4,5
8. Alyvuogių išspaudų aliejus	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 600	> 4,5

⁽¹⁾ Kitos riebiosios rūgštys (%): palmitino: 7,5 - 20,0; palmitoleino: 0,3 - 3,5; heptadekano: ≤ 0,3; heptadeceno: ≤ 0,3; stearino: 0,5 - 5,0; oleino: 55,0 - 83,0; linolo: 3,5 - 21,0.

⁽²⁾ Suma : Δ-5,23-stigmastadienolis + klerosterolis + β-sitosterolis + sitostanolis + Δ-5-avenasterolis + Δ-5,24-stigmastadienolis.

⁽³⁾ Aliejai, kuriuose yra nuo 300mg/kg iki 350 mg/kg vaškų, laikomi *lampante* aliejais, jei bendras alifatinių alkoholių kiekis yra nedidesnis nei 350 mg/kg arba eritrodioolio ir uvaolio procentinė dalis yra ne didesnė nei 3,5.

⁽⁴⁾ Aliejai, kuriuose yra nuo 300 mg/kg iki 350 mg/kg vaškų, laikomi neapdorotais alyvuogių išspaudų aliejais, jei bendras alifatinių alkoholių kiekis yra didesnis nei 350 mg/kg arba jei eritrodioolio ir uvaolio procentinė dalis yra didesnė nei 3,5.

Pastabos:

a) Analizės rezultatai turi būti pateikti tokiu pat tikslumu po kablelio, kaip nustatyta kiekvienai savybei.

Apvalinant rezultatą nustatytu tikslumu, paskutinis skaitmuo yra didinamas vienetu, jei po jo sekantis skaitmuo didesnis už 4.

b) Aliejus turi būti priskirtas kitai kategorijai arba paskelbtas neatitinkančiu šiame reglamente jam keliamų grynumo kriterijų net ir tuo atveju, jei vienintelės charakteristikos vertė nesutampa su nustatyta ribine verte.

c) Žvaigždute (*) pažymėtos aliejaus kokybės savybės reiškia:

— *lampante* alyvuogių aliejus nebūtinai vienu metu turi atitikti visas ribines vertes;

— pirmojo spaudimo alyvuogių aliejai net ir tuo atveju, jei vienintelės charakteristikos vertė nesutampa su nustatyta ribine verte, yra priskiriami kitai aliejaus kategorijai, tačiau vis tiek klasifikuojami kaip pirmojo spaudimo alyvuogių aliejus.

d) Dviem žvaigždutėmis (**) pažymėtos aliejaus kokybės savybės reiškia, kad alyvų išspaudų aliejus nebūtinai vienu metu turi atitikti visas ribines vertes.“

II PRIEDAS

„XX PRIEDAS

Vaškų, riebiųjų rūgščių metilo esterių ir riebiųjų rūgščių etilo esterių kiekio nustatymo kapiliarinės dujų chromatografijos būdu metodika

1. TIKSLAS

Ši metodika skirta vaškų, riebiųjų rūgščių metilo ir etilo esterių kiekiams alyvuogių aliejuose nustatyti. Atskiri vaškai ir alkilesteriai atskiriami pagal anglies atomų skaičių. Metodika rekomenduojama kaip priemonė alyvuogių aliejui atskirti nuo alyvuogių išspaudų aliejaus ir kaip aukščiausios kokybės pirmojo spaudimo alyvuogių aliejų kokybės parametras, leidžiantis nustatyti nesąžiningai pagamintus pirmojo spaudimo alyvuogių aliejų mišinius su žemesnės kokybės aliejais, nesvarbu, ar jie pirmojo spaudimo, klasikiniai (*lampante*) ar kokie nors dezodoruoti aliejai.

2. PRINCIPAS

Į aliejų dedamas atitinkamas vidinis etalonas ir atliekamas chromatografinis frakcionavimas kolonėlėje su hidratuotu silikageliu. Regeneruojama frakcija, kuri bandymo sąlygomis išplaunama (jos poliškumas yra mažesnis nei triacilgliceridų), ir kapiliarinės dujų chromatografijos metodu atliekama tiesioginė analizė.

3. PRIETAISAI

3.1. Erlenmejerio kolba, 25 ml.

3.2. **Stiklinė** skysčių chromatografijos **kolonėlė**, kurios vidinis skersmuo 15 mm, ilgis 30–40 cm, su tinkamu čiaupu.

3.3. Su kapiliarine kolonėle tinkamas naudoti **dujų chromatografas** su tiesioginio įpurškimo į kolonėlę sistema, kuri sudaro:

3.3.1. **Termostatu kontroliuojama krosnis su galimybe programuoti temperatūrą.**

3.3.2. **Šaltas** tiesioginio įpurškimo į kolonėlę **inžektorius**.

3.3.3. **Liepsnos jonizacinis detektorius ir konverteris stiprintuvas.**

3.3.4. Kintamo greičio **savirašis integratorius** (1 pastaba), skirtas naudoti su konverteriu stiprintuvu (3.3.3 punktą), kurio atsako trukmė ne didesnė nei 1 s.

1 pastaba. Jei dujų chromatografijos duomenys įvedami naudojantis kompiuteriu, galima naudoti ir kompiuterizuotas sistemas.

3.3.5. **Kapiliarinė kolonėlė, kvarcinio stiklo (vaškų ir metilo bei etilo esterių analizei atlikti)**, ilgis 8–12 m, vidinis diametras 0,25–0,32 mm, iš vidaus padengta lygia 0,10–0,30 µm storio skystos fazės plėvele (2 pastaba).

2 pastaba. Prekyboje yra šiam tikslui tinkamų skystų fazių, tokių kaip SE52, SE54 ir pan.

3.4. **Mikrošvirkštas**, 10 µl, su kietinta adata, tiesioginio įpurškimo į kolonėlę reikmėms.

3.5. **Elektrinė purtyklė.**

3.6. **Sukamasis garintuvas.**

3.7. **Mufelinė krosnis.**

3.8. **Analizinės svarstyklės**, kurių svėrimo tikslumas ± 0,1 mg.

3.9. Įprasti laboratoriniai stiklo indai.

4. REAGENTAI

- 4.1. **Silikagelis**, 60–200 µm akutėmis. Silikagelis dedamas į mufelinę krosnį ir ne trumpiau kaip 4 val. kaitinamas 500 °C temperatūroje. Atausinus įpilama 2 % panaudoto silikagelio kiekio atitinkantis vandens kiekis. Gerai supurtoma, kad suspensija būtų homogenizuota, ir prieš naudojimą ne trumpiau nei 12 valandų laikoma eksikatoriuje.

- 4.2. **n-heksanas**, chromatografijos klasės arba likučių klasės (reikia patikrinti grynumą).

ĮSPĖJIMAS – Garai gali užsidegti. Laikykite juos atokiai nuo šilumos šaltinių, žiežirbų ar atviros liepsnos. Pasirūpinkite, kad buteliukai visuomet būtų tinkamai uždaryti. Naudojimo metu užtikrinkite tinkamą vėdinimą. Venkite garų susikaupimo ir pašalinkite visus galimus gaisro sukėlėjus, tokius kaip šildytuvus ar elektros prietaisus, kurie nėra pagaminti iš nedegių medžiagų. Žalingi įkvėpus, nes gali pažeisti nervų ląsteles. Venkite kvėpavimo garais. Jei reikia, naudokite tinkamus kvėpavimo aparatus. Venkite patekimo į akis arba ant odos.

- 4.3. **Etilo eteris, chromatografijos klasės.**

ĮSPĖJIMAS – Labai degus ir vidutiniškai toksiškas. Dirgina odą. Žalingas įkvėpus. Gali pažeisti akis. Poveikis gali pasireikšti vėliau. Gali sudaryti sprogius peroksidus. Garai gali užsidegti. Laikykite juos atokiai nuo šilumos šaltinių, žiežirbų ar atviros liepsnos. Pasirūpinkite, kad buteliukai visuomet būtų tinkamai uždaryti. Naudojimo metu užtikrinkite tinkamą vėdinimą. Venkite garų susikaupimo ir pašalinkite visus galimus gaisro sukėlėjus, tokius kaip šildytuvus ar elektros prietaisus, kurie nėra pagaminti iš nedegių medžiagų. Nekarinkite iki išdžiūvimo ar beveik iki išdžiūvimo. Pridėjus vandens ar tinkamo redukuojančio reagento, peroksidų susidarymą galima sumažinti. Negerkite. Venkite kvėpavimo garais. Venkite ilgo ar pasikartojančio sąlyčio su oda.

- 4.4. **n-heptanas**, chromatografijos klasės, arba **izooktanas**.

ĮSPĖJIMAS – Degus. Žalingas įkvėpus. Laikykite juos atokiai nuo šilumos šaltinių, žiežirbų ar atviros liepsnos. Pasirūpinkite, kad buteliukai visuomet būtų tinkamai uždaryti. Naudojimo metu užtikrinkite tinkamą vėdinimą. Venkite kvėpavimo garais. Venkite ilgo ar pasikartojančio sąlyčio su oda.

- 4.5. **Etaloninis 0,05 % (m/V) laurileikozanato tirpalas (3 pastaba)** heptane (vidinis vaškų etalonas).

3 pastaba. Taip pat galima naudoti palmitilo palmitatą, miristilstereatą arba eikozildodekanoatą.

- 4.6. **Etaloninis 0,02 % (m/V) metilheptadekanoato tirpalas heptane (vidinis metilo ir etilo esterių etalonas).**

- 4.7. **Sudanas 1 (1-fenilazo-2-naftolis).**

- 4.8. **Dujos nešiklis: vandenilis arba helis, grynos, dujų chromatografijos klasės.**

ĮSPĖJIMAS

Vandenilis. Suslėgus labai degus. Laikykite atokiai nuo šilumos šaltinių, kibirkščių, atvirų liepsnų ar elektros prietaisų, pagamintų ne iš nedegių medžiagų. Pasirūpinkite, kad nenaudojant buteliuko vožtuvus būtų uždarytas. Visuomet naudokite slėgio reduktorių. Prieš atidarydami buteliuko vožtuvą sumažinkite reduktoriaus spyruoklės įtempimą. Atidarydami vožtuvą nestovėkite prieš buteliuko išleidimo angą. Naudojimo metu užtikrinkite tinkamą vėdinimą. Neperkelkite vandenilio iš vieno buteliuko į kitą. Nemašykite dujų buteliuke. Pasirūpinkite, kad buteliukų nebūtų galima apversti. Saugokite juos nuo saulės šviesos ir nuo šilumos šaltinių. Laikykite korozijos nesukeliančioje aplinkoje. Nenaudokite pažeistų ar nepažymėtų buteliukų.

Helis. Suspaustos aukšto slėgio dujos. Sumažina deguonies, kuriuo galima kvėpuoti, kiekį. Laikykite buteliuką uždarytą. Naudojimo metu užtikrinkite tinkamą vėdinimą. Neikite į sandėliavimo vietas, nebent jos tinkamai vėdinamos. Visuomet naudokite slėgio reduktorių. Prieš atidarydami buteliuko vožtuvą sumažinkite reduktoriaus spyruoklės įtempimą. Neperkelkite dujų iš vieno buteliuko į kitą. Pasirūpinkite, kad buteliukų nebūtų galima apversti. Atidarydami vožtuvą nestovėkite prieš buteliuko išleidimo angą. Saugokite juos nuo saulės šviesos ir nuo šilumos šaltinių. Laikykite korozijos nesukeliančioje aplinkoje. Nenaudokite pažeistų ar nepažymėtų buteliukų. Neįkvėpkite. Naudokite tik techninėms reikmėms.

4.9. Pagalbinės dujos:

- vandenilis, grynas, dujų chromatografijos klasės;
- oras, grynas, dujų chromatografijos klasės.

ĮSPĖJIMAS

Oras. Suspaustos aukšto slėgio dujos. Naudokite atsargiai, kai yra degių medžiagų, nes daugumos organinių junginių savaiminio užsiliepsnojimo temperatūra ore yra gerokai mažesnė, esant dideliame slėgiui. Pasirūpinkite, kad nenaudojant buteliuko vožtuvas būtų uždarytas. Visuomet naudokite su slėgio reduktoriumi. Prieš atidarydami buteliuko vožtuvą sumažinkite reduktoriaus spyruoklės įtempimą. Atidarydami vožtuvą nestovėkite prieš buteliuko išleidimo angą. Neperkelkite dujų iš vieno buteliuko į kitą. Nemaišykite dujų buteliuke. Pasirūpinkite, kad buteliukų nebūtų galima apversti. Saugokite juos nuo saulės šviesos ir nuo šilumos šaltinių. Laikykite korozijos nesukeliančioje aplinkoje. Nenaudokite pažeistų ar nepažymėtų buteliukų. Techninėms reikmėms skirtu oro negalima naudoti inhaliatoriuose ar kvėpavimo aparatuose.

5. DARBO EIGA

5.1. Chromatografinės kolonėlės paruošimas

15 g silikagelio (4.1 punktas) suspenduojama n-heksane (4.2 punktas) ir supilama į kolonėlę (3.2 punktas). Silikageliui leidžiama savaime nusėsti. Kad chromatografinis sluoksnis būtų vienalytiškesnis, nusodinimas užbaigiamas su elektrine purtykle. Priemaišos pašalinamos per silikagelį praleidžiant 30 ml n-heksano. Naudojantis analizinėmis svarstyklėmis (3.8 punktas) į 25 ml talpos kolbą (3.1 punktas) tiksliai pasveriami 500 mg mėginio ir įdedamas reikiamas kiekis vidinio etalono (4.5 punktas), atsižvelgiant į numatomą vaško kiekį mėginyje, t. y., įdedama 0,1 mg laurilheikozanato alyvuogių aliejaus atveju, 0,25–0,5 mg alyvų išspaudų aliejaus atveju ir 0,05 mg metilheptadekanoato alyvuogių aliejų atveju (4.6 punktas).

Paruoštas mėginys dviem 2 ml n-heksano (4.2 punktas) porcijomis supilamas į chromatografijos kolonėlę.

Tirpikliui leidžiama ištėkėti iki 1 mm lygio virš absorbento viršutinio paviršiaus. Leidžiamas likęs n-heksanas ir etilo eteris (99:1) ir surenkama 220 ml, leidžiant maždaug 15 lašų per 10 sekundžių greičiu. (**Sioje frakcijoje yra metilo ir etilo esteriai ir vaška**). (4 pastaba) (5 pastaba).

4 pastaba. n-heksano/etileterio mišinį (99:1) kasdien reikia ruošti iš naujo

5 pastaba. Kad būtų galima vizualiai patikrinti, ar vaška tinkamai išplauti, į mėginio tirpalą galima pridėti 100 μ l Sudan I dažų (1 % išplovimo mišinyje).

Dažų sulaikymo trukmė yra didesnė nei vaškų ir mažesnė nei triacilglicerolių. Taigi, dažams pasiekus chromatografinės kolonėlės dugną, išplovimą reikia sustabdyti, nes visi vaška jau išplauti.

Gautos frakcijos garinamos sukamajame garintuve, kol išgarinamas beveik visas tirpiklis. Paskutinius 2 ml pašalinkite veikdami silpna azoto srove. Surinkite frakciją, kurioje yra metilo ir etilo esteriai, praplaudami 2-4 ml n-heptano ar izooktano.

5.2. Dujų chromatografinė analizė

5.2.1. Parengiamasis procesas

Kolonėlė prijungiama prie dujų ir skysčių chromatografo (3.3 punktas), kolonėlės pradžia sujungiant su kolonėlės tiesioginio įpurškimo įtaisų, galą – su reagentu. Patikrinamas dujų chromatografijos įrenginys (dujų kilpų veikimas, detektoriaus ir savirašės sistemos veikimas ir t. t.).

Jei kolonėlė naudojama pirmą kartą, patartina ją kondicionuoti. Per kolonėlę paleidžiama nestipri dujų srovė, paskui įjungiamas dujų chromatografas. Lėtai kaitinama, kol po maždaug 4 valandų temperatūra pasiekia 350 °C.

Ši temperatūra palaikoma ne mažiau kaip 2 valandas, po to nustatomos įrenginio darbo sąlygos (reguliuojamas dujų srautas, užkuriama liepsna, prijungiamas elektroninis savirašis (3.3.4 punktą), nustatoma kolonėlės krosnies temperatūra, reguliuojamas detektorius ir t. t.). Signalas užrašomas esant jautrumui, kuris bent du kartus didesnis nei reikalingas analizei atlikti. Pagrindo linija turi būti brėžiama tiesi, be jokių smailių ir nukrypimų.

Jei yra neigiamų nuokrypių nuo tiesios linijos, tai rodo, kad kolonėlės jungtys sujungtos neteisingai, o jei yra teigiamų nuokrypių – kolonėlė netinkamai kondicionuota.

5.2.2. Vaškų ir metilo bei etilo esterių darbo sąlygų parinkimas (6 pastaba).

Paprastai turi būti laikomasi tokių darbo sąlygų:

— kolonėlės temperatūra:

20 °C/min 5 °C/min

80 °C iš pradžių (1') — 140 °C — 335 °C (20)

— detektoriaus temperatūra: 350 °C.

— įpurškto medžiagos kiekis: 1 µl (2–4 ml) n-heptano tirpalo.

— Dujos nešiklis: helis arba vandenilis, naudojamas pasirinktoms dujoms optimalus linijinis greitis (žr. A priedą).

— prietaiso jautris: tinkamas pirmiau nurodytoms sąlygoms išpildyti.

6 pastaba: Dėl labai aukštos galutinės temperatūros galimas teigiamas nuokrypis, tačiau jis negali viršyti 10 % didžiausios skalės vertės.

Šios sąlygos gali būti keičiamos, kad atitiktų kolonėlės ir dujų chromatografo charakteristikas, siekiant atskirti visus vaškus ir riebiųjų rūgščių metilo ir etilo esterius ir gauti patenkinamą smailių atsiskyrimą (žr. 2, 3 ir 4 pav.) ir 18 ± 3 minučių laurilheptano vidinio etalono sulaikymo trukmę. Iškilčiausia vaškų smailė turi sudaryti daugiau nei 60 % didžiausios skalės vertės, o metilheptadekanoato vidinio etalono smailė metilo ir etilo esterių atveju turi pasiekti didžiausią skalės vertę.

Smailių integravimo parametrus reikia nustatyti taip, kad būtų gautas teisingas nagrinėjamų smailių plotų įvertinimas.

5.3. Analizės atlikimas

10 µl mikrošvirkštu paimkite iki 10 µl tirpalo, traukdami stūmoklį atgal tol, kol adata bus tuščia. Įkiškite adatą į įpurškimo sistemą ir greitai įpurškite po 1–2 s. Po maždaug 5 s adatą švelniai ištraukite.

Registravimą vykdykite tol, kol vaškai arba stigmasdienai bus visiškai išplauti, priklausomai nuo analizuojamos frakcijos.

Pagrindo linija turi visuomet atitikti nustatytas sąlygas.

5.4. Smailių identifikavimas

Smailės identifikuojamos pagal sulaikymo trukmes, lyginant jas su žinomas sulaikymo trukmes turinčių vaškų mišiniais, analizuojamais tomis pačiomis sąlygomis. Alkilesteriai nustatomi iš pagrindinių alyvuogių aliejų riebiųjų rūgščių (palmitino ir oleino) metilo ir etilo esterių mišinių.

Pirmojo spaudimo alyvuogių aliejaus vaškų chromatograma parodyta 1 paveiksle. 2 ir 3 paveiksluose parodytos dviejų mažmeninėje prekyboje parduodamų aukščiausios kokybės pirmojo spaudimo alyvuogių aliejų chromatogramos – viena su metilo ir etilo esteriais, o kita be jų. 4 paveiksle pateikiamos pačios aukščiausios kokybės pirmojo spaudimo alyvuogių aliejaus ir to paties aliejaus, į kurį įpilta 20 % dezodoruoto aliejaus, chromatogramos.

5.5. Kiekybinė vaškų analizė

Integratoriumi išmatuojami laurileikozanato vidinį etaloną ir C₄₀–C₄₆ alifatinius esterius atitinkančių smailių plotai.

Sudedant visus atskirus vaškus, mg/kg riebalų, nustatomas bendras vaškų kiekis:

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

čia:

A_x = atskiro esterio smailę atitinkantis plotas, kompiuteriniais vienetais

A_s = laurileikozanato vidinio etalono smailę atitinkantis plotas, kompiuteriniais vienetais

m_s = pridėto laurileikozanato vidinio etalono masė, miligramais;

m = nustatymui paimto mėginio masė, gramais.

5.5.1. Metilo ir etilo esterių kiekybinė analizė

Integratoriumi išmatuojami smailių, atitinkančių metilheptadekanoato vidinį etaloną, C₁₆–C₁₈ riebiųjų rūgščių metilo esterius ir C₁₆–C₁₈ riebiųjų rūgščių etilo esterius, plotai.

Nustatomas kiekvieno alkilesterio kiekis, mg/kg riebalų:

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

čia:

A_x = atskirą C₁₆ ir C₁₈ esterio smailę atitinkantis plotas, kompiuteriniais vienetais

A_s = atskirą metilheptadekanoato vidinio etalono smailę atitinkantis plotas, kompiuteriniais vienetais

m_s = pridėto metilheptadekanoato vidinio etalono masė, miligramais;

m = nustatymui paimto mėginio masė, gramais.

6. REZULTATŲ APSKAIČIAVIMAS

Pateikite skirtingų vaškų nuo C₄₀ iki C₄₆ kiekių sumą (7 pastaba) miligramais riebalų kilograme.

Pateikite metilesterių ir etilesterių nuo C₁₆ iki C₈ kiekių sumą ir bendrą jų abiejų kieki.

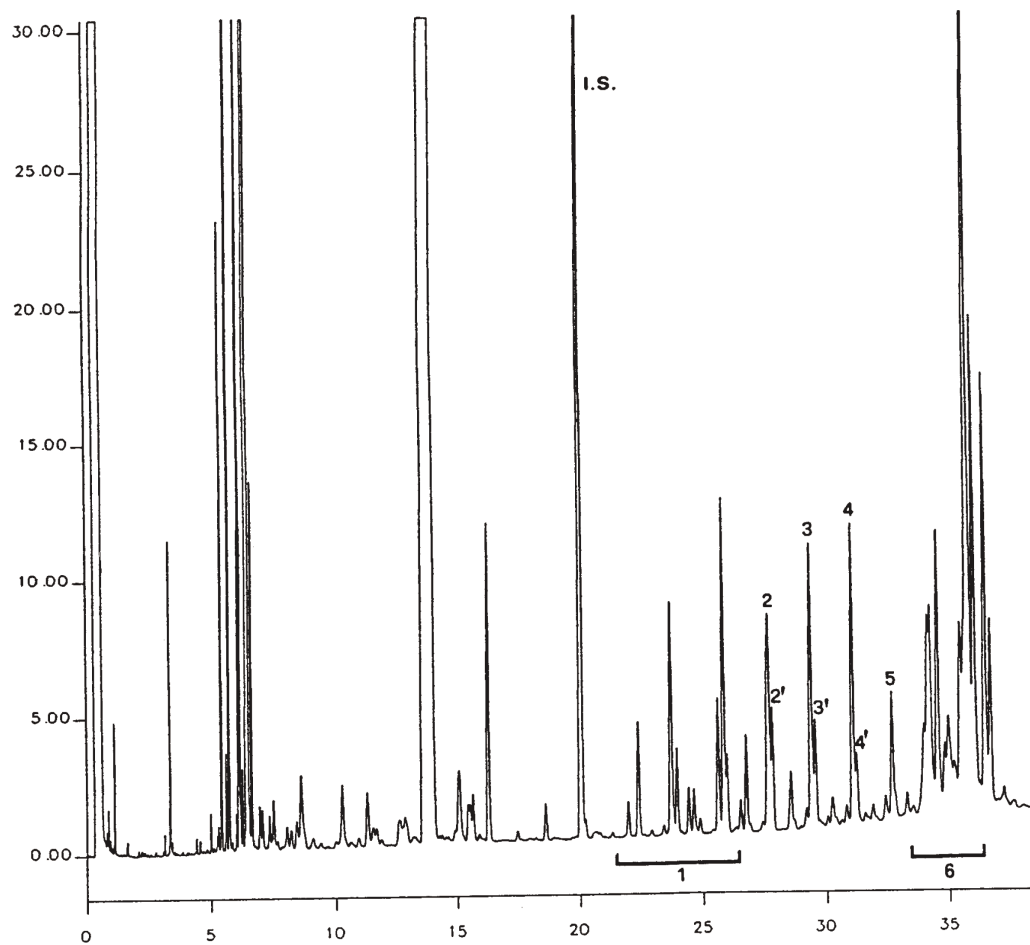
Rezultatus reikia suapvalinti iki artimiausių mg/kg.

7 pastaba. Kiekybinio įvertinimo komponentai yra smailės su lyginiais anglies atomų skaičiais iš C₄₀–C₄₆ esterių pagal vaškų alyvuogių aliejuje mėginio chromatogramą, pateiktą pridedamame paveiksle. Nustatymo reikmėms, jei C₄₆ esteris yra pasidalijęs, rekomenduojama analizuoti alyvuogių išspaudų aliejaus vaškų frakciją, kurioje C₄₆ smailę galima atskirti, nes ji aiškiai vyrauja.

Pateikite etilesterių ir metilesterių santykį.

1 pav.

Alyvuofių aliejaus vaškų frakcijos dujų chromatogramos pavyzdys (*)



Riebiųjų rūgščių metilo ir etilo esterių smailės, kurių sulaikymo trukmė 5–8 min

Paiškinimai:

I.S. = Laurileikozanatas

1 = Diterpeniniai esteriai

2+2' = C₄₀ esteriai

3+3' = C₄₂ esteriai

4+4' = C₄₄ esteriai

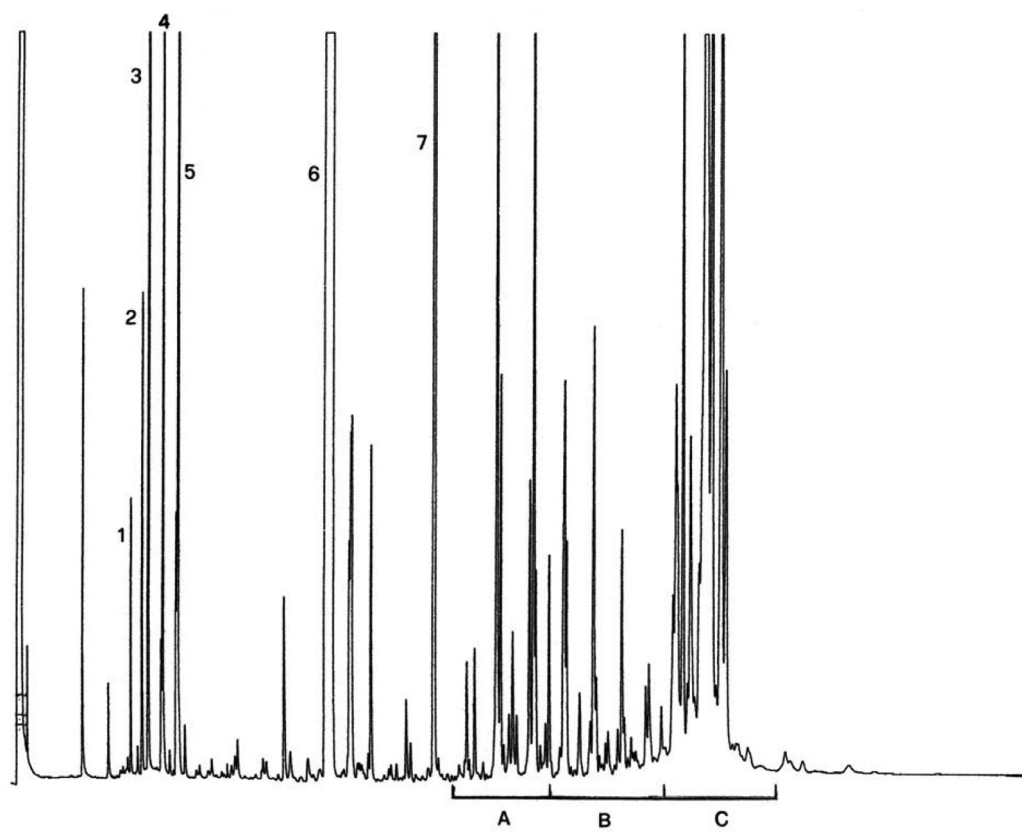
5 = C₄₆ esteriai

6 = Steroliniai esteriai ir triterpeninis alkoholis

(*) Atlikus sterolinių esterių išplovimą, chromatogramoje ryškių smailių (triacilglicerolių) neturi būti.

2 pav.

Pirmojo spaudimo alyvuogių aliejaus metilesteriai, etilesteriai ir vaškai

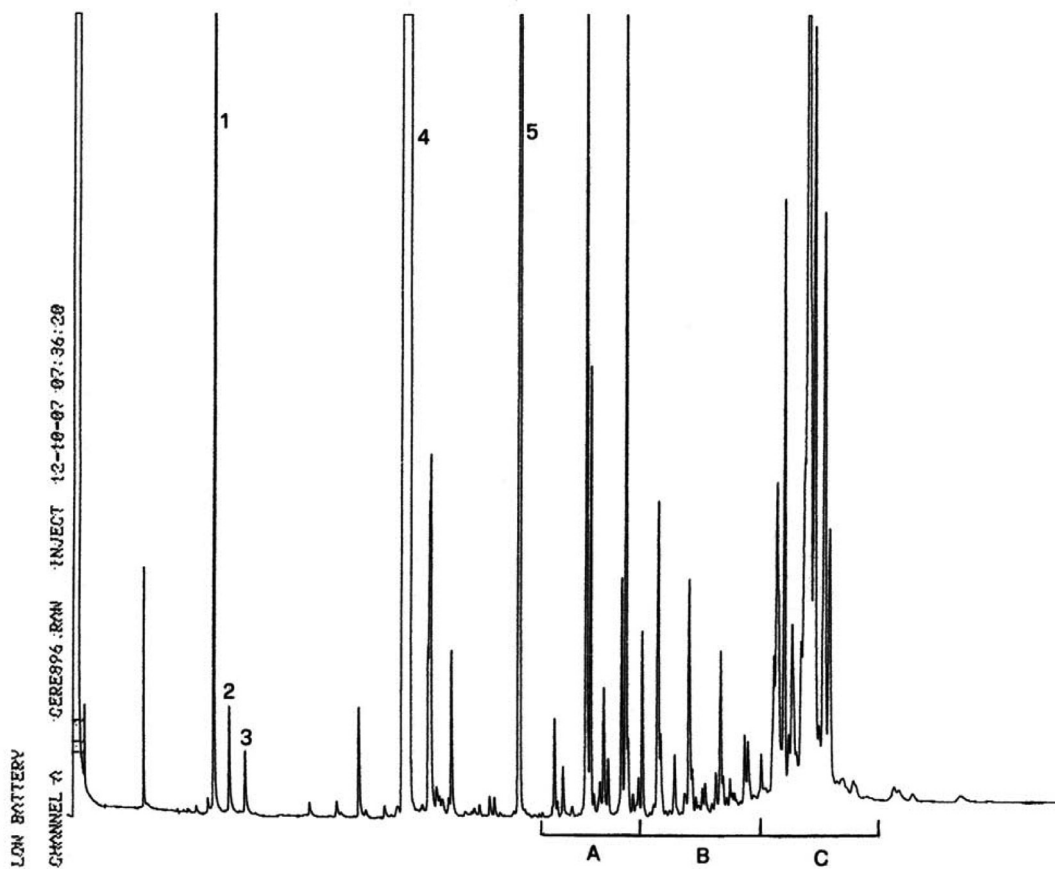


Paiškinimai:

- 1 – C₁₆ metilas
- 2 – C₁₆ etilas
- 3 – metilheptadekanoato vidinis etalonas
- 4 – C₁₈ metilas
- 5 – C₁₈ etilas
- 6 – skvalenas
- 7 – laurileikozanato vidinis etalonas
- A – diterpeniniai esteriai
- B – vaškai
- C – Steroliniai esteriai ir triterpeniniai esteriai

3 pav.

Aukščiausios kokybės pirmojo spaudimo alyvuogių aliejaus metilesteriai, etilesteriai ir vaškai

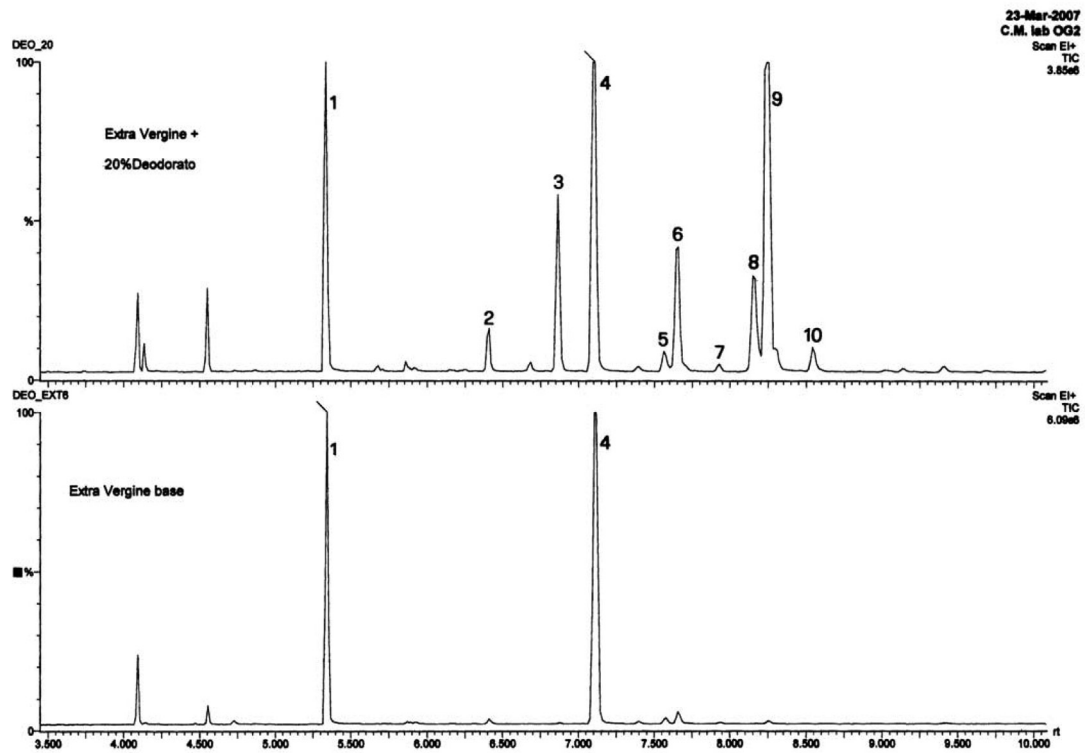


Paiškinimai:

- 1 – metilheptadekanoato vidinis standartas
- 2 – C₁₈ metilas
- 3 – C₁₈ etilas
- 4 – skvalenas
- 5 – laurileikozanato vidinis etalonas
- A – diterpeniniai esteriai
- B – vaškai
- C – Steroliniai esteriai ir triterpeniniai esteriai

4 paveikslas

Aukščiausios kokybės pirmojo spaudimo alyvuogių aliejaus ir to paties aliejaus, į kurį įpilta dezodoruoto aliejaus, chromatogramos dalis



Paiškinimai:

- 1 – metilmiristato vidinis etalonas
- 2 – metilpalmitatas
- 3 – etilpalmitatas
- 4 – metilheptadekanoato vidinis etalonas
- 5 – metilinoleatas
- 6 – metiloleatas
- 7 – metilstearatas
- 8 – etilinoleatas
- 9 – etiloleatas
- 10 – etilstearatas

A priedėlis

Dujų linijinio greičio nustatymas

Į normalioms darbo sąlygoms nustatytą dujų chromatografą įpurškiama 1:3 μ l metano (arba propano). Išmatuojamas laikas, per kurį dujos prateka per kolonėlę nuo įpurškimo momento iki smailės iškilimo momento (t_M).

Linijinis greitis, cm/s, gaunamas pagal formulę L/t_M , kurioje L yra kolonėlės ilgis, cm, o t_M yra išmatuotas laikas sekundėmis.“
