

KOMISIJOS ĮGYVENDINIMO REGLAMENTAS (ES) Nr. 1348/2013

2013 m. gruodžio 16 d.

kuriuo iš dalies keičiamas Reglamentas (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 (Bendrą bendro žemės ūkio rinkų organizavimo reglamentą) ⁽¹⁾, ypač į jo 113 straipsnio 1 dalies a punktą ir 121 straipsnio pirmos pastraipos a ir h punktus kartu su 4 straipsniu,

kadangi:

- (1) Komisijos reglamente (EEB) Nr. 2568/91 ⁽²⁾ apibrėžiamos cheminės ir organoleptinės alyvuogių aliejaus ir alyvuogių išspaudų aliejaus savybės ir nustatomi tų savybių vertinimo metodai. Tie metodai ir aliejų savybėms taikomos ribinės vertės turėtų būti atnaujinami remiantis chemijos ekspertų nuomone ir atsižvelgiant į Tarptautinėje alyvuogių aliejaus taryboje (TAAT) atliktus darbus;
- (2) siekiant užtikrinti naujausių TAAT nustatytų tarptautinių standartų įgyvendinimą Sąjungos lygmeniu, tam tikrus analizės metodus, taip pat tam tikras aliejų savybių ribines vertes, nustatytas Reglamente (EEB) Nr. 2568/91, reikėtų atnaujinti;
- (3) todėl ribines stigmastadienų, vašků, miristo rūgšties ir riebalų rūgščių alkilesterių vertes reikėtų suderinti, o tam tikras sprendimų priėmimo schemas, pagal kurias tikrinama, ar alyvuogių aliejaus mėginys atitinka deklaruojamą kategoriją, reikėtų atitinkamai iš dalies pakeisti. Siekiant palengvinti prekybą ir vartotojų apsaugos tikslais garantuoti alyvuogių aliejaus autentiškumą, reikėtų nustatyti su kampesteroliu ir delta-7-stigmastenoliu susijusias sprendimų priėmimo schemas ir griežtesnius parametrus. Analizės metodą, susijusį su sterolių sudėtimi ir kiekiu, taip pat su eritrodolio ir uvaolio nustatymu, reikėtų pakeisti patikimesniu metodu, kuris apimtų ir triterpeno dialkoholių. Taip pat derėtų peržiūrėti alyvuogių aliejaus organoleptinį vertinimą ir įtraukti metodą, kuriuo alyvuogių aliejų sudėtyje būtų galima nustatyti pašalinius augalinius aliejus;
- (4) atsižvelgiant į pokyčius, susijusius su aliejų atitikties patikrų procedūromis, alyvuogių aliejaus ir alyvuogių išspaudų aliejaus mėginių ėmimo metodą reikėtų atitinkamai suderinti;
- (5) todėl Reglamentas (EEB) Nr. 2568/91 turėtų būti atitinkamai iš dalies pakeistas;

- (6) kad būtų laiko prisitaikyti prie naujų taisyklių ir įdiegti joms taikyti reikalingas priemones ir kad nebūtų trikdamos prekybos operacijos, šiuo reglamentu padaryti pakeitimai turėtų būti taikomi nuo 2014 m. kovo 1 d. Dėl tų pačių priežasčių reikėtų nustatyti, kad iki minėtos datos Sąjungoje teisėtai pagamintais ir paženklintais etiketėmis arba į Sąjungą teisėtai importuotais ir išleistais į laisvą apyvartą alyvuogių ir alyvuogių išspaudų aliejais būtų galima prekiauti tol, kol baigsis visos jų atsargos;
- (7) 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 straipsnis pakeičiamas taip:

„2 straipsnis

1. I priede nustatytos aliejų savybės nustatomos šiais analizės metodais:

- a) laisvosioms riebalų rūgštims, išreiškiamoms oleino rūgšties procentine dalimi, nustatyti – II priede nustatytu metodu;
- b) peroksidų skaičiui nustatyti – III priede nustatytu metodu;
- c) vašků kiekiui nustatyti – IV priede nustatytu metodu;
- d) sterolių ir triterpeno dialkoholių sudėčiai ir kiekiui kapiliarinės dujų chromatografijos metodu nustatyti – V priede nustatytu metodu;
- e) procentinei 2-glicerilo monopalmitato daliai nustatyti – VII priede nustatytu metodu;
- f) spektrofotometrinei analizei atlikti – IX priede nustatytu metodu;
- g) riebalų rūgščių sudėčiai nustatyti – Xa ir Xb prieduose nustatytu metodu;
- h) lakiųjų halogenintų tirpiklių kiekiui nustatyti – XI priede nustatytu metodu;

⁽¹⁾ OL L 299, 2007 11 16, p. 1.

⁽²⁾ 1991 m. liepos 11 d. Komisijos reglamentas (EEB) Nr. 2568/91 dėl maišyto alyvuogių aliejaus ir maišyto alyvuogių išspaudų aliejaus savybių ir dėl atitinkamų analizės metodų (OL L 248, 1991 9 5, p. 1).

- i) organoleptinėms pirmojo spaudimo alyvuogių aliejaus savybėms įvertinti – XII priede nustatytu metodu;
- j) stigmastadienų kiekiui nustatyti – XVII priede nustatytu metodu;
- k) trigliceridų su ECN42 kiekiui nustatyti – XVIII priede nustatytu metodu;
- l) alifatinio alkoholio kiekiui nustatyti – XIX priede nustatytu metodu;
- m) vašků, riebalų rūgščių metilesterių ir riebalų rūgščių etilo esterių kiekiui nustatyti – XX priede nustatytu metodu.

Pašalinių augalinių aliejų kiekams alyvuogių aliejuose aptikti taikomas XXa priede nustatytas analizės metodas.

2. Organoleptinių pirmojo spaudimo alyvuogių aliejų savybių tikrinimą, pavestą nacionalinėms institucijoms ar jų atstovams, atlieka valstybių narių patvirtintos degustuotojų grupės.

Pirmoje pastraipoje nurodytos organoleptinės aliejaus savybės laikomos darančiomis su deklaruota kategorija, jeigu valstybės narės patvirtinta degustuotojų grupė patvirtina nustatytą rūšį.

Jeigu degustuotojų grupė, įvertinusi organoleptines savybes, nepatvirtina deklaruotos kategorijos, suinteresuotosios šalies prašymu nacionalinės institucijos arba jų atstovai nedelsdami organizuoja du priešpriešinius vertinimus, kuriuos atliktų kitos patvirtintos degustuotojų grupės, įskaitant bent vieną vertinimą, kurį atliktų susijusios valstybės narės gamintojos patvirtinta degustuotojų grupė. Atitinkamos savybės laikomos darančiomis su deklaruotomis savybėmis, jeigu deklaruota rūšis patvirtinama atlikus bent du iš šių priešpriešinių vertinimų. Priešingu atveju priešpriešinių vertinimų išlaidas padengia suinteresuotoji šalis.

3. Nacionalinėms institucijoms arba jų atstovams tikrinant aliejaus savybes, kaip nustatyta 1 dalyje, mėginiai imami pagal tarptautinius standartus EN ISO 661 dėl tiriamųjų mėginių paruošimo ir EN ISO 5555 dėl mėginių ėmimo. Tačiau, neatsižvelgiant į standarto EN ISO 5555 6.8 punktą, jeigu tokių aliejų partijos tikrinamos pirminėje pakuotėje, mėginys imamas pagal šio reglamento Ia priedą. Jeigu tikrinami neišpilstyti aliejai, kurių mėginių pagal EN ISO 5555 negalima paimti, mėginiai imami pagal valstybės narės kompetentingos institucijos pateiktus nurodymus.

Nepažeidžiant standarto EN ISO 5555 ir standarto EN ISO 661 6 skyriaus, paimti mėginiai kuo greičiau perkeliami į

tamsią vietą atokiau nuo didelio karščio šaltinių ir ne vėliau kaip penktą darbo dieną nuo jų paėmimo nusiunčiami į laboratoriją analizei, priešingu atveju mėginiai saugomi taip, kad juos vežant ar saugant prieš išsiunčiant į laboratoriją nesuprastėtų jų kokybė arba jie nebūtų pažeisti.

4. Atliekant 3 dalyje nustatytą tikrinimą, analizės, nurodytos II, III, IX, XII ir XX prieduose, ir, jei daromos, bet kokios pagal nacionalinės teisės aktus reikalaujamos kontraanalizės atliekamos prieš pasibaigiant minimaliam supakuotų produktų galiojimo laikui. Jeigu imami neišpilstyto aliejaus mėginiai, tos analizės atliekamos ne vėliau kaip šeštąjį mėnesį nuo atitinkamo mėginio paėmimo mėnesio.

Kitoms šiame reglamente numatytoms analizėms netaikomi jokie laiko apribojimai.

Išskyrus atvejus, kai mėginys buvo paimtas likus mažiau nei dviem mėnesiams iki minimalaus galiojimo laiko pabaigos, jeigu analizių rezultatai neatitinka deklaruotos alyvuogių ar alyvuogių išspaudų aliejaus kategorijos savybių, susijusių šaliai apie tai pranešama ne vėliau kaip likus mėnesiui iki pirmoje pastraipoje nurodyto laikotarpio pabaigos.

5. Alyvuogių aliejų savybes nustatant 1 dalies pirmoje pastraipoje nurodytais metodais, analizės rezultatai tiesiogiai lyginami su šiame reglamente nustatytais ribomis.“

- (2) I priedas pakeičiamas šio reglamento I priede pateikiamu tekstu.
- (3) Ia priedas pakeičiamas šio reglamento II priede pateikiamu tekstu.
- (4) Ib priedas pakeičiamas šio reglamento III priede pateikiamu tekstu.
- (5) V priedas pakeičiamas šio reglamento IV priede pateikiamu tekstu.
- (6) VI priedas išbraukiamas.
- (7) XII priedas pakeičiamas šio reglamento V priede pateikiamu tekstu.
- (8) Po XX priedo įterpiamas XXa priedas, kurio tekstas pateikiamas šio reglamento VI priede.

2 straipsnis

Iki 2014 m. kovo 1 d. Sąjungoje teisėtai pagamintais ir paženklintais etiketėmis arba į Sąjungą teisėtai importuotais ir išleistais į laisvą apyvartą produktais galima prekiauti tol, kol baigsis visos jų atsargos.

3 straipsnis

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

Jis taikomas nuo 2014 m. kovo 1 d.

Šis reglamentas privalomas visas ir tiesiogiai taikomas visose valstybėse narėse.

Priimta Briuselyje 2013 m. gruodžio 16 d.

Komisijos vardu

Pirmininkas

José Manuel BARROSO

ALYVUOGIŲ ALIEJAUS SAVYBĖS

Kategorija	Riebalų rūgščių etilo esteriai (FAEE) mg/kg (*)	Rūgštin- gumas (%) (*)	Peroksidų skaičius mEq O ₂ /kg (*)	Vaškai mg/kg (**)	2-glicerilo monopal- mitatas (%)	Stigmastadienai mg/kg (¹)	Skirtumas: ECN42 (HPLC) ir ECN42 (²) (teorinis apskaičiavi- mas)	K ₂₃₂ (*)	K ₂₆₈ arba K ₂₇₀ (*)	Delta-K (*)	Organoleptinis trūkumų medianos įverti- nimas (Md) (*)	Organoleptinis vaisių požymio medianos įvertinimas (Mf) (*)
1. Aukščiausios kokybės pirmojo spaudimo alyvuogių aliejus	FAEE ≤ 40 (2013–2014 derliaus metai) (³) FAEE ≤ 35 (2014–2015 derliaus metai) FAEE ≤ 30 (po 2015 derliaus metų)	≤ 0,8	≤ 20	C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ ≤ 150	≤ 0,9, jei bendras palmitino rūgšties % ≤ 14 %	≤ 0,05	≤ 0,2	≤ 2,50	≤ 0,22	≤ 0,01	Md = 0	Mf > 0
					≤ 1,0, jei bendras palmitino rūgšties % > 14 %							
2. Pirmojo spaudimo alyvuogių aliejus	—	≤ 2,0	≤ 20	C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ ≤ 150	≤ 0,9, jei bendras palmitino rūgšties % ≤ 14 %	≤ 0,05	≤ 0,2	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,01	Md ≤ 3,5	Mf > 0
					≤ 1,0, jei bendras palmitino rūgšties % > 14 %							
3. Pirmojo spaudimo klasikinis alyvuogių aliejus <i>lampante</i>	—	> 2,0	—	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ ≤ 300 (⁴)	≤ 0,9, jei bendras palmitino rūgšties % ≤ 14 %	≤ 0,50	≤ 0,3	—	—	—	Md > 3,5 (⁵)	—
					≤ 1,1, jei bendras palmitino rūgšties % > 14 %							
4. Rafinuotas alyvuogių aliejus	—	≤ 0,3	≤ 5	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ ≤ 350	≤ 0,9, jei bendras palmitino rūgšties % ≤ 14 %	—	≤ 0,3	—	≤ 1,10	≤ 0,16	—	—
					≤ 1,1, jei bendras palmitino rūgšties % > 14 %							

Kategorija	Riebalų rūgščių etilo esteriai (FAEE) mg/kg (*)	Rūgštingumas (%) (*)	Peroksidų skaičius mEq O ₂ /kg (*)	Vaškai mg/kg (**)	2-glicerilo monopalmitatas (%)	Stigmastadienai mg/kg (1)	Skirtumas: ECN42 (HPLC) ir ECN42 (2) (teorinis apskaičiavimas)	K ₂₃₂ (*)	K ₂₆₈ arba K ₂₇₀ (*)	Delta-K (*)	Organoleptinis trūkumų medianos įvertinimas (Md) (*)	Organoleptinis vaisių požymio medianos įvertinimas (Mf) (*)
5. Maišytas rafinuoto ir pirmojo spaudimo alyvuogių aliejus	—	≤ 1,0	≤ 15	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ ≤ 350	≤ 0,9, jei bendras palmitino rūgšties % ≤ 14 % ≤ 1,0, jei bendras palmitino rūgšties % > 14 %	—	≤ 0,3	—	≤ 0,90	≤ 0,15	—	—
6. Neapdorotas alyvuogių išspaudų aliejus	—	—	—	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ > 350 (6)	≤ 1,4	—	≤ 0,6	—	—	—	—	—
7. Rafinuotas alyvuogių išspaudų aliejus	—	≤ 0,3	≤ 5	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ > 350	≤ 1,4	—	≤ 0,5	—	≤ 2,00	≤ 0,20	—	—
8. Alyvuogių išspaudų aliejus	—	≤ 1,0	≤ 15	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ > 350	≤ 1,2	—	≤ 0,5	—	≤ 1,70	≤ 0,18	—	—

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

(2) Alyvuogių aliejus turi atitikti XXa priede nustatytą metodą.

(3) Ši riba taikoma alyvuogių aliejams, pagamintiems nuo 2014 m. kovo 1 d.

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

(5) Arba kai trūkumų mediana yra didesnė nei 3,5, arba kai trūkumų mediana mažesnė nei 3,5 arba lygi šiai vertei, o vaisių požymio mediana lygi 0.

(6) 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 ir jei eritrodioolio ir uvaolio procentinė dalis yra didesnė nei 3,5.

Kategorija	Riebalų rūgščių sudėtis (1)						Trans-oleinių izomerų suma (%)	Trans-linolio ir trans-linolenio izomerų suma (%)	Sterolių sudėtis						Bendras sterolių kiekis (mg/kg)	Eritrodioolis ir uvaolis (%) (**)
	Miristo (%)	Linoleno (%)	Eikozano (%)	Eikozeno (%)	Beheno (%)	Lignocero (%)			Cholesterolis (%)	Brasikasterolis (%)	Kampesterolis (2) (%)	Stigmasterolis (%)	Tariamasis β-sitosterolis (%) (3)	Delta-7-stigmasterolis (2) (%)		
1. Aukščiausios kokybės pirmojo spaudimo alyvuogių aliejus	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
2. Pirmojo spaudimo alyvuogių aliejus	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
3. Pirmojo spaudimo klasikinis alyvuogių aliejus <i>lampante</i>	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,10	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5 (4)
4. Rafinuotas alyvuogių aliejus	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5

Kategorija	Riebalų rūgščių sudėtis ⁽¹⁾						Trans-oleinių izomerų suma (%)	Trans-linolo ir trans-linolenolizomerų suma (%)	Sterolių sudėtis						Bendras sterolių kiekis (mg/kg)	Eritrodiolis ir uvaolis (%) ^(**)
	Miristo (%)	Linoleno (%)	Eikozano (%)	Eikozeno (%)	Beheno (%)	Lignocero (%)			Cholesterolis (%)	Brasikasterolis (%)	Kampesterolis ⁽²⁾ (%)	Stigmasterolis (%)	Tariamasis β-sitosterolis (%) ⁽³⁾	Delta-7-stigmasterolis ⁽²⁾ (%)		
5. Maišytas rafinuoto ir pirmojo spaudimo alyvuogių aliejus	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
6. Neapdorotas alyvuogių išspaudų aliejus	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,30	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 2 500	> 4,5 ⁽⁵⁾
7. Rafinuotas alyvuogių išspaudų aliejus	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,30	≤ 0,20	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 800	> 4,5
8. Alyvuogių išspaudų aliejus	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,30	≤ 0,20	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 600	> 4,5

⁽¹⁾ Kitos riebalų rūgštys (%): palmitino: 7,50–20,00; palmitoleino: 0,30–3,50; heptadekano: ≤ 0,30; heptadeceno: ≤ 0,30; stearino: 0,50–5,00; oleino: 55,00–83,00; linolo: 3,50–21,00.

⁽²⁾ Žr. šio priedo priedėlį.

⁽³⁾ Tariamasis β-sitosterolis: delta-5,23-stigmastadienolis + klerosterolis + beta-sitosterolis + sitostanolis + delta-5-avenasterolis + delta-5,24-stigmastadienolis.

⁽⁴⁾ Aliejai, kuriuose yra nuo 300 mg/kg iki 350 mg/kg vaškų, laikomi pirmojo spaudimo klasikiniais alyvuogių aliejais *lampante*, jei bendras alifatinių alkoholių kiekis yra ne didesnis nei 350 mg/kg arba jei eritrodiolio ir uvaolio procentinė dalis yra ne didesnė nei 3,5.

⁽⁵⁾ 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 ir jei eritrodiolio ir uvaolio procentinė dalis yra didesnė nei 3,5.

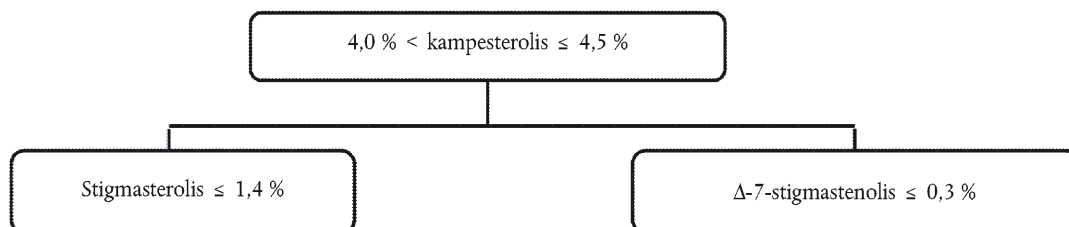
Pastabos.

- 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 einantis skaitmuo didesnis už 4.
- Aliejus gali būti priskirtas kitai kategorijai arba paskelbtas neatitinkančiu šiame reglamente jam keliamų grynumo kriterijų net ir tuo atveju, jei nustatytų verčių neatitinka tik viena savybė.
- Žvaigždute (*) pažymėtos aliejaus kokybės savybės reiškia: pirmojo spaudimo klasikinis alyvuogių aliejus *lampante* nebūtinai vienu metu turi atitikti visas ribines vertes; pirmojo spaudimo alyvuogių aliejai net ir tuo atveju, jei su nustatyta ribine verte nesutampa vienintelė savybė, yra priskiriami kitai aliejaus kategorijai, nors vis tiek klasifikuojami kaip pirmojo spaudimo alyvuogių aliejus.
- Dviem žvaigždutėmis (**) pažymėta savybė reiškia, kad visų rūšių alyvuogių išspaudų aliejus nebūtinai vienu metu turi atitikti visas ribines vertes.

Priedėlis

Sprendimų schema

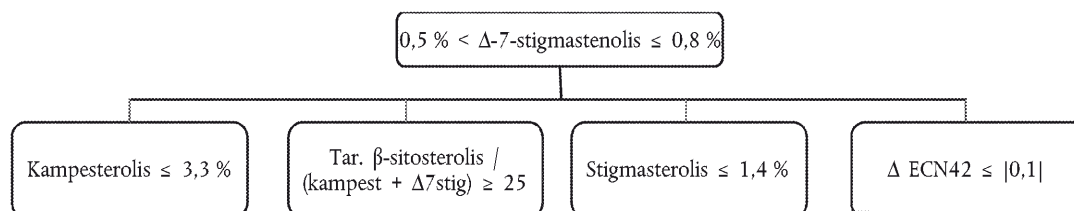
Kampesterolis. Sprendimų schema. Pirmojo spaudimo ir aukščiausios kokybės pirmojo spaudimo alyvuogių aliejai:



Kiti parametrai atitinka šiame reglamente nustatytas ribines vertes.

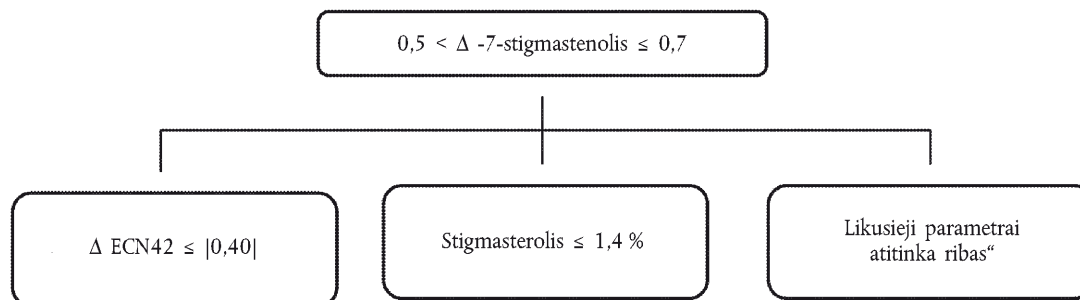
Delta-7-stigmasterolis. Sprendimų schema.

— Aukščiausios kokybės pirmojo spaudimo ir pirmojo spaudimo alyvuogių aliejai:



Kiti parametrai turi atitikti šiame reglamente nustatytas ribines vertes.

— Alyvuogių išspaudų aliejai (neapdoroti ir rafinuoti):



II PRIEDAS

„Ia PRIEDAS

ALYVUOGIŲ ALIEJAUS ARBA ALYVUOGIŲ IŠSPAUDŲ ALIEJAUS, PRISTATYTO PIRMINĖJE PAKUOTĖJE, MĖGINIŲ ĖMIMAS

Šis mėginių ėmimo metodas taikomas alyvuogių arba alyvuogių išspaudų aliejaus, pristatyto pirminėje pakuotėje, partijoms. Atsižvelgiant į tai, ar pirminės pakuotės tūris yra didesnis nei 5 litrai, ar ne, taikomi įvairūs mėginių ėmimo metodai.

Partija – prekės vienetų, kurie buvo pagaminti ir supakuoti tokiomis aplinkybėmis, kad kiekviename prekės vienetė esantis aliejus pagal visas analitines savybes yra laikomas homogenišku, rinkinys. Partija turi būti individualiai pažymėta pagal Europos Parlamento ir Tarybos direktyvą 2011/91/ES ⁽¹⁾.

Ėminys – pirminėje pakuotėje esančio aliejaus kiekis, paimtas iš atsitiktine tvarka parinktos partijos vietos.

1. PIRMINIO MĖGINIO SUDĖTIS**1.1. Ne didesnė nei 5 litrų pirminė pakuotė**

Pirminis mėginys, kai pirminė pakuotė yra ne didesnė nei 5 litrų, – keletas ėminių, paimtų iš partijos vadovaujantis 1 lentele.

1 lentelė

Būtiniausias pirminio mėginio dydis

Jeigu pirminės pakuotės tūris	Pirminį mėginį turi sudaryti aliejus iš
a) 1 litras ar daugiau	a) vienos pirminės pakuotės;
b) mažiau nei 1 litras	b) minimalaus pakuočių, kurių bendras tūris yra bent 1,0 litras, skaičiaus

Kiekviena valstybė narė, atsižvelgdama į savo poreikius (pavyzdžiui, jeigu organoleptinį vertinimą atlieka kita nei atlikusioji cheminę analizę, kontraanalizę ir t. t. laboratorija), gali padidinti 1 lentelėje nurodytą pakuočių skaičių, iš kurio būtų sudarytas pirminis mėginys.

1.2. Didesnė nei 5 litrų pirminė pakuotė

Pirminis mėginys, kai pirminė pakuotė yra didesnė nei 5 litrų, – visų ėminių dalis, atspindinti jų visumą, gauta juos redukuojant ir vadovaujantis 2 lentele. Pirminį mėginį turi sudaryti įvairūs pavyzdžiai.

Pirminio mėginio „pavyzdys“ – kiekviena iš pirminių mėginių sudarančių pakuočių.

2 lentelė

Būtiniausias ėminių skaičius

Pakuočių partijoje skaičius	Būtiniausias ėminių skaičius
Iki 10	1
Nuo ... 11 iki 150	2
Nuo ... 151 iki 500	3
Nuo ... 501 iki 1 500	4
Nuo ... 1 501 iki 2 500	5
Daugiau kaip 2 500 kiekvienam 1 000 pakuočių	1 papildomas ėminys

⁽¹⁾ 2011 m. gruodžio 13 d. Europos Parlamento ir Tarybos direktyva 2011/91/ES dėl nuorodų arba žymų maisto produkto partijai identifikuoti (OL L 334, 2011 12 16, p. 1).

Siekiant sumažinti iš pirminių pakuočių paimtų mėginių tūrį, pirminiam mėginiui parengti paimtų ėminių turinys homogenizuojamas. Įvairių ėminių dalys supilamos į bendrą talpyklą, kurioje sumaišomos, kad būtų homogenizuotos, užtikrinant kuo geriausią apsaugą nuo oro.

Pirminio mėginio turinys turi būti išpilstytas į keletą bent 1,0 litro tūrio pakuočių, kurių kiekviena sudaro pirminio mėginio pavyzdį.

Kiekviena valstybė narė, atsižvelgdama į savo poreikius (pavyzdžiui, jeigu organoleptinį vertinimą atlieka kita nei atlikusioji cheminę analizę, kontraanalizę ir t. t. laboratorija), gali padidinti pirminių mėginių skaičių.

Kiekviena pakuotė turi būti užpildyta taip, kad oro sluoksnis viršuje būtų kuo mažesnis, ir paskui tinkamai uždaryta ir užsandarinta, kad produktas nebūtų sugadintas.

Šie pavyzdžiai turi būti paženklinami etiketėmis, kad juos būtų galima teisingai identifikuoti.

2. ANALIZĖS IR REZULTATAI

- 2.1. Kiekvienas pirminis mėginys pagal standarto EN ISO 5555 2.5 punktą turi būti padalytas į laboratorinius mėginius ir išanalizuotas 1b priede pateikiamoje sprendimų schemoje nurodyta tvarka arba bet kokia kita atsitiktine tvarka.
- 2.2. Jeigu deklaruotos aliejaus kategorijos savybės atitinka visi analizės rezultatai, derančia turi būti pripažinta visa partija.

Jeigu bent vienas analizės rezultatas neatitinka deklaruotos aliejaus kategorijos savybių, visa partija turi būti pripažinta nederančia.

3. PARTIJOS KATEGORIJOS TIKRINIMAS

- 3.1. Partijos kategorijai patikrinti kompetentinga institucija gali padidinti įvairiose partijos vietose imamų pirminių mėginių skaičių pagal šią lentelę:

3 lentelė

Pirminių mėginių skaičius, nustatomas pagal partijos dydį

Partijos dydis (litrais)	Pirminių mėginių skaičius
Mažiau nei 7 500	2
Nuo 7 500 iki mažiau nei 25 000	3
Nuo 25 000 iki mažiau nei 75 000	4
Nuo 75 000 iki mažiau nei 125 000	5
125 000 arba daugiau	6 + 1 kiekvienam papildomam 50 000 litrų kiekiui

Kiekvienas į pirminį mėginį įtraukiamas ėminys turi būti imamas šalia tos partijos vietos, kurioje paimtas ankstesnis ėminys; būtina įsidėmėti vietą, iš kurios paimtas kiekvienas pirminis mėginys, ir aiškiai ją pažymėti.

Kiekvienas pirminis mėginys turi būti formuojamas 1.1 ir 1.2 punktuose nurodyta tvarka.

Paskui atliekamos kiekvieno pirminio mėginio analizės, nurodytos 2 straipsnio 1 dalyje.

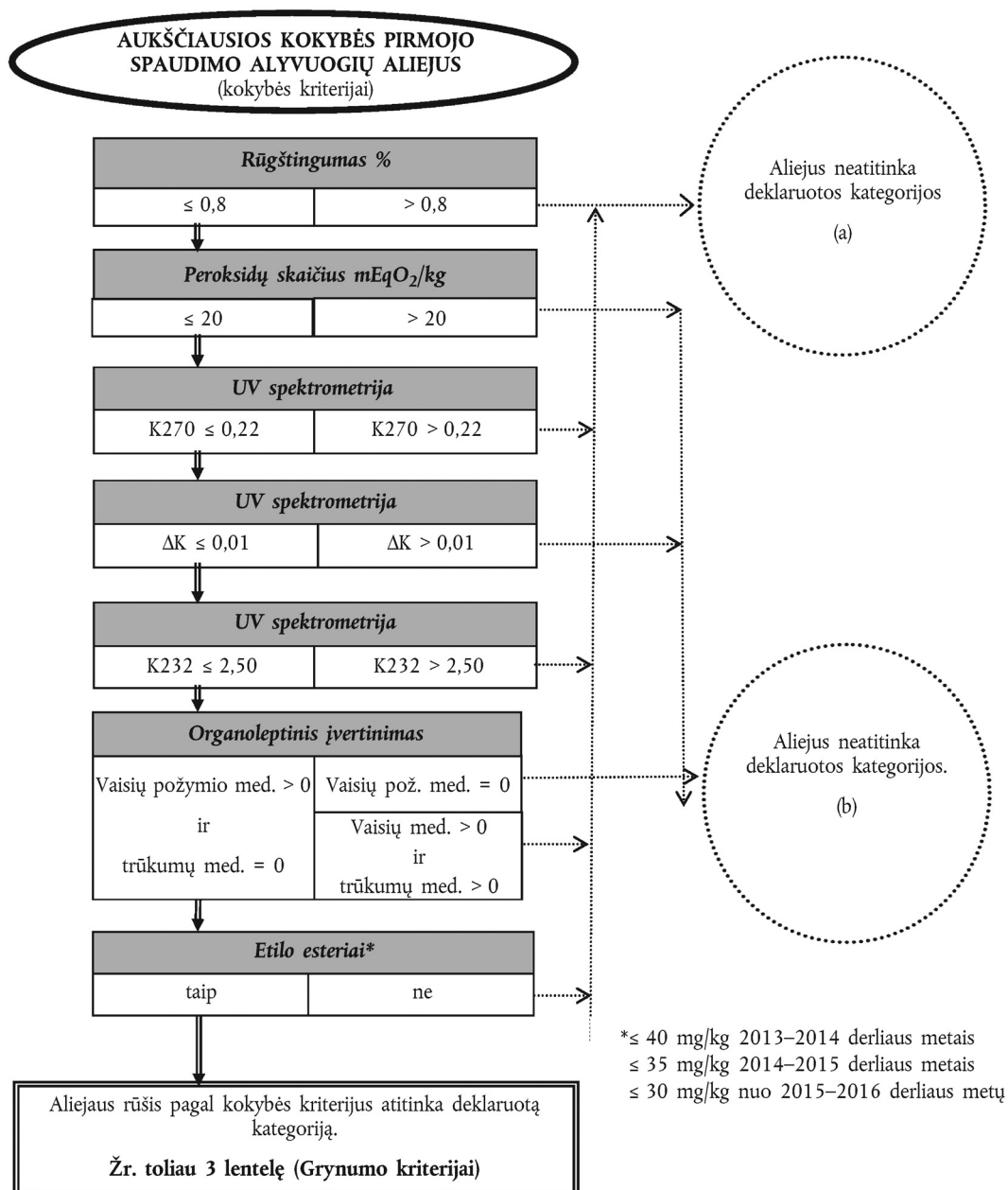
- 3.2. Jeigu vienas iš bent vieno pirminio mėginio analizių, nurodytų 2 straipsnio 1 dalyje, rezultatų neatitinka deklaruotos aliejaus kategorijos savybių, nederančia pripažįstama visa partija, iš kurios paimti tie mėginiai.

III PRIEDAS

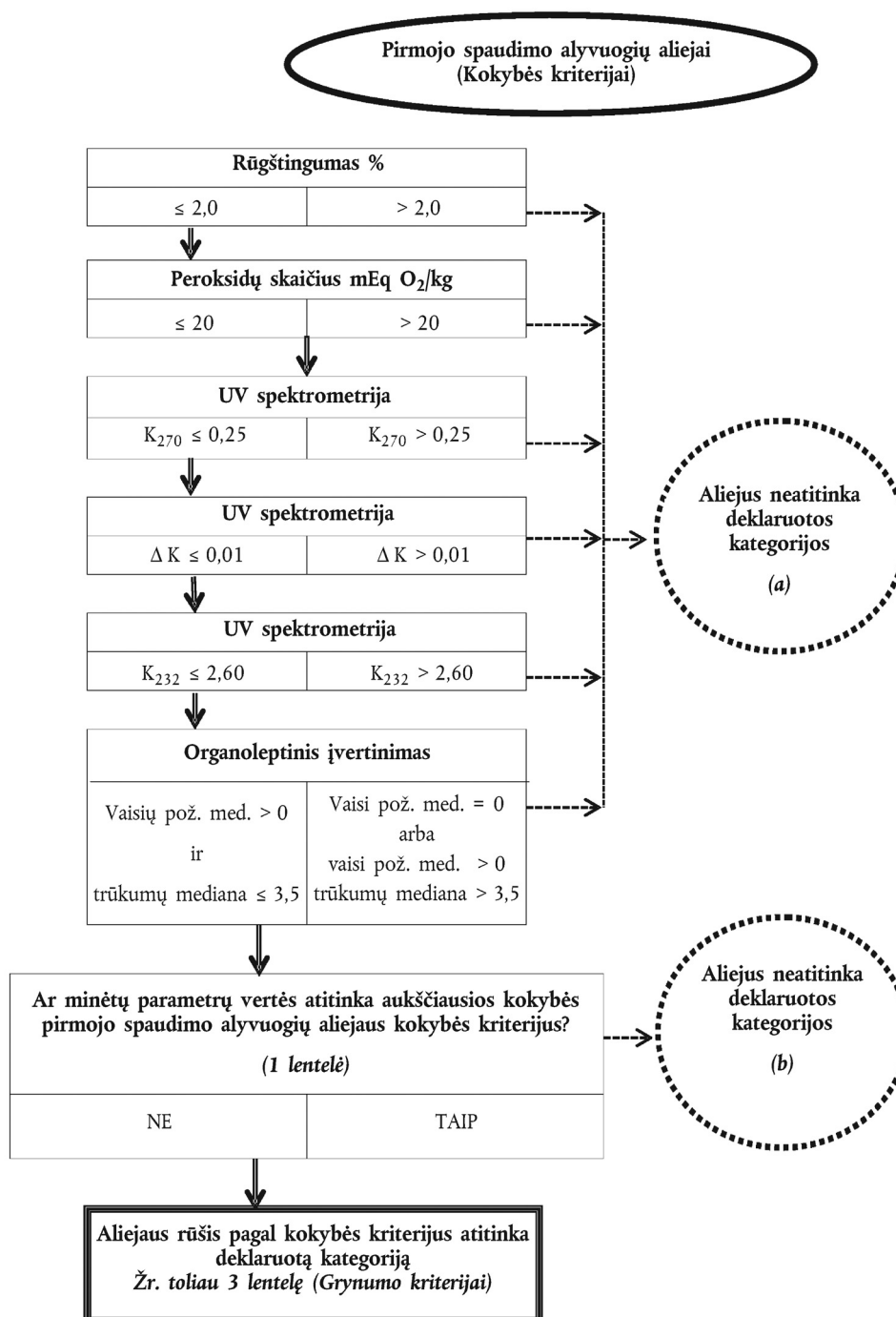
„Ib PRIEDAS

SPRENDIMŲ SCHEMA SIEKIANČIĄ PATIKRINTI, AR ALYVUOGIŲ ALIEJAUS MĖGINYS ATITINKA DEKLARUOTĄ KATEGORIJĄ

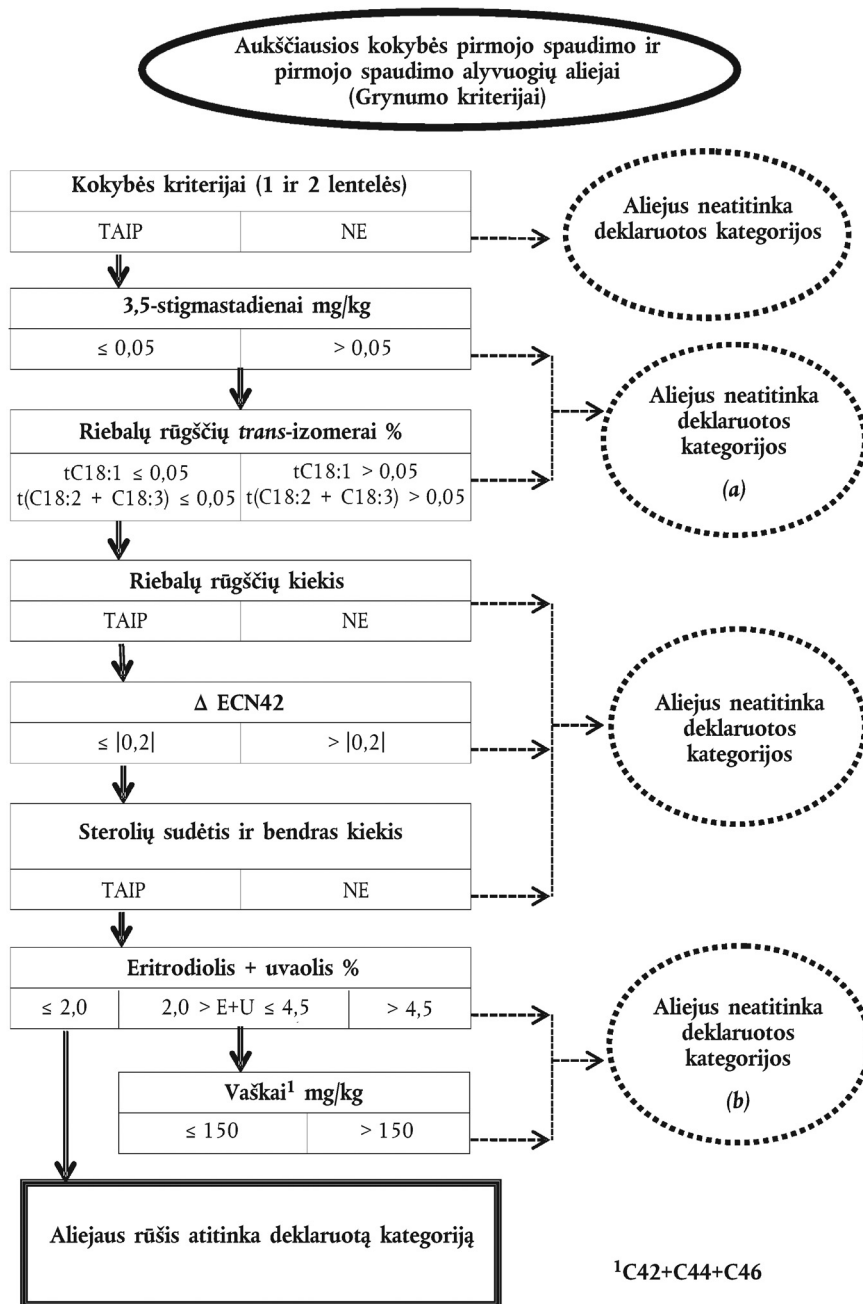
1 lentelė



2 lentelė



3 lentelė



1 priedėlis

Šio reglamento priedų ir sprendimų schemoje nurodytų analizių atitikmenų lentelė

— Rūgštingumas	II priedas	Laisvųjų riebalų rūgščių kiekio nustatymas šaltuoju metodu
— Peroksidų skaičius	III priedas	Peroksidų skaičiaus nustatymas
— UV spektrometrija	IX priedas	Spektrofotometrinis tyrimas
— Organoleptinis vertinimas	XII priedas	Pirmojo spaudimo alyvuogių aliejaus organoleptinių savybių vertinimas
— Etilo esteriai	XX priedas	Vaškų, riebalų rūgščių metilesterių ir riebalų rūgščių etilo esterių kiekio nustatymo kapiliarinės dujų chromatografijos būdu metodas
— 3,5-stigmastadienai	XVII priedas	Stigmastadienų nustatymo augaliniuose aliejuose metodas
— Riebalų rūgščių <i>trans</i> -izomerai	Xa priedas ir	Riebalų rūgščių metilesterių analizė dujų chromatografijos metodu
	Xb priedas	Riebalų rūgščių metilesterių ruošimas
— Riebalų rūgščių sudėtis	Xa priedas ir	Riebalų rūgščių metilesterių analizė dujų chromatografijos metodu
	Xb priedas	Riebalų rūgščių metilesterių ruošimas
— ΔECN42	XVIII priedas	Trigliceridų sudėties nustatymas su ECN42 (HPLC duomenų ir teorinės sudėties skirtumas)
— Sterolių sudėtis ir bendras kiekis — Eritrodiolis ir uvaolis	V priedas	Sterolių ir triterpeno dialkolių sudėties ir kiekio nustatymas kapiliarinės dujų chromatografijos metodu
— Vaškai	IV priedas	Vaškų kiekio nustatymas kapiliarinės dujų chromatografijos metodu
— Alifatiniai alkoholiai	XIX priedas	Alifatinių alkoholių kiekio nustatymas kapiliarinės dujų chromatografijos metodu
— 2 padėtyje prisotintos riebalų rūgštys	VII priedas	2-glicerilo monopalmitato procentinės dalies nustatymas“

IV PRIEDAS

„V PRIEDAS

STEROLIŲ IR TRITERPENŲ DIALKOHOLIŲ SUDETIES IR KIEKIO NUSTATYMAS KAPILIARINĖS DUJŲ CHROMATOGRAFIJOS METODU

1. TAIKYMO SRITIS

Šiame metode aprašomas atskirų sterolių ir triterpeno dialkoholių ir bendro jų kiekio alyvuogių ir alyvuogių išspaudų aliejuose nustatymo būdas.

2. METODO ESME

Aliejus, įdėjus α -cholestanolio kaip vidinio etalono, muilinamas kalio hidroksido tirpalu etanolyje, o nemuilinama medžiaga ekstrahuojama etileteriu.

Sterolių ir triterpeno dialkoholių frakcija išskiriama iš nemuilinamos medžiagos ant šarmu impregnuotos silikagelio plokštelės plonasluoksnės chromatografijos būdu. Iš silikagelio regeneruotos frakcijos paverčiamos trimetilsilileteriais ir analizuojamos kapiliarinės dujų chromatografijos metodu.

3. ĮRANGA

Įprasta laboratorinė įranga, visų pirma:

- 3.1. 250 ml talpos kolba su grįžtamuju kondensatoriumi, turinčiu šlifo sujungimus.
 - 3.2. 500 ml talpos dalijamasis piltuvas.
 - 3.3. 250 ml talpos kolbos.
 - 3.4. Visa įranga plonasluoksnei chromatografiniai analizei atlikti naudojant 20×20 cm matmenų stiklines plokšteles.
 - 3.5. Ultravioletinė 254 arba 366 nm ilgio šviesos bangų lempa.
 - 3.6. Mikrošvirkštai 100 μ l ir 500 μ l tūriams imti.
 - 3.7. G3 akytumo cilindro formos filtras (15–40 μ m akytumas), maždaug 2 cm skersmens ir 5 cm aukščio, tinkamas vakuuminiui filtravimui su šlifo mova.
 - 3.8. 50 ml talpos vakuuminė kūgio formos kolba su šlifo įmova filtrui (3.7 punktą) prijungti.
 - 3.9. 10 ml talpos mėgintuvėlis su kūginiu dugnu ir stiklo kamščiu.
 - 3.10. Darbui su kapiliarine kolonėle tinkamas dujų chromatografas su dozavimo mėginio įpurškimo sistema, kuri sudaro:
 - 3.10.1. termostatuojama kamera norimai temperatūrai kolonėlėje palaikyti ± 1 °C tikslumu;
 - 3.10.2. reguliuojamos temperatūros įpurškimo įrenginys su polisiloksanu dengtu garinimo elementu ir dozavimo sistema;
 - 3.10.3. liepsnos jonizacinis detektorius (FID);
 - 3.10.4. duomenų rinkimo sistema, tinkama naudoti su FID detektoriumi (3.10.3 punktą) ir pritaikyta rankiniam integravimui.
 - 3.11. Lydyto kvarco 20–30 m ilgio kapiliarinė kolonėlė, kurios vidinis skersmuo 0,25–0,32 mm, padengta vienodo 0,10–0,30 μ m storio 5 % difenilo – 95 % dimetilpolisiloksano (SE-52 arba SE-54 nejudančiosios fazės arba ją atitinkančia plėvele) sluoksniu.
 - 3.12. 10 μ l talpos mikrošvirkštas dujų chromatografijai su kietinta adata, tinkama dozuojamajam įpurškimui.
 - 3.13. Kalcio dichlorido eksikatorius.
4. REAGENTAI
 - 4.1. Kalio hidroksidas, mažiausias titras – 85 %.

- 4.2. Kalio hidroksido tirpalas etanolyje, maždaug 2 N.
130 g kalio hidroksido (4.1 punktas) ištirpinama šaldant 200 ml distiliuoto vandens ir paskui praskiedžiama etanoliu (4.10 punktas) iki 1 litro. Tirpalas turi būti laikomas gerai užkimštuose tamsaus stiklo buteliuose ir saugomas ne ilgiau kaip dvi dienas.
- 4.3. Etileteris, analizei tinkamos kokybės.
- 4.4. Kalio hidroksido tirpalas etanolyje, maždaug 0,2 N.
13 g kalio hidroksido (4.1 punktas) ištirpinama 20 ml distiliuoto vandens ir praskiedžiama etanoliu (4.10 punktas) iki 1 litro.
- 4.5. Bevandenis natrio sulfatas, analizei tinkamos kokybės.
- 4.6. Fluorescencijos indikatoriumi neužteršto silikagelio 0,25 mm sluoksniu dengtos stiklinės plokštelės (20 × 20 cm) (galima pirkti paruoštų naudoti plokštelių).
- 4.7. Toluenas, chromatografijai tinkamos kokybės.
- 4.8. Acetonas, chromatografijai tinkamos kokybės.
- 4.9. n-heksanas, chromatografijai tinkamos kokybės.
- 4.10. Etileteris, chromatografijai tinkamos kokybės.
- 4.11. Analizei tinkamos kokybės etanolis.
- 4.12. Analizei tinkamos kokybės etilacetatas.
- 4.13. Etaloninis tirpalas plonasluoksnei chromatografijai: cholesterolis arba fitosteroliai, taip pat eritrodolio 5 % tirpalas etilacetate (4.11 punktas).
- 4.14. 0,2 % 2,7-dichlorfluoresceino tirpalas etanolyje. Jis truputį pašarminamas įlašinant kelis lašus 2 N kalio hidroksido tirpalo alkoholyje (4.2 punktas).
- 4.15. Bevandenis piridinas, chromatografijai tinkamos kokybės (žr. 5 pastabą).
- 4.16. Analizei tinkamos kokybės heksametildisilazanas.
- 4.17. Analizei tinkamos kokybės trimetilchlorsilanas.
- 4.18. Sterolių trimetilsilileterių mėginio tirpalai.
Ruošiami prieš pat juos naudojant iš sterolių ir eritrodolio, gauto iš šių medžiagų turinčių aliejų.
- 4.19. α-cholestanolis, didesnio nei 99 % grynumo (grynumas turi būti patikrintas dujų chromatografijos analizės būdu).
- 4.20. α-cholestanolio vidinio etalono tirpalas, 0,2 % tirpalas (m/V) etilacetate (4.11 punktas).
- 4.21. Fenoltaleino tirpalas, 10 g/l etanolyje (4.10 punktas).
- 4.22. Dujos nešikliai: vandenilis arba helis, dujų chromatografijai tinkamo grynumo.
- 4.23. Pagalbinės dujos: vandenilis, helis, azotas ir oras, dujų chromatografijai tinkamo grynumo.
- 4.24. n-heksano (4.9 punktas) ir etileterio (4.10 punktas) mišinys santykiu 65:35 (V/V).
- 4.25. Sililinio reagentas, kurį sudaro piridino, heksametildisilazano ir trimetilchlorsilano mišinys santykiu 9:3:1 (V/V/V).
5. DARBO EIGA
- 5.1. Nemuilinamų medžiagų gavimas.
- 5.1.1. Į 250 ml talpos kolbą (3.1 punktas) 500 μl mikrošvirkštu (3.6 punktas) įšvirkščiamas toks α-cholestanolio vidinio etalono tirpalo (4.20 punktas) kiekis, kuriame cholestanolio kiekis atitiktų maždaug 10 % mėginio sterolių kiekio. Pavyzdžiui, į 5 g alyvuogių aliejaus mėginį įpilama 500 μl α-cholestanolio tirpalo (4.20 punktas), o į alyvuogių išspaudų aliejaus mėginį – 1 500 μl. Tirpalas naudojant silpną azoto srovę šilto vandens vonelėje išgarinamas iki sauso likučio, atvėsinus kolbą, į tą pačią kolbą pasveriamas 5 ± 0,01 g sauso filtruoto mėginio.
- 1 pastaba. Gyvulinės kilmės arba augaliniai aliejai ir riebalai, kuriuose yra nemaži kiekiai cholesterolio, chromatogramoje gali turėti smailę, kurios sulaukymo trukmė panaši į cholestanolio. Tokiu atveju sterolių frakcija turi būti analizuojama du kartus – su vidiniu etalonu ir be jo.

5.1.2. Į kolbą įpilama 50 ml 2 N kalio hidroksido tirpalo etanolyje (4.2 punktas) ir įdedama šiek tiek pemzos, prijungiamas grįžtamasis kondensatorius ir kolba šildoma iki nestipraus virimo, kol įvyksta muilinimas (tirpalas pasidaro skaidrus). Šildoma dar 20 minučių, paskui per kondensatoriaus viršų įpilama 50 ml distiliuoto vandens, kondensatorius atjungiamas ir kolba ataušinama iki maždaug 30 °C.

5.1.3. Kolbos turinys naudojant kelias distiliuoto vandens porcijas (50 ml) kiekybiškai supilamas į 500 ml dalijamąjį piltuvą (3.2 punktas). Įpilama maždaug 80 ml etileterio (4.10 punktas), turinys stipriai plakamas maždaug 60 sekundžių periodiškai sumažinant slėgį apverčiant dalijamąjį piltuvą ir atidarant čiaupą. Paskui kolba paliekama stovėti, kol turinys visiškai išsisluoksniuoja į dvi fazes (2 pastaba).

Paskui kuo didesnis muilo tirpalo kiekis išleidžiamas į antrąjį dalijamąjį piltuvą. Vandens ir alkoholio fazė tuo pačiu būdu ekstrahuojama dar du kartus, kiekvieną kartą sunaudojant 60–70 ml etileterio (4.10 punktas).

2 pastaba. Bet kokia susidariusi emulsija gali būti panaikinta įpilant nedidelį kiekį etanolio (4.11 punktas).

5.1.4. Trys eteriniai ekstraktai supilami į vieną dalijamąjį piltuvą, kuriame yra 50 ml vandens. Mišinys plaunamas vandeniu (50 ml), kol plovimo vanduo, įlašinus fenolfaleino tirpalo (4.21 punktas) lašą, nebeusidažo rožine spalva.

Atskyrus plovimo vandenį, ekstraktas per bevandenį natrio sulfatą (4.5 punktas) filtruojamas į prieš tai pasvertą 250 ml kolbą, piltuvą ir filtrą nuplaunant nedideliu kiekiu etileterio (4.10 punktas).

5.1.5. Tirpiklis distiliuojant vakuume išgarinamas sukamuoju garintuvu 30 °C temperatūroje. Įpilama 5 ml acetono ir lakus tirpiklis visiškai pašalinamas silpnoje oro srovėje. Likutis 15 minučių džiovinamas krosnyje 103 ± 2 °C temperatūroje. Paskui likutis ataušinamas eksikatoriuose ir pasveriamas 0,1 mg tikslumu.

5.2. Sterolių ir triterpeno dialkoholių frakcijos (eritrodliolis + uvaolis) atskyrimas

5.2.1. Ruošiamos bazinės plonasluoksnės chromatografijos plokštelės. Silikageliu dengtos plokštelės (4.6 punktas) 10 sekundžių maždaug 4 cm įmerkiamos į 0,2 N kalio hidroksido tirpalą etanolyje (4.5 punktas), paskui paliekamos dvi valandas džiūti traukos spintoje ir galiausiai vieną valandą laikomos krosnyje 100 °C temperatūroje.

Plokštelės išimamos iš krosnies ir laikomos eksikatoriuje su kalcio chloridu (3.13 punktas), kol jų prireikia (taip apdorotos plokštelės turi būti panaudotos per 15 dienų).

3 pastaba. Kai sterolių frakcijai atskirti naudojamos bazinės silikagelio plokštelės, nemuilinamos frakcijos nebūtina apdoroti aliuminio oksidu. Taip visi rūgštinio pobūdžio junginiai (riebalų rūgštys ir kiti) sulaukomi užlašinimo linijoje ir sterolių juosta aiškiai atsiskiria nuo alifatinių ir triterpeno alkoholių juostos.

5.2.2. Į ryškinimo indą maždaug 1 cm storio sluoksniu įpilama heksano ir etileterio mišinio (4.24 punktas) (4 pastaba). Indas uždaromas tinkamu dangčiu ir paliekamas vėsioje vietoje ne mažiau kaip pusvalandžiui, kad nusistovėtų garų ir skysčio pusiausvyra. Ant vidinių indo sienelių gali būti uždedamos filtro popieriaus juostelės, įmerktos į eliuentą. Taip maždaug trečdaliu sutrumpinama ryškinimo trukmė, o komponentai išplaunami vienodžiau ir pastoviau.

4 pastaba. Visiškai pakartojamoms išplovimo sąlygoms užtikrinti ryškinimo tirpalą reikia pakeisti kiekvienai analizei; kaip alternatyvus tirpiklis gali būti naudojamas n-heksano ir etileterio mišinys, kurio tūrių santykis 50:50.

5.2.3. Ruošiamas maždaug 5 % nemuilnamų medžiagų (5.1.5 punktas) tirpalas etilacetate (4.12 punktas) ir 0,3 ml šio tirpalo 100 µl talpos mikrošvirkštu vienoda siaura juostele užlašinama ant apatinio chromatografinės plokštelės (5.2.1 punktas) galo (2 cm nuo apačios). Vienoje linijoje su šia juostele užlašinama 2–3 µl medžiagos etaloninio tirpalo (4.13 punktas) sterolių ir triterpeno dialkoholių juostai identifikuoti užbaigus ryškinimą.

5.2.4. Plokštelė dedama į ryškinimo indą, paruoštą kaip nurodyta 5.2.2 punkte. Turėtų būti palaikoma 15–20 °C aplinkos temperatūra (5 pastaba). Indas iš karto uždengiamas ir plaunama, kol tirpiklio frontas atsiduria maždaug 1 cm atstumu nuo plokštelės viršutinio krašto. Plokštelė išimama iš ryškinimo indo ir tirpiklis išgarinamas karšto oro srovėje arba plokštelė trumpam paliekama traukos spintoje.

5 pastaba. Aukštesnė temperatūra gali pasunkinti atskyrimą.

5.2.5. Plokštelė plonai ir vienodai apipurškiama 2,7-dichlorfluoresceino tirpalu (4.14 punktas) ir paliekama išdžiūti. Žiūrint į plokštelę ultravioletinėje šviesoje, sterolių ir triterpeno dialkoholių juostos gali būti atpažintos pagal buvimą viename lygyje su etaloninio tirpalo (4.13 punktas) dėmėmis. Juostų ribos pagal fluorescuojančius kraštus pažymimos juodu pieštuku (žr. 3 brėžinį, kuriame vaizduojama plonasluoksnės chromatografijos plokštelė).

5.2.6. Silikagelis pažymėtame plote nugarandomas metaline mentele. Gerai susmulkinta medžiaga nuo plokštelės supilama į filtrą (3.7 punktas). Įpilama 10 ml karšto etilacetato (4.12 punktas), gerai sumaišoma metaline mentele ir vakuumu filtruojama į kūgio formos kolbą (3.8 punktas), prijungtą prie filtro.

Likutis kolboje tris kartus plaunamas etileteriu (4.3 punktas) (maždaug po 10 ml kiekvieną kartą), filtruojant į tą pačią prie filtro prijungtą kolbą; filtratas nugarinamas iki maždaug 4–5 ml tūrio, likęs tirpalas supilamas į 10 ml talpos mėgintuvėlį (3.9 punktas), kuris prieš tai pasveriamas; mėgintuvėlio turinys džiovinamas nestipriai kaitinant nedidelėje azoto srovėje, iš naujo tirpinamas keliuose acetono (4.8 punktas) lašuose ir vėl džiovinamas.

Likutį mėgintuvelyje turi sudaryti sterolių ir triterpeno dialkoholių frakcijos.

5.3. Trimetilsilileterių ruošimas

5.3.1. Į mėgintuvėlį su sterolių ir triterpenų frakcija, vengiant bet kokio drėgmės patekimo (7 pastaba), įpilama sililinio reagento (4.25 punktas) (6 pastaba), kurio imama po 50 µl vienam sterolių ir triterpeno dialkoholių miligramui.

6 pastaba. Galima pirkti paruoštų naudoti tirpalų. Be to, galima pirkti ir kitų sililinio reagentų, pvz., N,O-bis(trimetilsilil)trifluoracetamido + 1 % trimetilchlorsilano mišinį, kuris turi būti praskiestas tokio pat tūrio sausu piridinu.

Piridiną galima pakeisti tokio pat acetonitrilo kiekiu.

5.3.2. Mėgintuvėlis užkemšamas ir atsargiai kratomas (neapverčiant), kol junginiai visiškai ištirpsta. Po to jis bent 15 minučių paliekamas stovėti aplinkos temperatūroje ir paskui kelias minutes centrifuguojamas. Skaidrus tirpalas paruoštas dujų chromatografinėi analizei.

7 pastaba. Nedidelė opalescencija yra įprastas reiškinys ir nesukelia jokių anomalijų. Baltų dribsnių susidarymas ar rožinė spalva yra drėgmės patekimo arba reagento sugedimo požymiai. Šiuo atveju bandymas turi būti pakartotas (tik jei naudojamas heksametilidisilazano ir trimetilchlorsilano mišinys).

5.4. Dujų chromatografinė analizė.

5.4.1. Parengiamieji darbai ir kapiliarinės kolonėlės kondicionavimas.

5.4.1.1. Kolonėlė (3.11 punktas) prijungiama prie dujų chromatografo, kolonėlės įėjimą sujungiant su dozuojamuoju injektoriumi, o išėjimą – su detektoriumi.

Atliekamas bendras dujų chromatografavimo įrenginio patikrinimas (nutekėjimai dujų sistemoje, detektoriaus, dozavimo sistemos ir savirašio veikimas ir t. t.).

5.4.1.2. Pirmą kartą naudojamą kapiliarinę kolonėlę rekomenduojama kondicionuoti: per kolonėlę paleidžiama nestipri dujų srovė, paskui įjungiamas chromatografas ir pradedamas laipsniškas kaitinimas, kol temperatūra pakyla bent 20°C aukščiau, nei naudojama darbe (8 pastaba). Šioje temperatūroje kolonėlė laikoma ne mažiau kaip dvi valandas, vėliau visas įrenginys nustatomas darbo režimu (reguliuojamas dujų srautas ir dozavimas, uždegama ugnis, prijungiama skaičiavimo sistema, reguliuojama kolonėlės, detektoriaus ir injektoriaus temperatūra ir t. t.) ir užrašomas signalas bent du kartus didesniu jautrumu, nei bus naudojamas analizei atlikti. Pagrindo linija turi būti brėžiama tiesi, be jokių smailių ir dreifo požymių.

Neigiamas tiesinis dreifas yra kolonėlės sujungimų nesandarumo požymis, o teigiamas dreifas rodo nepakankamą kolonėlės kondicionavimą.

8 pastaba. Kondicionavimo temperatūra visuomet turi būti bent 20 °C mažesnė, nei naudojamai nejudančiajai fazei nustatyta didžiausia temperatūra.

5.4.2. Darbo sąlygų parinkimas

5.4.2.1. Darbo sąlygos:

— kolonėlės temperatūra: 260 ± 5 °C;

— injektoriaus temperatūra: 280–300 °C;

— detektoriaus temperatūra: 280–300 °C;

— dujų nešiklio linijinis greitis: helio – 20–35 cm/s; vandenilio – 30–50 cm/s;

- padalijimo santykis: nuo 1:50 iki 1:100;
- prietaiso jautrumas: 4–16 kartų didesnis nei minimalus silpninimas;
- užrašymo jautrumas: 1–2 mV per visą skalę;
- įpurškto medžiagos kiekis: 0,5–1 µl TMSE tirpalo.

Šios sąlygos gali būti keičiamos pagal kolonėlės ir dujų chromatografo savybes, kad būtų gautos chromatogramos, atitinkančios tokias sąlygas:

- β-sitosterolio smailės sulaikymo trukmė turėtų būti 20 ± 5 minutės;
- kampesterolio smailės aukštis turėtų būti: alyvuogių aliejui (vidutinis kiekis 3 %) 20 ± 5 % visos skalės aukščio; sojos pupelių aliejui (vidutinis kiekis 20 %) 80 ± 10 % visos skalės aukščio;
- visi esantys steroliai turi būti atskirti. Be to, smailės turi būti visiškai atsiskyrusios, t. y. smailės trajektorija turėtų sugrįžti iki pagrindo linijos, kol prasideda kilimas atsiradus naujai smalei. Tačiau nevisiškas atsiskyrimas leidžiamas, jei smailės su santykinė sulaikymo trukme 1,02 plotas (sitostanolis) gali būti apskaičiuotas naudojant statmenį.

5.4.3. Analizė

- 5.4.3.1. 10 µl talpos mikrošvirkštu įsiurbiamas 1 µl heksano, paskui įtraukiama 0,5 µl oro ir 0,5–1 µl mėginio tirpalo. Mikrošvirkšto plunžeris pakeliamas aukštyn, kad adata ištuštėtų. Adata įkišama per injektoriaus membraną ir po vienos dviejų sekundžių tirpalas greitai išvirkščiamas, paskui po kokių penkių sekundžių adata lėtai ištraukiama.

Taip pat gali būti naudojamas automatinis injektorius.

- 5.4.3.2. Užrašymas atliekamas, kol bus visiškai išplauti esančių triterpeno dialkolių TMSE. Pagrindo linija turi visą laiką atitikti reikalavimus (5.4.1.2 punktas).

5.4.4. Smailių identifikavimas

Atskiros smailės identifikuojamos pagal sulaikymo trukmes ir lyginant su sterolių ir triterpeno dialkolių TMSE mišiniu, analizuojamu tokiais pat sąlygomis (žr. priedėlį).

Steroliai ir triterpeno dialkoliai išplaunami tokia eilės tvarka: cholesterolis, brasikasterolis, ergosterolis, 24-metilencholesterolis, kampesterolis, kampestanolis, stigmasterolis, Δ7-kampesterolis, Δ5,23-stigmastadienolis, klerosterolis, β-sitosterolis, sitostanolis, Δ5-avenasterolis, Δ5,24-stigmastadienolis, Δ7-stigmastanolis, Δ7-avenasterolis, eritrodilolis ir uvaolis.

β-sitosterolio sulaikymo trukmės SE-52 ir SE-54 kolonėlėse parodytos 1 lentelėje.

1 ir 2 brėžiniuose vaizduojamos tipiškos kai kurių aliejų chromatogramos.

5.4.5. Kiekybinis vertinimas

- 5.4.5.1. Naudojant skaičiavimo sistemą apskaičiuojami α-cholestanolio ir sterolių bei triterpeno dialkolių smailių plotai. Į 1 lentelėje nenurodytų junginių smailės neatsižvelgiama (ergosterolio smailės plotas neturi būti skaičiuojamas). α-cholestanolio kalibravimo koeficientas turėtų būti laikomas lygiu 1.

- 5.4.5.2. Kiekvieno atskiros sterolio kiekis, skaičiuojant miligramais 1 kg riebalinės medžiagos, nustatomas pagal tokią formulę:

$$\text{sterolio } x \text{ kiekis} = \frac{A_x \times m_s \times 1\,000}{A_s \times m}$$

čia:

A_x = x sterolio smailės plotas kompiuterinėje sistemoje naudojamais vienetais;

A_s = α-cholestanolio smailės plotas kompiuterinėje sistemoje naudojamais vienetais;

m_s = įdėto α-cholestanolio masė miligramais;

m = nustatymui paimto mėginio masė gramais.

6. REZULTATŲ PATEIKIMAS

- 6.1. Užrašomos atskirų sterolių koncentracijos miligramais 1 kg riebalinės medžiagos ir jų bendro kiekio vertė.
Kiekvieno atskiro sterolio, eritrodolio ir uvaolio kiekis turėtų būti nurodomas vienos dešimtosios tikslumu.
Bendras sterolių kiekis turi būti išreiškiamas nenurodant jokių ženklų po kablelio.
- 6.2. Kiekvieno atskiro sterolio procentinė dalis apskaičiuojama pagal atitinkamo sterolio smailės ploto ir viso sterolių, eritrodolio ir uvaolio smailių ploto santykį:

$$\text{sterolio } x \% = \frac{A_x}{\Sigma A} \times 100$$

čia:

A_x = x smailės plotas;

ΣA = visų sterolių smailių plotas.

- 6.3. Tariamasis β -sitosterolis: $\Delta 5$ -23-stigmastadienolis + klerosterolis + β -sitosterolis + sitostanolis + $\Delta 5$ -avenasterolis + $\Delta 5$ -24-stigmastadienolis.
- 6.4. Eritrodolio ir uvaolio procentinė dalis apskaičiuojama taip:

$$\text{Eritrodolis + uvaolis} = \frac{Er + Uv}{Er + Uv + \Sigma A} \times 100$$

čia:

ΣA = bendras sterolių plotas kompiuterinėje sistemoje naudojamais vienetais;

Er = eritrodolio plotas kompiuterinėje sistemoje naudojamais vienetais;

Uv = uvaolio plotas kompiuterinėje sistemoje naudojamais vienetais.

Priedėlis

Dujų linijinio greičio nustatymas

I normalioms darbo sąlygoms sureguliuotą dujų chromatografą įpurškiama 1–3 µl metano (arba propano) ir matuojamas laikas, kurį dujos tekės per kolonėlę nuo įpurškimo momento iki smailės išplovimo momento (tM).

Linijinis greitis (cm/s) apskaičiuojamas pagal formulę L/tM ; čia L yra kolonėlės ilgis centimetrais, o tM – sekundėmis išmatuotas laikas.

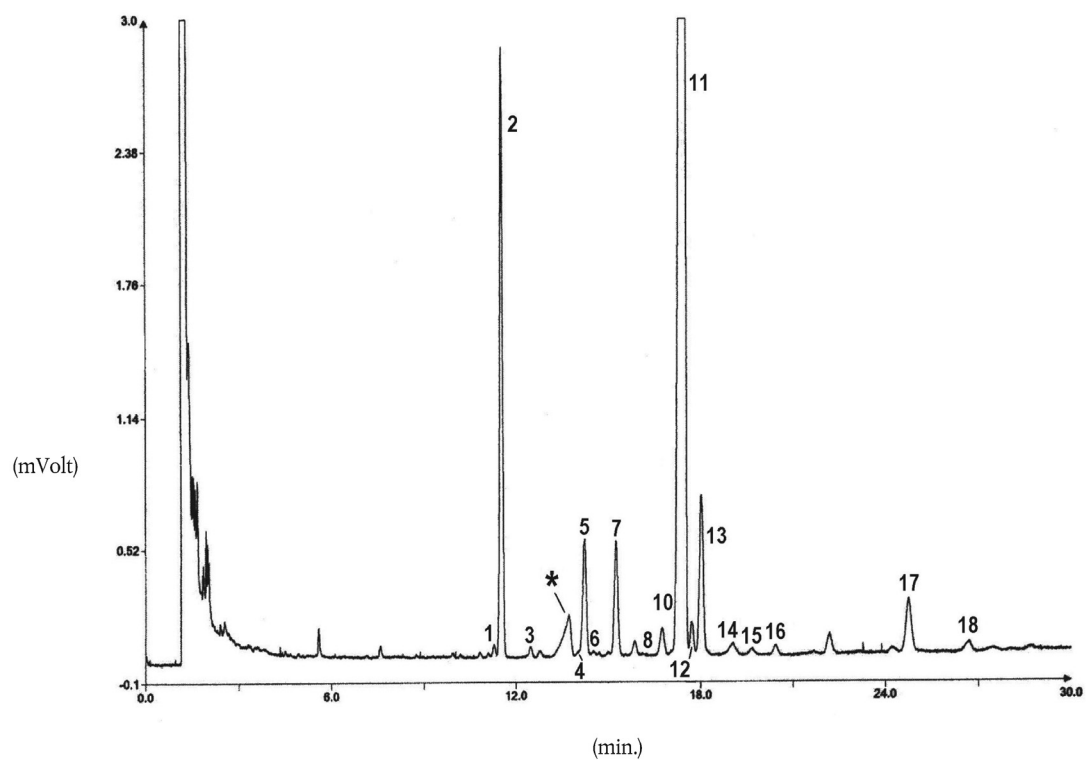
1 lentelė

Santykinė sterolių sulaikymo trukmė

Smailė	Pavadinimas		Santykinė sulaikymo trukmė	
			SE 54 kolonėlė	SE 52 kolonėlė
1.	Cholesterolis	Δ -5-cholesten-3 β -olis	0,67	0,63
2.	Cholestanolis	5 α -cholestan-3 β -olis	0,68	0,64
3.	Brasikasterolis	[24S]-24-metil- Δ -5,22-cholestadien-3 β -olis	0,73	0,71
*	Ergosterolis	[24S] 24-metil- Δ -5-7-22-cholestatrien-3 β -olis	0,78	0,76
4.	24-metilencholesterolis	24-metilen- Δ -5,24-cholestadien-3 β -olis	0,82	0,80
5.	Kampesterolis	(24R)-24-metil- Δ -5-cholesten-3 β -olis	0,83	0,81
6.	Kampestanolis	(24R)-24-metilcholestan-3 β -olis	0,85	0,82
7.	Stigmasterolis	(24S)-24-etil- Δ -5,22-cholestadien-3 β -olis	0,88	0,87
8.	Δ -7-kampesterolis	(24R)-24-metil- Δ -7-cholesten-3 β -olis	0,93	0,92
9.	Δ -5,23-stigmastadienolis	(24R,S)-24-etil- Δ -5,23-cholestadien-3 β -olis	0,95	0,95
10.	Klerosterolis	(24S)-24-etil- Δ -5,25-cholestadien-3 β -olis	0,96	0,96
11.	β -sitosterolis	(24R)-24-etil- Δ -5-cholesten-3 β -olis	1,00	1,00
12.	Sitostanolis	24-etilcholestan-3 β -olis	1,02	1,02
13.	Δ -5-avenasterolis	(24Z)-24-etiliden- Δ -cholesten-3 β -olis	1,03	1,03
14.	Δ -5-24-stigmastadienolis	(24R,S)-24-etil- Δ -5,24-cholestadien-3 β -olis	1,08	1,08
15.	Δ -7-stigmastanolis	(24R,S)-24-etil- Δ -7-cholesten-3 β -olis	1,12	1,12
16.	Δ -7-avenasterolis	(24Z)-24-etiliden- Δ -7-cholesten-3 β -olis	1,16	1,16
17.	Eritrodiolis	5- α -olean-12-en-3 β -28-diolis	1,41	1,41
18.	Uvaolis	Δ -12-ursen-3 β -28-diolis	1,52	1,52

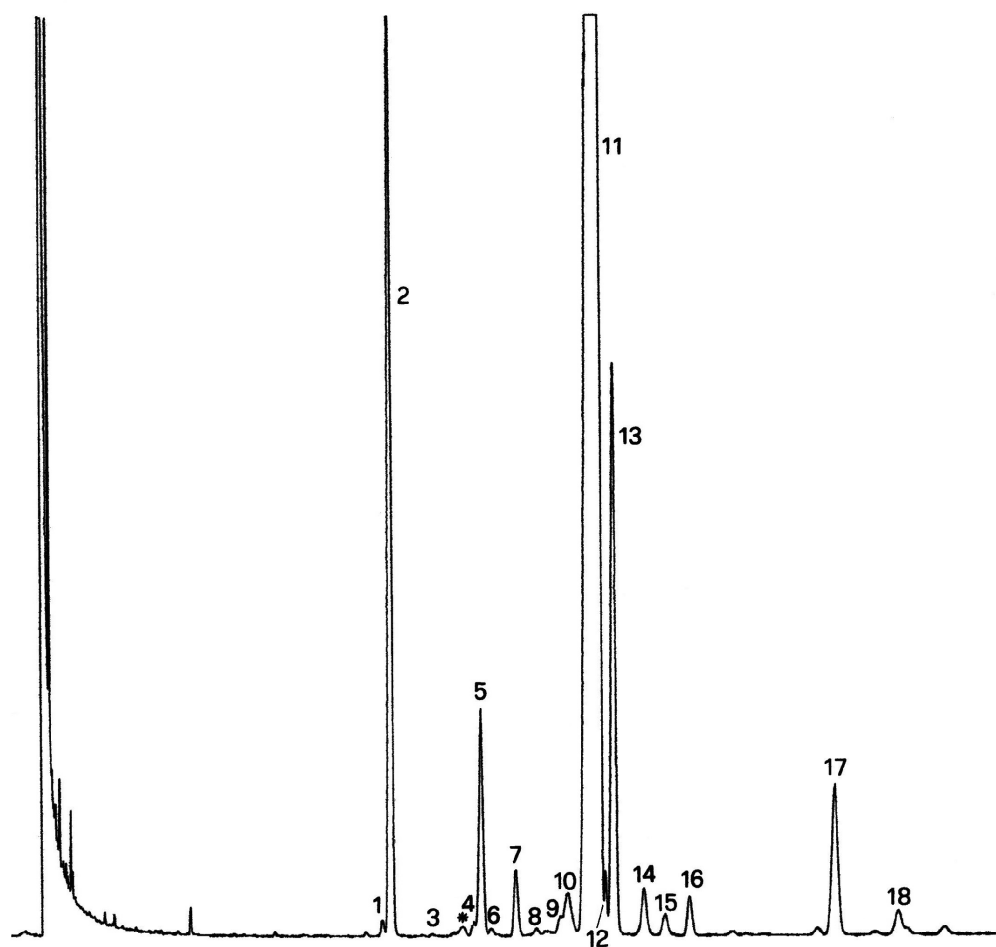
1 brėžinys

Pirmojo spaudimo klasikinio alyvuogių aliejaus lampante (sodrinto vidiniu etalonu) sterolių ir triterpeno dialkoholių frakcijos dujų chromatograma



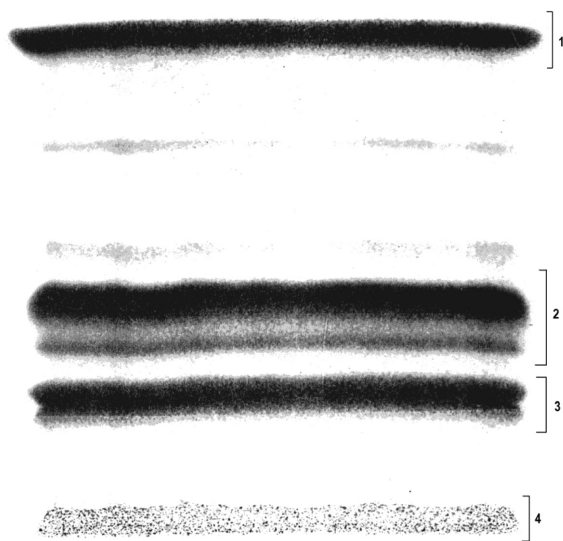
2 brėžinys

Rafinuoto alyvuogių aliejaus (sodrinto vidiniu etalonu) sterolių ir triterpeno dialkolių frakcijos dujų chromatograma



3 brėžinys

Alyvuogių išspaudų aliejaus plonasluoksnės chromatografijos plokštelė su plotu, kuris turi būti nugrandytas steroliams ir triterpeno dialkoholiams nustatyti



- 1 – skvalenas
- 2 – triterpeno ir alifatiniai alkoholiai
- 3 – steroliai ir triterpeno dialkoholiai
- 4 – pradžia ir laisvosios riebalų rūgštys

—

V PRIEDAS

„XII PRIEDAS

TARPTAUTINĖS ALYVUOGIŲ ALIEJAUS TARYBOS PIRMOJO SPAUDIMO ALYVUOGIŲ ALIEJAUS ORGANOLEPTINIO VERTINIMO METODAS

1. DALYKAS IR TAIKYMO SRITIS

Šio tarptautinio metodo tikslas – nustatyti Reglamento (EB) Nr. 1234/2007 XVI priedo 1 punkte apibrėžto pirmojo spaudimo alyvuogių aliejaus organoleptinių savybių vertinimo tvarką ir jo klasifikavimo pagal tas savybes metodą. Taip pat pateikiamos su neprivalomu ženkliniu susijusios nuorodos.

Apibūdintas metodas taikomas tik pirmojo spaudimo alyvuogių aliejui ir tokius aliejus klasifikuojant arba ženklinant pagal pajustų trūkumų ir vaisių požymio stiprumą, apie kurį sprendžia atrinktų, apmokytų ir prižiūrimų degustuotojų grupė.

Jame taip pat pateikiamos su neprivalomu ženkliniu susijusios nuorodos.

Taikoma paskutinė paskelbta šiame priede minimų TAAT standartų versija.

2. BENDRASIS PAGRINDINIS JUTIMINĖS ANALIZĖS ŽODYNAS

Žr. standartą IOC/T.20/Dok. Nr. 4 „Jutiminė analizė. Bendrasis pagrindinis žodynas“

3. SPECIALUSIS ŽODYNAS

3.1. Neigiami požymiai

Sudvisęs ir (arba) su drumzlinomis nuosėdomis Šis prieskonis būdingas aliejui, pagamintam iš kaupuose laikytų alyvuogių, kurių anaerobinis fermentavimo procesas buvo gerojai pažengęs į priekį, arba prieskonis, atsiradęs dėl ilgalaikio aliejaus sąlyčio su anaerobinį fermentavimo procesą taip pat patyrusiomis statinių ir talpyklų dekanavimo nuosėdomis.

Atsiduodantis pelėsiams, drėgme, žeme Šis prieskonis būdingas aliejams, pagamintiems iš vaisių, kuriuose užsiveisė didelis grybelių ir mielių bakterijų kiekis drėgnas alyvuoges kelias dienas palaikius supiltas į kaupus, arba aliejui, pagamintam iš alyvuogių, surinktų kartu su žemėmis, arba purvinų ir nenuplautų.

Vyno, acto, rūgštus, aitrus Tai kai kuriems aliejams būdingas prieskonis, primenantis vyną arba actą. Atsiranda daugiausia dėl aerobinio alyvuogių ar alyvuogių masės likučių blogai išplautuose dembliuose fermentacijos proceso, dėl kurio susidaro acto rūgštis, etilacetatas ir etanolis.

Apkartęs Šis prieskonis būdingas aliejams, paveiktiems stipraus oksidacijos proceso.

Šalnos pakąstos alyvuogės (drėgnos medienos) Šis prieskonis būdingas aliejams, išspaustiems iš šalnos medžiuose pakąstų alyvuogių.

3.2. Kiti neigiami požymiai

Pakaitintas arba Šis prieskonis būdingas aliejams, kurie buvo per stipriai ir (arba) per ilgai

Pridegęs kaitinami juos apdorojant, ypač jei terminis masės maišymas buvo atliekamas netinkamomis temperatūros sąlygomis.

Šieno, medienos Šis prieskonis būdingas kai kuriems aliejams, pagamintiems iš išdžiuvusių alyvuogių.

Sunkus Kai kurių senų aliejų burnoje sukeliamas tirštumo, klampumo pojūtis.

Tepalų Aliejaus prieskonis, primenantis dyzeliną, tepalą ar mineralinę alyvą.

Augalinio vandens Aliejaus prieskonis, atsiradęs dėl ilgo sąlyčio su fermentacijos procesą paveiktu augaliniu vandeniu.

Sūrymo Aliejaus, pagaminto iš alyvuogių, kurios buvo konservuojamos sūryme, prieskonis.

Metalų Prieskonis, primenantis metalą. Jis atsiranda dėl ilgalaikio aliejaus sąlyčio su metaliniais paviršiais gniuždymo, maišymo, spaudimo arba laikymo metu.

Esparto Šis prieskonis būdingas aliejui, pagamintam alyvuogės spaudžiant naujuose dembliuose iš esparto žolės. Prieskonis gali skirtis pagal tai, ar dembliai pagaminti iš žalios, ar iš džiovintos žolės.

Kirmėlių Aliejaus, pagaminto iš alyvuogių, kurias smarkiai pažeidė alyvmedžių musių (*Bactrocera oleae*) lervos, prieskonis.

Agurkų Prieskonis, atsirandantis, kai aliejus per ilgai laikytas sandariai uždarytuose induose, ypač skardinėse, ir siejamas su 2-6 nonadienaliu susidarymu.

3.3. Teigiami požymiai

Vaisių Įvairūs aliejui būdingi uoslės pojūčiai, kurie priklauso nuo alyvuogių rūšies ir kuriuos aliejui suteikia gaminant naudotos sveikos, šviežios sunokusios arba nesunokusios alyvuogės. Pajuntami iš karto ir (arba) giliai nosyje.

Kartus Pagrindinis skonis, būdingas aliejui, pagamintam iš žalių arba iš pradedančių nokti alyvuogių. Jis pajaučiamas liežuvio šaknyje esančiais svogūnėliais.

Aštrus Juntamas geliantis pojūtis, būdingas aliejams, pagamintiems derliaus metų pradžioje, daugiausia iš dar nesunokusių alyvuogių. Jį galima jausti visoje burnos ertmėje, ypač gerklėje.

3.4. Neprivaloma ženklavimo terminija

Gavęs prašymą, degustuotojų grupės vadovas gali patvirtinti, kad įvertinti aliejai atitinka apibrėžtis ir intervalus ir, atsižvelgiant į požymių pojūtį ir stiprumą, yra apibūdinami šiais būdvardžiais.

Teigiami požymiai (vaisių, kartus ir aštrus) pagal pojūčio stiprumą:

- *stiprus* – kai požymio mediana didesnė nei 6;
- *vidutinis* – kai požymio mediana yra nuo 3 iki 6;
- *silpnas* – kai požymio mediana mažesnė nei 3.

Vaisių. Įvairūs aliejui būdingi uoslės pojūčiai, kurie priklauso nuo alyvuogių rūšies, kuriuos aliejui suteikia gaminant naudotos sveikos, šviežios alyvuogės ir kuriuose nedominuoja nei žalių, nei sunokusių vaisių aromatai. Pajuntami iš karto ir (arba) giliai nosyje.

Žalių vaisių. Įvairūs aliejui būdingi uoslės pojūčiai, kurie priklauso nuo alyvuogių rūšies, kuriuos aliejui suteikia gaminant naudotos žalios, sveikos ir šviežios alyvuogės ir kurie primena žalių vaisių aromatą. Pajuntami iš karto ir (arba) giliai nosyje.

Sunokusių vaisių. Įvairūs aliejui būdingi uoslės pojūčiai, kurie priklauso nuo alyvuogių rūšies, kuriuos aliejui suteikia gaminant naudotos sveikos ir šviežios alyvuogės ir kurie primena sunokusių vaisių aromatą. Pajuntami iš karto ir (arba) giliai nosyje.

Subalansuotas. Aliejus, kuriame neįmanoma balanso trūkumas; tai suprantama kaip uoslės, skonio ir lytėjimo pojūtis, kai kartumo ir (arba) aštrumo požymių mediana dviem punktais didesnė nei vaisių požymio mediana.

Švelnus aliejus. Aliejus, kurio kartaus ir aštraus požymių mediana yra mažesnė nei 2 ar lygi šiai vertei.

4. ALIEJAUS DEGUSTAVIMO STIKLINĖ

Žr. standartą IOC/T.20/Dok. Nr. 5 „Aliejaus degustavimo stiklinė“.

5. DEGUSTAVIMO PATALPOS

Žr. standartą IOC/T.20/Dok. Nr. 6 „Degustavimo patalpų įrengimo vadovas“.

6. REIKMENYS

Kiekviename degustavimo kambaryje turi būti šie degustuotojams reikalingi ir lengvai pasiekiami reikmenys, kad degustuotojai galėtų tinkamai atlikti savo užduotį:

- stiklinės (standartinės) su mėginiais, pažymėtos kodo numeriais, uždengtos išgaubtais dangteliais ir laikomos $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ temperatūroje;
- savybių vertinimo lapas (žr. 1 pav.), kuris pateikiamas popierine arba elektronine forma, laikantis savybių vertinimo lapui taikomų sąlygų, ir, prireikus, jo naudojimo nurodymai;
- rašiklis arba nenuplaunamas rašalas;
- padėklai su obuolio skiltelėmis ir (arba) vandeniu, gazuotu vandeniu ir (arba) saldžiais džiovėsėliais;
- stiklinės su kambario temperatūros vandeniu;
- lapas, kuriame primenamos 8.4 ir 9.1.1 skirsniuose išvardytos bendrosios taisyklės;
- spjaudyklės.

7. DEGUSTUOTOJŲ GRUPĖS VADOVAS IR DEGUSTUOTOJAI

7.1. Degustuotojų grupės vadovas

Degustuotojų grupės vadovas turi būti tinkamai parengtas asmuo, turintis ekspertinių žinių apie įvairias aliejų rūšis, su kuriomis susidurs savo darbe. Tai pagrindinis grupės narys, atsakingas už jos darbo organizavimą ir veiklą.

Degustuotojų grupės vadovas dėl savo darbo pobūdžio turi būti bendrai išmokytas naudoti jutiminės analizės priemones ir naudotis jutiminiais įgūdžiais, gebėti kruopščiai rengti bandymus, juos organizuoti ir vykdyti ir turi turėti įgūdžių bei kantrybės moksliskai planuoti bandymus ir juos vykdyti.

Tai vienintelis asmuo, atsakingas už degustuotojų atranką, mokymą ir stebėjimą, atliekamą jų tinkamumo lygiui nustatyti. Taigi jis yra atsakingas už degustuotojų vertinimą, kuris visada turi būti objektyvus ir kuriam atlikti jis turi būti parengęs konkrečias procedūras, pagrįstas testais ir patikimais priėmimo ir atmetimo kriterijais. Žr. standartą IOC/T.20/Dok. Nr. 14 „Kvalifikuotų pirmojo spaudimo alyvuogių aliejaus degustuotojų atrankos, mokymo ir stebėjimo vadovas“.

Degustuotojų grupės vadovas atsakingas už degustuotojų grupės veiklos rezultatus, taigi ir už jų vertinimą, kurį jis turi pagrįsti patikimais ir objektyviais įrodymais. Bet koku atveju jis turi gebėti bet kada įrodyti, kad taikomas degustavimo metodas ir degustuotojai yra kontroliuojami. Degustuotojų grupę rekomenduojama periodiškai tikrinti (IOC/T.20/Dok. Nr. 14, 5 dalis).

Degustuotojų grupės vadovui tenka didžiausia atsakomybė už degustuotojų grupės dokumentų saugojimą. Šiuos dokumentus visada turi būti įmanoma atsekti. Jis turi laikytis tarptautiniuose jutiminės analizės standartuose nustatytą patikinimo ir kokybės reikalavimų ir visais atvejais užtikrinti mėginių anonimiškumą.

Degustuotojų grupės vadovas atsakingas už inventORIZaciją, jis turi užtikrinti, kad prietaisai ir įranga, reikalingi šio metodo specifikacijoms vykdyti, būtų tinkamai valomi ir prižiūrimi, ir turi saugoti rašytinius tokios priežiūros ir bandymų sąlygų laikymosi įrodymus.

Jis yra atsakingas už mėginių priėmimą ir saugojimą juos pristčius į laboratoriją, taip pat už jų saugojimą atlikus tyrimą. Vykdydamas šią pareigą, jis nuolat užtikrina, kad mėginiai būtų anonimiški ir tinkamai saugomi, o šiuo tikslu turi parengti rašytines procedūras, kurias taikant būtų užtikrinta, kad visas procesas būtų atsekamas, o jo rezultatai – garantuoti.

Be to, jis yra atsakingas už mėginių paruošimą, žymėjimą kodais ir pateikimą degustuotojams pagal atitinkamą eksperimentų planą, parengtą pagal iš anksto nustatytus protokolus, taip pat už degustuotojų gautų duomenų surinkimą ir jų statistinį apdorojimą.

Degustuotojų grupės vadovas yra atsakingas už visų kitų procedūrų, kurių galėtų prireikti šiam standartui papildyti, rengimą ir įforminimą dokumentais ir už užtikrinimą, kad degustuotojų grupė tinkamai veiktų.

Jis turi ieškoti būdų degustuotojų grupės rezultatus palyginti su kitų pirmojo spaudimo alyvuogių aliejaus analizė atliekančių grupių gautais rezultatais, kad įsitikintų, jog grupė tinkamai dirba.

Degustuotojų grupės vadovas privalo motyvuoti grupės narius skatindamas jų domėjimąsi, smalsumą ir tarpusavio konkurencijos dvasią. Todėl jam primygtinai rekomenduojama užtikrinti sklandų abipusį keitimąsi informacija su grupės nariais, nuolat informuojant juos apie visas užduotis, kurias jie atlieka, ir apie gautus rezultatus. Be to, jis turi užtikrinti, kad jo nuomonė nebūtų žinoma, ir turi neleisti galimiems lyderiams primesti savo kriterijų kitiems degustuotojams.

Jis turi pakankamai iš anksto sukviesti degustuotojus ir atsakyti į visus klausimus dėl bandymų atlikimo, tačiau neturi siūlyti jiems jokios nuomonės apie mėginį.

7.2. Degustuotojai

Asmenys, kurie kaip degustuotojai dalyvauja organoleptiniuose alyvuogių aliejų tyrimuose, tai turi daryti savo noru, suprasdami visas tokios savanoriškos veiklos pasekmes, susijusias su išipareigojimais ir finansinio atlygio nebuvimu. Todėl patartina, kad kandidatai paraišką teiktų raštu. Degustuotojų grupės vadovas kandidatus atranka, parengia ir stebi remdamasis jų gebėjimu atskirti panašius mėginius; reikėtų atminti, kad jų tikslumas juos išmokus padidės.

Degustuotojai turi veikti kaip tikrieji jutimo vertintojai, nepaisantys savo asmeninių skonių ir nurodantys tik juntamus pojūčius. Todėl jie visada turi dirbti tyloje, be įtampos ir skubos, kuo labiau sutelkdami savo jutimus į degustuojamą mėginį.

Kiekvienam bandymui atlikti reikia 8–12 degustuotojų, nors būtų pravartu nuolat turėti keletą papildomų atsarginių degustuotojų, kuriuos būtų galima iškviešti, kitiems negalint dalyvauti.

8. BANDYMO SĄLYGOS

8.1. Mėginio pateikimas

Aliejaus mėginys analizei pateikiamas standartinėse degustavimo stiklinėse, atitinkančiose standartą IOC/T.20/Dok. Nr. 5 „Aliejaus degustavimo stiklinė“.

Stiklinėje yra įpilta 14–16 ml aliejaus, arba 12,8–14,6 g, jeigu mėginiai turi būti pasveriami, ir ji uždengta išgaubtu dangteliu.

Kiekviena stiklinė pažymėta kodu, kurį sudaro atsitiktine tvarka parinkti skaitmenys arba raidžių ir skaitmenų derinys. Kodas bus pažymėtas pašalinio kvapo neturintčiu rašikliu.

8.2. Bandymo ir mėginio temperatūra

Degustavimui skirti aliejaus mėginiai viso bandymo metu laikomi stiklinėse $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Ši temperatūra pasirinkta dėl to, kad pastebėti organoleptinius skirtumus esant tokiai temperatūrai yra lengviau nei aplinkos temperatūroje; esant žemesnei temperatūrai, šiems aliejams būdingi aromatiniai junginiai prastai išsiskiria, o esant aukštesnei temperatūrai formuojasi lakūs junginiai, būdingi pakaitintam aliejui. Dėl metodo, kurį reikia naudoti mėginiams stiklinėje kaitinti, žr. standartą IOC/T.20/Dok. Nr. 5 „Aliejaus degustavimo stiklinė“.

Temperatūra degustavimo patalpose turi siekti $20\text{--}25^{\circ}\text{C}$ (žr. IOC/T.20/Dok. Nr. 6).

8.3. Bandymo laikas

Aliejus geriausia degustuoti ryte. Įrodyta, kad kai kuriais dienos laikotarpiais skonis ir kvapas jaučiami optimaliausiai. Laikotarpis prieš valgį jautrumas kvapams ir skoniams padidėja, o paskui jis silpnėja.

Tačiau taikant šį kriterijų neturėtų būti puolama į kraštutinumą, nes degustuotojus galėtų blaškyti alkis, o dėl to sumažėtų jų atpažinimo gebėjimas; todėl degustavimui rekomenduojama skirti laiką nuo 10 val. ryto iki vidurdienio.

8.4. Degustuotojai. Bendrosios elgesio taisyklės

Degustuotojų elgesiui darbe taikomos tokios rekomendacijos.

Degustuotojų grupės vadovo pakviesti dalyvauti organoleptiniame tyrime degustuotojai turėtų įstengti atvykti iš anksto nustatytu laiku ir turi laikytis tokių taisyklių:

- nerūkyti ir negerti kavos bent 30 minučių iki bandymui nustatyto laiko;
- nenaudoti jokių kvėpalų, kosmetikos ar muilo, kurio kvapas galėtų išlikti iki bandymo laiko. Rankoms nusiplauti jie privalo naudoti nekvėpintą muilą; rankas jie turi skalauti ir šluostyti taip dažnai, kaip gali būti būtina bet kokiam kvapui pašalinti;
- nevalgyti bent valandą iki degustavimo;
- jeigu jie fiziškai prastai jaučiasi, visų pirma jei yra sutrikęs jų kvapo ar skonio jausmas, arba jeigu jie jaučia koki nors psichologinį poveikį, dėl kurio negali sutelkti dėmesio į darbą, degustuotojai neturi degustuoti ir turi atitinkamai apie tai pranešti degustuotojų grupės vadovui;
- įvykdę minėtus reikalavimus, degustuotojai turi tvarkingai ir tyliai užimti jiems degustavimo kambaryje skirtą vietą;
- atidžiai perskaityti savybių vertinimo lape pateiktus nurodymus ir nepradėti nagrinėti mėginio, kol nebus visiškai pasirengę užduočiai, kurią turi atlikti (atsipalaiduoti ir neskubėti). Kilus kokių nors abejonių, jie turėtų kitiems negirdint kreiptis į degustuotojų grupės vadovą;
- atlikdami savo užduotis nekalbėti;
- jų mobilusis telefonas visą laiką turi būti išjungtas, kad netrukdytų susikaupti ir kolegoms dirbti.

9. PIRMOJO SPAUDIMO ALYVUOGIŲ ALIEJAUS ORGANOLEPTINIO VERTINIMO IR KLASIFIKAVIMO PROCEDŪRA

9.1. Degustavimo metodas

- 9.1.1. Degustuotojai pakelia stiklinę, uždengtą išgaubtu dangteliu, ir švelniai ją palenkia; šioje padėtyje jie suka stiklinę, kad kuo labiau suvilgytų vidinę stiklinės sienelę. Užbaigę šį etapą, jie nuima išgaubtą dangtelį ir, lėtai ir giliai įkvėpdami, uosto mėginį aliejui įvertinti. Turėtų būti uostoma ne ilgiau kaip 30 sekundžių. Jeigu per šį laiką jokios išvados nepadaryta, jie padaro trumpą pertraukėlę ir uosto dar kartą.

Atlikę uostymo analizę, degustuotojai vertina savo pojūčius burnoje (bendri pojūčiai – kvapo giliai nosyje, skonio ir lytėjimo). Tam jie nugaria mažą – maždaug 3 ml aliejaus – gurkšnį. Labai svarbu aliejų paskleisti po visą burnos ertmę – nuo priekinės burnos dalies ir liežuvio išilgai šonų iki užpakalinės dalies, gomurio galo ir gerklės, nes yra žinoma, kad skoniai ir jutiminiai pojūčiai skirtingose liežuvio, gomurio ir gerklės vietose suvokiami nevienodai stipriai.

Reikėtų pabrėžti, kad svarbu pakankamą aliejaus kiekį ant užpakalinės liežuvio dalies link gomurio ir gerklės paskleisti labai lėtai, degustuotojui sutelkiant dėmesį į tai, kokia tvarka atsiranda kartus ir aštrus dirgikliai. Jei tai nepadaroma, kai kuriuose aliejuose abiejų šių dirgiklių galima nepastebėti arba kartus dirgiklis gali būti užgožtas aštraus dirgiklio.

Trumpai nuosekliai įkvėpdamas per burną degustuotojas gali ne tik plačiai paskleisti mėginį po visą burną, bet ir stengdamasis naudoti nosies užpakalinę dalį pajusti lakius aromatinius junginius.

Reikėtų atsižvelgti į jutiminį aštrumo pojūtį. Todėl patartina aliejų nuryti.

- 9.1.2. Kad būtų išvengta kontrasto efekto, kuris galėtų atsirasti iš karto ragaujant kitus mėginius, organoleptiškai vertinant pirmojo spaudimo alyvuogių aliejų per vieną degustaciją rekomenduojama įvertinti ne daugiau kaip KETURIS MĖGINIUS ir per dieną rengti ne daugiau kaip tris degustacijas.

Nuoseklūs ragavimai sukelia nuovargį arba dėl pirmiau ragautų mėginių netenkama jautrumo, todėl būtina vartoti produktą, kuris iš burnos gali pašalinti prieš tai ragauto aliejaus likučius.

Rekomenduojama suvalgyti nedidelę obuolio skiltelę, kurią sukramčius galima išspjauti į spjaudyklę. Paskui burna skalaujama nedideliu kiekiu kambario temperatūros vandens. Tarp vienos degustacijos pabaigos ir kitos pradžios turi praėti ne mažiau kaip 15 minučių.

9.2. Degustuotojų pildomas savybių vertinimo lapas

Savybių vertinimo lapas, kurį turi pildyti degustuotojai, pateikiamas šio priedo 1 paveiksle.

Kiekvienas degustuotojų grupei priklausantis degustuotojas uosto, o po to ragauja ⁽¹⁾ analizuojamą aliejų. Paskui pateiktame savybių vertinimo lape 10 cm skalėje jie pažymi kiekvieno iš pajustų neigiamų ir teigiamų požymių stiprumą.

Pajutę kokių nors 4 skirsnyje neišvardytų neigiamų požymių, degustuotojai juos turi nurodyti skiltyje „Kita“, vartodami kuo tiksliau tuos požymius apibūdinančią sąvoką ar sąvokas.

9.3. Degustuotojų grupės vadovo atliekamas duomenų tvarkymas

Degustuotojų grupės vadovas surenka kiekvieno degustuotojo užpildytus savybių vertinimo lapus ir patikrina nurodytus įvairių požymių stiprumo įvertinimus. Pastebėjęs ką nors neįprasto, jis paprašo degustuotojo peržiūrėti savo savybių vertinimo lapą ir prireikus pakartoti bandymą.

Degustuotojų grupės vadovas įveda kiekvieno degustuotojų grupės nario įvertinimo duomenis į kompiuterinę programą, pvz., nustatytą standartu IOC/T.20/Dok. Nr. 15, kad statistiškai apskaičiuotų analizės rezultatus remdamasis jų medianos apskaičiavimu. Žr. šio priedo 9.4 skirsnį ir priedėlį. Atskiros mėginio duomenys įvedami naudojant matricą, kurią sudaro 9 jutimo požymius atitinkančios 9 skiltys ir n eilučių, atitinkančių n degustuotojų.

Jeigu kokių nors trūkumą pajunta ir skiltyje „Kita“ nurodo ne mažiau kaip 50 % degustuotojų grupės narių, degustuotojų grupės vadovas apskaičiuoja šio trūkumo medianą ir nustato atitinkamą klasifikaciją.

Klasifikaciją (labiausiai pajustą trūkumą ir vaisių požymį) apibūdinančio stabiliaus variacijos koeficiento vertė turi būti ne didesnė nei 20 %.

Priešingu atveju degustuotojų grupės vadovas turi pakartotinai atlikti konkretaus mėginio įvertinimą per kitą degustaciją.

Jeigu tokie atvejai pasitaiko dažnai, degustuotojų grupės vadovui rekomenduojama organizuoti specialų papildomą degustuotojų mokymą (IOC/T.20/Dok. Nr. 14, 5 dalis) ir taikyti pakartojamumo bei nuokrypio rodiklius degustuotojų grupės veiklos rezultatams tikrinti (IOC/T.20/Dok. Nr. 14, 6 dalis).

9.4. Aliejaus klasifikavimas

Atsižvelgiant į trūkumų medianą ir „vaisių“ požymio medianą, aliejus priskiriamas kuriai nors iš toliau nurodytų kategorijų. Trūkumų mediana – tai stipriausiai pajusto trūkumo mediana. Trūkumų mediana ir „vaisių“ požymio mediana išreiškiamos vienos dešimtosios tikslumu.

⁽¹⁾ Jie gali aliejaus neragauti, jeigu tiesiogiai užuodžia labai stiprų neigiamą požymį, ir šią išimtinę aplinkybę pažymi vertinimo lape.

Aliejaus rūšis nustatoma lyginant trūkumų medianos ir vaisių požymio medianos vertes su toliau nustatytais etaloniniais intervalais. Šių intervalų ribos nustatytos atsižvelgiant į metodo klaidas, todėl jos laikomos absoliučiomis. Naudojant programinę įrangą rūšiavimą galima atvaizduoti statistikos duomenų lentelėje arba diagramoje.

- a) Aukščiausios kokybės pirmojo spaudimo alyvuogių aliejus: trūkumų mediana lygi 0, o vaisių požymio mediana didesnė nei 0;
- b) pirmojo spaudimo alyvuogių aliejus: trūkumų mediana didesnė nei 0, bet ne didesnė kaip 3,5, o vaisių požymio mediana didesnė nei 0;
- c) pirmojo spaudimo klasikinis alyvuogių aliejus *lampante*: trūkumų mediana didesnė nei 3,5 arba trūkumų mediana mažesnė nei 3,5 arba lygi šiai vertei, o vaisių požymio mediana lygi 0.

1 *pastaba*.

Jeigu kartumo ir (arba) aštrumo požymio mediana yra didesnė nei 5,0, degustuotojų grupės vadovas tai pažymi aliejaus analizės sertifikate.

1 *paveikslas*

PIRMOJO SPAUDIMO ALYVUOGIŲ ALIEJAUS SAVYBIŲ VERTINIMO LAPAS

Trūkumų pajautimo stiprumas		
Sudvisęs ir (arba) su drumzlinomis nuosėdomis (*)		
Atsiduodantis pelėsiams/drėgmei/žeme (*)		
Vyno/acto rūgštus/aitrus (*)		
Šalnos pakąstos alyvuogės (drėgnos medienos)		
Apkartęs		
Kiti neigiami požymiai:		
Apibūdinanti sąvoka:	Metalų ☐ Šieno ☐ Kirmėlių ☐ Sunkus ☐ Sūrymo ☐ Pakaitintas arba pridegęs ☐ Augalinio vandens ☐ Esparto ☐ Agurkų ☐ Tepalų ☐	
(*) Kas nereikalinga, išbraukti.		
Teigiamų požymių pajautimo stiprumas		
Vaisių		
	Žalių ☐	Sunokusių ☐
Kartus		
Aštrus		
Degustuotojo pavardė:		Degustuotojo kodas:
Mėginio kodas:	Parašas:	

Priedėlis

Medianos ir pasikliautinių intervalų apskaičiavimo metodas**Mediana**

$$Me = [p(X < x_m) \leq 1/2 \wedge p(X \leq x_m) \geq 1/2]$$

Mediana – tai realusis skaičius X_m , apibrėžiamas taip: tikimybė (p), kad sklaidos dydžiai (X) yra mažesni už šį skaičių (X_m), yra mažesnė nei 0,5 arba lygi šiai vertei, o tikimybė (p), kad sklaidos dydžiai (X) yra mažesni nei X_m arba jam lygūs, tuo pačiu metu yra didesnė nei 0,5 arba lygi šiai vertei. Pagal praktiškesnę apibrėžtį mediana yra 50-asis sklaidos dydžių, išdėstytų didėjančia tvarka, procentilis. Paprasčiau sakant, mediana yra vidurinis tam tikra tvarka išrikiuotų nelyginių skaičių rinkinio dydis arba tam tikra tvarka išrikiuotų lyginių skaičių rinkinio dviejų vidurinių skaičių vidurkis.

Stabilus standartinis nuokrypis

Norint patikimai apskaičiuoti su vidurkiu susijusį kintamumą, būtina remtis stabilium standartiniu nuokrypiu, apskaičiuojamu Stuardo ir Kendallo metodu (4). Taikant formulę nustatomas asimptotinis stabilus standartinis nuokrypis, t. y. stabilus nagrinėjamųjų duomenų kintamumo apskaičiavimas, kur N yra stebėjimų skaičius, o IQR – tarpkvartilinis nuotolis, kuris tiksliai apima 50 % visų bet kurios tikimybės sklaidos atveju:

$$s^* = \frac{1,25 \times \text{IQR}}{1,35 \times \sqrt{N}}$$

Tarpkvartilinis nuotolis nustatomas apskaičiuojant skirtumo tarp 75-ojo ir 25-ojo procentilių dydį.

$$\text{IQR} = 75\text{-asis procentilis} - 25\text{-asis procentilis},$$

čia procentilis – tai dydis X_{pc} , apibrėžiamas taip: tikimybė (p), kad sklaidos dydžiai yra mažesni už X_{pc} , yra mažesnė nei konkreti šimtoji arba jai lygi, o tikimybė (p), kad sklaidos dydžiai yra mažesni nei X_{pc} arba lygūs šiam dydžiui, tuo pačiu metu yra didesnė nei ta konkreti šimtoji arba jai lygi. Šimtoji – tai pasirinkta sklaidos trupmena. Medianos atveju tai lygu 50/100.

$$\text{procentilis} = [p(X < x_{pc}) \leq \frac{n}{100} \wedge p(X \leq x_{pc}) = \frac{n}{100}]$$

Praktiškai procentilis – tai sklaidos dydis, atitinkantis konkretų plotą, pažymėtą pagal sklaidos arba tankio kreivę. Pavyzdžiui, 25-asis procentilis – tai sklaidos dydis, atitinkantis plotą, lygų 0,25 arba 25/100.

Taikant šį metodą procentiliai apskaičiuojami remiantis realiomis vertėmis, kurios pateikiamos duomenų matricoje (procentilių apskaičiavimo procedūra).

Stabilus variacijos koeficientas (%)

$CV_r\%$ - tai bedimensinis dydis, rodantis procentinį analizuojamų skaičių rinkinio kintamumo dydį. Todėl jis labai naudingas degustuotojų grupės vertintojų patikimumui tikrinti.

$$CV_r = \frac{s^*}{Me} \times 100$$

95 % pasikliautinieji medianos intervalai

95 % (pirmos rūšies paklaidos dydis lygus 0,05 arba 5 %) pasikliautinieji intervalai parodo intervalą, kuriame galėtų kisti medianos dydis, jei eksperimentą būtų galima kartoti iki begalybės. Praktiškai jis parodo bandymo kintamumo intervalą patvirtintomis darbo sąlygomis darant prielaidą, kad tą bandymą galima kartoti daug kartų. Kaip ir $CV_r\%$, šis intervalas padeda įvertinti bandymo patikimumą.

$$P.I._{virš.} = Me + (c \times s^*)$$

$$P.I._{apat.} = Me - (c \times s^*)$$

čia $C = 1,96$, jei pasikliautinis intervalas yra 95 %.

Apskaičiavimo lapo pavyzdys pateikiamas standarto IOC/T 20/Dok. Nr. 15 I priede.

Literatūra

- 1) L. Wilkinson, 1990. *Systat: The system for statistics*. Evanston, IL. SYSTAT Inc.
 - 2) G. Cicchitelli, 1984. *Probabilità e Statistica*. Maggioli Editore, Rimini.
 - 3) D. L. Massart, B. G. M. Vandeginste, Y. Deming, L. Michotte, 1988. *Chemometrics. A textbook*. Elsevier. Amsterdam.
 - 4) M. G. Kendall, A. Stuart, A. 1967. *The advanced theory of statistics. Vol. 1*. Hafner Publishing Co.
 - 5) R. McGill, J. W. Tukey, W. A. Larsen, 1978. *Variation of Box Plots*. *The American Statistician*, 32, (2), p. 12–16.
 - 6) IOC/T.28/Doc. Nr. 1 September 2007, *Guidelines for the accreditation of sensory testing laboratories with particular reference to virgin olive oil according to standard ISO/IEC 17025:2005*.
 - 7) IOC/T.20/Doc. Nr. 14.
 - 8) IOC/T.20/Doc. Nr. 15.
 - 9) ISO/IEC 17025:05.“
-

VI PRIEDAS

„XXa PRIEDAS

PAŠALINIŲ ALIEJŲ ALYVUOGIŲ ALIEJUOSE NUSTATYMO METODAS

1. TAIKYMO SRITIS

Šis metodas taikomas nustatyti, ar alyvuogių aliejuose yra pašalinių augalinių aliejų. Alyvuogių aliejuose gali būti nustatyta augalinių aliejų, kuriuose daug linolo rūgšties (sojų, rapsų, saulėgrąžų ir kt.), ir tam tikrų augalinių aliejų, kuriuose daug oleino rūgšties, kaip antai lazdyno riešutų aliejų, saulėgrąžų aliejų (kuriuose daug oleino rūgšties) ir alyvuogių išspaudų aliejų. Nustatomas lygis priklauso nuo pašalinio aliejaus rūšies ir alyvuogių rūšies. Lazdynų riešutų aliejaus nustatymo lygis paprastai sudaro 5–15 %. Taikant šį metodą nustatyto pašalinio aliejaus rūšies nustatyti neįmanoma – jis tik parodo, ar alyvuogių aliejus yra grynas, ar ne.

2. METODO ESMĖ

Aliejus gryninamas kietafazės ekstrakcijos (SPE) būdu naudojant silikagelio kapsules. Triacilglicerolių (TAG) sudėtis nustatoma atvirkštinių fazių didelės skiriamosios gebos skysčių chromatografijos būdu naudojant lūžio rodiklio detektorių ir propionitrilą kaip judančiąją fazę. Riebalų rūgščių metilesteriai (FAME) iš gryninto aliejaus paruošiami metilinant su šaltu kalio hidroksido (KOH) tirpalu metanolyje (Xb priedas), paskui esteriai analizuojami kapiliarinės dujų chromatografijos metodu naudojant didelio poliškumo kolonėles (Xa priedas). Teorinė triacilglicerolių sudėtis apskaičiuojama kompiuterine programa pagal riebalų rūgščių sudėtį tariant, kad riebalų rūgštys triacilglicerolyje 1-ojoje, 2-ojoje ir 3-iojoje padėtyse pasiskirsčiusios atsitiktine tvarka, ir taikant apribojimus sočiosioms riebalų rūgštims 2-ojoje padėtyje. Apskaičiavimams atlikti taikoma šiek tiek pakeista XVIII priede apibūdinta procedūra. Taikant kelis matematinius algoritmus pagal teorines ir eksperimentines (HPLC) triacilglicerolių sudėties vertes atliekami apskaičiavimai ir nustatytos vertės palyginamos su vertėmis, nurodytomis duomenų bazėje, sudarytoje iš grynų alyvuogių aliejų duomenų.

3. MEDŽIAGOS IR REAGENTAI

3.1. Aliejaus gryninimas

3.1.1. 25 ml kūgio formos kolbos.

3.1.2. Užsukami 5 ml stiklo mėgintuvėliai ir dangteliai su PTFE mova.

3.1.3. Silikagelio kapsulės (1 g, 6 ml) kietafazei ekstrakcijai (pvz., Waters, Masačusetasas, JAV).

3.1.4. *n*-heksanas, analiziškai grynas.

3.1.5. Heksano ir dietileterio tirpiklių mišinys (87:13, v/v).

3.1.6. *N*-heptanas, analiziškai grynas.

3.1.7. Acetonas, analiziškai grynas.

3.2. Triacilglicerolių HPLC analizė

3.2.1. Mikrošvirkštai (50 µL) ir adatos, pritaikytos mėginio įpurškimui naudojant efektyviają skysčių chromatografiją (HPLC).

3.2.2. Propionitrilas, ypač grynas arba HPLC tinkamo grynumo (pvz., ROMIL, Kembridžas, Jungtinė Karalystė), naudojamas kaip judančioji fazė.

3.2.3. HPLC kolonėlė (vidinis skersmuo – 25 cm x 4 mm), užpildyta RP-18 faze (dalelių dydis – 4 µm).

3.3. Riebalų rūgščių metilesterių paruošimas

(žr. Xb priedą)

3.3.1. Metanolis, kuriame yra ne daugiau kaip 0,5 % vandens.

3.3.2. Heptanas, analiziškai grynas.

3.3.3. 2N kalio hidroksido tirpalas metanolyje. 1,1 g kalio hidroksido ištirpdoma 10 ml metanolio.

3.3.4. Užsukami 5 ml stiklo mėgintuvėliai ir dangteliai su PTFE mova.

3.4. FAME dujų chromatografinė analizė

(Žr. *trans*-nesočiųjų riebalų rūgščių nustatymo kapiliarinės dujų chromatografijos būdu metodą, pateiktą Xa priede).

3.4.1. Mikrošvirkštai (5 µL) ir adatos, pritaikytos mėginio įpurškimui naudojant dujų chromatografiją.

3.4.2. Vandenilis arba helis, naudojamas kaip nešančiosios dujos.

- 3.4.3 Liepsnos jonizaciniam detektoriumi (FID) skirtas vandenilis ir deguonis.
- 3.4.4 Azotas arba helis, naudojamas kaip pagalbinės nešančiosios dujos.
- 3.4.5. Lydyto kvarco kapiliarinė kolonėlė (vidinis skersmuo – 50–60 m x 0,25–0,30 mm), padengta 0,20–0,25 µm storio cianopropilpolisiloksano arba cianopropilfenilsiloksano (SP-2380 arba pan.) plėvele.

4. ĮRANGA

- 4.1. Kietafazei ekstrakcijai skirtas vakuuminis aparatas.
- 4.2. Sukamasis garintuvas.
- 4.3. HPLC įranga, kurią sudaro:
 - 4.3.1. Judančiajai fazei skirtas nudujinimo įtaisas.
 - 4.3.2. „Rheodyne“ įpurškimo vožtuvas su 10 µL kilpa.
 - 4.3.3. Aukšto slėgio siurblys.
 - 4.3.4. Termostatinė HPLC kolonėlės krosnis, gebanti palaikyti žemesnę nei aplinkos temperatūrą (15–20°C) (pvz., *Peltier* tipo).
 - 4.3.5. Lūžio rodiklio detektorius.
 - 4.3.6. Kompiuterizuota duomenų rinkimo sistema su integravimo programa.
- 4.4. Xa priede apibūdinta kapiliarinės dujų chromatografijos įranga ir:
 - 4.4.1. Dozuojamasis injektorius.
 - 4.4.2. Liepsnos jonizacinis detektorius (FID).
 - 4.4.3. Programuojamos temperatūros krosnis.
 - 4.4.4. Kompiuterizuota duomenų rinkimo sistema su integravimo programa.
- 4.5. Kompiuteris su *Microsoft EXCEL* programa.

5. ANALIZĖ

5.1. Aliejaus gryninimas

SPE silikagelio kapsulė įdedama į vakuuminio išplovimo aparatą ir plaunama vakuume, naudojant 6 ml heksano. Kad kolonėlė neišdžiūtų, vakuumas išjungiamas ir po kapsule pastatoma kūgio formos kolba. Į kolonėlę suleidžiamas aliejaus (apytikriai 0,12 g) tirpalas 0,5 ml kiekio heksane, tirpalas nusiurbiamas žemyn ir vakuume plaunamas 10 ml heksano ir dietileterio tirpiklio mišiniu (87:13 v/v) (3.1.5 punktas). Išplautas tirpiklis homogenizuojamas ir maždaug pusė jo kiekio įpilama į kitą kūgio formos kolbą. Abu tirpalai atskirai išgarinami sukamajame garintuve kambario temperatūroje ir esant sumažintam slėgiui iki sauso likučio. Triacilglicerolių analizei atlikti vienas iš likučių ištirpinamas 1 ml acetono (žr. 5.2 punkto pirmą pastraipą) ir įpilamas į užsukamąjį 5 ml mėgintuvėlį. Kitas likutis ištirpinamas 1 ml *n*-heptano ir įpilamas į antrą užsukamąjį 5 ml mėgintuvėlį riebalų rūgščių metilesteriams paruošti.

Pastaba. Aliejaus gryninimas gali būti atliekamas naudojant silikagelio kolonėlę, kaip apibūdinta IUPAC 2.507 metode.

5.2. Triacilglicerolių HPLC analizė

HPLC sistema paruošiama darbui palaikant 20 °C kolonėlės temperatūrą ir naudojant 0,6 ml/min propionitrilo, kaip judančiosios fazės, srautą. Kai pagrindo linija tampa pastovi, įpurškiama tirpiklio; jeigu pagrindo linija 12–25 minučių atkarpoje sutrinka, mėginiui praskiesti naudojamas kitos rūšies acetonas arba propionitrilo ir acetono mišinys (25:75).

Pastaba. Dėl kai kurių rūšių acetono pagrindo linija minėtoje atkarpoje sutrinka.

Įpurškiama gryninto aliejaus tirpalo acetone (5 %) 10 µl alikvotinės dalies. Procesas trunka maždaug 60 minučių. Krosnies temperatūra ir (arba) srautas turi būti sureguliuoti taip, kad būtų gauta panaši į pavaizduotąją 1 brėžinyje chromatogramą, kur trilinoleinas (1 smailė) išplaunamas 15,5 minutėje ir galima lengvai atskirti poras LLL/OLLn (1 ir 2 smailės) ir OLL/OOLn (4 ir 5 smailės).

2 smailės (OLLn+PoLL) aukštis turi sudaryti bent 3 % visos skalės aukščio.

5.3. Riebalų rūgščių metilesterių paruošimas

Į gryninto aliejaus tirpalą 1 mL kiekyje *n*-heptano įpilama 0,1 mL 2N kalio hidroksido tirpalo metanolyje. Mėgintuvėlio dangtelis tvirtai užsukamas. Mėgintuvėlis 15 sekundžių stipriai kratomas, paskui paliekamas, kad turinys išsiloksniuotų, kol aiškiai susiformuos viršutinis sluoksnis (5 minutės). *n*-heptano tirpalas yra paruoštas įpurškti į dujų chromatografą. Tirpalas kambario temperatūroje gali būti laikomas ne ilgiau kaip 12 valandų.

5.4. Riebalų rūgščių metilesterių dujų chromatografinė analizė

Turi būti taikoma procedūra, apibūdinta *trans*-nesočiųjų riebalų rūgščių nustatymo metodo aprašyme (žr. Xa priedą).

Dujų chromatografijos sistema paruošiama darbui nustatant 165 °C krosnies temperatūrą. Rekomenduojama 165 °C krosnies temperatūrą izoterminėmis sąlygomis išlaikyti 10 minučių, o paskui ją padidinti iki 200 °C po 1,5 °C per minutę. Siekiant kuo labiau sumažinti *trans*-riebalų rūgščių susidarymą, rekomenduojama, kad injektoriaus temperatūra būtų 220 °C–250 °C (žr. Xa priedą). Detektoriaus temperatūra yra 250 °C. Kaip nešančiosios dujos turi būti naudojamas vandenilis arba helis, į kolonėlę tiekiamas maždaug 130 kPa slėgiu. Dozuojamojo įpurškimo režimu įpurškiamas 1 µL kiekis.

Gauta dujų chromatograma turi būti panaši į pavaizduotąją 2 brėžinyje. Ypatingą dėmesį reikia skirti C18:3 ir C20:1 skiriamajai gebai (C18:3 smailė turi atsirasti anksčiau nei C20:1). Šioms sąlygoms užtikrinti, turi būti optimizuota pradinė temperatūra ir (arba) dujų tiekimo į kolonėlę slėgis. Injektoriaus veikimo sąlygos (temperatūra, dalijimo santykis ir įpurškimo kiekis) sureguliuojamos taip, kad būtų kuo mažiau skiriamos palmitino ir palmitoleino rūgštys.

Trans-izomerams kiekybiškai įvertinti C20:0 smailės aukštis turi sudaryti maždaug 20 % visos skalės aukščio. Jeigu C18:0 smailė atrodo iškreipta, mėginio kiekis sumažinamas.

6. CHROMATOGRAFINIŲ SMAILIŲ INTEGRAVIMAS

6.1. HPLC chromatograma

1 brėžinyje parodyta tipiška gryninto alyvuogių aliejaus triacilglicerolių HPLC chromatograma. Smailėms integruoti turi būti stebimos trys pagrindo linijos: pirmoji – tarp 1 smailės pradžios ir 3 smailės galo, antroji – tarp 4 smailės pradžios ir minimumo prieš 8 smailę, trečioji – tarp minimumo prieš 8 smailę ir 18 smailės galo.

Bendras plotas – tai visų smailių (identifikuotų ir neidentifikuotų) – nuo 1 iki 18 smailės – plotų suma. Kiekvienos smailės procentinė dalis nustatoma pagal šią formulę:

$$\text{TAG}_x (\%) = 100 (A_x + A_T)$$

Procentinės dalys turi būti nurodomos šimtųjų tikslumu.

6.2. Dujų chromatograma

2 brėžinyje parodyta iš gryninto alyvuogių aliejaus gautų riebalų rūgščių alkilesterių dujų chromatograma. Turi būti apskaičiuotos šių riebalų rūgščių procentinės dalys:

palmitino;	P (C16:0)	=	metilesteris + etilo esteris
stearino;	S (C18:0)	=	metilesteris
palmitoleino;	Po (C16:1)	=	dviejų <i>cis</i> -izomerų metilesterių suma
oleino;	O (C18:1)	=	dviejų <i>cis</i> -izomerų metilesterių suma + etilo esteris + <i>trans</i> -izomerai
linolo;	L (C18:2)	=	metilesteris + etilo esteris + <i>trans</i> -izomerai
linoleno;	Ln (C18:3)	=	metilesteris + <i>trans</i> -izomerai
eikozano;	A (C20:0)	=	metilesteris
eikozeno (gondoino);	G (C20:1)	=	metilesteris

Etilo ir *trans*-izomerų esterių dujų chromatogramoje gali nebūti.

Bendras plotas (AT) – tai visų chromatogramoje nuo C14:0 iki C24:0 atsiradusių smailių, išskyrus smailės, susijusias su skvalenu, suma. Kiekvienos smailės procentinė dalis apskaičiuojama pagal tokią formulę:

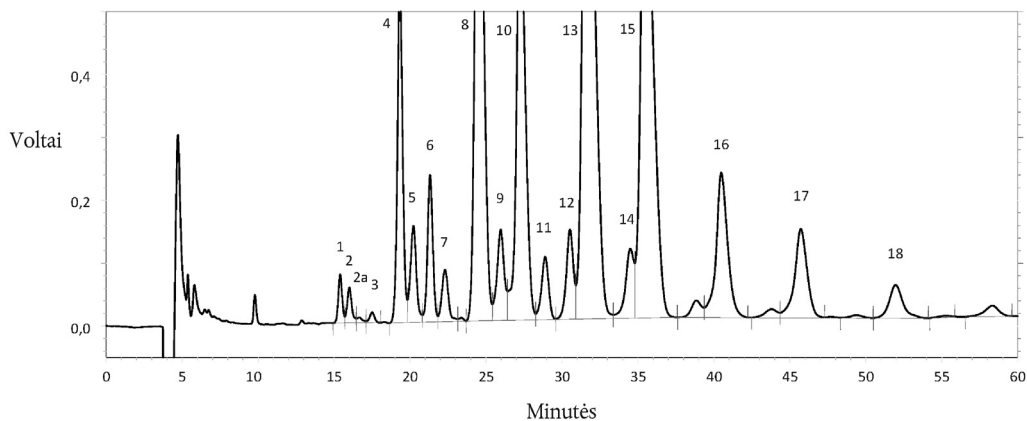
$$\text{FA}_x (\%) = 100 (A_x + A_T)$$

Rezultatai turi būti pateikiami šimtųjų tikslumu.

Jei apskaičiavimams naudojamos kompiuterinės programos, apvalinti iki 100 nebūtina, nes tai daroma automatiškai.

1 brėžinys

„Chamlali“ pirmojo spaudimo alyvuogių aliejaus TAG HPLC chromatograma. Pagrindiniai chromatografinių smailių komponentai



- 1) LLL; 2) OLLn+PoLL; 3) PLLn; 4) OLL; 5) OOLn+PoOL;
 6) PLL+PoPoO; 7) POLn+PPoPo+PPoL; 8) OOL+LnPP; 9) PoOO;
 10) SLL+PLO; 11) PoOP+SPoL+SOLn+SPoPo; 12) PLP;
 13) OOO+PoPP; 14) SOL; 15) POO; 16) POP; 17) SOO;
 18) POS+SLS.

1 lentelė

Pirmojo spaudimo alyvuogių aliejaus TAG nustatymo HPLC metodu esant 20 °C kolonėlės temperatūrai ir naudojant propionnitrilą kaip judančiąją fazę pakartojamumo duomenys

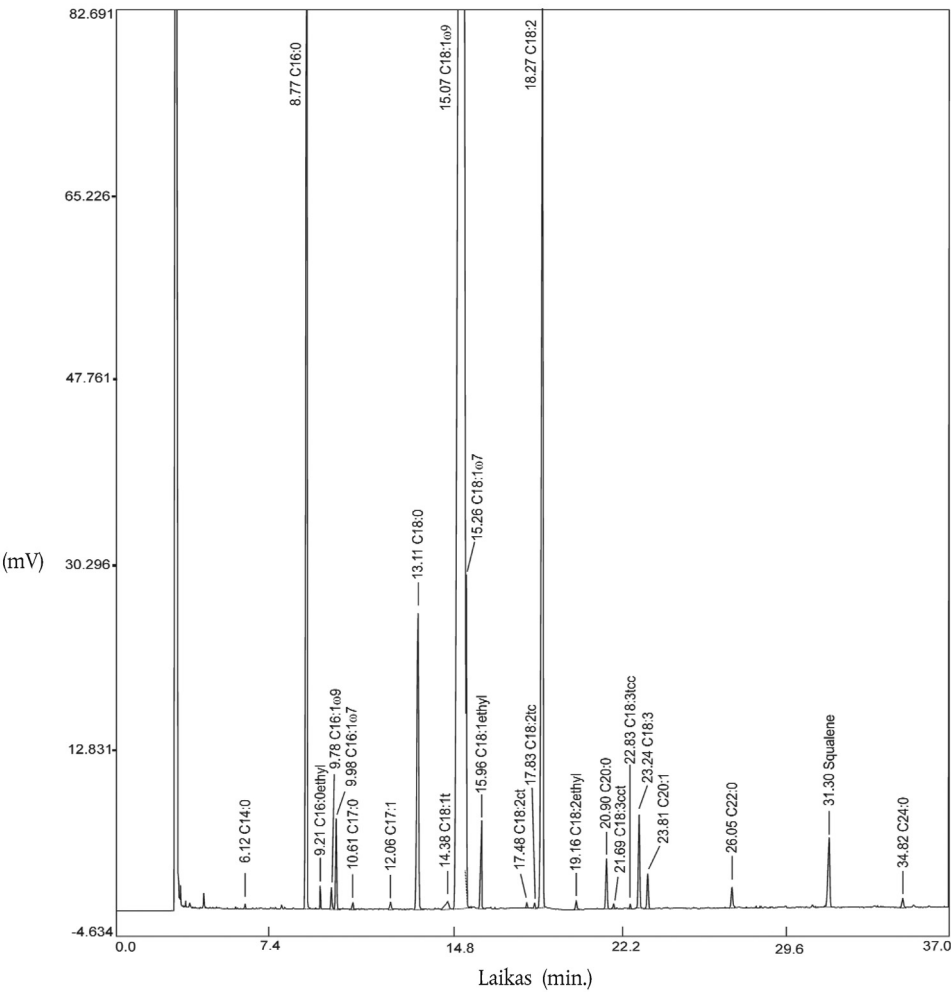
ECN	HPLC smailės	TAG	1 mėginys		2 mėginys		3 mėginys		4 mėginys		5 mėginys	
			Vidurkis (%)	RSD _r (%)	Vidurkis (%)	RSD _r (%)	Vidurkis (%)	RSD _r (%)	Vidurkis (%)	RSD _r (%)	Vidurkis (%)	RSD _r (%)
42	1	LLL	0,020	7,23	0,066	5,18	0,095	4,10	0,113	0,95	0,34	1,05
	2	OLLn+ PoLL	0,085	7,44	0,24	1,78	0,26	2,25	0,35	2,02	0,50	2,83
	3	PLLn	0,023	15,74	0,039	5,51	0,057	5,62	0,082	4,35	0,12	6,15
44	4	OLL	0,47	1,52	1,53	0,42	2,62	0,98	3,35	1,05	4,37	1,13
	5	OOLn+ PoOL	1,07	2,01	1,54	0,46	1,61	0,71	1,72	1,07	1,77	2,40
	6	PLL+ PoPoO	0,11	12,86	0,24	4,37	0,65	1,32	1,35	0,73	2,28	1,24
	7	POLn+ PpoPo+ PpoL	0,42	5,11	0,49	2,89	0,55	2,01	0,85	1,83	1,09	1,96
46	8	OOL+ LnPP	6,72	0,63	8,79	0,31	11,21	0,42	13,25	0,33	15,24	0,23
	9	PoOO	1,24	2,86	1,49	0,95	1,63	0,85	2,12	0,45	2,52	0,56
	10	SLL+ PLO	2,70	0,65	4,05	0,70	6,02	0,65	9,86	0,53	11,53	0,31
	11	PoOP+ SPoL+ SOLn+ SPoPo	0,64	4,42	0,69	3,02	0,79	1,23	1,53	0,89	1,70	1,66

ECN	HPLC smailės	TAG	1 mėginys		2 mėginys		3 mėginys		4 mėginys		5 mėginys	
			Vidurkis (%)	RSD _r (%)	Vidurkis (%)	RSD _r (%)	Vidurkis (%)	RSD _r (%)	Vidurkis (%)	RSD _r (%)	Vidurkis (%)	RSD _r (%)
48	12+13	OOO+ PLP+ PoPP	49,60	0,07	48,15	0,06	42,93	0,06	33,25	0,10	24,16	0,06
	14	SOL	0,82	1,72	0,92	1,56	1,05	1,32	1,25	1,05	1,60	1,77
	15	POO	22,75	0,25	21,80	0,20	21,05	0,30	20,36	0,35	20,17	0,14
50	16	POP	3,05	0,46	4,56	0,42	4,98	0,52	5,26	0,41	5,57	0,38
	17	SOO	6,87	0,21	5,56	0,33	4,86	0,43	4,12	0,72	3,09	0,69
	18	POS+ SLS	1,73	1,23	1,65	1,10	1,54	0,99	1,49	1,10	1,41	1,00

n = 3 kartotiniai bandiniai.
RSD_r = santykinis pakartojamumo standartinis nuokrypis.

2 brėžinys

Riebalų rūgščių alkilesterių, gautų iš alyvuogių išspaudų aliejaus transesterifikuojant su šaltu KOH tirpalu metanolyje, dujų chromatograma



7. PAŠALINIŲ ALIEJŲ ALYVUOGIŲ ALIEJUOSE NUSTATYMAS

Pašalinių aliejų nustatymo alyvuogių aliejuose apskaičiavimo metodas, matematinius algoritmus lyginant su duomenų baze, sudaryta iš grynų alyvuogių aliejų duomenų, nustatytas standarto IOC/T.20/Dok. Nr. 25 I priede.“
