

31991R2568

1991 9 5

EUROPOS BENDRIJŲ OFICIALUSIS LEIDINYS

L 248/1

KOMISIJOS REGLAMENTAS (EEB) Nr. 2568/91

1991 m. liepos 11 d.

dėl maišyto alyvuogių aliejaus ir maišyto alyvuogių išspaudų aliejaus savybių ir dėl atitinkamų analizės metodų

EUROPOS BENDRIJŲ KOMISIJA,

atsižvelgdama į Europos ekonominės bendrijos steigimo sutartį,

atsižvelgdama į 1966 m. rugsėjo 22 d. Tarybos reglamentą (EEB) Nr. 136/66/EEB dėl bendro aliejų ir riebalų rinkos organizavimo ⁽¹⁾ su paskutiniais pakeitimais, padarytais Reglamentu (EEB) Nr. 3577/90 ⁽²⁾, ypač į jo 35a straipsnį,

kadangi Reglamento Nr. 136/66/EEB priede pateikiami alyvuogių aliejaus ir alyvuogių išspaudų aliejaus, parduodamo kiekvienoje valstybėje narėje, Bendrijos vidaus rinkoje ir prekyboje su trečiomis šalimis, aprašymai ir apibrėžimai;

kadangi siekiant diferencijuoti aliejus pagal įvairias rūšis, turi būti apibrėžtos kiekvienos jų fizikinės ir cheminės savybės bei organoleptinės pirmo spaudimo aliejaus savybės, kad būtų garantuotas nagrinėjamo produkto grynumas ir kokybė, nepažeidžiant kitų esančių nuostatų;

kadangi skirtingų rūšių aliejaus savybės turi būti nustatomos vienodai visoje Bendrijoje; kadangi tuo tikslu turi būti sukurti Bendrijos cheminės analizės ir organoleptinio vertinimo metodai; kadangi pereinamajam laikotarpiui turi būti leista naudoti kitus metodus, taikomus valstybėse narėse, su sąlyga, kad gavus skirtingus rezultatus lems rezultatai, gauti taikant bendrą metodą;

kadangi alyvuogių aliejaus fizikinių ir cheminių savybių ir analizės metodų apibrėžimas reikalauja iš dalies pakeisti Kombinuotosios nomenklatūros 15 skyriaus papildomas pastabas;

kadangi pirmo spaudimo aliejaus organoleptinių savybių vertinimo metodas numato parinktų ir paruoštų degustatorių grupių sudarymą; kadangi dėl to turi būti nustatyta tokios struktūros sukūrimo trukmė; kadangi atsižvelgiant į sunkumus, su kuriais

susidurs kai kurios valstybės narės sudarydamos degustatorių grupes, turi būti leista grupes naudoti kitose valstybėse narėse;

kadangi, siekiant užtikrinti alyvuogių išspaudų importui taikomos rinkliavų sistemos teisingą funkcionavimą, turi būti patvirtintas vienas metodas aliejaus kiekiui šiuose produktuose nustatyti;

kadangi, siekiant nepakenkti prekybai, turi būti priimta nuostata dėl iki šio reglamento įsigaliojimo įpakuoto aliejaus realizavimo per ribotą laiką;

kadangi būtina panaikinti Komisijos reglamentą (EEB) Nr. 1058/77 ⁽³⁾ su paskutiniais pakeitimais, padarytais Reglamentu (EEB) Nr. 1858/88 ⁽⁴⁾;

kadangi Aliejaus ir riebalų vadybos komitetas nepateikė savo nuomonės per pirmininko nustatytą laiką,

PRIĖMĖ ŠĮ REGLAMENTĄ:

1 straipsnis

1. Aliejai, kurių savybės atitinka šio reglamento I priedo 1, 2 ir 3 punktuose nustatytas savybes, laikomi pirmo spaudimo alyvuogių aliejumi, kaip apibrėžta Reglamento Nr. 136/66/EEB priedo 1 punkto a, b ir c papunkčiuose.

2. Aliejus, kurio savybės atitinka šio reglamento I priedo 4 punkte nustatytas savybes, laikomas pirmo spaudimo klasikiniu alyvuogių aliejumi *lampante*, kaip apibrėžta Reglamento Nr. 136/66/EEB priedo 1 punkto d papunktyje.

3. Aliejus, kurio savybės atitinka šio reglamento I priedo 5 punkte nustatytas savybes, laikomas rafinuotu alyvuogių aliejumi, kaip apibrėžta Reglamento Nr. 136/66/EEB priedo 2 punkte.

⁽¹⁾ OL 172, 1966 9 30, p. 3025/66.

⁽²⁾ OL L 353, 1990 12 17, p. 23.

⁽³⁾ OL L 128, 1977 5 24, p. 6.

⁽⁴⁾ OL L 166, 1988 7 1, p. 10.

4. Aliejus, kurio savybės atitinka šio reglamento I priedo 6 punkte nustatytas savybes, laikomas grynu alyvuogių aliejumi, kaip apibrėžta Reglamento Nr. 136/66/EEB priedo 3 punkte.

5. Aliejus, kurio savybės atitinka šio reglamento I priedo 7 punkte nustatytas savybes, laikomas alyvuogių išspaudų aliejumi, kaip apibrėžta Reglamento Nr. 136/66/EEB priedo 4 punkte.

6. Aliejus, kurio savybės atitinka šio reglamento I priedo 8 punkte nustatytas savybes, laikomas rafinuotu alyvuogių išspaudų aliejumi, kaip apibrėžta Reglamento Nr. 136/66/EEB priedo 5 punkte.

7. Aliejus, kurio savybės atitinka šio reglamento I priedo 9 punkte nustatytas savybes, laikomas alyvuogių išspaudų aliejumi, kaip apibrėžta Reglamento Nr. 136/66/EEB priedo 6 punkte.

2 straipsnis

1. Aliejų savybės, nurodytos I priede, nustatomos taikant toliau pateiktus analizės metodus:

- laisvosioms riebiosioms rūgštims, skaičiuojant oleino rūgšties procentiniu kiekiu, nustatyti – II priede nurodytą metodą,
- peroksidų skaičiui nustatyti – III priede nurodytą metodą,
- alifatinių alkoholių kiekiui nustatyti – IV priede nurodytą metodą,
- sterolių kiekiui nustatyti – V priede nurodytą metodą,
- eritrodolio ir uvaolio kiekiui nustatyti – VI priede nurodytą metodą,
- sočiųjų riebiųjų rūgščių 2-oje triglicerido padėtyje kiekiui nustatyti – VII priede nurodytą metodą,
- trilinolato kiekiui nustatyti – VIII priede nurodytą metodą,
- spektrofotometrinei analizei – IX priede nurodytą metodą,
- riebiųjų rūgščių sudėčiai nustatyti – X A ir X B prieduose nurodytą metodą,
- lakiųjų halogenintų tirpiklių kiekiui nustatyti – XI priede nurodytą metodą,
- organoleptinėms pirmo spaudimo alyvuogių aliejaus savybėms įvertinti – XII priede nurodytą metodą,
- patvirtinti, ar buvo atliktas gryninimas – XIII priede nurodytą metodą.

2. Organoleptinių savybių įvertinimą atlieka analitikas ir atitinkamai padedant specialistui, pagal XII priedo pastabose dėl degustavimo nustatytą tvarką. Kai analizuojant gaunamos kitokios nei produkto aprašyme nurodytos savybės, bandinį turi analizuoti degustatorių grupė, laikymasi XII priedo nuostatų.

Laikymasi minėtų nuostatų, degustatorių grupė atlieka visas pakartotines analizes.

Siekiant nustatyti organoleptines savybes, susijusias su intervencinės sistemos operacijų vykdymu, degustatorių grupė atlieka šį vertinimą, laikymasi XII priedo nuostatų.

3 straipsnis

2 straipsnyje numatytų analizės metodų įvedimas netrukdo valstybėms narėms iki 1992 m. spalio 31 d. taikyti kitus patikrintus ir mokslškai pagrįstus metodus su sąlyga, kad produktai, kurie Bendrijos metodus nustatančiomis galiojančiomis taisyklėmis pripažinti tinkamais, gali laisvai judėti. Prieš naudodamos kitus metodus, suinteresuotos valstybės narės apie juos informuoja Komisiją.

Jei koku nors kitu metodu gauti rezultatai skiriasi nuo bendru metodu gautų rezultatų, lemiamu laikomas bendru metodu gautas rezultatas.

4 straipsnis

1. Organoleptinėms savybėms vertinti valstybės narės, laikymasi XII priede pateiktame metode nustatytų taisyklių, sudaro degustatorių grupes iš paruoštų ir parinktų degustatorių.

2. Jei valstybė narė, sudarydama degustatorių grupę savo teritorijoje, susiduria su sunkumais, ji gali pasinaudoti kitoje valstybėje narėje veikiančios degustatorių grupės paslaugomis.

5 straipsnis

Kombinuotosios nomenklatūros 15 skyriaus 2, 3 ir 4 papildomos pastabos keičiamos XIV priede pateiktomis pastabomis.

6 straipsnis

1. Aliejaus kiekis aliejaus išspaudose ir kitose alyvuogių aliejaus ekstrahavimo atliekose (KN kodai 2306 90 11 ir 2306 90 19) nustatomas, taikant XV priede nurodytą metodą.

2. Straipsnio 1 dalyje minimas aliejaus kiekis skaičiuojamas aliejaus masės procentais sausos medžiagos masei.

7 straipsnis

Taikomos Bendrijos nuostatos dėl nepageidaujamų medžiagų, išskyrus tas, kurios nurodytos XI priede, buvimo.

8 straipsnis

1. Valstybės narės praneša Komisijai apie priemones, kurių buvo imtasi reglamentui įgyvendinti.

2. Valstybės narės kiekvieno pusmečio pradžioje siunčia Komisijai per praėjusį pusmetį atliktų tikrinimų analizės duomenų oficialią suvestinę.

Rezultatus nagrinėja Aliejaus ir riebalų vadybos komitetas, laikydamasis Reglamento Nr. 136/66/EEB 39 straipsnyje nustatytos tvarkos.

9 straipsnis

Šiuo dokumentu Reglamentas (EEB) Nr. 1058/77 yra panaikinamas.

10 straipsnis

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

Tačiau XII priede nurodytas metodas taikomas nuo 1992 m. sausio 1 d., išskyrus atvejus, susijusius su intervencinės sistemos operacijomis.

2. Šis reglamentas netaikomas alyvuogių aliejui ir alyvuogių išspaudų aliejui, įpakuotam iki šio reglamento įsigaliojimo ir parduotam iki 1992 m. spalio 31 d.

Šis reglamentas yra privalomas visas ir tiesiogiai taikomas visose valstybėse narėse.

Priimta Briuselyje, 1991 m. liepos 11 d.

Komisijos vardu

RAY MAC SHARRY

Komisijos narys

PRIEDAI

Turinys

	Puslapis
I priedas	Alyvuogių aliejaus savybės 372
II priedas	Laisvųjų riebiųjų rūgščių kiekio nustatymas 374
III priedas	Peroksidų skaičiaus nustatymas 376
IV priedas	Alifatinių alkoholių kiekio nustatymas kapiliarinės dujų chromatografijos metodu 378
V priedas	Sterolių sudėties ir kiekio nustatymas kapiliarinės dujų chromatografijos metodu 383
VI priedas	Eritrodiolio ir uvaolio nustatymas 391
VII priedas	Sočiųjų riebiųjų rūgščių 2-oje triglicerido padėtyje nustatymas 393
VIII priedas	Trilinolato sudėties nustatymas 397
IX priedas	Spektrofotometrinis tyrimas ultravioletinėje srityje 401
XA priedas	Riebiųjų rūgščių metilesterių analizė dujų chromatografijos metodu 405
XB priedas	Riebiųjų rūgščių metilesterių ruošimas 413
XI priedas	Lakiųjų halogenintų tirpiklių kiekio alyvuogių aliejuje nustatymas 417
XII priedas	Pirmo spaudimo alyvuogių aliejaus organoleptinių savybių vertinimas 418
XIII priedas	Gryninimo atlikimo patvirtinimas 444
XIV priedas	Kombinuotosios nomenklatūros 15 skyriaus 2, 3 ir 4 papildomos pastabos 446
XV priedas	Aliejaus kiekio alyvuogių atliekose nustatymas 449
XVI priedas	Jodo skaičiaus nustatymas 451

I PRIEDAS

ALYVUOGIŲ ALIEJAUS SAVYBĖS

Rūšis	Rūgštingumas %	Peroksidų skaičius mekv./O ₂ /kg	Halogenintieji tirpikliai mg/kg ⁽¹⁾	Alifatiniai alkoholiai mg/kg	Sočiosios riebiosios rūgštys 2-oje triglicerido padėtyje %	Eritrodliolis ir uvaolis %	Trilinolatas %	Cholesterolis %	Brasikasterolis %	Kampestasterolis %	Stigmasterolis %	β-sitosterolis % ⁽²⁾	Δ-7-stigmasterolis %	Bendras sterolių kiekis mg/kg
1. Aukščiausios kokybės pirmo spaudimo alyvuogių aliejus	M 1,0	M 20	M 0,20	M 300	M 1,3	M 4,5	M 0,5	M 0,5	M 0,2	M 4,0	< kamp.	m 93,0	M 0,5	m 1 000
2. Pirmo spaudimo alyvuogių aliejus	M 2,0	M 20	M 0,20	M 300	M 1,3	M 4,5	M 0,5	M 0,5	M 0,2	M 4,0	< kamp.	m 93,0	M 0,5	m 1 000
3. Paprastas pirmo spaudimo alyvuogių aliejus	M 3,3	M 20	M 0,20	M 300	M 1,3	M 4,5	M 0,5	M 0,5	M 0,2	M 4,0	< kamp.	m 93,0	M 0,5	m 1 000
4. Pirmo spaudimo klasikinis alyvuogių aliejus <i>lampante</i>	> 3,3	> 20	> 0,20	M 400	M 1,3	M 4,5	M 0,5	M 0,5	M 0,2	M 4,0	–	m 93,0	M 0,5	m 1 000
5. Rafinuotas alyvuogių aliejus	M 0,5	M 10	M 0,20	M 350	M 1,5	M 4,5	M 0,5	M 0,5	M 0,2	M 4,0	< kamp.	m 93,0	M 0,5	m 1 000
6. Maišytas alyvuogių aliejus	M 1,5	M 15	M 0,20	M 350	M 1,5	M 4,5	M 0,5	M 0,5	M 0,2	M 4,0	< kamp.	m 93,0	M 0,5	m 1 000
7. Neapdorotas alyvuogių išspaudų aliejus	m 2,0	–	–	–	M 1,8	m 12	M 0,5	M 0,5	M 0,2	M 4,0	–	m 93,0	M 0,5	m 2 500
8. Rafinuotas alyvuogių išspaudų aliejus	M 0,5	M 10	M 0,20	–	M 2,0	m 12	M 0,5	M 0,5	M 0,2	M 4,0	< kamp.	m 93,0	M 0,5	m 1 800
9. Alyvuogių išspaudų aliejus	M 1,5	M 15	M 0,20	–	M 2,0	> 4,5	M 0,5	M 0,5	M 0,2	M 4,0	< kamp.	m 93,0	M 0,5	m 1 800

⁽¹⁾ Viršutinė bendro kiekio riba junginiams, nustatytiems naudojant elektronų pagavos detektorius. Atskirai nustatomiems komponentams viršutinė riba – 0,10 mg/kg.

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

Pastaba

Jei kuri nors savybė yra už nustatytos ribos, aliejus turi būti atmetamas. M = didžiausia vertė, m = mažiausia vertė.

Rūšis	Rūgščių sudėtis					K ₂₃₂	K ₂₇₀	K ₂₇₀ po apdo- rojimo alumi- nio oksidu ⁽¹⁾	ΔK	Degustatorių grupės tikrini- mas
	Miristo %	Linoleno %	Eikozano %	Eikozeno %	Beheno %	Lignocero %				
1. Aukščiausios kokybės pirmo spau- dimo alyvuogių aliejus	M 0,1	M 0,9	M 0,7	M 0,5	M 0,3	M 0,5	M 0,20	M 0,10	M 0,01	≥ 6,5
2. Pirmo spaudimo alyvuogių aliejus	M 0,1	M 0,9	M 0,7	M 0,5	M 0,3	M 0,5	M 0,25	M 0,10	M 0,01	≥ 5,5
3. Paprastas pirmo spaudimo alyvuogių aliejus	M 0,1	M 0,9	M 0,7	M 0,5	M 0,3	M 0,5	M 0,25	M 0,10	M 0,01	≥ 3,5
4. Pirmo spaudimo klasikinis alyvuogių aliejus <i>l'ampante</i>	M 0,1	M 0,9	M 0,7	M 0,5	M 0,3	M 0,5	> 0,25	M 0,11	–	< 3,5
5. Rafinuotas alyvuogių aliejus	M 0,1	M 0,9	M 0,7	M 0,5	M 0,3	M 0,5	M 1,20	–	M 0,16	–
6. Maišytas alyvuogių aliejus	M 0,1	M 0,9	M 0,7	M 0,5	M 0,3	M 0,5	M 1,00	–	M 0,13	–
7. Neapdorotas alyvuogių išspaudų alie- jus	M 0,1	M 0,9	M 0,7	M 0,5	M 0,3	M 0,5	–	–	–	–
8. Rafinuotas alyvuogių išspaudų aliejus	M 0,1	M 0,9	M 0,7	M 0,5	M 0,3	M 0,5	M 2,50	–	M 0,25	–
9. Alyvuogių išspaudų aliejus	M 0,1	M 0,9	M 0,7	M 0,5	M 0,3	M 0,5	M 2,00	–	M 0,20	–

Pastaba

⁽¹⁾ Būtina atlikti aliejų, kurių rūgštingumas didesnis kaip 3,3 %, atveju K₂₇₀ po apdorojimo aliuminio oksidu esant didesniai kaip 0,11, gryninimo bandymą, nurodyta XIII priede. Gryninimui nustatyti, kai K₂₇₀ viršija konkrečiai rūšiai nurodytą ribą, po aliejaus apdorojimo aliuminio oksidu ekstrinkcijos koeficientas turi būti nustatomas iš naujo.

II PRIEDAS

LAISVŲJŲ RIEBIŲJŲ RŪGŠČIŲ KIEKIO NUSTATYMAS

1. RŪGŠTINGUMO NUSTATYMAS

Laisvųjų riebiųjų rūgščių nustatymas alyvuogių aliejuose. Laisvųjų rūgščių kiekis išreiškiamas sutartu būdu skaičiuojamu rūgštingumu.

1.1. Metodo esmė

Bandinys ištirpinamas tirpiklių mišinyje ir esančios laisvosios riebiųjų rūgštys titruojamos kalio hidroksido tirpalu etanolyje.

1.2. Reagentai

Visi reagentai turi būti pripažintos analiziškai grynų reagentų kokybės, naudojamas distiliuotas arba atitinkamo grynumo vanduo.

1.2.1. Dietileterio ir 95 % (v/v) etanolio lygių tūrio dalių mišinys.

Pastaba. Dietileteris yra labai degus ir gali sudaryti sprogius peroksidus. Jį naudojant, turi būti imamasi ypatingų atsargumo priemonių.

Visiškai prieš pat naudojimą mišinys neutralizuojamas kalio hidroksido tirpalu (1.2.2), 100 ml mišinio įpilant 0,3 ml fenoltaleino tirpalo (1.2.3).

Pastaba. Jei negalima naudoti dietiletrio, gali būti naudojamas tirpiklių mišinys, kurį sudaro etanolis ir toluenas. Prireikęs etanolį galima pakeisti 2-propanoliu.

1.2.2. Kalio hidroksido titruotas tirpalas etanolyje, $c(\text{KOH})$ apie 0,1 mol/l arba, jei tai būtina, $c(\text{KOH})$ apie 0,5 mol/l.

Turi būti žinoma kalio hidroksido tirpalo etanolyje tiksli koncentracija, ji tikrinama prieš pat naudojimą. Reikia turėti paruoštą tirpalą bent penkios dienos prieš naudojimą, jį dekantavus į butelį iš rudo stiklo su guminiu kamščiu. Tirpalas turi būti bespalvis arba šviesiai geltonos spalvos.

Pastaba. Patvarus bespalvis kalio hidroksido tirpalas gali būti paruoštas taip. 1 000 ml etanolio, įdėjus 8 g kalio hidroksido ir 0,5 g aliuminio drožlių, užvirinama ir vieną valandą verdama su grįžtamuju kondensatoriumi. Tuoju pat distiliuojama. Distiliate ištirpinamas reikiamas kiekis kalio hidroksido. Paliekama kelias dienas stovėti, paskui skaidrus virš kalio karbonato nuosėdų esantis tirpalas dekantuojamas.

Tirpalą galima paruošti ir be distiliacijos: į 1 000 ml etanolio įpilama 4 ml aliuminio butilato, mišinys paliekamas kelias dienas stovėti. Virš nuosėdų esantis skystis dekantuojamas ir jame ištirpinamas reikiamas kiekis kalio hidroksido. Tirpalas paruoštas naudoti.

1.2.3. Fenoltaleino 10 g/l tirpalas 95–96 % (v/v) etanolyje arba šarminio žydriojo (ypač žymiai spalvotų riebalų atveju) 20 g/l tirpalas 95–96 % (v/v) etanolyje.

1.3. Aparatūra

Įprasta laboratorinė įranga, tarp kitų įrenginių:

1.3.1. analizinės svarstyklės;

1.3.2. 250 ml talpos kūginė kolba;

1.3.3. 10 ml biuretė, sugraduota 0,05 ml padalomis.

1.4. Darbo eiga

1.4.1. Bandinio ruošimas analizei

(Atliekama filtruoto bandinio analizė. Jei drėgmė ir priemaišos kartu sudaro mažiau kaip 1 %, bandinys analizuojamas be tolesnio apdorojimo; jei jų yra daugiau kaip 1 %, bandinį reikia filtruoti.)

1.4.2. Bandinio ėmimas

Bandinio imama, atsižvelgiant į numatomą rūgščių skaičių, pagal tokią lentelę:

Laukiamas rūgščių skaičius	Bandinio masė (g)	Svėrimo tikslumas (g)
< 1	20	0,05
1–4	10	0,02
4–15	2,5	0,01
15–75	0,5	0,001
> 75	0,1	0,0002

Bandinys sveriamas kūginėje kolboje (1.3.2).

1.4.3. Nustatymas

Bandinys (1.4.2) ištirpinamas 50–150 ml prieš tai neutralizuoto dietileterio ir etanolio mišinio (1.2.1).

Titruojama 0,1 mol/l koncentracijos kalio hidroksido tirpalu (1.2.2) (žr. 2 pastabą) maišant, kol pasikeičia indikatoriaus spalva (rožinė fenolftaleino spalva nepranyksta bent 10 sekundžių).

1 pastaba. Titruotas kalio hidroksido tirpalas etanolyje (1.2.2) gali būti pakeistas vandeniniu kalio arba natrio hidroksido tirpalu, jei titravimo metu įpilamas vanduo nesukelia išsisluoksniavimo.

2 pastaba. Jei 0,1 mol/l kalio hidroksido tirpalo reikia daugiau kaip 10 ml, naudojamas 0,5 mol/l tirpalas.

3 pastaba. Jei titruojant tirpalas susidrumsčia, įpilama tiek tirpiklių mišinio (1.2.1), kad tirpalas pasidarytu skaidrus.

1.5. Rūgštingumas: skaičiuojamas oleino rūgšties procentiniu kiekiu

Rūgštingumas masės procentais skaičiuojamas pagal formulę:

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

kurioje:

V = titravimui sunaudoto kalio hidroksido tirpalo tūris, mililitrais;

c = tiksli naudoto kalio hidroksido titruoto tirpalo koncentracija, moliais litre;

M = molinė masė rūgšties, pagal kurią skaičiuojamas rezultatas (= 282);

m = bandinio masė, gramais.

Rezultatas skaičiuojamas kaip dviejų nustatymų aritmetinis vidurkis.

III PRIEDAS

PEROKSIDŲ SKAIČIAUS NUSTATYMAS

1. TIKSLAS

Šiame standarte aprašytas aliejų ir riebalų peroksidų skaičiaus nustatymo metodas.

2. TAIKYMOSRITIS

Šis standartas taikytinas gyvuliniais ir augaliniams aliejams ir riebalams.

3. APIBRĖŽIMAS

Medžiagų, kurios aprašytomis bandymo sąlygomis oksiduoja kalio jodidą, kiekis, skaičiuojamas aktyvaus deguonies miliekivalentais kilogramui bandinio, vadinamas peroksidų skaičiumi.

4. METODOESMĖ

Acto rūgšties ir chloroformo mišinyje ištirpinta analizuojamo bandinio dalis veikiama kalio jodido tirpalu. Išsiskyręs jodas titruojamas etaloniniu natrio tiosulfato tirpalu.

5. APARATŪRA

Visoje naudojamose įrangoje neturi būti oksiduojančių arba redukuojančių medžiagų.

Pastaba. Šlifo sujungimai netepami.

5.1. 3 ml talpos stiklinė bertuvėlė.

5.2. Maždaug 250 ml talpos kolbos su šlifo kaklais ir kamščiais iš anksto išdžiovintos ir užpildytos švariomis, sausomis inertinėmis dujomis (azotu arba geriau anglies dioksidu).

5.3. 25 arba 50 ml biuretė, sugraduota 0,1 ml padalomis.

6. REAGENTAI

6.1. Chloroformas, analiziškai grynas, išvalytas nuo deguonies, barbotuojant per jį švarių ir sausų inertinių dujų srovę.

6.2. Ledinė (atšaldyta) acto rūgštis, analiziškai gryna, išvalyta nuo deguonies, barbotuojant per ją švarių ir sausų inertinių dujų srovę.

6.3. Kalio jodidas, neseniai paruoštas prisotintas vandeninis tirpalas, be jodo ir jodatų.

6.4. Natrio tiosulfatas, tiksliai etalonuotas 0,01 arba 0,002 mol/l vandeninis tirpalas. Titrų nustatomas prieš pat naudojimą.

6.5. Krakmolo tirpalas, 10 g/l dispersija vandenyje, neseniai paruoštas iš natūralaus tirpaus krakmolo.

7. BANDINYS

Reikia žiūrėti, kad bandinys būtų imamas ir laikomas neapšviestoje šaltoje vietoje, visiškai užpildytame stikliniame inde, hermetiškai užkimštame šlifo arba kamščiamedžio kamščiais.

8. DARBO EIGA

Analizė turi būti atliekama išsklaidytoje dienos šviesoje arba esant dirbtiniam apšvietimui. Stiklinėje bertuvėlėje (5.1) arba, jos neturint, kolboje (5.2) 0,001 g tikslumu pasveriamas bandinio masė, kuri pasirenkama iš lentelės duomenų, atsižvelgiant į numatomą peroksidų skaičių:

Laukiamas peroksidų skaičius (mekv.)	Analizuojamos bandinio dalies masė (g)
0–12	5,0–2,0
12–20	2,0–1,2
20–30	1,2–0,8
30–50	0,8–0,5
50–90	0,5–0,3

Kolba (5.2) atkėmama ir į ją įdedama stiklinė bertuvėlė su bandiniu. Įpilama 10 ml chloroformo (6.1). Bandinys greitai ištirpinamas maišant. Įpilama 15 ml ledinės acto rūgšties (6.2) ir paskui 1 ml kalio jodido tirpalo (6.3). Kolba greitai užkėmama, kratoma vieną minutę ir lygiai penkias minutes paliekama stovėti neapšviestoje vietoje, 15–25 °C temperatūroje.

Įpilama maždaug 75 ml distiliuoto vandens. Išsiskyręs jodas titruojamas natrio tiosulfato tirpalu (6.4) (0,002 mol/l, jei manoma, kad peroksidų skaičius yra mažesnis kaip 12, ir 0,01 mol/l, jei numatomos vertės yra didesnės kaip 12), stipriai kratant. Indikatoriumi naudojamas krakmolo tirpalas (6.5).

Tam pačiam analizuojamam bandiniui atliekami du nustatymai.

Tuo pačiu metu atliekamas tuščiasis bandymas. Jei tuščiojo bandymo rezultatas didesnis kaip 0,05 ml 0,01 mol/l natrio tiosulfato tirpalo (6.4), negryni reagentai pakeičiami.

9. REZULTATŲ APSKAIČIAVIMAS

Peroksidų skaičius (PS), skaičiuojant aktyvaus deguonies miliekivalentais kilogramui, nustatomas pagal formulę:

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

kurioje:

V = nustatymui sunaudoto etaloninio natrio tiosulfato tirpalo (6.4) tūris, pataisytas pagal tuščiojo bandymo rezultatą, ml;

T = tiksli naudoto natrio tiosulfato tirpalo (6.4) molinė koncentracija;

m = analizuojamos bandinio dalies masė, g.

Rezultatas skaičiuojamas kaip dviejų nustatymų aritmetinis vidurkis.

IV PRIEDAS

ALIFATINIŲ ALKOHOLIŲ KIEKIO NUSTATYMAS KAPILIARINĖS DUJŲ CHROMATOGRAFIJOS METODU

1. TIKSLAS

Aprašomas metodas alifatinių alkoholių kiekiui aliejuose ir riebaluose nustatyti.

2. METODO ESMĖ

Riebalinė medžiaga, įdėjus kaip etalono 1-eikozanolio, muilinama kalio hidroksido tirpalu metanolyje, nesi-muilinganti medžiaga vėliau ekstrahuojama etilo eteriu.

Sterolių frakcija nuo nemuilingųjų medžiagų atskiriama chromatografiniu metodu ant kalio hidroksidu impregnuotų silikagelio plokštelių. Iš silikagelio regeneruoti alkoholiai paverčiami trimetilsililseteriais ir analizuojami taikant kapiliarinę dujų chromatografiją.

3. APARATŪRA

- 3.1. 250 ml apvaliadugnė kolba su grįžtamuoju kondensatoriumi ir šlifo sujungimais.
- 3.2. 500 ml talpos dalijamieji piltuvai.
- 3.3. 250 ml talpos kolbos.
- 3.4. Chromatografavimo indas plonasluoksnei chromatografinei (PSC) analizei atlikti, pritaikytas stiklinėms plokštelėms, kurių matmenys 20 x 20 cm.
- 3.5. UV 366 arba 254 nm ilgio šviesos bangų šaltinis PSC plokštelėms analizuoti.
- 3.6. Mikrošvirkštai 100 ir 500 µl tūriams imti.
- 3.7. G3 akytumo stiklinis filtras (15–40 µm akytumas) maždaug 2 cm skersmens ir 5 cm aukščio, tinkamas filtravimui vakuumu, su 12/21 šlifo mova.
- 3.8. 50 ml talpos vakuuminė kolba su 12/21 šlifo įmova filtrui (3.7) prijungti.
- 3.9. 10 ml talpos mėgintuvėlis su kūginiu dangčiu ir kamščiu.
- 3.10. Darbui su kapiliarine kolonėle naudojamas ir bandinio dozatorių turintis dujų chromatografas, kurį sudaro:
 - 3.10.1 termostatuojama kamera kolonėlei (kolonėlės krosnis) norimai temperatūrai palaikyti ± 1 °C tikslumu;
 - 3.10.2 reguliuojamos temperatūros garinimo įrenginys (įpurškimo anga) su polisiloksanu dengtu stebėjimo langeliu;
 - 3.10.3 liepsnos jonizacinis detektorius ir konverteris stiprintuvas;
 - 3.10.4 darbui kartu su konvertrių-stiprintuvu (3.10.3) skirtas kintamo popieriaus tiekimo greičio savirašis-integratorius, kurio inertiškumas mažesnis kaip viena sekundė.
- 3.11. Stiklinė arba lydyto kvarco 20–30 m ilgio kapiliarinė kolonėlė, kurios vidinis skersmuo 0,25–0,32 mm, padengta 0,10–0,30 µm storio skystos fazės SE-52 arba SE-54 arba ją atitinkančios plėvele.
- 3.12. 10 µl talpos mikrošvirkštas dujų chromatografijai, su kietinta adata.

4. REAGENTAI

- 4.1. Kalio hidroksido maždaug 2 N tirpalas etanolyje: 130 g kalio hidroksido (mažiausias kiekis 85 %) ištirpinama šaldant 200 ml distiliuoto vandens ir praskiedžiama etanoliu iki 1 litro. Tirpalas turi būti laikomas gerai užkimštame tamsaus stiklo butelyje.
- 4.2. Dietilo eteris, analiziškai grynas.
- 4.3. Bevandenis natrio sulfatas, analiziškai grynas.

- 4.4. 0,25 mm storio silikagelio sluoksniu dengtos stiklinės PSC plokštelės, neužterštos fluorescencijos indikatoriumi (gali būti naudojamos pramonės gaminamos plokštelės).
- 4.5. Kalio hidroksido maždaug 0,2 mol/l tirpalas etanolyje: 13 g kalio hidroksido ištirpinama 20 ml distiliuoto vandens ir praskiedžiama etanolu iki 1 litro.
- 4.6. Benzenas, tinkamas chromatografijai, žr. 5.2.2.
- 4.7. Acetonas, tinkamas chromatografijai, žr. 5.2.2.
- 4.8. Heksanas, tinkamas chromatografijai, žr. 5.2.2.
- 4.9. Dietilo eteris, tinkamas chromatografijai, žr. 5.2.2.
- 4.10. Chloroformas, tinkamas chromatografijai, žr. 5.2.2.
- 4.11. Etaloninis tirpalas plonasluoksnei chromatografijai: 5 % mišinys C_{20} – C_{28} alkoholių chloroforme.
- 4.12. 0,2 % 2',7'-dichlorfluoresceino tirpalas etanolyje. Jis truputį pašarminamas, įlašinant kelis lašus 2 mol/l kalio hidroksido tirpalo.
- 4.13. Bevandenis piridinas, tinkamas chromatografijai.
- 4.14. Heksametildisilazanas.
- 4.15. Trimetilchlorsilanas.
- 4.16. Etaloniniai alifatiniai C_{20} – C_{28} alkoholių trimetilsilileterių tirpalai. Gali būti pagaminti iš grynų alkoholių mišinių prieš pat juos naudojant.
- 4.17. A 0,1 % (m/v) 1-eikozanolio tirpalas chloroforme (vidinis etalonas).
- 4.18. Dujos nešikliai: vandenilis ir helis, kurių grynumas atitinka dujų chromatografijos reikalavimus.
- 4.19. Pagalbinės dujos:
- vandenilis, kurio grynumas atitinka dujų chromatografijos reikalavimus,
 - oras, kurio grynumas atitinka dujų chromatografijos reikalavimus.
5. DARBO EIGA
- 5.1. Nemuilinamos medžiagos gavimas
- 5.1.1. Į 250 ml talpos apvaliadugnę kolbą 500 ml mikrošvirkštu įpilamas toks 0,1 % 1-eikozanolio tirpalo (4.17) tūris (taip pat gali būti naudojamas 1-eneikozanolis), kuriame 1-eikozanolio kiekis būtų maždaug lygus 10 % alifatinų alkoholių kiekio analizei paimto bandinio dalyje. Pavyzdžiui, į 5 g bandinį įpilama 250 μ l 1-eikozanolio tirpalo, kai analizuojamas alyvuogių aliejus ir augalinis aliejus ir 1 500 μ l, kai analizuojamas alyvuogių išspaudų aliejus. Vidinio etalono tirpalas N_2 srovėje išgarinamas iki sauso likučio.
- Kolboje tiksliai pasverama maždaug 5 g sauso, filtruoto bandinio.
- 5.1.2. Į kolbą įpilama 50 ml 2 mol/l kalio hidroksido tirpalo alkoholyje, prijungiamas grįžtamasis kondensatorius ir kolba ant garų vonios šildoma iki nestipraus virimo, nuolat maišant, kol įvyksta muilinimas (tirpalas pasidaro skaidrus). Šildymas tęsiamas dar 20 minučių, paskui per kondensatorių įpilama 50 ml distiliuoto vandens, kondensatorius atjungiamas ir kolba ataušinama maždaug iki 30 °C.
- 5.1.3. Kolbos turinys kiekibiškai supilamas į 500 ml talpos dalijamąjį piltuvą, nuplovimui sunaudojant 2 kartus po 25 ml distiliuoto vandens. Įpilama maždaug 80 ml dietileterio, turinys stipriai plakamas 30 sekundžių, paskui leidžiama išsisluoksniuoti (1 pastaba).
- Apatinis vandeninis sluoksnis perpilamas į antrąjį dalijamąjį piltuvą. Vandeninis sluoksnis ekstrahuojamas tuo pačiu būdu dar du kartus, kiekvieną kartą sunaudojant 60–70 ml dietilo eterio.
- 1 pastaba. Emulsijos gali būti panaikintos, įpurškiant nedidelį kiekį etanolio arba metanolio.
- 5.1.4. Eteriniai ekstraktai supilami į vieną dalijamąjį piltuvą ir plaunami distiliuotu vandeniu (50 ml vienu kartu), kol plovimo vanduo rodys neutralią reakciją.
- Vandeninė fazė išpilama, eterinis ekstraktas džiovinamas virš bevandenio natrio sulfato ir filtruojamas į 250 ml talpos kolbą, kuri buvo prieš tai pasverta, dalijamąjį piltuvą ir filtrą nuplaunant nedideliu dietileterio kiekiu ir viską supilant kartu.

- 5.1.5. Eteris nestipriai kaitinant garinamas, kol turis sumažėja iki kelių mililitrų, paskui likutis džiovinamas nedideliame vakuume arba azoto srovėje. Džiovinimas užbaigiamas, laikant džiovinimo spintoje maždaug 15 minučių 100 °C temperatūroje, ir ataušintas eksikatoriuje likutis pasveriamas.

5.2. Alkoholių frakcijų atskyrimas

- 5.2.1. Ruošiamos bazinės PSC plokštelės (4.4), jas 10 sekundžių visiškai įmerkiant į 0,2 mol/l kalio hidroksido tirpalą (4.5). Paskui jos paliekamos dvi valandas džiūti traukos spintoje ir vieną valandą laikomos 100 °C temperatūroje džiovinimo spintoje.

Plokštelės išimamos iš džiovinimo spintos ir laikomos eksikatoriuje su kalcio chloridu, kol jų prireikia. Tai apdorotos plokštelės turi būti panaudotos per dvi savaites.

2 pastaba. Kai alkoholių frakcijai atskirti naudojamos bazinės silikagelio plokštelės, nemuilinamas medžiagas nebūtina apdoroti Al_2O_3 , nes visi rūgštinės prigimties junginiai (riebiosios rūgštys ir kiti) sulaikomi pradžioje, taip gaudant alifatinių ir terpenų alkoholių juostas, kurios abi yra aiškiai atsiskyrusios nuo sterolių juostas.

- 5.2.2. Į ryškinimo indą maždaug įpilama 1 cm storio sluoksniu benzeno ir acetono mišinio, kurio tūrių santykis 95:5. Vietoj šio mišinio gali būti naudojamas heksano ir dietileterio mišinys, kurio tūrių santykis 65:35. Indas uždaromas ir paliekamas ne mažiau kaip pusvalandžiui pusiausvyrai tarp garų ir skysčio nusistovėti. Ryškinimo trukmei sumažinti maždaug trečdaliu ir vienodesniam bei pastovesniam komponentų išplovimui gauti, į eliuentą galima įmerkti ant vidinių indo sienelių uždėtas filtro popieriaus juosteles.

3 pastaba. Pakartojamoms ryškinimo sąlygoms užtikrinti, ryškinimo tirpalas turi būti pakeičiamas kiekvienai analizei.

- 5.2.3. Ruošiamas maždaug 5 % nemuilinamos medžiagos (5.1.5) tirpalas chloroforme, 300 µl šio tirpalo 100 µl talpos mikrosvirkštu užlašinama vienodo ir kuo mažesnio storio juostele ant PSC plokštelės, maždaug per 2 cm nuo jos apačios. Vienoje linijoje su šiuo pradiniu tašku užlašinama 2–3 µl alifatinių alkoholių etalono tirpalo (4.11) jų juostai identifikuoti ryškinimą užbaigus.

- 5.2.4. Plokštelė dedama į ryškinimo indą, apie kurį pasakyta 5.2.2 punkte. Palaikoma 15–20 °C temperatūra. Indas iš karto uždaromas, bandinys paliekamas išplauti, kol tirpiklio frontas atsiduria 1 cm atstumu nuo plokštelės viršaus. Plokštelė išimama iš ryškinimo indo, tirpiklis išgarinamas karšto oro srovėje arba plokštelė trumpam paliekama traukos spintoje.

- 5.2.5. Plokštelė, žiūrint į ją ultravioletinėje šviesoje, plonai ir vienodai apipurškiama 2',7'-dichlorofloresceino tirpalu. Identifikuota pagal alifatinius alkoholius alifatinių alkoholių juosta, kartu su iš karto virš jos esančia triterpeninių alkoholių juosta, pažymimos.

4 pastaba. Reikalavimas sujungti alifatinių ir terpeninių alkoholių juostas kartu susijęs su galima kai kurių alifatinių alkoholių migracija į triterpeninių alkoholių juostą.

- 5.2.6. Į pažymėtą plotą patekęs silikagelis nugrandomas metaline mentele. Nuimta medžiaga susmulkinama ir supilama į stiklinį filtrą (3.7). Įpilama 10 ml karšto chloroformo, mišinys kruopščiai sumaišomas metaline mentele ir vakuumu filtruojamas į prie filtro prijungtą kolbą (3.8).

Likutis ant filtro plaunamas 3 kartus 10 ml dietileterio, filtruojant į tą pačią prie filtro prijungtą kolbą. Filtras garinamas maždaug iki 4–5 ml tūrio, likęs tirpalas supilamas į 10 ml talpos mėgintuvėlį (3.9), kuris prieš tai pasveriamas. Mėgintuvėlio turinys džiovinamas nestipriai kaitinant nedideliame azoto srovėje. Likutis iš naujo tirpinamas keliuose acetono lašuose, vėl sausinamas, paskui mėgintuvėlis su likučiu 10 minučių dedamas į 105 °C temperatūros džiovinimo spintą, išėmus aušinamas eksikatoriuje ir pasveriamas.

Likutį mėgintuvėlyje sudaro alkoholių frakcija.

5.3. Trimetilsilileterių ruošimas

- 5.3.1. Vengiant drėgmės patekimo (6 pastaba), sililinio reagentas, kurį sudaro piridino, heksametildisilazano ir trimetilchlorsilano mišinys, kurio tūrių santykis 9:3:1 (5 pastaba), įpilamas į mėgintuvėlį su alkoholių frakcija, vienam alkoholių miligramui imant 50 µl mišinio.

5 pastaba. Galima pirkti paruoštų naudoti tirpalų; sililinio reagentai, pvz., N, O-bi(trimetilsilil)trifluoroacetamido + 1 % trimetilchlorsilano mišinys, maišomas su tuo pačiu sauso piridino tūriu.

- 5.3.2. Mėgintuvėlis užkemšamas ir atsargiai kratomas neapverčiant, kol alkoholiai soliubilizuojasi. Po to jis 15 minučių paliekamas stovėti kambario temperatūroje, paskui jo turinys kelias minutes centrifuguojamas; skaidrus tirpalas paruoštas dujų chromatografinėi analizei.
- 6 pastaba. Nedidelė opalescencija yra įprastas reiškinys ir nesukelia trukdymų. Baltų dribsnių susidarymas ir rožinė spalva yra drėgmės patekimo arba reagento gedimo požymiai. Šiuo atveju analizė pakartojama.
- 5.4. Dujų chromatografinė analizė
- 5.4.1. Paruošiamieji darbai ir kapiliarinės kolonėlės kondicionavimas
- 5.4.1.1. Kapiliarinė kolonėlė prijungiama prie dujų chromatografo, kolonėlės įėjimą sujungiant per garintuvą su bandinio dozatoriumi, išėjimą – su detektoriumi.
- Atliekamas bendras dujų chromatografavimo įrenginio patikrinimas (dujinių fittingų sandarumas, detektoriaus, dozatoriaus įtaiso ir savirašio veikimas, t. t.).
- 5.4.1.2. Pirmą kartą naudojamos kapiliarinės kolonėlės turi būti kondicionuojamos. Per kolonėlę paleidžiama nestipri dujų nešiklio srovė, chromatografas įjungiamas ir atliekamas laipsniškas kaitinimas, kol temperatūra nepakyla bent 20 °C aukščiau nei naudojama darbe (žr. 7 pastabą). Šioje temperatūroje laikoma ne mažiau kaip dvi valandas, vėliau nustatomos įrenginio darbo sąlygos (reguliuojamas dujų srautas, uždegama garintuvo-dozatoriaus liepsna, prijungiamas elektroninis savirašis, nustatoma kapiliarinės kolonėlės krosnies, detektoriaus ir inžektoriaus temperatūra ir t. t.) ir signalo jautrumas, kuris būtų bent du kartus didesnis, nei analizei atlikti numatytas aukščiausias signalo lygis. Pagrindo linija turi būti brėžiama tiesiai, be bet kokio pobūdžio smailių ir dreifo požymių.
- Neigiamas tiesinis dreifas yra kolonėlės sujungimų nesandarumo požymis, tuo tarpu teigiamas dreifas rodo nepakankamą kolonėlės kondicionavimą.
- 7 pastaba. Kondicionavimo temperatūra visuomet turi būti bent 20 °C mažesnė, nei didžiausia naudojamai stacionariai fazei nustatyta temperatūra.
- 5.4.2. Darbo sąlygų parinkimas.
- 5.4.2.1. Paprastai darbo sąlygos yra tokios:
- kolonėlės temperatūra: aštuonioms minutėms pradinė izoterma nustatoma 180 °C, paskui programuotas kėlimas 5 °C/minutę greičiu iki 260 °C ir toliau 15 minučių pastovi 260 °C temperatūra,
 - garintuvo temperatūra: 280 °C,
 - detektoriaus temperatūra: 290 °C,
 - dujų nešiklio linijinis greitis: helio 20–35 cm/s, vandenilio 30–50 cm/s,
 - padalinimo santykis nuo 1:50 iki 1:100,
 - prietaiso jautrumas: 4–16 kartų didesnis nei minimalus silpninimas,
 - užrašymo jautrumas: 1–2 mV per visą skalę,
 - popieriaus slinkimo greitis: 30–60 cm/val,
 - įpurkštos medžiagos kiekis: 0,5–1 µl TMSE (trimetilsilileterio) tirpalo.
- Nurodytos sąlygos gali būti keičiamos pagal kolonėlės ir dujų chromatografo savybes, kad būtų gautos chromatogramos, atitinkančios tokias sąlygas:
- alkoholio C₂₆ sulaikymo trukmė 18 ± 5 minutės,
 - alkoholio C₂₂ smailės aukštis, analizuojant alyvuogių aliejų, sudaro 80 ± 20 % visos skalės aukščio, analizuojant augalinį aliejų – 40 ± 20 % visos skalės aukščio.
- 5.4.2.2. Ankščiau minėti reikalavimai tikrinami pakartotinai įpurškiant etaloninį alkoholių TMSE mišinį ir darbo sąlygos koreguojamos geriausiems rezultatams gauti.
- 5.4.2.3. Smailių integravimo parametrai nustatomi taip, kad būtų gautas teisingas smailių plotų įvertinimas.
- 5.4.3. Analizė
- 5.4.3.1. 10 µl talpos mikrošvirkštu įsiurbiamas 1 µl heksano, paskui 0,5 µl oro ir 0,5–1 µl bandinio tirpalo; mikrošvirkšto plunžeris adatai ištuštinti pakeliamas aukštyn.
- Adata įkišama per įpurškimo įtaiso membraną ir po vienos dviejų sekundžių tirpalas greitai išsvirkščiamas, po penkių sekundžių adata lėtai ištraukiama.
- 5.4.3.2. Užrašymas atliekamas, kol bus visiškai išplauti esančių alkoholių TMSE. Pagrindo linija turi visuomet atitikti 5.4.1.2 punkto reikalavimus.
- 5.4.4. Smailių identifikavimas
- Atskirų smailių identifikavimas atliekamas pagal sulaikymo trukmes ir lyginant su etaloniniu TMSE mišiniu, analizuojamu tomis pačiomis sąlygomis.
- Pirmo spaudimo aliejaus alkoholių frakcijos chromatograma parodyta 1 brėžinyje.
- 5.4.5. Kiekybinis vertinimas
- 5.4.5.1. 1- eikozanolio ir C₂₂–C₂₈ alifatinių alkoholių smailių plotai apskaičiuojami integruojant elektroniniu būdu.

5.4.5.2. Kiekvieno alkoholio kiekis, skaičiuojant miligramais į 100 g riebalinės medžiagos, nustatomas pagal formulę:

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

kurioje:

A_x = x alkoholio smailės plotas, kvadratiniais milimetrais;

A_s = 1-eikozanolio smailės plotas, kvadratiniais milimetrais;

m_s = 1-eikozanolio masė, miligramais;

m = nustatymui išsiurbto bandinio masė, gramais.

6. REZULTATŲ PATEIKIMAS

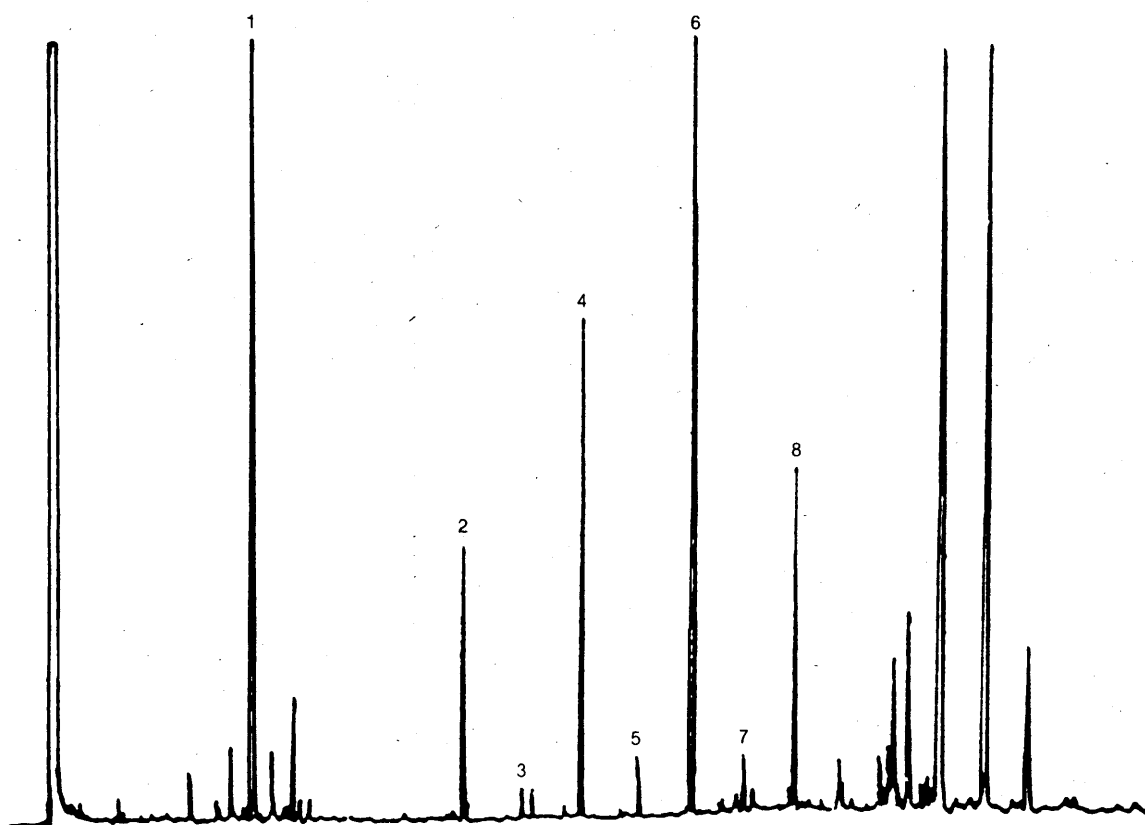
Pateikiamas atskirų alifatinių alkoholių kiekis miligramais 100 g riebalinės medžiagos ir bendras „visų alifatinių alkoholių“ kiekis.

PRIEDĖLIS

Dujų linijinio greičio nustatymas

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

Linijinis greitis, cm/s, gaunamas pagal formulę L/t_M , kurioje L yra kolonėlės ilgis centimetrais, t_M yra laikas sekundėmis, kurį rodo chronometras.



1 brėžinys. Pirmo spaudimo alyvuogių aliejaus alkoholių frakcijos chromatograma

- | | |
|-------------------------------------|---------------------|
| 1 = eikozanolis (vidinis etalonas), | 5 = pentakozanolis, |
| 2 = dekozanolis, | 6 = heksakozanolis, |
| 3 = trikozanolis, | 7 = heptakozanolis, |
| 4 = tetrakozanolis, | 8 = oktakozanolis. |

V PRIEDAS

STEROLIŲ SUDĖTIES IR KIEKIO NUSTATYMAS KAPILIARINĖS DUJŲ CHROMATOGRAFIJOS METODU

1. TIKSLAS

Šiame metode aprašytas atskirų sterolių ir jų bendro kiekio nustatymo riebalinėse medžiagose būdas.

2. METODO ESMĖ

Riebalinė medžiaga, įdėjus β -cholestanolio kaip vidinio etalono, muilinama kalio hidroksido tirpalu etanolyje ir nemuilinama dalis ekstrahuojama dietileteriu.

Sterolių frakcija iš nemuilinamų medžiagų ekstrakto išskiriama chromatografiškai ant šarmu impregnuotų silikagelio plokštelių. Iš silikagelio regeneruoti steroliai paverčiami trimetilsilileteriais ir analizuojami kapiliarinės dujų chromatografijos metodu.

3. APARATŪRA

3.1. 250 ml tūrio kolba ir grįžtamasis kondensatorius, turintys šlifo sujungimus.

3.2. 500 ml talpos dalijamieji piltuvai.

3.3. 250 ml talpos kolbos.

3.4. Visa įranga plonasluoksnei chromatografiniai (PSC) analizei atlikti, pritaikyta stiklinėms plokštelėms, kurių matmenys 20 x 20 cm.

3.5. UV 366 arba 254 nm ilgio šviesos bangų lempa.

3.6. Mikrošvirkštai 100 ir 500 μ l tūriams imti.

3.7. G3 akytumo stiklinis filtras (15–40 μ m akytumas) maždaug 2 cm skersmens ir 5 cm aukščio, tinkamas vakuuminiam filtravimui, su 12/21 šlifo mova.

3.8. 50 ml talpos vakuuminė kolba su 12/21 šlifo įmova filtrui (3.7) prijungti.

3.9. 10 ml talpos mėgintuvėlis su kūginiu dugnu ir kamščiu.

3.10. Darbui su kapiliarine kolonėle naudojamas ir bandinio dozatorių turintis dujų chromatografas, kurį sudaro:

3.10.1 termostatuojama kamera norimai temperatūrai kolonėlėje palaikyti ± 1 °C tikslumu;

3.10.2 reguliuojamos temperatūros garinimo įrenginys su polisiloksanu dengtu garinimo elementu;

3.10.3 liepsnos jonizacinis detektorius ir konverteris stiprintuvais;

3.10.4 darbui kartu su konverteriu-stiprintuvu (3.10.3) pritaikytas kintamo popieriaus tiekimo greičio savirašis-integratorius, kurio inertiškumas ne didesnis kaip viena sekundė.

3.11. Stiklinė arba lydyto kvarco 20–30 m ilgio kapiliarinė kolonėlė, kurios vidinis skersmuo 0,25–0,32 mm, padengta 0,10–0,30 μ m storio skystos fazės SE-52 arba SE-54 plėvele arba ją atitinkancia plėvele.

3.12. 10 μ l talpos mikrošvirkštas dujų chromatografijai su kietinta adata.

4. REAGENTAI

4.1. Kalio hidroksido maždaug 2 mol/l tirpalas etanolyje: 130 g kalio hidroksido (mažiausia koncentracija 85 %) ištirpinama šaldant 200 ml distiliuoto vandens ir praskiedžiama etanolio iki 1 litro. Tirpalas turi būti laikomas gerai užkimštame tamsaus stiklo butelyje.

- 4.2. Dietileteris, analiziškai grynas.
- 4.3. Bevandenis natrio sulfatas, analiziškai grynas.
- 4.4. Fluorescencijos indikatoriumi neužteršto silikagelio 0,25 mm sluoksniu dengtos stiklinės PSC plokštelės (gali būti naudojamos gatavos pramonės gaminamos plokštelės).
- 4.5. Kalio hidroksido 0,2 mol/l tirpalas etanolyje: 13 g kalio hidroksido ištirpinama 20 ml distiliuoto vandens ir praskiedžiama etanolu iki 1 litro.
- 4.6. Benzenas, tinkamas chromatografijai (žr. 5.2.2).
- 4.7. Acetonas, tinkamas chromatografijai (žr. 5.2.2).
- 4.8. Heksanas, tinkamas chromatografijai (žr. 5.2.2).
- 4.9. Dietileteris, tinkamas chromatografijai (žr. 5.2.2).
- 4.10. Chloroformas, tinkamas chromatografijai (žr. 5.2.2).
- 4.11. Etaloninis tirpalas plonasluoksnei chromatografijai: cholesterolis arba fitosteroliai, 5 % tirpalas chloroforme.
- 4.12. 0,2 % 2',7'-dichlorfluoresceino tirpalas etanolyje. Jis truputį pašarminamas, įlašinant kelis lašus 2 mol/l kalio hidroksido tirpalo.
- 4.13. Bevandenis piridinas, tinkamas chromatografijai.
- 4.14. Heksametildisilazanas.
- 4.15. Trimetilchlorsilanas.
- 4.16. Etaloniniai sterolių trimetilsilileterių tirpalai. Ruošiami prieš pat juos naudojant iš grynų sterolių arba jų mišinių, gautų iš juos turinčių aliejų.
- 4.17. 0,2 % (m/v) β -cholestanolio tirpalas chloroforme (vidinis etalonas).
- 4.18. Dujos nešikliai: vandenilis arba helis, grynumas atitinka dujų chromatografijos reikalavimus.
- 4.19. Pagalbinės dujos:
 - vandenilis, kurio grynumas atitinka dujų chromatografijos reikalavimus,
 - oras, kurio grynumas atitinka dujų chromatografijos reikalavimus.

5. DARBO EIGA

5.1. Nemuilnamų medžiagų gavimas

- 5.1.1. Į 250 ml talpos kolbą 500 μ l mikrošvirkštu įšvirkščiamas toks 0,2 % β -cholestanolio tirpalo tūris, kuriame cholestanolio kiekis būtų lygus maždaug 10 % sterolių kiekio analizei paimto bandinio alikvotinėje dalyje. Pavyzdžiui, į 5 g alyvuogių aliejaus bandinį įpilama 500 μ l 0,2 % β -cholestanolio tirpalo, 1 500 μ l – į augalinio aliejaus arba aliejaus iš alyvuogių išspaudų bandinį.

Vidinio etalono tirpalas N_2 srovėje išgarinamas iki sauso likučio, paskui į tą pačią kolbą tiksliai pasveriamas 5 g sauso, filtruoto bandinio.

Gyvuliniai arba augaliniai aliejai ir riebalai, kuriuose yra nemaži kiekiai cholesterolio, chromatogramoje gali turėti smailę, kurios sulaikymo trukmė tokia pati kaip ir 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 mol/l kalio hidroksido tirpalo alkoholyje, prijungiamas grįžtamasis kondensatorius ir kolba ant vandens vonios šildoma iki nestipraus virimo, nuolat stipriai maišant, kol įvyksta muilinimas (tirpalas pasidaro skaidrus). Šildymas tęsiamas dar 20 minučių, paskui per kondensatoriaus viršų įpilama 50 ml distiliuoto vandens, kondensatorius atjungiamas ir kolba ataušinama maždaug iki 30 °C.
- 5.1.3. Kolbos turinys kiekybiškai supilamas į 500 ml talpos dalijamąjį piltuvą, nuplovimui per kelis kartus sunaudojant maždaug 50 ml distiliuoto vandens. Įpilama maždaug 80 ml dietileterio, turinys stipriai plakamas 30 sekundžių, paskui leidžiama išsisluoksniuoti (1 pastaba).

Apatinis vandeninis sluoksnis išleidžiamas į antrąjį dalijamąjį piltuvą. Vandeninis sluoksnis ekstrahuojamas tuo pačiu būdu dar du kartus, kiekvieną kartą sunaudojant 60–70 ml dietileterio.

1 pastaba. Bet kokia susidariusi emulsija gali būti panaikinta, įpurškiant nedidelį kiekį etanolio arba metanolio.

- 5.1.4. Eteriniai ekstraktai supilami į vieną dalijamąjį piltuvą ir plaunami distiliuotu vandeniu (50 ml vienu kartu), kol plovimo vanduo rodo neutralią reakciją.

Atskyrus plovimo vandenį, eterinis ekstraktas džiovinamas virš bevandenio natrio sulfato ir filtruojamas per bevandenį natrio sulfatą į 250 ml talpos kolbą, kuri buvo prieš tai pasverta, dalijamąjį piltuvą ir filtrą nuplaunant nedideliu kiekiu dietileterio.

- 5.1.5. Eteris garinamas, kol tūris sumažėja iki kelių mililitrų, paskui likutis džiovinamas nedideliame vakuume arba azoto srovėje. Džiovinimas užbaigiamas, laikant maždaug ketvirtį valandos džiovinimo spintoje 100 °C temperatūroje, paskui ataušintas eksikatoriuje likutis pasveriamas.

- 5.2. Sterolių frakcijos atskyrimas

- 5.2.1. Ruošiamos bazinės PSC plokštelės. Silikageliu dengtos plokštelės (4.4) 10 sekundžių visiškai įmerkiamos į 0,2 mol/l kalio hidroksido tirpalą (4.5), pakui paliekamos dvi valandas džioti traukos spintoje ir vėliau vieną valandą laikomos 100 °C temperatūroje džiovinimo spintoje.

Plokštelės išimamos iš džiovinimo spintos ir laikomos eksikatoriuje su kalcio chloridu, kol jų prireikia. (Taip apdorotos plokštelės turi būti panaudotos per 15 dienų.)

2 pastaba. Kai sterolių frakcijai atskirti naudojamos bazinės silikagelio plokštelės, nemuolinamų medžiagų nebūtina apdoroti Al_2O_3 , nes visi rūgštinės prigimties junginiai (riebiosios rūgštys ir kiti) sulaikomi užlašinimo linijoje, ir sterolių juosta aiškiai atsiskiria nuo alifatinių ir terpenų alkoholių juostos.

- 5.2.2. Į ryškinimo indą maždaug 1 cm storio sluoksniu įpilama benzeno ir acetono mišinio, kurio tūrių santykis 95:5. Vietoj šio mišinio gali būti naudojamas heksano ir dietileterio mišinys, kurio tūrių santykis 65:35. Indas uždaromas ir paliekamas ne mažiau kaip pusė valandos pusiausvyrai tarp garų ir skysčio nusistovėti. Ant vidinių indo sienelių gali būti uždedamos filtro popieriaus juostelės. Tai maždaug trečdaliu sutrumpina ryškinimo trukmę ir komponentų išplovimas būna vienodesnis bei pastovesnis.

3 pastaba. Visiškai pakartojamoms ryškinimo sąlygoms užtikrinti, ryškinimo tirpalas turi būti pakeičiamas kiekvienai analizei.

- 5.2.3. Ruošiamas maždaug 5 % nemuolinamų medžiagų (5.1.5) tirpalas chloroforme, 300 µl šio tirpalo 100 µl talpos mikrošvirkštu užlašinama vienodo ir kuo mažesnio storio juostele ant PSC plokštelės (5.2.1), maždaug per 2 cm nuo jos apačios. Vienoje linijoje su šia juostele užlašinama 2–3 µl sterolių etaloninio tirpalo (4.11) jų juostai identifikuoti ryškinimą užbaigus.

- 5.2.4. Plokštelė dedama į ryškinimo indą, paruoštą kaip nurodyta 5.2.2 punkte. Palaikoma 15–20 °C aplinkos temperatūra. Indas iš karto uždengiamas ir plaunama, kol tirpiklio frontas atsидuria 1 cm atstumu nuo plokštelės viršaus. Plokštelė išimama iš ryškinimo indo, tirpiklis išgarinamas karšto oro srovėje arba plokštelė trumpam paliekama traukos spintoje.

- 5.2.5. Plokštelė plonai ir vienodai apipurškiama 2',7'-dichlorfloresceino tirpalu. Žiūrint ultravioletinėje šviesoje, sterolių juosta gali būti atpažinta pagal buvimą viename lygyje su etaloninio tirpalo dėme. Juostos ribos pagal fluorescuojančius kraštus pažymimos juodu pieštuku.

- 5.2.6. Silikagelis pažymėtame plote nugrandomas metaline mentele. Gera susmulkinta medžiaga supilama į stiklinį filtrą (3.7). Įpilama 10 ml karšto chloroformo, mišinys kruopščiai sumaišomas metaline mentele ir vakuumu filtruojamas į prie filtro prijungtą kūginę kolbą (3.8).

Likutis ant filtro tris kartus plaunamas dietileteriu (maždaug po 10 ml kiekvieną kartą), filtruojant į tą pačią prie filtro prijungtą kolbą. Filtratas nugarinamas maždaug iki 4–5 ml tūrio, likęs tirpalas supilamas į 10 ml talpos mėgintuvėlį (3.9), kuris prieš tai pasveriamas. Mėgintuvėlio turinys džiovinamas nestipriai kaitinant nedideliame azoto srovėje, iš naujo tirpinamas keliuose acetono lašuose, vėl sausinamas, paskui mėgintuvėlis su likučiu maždaug 10 minučių dedamas į 105 °C temperatūros džiovinimo spintą, išimtas aušinamas eksikatoriuje ir pasveriamas.

Likutį mėgintuvėlyje sudaro sterolių frakcija.

- 5.3. Trimetilsilileterių ruošimas

- 5.3.1. Į mėgintuvėlį su sterolių frakcija, vengiant bet kokio drėgmės patekimo (5 pastaba), įpilama sililinio reagento, kurį sudaro piridino, heksametildisilazano ir trimetilchlorsilano mišinys tūrių santykiu 9:3:1 (4 pastaba), vienam sterolių miligramui imant 50 µl mišinio.

4 pastaba. Galima pirkti paruoštą naudoti tirpalą. Yra pirkti kitų sililinio reagentų, pvz., N,O-bis(trimetilsilil)trifluoracetamido + 1 % trimetilchlorsilano mišinys, kuris turi būti praskiestas tuo pačiu sauso piridino tūriu.

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

5 pastaba. Nedidelė opalescencija yra įprastas reiškinys ir nesukelia trukdymų. Baltų dribsnių susidarymas ir rožinė spalva yra drėgmės patekimo arba reagento sugedimo požymiai. Šiuo atveju bandymas pakartojamas.

- 5.4. Dujų chromatografinė analizė

- 5.4.1. Paruošiamieji darbai, kolonėlės užpildymas.

- 5.4.1.1. Kapiliarinė kolonėlė prijungiama prie dujų chromatografo, kolonėlės įėjimą sujungiant per garintuvą su bandinio dozatoriumi, išėjimą – su detektoriumi.

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

- 5.4.1.2. Pirmą kartą naudojamą kapiliarinę kolonėlę rekomenduojama kondicionuoti. Per kolonėlę paleidžiama nestipri dujų nešiklio srovė, paskui įjungiamas chromatografas ir atliekamas laipsniškas kaitinimas, kol temperatūra nepakyla bent 20 °C aukščiau nei naudojama darbe (6 pastabą). Šioje temperatūroje kolonėlė laikoma ne mažiau kaip dvi valandas, vėliau įrenginys nustatomas darbo režimu (reguliuojamas dujų srautas, uždegama ugnis, prijungiamas elektroninis savirašis, nustatoma kapiliarinės kolonėlės krosnies, detektoriaus ir inžektoriaus temperatūra ir t. t.) ir užrašomas signalas bent du kartus didesniu jautrumu, nei bus naudojamas analizei atlikti. Pagrindo linija turi būti brėžiama tiesi, be bet kokio pobūdžio smailių ir dreifo požymių.

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

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

- 5.4.2. Darbo sąlygų parinkimas

- 5.4.2.1. Orientacinės darbo sąlygos yra tokios:

- kolonėlės temperatūra: 260 °C ± 5 °C,
- garintuvo temperatūra: 280 °C,
- detektoriaus temperatūra: 290 °C,
- dujų nešiklio linijinis greitis: helio 20–35 cm/s, vandenilio 30–50 cm/s,
- padalinimo santykis nuo 1:50 iki 1:100,
- prietaiso jautrumas: 4–16 kartų didesnis nei minimalus silpninimas,
- užrašymo jautrumas: 1–2 mV per visą skalę,
- popieriaus slinkimo greitis: 30–60 cm/val,
- įpurškto medžiagos kiekis: 0,5–1 µl TMSE tirpalo.

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

- β-sitosterolio sulaikymo trukmė turi būti 20 ± 5 minutės,
- kampesterolio smailės aukštis turi būti: alyvuogių aliejui (vidutinis kiekis 3 %) 15 ± 5 % visos skalės aukščio; sojos aliejui (vidutinis kiekis 20 %) 80 ± 10 % visos skalės aukščio,
- visi esantys steroliai turi būti atskirti. Be to, jų smailės turi būti visiškai atsiskyrusios, t. y. smailės trajektorija turi sugrįžti iki pagrindo linijos, kol prasideda kilimas atsiradus naujai smalei. Tačiau nevysiskas atsiskyrimas leidžiamas, jei smailės su santykinė sulaikymo trukme 1,02 plotas gali būti apskaičiuotas naudojant statmenį.

- 5.4.3. Analizė

- 5.4.3.1. 10 µl talpos mikrošvirkštu įsiurbiamas 1 µl heksano, paskui 0,5 µl oro ir 0,5–1 µl bandinio tirpalo. Mikrošvirkšto plunžeris pakeliamas aukšty, kad adata ištuštėtų. Adata įkišama per įpurškimo įtaiso membraną ir po vienos dviejų sekundžių tirpalas greitai išsvirkščiamas, paskui po kokių penkių sekundžių adata lėtai ištraukiama.

- 5.4.3.2. Užrašymas atliekamas, kol bus visiškai išplauti esančių sterolių TMSE.

Pagrindo linija turi visą laiką atitikti reikalavimus (5.4.1.2).

- 5.4.4. Smailių identifikavimas

Atskirų smailių identifikavimas atliekamas pagal sulaikymo trukmes ir lyginant su etaloniniu TMSE mišiniu, analizuojamu tomis pačiomis sąlygomis.

Steroliai išplaunami tokia eilės tvarka: cholesterolis, brasikasterolis, 24-metilencholesterolis, kampesterolis, kampestanolis, stigmasterolis, Δ-7-kampesterolis, Δ-5,23-stigmastadienolis, klerosterolis, β-sitosterolis, sitostanolis, Δ-5-avenasterolis, Δ-5,24-stigmastadienolis, Δ-7-stigmastanolis, Δ-7-avenasterolis.

Sitosterolio sulaikymo trukmės kolonėlėje su SE-52 ir SE-54 yra parodytos I lentelėje.

1 ir 2 brėžiniuose vaizduojamos tipiškos kai kurių aliejų chromatogramos.

5.4.5. Kiekybinis vertinimas

5.4.5.1. Naudojant integratorių, apskaičiuojamas β -cholestanolio ir sterolių smailių plotas. Neatsižvelgiama į I lentelėje nenurodytų junginių smailes. β -cholestanolio kalibravimo koeficientas turi būti lygus 1.

5.4.5.2. Kiekvieno sterolio kiekis, skaičiuojant miligramais 100 g riebalinės medžiagos, nustatomas pagal formulę:

$$\text{sterolioxkiekis} = \frac{A_x \cdot m_s \cdot 100}{A_s \cdot m},$$

kurioje:

A_x = x sterolio smailės plotas, kvadratiniais milimetrais;

A_s = β -cholestanolio smailės plotas, kvadratiniais milimetrais;

m_s = įdėto β -cholestanolio masė, miligramais;

m = nustatymui paimto bandinio masė, gramais.

6. REZULTATŲ PATEIKIMAS

6.1. Užrašomos atskirų sterolių koncentracijos, miligramais 100 g riebalinės medžiagos, ir jų „bendro kiekio“ vertė.

6.2. Pagal atskiro sterolio smailės ploto santykį su visų sterolių smailių plotu apskaičiuojamas procentinis kiekvieno sterolio kiekis.

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

kurioje:

A_x = x sterolio smailės plotas;

$\sum A$ = visų sterolių smailių plotas.

PRIEDĖLIS

Dujų linijinio greičio nustatymas

Į normalioms darbo sąlygoms sureguliuotą dujų chromatografą įpurškiama 1–3 μ l metano (arba propano) ir matuojamas laikas, kurį dujos užtruks tekėdamos per kolonėlę nuo įpurškimo momento iki smailės išplovimo momento (t_M).

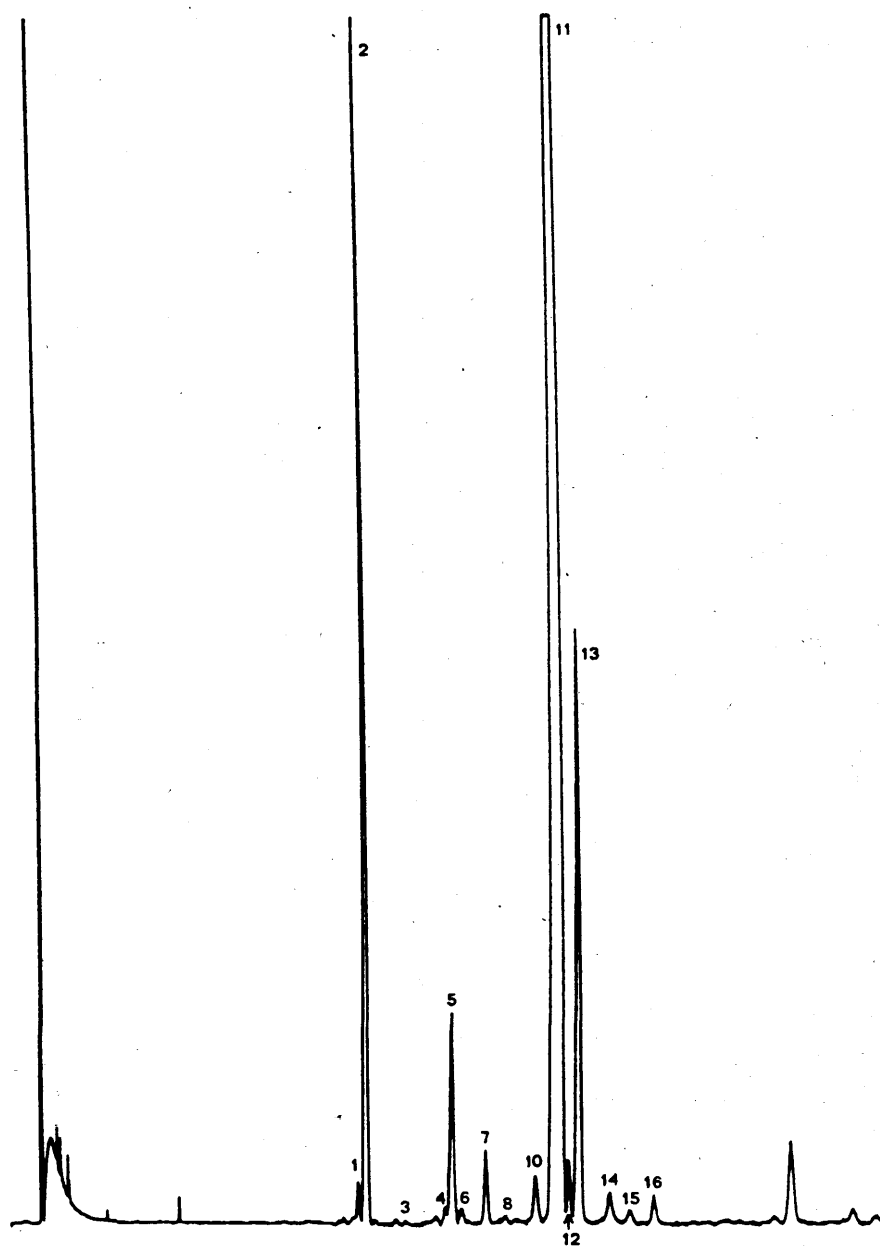
Linijinis greitis, cm/s, gaunamas pagal formulę L/t_M , kurioje L yra kolonėlės ilgis centimetrais, t_M yra sekundėmis išmatuotas laikas.

I lentelė

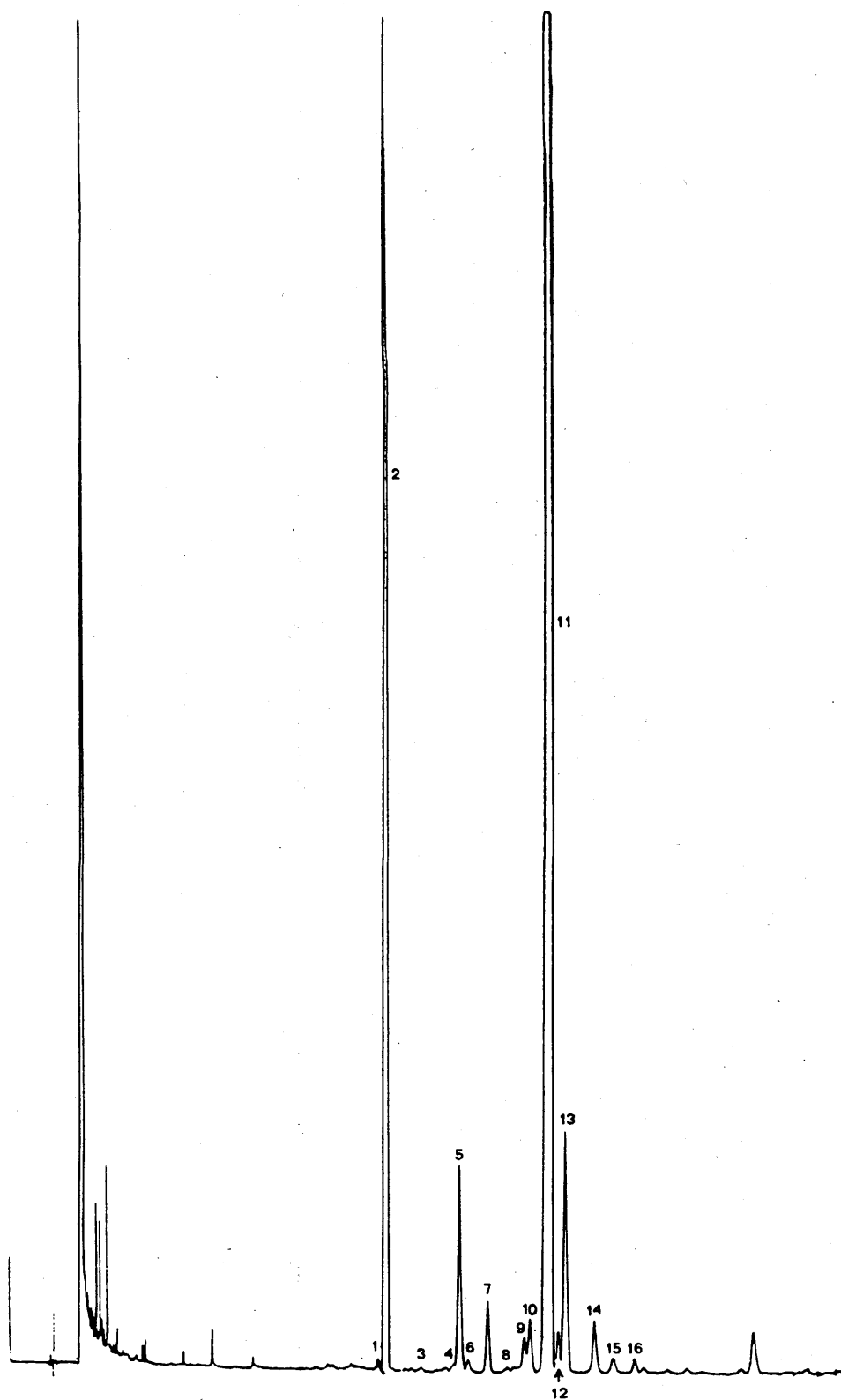
Santykinė sterolių sulaikymo trukmė

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
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	[24R]-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-5-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-stigmastenolis	[24R,S]-24-etil- Δ -7,24-cholestadien-3 β -olis	1,12	1,12
16	Δ -7-avenasterolis	[24Z]-24-etiliden- Δ -7-cholesten-3 β -olis	1,16	1,16

1 brėžinys

Negryninto alyvuogių aliejaus sterolių frakcijos chromatograma

2 brėžinys

Gryninto alyvuogių aliejaus sterolių frakcijos chromatograma

VI PRIEDAS

ERITRODIOLIO IR UVAOLIO NUSTATYMAS

ĮVADAS

Eritrodiolis (paprastai suprantamas kaip du glikoliai, eritrodiolis ir uvaolis, kartu) yra kai kurių rūšių riebalinėms medžiagoms būdingos nemuilingos frakcijos sudedamoji dalis. Jo ženkliai didesnių koncentracijų randama tirpikliais ekstrahuojamose aliejuose, nei kituose aliejuose, pvz., spaudimo būdu gautame alyvuogių aliejuje ir vynuogių kauliukų aliejuje, kuriuose jo taip pat yra. Taigi eritrodiolio buvimas gali rodyti, kad yra tirpikliais ekstrahuoto aliejaus.

1. TIKSLAS

Šiame metode aprašytas eritrodiolio nustatymo riebalinėse medžiagose būdas.

2. METODO ESMĖ

Riebalinė medžiaga muilinama kalio hidroksido tirpalu etanolyje. Nemuilinga dalis ekstrahuojama dietileteriu ir gryninama leidžiant per kolonėlę su aliuminio oksidu.

Nemuilingos medžiagos chromatografuojamos plonasluoksnės chromatografijos metodu ant silikagelio plokštelių, kol atskiriamos sterolių ir eritrodiolio frakcijos atitinkančios juostos. Nuo plokštelės regeneruoti steroliai ir eritrodiolis paverčiami trimetilsilileteriais ir mišinys analizuojamas dujų chromatografijos metodu.

Rezultatas apskaičiuojamas eritrodiolio procentiniu kiekiu eritrodiolio ir sterolių mišinyje.

3. APARATŪRA

- 3.1. V priede aprašyta aparatūra (sterolių kiekio nustatymas).

4. REAGENTAI

- 4.1. V priede aprašyti reagentai (sterolių kiekio nustatymas).
4.2. Etaloninis 0,5 % eritrodiolio tirpalas chloroforme.

5. DARBO EIGA

5.1. Nemuilnamų medžiagų paruošimas

Kaip aprašyta V priedo 5.1.2 skirsnyje.

5.2. Eritrodiolio ir sterolių frakcijos atskyrimas

- 5.2.1. Žr. V priedo 5.2.1 skirsnį.

- 5.2.2. Žr. V priedo 5.2.2 skirsnį.

- 5.2.3. Ruošiamas maždaug 5 % nemuilnamų medžiagų tirpalas chloroforme.

0,1 ml talpos mikrošvirkštu 0,3 ml šio tirpalo vienodo ir kuo mažesnio storio juostele užlašinama ant chromatografinės plokštelės, maždaug per 1,5 cm nuo jos apačios.

Viename plokštelės gale užlašinama keli mikrolitrai etaloninių cholesterolio ir eritrodiolio tirpalų.

- 5.2.4. Plokštelė dedama į ryškinimo indą, paruoštą kaip nurodyta 5.2.1 punkte. Palaikoma maždaug 20 °C aplinkos temperatūra. Indas iš karto uždengiamas ir plaunama, kol tirpiklio frontas atsидuria 1 cm atstumu nuo plokštelės viršaus. Plokštelė išimama iš ryškinimo indo, tirpiklis išgarinamas karšto oro srovėje.
- 5.2.5. Plokštelė plonai ir vienodai apipurškiama 2',7'-dichlorfloresceino tirpalu alkoholyje. Žiūrint ultravioletinėje šviesoje, sterolių ir eritrodiolio juostos gali būti atpažintos pagal buvimą viename lygyje su etaloninių tirpalų dėmėmis. Fluorescuojančios vietos pažymimos išilgai kraštų.

- 5.2.6. Silikagelis pažymėtame plote nugrandomas metaline mentele. Medžiaga nuo plokštelės supilama į 50 ml kolbą. Įpilama 15 ml karšto chloroformo, gerai sumaišoma ir filtruojama per stiklinį filtrą, silikagelį supilant ant filtro. Filtras tris kartus plaunamas chloroformu (maždaug po 10 ml kiekvieną kartą), filtratas kaupiamas 100 ml kolboje. Filtratas nugarinamas iki 4–5 ml tūrio, tirpalas supilamas į 10 ml talpos graduotą centrifugavimo mėgintuvėlį su kūginės formos dugnu. Mėgintuvėlio turinys džiovinamas nestipriai kaitinant azoto srovėje ir pasveriamas.

5.3. **Trimetilsilileterių ruošimas**

Kaip aprašyta V priedo 5.3 skirsnyje.

5.4. **Dujų chromatografinė analizė**

Kaip aprašyta anksčiau minėto metodo aprašymo 5.4 skirsnyje. Analizuojant chromatografo darbo sąlygos turi būti tokios, kad būtų galima atlikti sterolių analizę ir atskirti jų TMSE (trimetilsilileterius) nuo eritrodioolio ir uvaolio.

Išvirkštus bandinį, užrašymas tęsiamas, kol, išplovus sterolius, išplaunami eritrodioolis ir uvaolis. Tuomet identifikuojamos smailės (santykinės eritrodioolio ir uvaolio sulaikymo trukmės pagal β -sitosterolį yra atitinkamai apie 1,45 ir 1,55) ir nustatomas jų plotas, kaip tai daroma sterolių atveju.

6. **REZULTATŲ APSKAIČIAVIMAS**

$$\text{Eritrodioolio \%} = \frac{A_1 + A_2}{A_1 + A_2 + \sum A_{\text{sterolių}}} \times 100,$$

kurioje:

A_1 = eritrodioolio smailės plotas, kvadratiniais milimetrais;

A_2 = uvaolio smailės plotas, kvadratiniais milimetrais;

$\sum A_{\text{sterolių}}$ = visų sterolių smailių plotas, kvadratiniais milimetrais.

Rezultatas pateikiamas vieno ženklų po kablelio tikslumu.

VII PRIEDAS

ALIEJUS IR RIEBALUS SUDARANČIŲ TRIGLICERIDŲ 2-OJE PADĖTYJE ESANČIŲ RIEBIŲJŲ RŪGŠČIŲ NUSTATYMAS

1. TIKSLAS

Šiame standarte aprašytas nustatymo metodas tos dalies aliejuose ir riebaluose esančių riebiųjų rūgščių, kurios esterifikuotos 2-oje (arba vidinėje) glicerolio padėtyje.

2. TAIKYMO SRITIS

Šis standartas dėl kasos lipazės veikimo ypatumų taikytinas aliejams ir riebalams, kurie lydosi žemesnėje nei 45 °C temperatūroje.

Jis netaikomas be išlygų aliejams ir riebalams, kuriuose yra dideli kiekiai: riebiųjų rūgščių su 12 arba mažiau anglies atomų (kokoso ir palmių kauliukų branduolių aliejus, pieno riebalai), ypatingai nesočiųjų riebiųjų rūgščių (su daugiau kaip keturiomis dvigubomis jungtimis), turinčių daugiau kaip 20 anglies atomų (žuvų ir jūros gyvūnų aliejai) arba riebiųjų rūgščių, turinčių kitokių nei karboksilo deguoninių grupių.

3. METODO ESMĖ

Gal būt reikalingas aliejuose ir riebaluose esančių rūgščių neutralizavimas tirpiklyje. Gryninimas leidžiant per kolonėlę su aliuminio oksidu. Dalinė tam tikros trukmės hidrolizė kasos lipaze. Susidariusių monogliceridų atskyrimas taikant plonasluoksne chromatografiją ir jų metanolizė. Gautų metilesterių analizė dujų-skysčių chromatografijos metodu.

4. APARATŪRA

- 4.1. 100 ml talpos apvaliadugnė kolba.
- 4.2. 25 ml talpos apvaliadugnė kolba su šlifo sujungimu.
- 4.3. 1 m ilgio oro kondensatorius, pritaikytas 4.2 kolbai.
- 4.4. 250 ml talpos kūginė kolba.
- 4.5. 50 ml talpos cheminė stiklinė.
- 4.6. 500 ml talpos dalijamasis piltuvas.
- 4.7. Chromatografinė stiklinė kolonėlė, kurios vidinis skersmuo 13 mm, ilgis 400 mm, su sukepinto stiklo disku ir čiaupu.
- 4.8. 10 ml centrifugavimo mėgintuvėlis su šlifo kamščiu.
- 4.9. 5 ml talpos biuretė, sugraduota 0,05 ml padalomis.
- 4.10. 1 ml poodinis švirkštas su plona adata.
- 4.11. Mikrošvirkštas 3–4 μ l tūrio lašams dozuoti.
- 4.12. Įtaisas dengti plokštelę sorbentu plonasluoksnei chromatografijai.
- 4.13. Stiklinės plokštelės plonasluoksnei chromatografijai, 20 x 20 cm.
- 4.14. Stiklinis ryškavimo indas plonasluoksnei chromatografijai, su šlifo dangčiu, pritaikytas plokštelėms 20 x 20 cm.
- 4.15. Purkštuvas plonasluoksnei chromatografijai.
- 4.16. Džiovinimo spinta, nustatyta 103 ± 2 °C temperatūrai.
- 4.17. Termostatas, 0,5 °C tikslumu reguliuojamas 30–45 °C temperatūros intervale.
- 4.18. Sukamasis garintuvas.
- 4.19. Vibruojanti elektrinė purtyklė, kuria būtų galima stipriai kratyti centrifugavimo mėgintuvėlį.
- 4.20. Ultravioletinių spindulių lempa tirti plokštelėms plonasluoksne chromatografijoje.

Lipazės aktyvumui tikrinti:

- 4.21. pH-metras.
- 4.22. Spiralinis maišiklis.
- 4.23. 5 ml talpos biuretė.
- 4.24. Chronometras.

Jei reikia lipazę gaminti:

- 4.25. Laboratorinis maišytuvas, pritaikytas disperguoti ir maišyti nevienalytes medžiagas.
- 5. REAGENTAI
- 5.1. *n*-heksanas arba petroleteris (virimo temperatūra 30–50 °C), tinkamas chromatografijai.
- 5.2. 2-propanolis arba 95 % (v/v) etanolis, analiziškai grynas.
- 5.3. 2-propanolis arba etanolis 1/1 vandeninis tirpalas.
- 5.4. Dietileteris, be peroksidų.
- 5.5. Acetonas.
- 5.6. Skruzdžių rūgštis, ne mažiau kaip 98 % (m/m).
- 5.7. Ryškinimo tirpiklis: *n*-heksano (5.1), dietileterio (5.4) ir skruzdžių rūgšties (5.6) mišinys santykiu 70/30/1 (v/v/v).
- 5.8. Aktyvintas aliuminio oksidas chromatografijai, neutralus, *Brockmann* I rūšies.
- 5.9. Silikagelio milteliai su rišikliu, plonasluoksnei chromatografijai tinkamos kokybės.
- 5.10. Tinkamos kokybės kasos lipazė (1 ir 2 pastaba).
- 5.11. Natrio hidroksido 120 g/l vandeninis tirpalas.
- 5.12. Druskos rūgšties 6 mol/l vandeninis tirpalas.
- 5.13. Kalcio chlorido (CaCl₂) 220 g/l vandeninis tirpalas.
- 5.14. Natrio cholato (fermentų kokybės) 1 g/l vandeninis tirpalas.
- 5.15. Buferinis tirpalas: vandeninis 1 mol/l *tri*(hidroksimetil)aminometano tirpalas parūgštinamas iki pH 8 pripilant druskos rūgšties (5.12) (nustatoma potenciometriškai).
- 5.16. Fenoltaleino 10 g/l tirpalas 95 % (v/v) etanolyje.
- 5.17. 2',7'-dichlorfluoresceino 2 g/l tirpalas 95 % (v/v) etanolyje. Truputį pašarminamas, į 100 ml įlašinant lašą 1 N natrio hidroksido tirpalo.

Lipazės aktyvumui tikrinti:

- 5.18. Neutralizuotas aliejus.
- 5.19. Natrio hidroksido 0,1 M vandeninis tirpalas.
- 5.20. Natrio cholato (fermentų kokybės) 200 g/l vandeninis tirpalas.
- 5.21. Gumiarabiko 100 g/l vandeninis tirpalas.

6. BANDINIO RUOŠIMAS

Jei bandinio rūgštingumas, nustatytas pagal II priedą, mažesnis kaip 3 %, iš karto gryninama aliuminio oksidu pagal 6.2 punktą.

Jei bandinio rūgštingumas, nustatytas pagal II priedą, didesnis kaip 3 %, neutralizuojama tirpiklyje šarmu pagal 6.1 punktą, paskui gryninama aliuminio oksidu pagal 6.2 punktą.

- 6.1. Tirpiklyje ištirpinto bandinio neutralizavimas šarmu

Į dalijamąjį piltuvą (4.6) įpilama apie 10 g neapdoroto aliejaus, 100 ml heksano (5.1), 50 ml 2-propanolio (5.2), įlašinami keli lašai fenoltaleino tirpalo (5.16) ir įpilama natrio hidroksido tirpalo (5.11), kurio kiekis atitinka laisvųjų rūgščių kiekį, ir dar 0,3 % pertekliaus. Mišinys stipriai plakamas vieną minutę, įpilama 50 ml distiliuoto vandens, vėl plakama ir paliekama nusistovėti.

Sluoksniams atsiskyrus, apatinis muilo sluoksniš išpilamas. Taip pat išleidžiamas bet koks tarpinis sluoksniš (gleivės, netirpios medžiagos). Neutralizuoto aliejaus tirpalas heksane pakartotinai plaunamas 25–30 ml 2-propanolio tirpalo (5.3) porcijomis, kol pranyksta rožinė fenoltaleino spalva.

Didesnioji heksano dalis šalinama distiliuojant vakuume sukamajame garintuve (4.18), paskui vakuume 30–40 °C temperatūroje aliejus džiovinamas gyno azoto srovėje, kol heksanas visiškai pašalinamas.

6.2. Gryninimas, leidžiant per aliuminio oksidą

Paruošiama 15 g aktyvinto aliuminio oksido (5.8) suspensija 50 ml heksano (5.1) maišant supilama į chromatografinę kolonėlę (4.7). Aliuminio oksidui leidžiama vienodai nusėsti, tirpiklio išleidžiama tiek, kad jo aukštis virš absorbento būtų 1–2 mm. Į kolonėlę atsargiai supilama 5 g aliejaus tirpalo 25 ml heksano (5.1); visas iš kolonėlės ištekančias skystis surenkamas į apvaliadugnę kolbą (4.1).

7. Chromatografinių plokštelių ruošimas

Stiklinės plokštelės (4.13) kruopščiai nuplaunamos etanolio, petroleterio ir acetonu, kad būtų pašalinami visi riebalų likučiai.

Į kūginę kolbą (4.4) įberiama 30 g silikagelio miltelių (5.9). Įpilama 60 ml distiliuoto vandens. Kolba užkemšama ir vieną minutę stipriai kratoma. Gauta tyrė greitai supilama į įtaisą plokštelėms dengti (4.12) ir švarios plokštelės padengiamos 0,25 mm storio sluoksniu.

Plokštelės 15 minučių džiovinamos ore, paskui valandą džiovinimo spintoje (4.16) 103 ± 2 °C temperatūroje. Prieš naudojant plokštelės ataušinamos iki kambario temperatūros eksikatoriuje.

Gatavų plokštelių galima nusipirkti.

8. DARBO EIGA

8.1. Hidrolizė kasos lipaze

Centrifugavimo mėgintuvėlyje (4.8) pasveriamas apie 0,1 g paruošto bandinio ir, jeigu bandinys yra skystas aliejus, iš karto daroma kaip nurodyta toliau.

Įdedama 20 mg lipazės (5.10) ir 2 ml buferinio tirpalo (5.15). Gerai, tačiau atsargiai suplakama ir įpilama 0,5 ml natrio cholato tirpalo (5.14) bei 0,2 ml kalcio chlorido tirpalo (5.13). Mėgintuvėlis uždaromas šlifo kamščiu, atsargiai (kad nesusivilgytų kamštis) pakratomas ir iš karto dedamas į termostatą (4.17), kuriame palaikoma $40 \pm 0,5$ °C temperatūra, ir lygiai vieną minutę kratomas ranka.

Mėgintuvėlis išimamas iš termostato ir lygiai dvi minutes stipriai kratomas ant elektrinės purtyklės (4.19).

Greitai ataušinama po tekančiu iš krano vandeniu; įpilama 1 ml druskos rūgšties (5.12) ir 1 ml dietileterio (5.4). Užkemšama ir stipriai maišoma ant elektrinės purtyklės. Paliekama nusistovėti ir organinis sluoksniš nusiurbiamas švirkštu (4.10), jei reikia, tai po centrifugavimo.

8.2. Monogliceridų atskyrimas plonasluoksniš chromatografijos metodu

Ekstraktas kiek įmanoma plonesnės, vienodo storio linijos pavidalu švirkštu (4.11) užlašinamas ant chromatografinės plokštelės, maždaug per 1,5 cm nuo jos apačios. Plokštelė dedama į gerai prisotintą ryškinimo indą (4.14) ir maždaug 20 °C temperatūroje ryškinama tirpikliu (5.7), kol iki plokštelės viršaus lieka 1 cm.

Plokštelė džiovinama ore esant tokiai pačiai temperatūrai, kokia buvo ryškinimo inde, ir apipurškiama 2',7'-dichlorfluoresceino tirpalu (5.17). Monoglicerido juosta (R_f apie 0,035) identifikuojama ultravioletinėje šviesoje (4.20).

8.3. Monogliceridų analizė dujų ir skysčių chromatografijos metodu

Pagal 8.2 punktą gautos juostos turinys nugrandomas mentele (reikia išvengti komponentų, likusių chromatogramos pradžioje, nuėmimo) ir supilamas į metilino kolbą (4.2).

Surinktas silikagelis tiesiogiai apdorojamas pagal X B priede aprašytus metodus, tik tiek pakeistus, kad monogliceridai paverčiami metilesteriais, paskui esteriai analizuojami dujų chromatografijos metodu, kaip aprašyta X A priede.

9. REZULTATŲ PATEIKIMAS

Riebiųjų rūgščių sudėtis 2-oje padėtyje apskaičiuojama vieno ženklo po kablelio tikslumu (3 pastaba).

10. PASTABOS

1 pastaba. Lipazės aktyvumo tikrinimas

Tinkamame maišytuve, plakant mišinį, kurį sudaro 165 ml gumiarabiko tirpalo (5.21), 15 g smulkinto ledo ir 20 ml neutralizuoto aliejaus (5.18), ruošiama aliejaus emulsija.

Į cheminę stiklinę (4.5) įpilama 10 ml šios emulsijos, paskui nurodyta tvarka 0,3 ml natrio cholato tirpalo (5.20) ir 20 ml distiliuoto vandens.

Cheminė stiklinė dedama į termostatą, kuriame palaikoma $37 \pm 0,5$ °C temperatūra (4 pastaba), į stiklinę įstatomi pH-metro elektrodai (4.21) ir spiralinis maišiklis (4.22).

Iš biuretės (4.23) lašinama natrio hidroksido tirpalo (5.19) tol, kol pH pasiekia 8,5.

Įpilamas pakankamas kiekis lipazės suspensijos (žr. toliau). Kai tik pH rodo 8,3, paleidžiamas chronometras (4.24) ir natrio hidroksido tirpalas (5.19) lašinamas tokiu greičiu, kad pH visą laiką būtų 8,3. Pasižymimas kas minutę sunaudoto natrio hidroksido tirpalo tūris.

Matavimai užrašomi grafiko pavidalu, abscisėje nurodant laiką, ordinatėje – sunaudoto natrio hidroksido tūrį, kurio reikia išlaikyti pastoviai pH vertei. Turi būti gauta tiesė.

Anksčiau minėta lipazės suspensija yra 1:1000 (m/m) suspensija vandenyje. Kiekviename tikrinime turi būti naudojama pakankamai šios suspensijos, t. y. tiek, kad per keturias penkias minutes būtų sunaudota maždaug 1 ml šarmo tirpalo. Paprastai reikia 1–5 mg miltelių.

Lipazės vienetas apibrėžiamas kaip fermento kiekis, kuris išskiria 10 mikroekvivalentų rūgšties per minutę. Taigi naudotų miltelių aktyvumas A, matuojamas lipazės vienetais miligramui lipazės, apskaičiuojamas pagal formulę:

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

kurioje V yra pagal grafiką apskaičiuotas per minutę sunaudoto natrio hidroksido tirpalo (5.19) tūris, m – bandymui paimtų miltelių masė miligramais.

2 pastaba. Lipazės ruošimas

Turincios pakankamą aktyvumą lipazės galima pirkti. Tačiau taip pat galima jos pasigaminti laboratorijoje.

5 kg šviežios kiaulių kasos atšaldoma iki 0 °C, pašalinami aplinkui esantys kieti riebalai bei jungiamasis audinys ir sumalama, kad susidarytų pastos pavidalo skysta masė. Ši pasta keturias-šešias valandas maišoma maišikliu (4.25) kartu su 2,5 l absoliutaus acetono ir centrifuguojama. Likutis dar tris kartus ekstrahuojamas tuo pačiu acetono tūriu, paskui du kartus 1:1 (v/v) acetono ir dietileterio mišiniu ir du kartus dietileteriu.

Kad gauti milteliai būtų patvarūs, likutis 48 valandas džiovinamas vakuume. Milteliai turi būti laikomi šaldytuve.

3 pastaba. Kiekvienu atveju patartina nustatyti to paties bandinio bendrą riebiųjų rūgščių sudėtį, nes lyginimas su rūgščių 2-oje padėtyje sudėtimi padės interpretuoti gautus skaičius.

4 pastaba. Hidrolizės temperatūra yra 37 °C, kadangi yra naudojamas skystas aliejus. Tačiau bandiniui ji nustatoma 40 °C, kad būtų galima tirti riebalus, kurių lydymosi temperatūra iki 45 °C.

VIII PRIEDAS

TRILINOLATO SUDĖTIES NUSTATYMAS

1. TIKSLAS

Alyvuogių aliejus sudarančių trigliceridų sudėtis nustatymas pagal jų ekvivalentinį anglies skaičių, taikant didelio efektyvumo skysčių chromatografiją.

Šiame standarte aprašomas augalinių aliejų trigliceridų atskyrimo ir kiekybinio sudėties, kaip ekvivalentinio anglies skaičiaus funkcijos, nustatymo pagal jų molekulinę masę ir nesotumo laipsnį metodas (žr. 1 pastabą).

2. TAIKymo SRITIS

Šis standartas taikytinas bet kokiam augaliniam aliejui, turinčiam trigliceridų, sudarytų iš riebiųjų rūgščių su ilga anglies atomų grandine. Metodas ypač tinka nustatyti nedideliame kiekiui pusiau džiūstančių aliejų (turinčių daug linolo rūgšties) augaliniuose aliejuose, kuriuose pagrindinė nesočioji rūgštis yra oleino rūgštis, pvz., alyvuogių aliejuje.

3. METODO ESMĖ

Trigliceridų atskyrimas pagal jų ekvivalentinį anglies skaičių taikant didelio efektyvumo skysčių chromatografiją (atvirkštinis fazių poliškumas) ir chromatogramų interpretavimas.

4. APARATŪRA

4.1. Didelio efektyvumo skysčių chromatografas, kuriame galima termostatuojant reguliuoti kolonėlės temperatūrą.

4.2. Įtaisas įpurkšti 10 µl.

4.3. Detektorius: diferencinis refraktometras. Jautrumas per visą skalę turi būti bent 10^{-4} lūžio rodiklio vieneto.

4.4. Kolonėlė: nerūdijančio plieno 250 mm ilgio vamzdis, kurio vidinis skersmuo 4,5 mm, užpildytas 5 µm dydžio silikagelio dalelėmis, turinčiomis 22–23 % anglies oktaedecilsilano pavidalu (2 pastaba).

4.5. Savirašis ir (arba) integratorius.

5. REAGENTAI

Reagentai turi būti analiziškai grynai. Išplovimui skirti tirpikliai turi būti nuduojinti ir gali būti panaudojami kelis kartus be įtakos atskyrimų kokybei.

5.1. Chloroformas.

5.2. Acetonas.

5.3. Acetonitrilas.

5.4. Išplovimo tirpiklis: acetonitrilas + acetonas (santykis nustatomas norimam atskyrimui gauti: pradedama mišiniu 50:50).

5.5. Soliubilizavimo tirpiklis: acetonas arba acetono ir chloroformo mišinys tūrių santykiu 1:1.

5.6. Etaloniniai trigliceridai: gali būti naudojami parduodami trigliceridai (tripalmitatas, trioleatas ir t. t.) ir šiuo atveju sulaukymo trukmės grafiškai vaizduojamos kaip ekvivalentinio anglies skaičiaus funkcija. Kitu būdu etaloninė chromatograma gaunama panaudojant sojos aliejų (žr. 3 ir 4 pastabas bei 1 ir 2 brėžinius).

6. BANDINIŲ RUOŠIMAS

Analizuojamų bandinių 5 % tirpalas ruošiamas $0,5 \pm 0,001$ g bandinio pasveriant 10 ml matavimo kolboje ir praskiedžiant iki 10 ml soliubilizavimo tirpikliu (5.5).

7. DARBO EIGA

- 7.1. Paruošiamas chromatografavimo įrenginys. Visai sistemai išplauti 1,5 ml per minutę greičiu pumpuojamas išplovimo tirpiklis (5.4). Palaukiama, kol nusistovi stabili pagrindo linija.

Įpurškiama 10 µl bandinio, paruošto pagal 6 punktą.

8. REZULTATŲ APSKAIČIAVIMAS IR PATEIKIMAS

Naudojamas vidinio etalonavimo metodas, t. y. daroma prielaida, kad visus trigliceridus atitinkančių visų smailių plotų suma sudaro 100 %. Santykinis kiekvieno triglicerido kiekis procentais apskaičiuojamas pagal formulę:

$$\text{triglicerido \%} = \frac{\text{smailės plotas}}{\text{smailių plotų suma}} \times 100$$

Rezultatas pateikiamas vieno ženklo po kablelio tikslumu.

- 1 pastaba. Išplovimo eilė gali būti nustatyta apskaičiuojant ekvivalentinius anglies skaičius, kurie dažnai apibrėžiami priklausomybe $ECN = CN - 2n$, kurioje CN yra anglies atomų skaičius ir n yra dvigubų jungčių skaičius; ECN gali būti apskaičiuotas daug tiksliau, atsižvelgiant į dvigubos jungties prigimtį. Jei n_o , n_i ir n_{in} yra atitinkamai oleino, linolo ir linoleno rūgštims priskiriamų dvigubų jungčių skaičius, ekvivalentinis anglies skaičius gali būti apskaičiuotas naudojant tokios priklausomybės formulę:

$$ECN = CN - d_o n_o - d_i n_i - d_{in} n_{in},$$

kurioje koeficientai d_o , d_i ir d_{in} gali būti apskaičiuoti pagal etaloninius trigliceridus. Šiame metode nurodytomis sąlygomis priklausomybė artima tokiai:

$$ECN = CN - [2,60 n_o] - [2,35 n_i] - [2,17 n_{in}].$$

- 2 pastaba. Pavyzdžiai: Lichosorb (Merck) RP18 Art 50333;

Lichosphere arba atitinkamas (Merck) 100 CH18 Art 50377.

- 3 pastaba. Turint kelis etaloninius trigliceridus, galima apskaičiuoti santykinę sulaikymo trukmę pagal trioleatą:

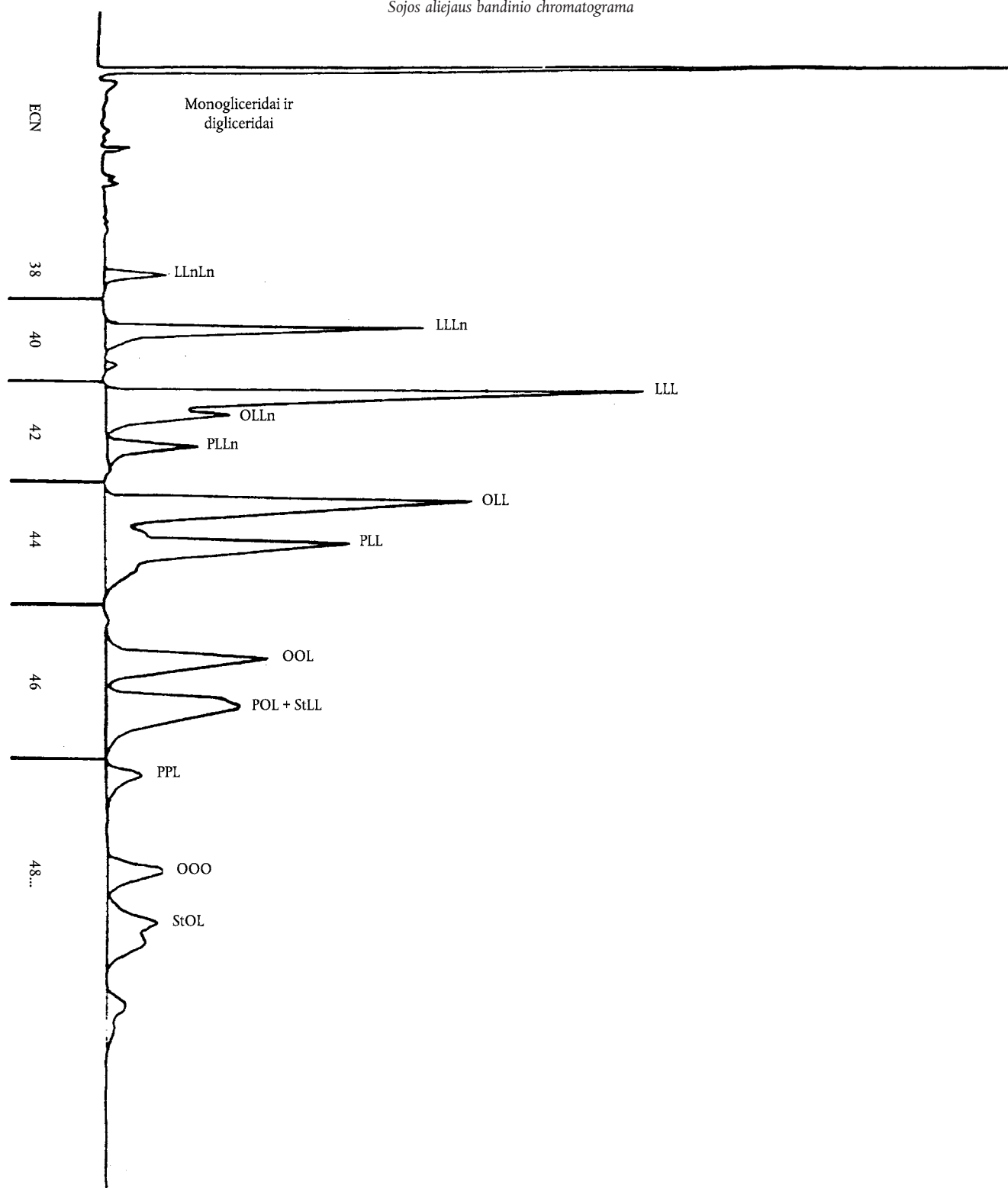
$$\alpha = RT'/RT'_{\text{oleato}},$$

pasinaudojant perskaičiuota sulaikymo trukme $RT' = RT - RT_{\text{tirpiklio}}$.

Priklausomybės log α nuo f (dvigubų jungčių skaičius) grafikas leidžia nustatyti visų etaloniniuose trigliceriduose esančių riebiųjų rūgščių sudarytų trigliceridų sulaikymo trukmes – žr. 2 brėžinį.

- 4 pastaba. Kolonėlės efektyvumas turi užtikrinti aiškų trilineolato smailės atsiskyrimą nuo trigliceridų su artima sulaikymo trukme smailių RT.

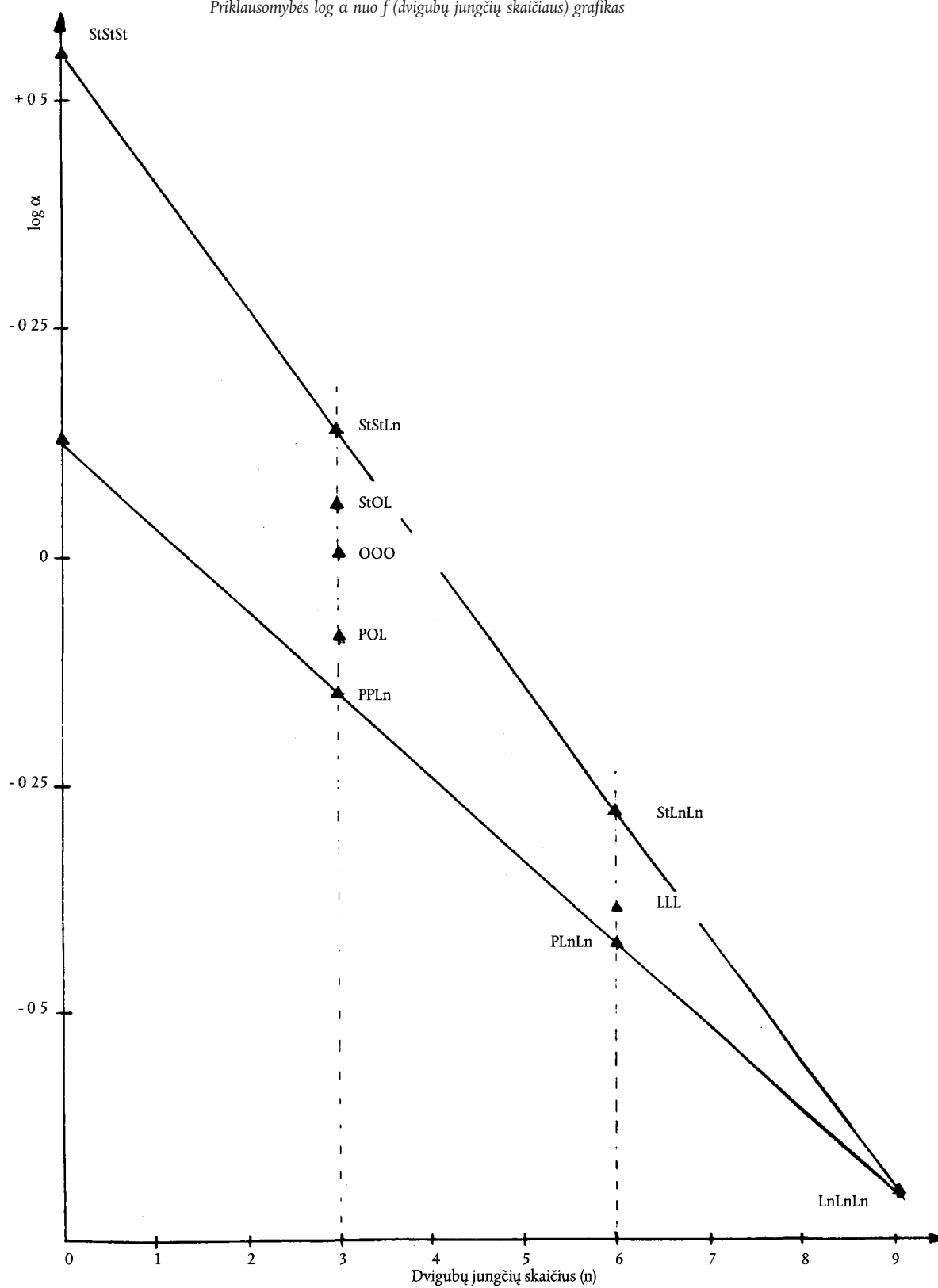
1 brėžinys

Sojos aliejaus bandinio chromatograma

P = palmitino rūgštis St = stearino rūgštis O = oleino rūgštis
 L = linolo rūgštis Ln = linoleno rūgštis

2 brėžinys

Priklausomybės $\log \alpha$ nuo f (dvigubų jungčių skaičiaus) grafikas



La = lauro rūgštis St = stearino rūgštis L = linolo rūgštis
 My = miristo rūgštis O = oleino rūgštis Ln = linoleno rūgštis.
 P = palmitino rūgštis

IX PRIEDAS

SPEKTROFOTOMETRINIS TYRIMAS ULTRAVIOLETINĖJE SPEKTRO DALYJE

IŽANGA

Spektrofotometrinis tyrimas ultravioletinėje spektro dalyje gali suteikti informacijos apie riebalų kokybę, jų išsilaikymo būklę ir technologinių procesų metu įvykusius pasikeitimus.

Absorbcija metode nurodytų bangų ilgių srityje vyksta dėl konjuguotų dienų ir trienų sistemų buvimo. Ši absorbcija reiškia savitosios ekstinkcijos $E^{1\%}_{1\text{ cm}}$ pavidalu (1 cm sluoksnio storio 1 % riebalų tirpalo tam tikrame tirpiklyje ekstinkcija), pagal susitarimą žymimos K raide (taip pat vadinamos „ekstinkcijos koeficientu“).

1. TIKSLAS

Metode aprašyta riebalų tyrimo ultravioletinėje spektro dalyje atlikimo metodika.

2. METODO ESMĖ

Analizuojami riebalai ištirpinami reikiamame tirpiklyje, paskui, esant nustatytam bangos ilgiui, matuojama šio tirpalo ekstinkcija, lyginant su grynu tirpikliu. Pagal spektrofotometrinius duomenis skaičiuojamos savitosios ekstinkcijos vertės.

3. APARATŪRA

- 3.1. Spektrofotometras ekstinkcijai ultravioletinėje spektro dalyje tarp 220 ir 360 nm matuoti su galimybe turėti nanometro eilės rodmenis.
- 3.2. Stačiakampės 1 cm storio kiuvetės iš kvarcinio stiklo, su dangčiais. Ekstinkcijos skirtumas tarp vandeniu arba kitu tinkamu tirpikliu užpildytų kiuvečių neturi būti didesnis kaip 0,01 ekstinkcijos vieneto.
- 3.3. 25 ml talpos matavimo kolbos.
- 3.4. Chromatografinė kolonėlė, kurios ilgis 450 mm, skersmuo 35 mm, turinti maždaug 10 mm skersmens išleidimo vamzdį.

4. REAGENTAI

- 4.1. Spektrofotometriškai grynas izooktanas (2,2,4-trimetilpentanas). Pagal distiliuotą vandenį jo pralaidumas turi būti ne mažesnis kaip 60 %, esant 220 nm, ir ne mažesnis kaip 95 %, esant 250 nm, arba
 - spektrofotometriškai grynas cikloheksanas: pagal distiliuotą vandenį jo pralaidumas turi būti ne mažesnis kaip 40 %, esant 220 nm, ir ne mažesnis kaip 95 %, esant 250 nm, arba
 - kitas tinkamas tirpiklis, kuris visiškai tirpintų riebalus (pvz., etanolis analizuojant ricinos aliejų).
- 4.2. Bazinis aliuminio oksidas kolonėlinei chromatografijai, paruoštas ir tikrinamas kaip aprašyta I priedėlyje.
- 4.3. Chromatografijai tinkamas *n*-heksanas.

5. DARBO EIGA

- 5.1. Analizuojamas bandinys turi būti visiškai vienalytis ir be įtartinų priemaišų. Kambario temperatūroje skystas aliejus turi būti nufiltruotas per filtro popierių, esant maždaug 30 °C temperatūrai. Kieti riebalai turi būti homogenizuoti ir nufiltruoti, esant temperatūrai ne aukštesnei kaip 10 °C virš lydymosi temperatūros.
- 5.2. Apie 0,25 g taip paruošto bandinio tiksliai pasverama 25 ml matavimo kolboje, praskiedžiama iki žymės nurodytu tirpikliu ir sumaišoma. Gautas tirpalas turi būti visiškai skaidrus. Jei atsiranda opalescencija arba drumstumas, reikia greitai nufiltruoti per filtro popierių.
- 5.3. Kiuvetė užpildoma gautu tirpalu ir, esant reikiamam bangos ilgiui tarp 232 ir 276 nm, matuojama tirpalo ekstinkcija, palyginimui naudojant tirpiklį.

Gaunamos ekstinkcijos vertės turi būti 0,1–0,8 dydžių intervale. Jei taip nėra, matavimai turi būti pakartoti, naudojant kur reikia labiau praskiestus arba labiau koncentruotus tirpalus.

- 5.4. Kai reikia nustatyti savitąją ekstinkciją po apdorojimo aliuminio oksidu, daroma taip: 30 g bazinio aliuminio oksido suspensijos heksane supilama į chromatografinę kolonėlę. Absorbentui nusėdus, heksano perteklius išleidžiamas maždaug iki 1 cm lygio virš aliuminio oksido sluoksnio viršaus.

10 g riebalų, homogenizuotų ir nufiltruotų kaip aprašyta 5.1 punkte, tirpinama 100 ml heksano ir tirpalas supilamas į kolonėlę. Eliuatas surenkamas, visas tirpiklis išgarinamas vakuume, esant žemesnei kaip 25 °C temperatūrai.

Su taip gautais riebalais iš karto daroma kaip nurodyta 5.2 punkte.

6. REZULTATŲ APSKAIČIAVIMAS

- 6.1. Užrašomos savitųjų ekstinkcijų (ekstinkcijos koeficientų) vertės, kurios įvairiems bangų ilgiams apskaičiuojamos pagal formulę:

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

kurioje:

K_{λ} = savitoji ekstinkcija, esant bangos ilgiui λ ;

E_{λ} = ekstinkcija, išmatuota esant bangos ilgiui λ ;

c = tirpalo koncentracija g/100 ml;

s = kiuvetės storis, cm.

Rezultatai turi būti pateikiami dviejų ženklų po kablelio tikslumu.

- 6.2. Atliekant spektrofotometrinę alyvuogių aliejaus analizę pagal oficialų metodą, aprašytą EEB reglamentuose, savitąją ekstinkciją nurodyta matuoti izooktano tirpale, esant 232 ir 270 nm bangos ilgiams, ir nustatyti ΔK , kuris apibrėžiamas lygtimi:

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

kurioje K_m yra savitoji ekstinkcija esant bangos ilgiui m . Tai didžiausios absorbcijos 270 nm srityje bangos ilgis.

I PRIEDĖLIS

Aluminio oksido ruošimas ir jo aktyvumo tikrinimas

A.1.1. Aluminio oksido ruošimas

Aluminio oksidas, prieš tai krosnyje džiovintas tris valandas 380–400 °C temperatūroje, supilamas į hermetiškai uždaramą indą, įpilama distiliuoto vandens, santykiu 5 ml vandens 100 g aliuminio oksido, indas tuojau pat uždaromas, kelis kartus pakratomas ir prieš naudojant paliekamas stovėti mažiausiai 12 valandų.

A.1.2. Aluminio oksido aktyvumo tikrinimas

Paruošiama chromatografinė kolonėlė su 30 g aliuminio oksido. Pagal 5.4 punkte pateiktą aprašymą, per kolonėlę leidžiamas mišinys, sudarytas iš:

- 95 % pirmo spaudimo alyvuogių aliejaus, kurio savitoji ekstinkcija, esant bangos ilgiui 268 nm, mažesnė kaip 0,18,
- 5 % gryninimo procese diatomitu apdoroto žemės riešutų aliejaus, kurio savitoji ekstinkcija, esant bangos ilgiui 268 nm,

ne mažesnė kaip 4.

Jei, mišiniui praėjus per kolonėlę, jo savitoji ekstinkcija, esant bangos ilgiui 268 nm, yra didesnė kaip 0,11, aliuminio oksidas tinkamas naudoti, jei ne – jame reikia sumažinti vandens kiekį.

II PRIEDĖLIS

Spektrofotometro kalibravimas

- A.2. Po tam tikro laiko tarpo (ne rečiau kaip kas šeši mėnesiai) turi būti tikrinamos prietaiso bangos ilgio ir tikslumo savybės.
- A.2.1. Bangos ilgis gali būti tikrinamas, naudojant gyvsidabrio garų lempą arba atitinkamus filtrus.
- A.2.2. Norint patikrinti fotocelės ir fotodaugintuvo veikimą, daroma taip: pasveriamas 0,2000 g spektrofotometriškai gryno kalio chromato, ištirpinama 1 000 ml talpos matavimo kolboje 0,05 N kaliohidroksido tirpale ir praskiedžiama iki žymės. Paimama lygiai 25 ml gauto tirpalo ir tuo pačiu kalio hidroksido tirpalu 500 ml talpos matavimo kolboje praskiedžiama iki žymės.
- Esant bangos ilgiui 275 nm, matuojama tokiu būdu gauto tirpalo ekstinkcija, palyginamuoju tirpalu naudojant kalio hidroksido tirpalą. 1 cm storio kiuvetėje išmatuota ekstinkcijos vertė turi būti $0,200 \pm 0,005$.
-

X A PRIEDAS

RIEBIŲJŲ RŪGŠČIŲ METILESTERIŲ ANALIZĖ DUJŲ CHROMATOGRAFIJOS METODU

1. TIKSLAS

Šiame metode aprašyti bendri nurodymai, kaip taikyti dujų chromatografiją su užpildomomis arba kapiliarinėmis kolonėlėmis, nustatant pagal X B priede nurodytą metodą gautų riebiųjų rūgščių metilesterių kokybinę ir kiekybinę sudėtį.

Metodas netinka polimerizuotoms riebiosioms rūgštims.

2. REAGENTAI

2.1. Dujos nešiklis

Inertinės dujos (azotas, helis, argonas, vandenilis ir t. t.), visiškai išdžiovintos, turinčios mažiau kaip 10 mg/kg deguonies.

1 pastaba. Vandenilis, kuris kaip dujos nešiklis naudojamas tik kapiliarinėse kolonėlėse, gali du kartus padidinti analizės greitį, tačiau yra pavojingas. Galima pirkti saugių įtaisų.

2.2. Pagalbinės dujos

2.2.1. Vandenilis (grynumas $\geq 99,9\%$), neturintis organinių priemaišų.

2.2.2. Oras arba deguonis, neturintys organinių priemaišų.

2.3. Palyginamasis etalonas

Grynų riebiųjų rūgščių metilesterių mišinys arba žinomos sudėties riebalų, geriausiai tokių, kurie yra panašūs į analizuojamą riebalinę medžiagą, metilesteriai.

Reikia imtis atsargumo priemonių, kad būtų išvengta nesočiųjų riebiųjų rūgščių su dideliu dvigubų jungčių skaičiumi oksidacijos.

3. APARATŪRA

Pateikiamuose nurodymuose kalbama apie įprastą įrangą, kuri naudojama dujų chromatografijoje, turinčią užpildomas ir (arba) kapiliarines kolonėles ir dujų jonizacinį detektorių. Tinka bet koks prietaisas, kuriuo gaunamas 4.1.2 punkte nurodytas efektyvumas ir atskiriamaoji galia.

3.1. Dujų chromatografas

Dujų chromatografą sudaro:

3.1.1. Įpurškimo įtaisas

Įpurškimo įtaisas naudojamas:

- su užpildytomis kolonėlėmis, turinčiomis kuo mažesnę nenaudingą tūrį (šiuo atveju įpurškimo įtaisą būtų galima kaitinti iki temperatūros, 20–50 °C aukštesnės nei kolonėlės temperatūra); arba
- su kapiliarinėmis kolonėlėmis, kurių atveju įpurškimo įtaisas kuriamas specialiai darbui su jomis. Jis gali būti su bandinio dozatoriumi arba tiesioginio kolonėlės inžektoriaus tipo be bandinio padalinimo.

2 pastaba. Kai nėra mažiau kaip 16 atomų turinčių riebiųjų rūgščių, galima naudoti išimamą adatinį inžektorių.

3.1.2. Krosnis

Krosnis turi įkaitinti kolonėlę bent iki 260 °C ir pasirinktą temperatūrą užpildomose kolonėlėse palaikyti 1 °C tikslumu, kapiliarinėse kolonėlėse – 0,1 °C tikslumu. Pastarasis reikalavimas ypač svarbus, kai naudojamas lydyto kvarco vamzdis.

Visais atvejais rekomenduojamas programuotos temperatūros kaitinimo režimas, ypač kai analizuojamos rūgštys, turinčios mažiau kaip 16 anglies atomų.

- 3.1.3. Užpildoma kolonėlė
- 3.1.3.1. Kolonėlė pagaminta iš medžiagų, inertiškų analizuojamiems junginiams (t. y. iš stiklo arba nerūdijančio plieno), kurios matmenys tokie:
- ilgis: 1–3 m. Kai yra riebiųjų rūgščių su ilga anglies atomų grandine (ilgesne nei C_{20}), turi būti naudojama palyginus trumpa kolonėlė. Kai analizuojamos rūgštys su 4–6 anglies atomais, rekomenduojama naudoti 2 m ilgio kolonėlę;
 - vidinis skersmuo: 2–4 mm.
- 3 pastaba. Jei yra nesočiųjų junginių su daugiau kaip trimis dvigubomis jungtimis, jie kolonėlėje iš nerūdijančio plieno gali suskilti.
- 4 pastaba. Gali būti naudojama sistema su dviem užpildomomis kolonėlėmis.
- 3.1.3.2. Užpildymas, susidedantis iš tokių elementų:
- kieto nešiklio*: rūgštyje plauto ir silanizuoto diatomito arba kito tinkamo inertiško kieto nešiklio su siauru grūdėtumo intervalu (25 µm intervalas 125–200 µm dalelių dydžio ribose), vidutiniam grūdelių dydžiui esant susietam su kolonėlės vidiniu skersmeniu ir ilgiu;
 - nejudančiosios fazės*: poliško poliesterių tipo skysčio (pvz., dietilenglikolio polisukcinato, butandiolio polisukcinato, etilenglikolio poliadipato ir t. t.), cianpolisiloksanų arba kurio nors kito skysčio, užtikrinančio reikiamą chromatografinį atskyrimą (žr. 4 punktą). Nejudančioji fazė turi sudaryti 5–20 % (m/m) užpildymo masės. Kai kuriems atskyrimams galima naudoti nepolišką nejudančiąją fazę.
- 3.1.3.3. Kolonėlės kondicionavimas
- Kolonėlei esant atjungtai, jei tai įmanoma, nuo detektoriaus, krosnis laipsniškai kaitinama iki 185 °C ir, esant šiai temperatūrai, per iš naujo užpildytą kolonėlę bent 16 valandų 20–60 ml/min. greičiu leidžiama inertinių dujų srovė, vėliau dar dvi valandas, temperatūrą pakėlus iki 195 °C.
- 3.1.4. Kapiliarinė kolonėlė
- 3.1.4.1. Vamzdis pagamintas iš medžiagos, inertiškos analizuojamoms medžiagoms (paprastai stiklinio arba lydyto kvarco). Vidinis skersmuo yra 0,2–0,8 mm. Prieš padengiant nejudančiąją fazę, vidinis paviršius atitinkamai apdorojamas (pvz., paviršius paruošiamas, inaktyvinamas). Daugeliu atvejų užtenka 25 mm ilgio vamzdžio.
- 3.1.4.2. Nejudančioji fazė paprastai yra poliglikolių tipo (polietilenglikolis 20 000), poliesteris (butandiolio polisukcinatas) arba poliškas polisiloksanas (ciansiloksanai). Tinka kolonėlės su susiūtos struktūros (erdvinės struktūros) faze.
- 5 pastaba. Poliškų polisiloksanų atvejų gali būti sunkiau identifikuoti ir atskirti linoleno rūgštį bei C_{20} rūgštis.
- Dangos turi būti plonos, t. y. 0,1–0,2 µm.
- 3.1.4.3. Kolonėlės surinkimas ir kondicionavimas
- Surenkant kapiliarines kolonėles, laikomasi įprastų atsargumo priemonių, t. y. kolonėlės įstatymas į krosnį (tvirtinimas), sujungimų pasirinkimas ir darymas (sandarumas), kolonėlės galų jungimas su inžektoriumi ir detektoriumi (nenaudingų tūrių sumažinimas). Prie kolonėlės prijungiamos dujos nešiklis (pvz., 0,3 barų (30 kPa) slėgio, kai naudojama 25 mm ilgio ir 0,3 mm vidinio skersmens kolonėlė).
- Kolonėlė kondicionuojama programuojant krosnies temperatūros kilimą 3 °C/min. greičiu nuo kambario temperatūros iki 10 °C mažesnės už nejudančiosios fazės skilimo temperatūrą. Krosnis šioje temperatūroje laikoma vieną valandą, kol nusistovi pagrindo linija. Paskui temperatūra darbu izoterminėmis sąlygomis sumažinama iki 180 °C.
- 6 pastaba. Tinkamai iš anksto kondicionuotų kolonėlių galima pirkti.
- 3.1.5. Detektorius, geriausiai toks, kurį galima būtų kaitinti iki temperatūros, aukštesnės nei kolonėlės temperatūra.
- 3.2. **Švirkštas**
- Didžiausia švirkšto talpa turi būti 10 µl, sugraduotas 0,1 µl padalomis.
- 3.3. **Savirašis**
- Jei savirašio brėžiama kreivė bus naudojama analizuojamo mišinio sudėčiai apskaičiuoti, reikalingas elektroninis didelio tikslumo savirašis, suderinamas su naudojamu prietaisu. Savirašio savybės turi būti tokios:
- inertiškumas turi būti mažesnis kaip 1,5 s, geriausiai 1 s (inertiškumas matuojamas laiku, kurį rašanti plunksna sugaišta pakildama nuo 0 iki 90 %, kai staigiai paduodamas 100 % signalas);

- b) popieriaus plotis ne mažesnis kaip 20 cm;
- c) popieriaus greitis reguliuojamas 0,4–2,5 cm/min intervale.

3.4. Integratorius

Greitai ir tiksliai apskaičiuoti galima elektroniniu integratoriumi. Jis turi reikiamo jautrumo linijinį atsaką, bei turi patenkinamai atlikti korekciją dėl pagrindo linijos dreifo.

4. DARBO EIGA

4.1–4.3 punktuose aprašytuose veiksmuose naudojama įranga su liepsnos jonizaciniu detektoriumi.

Kaip alternatyva gali būti naudojamas dujų chromatografas su katarometru (veikiančiu šilumos laidumo pokyčio matavimo principu). Tuo atveju darbo sąlygos keičiasi, kaip tai aprašyta 6 punkte.

4.1. Analizės sąlygos

4.1.1. Optimalių darbo sąlygų pasirinkimas

4.1.1.1. Užpildoma kolonėlė

Renkantis analizės sąlygas, atsižvelgiama į šiuos kintamus parametrus:

- a) kolonėlės ilgis ir skersmuo;
- b) nejudančiosios fazės pobūdis ir kiekis;
- c) kolonėlės temperatūra;
- d) dujų nešiklio srauto greitis;
- e) reikalinga atskiriamaoji galia;
- f) analizuojamos bandinio dalies dydis, parinktas taip, kad detektoriaus ir elektrometro derinio atsakas būtų tiesinis;
- g) analizės trukmė.

Dažniausiai 1 ir 2 lentelėje pateiktos vertės duoda norimus rezultatus, t. y. ne mažiau kaip 2 000 teorinių lėkščių vienam kolonėlės ilgio metrui metilsteirato atveju ir jo išplovimas įvyksta maždaug per 15 minučių.

Kai aparatūra tai leidžia, inžektoriaus temperatūra turi būti apie 200 °C, o detektoriaus temperatūra lygi kolonėlės temperatūrai arba didesnė.

Paprastai liepsnos jonizaciniam detektoriumi tiekiamo vandenilio ir dujų nešiklio srauto greičių santykis yra nuo 1:2 iki 1:1, priklausomai nuo kolonėlės skersmens. Deguonies srauto greitis maždaug 5–10 kartų didesnis už vandenilio.

1 lentelė

Kolonėlės vidinis skersmuo, mm	Dujų nešiklio srauto greitis, ml/min.
2	15–25
3	20–40
4	40–60

2 lentelė

Nejudančiosios fazės koncentracija, % (m/m)	Kolonėlės temperatūra, °C
5	175
10	180
15	185
20	185

4.1.1.1. Kapiliarinė kolonėlė

Kapiliarinių kolonėlių efektyvumo ir pralaidumo savybės reiškia, kad komponentų atskyrimas ir analizės trukmė labai priklauso nuo dujų nešiklio srauto kolonėlėje greičio. Todėl, optimizuojant darbo sąlygas, būtina veikti šį parametą (arba, paprasčiau, slėgio kritimą kolonėlėje), priklausomai nuo to, ar norima pagerinti atskyrimą, ar pagreitinti analizę.

4.1.2. Teorinių lėkščių (efektyvumo) ir atskiriamosios galios nustatymas (žr. 1 brėžinį)

Atliekama maždaug lygiais kiekiais paimtų metilstearto ir metiloleato mišinio analizė (pvz., kakao aliejaus metilesterių analizė).

Kolonėlės temperatūra ir dujų nešiklio srauto greitis pasirenkami tokie, kad metilstearto smailė užrašoma praėjus maždaug 15 minučių po tirpiklio smailės užrašymo. Naudojamas pakankamas metilesterių kiekis, kad metilstearto smailė būtų per tris ketvirčius visos skalės aukščio.

Teorinių lėkščių skaičius n (efektyvumas) apskaičiuojamas pagal formulę:

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

ir atskiriamoji galia, R , apskaičiuojama pagal formulę:

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

kuriose:

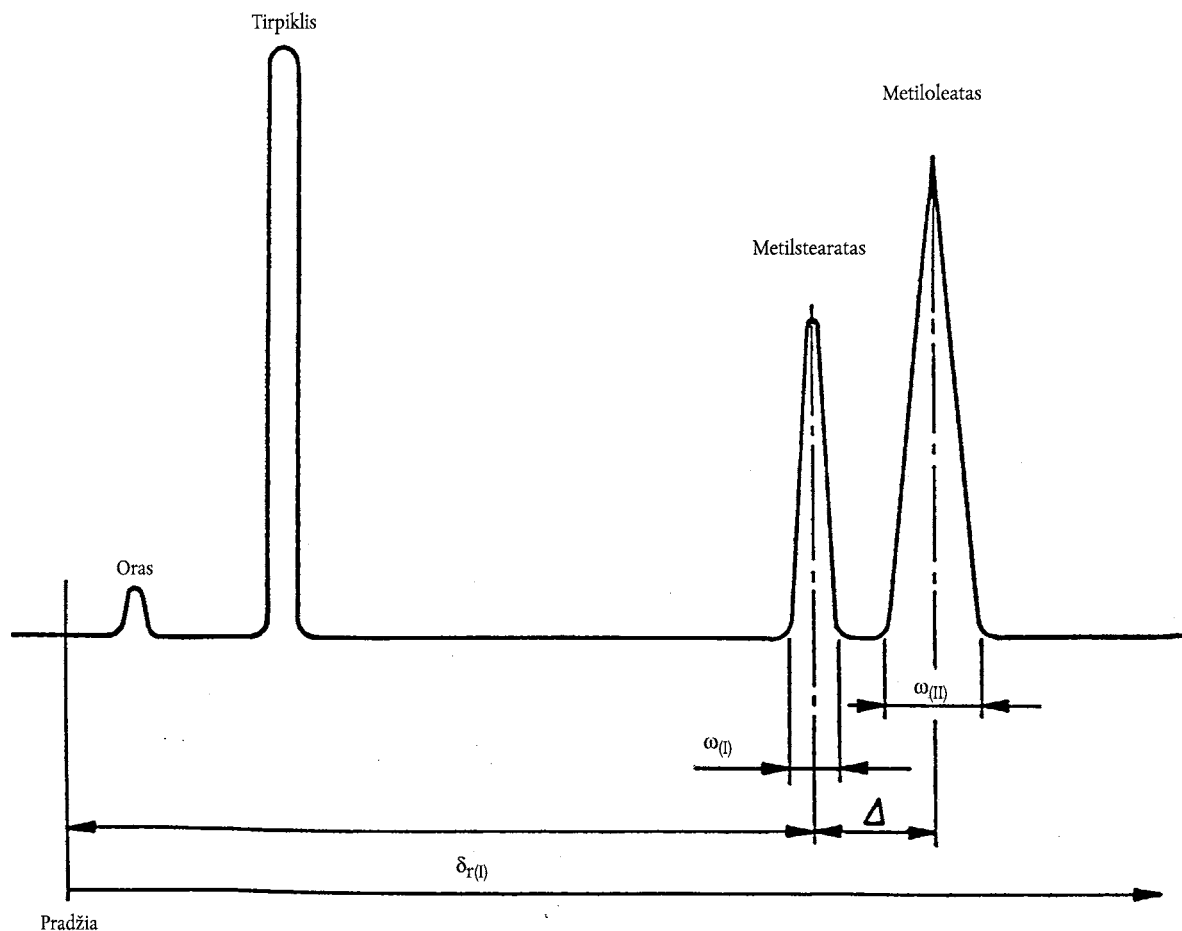
dr_1 yra sulaikymo atstumas nuo chromatogramos pradžios iki metilstearto smailės viršūnės, milimetrais;

ω_1 ir ω_2 yra atitinkamai metilstearto ir metiloleato smailių pločiai, išmatuoti tarp kreivių perlinkio liečiamųjų susikirtimo su pagrindo linija taškų, milimetrais;

Δ yra atstumas tarp metilstearto ir metiloleato smailių viršūnių, milimetrais.

1 brėžinys

Chromatograma teoriniam lėkščių skaičiui (efektyvumui) ir atskiriamajai galiai nustatyti



Reikia pasirinkti tokias darbo sąlygas, kurios leistų analizuojant metilsteartą turėti bent 2 000 teorinių lėkščių vienam kolonėlės ilgio metrui ir ne mažesnę kaip 1,25 atskiriamąją galią.

4.2. Analizei imama bandinio dalis

Mikrošvirkštu (3.2) paimama 0,1–2 µl pagal X B priedą paruoštų metilesterių ir išvirkščijama į kolonėlę.

Kai esteriai neištirpinti, ruošiamas jų maždaug 100 mg/ml koncentracijos tirpalas chromatografiškai gryname heptane, ir išvirkščijama 0,1–1 ml šio tirpalo.

Jei analizuojamų komponentų yra tik pėdsakai, analizuojama bandinio dalis gali būti padidinta (iki 10 kartų).

4.3. Analizė

Paprastai naudojamos 4.1.1 punkte apibrėžtos darbo sąlygos.

Tačiau kolonėlė gali dirbti žemesnėje temperatūroje, kai reikia analizuoti riebiąsias rūgštis su mažiau kaip 12 anglies atomų, arba aukštesnėje temperatūroje, kai analizuojamos riebiosios rūgštys su daugiau kaip 20 anglies atomų. Kartais abiem šiais atvejais galima naudoti temperatūros programavimą. Pavyzdžiui, jei bandinį sudaro mažiau nei 12 anglies atomų turinčių riebiųjų rūgščių metilesteriai, bandinys išvirkščijamas 100 °C temperatūroje (arba 50–60 °C, jei yra sviesto rūgšties) ir iš karto temperatūra 4–8 °C/min. greičiu keliama iki optimalios. Kai kuriais atvejais abi metodikos gali būti naudojamos kartu.

Po programuojamo temperatūros pakėlimo, išplovimas tęsiamas pastovioje temperatūroje, kol išplaukami visi komponentai. Jei prietaisas neturi programuoto kaitinimo, jis naudojamas esant dviem fiksuotoms temperatūroms tarp 100 ir 195 °C.

Prireikus patikrinti, ar nėra paslėptų smailių, pvz., kartu esant konjuguotiems

C_{18:3} ir C_{20:0} arba C_{18:3} ir C_{18:2} junginiams, rekomenduojama analizę atlikti su dviem nejudančiomis fazėmis, turinčiomis skirtingą poliškumą.

4.4. Etaloninės chromatogramos ir etaloninių grafikų ruošimas

Tomis pačiomis sąlygomis, kurios naudojamos bandiniui analizuoti, analizuojamas etaloninis mišinys (2.3), išmatuojamos mišinį sudarančių riebiųjų rūgščių sulaikymo trukmės arba sulaikymo atstumai. Kiekvienam nesotumo laipsniui pusiau logaritminiame popieriuje braižomas sulaikymo trukmės arba atstumo logaritmo priklausomybės nuo anglies atomų skaičiaus grafikas. Pastovios temperatūros sąlygomis linijinės grandinės rūgščių su tuo pačiu nesotumo laipsniu grafikai turi būti tiesės. Šios tiesės turi būti daugiau arba mažiau lygiagrečios.

Būtina išvengti sąlygų, kuriomis galėtų atsirasti „paslėptų smailių“, t. y. kai atskiriamoji galia yra nepakankama dviems komponentams atskirti.

5. REZULTATŲ APSKAIČIAVIMAS

5.1. Kokybinė analizė

Iš grafikų, gautų pagal 4.4 punktą, identifikuojamos bandinio metilesterių smailės, prireikus taikant interpoliaciją.

5.2. Kiekybinė analizė

5.2.1. Sudėties nustatymas

Išskyrus ypatingus atvejus, naudojamas vidinio normalizavimo metodas, t. y. daroma prielaida, kad chromatogramoje yra visi bandinio komponentai, todėl bendras smailių plotas atstovauja 100 % visų išplautų komponentų.

Jei įranga turi integratorių, naudojami juo gauti skaičiai. Jei integratoriaus nėra, kiekvienos smailės plotas apskaičiuojamas, padauginant jos aukštį iš pusaukščio pločio, kur reikia atsižvelgiant į užrašymo metu naudotus skirtingus signalo silpninimo laipsnius.

5.2.2. Apskaičiavimo metodas

5.2.2.1. Bendras atvejis

Duoto komponento *i* kiekis, reiškiamas metilesterių masės procentine dalimi, apskaičiuojamas nustatant procentinę atitinkamos smailės ploto dalį visų smailių plote pagal formulę:

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

kurioje:

A_i yra *i* komponentą atitinkančios smailės plotas;

$\sum A$ yra visų smailių plotų suma.

Rezultatas pateikiamas vieno ženklų po kablelio tikslumu.

7 pastaba. Šiuo bendru atveju laikoma, kad apskaičiavimų, kurie remiasi santykiniais plotais, rezultatas reiškia masės procentinę dalį. Apie atvejus, kuriems ši prielaida netaikytina, žr. 5.2.2.2 punkte.

5.2.2.2. Korekcijos koeficientų naudojimas

Kai kuriais atvejais, pvz., esant riebiosioms rūgštims, turinčioms mažiau kaip aštuonis anglies atomus, arba rūgštims su kitomis funkcinėmis grupėmis, kai naudojami šilumos laidumo detektoriai arba kai yra svarbu didesnis tikslumas, procentinei smailių ploto daliai paversti masės procentine dalimi turi būti naudojami korekcijos koeficientai.

Korekcijos koeficientai nustatomi pasinaudojant chromatogramomis, gautomis analizuojant žinomos sudėties metilesterių etaloninį mišinį sąlygomis, atitinkančiomis bandinio analizės sąlygas.

Šiam etaloniniam mišiniui *i* komponento masės dalis apskaičiuojama pagal formulę:

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

kurioje:

m_i yra etaloninio mišinio *i* komponento masė;

$\sum m$ yra įvairių etaloninio mišinio komponentų masių suma.

Pagal etaloninio mišinio chromatogramą (4.4) i komponento ploto procentinė dalis apskaičiuojama taikant formulę:

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

kurioje:

A_i yra i komponentą atitinkančios smailės plotas;

$\sum A$ yra visų smailių plotų suma.

Tokiu būdu korekcijos koeficientas apskaičiuojamas pagal formulę:

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

Paprastai skaičiuojamas korekcijos koeficientų santykis su K_{C16} , todėl santykiniai koeficientai atrodo taip:

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

Bandiniui kiekvienos i sudėtinės dalies kiekis, skaičiuojant metilesterių masės procentais, yra lygus:

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

Rezultatai pateikiami vieno ženklo po kablelio tikslumu.

5.2.2.3. Vidinio etalono naudojimas

Kai kurių analizių atvejų (pvz., kai skaičiavimuose naudojamos ne visos rūgštys, pvz., kai neskaičiuojamos kartu su 16 ir 18 anglies atomų turinčiomis rūgštimis esančios keturis ir šešis anglies atomus turinčios rūgštys, arba kai būtina nustatyti absoliutų riebiųjų rūgščių kiekį bandinyje) būtina naudoti vidinį etaloną. Dažnai naudojamos riebiųjų rūgštys su penkiaais, 15 arba 17 anglies atomų. Vidiniam etalonui turi būti nustatytas korekcijos koeficientas (jei toks naudojamas).

Procentinė i komponento masės dalis, skaičiuojant metilesteriais, nustatoma pagal formulę:

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

kurioje:

A_i yra i-ąją sudėtinę dalį atitinkančios smailės plotas;

A_s yra vidinį etaloną atitinkančios smailės plotas;

K'_i yra i-osios sudėtinės dalies santykinis korekcijos koeficientas pagal K_{C16} ;

K'_s yra vidinio etalono santykinis korekcijos koeficientas pagal K_{C16} ;

m yra analizuojamos bandinio dalies masė, miligramais;

m_s yra vidinio etalono dalies masė, miligramais.

Rezultatai pateikiami vieno ženklo po kablelio tikslumu.

6. ATSKIRAS ATVEJIS – KATAROMETRINIO DETEKTORIAUS (VEIKIANČIO ŠILUMOS LAIDUMO KITIMO PRINCIPU) NAUDOJIMAS

Riebiųjų rūgščių metilesterių kokybinei ir kiekybinei sudėčiai nustatyti taip pat gali būti naudojamas dujų chromatografas, naudojantis detektoriu, veikiantį šilumos laidumo kitimo principu (katarometrą). Jei naudojamas katarometras, 3 ir 4 punkte nurodytos sąlygos turi būti pakeistos, kaip parodyta 3 lentelėje.

Kiekybinėje analizėje naudojami 5.2.2.2 punkte apibrėžti korekcijos koeficientai.

3 lentelė

Kintamasis	Parametro vertė
Kolonėlė	Ilgis: 2–4 m Vidinis skersmuo: 4 mm
Kietas nešiklis	Grūdelių dydis 160–200 µm
Nejudančiosios fazės koncentracija	15–25 % (m/m)
Dujos nešiklis	Helis arba, jo neturint, vandenilis su kiek galima mažesniu deguonies kiekiu
Pagalbinės dujos	Nereikia
Inžektoriaus temperatūra	40–60 °C aukštesnė nei kolonėlės
Kolonėlės temperatūra	180–200 °C
Dujų nešiklio srauto greitis	Paprastai 60–80 ml/min.
Įpurškiamos bandinio dalies dydis	Paprastai 0,5–2 µl

7. ANALIZĖS ATASKAITA

Analizės ataskaitoje nurodomi metilesterių gamyboje ir dujų chromatografinėje analizėje naudoti metodai ir gauti rezultatai. Joje taip pat nurodomos visos darbo detalės, neapibrėžtos šiame tarptautiniame standarte, arba laikomos pasirinktinėmis, kartu nurodant bet kokių atsitikimų, galėjusių turėti įtakos rezultatams, aplinkybes.

Analizės ataskaitoje nurodoma išsami visiškam bandinio identifikavimui reikalinga informacija.

X B PRIEDAS

RIEBIŲJŲ RŪGŠČIŲ METILESTERIŲ GAMYBA PAGAL REGLAMENTO (EEB) Nr. 72/77 VI PRIEDO I IR II DALIS ARBA PAGAL TOLIAU APRAŠYTĄ METODĄ**PRATARMĖ**

Proceso pasirinkimą diktuoja rūgščių sudėtis ir analizuojamos riebalinės medžiagos rūgštingumas bei atliekama dujų chromatografinė analizė.

Būtent:

- riebiosioms rūgštims su mažiau kaip 12 anglies atomų gali būti taikomi tiktai procesai užlydytoje ampulėje arba panaudojant dimetilsulfatą,
- riebalinėms medžiagoms, kurių rūgštingumas didesnis kaip 3 %, gali būti taikomi tiktai procesai, kuriuose naudojamas metanolio-hidrochlorido mišinys arba metilsulfatas,
- *trans*-izomerų dujų chromatografinėje analizėje gali būti taikomi tiktai tie procesai, kuriuose naudojamas natrio metilatas arba dimetilsulfatas,
- gaminti mažų kiekių riebalinių medžiagų, atskirtų plonasluoksnės chromatografijos metodu, metilesteriams turi būti taikomas metanolio-heksano-sieros rūgšties procesas.

I nemuilingų medžiagų buvimą galima nekreipti dėmesio, jeigu jų kiekis neviršija 3 %, priešingu atveju metilesteriai turi būti gaminami iš riebiųjų rūgščių.

1. TIKSLAS IR NAUDOJIMO SRITIS

Pateikiamas penkių procesų metilesteriams iš riebalinių medžiagų pagaminti aprašymas:

- a) su natrio metilatu;
- b) su natrio metilatu užlydytoje ampulėje;
- c) su metanolio-hidrochlorido mišiniu užlydytoje ampulėje;
- d) su dimetilsulfatu;
- e) su metanolio-heksano-sieros rūgšties mišiniu.

A procesas**2. METODO ESMĖ**

Riebalinė medžiaga, kurią ruošiamasi analizuoti, prijungus grįžtamąjį kondensatorių šildoma su metanolio ir natrio metilatu. Gauti metilesteriai ekstrahuojami dietileteriu.

3. APARATŪRA

- 3.1. 100 ml talpos kolba, šlifo movomis sujungta su grįžtamojo kondensatoriumi, viršuje turinčiu natrio kalkėmis užpildytą vamzdelį.
- 3.2. 50 ml talpos menzūra.
- 3.3. 5 ml matavimo pipetė, sugraduota 0,1 ml padalomis.
- 3.4. 250 ml talpos dalijamieji piltuvai.
- 3.5. 200 ml kolba.

4. REAGENTAI

- 4.1. Absoliutusias metanolis.

- 4.2. Maždaug 1 % natrio metilato tirpalas metanolyje, ruošiamas ištirpinant 0,34 g metalinio natrio 100 ml abso-
liučiojo metanolio.
- 4.3. Dietileteris.
- 4.4. Natrio chlorido 10 % tirpalas.
- 4.5. Petroleteris, virimo temperatūra 40–60 °C.

5. DARBO EIGA

- 5.1. Į 100 ml kolbą įdedama 2 g riebalinės medžiagos, kuri prieš tai išdžiovinama virš natrio sulfato ir nufiltruo-
jama. Įpilama 35 ml metanolio ir keletą minučių virinama, prijungus grįžtamąjį kondensatorių.
- 5.2. Šildymas nutraukiamas, kondensatorius atjungiamas, greitai įpilama 3,5 ml natrio metilato tirpalo ir vėl bent
tris valandas virinama su prijungtu kondensatoriumi. Metilinimas yra baigtas, kai visa riebalinė medžiaga
suskystėja ir reagentų mišinys kambario temperatūroje tampa visiškai skaidriu.
- 5.3. Reakcijos mišinys ataušinamas, supilamas į 250 ml dalijamąjį piltuvą, įpilama 35–40 ml dietileterio, 100 ml
vandens ir 5–6 ml 10 % natrio chlorido tirpalo. Suplakama ir leidžiama sluoksniams atsiskirti. Vandeninis
sluoksnis perpilamas į kitą dalijamąjį piltuvą ir dar kartą ekstrahuojamas 25 ml dietileterio.

Į apjungtus eterinius ekstraktus įpilama 50 ml 40–60 °C temperatūroje verdančio petroleterio. Atsiskiria van-
duo, kuri galima išleisti.

Eterinis sluoksnis tris kartus plaunamas 10–15 ml vandens, džiovinamas virš natrio sulfato ir filtruojamas per
popierių, filtratą surenkant į 200 ml kolbą.

Tirpiklis nugarinamas iki 20 ml tūrio, procesą užbaigiant ant vandens vonios gryo azoto srovėje.

B procesas

2. METODO ESMĖ

Riebalinė medžiaga, kurią ruošiamasi analizuoti, užlydytoje ampulėje veikiama natrio metilato tirpalu meta-
nolyje, esant 85–90 °C temperatūrai.

3. APARATŪRA

- 3.1. Maždaug 5 ml talpos (aukštis 40–45 mm, skersmuo 14–16 mm) ampulė iš atsparaus stiklo.
- 3.2. 1 ml matavimo pipetė sugraduota 0,1 ml padalomis.

4. REAGENTAI

- 4.1. Maždaug 1,5 % natrio metilato tirpalas metanolyje. Ruošiamas ištirpinant 0,50 g metalinio natrio 100 ml abso-
liučiojo metanolio.

5. DARBO EIGA

- 5.1. Į stiklinę ampulę įdedama 2 g riebalinės medžiagos, kuri prieš tai išdžiovinama virš natrio sulfato ir nufiltruo-
jama. Įpilama 0,3 g (maždaug 0,4 ml) natrio metilato tirpalo ir ampulė užlydoma.
- 5.2. Ampulė 2 valandoms panardinama į 85–90 °C vonią, kartas nuo karto turinį suplakant. Esterifikavimo pro-
cesas yra užbaigtas, kai ampulės turinys po glicerolio ir reagentų liučio nusėdimo tampa skaidriu.
- 5.3. Ataušinama iki kambario temperatūros. Ampulė atidaroma, kai metilesterius ruošiamasi naudoti. Prieš leidžiant
į dujų chromatografijos prietaisą, jų nereikia papildomai apdoroti.

C procesas

2. METODO ESMĖ

Riebalinė medžiaga, kurią ruošiamasi analizuoti, užlydytoje ampulėje veikiama metanolio-hidrochlorido miši-
niu, esant 100 °C temperatūrai.

3. APARATŪRA

3.1. Maždaug 5 ml talpos (aukštis 40–45 mm, skersmuo 14–16 mm) ampulė iš atsparaus stiklo.

3.2. 1 ir 2 ml matavimo pipetės.

4. REAGENTAI

4.1. 2 % vandenilio chlorido tirpalas metanolyje. Ruošiamas iš dujinio vandenilio chlorido ir absoliučiojo metanolio (1 pastaba).

4.2. Heksanas dujų chromatografijai.

5. DARBO EIGA

5.1. Į stiklinę ampulę įdedama 0,2 g riebalinės medžiagos, kuri prieš tai išdžiovinama virš natrio sulfato ir nufiltruojama, įpilama 2 ml vandenilio chlorido tirpalo metanolyje. Ampulė užlydoma.

5.2. Ampulė 40 minučių panardinama į 100 °C vonią.

5.3. Ampulė ataušinama vandentiekio vandenyje, atidaroma, įpilama 2 ml distiliuoto vandens ir 1 ml heksano. Centrifuguojama, nupilamas heksano sluoksnis, kuris yra paruoštas naudoti.

D procesas

2. METODO ESMĖ

Riebalinė medžiaga, kurią ruošiamasi analizuoti, muilinama kalio hidroksido tirpalu metanolyje, vėliau apdorojama dimetilsulfatu. Įpylus druskos rūgšties, susidarę metilesteriai savaime atsiskiria. Po tolesnio apdorojimo aliuminio oksidu gaunami labai grynai metilesteriai.

3. APARATŪRA

3.1. Maždaug 20 ml talpos mėgintuvėlis iš atsparaus stiklo su 10/19 šlifo kamščiu ir apsauginiais laikikliais.

3.2. Grįžtamieji kondensatoriai su 10/19 šlifo jungtimi.

3.3. G2 poringumo stikliniai filtrai, skersmuo 20 mm.

3.4. Stikliniai maždaug 10 ml talpos mėgintuvėliai su kūginiu dugnu.

3.5. 1 ir 5 ml švirkštai.

4. REAGENTAI

4.1. Kalio hidroksido 10 % tirpalas metanolyje, tinkančiame dujų chromatografijai.

4.2. Indikatorius bromkrezolio žaliasis: 0,05 % tirpalas metanolyje.

4.3. Dimetilsulfatas ($p = 1,335$ 15 °C temperatūroje).

4.4. Koncentruota druskos rūgštis ($p = 1,19$) vienodais tūriais praskiesta metanolium, tinkamu dujų chromatografijai.

4.5. Aliuminio oksidas (*Brockmann*) absorbcinei chromatografijai.

5. DARBO EIGA

5.1. Į 20 ml mėgintuvėlį įdedama 2,2 ml riebalinės medžiagos, kuri prieš tai išdžiovinama virš natrio sulfato ir nufiltruojama. Įpilama 5 ml kalio hidroksido tirpalo ir kelios kvarco granulės virimui reguliuoti. Prijungiamas grįžtamasis kondensatorius ir maišant penkias minutes šildoma ant nedidelės ugnies. Muilinimas yra baigtas, kai tirpalas tampa skaidriu. Paskui ataušinama vandentiekio vandenyje ir nuimamas kondensatorius.

- 5.2. Įlašinami du lašai indikatoriaus ir švirkštu lėtai įleidžiama 1 ml dimetilsulfato. Mėgintuvėlis hermetiškai uždaromas ir plakamas dvi-tris minutes, mėgintuvėlio apačią dažnai įmerkiant į verdantį vandenį. Reakcija baigta, kai indikatoriaus spalva pasikeičia iš mėlynos į geltoną. Galiausiai mėgintuvėlis ataušinamas vandentiekio vandenyje, atkempamas ir įpilama 5 ml druskos rūgšties mišinio su metanoliu.
- 5.3. Kelias sekundes pakratoma, mėgintuvėlis palenkiamas ir švelniai patapšnojamas. Tai pagreitina metilesterių išskilimą į paviršių aliejingos masės pavidalu (A pastaba).

Metilesteriai nusiurbiami švirkštu, supilami į mėgintuvėlį su kūginiu dugnu, įberiama aliuminio oksido, kurio tūris sudaro maždaug $\frac{1}{4}$ metilesterių tūrio, suplakama ir filtruojama per popierių.

A pastaba. Jei metilesteriai neatsiskiria savaime, į mėgintuvėlį įpilama 5 ml vandens ir suplakama.

E procesas

2. METODO ESMĖ

Riebalinė medžiaga, kurią ruošiamasi analizuoti, prijungus grįžtamąjį kondensatorių šildoma su metanolio-heksano-sieros rūgšties mišiniu. Gauti metilesteriai ekstrahuojami petroleteriu.

3. APARATŪRA

- 3.1. Maždaug 20 ml talpos mėgintuvėlis, šlifo jungtimis sujungtas su maždaug 1 m ilgio oriniu grįžtamuoju kondensatoriumi.
- 3.2. 5 ml matavimo pipetė.
- 3.3. 50 ml talpos dalijamasis piltuvas.
- 3.4. 10 ir 25 ml talpos menzūros.
- 3.5. 15 ml talpos mėgintuvėlis su kūginiu dugnu.

4. REAGENTAI

- 4.1. Metilinio reagentas: absoliučiojo metanolio, heksano ir koncentruotos sieros rūgšties ($\rho = 1,84 \text{ g/ml}$) mišinys tūrių santykiu 75:25:1 (V/V/V)
- 4.2. Petroleteris, virimo temperatūra 40–60 °C.
- 4.3. Bevandenis natrio sulfatas.

5. DARBO EIGA

- 5.1. Nuo plokštelės surinkta medžiaga sudedama į 20 ml mėgintuvėlį ir įpilama 5 ml metilinio reagento.
- 5.2. Prijungiamas grįžtamasis kondensatorius ir šildoma 30 minučių verdančio vandens vonioje (2 pastaba).
- 5.3. Mišinys kiekybiškai supilamas į 50 ml talpos dalijamąjį piltuvą, tam sunaudojant 10 ml vandens ir 10 ml petroleterio. Stipriai plakama, sluoksniams leidžiama atsiskirti, vandeninis sluoksnis išleidžiamas, eterinis sluoksnis du kartus plaunamas 20 ml vandens. Į dalijamąjį piltuvą įdedama truputis bevandenio natrio sulfato, suplakama, kelioms minutėms paliekama nusistovėti ir filtruojama, filtratą surenkant 15 ml mėgintuvėlyje su kūginiu dugnu.

Tirpiklis išgarinamas ant vandens vonios azoto srovėje.

1 pastaba. Nedideli kiekiai dujinio vandenilio chlorido gali būti lengvai pagaminti laboratorijoje paprasto išstūmimo būdu, į parduodamą druskos rūgštį ($\rho = 1,18 \text{ g/ml}$) lašinant koncentruotą sieros rūgštį ($\rho = 1,84 \text{ g/ml}$). Išsiskyrusios dujos lengvai išdžiovinamos, leidžiant per koncentruotą sieros rūgštį. Kadangi vandenilio chloridas metanolyje tirpsta labai greitai, patartina imtis tirpinant įprastų atsargumo priemonių, pvz., dujas leisti per mažą apverstą piltuvą, kurio kraštas tik šiek tiek liestų skysto paviršių. Dideli vandenilio chlorido tirpalo metanolyje kiekiai gali būti ruošiami iš anksto, nes tirpalas gerai išsilaiko šlifo kamščiu užkimštuose, laikomuose tamsoje buteliuose.

2 pastaba. Virimo temperatūrai kontroliuoti į mėgintuvėlį įstatoma stiklinė lazdelė ir vandens vonios temperatūra apribojama 90 °C.

XI PRIEDAS

LAKIŲJŲ HALOGENINTŲ TIRPIKLIŲ KIEKIO ALYVUOGIŲ ALIEJUJE NUSTATYMAS

1. METODAS

Dujų chromatografinė analizė, naudojant lakiųjų medžiagų nustatymo tuščioje erdvėje virš produkto metodą.

2. APARATŪRA

2.1. Dujų chromatografijos įrenginys su elektronų pagavos detektoriumi (EPD).

2.2. Lakiųjų medžiagų nustatymo tuščioje erdvėje virš produkto įrenginys.

2.3. Stiklinė dujų chromatografinė kolonėlė, ilgis 2 m, skersmuo 2 mm, nejudančioji fazė gaunama 10 % OV101 arba atitinkama medžiaga impregnuojant iškaitintą, rūgštyje išplautą diatomitą, kurio dalelių dydis 80–100 mešų.

2.4. Dujos nešiklis ir pagalbinės dujos: azotas dujų chromatografijai, tinkamas elektronų pagavos detektavimui.

2.5. 10–15 ml talpos stiklinės kolbos, padengtos teflonu ir aliuminio kamščiu su įtaisu švirkštui įkišti.

2.6. Hermetiškai uždariantys fiksatoriai.

2.7. 0,5–2 ml talpos dujų švirkštas.

3. REAGENTAI

Etalonas: halogeninti tirpikliai, pagal grynumą tinkami dujų chromatografiniai analizėi.

4. DARBO EIGA

4.1. Į stiklinę kolbą (pakartotinai nenaudoti) tiksliai pasveriami apie 3 g aliejaus; kolba hermetiškai uždaroma. Kolba dedama vienai valandai į termostatą, esant 70 °C temperatūrai. Švirkštu paimama tiksliai 0,2–0,5 ml tuščiosios erdvės turinio. Tai įpurškiama į dujų chromatografinę kolonėlę, nustatytą taip:

— inžektoriaus temperatūra: 150 °C,

— kolonėlės temperatūra: 70–80 °C,

— detektoriaus temperatūra: 200–250 °C.

Temperatūros gali būti kitos, jei gaunami tokie patys rezultatai.

4.2. Etaloniniai tirpalai: naudojant grynintą, tirpiklių pėdsakų neturinti alyvuogių aliejų, ruošiami etaloniniai tirpalai, kurių koncentracija 0,05–1 milijonoji dalis (mg/kg), ir kuri atitiktų numatomą kiekį bandinyje. Halogeninti tirpikliai gali būti praskiedžiami pentanu.

4.3. Kiekybinis vertinimas: lyginami bandinio ir etaloninio tirpalo, kurio koncentracija laikoma arčiausia nustatoma, smailių plotai arba aukščiai. Jei nuokrypis yra didesnis kaip 10 %, analizė turi būti pakartojama, lyginant su kitu etaloniniu tirpalu, kol nuokrypis bus 10 % ribose. Kiekis nustatomas remiantis atskirų įpurškimų rezultatų vidurkiu.

4.4. Rezultatų skaičiavimas: milijonosiomis dalimis (mg/kg). Metodo radimo riba 0,01 mg/kg.

XII PRIEDAS

ORGANOLEPTINIS PIRMO SPAUDIMO ALYVUOGIŲ ALIEJAUS VERTINIMAS

1. TIKSLAS

Šio metodo tikslas yra nustatyti kriterijus, reikalingus vertinant pirmo spaudimo alyvuogių aliejaus aromato savybes, ir sukurti metodiką, kuri reikalinga tai atlikti.

2. TAIKYMO SRITIS

Aprašytas metodas tinka tik organoleptiškai vertinti ir klasifikuoti pirmojo spaudimo alyvuogių aliejų, kuris gali būti tiesiogiai vartojamas maistui. Pagal šį metodą galima vertinti tik pirmo spaudimo aliejų pagal skaitmeninę skalę, susietą su aromata sudarančių dirgiklių jutimu, apie kurį sprendžia grupė atrinktų degustatorių-ekspertų.

3. BENDRAS PAGRINDINIS JUTIMINĖS ANALIZĖS ŽODYNAS

Žr. skyrių, pavadintą „Jutiminė analizė: bendras pagrindinis žodynas“.

4. SPECIFINIS ALYVUOGIŲ ALIEJAUS ŽODYNAS

Migdolų: gali būti du šio prieskonio pavidalai: prieskonis, kuris būdingas šviežiems migdolams, arba džiovintų, nesugedusių migdolų prieskonis, kurį galima supainioti su prasidedančiu apkartimu. Būdingas skonis juntamas kaip burnoje likęs skonis, kai aliejus kontaktuoja su liežuviu ir gomuriu. Susijęs su saldžiais aliejais, kurie turi silpną kvapą.

Obuolių: aromatas, kuris primena šį vaisių.

„*Atrojado*“ (*sudvisęs*): prieskonis, būdingas aliejui, pagamintas iš alyvuogių, laikytų kaupuose, kuriose gerokai į priekį pasistūmėjo fermentavimo procesas.

Kartus: skonis, būdingas aliejams, pagamintiems iš žalių arba iš pradedančių nokti alyvuogių. Jis gali būti labiau arba mažiau malonus, priklausomai nuo stiprumo.

Sūrymo : aliejaus, ekstrahuoto iš alyvuogių, kurios buvo konservuojamos sūryme, prieskonis.

Agurkų: aromatas, kuris atsiranda, jei aliejus per ilgai laikomas hermetiškai supakuotas, ypač alavinėse skardinėse, ir kuris priskiriamas 2,6-nonadienaliui.

Žemių: prieskonis, būdingas aliejui, pagamintam iš alyvuogių, surinktų kartu su žemėmis arba purvinų ir nenuplautų. Ši aromata gali lydėti pelėsių ir drėgmės kvapas.

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

Išsivadėjęs arba neaštrus: alyvuogių aliejų, kurių organoleptinės savybės yra labai silpnos dėl kvapą suteikiančių komponentų netekimo, aromatas.

Vaisių: aromatas, kuris primena nesugedusių, šviežių, pačiu palankiausiu nokimo metu nuskintų vaisių kvapą ir skonį.

Žolės: būdingas kai kurių aliejų aromatas, primenantis neseniai nupjautą žolę.

Tepalo: kvapas, kurį turi alyvuogių aliejus, ekstrahuotas ceche, iš kurio įrengimų nebuvo tinkamai pašalinta nafta, tepalas arba mineralinė alyva.

Žalių lapų (kartus): skonis aliejaus, pagaminto iš per žalių alyvuogių arba iš alyvuogių, kurios buvo spaudžiamos kartu su lapais ir šakelėmis.

Kirmėlių: prieskonis būdingas aliejui, pagamintam iš alyvuogių, kurias stipriai puolė alyvmedžių musės (*Dacus oleae*) lervos.

Aitrus: būdingas pojūtis po kai kurių aliejų ragavimo, kurie sukelia visoje burnoje aitrumą.

Šieno: kai kuriems aliejams būdingas aromatas, daugiau arba mažiau primenantis išdžiūvusią žolę.

Pakaitintas arba pridegęs: prieskonis būdingas aliejams, kurie buvo per stipriai ir (arba) per ilgai kaitinami apdorojimo metu, ypač jei spaudžiama masė yra maišoma šiltai ir tai daroma netinkamomis sąlygomis.

Metalo: prieskonis, primenantis metalą. Būdingas aliejams, kurie ilgą laiką netinkamomis sąlygomis kontaktavo su maisto produktais arba metaliniais paviršiais gniuždymo, maišymo, spaudimo arba laikymo metu.

Purvo nuosėdų: prieskonis būdingas aliejui, išgautam iš cisternose ir požeminėse talpyklose dekantuočių nuosėdų.

Pelėsių-drėgmė: prieskonis, būdingas aliejams, pagamintiems iš alyvuogių, kuriose užsiveisė didelis kiekis grybelių ir mielių bakterijų po to, kai kelias dienas drėgnos buvo laikomos supiltos į kaupus.

Senas: prieskonis, būdingas aliejui, kuris buvo ilgai laikytas saugojimo talpose. Taip pat gali atsirasti aliejuose, kurie buvo per ilgai laikomi supakuoti.

Išspaudų: būdingas prieskonis, primenantis alyvuogių išspaudų kvapą.

Spaudimo demблиo: prieskonis būdingas aliejui, pagamintam iš alyvuogių, presuotų nešvariuose spaudimo demблиuose, kuriuose buvo likę susifermentavusių likučių.

Apkartę: prieskonis, būdingas visiems aliejams ir riebalams, kuriuose ilgai kontaktuojant su oru įvyko autooksidacija. Šis prieskonis yra nemalonus ir negali būti pašalintas.

Prinokusių vaisių: iš paprastai kiek silpnoką kvapą ir saldų skonį turinčių alyvuogių pagaminto aliejaus aromatas.

Sunkus: būdingas kai kurių aliejų jutimas, kuris ragaujant visoje burnoje sukelia tirštumo, klampumo pojūtį.

Muilo: prieskonis, sukeliantis uoslės-skonio pojūtį, kuris primena žalio muilo aromatą.

Saldus: malonus skonis, negalima sakyti, kad saldus, tačiau jį turi aliejai, kuriuose kartumo, aitrumo ir aštrumo požymiai nevyrauja.

Augalinio vandens: būdingas aliejaus igautas prieskonis, kuris atsiranda dėl blogo dekantavimo ir ilgo kontakto su augaliniu vandeniu.

Vyno-acto: būdingas kai kurių aliejų aromatas, primenantis vyną arba actą. Atsiranda daugiausia dėl acto rūgšties, etilacetato ir etanolio susidarymo didesniais negu alyvuogių aliejaus kvapui įprasta kiekiais.

5. STIKLINĖ ALIEJUI RAGAUTI

Žr. skyrių „Stiklinė aliejui ragauti“.

6. ANALIZĖS KAMBARYS

Žr. skyrių „Analizės kambario įrengimo nurodymai“.

7. APARATŪRA

Kad degustatorius galėtų tinkamai atlikti savo uždavinį, kiekvienoje kabinoje jis turi turėti galimybę naudotis tokia aparatūra:

- stiklinės (standartizuotos) su bandiniais, paženklintos kodu, sudaryta iš dviejų atsitiktinai paimtų skaitmenų arba iš dviejų skaitmenų ir raidžių. Ženklinimas turi būti atliekamas neištrinamu, bekvapiu pieštuku,
- laikrodiniai stiklai su tokiu pačiu ženklinimu, stiklinėms uždengti,
- diagraminį vertinimo lapą (žr. 2 brėžinį), su instrukcija, kaip juo naudotis,
- pieštukas arba plunksnakotis,
- maži padėklai su obuolių riekutėmis,
- stiklinė kambario temperatūros vandens.

8. METODOLOGIJA

Šiame skyriuje aptariami išankstiniai duomenys, kurie reikalingi atlikti pirmo spaudimo alyvuogių aliejaus jutiminę analizę ir mėginama standartizuoti ką atliekant tokią analizę turi daryti ir kaip turi elgtis degustatoriai, kurie privalo žinoti bendrąsias ir specifines rekomendacijas atliekant alyvuogių aliejaus degustavimą.

8.1. Degustatorių grupės organizatoriaus arba vadovo arba pačios degustatorių grupės pareigos

Degustatorių grupės organizatorius turi būti tinkamai paruoštas, išmanantis žmogus, ekspertas tų aliejų rūšių, su kuriomis jam tenka susidurti darbe. Jis yra pagrindinė degustatorių grupės figūra ir yra atsakingas už jos organizavimą ir veiklą. Jis sukviečia degustatorius iš anksto ir išsiaiškina visas abejones, kurias jie gali turėti dėl degustavimo, tačiau susilaiko nuo nuomonės apie bandinį siūlymo.

Jis atsakingas už aparatūros inventorizaciją ir už tai, kad ji būtų tinkamai išplauta, už bandinių ruošimą ir kodavimą bei jų pateikimą degustatoriui pagal atitinkama eksperimento planą, taip pat už gautų duomenų surinkimą ir jų statistinį apdorojimą taip, kad kuo mažesnėmis pastangomis būtų gauti geriausi rezultatai.

Degustatorių grupės vadovo darbas reikalauja turėti jutiminės analizės patyrimo, kruopštumo ruošiant analizes ir jų griežto organizavimo, taip pat patyrimo ir kantrybės planuojant ir atliekant analizes. Degustatorių grupės vadovo pareiga gerinti degustatorių grupės narių moralinę būseną, skatinant jų suinteresuotumą, susidomėjimą ir lenktynių dvasią. Jis turi užtikrinti, kad jo nuomonė būtų nežinoma, ir turi neleisti galimiems lyderiams įrodinėti savo kriterijų kitiems degustatoriams. Jis taip pat atsakingas už degustatorių ruošimą, atranką ir kontrolę, siekiant įsitikinti, ar jų sugebėjimai yra pakankami.

8.2. Analizės sąlygos

8.2.1. Bandinio dydis

Kiekvienoje stiklinėje turi būti 15 ml aliejaus.

8.2.2. Temperatūra, kurioje atliekama analizė

Analizei skirti bandiniai turi būti laikomi stiklinėse 28 ± 2 °C temperatūroje. Ši temperatūra buvo pasirinkta todėl, kad ji yra geriausia lengvai pastebėti organoleptinius skirtumus normalioje temperatūroje, kai aliejai naudojami kaip uždaras. Kitas svarbus faktorius, yra tas, kad žemesnėje temperatūroje per mažas aromatinių komponentų lūkas, o aukštesnėje susidaro pakaitintiems aliejams būdingi lakūs komponentai.

8.2.3. Analizės laikas

Aliejų analizę geriausiai atlikti ryte. Buvo įrodyta, kad skoniui ir kvapui justi yra optimalūs jutimo periodai dienos metu.

Prieš valgį padidėja uoslės-skonio jautrumas, tuo tarpu po valgio šis jautrumas sumažėja.

Tačiau dėl šio kriterijaus nereikia nukrypti į kraštutinius, jei alkis galėtų blaškyti degustatorių dėmesį, taip sumažindamas jų sugebėjimą atskirti ir, ypač, jų preferencijas ir priimtino kriterijus.

9. DEGUSTATORIAI

Degustatoriai, kurie atlieka maistui naudojamų alyvuogių aliejų organoleptinę analizę, ruošiami ir trenkiami pagal jų sugebėjimus justti skirtumus tarp panašių bandinių. Reikia turėti omenyje, kad jų tikslumas pagerėja treniruojantis (žr. atitinkamą skirsnį).

Analizei reikia 8–12 degustatorių, nors išmintinga atsargai turėti papildomą jų skaičių, kad būtų galima pakeisti neatvykusius.

9.1. Bendros rekomendacijos dėl kandidatų ir degustatorių

Šiose rekomendacijose nurodoma, kaip kandidatai ir degustatoriai turi elgtis darbo metu.

Degustatorius, degustatorių grupės vadovo pakviestas dalyvauti organoleptinėje analizėje, turi galėti atvykti iš anksto numatytu laiku ir turi laikytis tokių nurodymų:

- 9.1.1. Nerūkyti bent pusvalandį iki analizei atlikti numatyto laiko.
- 9.1.2. Nenaudoti jokių kvėpalų, kosmetikos arba muilo, kurių kvapas gali išlikti iki analizės pradžios. Rankoms plauti naudoti nekvėpintą arba šiek tiek kvapnų muilą, paskui jas skalauti ir šluostyti tiek kartų, kiek reikia bet kokiam kvapui pašalinti.
- 9.1.3. Nevalgyti bent valandą prieš analizę.
- 9.1.4. Jei jis fiziškai jaučiasi nekaip, ir ypač, jei paveiktas jo kvapo ir skonio jutimas, arba jei jis yra tokios psichologinės būsenos, kuri neleidžia jam susikaupti darbui, degustatorius apie tai praneša grupės vadovui, siekdamas nedalyvauti analizėje arba kad būtų priimti atitinkami sprendimai, turint omenyje galimus nukrypimus nuo likusios grupės narių gautų vidutinių verčių.
- 9.1.5. Jei degustatorius įvykdo anksčiau nurodytus punktus, jis kiek galima tvarkingiau ir tyliau užima vietą jam skirtąje kabinoje.
- 9.1.6. Atsisėdęs jis pasitikrina, ar turi reikiamą aparatūrą ir ar ji tinkamai sutvarkyta, bei įsitikina, ar kodas ant stiklinės sutampa su kodu ant laikrodinio stiklo.
- 9.1.7. Jis kruopščiai perskaito ant vertinimo lapo pateiktas instrukcijas ir nepradedą tirti bandinio, kol visiškai neišsiaiškina, ką jis turi padaryti. Iškilus bet kokiai abeijonei, jis pasitaikiusius sunkumus atskirai nuo kitų aptaria su degustatorių grupės vadovu.

- 9.1.8. Degustatorius pakelia stiklinę, laikydamas ją uždengtą laikrodiniu stiklu, ir švelniai palenkia; paskui jis suka stiklinę visiškai nekeisdamas jos padėties, kad jos vidus susivilgytų kaip galima daugiau. Užbaigęs šią pakopą, jis nuima laikrodinį stiklą ir uosto bandinį, tolygiai ir lėtai įkvėpdamas, kol jis susidaro nuomonė apie vertinamą aliejų. Uostymas neturi trukti ilgiau kaip 30 sekundžių. Jei per šį laiką išvada nepadaroma, prieš mėgindamas tai vėl padaryti, jis truputį pailsi. Atlikęs uostymo analizę, degustatorius sprendžia apie aromatą (bendras uoslės-skonio-lytėjimo pojūtis). Tą jis daro nugarodamas mažą, maždaug 3 ml, aliejaus gurkšnelį. Labai svarbu aliejų paskleisti po visą burnos ertmę nuo priekinės burnos dalies ir liežuvio išilgai šonų iki užpakalinės dalies ir iki gomurio galo, kadangi žinoma, jog keturių pirminių skonių – saldaus, sūraus, rūgštaus ir kartaus – jutimo stiprumas keičiasi priklausomai nuo liežuvio ir gomurio vietos.

Svarbu, kad pakankamas aliejaus kiekis būtų labai lėtai paskleistas ant užpakalinės liežuvio dalies link gerklės, kai tuo tarpu degustatorius koncentruoja dėmesį į tai, kokia tvarka atsiranda kartus ir aitrus dirgikliai; jei tai nepadaroma, kai kuriuose aliejuose abiejų šių dirgiklių galima nepastebėti arba kartus dirgiklis gali būti užgožtas aitraus dirgiklio.

Trumpi, nuoseklūs oro įkvėpimai per burną leidžia degustatoriui ne tik plačiai paskleisti bandinį po visą burną, bet ir nosies užpakaline dalimi pajusti lakius aromatinius komponentus.

Į lytėjimo pojūtį turi būti taip pat atsižvelgta. Todėl takumas, lipnumas ir aštrumas arba gėlimas juos nustatius pažymimi ir, jei to reikalauja analizė, kiekybiškai įvertinamas jų stiprumas.

- 9.1.9. Kad būtų išvengta kontrasto efekto, kuris gali atsirasti iš karto ragaujant kitus bandinius, organoleptiškai analizuojant pirmo spaudimo alyvuogių aliejų vienu metu turi būti vertinamas tik vienas bandinys.

Nuoseklūs ragavimai sukelia nuovargį arba netenkama jautrumo, todėl yra labai svarbu vartoti produktą, kuris iš burnos gali pašalinti prieš tai ragauto aliejaus likučius.

Rekomenduojama valgyti mažas obuolio riekes (apie 15 g), kurias sukramčius, galima išspjauti į spjau-dyklę. Paskui burna skalaujama nedideliu kiekiu kambario temperatūros vandens. Tarp vieno ragavimo pabaigos ir kito pradžios turi praeiti ne mažiau 15 minučių.

9.2. Kandidatų atranka

Šį darbą atlieka degustatorių grupės organizatorius, kuris asmeniškai kalbasi su kandidatais, norėdamas susipažinti su jais kaip asmenybėmis ir su juos supančia aplinka. Fiziopsichologinės sąlygos, su kuriomis teks susidurti, nėra labai griežtos, kadangi teoriškai bet kuris normalus žmogus galėtų dalyvauti degustuojant aliejų. Tokie faktoriai, pvz., lytis, amžius, specifiniai įpročiai (rūkymas) ir t. t. šiais laikais yra išstumti kitų, pvz., sveikata, asmeninis interesas ir laiko dirbti turėjimas.

Pokalbio metu degustatorių grupės organizatorius kandidatui paaiškina užduoties savybes ir maždaug kiek tai užims laiko. Paskui jis gauna informaciją iš kandidato, kuri leidžia įvertinti jo interesą ir motyvaciją bei kiek realiai jis turi laiko. Toliau pateikiamas klausimynas gali padėti kaip pavyzdys.

KLAUSIMYNAS

Prašome atsakyti į tokius klausimus:

- | | | |
|---|----------------------------------|--------------------------------|
| 1. Ar norėtumėte dalyvauti tokiaame darbe? | Taip
☐ | Ne
☐ |
| 2. Ar manote, kad šis darbas gali prisidėti prie maisto produktų kokybės pagerinimo vidaus ir tarptautinėje rinkoje? | Taip
☐ | Ne
☐ |
| 3. Jei taip, tai kodėl? (¹) | | |
| | | |
| | | |
| 4. Jūs turite žinoti, kad turėsite ragauti aliejus, kai būsite pakviestas tai daryti. Ar jūs būsite pasiruošęs tai daryti? | Taip
☐ | Ne
☐ |
| 5. Ar norėtumėte palyginti jūsų uoslės ir skonio sugebėjimus su jūsų kolegų sugebėjimais? | Taip
☐ | Ne
☐ |
| 6. Ar jūs laisvas laiko požiūriu? Ar esate pakankamai nepriklausomas, kad galėtumėte kaip norite organizuoti dienos darbą? | Taip
☐ | Ne
☐ |
| 7. Jei turite viršininką, ar manote, kad, kai jūs negalėsite būti įprastiniame darbe maždaug po pusvalandį kelis kartus kelias dienas iš eilės, jums bus leista tai daryti? | Taip
☐ | Ne
☐ |
| 8. Ar galėsite kompensuoti jūsų darbe prarastą laiką dėl dalyvavimo jutiminėje analizėje? | Taip
☐ | Ne
☐ |
| 9. Ar manote, kad už darbą turėtų būti atlyginta? | Taip
☐ | Ne
☐ |
| 10. Kokiu būdu? | Taip
☐ | Ne
☐ |

Organizatorius šia informaciją panaudoja kandidatams atrinkti ir atmeta tuos, kurie mažai domisi tokio pobūdžio darbu, kuriuos nelengva pasikviesti arba kurie nesugeba aiškiai dėstyti savo minčių.

9.3. Grupės „vidutinės ribos“ „būdingiems požymiams“ nustatymas

Kruopščiai atrenkami keturi aliejai, kurių kiekvienas laikomas atstovaujančiu vienam šių požymių: „atroja-do“ (sudvisęs), vyno, apkartęs ir kartus, ir šių požymių stiprumas yra kiek galima didesnis ir ryškesnis.

Paimama alikvotinė kiekvieno aliejaus dalis ir ruošiami du kartus besiskiriančių koncentracijų bandiniai, sudarantys atitinkamu nešikliu padarytų nuoseklių praskiedimų eilę, kol neįmanoma nustatyti skirtumo tarp nešiklio ir dviejų arba trijų paskutinių praskiedimų. Paskutinė pora yra dvi stiklinės su nešikliu.

Eilė užbaigiama stiklinėmis su didesne koncentracija, kol iš viso jų bus aštuonios.

Paruošiamas pakankamas bandinių su skirtingomis koncentracijomis kiekis, kad kiekvienam kandidatui būtų galima duoti visą eilę bandinių pagal kiekvieną požymį.

Kandidatų „vidutinei ribai“ pagal kiekvieną požymį nustatyti kiekvienam jų duodama viena stiklinė su 15 ml bet kurios paruoštos koncentracijos aliejaus ir kita stiklinė, kurioje būtų 15 ml vien tik nešiklio. Atlikęs analizę, kandidatas nurodo, ar jose buvo tas pats produktas ar stiklinių turinys skiriasi.

Ta pati analizė pakartojama su likusiomis nagrinėjamam požymiui nustatyti turimomis koncentracijomis.

Užrašomas teisingų atsakymų, kuriuos degustatoriai gavo kiekvienai koncentracijai, skaičius ir šis skaičius pateikiamas procentais nuo visų atliktų analizių skaičiaus.

(¹) Aprašykite, kuo naudingas organoleptinis bet kokio maisto vertinimas arba, jei norite, aliejaus vertinimas.

Tuomet abscisėje didėjančia tvarka pažymimos analizuotos koncentracijos, ordinatėje – procentinis kiekis teisingų kiekvienos koncentracijos nustatymų.

Praktinis šių nurodymų pavyzdys pateiktas 1 brėžinyje. Radimo riba nustatoma į abscisę ekstrapoliuojant kreivės 75 % teisingų įvertinimų ordinatės tašką.

Ši „ribinė“ koncentracija, kuri kiekvienam pradiniam aliejui gali skirtis, nes ji priklauso nuo turimo požymio stiprumo, turi būti panaši skirtingoms grupėms kandidatų į įvairias degustatorių grupes; ji nesusieta su kokiu nors įpročiu arba tendencingu polinkiu. Tai yra palyginamasis taškas, bendras bet kuriai žmonių grupei, kuris gali būti naudojamas suvienodinti įvairias degustatorių grupės vien tik pagal jų uoslės-skonio jautrumą.

Remiantis grupei gauta ribine koncentracija, toliau daroma taip:

Eilė tirpalų su didėjančiomis ir mažėjančiomis koncentracijomis paruošiama tokiu būdu, kad „ribinė koncentracija“ joje užimtų 10-ąją vietą. Savaime aišku, kad 11-oji ir 12-oji koncentracija bus mažesnės, taigi dėl to bus sunkiau nustatyti aliejaus, turinčio parinktą požymį, buvimą.

Laikant koncentraciją C_{10} pagrindine, kiti bandiniai gali būti paruošti pagal tokią formulę:

$C_{10} \times a^n$, kurioje „a“ yra pastovus dydis, praskiedimo koeficientas, kuris lygus 1,5, „n“ yra laipsnio rodiklis, kuris kinta nuo 9 iki –2.

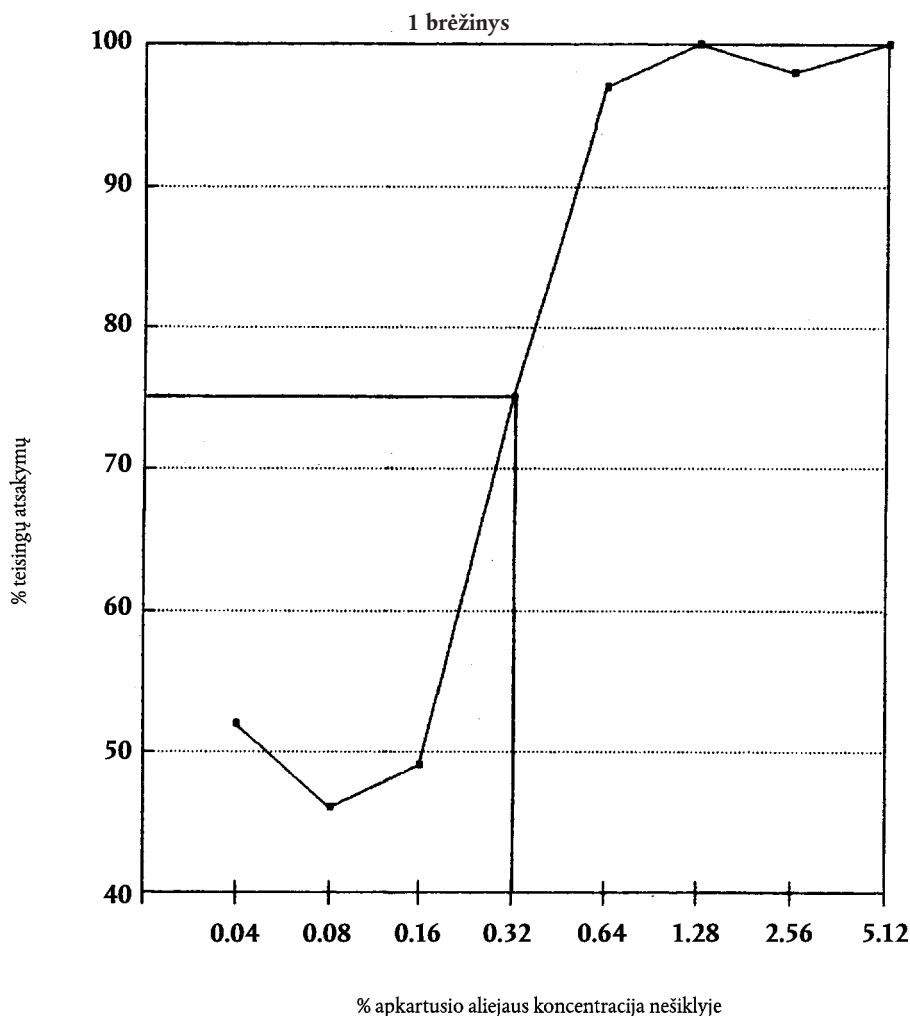
Pavyzdys: darant prielaidą, kad apkartusiam aliejui gauta ribinė koncentracija lygi 0,32; $C_{10} = 0,32$, ir kadangi „a“ = 1,5, tai šios koncentracijos pagrindu bandinių eilė turėtų tokias koncentracijas:

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

Jei ši procedūra pakartojama su trimis likusiais požymiais, atsižvelgiant į jų atitinkamas ribines koncentracijas, kurios skaičiuojamos lygiai taip pat kaip nurodyta anksčiau, visose laboratorijose kiekvienam dirgikliui bus gautos skalės su panašiais kvapo stiprumais, nors pirminių aliejų trūkumų jautimas gali būti skirtingo stiprumo.

9.4. Degustatorių atranka pagal stiprumo įvertinimo metodą

Atrankoje turi dalyvauti du arba tris kartus daugiau kandidatų, nei jų reikia degustatorių grupei, tam kad galima būtų išrinkti žmones, turinčius geriausią jautrumą arba sugebėjimus atskirti. Visuomet patartina naudoti tokį patį produktą, kuris bus vėliau analizuojamas, taigi visuomet naudojamas alyvuogių aliejus.



Renkantis metodą negalima neteikti reikšmės tam, kad metodika turi būti ne tik efektyvi, bet ir kiek galima ekonomiškesnė, turint omenyje aliejaus kiekį, siunčiamų bandinių skaičių ir atrankai sugaištą laiką. Atrankos metodikos efektyvumas priklauso nuo to, kaip parenkami optimalūs šių trijų priklausomų kintamųjų lygiai: a) „kaina“, kurią apsprendžia analizių skaičius; b) „dalis“ potencialiai tinkamų kandidatų, kurie, deja, atsitiktinai atrankos metu nebuvo atrinkti; ir c) „dalis“ kandidatų, kurie praėjo atrankos procesą, nors yra netinkami.

Pasirinkus keturis atrankos metodikos punktus, stiprumo įvertinimo tyrimas, kuris aprašytas ASTM (*American Society for Testing Materials* – Amerikos medžiagų tyrimo draugija), STP (*Special Technical Publication* – Speciali techninė publikacija) Nr. 440, 53 puslapyje, buvo pakeistas:

- 1) sumažinant bandinių skaičių eilėje;
- 2) išplečiant dirgiklių intervalą, siekiant padidinti uoslės-skonio pastabų, kuriomis remiasi atranka, skaičių, tam kad dirgikliai būtų priderinti prie dažniausiai alyvuogių aliejuje juntamų trūkumų;
- 3) keičiant koncentracijų santykius eilėje;
- 4) statistiškai apdorojant rezultatus.

Reikalinga aparatūra

- 1 500 ml talpos buteliai arba stiklinės kolbos,
- tamsaus stiklo stiklinės bandiniams ragauti,
- graduoti 10, 15, 1 000 ir 1 500 ml mėgintuvėliai.

Reikalingos medžiagos

- Merck parafinas (pozicijos numeris 7 160, DAB 8, USP XX) arba aliejingas nešiklis be skonio ir kvapo (neseniai išrafinuotas alyvuogių aliejus arba kitas panašus aliejus),
- aliejai: „atrojado“ (sudvisės), vyno, apkartės ir kartus.

9.4.1. Darbo eiga

Paruošus praskiestus aliejus, pereinama prie atrankos pakopos, pradedant 25 kandidatais pagal toliau kiekvienam dirgikliui aprašytą metodiką:

1. Paruošiamas kodu pažymėtas 12-os ragavimo stiklinių rinkinys (po vieną rinkinį kiekvienam kandidatui). Į kiekvieną atitinkamą ragavimo stiklinę įpilama po 15 ml kiekvienos pagal formulę $C_{10} \times a^n$ apskaičiuotos koncentracijos aliejaus tirpalo.
2. Kad bandinių temperatūra būtų vienoda su aplinkos temperatūra, laikrodiniu stiklu uždengtos ragavimo stiklinės su įpiltu turiniu turi būti ne mažiau kaip valandą prieš analizės pradžią laikomos analizės kambarioje 20–22 °C temperatūroje.
3. Toliau organizatorius 12 kiekvieno rinkinio ragavimo stiklinių sustato į eilę mažėjančios koncentracijos tvarka.

Kitas žingsnis yra paprašyti kiekvieno kandidato pačiam atlikti analizę pagal tokius nurodymus:

9.4.2. Nurodymai kandidatams

Į 12 prieš kandidatus išrikiuotų ragavimo stiklinių įpilta kurį nors vieną dirgiklį – „atrojado“ (sudvisęs), vyno, apkartęs ar kartus – turinčio aliejaus tirpalų. Skiriamasis ragavimo stiklinių turinio faktorius yra kvapo stiprumas. Stiklinė su stipriausiu kvapu yra kraštinė kairėje pusėje, kitos stiklinės išrikiuotos stiprumo mažėjimo tvarka dešinėn. Paskutinioji dešinėje ragavimo stiklinė gali turėti tokį silpną kvapą, kad jo gali būti neįmanoma nustatyti.

Daroma taip: susipažįstama su kiekvienos rinkinio ragavimo stiklinės kvapu. Tai daroma, pradedant dešiniąja (12-ąja), ir stengiamasi nepervargstant išsaugoti visų kvapų stiprumą.

Kai jaučiama, kad jau susipažinta su kvapų koncentracijos skale, išeinama iš kambario.

Per tą laiką organizatorius paima vieną rinkinio ragavimo stiklinę iš jos vietos ir padeda ją vietoj paskutiniosios dešiniajame krašte, visas kitas paslinkdamas kartu taip, kad būtų užimta ištuštėjusi vieta. Tuomet sugrįžtama į kambarį ir analizė tęsiama.

Analizė susideda iš to:

Kad iš rinkinio paimta ragavimo stiklinė turi būti padėta į jos tikrąją vietą. Kad pavyktų tai padaryti, kiek norima kartų ji uostoma ir lyginama su kitomis stiklinėmis, turint omenyje, kad norint grąžinti ją į tikrąją vietą, ji turi kvepėti stipriau nei stiklinė jai iš dešinės ir silpniau nei stiklinė jai iš kairės. Ši analizė pakartojama su trimis kitomis stiklinėmis.

Be tik ką aprašytų nurodymų, analizei ir atsakymų surinkimui palengvinti kiekvienam kandidatui išduodamas blankas.

KANDIDATŲ ATRANKA

Analizės Nr. Požymis

Stiklinė paimta iš padėties Nr.

Data Pavardė

9.4.3. Rezultatų gavimas

Degustatorių grupės organizatorius kandidatų duomenų sutvarkymui palengvinti užrašo juos tokių būdu:

Kandidato pavardė	Tirtas požymis	Pateiktas eilės Nr. (K')	Tikslus eilės Nr. (K)	Vertinimas (K' — K) ²
.....				
.....				

9.4.4. Statistinio vertinimo metodika

Šiuo konkrečiu atrankos atveju ragavimo stiklinės, kurios turi būti grąžintos į jų tikslią vietą, yra tos pačios visiems kandidatams. Pagal šiuo tikslu atliktus statistinius skaičiavimus, jos rinkinyje kiekvienam požymiui atitinka tokią vietą:

„Atrojado“ (sudvisės) (Fy)	Vyno (W)	Apkartinės (Rd)	Kartus (Bt)
Stiklinės Nr. (10, 5, 7, 2)	Stiklinės Nr. (11, 3, 8, 6)	Stiklinės Nr. (7, 4, 10, 2)	Stiklinės Nr. (6, 3, 11, 9)

Skaicius, atitinkantis stiklinių numerį rinkinio eilėje, negali keistis, kadangi statistiniai šios analizės skaičiavimai buvo daromi atsižvelgiant į tikimybę stiklinėms būti pastatytoms į jų tikslių vietą.

Siekiant labai apsunkinti kandidatams galimybę keistis informacija, degustatorių grupės organizatorius užtikrina, kad:

- 1) kandidatai neturėtų galimybių kontaktuoti. Kiekvienam kandidatui duodami skirtingi kodai;
- 2) kandidatai nerastų būdo sužinoti paimtos stiklinės tikslių vietą;
- 3) nors visi kandidatai gauna tas pačias anksčiau nurodytas stiklines, jų gavimo eiliškumas kiekvienam kandidatui skirsis.

Toliau kiekvienas kandidatas įvertinamas, atsižvelgiant į jo darbo rezultatus, tokiu būdu:

Sakykim, kad $e^i_1, e^i_2, \dots, e^i_{12}$ yra 12 stiklinių su 12 atitinkamų „I“ požymio koncentracijų (i gali būti bet kuris vienas iš keturių požymių: „atrojado“ – sudvisės, vyno, apkartinės ir kartus), išdėstytų stiprumo mažėjimo tvarka.

Tegul e^i_k yra viena iš paimtų stiklinių ir K' yra padėtis, kurią jai paskyrė kandidatas po vietos rinkinyje pakeitimo. Taigi, K ir K' vertės yra sveiki skaičiai nuo 1 iki 12 imtinai, atitinkantys tikrąjį eilės numerį ir atitinkamai tą numerį, kurį paskyrė kandidatas.

Sakykim, T (didžiausias leistinas nuokrypis) yra iš anksto nustatyta vertė, kuri mūsų atveju lygi 3, todėl, jeigu $K' - K > T$, kandidatas automatiškai atmetamas ⁽¹⁾.

Jei, priešingai, $K' - K \leq T$, kandidatas teoriškai priimamas ir gali tęsti analizę, kadangi jis arba ji sugeba nustatyti dirgiklio stiprumo tikslią vietą arba bent netoli nuo jos.

Šiuo atveju kandidatui, kuris įvertino nustatytą dirgiklį (koncentraciją), pvz., „atrojado“ (sudvisės) (Fy) rinkinyje, suteiktas vertinimas lygus skirtumo tarp tikslaus stiklinės numerio rinkinio eilėje ir kandidato paskirtos padėties numerio kvadratui. T. y.:

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

Kadangi šią operaciją kiekvienas kandidatas atliks su keturiais kiekvieno požymio dirgikliais (koncentracijomis), dalinis įvertinimas už požymį (pvz., Fy) būtų:

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

Šios operacijos suvokimui palengvinti toliau pateikiami kai kurie pavyzdžiai.

1 pavyzdys.

Sakykime, kad A kandidato pateikti atsakymai apie keturis dirgiklius paimtus iš rinkinio požymiui (i) yra tokie:

Tiksliai stiklinės padėtis rinkinyje (K)	Padėtis, į kurią ją grąžino kandidatas (K')	Nukrypimas nuo tikslios padėties (K' - K)
7	7	7 - 7 = 0
4	5	4 - 5 = - 1
10	6	10 - 6 = 4 ⁽¹⁾
2	4	2 - 4 = - 2

⁽¹⁾ Šis kandidatas atmetamas, kadangi bandyme jis gavo $T > 3$.

⁽¹⁾ Degustatorių grupės organizatorius turi verstis kandidatą elgtis protingai, t. y. neprarasti jautrumo dėl uoslės nuovargio.

2 pavyzdys.

Sakykime, kad kandidatas požymiui (i) skirtas stiklines sustato taip:

Tiksli stiklinės padėtis rinkinyje (K)	Padėtis, į kurią ją grąžino kandidatas (K')	Nukrypimas nuo tikslios padėties (K' – K)
7	7	7–7 = 0
4	4	4–4 = 0
10	7	10–7 = 3
2	3	2–3 = – 1

Šis kandidatas neatmetamas. Jis gavo įvertinimą:

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

Kandidato galutinis vertinimas, patvirtinant jo priėmimą, atmetimą arba išrinkimą degustatoriumi, atsižvelgiant į jo atsakymus apie keturis nagrinėjamus požymius, būtų toks:

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

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

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

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

$$Z \text{ galutinis} = Z^{Fy} \dots Z^{Bt}$$

kurioje: Fy = „Atrojado“ — sudvisės,

W = vyno,

Rd = apkartės,

Bt = kartus.

Dabar lieka nuspręsti, iki kokios didžiausios Z vertės kandidatas gali būti laikomas turinčiu gerus jutimo, uoslės pojūčių išsaugojimo ir intelekto organizavimo lygius, kad galėtų duoti teisingą atsakymą apie keturis nagrinėjamus dirgiklius. Akivaizdu, kad Z visuomet yra teigiamas dydis ir $Z = 0$ reiškia, kad kandidatas atpažino ir teisingai kiekybiškai įvertino visus 16 pateiktų stiprumo verčių (po keturias kiekvienam požymiui). Didesnės už nulį vertės rodo, kad kandidatas nustatė dirgiklio stiprumo skalės sritis, iš kurių parinkti stiprumai buvo paimti, tačiau šių sričių viduje nesugebėjo nustatyti tikslios padėties, kadangi jo sugebėjimas atskirti vieną ar daugiau požymių stiprumo skalėje nepatenkinamas.

Taigi, turi būti nustatyta tokia kritinė vertė (Z_c), kad jeigu kandidatas atsitiktinai sustato visas stiklines viduje sričių, kurias jis atpažino iš anksto, galutinio įvertinimo Z mažesnės už Z_c tikimybė yra pakankamai mažas dydis (α), kuris gali būti užsibrėžtas iš anksto. Kitaip tariant, turi būti užtikrinta, kad, naudojant šią metodiką, tikimybė, kad degustatorių grupei atrenkant degustatorių, kuris neturi pakankamo sugebėjimo atskirti atrankos procese naudojamų dirgiklių stiprumą, yra mažesnė kaip α .

Kai α vertė yra nustatyta (mūsų atveju 0,05), Z_c gaunamas pagal kintamojo Z tikimybės skirstinį, kuris savo ruožtu priklauso nuo P kintamųjų (K') tikimybės skirstinių.

Pagal atitinkamus statistinius apskaičiavimus Z_c vertė lygi 34.

Kai gaunami visų kandidatų Z vertinimai, bet kuris kandidatas, kurio įvertinimas yra didesnis kaip 34, eliminuojamas.

Kaip pavyzdys pateikiami A ir B kandidatų įvertinimai:

Požymis	A kandidatas	B kandidatas
„Atrojado“ – sudvisės (Fy)	$Z^{Fy} = 10$	$Z^{Fy} = 12$
Vyno (W)	$Z^W = 10$	$Z^W = 11$
Apkartės (Rd)	$Z^{Rd} = 10$	$Z^{Rd} = 15$
Kartus (Bt)	$Z^{Bt} = 4$	$Z^{Bt} = 0$
	$\Sigma = 34$	$\Sigma = 38$

Jei du nagrinėjami kandidatai turi atitinkamas Z vertes 34 ir 38, A kandidatas paliekamas, B kandidatas atmetamas. Eliminavus visus kandidatus, kurių įvertinimas yra didesnis kaip 34, likę klasifikuojami pagal jų Z vertes, kol atrenkama 12 geriausių kandidatų.

9.5. Mokymas

Pagrindiniai mokymo pakopos tikslai yra šie:

- a) supažindinti degustatorius su daugybe uoslės-skonio-lytėjimo variantų, pasitaikančių pirmo spaudimo alyvuogių aliejuose;
- b) supažindinti degustatorius su specifine jutimine metodika;
- c) didinti asmens igudimą atpažįstant, identifikuojant ir kiekybiškai įvertinant jutiminius požymius ir
- d) pagerinti jautrumą ir atmintį įvairiems analizuojamiems požymiams taip, kad galutinis rezultatas būtų tikslus ir suderinamas įvertinimas.

Mokymo pakopą paprastai sudaro keli susirinkimai, priklausomai nuo degustatorių grupės turimų galimybių, ir mokymai, kurių metu po individualios aliejų analizės degustatoriai su degustatorių grupės organizatoriumi aptaria sunkumus, su kuriais jiems teko susidurti, ir išsako pastabas apie duotus vertinimus, kad būtų suvienodinti kriterijai ir nuomonės.

Po eilės pratybų pasiektas lygis vertinamas tikslų atsakymų procentinio kiekio padidėjimu, jei naudojami atpažinimo bandymai, arba analizuojant degustatorių grupės vidutinių individualių įvertinimų kitimą, kai atliekamos analizės pagal stiprumų skalę.

Praktinė šio mokymo laikotarpio nauda buvo išsamiai aptarinėjama, tačiau dabartiniu metu manoma, kad mokymas yra labai efektyvi ir netgi pagrindinė priemonė tikslams, teisingiems jutiminiams duomenims gauti.

9.6. Darbo efektyvumo tikrinimai

Patyrusių degustatorių grupės reguliariai ir nuolat atlieka degustacijas, kurias sudaro jutiminės analizės, reikalaujančios didelių degustatorių pastangų. Labai svarbūs technologiniai ir komerciniai sprendimai didele dalimi priklauso nuo jų įvertinimo. Dėl šios priežasties po atrankos ir mokymo degustatorių darbas, siekiant užtikrinti jų rezultatų tikslumą, turi būti tikrinamas.

Po degustatorių grupių sudarymo ir po įprastų jų patikrinimų yra akivaizdu, kad būtina jų darbą reguliariai tikrinti.

10. PIRMO SPAUDIMO ALYVUOGIŲ ALIEJAUS ORGANOLEPTINIO ĮVERTINIMO METODIKA

Kai įvykdomos anksčiau nurodytų standartų sąlygos, yra reikiamos priemonės ir atrinkta degustatorių grupė, kiekvienas degustatorius uosto ir ragauja ⁽¹⁾ analizei skirtą bandinį, kuris yra ragavimo stiklinėje. Jis analizuoja uoslės, skonio, lytėjimo ir kinestezinius pojūčius pagal 2 brėžinyje parodytą diagraminį lapą, kuriame jis užrašo „skiriamuosius bruožus“ ir jų stiprumo laipsnį. Kitas jo žingsnis yra aliejaus kokybės įvertinimas.

10.1. Diagraminio lapo, pavaizduoto 2 brėžinyje, pildymas (aromato aprašymas ir kokybės vertinimas)

Kai kurie būdingiausi dažniausiai alyvuogių aliejuose pasitaikantys jutimo pojūčiai, apibendrinantys aromatą, surašyti kairėje lapo pusėje. Jei degustatorius aptinka kokių nors kitų dirgiklių, kurie neatitinka išvardytų aprašymų, jis pažymi juos žemiau skiltyje „kiti“, aprašydamas požymį (-ius), kuris (-e) kuo tiksliau apibūdintų dirgiklį.

Juntami dirgikliai įvertinami proporcingai jų stiprumui, kuris atitinkamame langelyje pažymimas kryželiu (+), vadovaujantis tokiais kriterijais:

- 1: beveik nejuntamas,
- 2: vos juntamas,
- 3: vidutinis,
- 4: stiprus,
- 5: ypač stiprus.

Dešinėje lapo pusėje parodyta skalė nuo 1 iki 9 taškų (9 už ypač gerą kokybę, 1 už blogiausią kokybę), pagal kurią degustatoriai duoda vieną, bendrą analizuoto aliejaus savybės įvertinimą. Šis įvertinimas turi atitikti kairėje lapo pusėje jau pažymėtus teigiamus požymius ir aliejaus trūkumus.

⁽¹⁾ Jis gali susilaikyti, kai nustato bet koki ypač arba stipriai nemalonų požymį kvape, tai pažymėdamas vertinimo diagramoje kaip išimtį.

Pirmasis vertinimo lentelės stulpelis (trūkumai) padalintas į penkias dalis. Todėl aliejų klasifikacija turi būti pirmiausia grindžiama blogų aromatų visišku nebuvimu arba buvimu, bei tuo, kaip rimtai arba stipriai tie trūkumai pasireiškia. Tačiau, kadangi vertinimo skalė yra iki 9 taškų, reikia atsižvelgti į kai kuriuos antrame stulpelyje po pavadinimu „savybės“ aprašytus niuansus arba aspektus, kurie padeda pasiekti apibendrinantįjį kokybės įvertinimo sprendimą.

10.2. Galutinis įvertinimas

Degustatorių grupės vadovas surenka kiekvieno degustatoriaus užpildytas formas ir patikrina, ar jutimo požymiai ir šių požymių jutimo stiprumas, užrašyti diagraminiame lape sutampa su aliejaus įvertinimu, įrašytu vertinimo lape. Jei yra pastebimas skirtumas, grupės vadovas prašo degustatorių patikrinti savo vertinimo lapą.

Prireikus degustatorius pakartoja analizę.

Galiausiai degustatorių grupės vadovas sudaro lentelę su visos grupės vertinimais ir apskaičiuoja aritmetinį vidurkį ir paklaidos dydį (vidurkio).

Tik analizių atliekant patikrinimus atveju grupė pakartoja analizes, kad gautų trigubą bandinio vertinimą; galutinis vertinimas su vienu skaičiumi po kablelio bus trijų pateiktų vertinimų vidurkis.

Jei vidutinis kartumo ir (arba) aštrumo stiprumo vertinimas yra didesnis kaip 2,5, aliejus turi būti atitinkamai pažymėtas, ir turi būti užrašyta, kad jis yra kartus ir (arba) aštrus.

Rezultatų pateikimas: remdamasis įvertinimo vidurkiu, degustatorių grupės vadovas nustato kategoriją, į kurią bandinys patenka, atsižvelgdamas į I priede nustatytas ribas. Analizės ataskaitoje nurodoma tik ši kategorija.

Pastaba. Kol bus analizuojami, bandiniai turi būti uždaryti ir laikomi šaldytuve, ir po kiekvienos analizės sudedami atgal į šaldytuvą, kol nebus atlikta triguba analizė.

2 brėžinys
Pirmo spaudimo alyvuogių aliejus

Diagraminis lapas
Uoslės-skonio-lytėjimo skiriamieji bruožai ⁽²⁾

	0	1	2	3	4	5
Alyvuogių (prinokusių ir žalių) ⁽¹⁾						
Obuolių						
Kitų prinokusių vaisių						
Žalias (lapai, žolė)						
Kartus						
Aštrus						
Saldus						
Kitas (-i) leistas (-i) požymis (-iai)						
(Nurodyti)						
.....						
Surūgęs/vyno/acto/rūgštus ⁽¹⁾						
Sunkus						
Metalo						
Priplėkęs/drėgmė ⁽¹⁾						
Purvo nuosėdų						
Sudvisęs („atrojado“)						
Apkartęs						
Kitas (-i) neleistinas (-i) požymis (-iai)						
(Nurodyti)						
.....						

⁽¹⁾ Išbraukti, kur netaikoma.

⁽²⁾ Jutimas:

0: (1),

1: beveik nejuntamas

2: vos juntamas

3: vidutinis

4: stiprus

5: ypatingai stiprus.

Vertinimo lentelė

Trūkumai	Savybės	Bendri vertinimo taškai
Nėra	Alyvuogių aromatas	9
	Alyvuogių vaisių ir kitų šviežių vaisių aromatas	8
		7
Truputį ir vos juntami	Bet kurios rūšies vaisių silpnas aromatas	6
Juntami	Trūkumų turintis vaisių aromatas, neįprasti kvapai ir skoniai	5
Žymūs, priimtino ribose	Aiškius trūkumus turintys nemalonūs kvapai ir skoniai	4
Dideli ir (arba) rimti, aiškiai juntami		3
	Visiškai vartoti neleistini kvapai ir skoniai	2
		1

Pastabos:

Degustatoriaus pavardė:

Bandinio kodas:

Data:

JUTIMINĖ ANALIZĖ: BENDRAS PAGRINDINIS ŽODYNAS

1. TIKSLAS

Šio standarto tikslas surinkti jutiminėje analizėje vartojamus bendrus terminus ir juos apibrėžti.

2. ŽODYNAS

2.1. **Bendroji terminologija**

Jutiminė analizė (daiktavardis):

organoleptinių produkto požymių tyrimas jutimo organais.

Jutimas (daiktavardis):

jutiminis išorės daiktų arba įvykių buvimo patvirtinimas.

Organoleptinis (būdvardis) (požymis):

nusako produkto požymį, juntamą jutimo organais.

Ekspertas (daiktavardis):

(organoleptinių požymių tyrimo srityje)

degustatorius, kuris specializuojasi tam tikro produkto jutiminėje analizėje ir turi bendrą supratimą apie produkto gamybą ir rinkos preferencijas.

Degustatorius (daiktavardis):

įžvalgus, pagaulus, paruoštas asmuo, parinktas vertinti maisto organoleptinius požymius jutimo organais.

Degustatorių grupė:

vertintojų, kurie buvo specialiai atrinkti ir paruošti ir kurie susirenka atlikti produkto jutiminę analizę kontroliuojamomis sąlygomis, grupė.

Pojūtis (daiktavardis):

subjektyvus reiškiny, jutiminės sistemos dirginimo pasekmė. Šis reiškiny dalyvaujančio jutimo organo gali būti subjektyviai išskirtas arba objektyviai apibrėžtas priklausomai nuo dirgiklio prigimties ir rūšies bei jo stiprumo.

Jautrumas (daiktavardis):

gebėjimas jutimo organais kokybiškai ir kiekybiškai suvokti silpną dirgiklį arba mažus skirtumus tarp dirgiklių.

Ragavimas (daiktavardis):

veiksmas, kurį sudaro organoleptinių, ypač uoslės, skonio, lytėjimo ir kinestezinių maisto produkto požymių jutimas, analizavimas ir vertinimas.

Pripažinimas (daiktavardis):

atskiro žmogaus arba visų gyventojų produkto palankaus priėmimo veiksmas.

Harmonija (daiktavardis):

produkto požymis, sukeliantis bendrą malonų pojūtį. Šį pojūtį sukelia produkto uoslės, skonio, lytėjimo ir kinestezinių dirgiklių jutimas, kadangi tinkamas jų koncentracijų santykis.

Priimtinumas (daiktavardis):

atskiro žmogaus arba gyventojų pagal organoleptinius požymius palankiai įvertinto produkto būsenos apibūdinimas.

Atskyrimas (daiktavardis):

kokybinio ir (arba) kiekybinio skirtumo tarp dviejų arba kelių dirgiklių arba daugiau nustatymo veiksmas.

Kompensacija (daiktavardis):

dirgiklių derinio sąveikos, kai kiekvienas jų yra juntamas silpniau, negu jis veiktų atskirai, rezultatas.

Aspektas (daiktavardis):

vizualiai juntamų organoleptinių požymių visuma: dydis, forma, spalva, struktūra, drumstumas, švarumas, takumas, putojimas ir dujų skyrimasis. Šis terminas taikytinas vietoje išvaizdos termino.

Požymis (daiktavardis):

juntama savybė.

2.2. **Fiziologiniai terminai**

Dirgiklis (daiktavardis):

fizikinis ar cheminis veiksnys, kuris specifiskai sukelia išorinių ar vidinių jutiminių receptorių atsakomąją reakciją.

Skonio pojūtis (daiktavardis):

(skonis)

pojūtis, kurio receptoriai yra burnoje, ypač ant liežuvio, ir kuriuos aktyvuoja įvairūs junginiai tirpale.

Skoninis (būdvardis):

aprašo produkto požymį, kuris gali dirginti skonio organus, sužadindamas pojūčius, kurie priklauso vienam iš keturių pirminių skonių: saldus, sūrus, rūgštus ir kartus.

Receptorius (daiktavardis):

specifinė jutiminio organo dalis, kuri gali būti sužadinta dirgiklio ir gali į jį reaguoti, dirginimą paversdama nervine atsakomąja reakcija.

Pastaba. Receptoriai klasifikuojami pagal su dirgikliu susijusios energijos pobūdį (šviesos, šilumos, garso ir t. t.).

Uoslė (daiktavardis):

uoslės aparato funkcija per nosį suvokti ir jausti skirtumą tarp molekulių, kurios jį pasiekia dujų pavidalu iš išorinės tiesiogiai arba netiesiogiai per nosį aplinkos.

Stiprumas (daiktavardis):

požymio poveikio dydis, kuris aukščiau slenkščio gali būti matuojamas pagal kiekybinę verčių skalę.

Prisitaikymas (daiktavardis):

laikinas jautrumo, pajuntant jutiminius dirgiklius, pasikeitimas dėl nuolatinio, pasikartojančio veikimo tam tikru dirgikliu arba į jį panašiu dirgikliu.

Slopinimas (daiktavardis):

per maža jutimo organo arba jo dalies atsakomoji reakcija, nors jis buvo veikiamas tinkamo dirgiklio, kurio stiprumas viršija slenkstį.

Atsakas (daiktavardis):

veiksmas, kuriuo jutiminės ląstelės atsako į vieno arba kelių konkretaus jutimo organo dirgiklių veikimą.

Tirštumas (daiktavardis):

burna juntamas lytėjimo pojūtis, kuris įvertina produkto tankio, klampio, konsistencijos arba kompaktiškumo dydį.

Aromatas (daiktavardis):

šviežias, malonus, puikus kvapas.

Uostyti (veiksmažodis):

(uostymas aktyvia žodžio prasme)

aprašo kvapo uostymo veiksmą.

Objektyvus (būdvardis):

a) apibūdina tai, kas duoda tikrą, patikrinamą objekto vaizdą, iki minimumo sumažinant žmogiškuosius faktorius (pvz., pirmenybės teikimą, įprotį, polinkį);

b) apibūdina metodiką, kuri jutiminių arba instrumentinių metodų pagalba iki minimumo sumažina savaime atsirandančias klaidas.

Pastaba. Vartoti terminą „instrumentinis“ kaip sinonimą nepatartina.

Subjektyvus (būdvardis):

apibūdina tai, kas juntama ne tik dėl dirgiklio veikimo, bet ir įtakojama mūsų mąstymo ir jutimo būdo.

Kinestezija (daiktavardis)

pojūčiai, kurie atsiranda dėl bandinių veikiančio slėgio, kai jis juda burnos ertmėje arba kai maigomas pirštais (pvz., sūrio spaudimas pirštais).

Slenkstis (daiktavardis)

Absoliutusias slenkstis:

mažiausia jutiminio dirgiklio stiprumo vertė, kurią peržengus:

- atsiranda pojūtis (dirgiklio slenkstis arba nustatymo riba) arba
- pojūtis identifikuojamas (atpažinimo slenkstis).

Atskyrimo slenkstis:

minimali jutiminio dirgiklio stiprumo vertė, kuriai esant juntamas pojūčio stiprumų skirtumas.

Ribinis slenkstis:

didžiausia dirgiklio stiprumo vertė, aukščiau kurios stiprumo didėjimas nejuntamas.

Preferencijos slenkstis:

minimali kiekybinė dirgiklio vertė arba šio dirgiklio kritinė viršslenkstinė vertė, kai neutralaus dirgiklio atsiranda atžvilgiu potraukio arba atmetimo reakcija, pvz., pasirenkant tarp saldinto tirpalo ir vandens.

Pastaba. Reikia skirti absoliutųjį preferencijos slenkstį ir diferencinį preferencijos slenkstį.

Poslenkstinis (būdvardis):

žemiau absoliučiojo slenksčio.

Viršslenkstinis (būdvardis):

virš absoliučiojo slenksčio.

Jutiminis nuovargis:

specifinė jutiminio prisitaikymo forma, kai sumažėja jautrumas.

Kompensacija (daiktavardis):

dirgiklių derinio, kai kiekvienas jų yra juntamas silpniau, negu jis veiktų atskirai, sąveikos rezultatas.

Sinergetinis (būdvardis):

duotų medžiagų bendras efektas arba veikimas, kai jų derinio organoleptinių požymių stiprumas yra didesnis lyginant su kiekvieno atskirai veikiančio požymio stiprumų suma.

Kontrasto efektas:

atsakomosios reakcijos į skirtumus tarp dviejų vienalaikių arba nuoseklių dirgiklių padidėjimas.

Priešingas konvergavimo efektui.

Konvergavimo efektas:

atsakomosios reakcijos į skirtumus tarp dviejų vienalaikių arba nuoseklių dirgiklių sumažėjimas; priešingas kontrasto efektui.

2.3. Organoleptiniams požymiams nusakyti vartojama terminologija

Rūgštus (būdvardis):

- a) apibūdina pirminį skonį, kurį sukelia daugumos rūgščių medžiagų praskiesti tirpalai (pvz., citrinų rūgštis, pieno rūgštis, vyno rūgštis);
- b) apibūdina šį skonį sukeliančių grynų medžiagų arba jų mišinių požymį.

Atitinkamas daiktavardis yra rūgštingumas.

Surūgęs (būdvardis):

apibūdina uoslės-skonio pojūtį, kai vyrauja rūgštys, dažniausiai susidaranti rūgstant, taip pat produktus, kurie sukelia šį pojūtį.

Kai kurie veiksniai, kurie prisideda prie šio pojūčio, yra susiję su maisto produkto rūgimu, pvz., pienarūgštis arba actarūgštis rūgimas.

Kartus (būdvardis):

- a) apibūdina pirminį skonį, kurį sukelia įvairių medžiagų, pvz., chinino, kofeino ir tam tikrų alkaloidų, praskiesti tirpalai;
- b) apibūdina gryną medžiagų arba mišinių, kurios sukelia šį skonį, požymį.

Atitinkamas daiktavardis yra kartumas.

Sūrus (būdvardis):

- a) skonio receptoriais juntamas būdingas pojūtis, kurio tipiškiausias pavyzdys yra natrio chlorido tirpalo sukeltas skonis;
- b) apibūdina gryną medžiagų arba mišinių, kurios sukelia šį skonį, požymį.

Atitinkamas daiktavardis yra sūrumas.

Saldus (būdvardis):

- a) apibūdina pirminį skonį, kurį sukelia įvairių medžiagų, pvz., sacharozės, praskiesti tirpalai;
- b) apibūdina gryną medžiagų arba mišinių, kurios sukelia šį skonį, požymį.

Atitinkamas daiktavardis yra saldumas.

Aitrus (būdvardis):

- a) apibūdina sudėtingą pojūtį, kurį sukelia burnoje įvairių medžiagų, tarp jų kai kurių taninų, pvz., churmos taninų ir laukinės slyvos taninų, praskiesti tirpalai;
- b) apibūdina gryną medžiagų arba mišinių, kurie sukelia šį pojūtį, požymį.

(Atitinkamas daiktavardis yra aitrumas.)

Aromatas (daiktavardis):

aromas reiškia uoslės-skonio-lytėjimo ir kinestezinių pojūčių derinį, kuris leidžia vertintojui identifikuoti ir nustatyti daugialygmenį palankų arba nepalankų kriterijų.

Skonis (daiktavardis):

- a) pojūčiai, kurie juntami skonio receptorių dirginant kai kuriomis tirpiomis medžiagomis;
- b) šiomis medžiagomis sukulto specifinio pojūčio požymis.

Pirminis skonis (daiktavardis):

bet kuris iš būdingų skonių, kurių, kaip manoma, yra keturi: saldus, sūrus, rūgštus, kartus.

Kvapas (daiktavardis):

- a) pojūčių, kuriuos uoslės organas junta uostant duotas lakiąsias medžiagas, derinys;
- b) bet kurios šių medžiagų sukulto specifinio pojūčio požymis.

Aromatas (daiktavardis):

- a) malonūs pojūčiai, kuriuos uoslės organas netiesiogiai junta ragaujant maistą;
- b) parfumerijoje ir nespacializuotoje kalboje šis terminas taip pat taikomas tiems patiems tiesiogiai nosimi juntamiems pojūčiams.

Liekamasis skonis (daiktavardis):

pojūčių, kurie juntami dirgikliui burnoje išnykus, ir kurie skiriasi nuo prieš tai suvoktų pojūčių, derinys.

Aromatinis (būdvardis):

- a) apibūdina gryną medžiagų arba mišinių, kurie paragauti sukelia pojūčius, žinomus kaip aromatas, požymį;
- b) apibūdina produktus, kurie tiesiogiai tiriami nosimi sukelia malonaus kvapo ir gaivumo pojūčius.

Tekstūra (daiktavardis):

kietos arba skystos produkto būklės savybės, kurių derinys ragaujant gali dirginti mechaninius receptorius, ypač tuos, kurie yra burnoje.

Pastaba. Terminas taikomas tikrai objektyviems požymiams, bet ne sukeltiems pojūčiams, kurie pažymėti bendrais terminais, pvz., konsistencija, pluoštingumas, riebumas ir t. t.

Burnos skalavimas (daiktavardis):

veiksmas, kuomet esantis burnoje maistas kontaktuoja su visomis burnos jutimo vietomis taip, kad galima suvokti burnoje maisto sukeltus pojūčius.

Pastaba. Šis žodynas gali būti praplėstas, panaudojant ISO standartus 5492, I–V dalis ir kitas publikacijas, pvz., J. L. Magnen „Les cahiers techniques du Centre National de Coordination des Études et Recherches sur la Nutrition et l'Alimentation“, ir t. t.

STIKLINĖ ALIEJUI RAGAUTI

1. TIKSLAS

Šio standarto tikslas yra aprašyti savybes stiklinės, kuri skirta naudoti maistinių aliejų kvapo, skonio, aromato organoleptinėje analizėje.

Papildomai jame aprašytas tinkamas kaitinimo įtaisas, reikalingas pakaitinti iki analizei reikiamos temperatūros ir jai palaikyti.

2. STIKLINĖS APRAŠYMAS

Eskizu, kuris pateiktas 1 brėžinyje, mėginama nustatyti optimalias šios rūšies priemonių savybes, kurias galima būtų apibrėžti taip:

- didžiausias pastovumas, kad stiklinė negalėtų apvirsti ir kad neišsipiltų joje esantis aliejus;
- apačia, kuri laisvai telpa į kaitinimo įtaiso pagilinusius, todėl stiklinės dugnas būtų tolygiai kaitinamas;
- forma, kuri yra plačiausia arčiau pagrindo, todėl aliejaus lakieji komponentai lengvai išskiriami, tačiau siaurėjanti į viršų, todėl tie patys komponentai lengvai koncentruojami, tuo pačiu užtikrinant, kad jie nosimi geriau juntami ir identifikuojami;
- pagaminta iš tamsaus stiklo, kad degustatorius negalėtų matyti aliejaus spalvos, taip pašalinant bet kokius išankstinius įsitikinimus ir apsunkinant galimą paklaidų arba šališkumo atsiradimą.

2.1. Matmenys

Stiklinės vaizdas pateiktas 1 brėžinyje, jos matmenys tokie:

– bendra talpa	130 ml ± 10 ml,
– visas aukštis	60 mm ± 1 mm,
– angos skersmuo	50 mm ± 1 mm,
– stiklinės skersmuo plačiausioje vietoje	70 mm ± 1 mm,
– pagrindo skersmuo	35 mm ± 1 mm,
– stiklinės šoninių sienelių storis	1,5 mm ± 0,2 mm,
– stiklinės dugno storis w	5 mm ± 1 mm.

Kiekviena stiklinė turi laikrodinį stiklą, kurio skersmuo turi būti 10 mm didesnis už stiklinės angą. Šis laikrodinis stiklas naudojamas kaip dangtis, neleidžiantis išnykti kvapui ir patekti dulkėms.

2.2. Gamybos savybės

Stiklinė gaminama iš atspaus stiklo; jis turi būti tamsios spalvos, kad negalima būtų įžiūrėti turinio spalvos, turi neturėti įbrėžimų arba dujų pūslių.

Kraštas turi būti vienodo aukščio, lygus ir su briaunele.

Stiklas turi būti atkaitintas, kad išlaikytų temperatūros pokyčius analizės metu.

2.3. Naudojimo instrukcijos

Stiklinės plaunamos bekvapiu muilu arba plovikliu, paskui kelis kartus skalaujamos, kol visiškai pašalinama plovimo priemonė. Paskutinį kartą plaunama distiliuotu vandeniu, po to stiklinės paliekamos nuvarvėti ir išdžiovinamos džiovinimo spintoje.

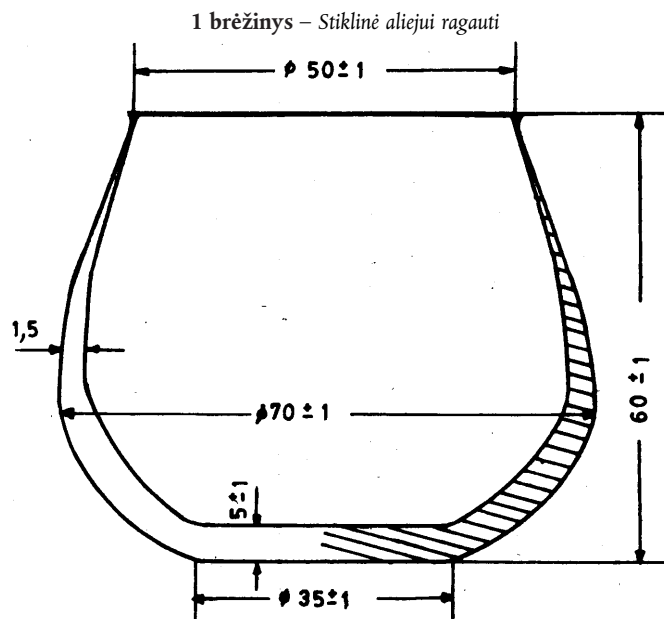
Nenaudojamos nei koncentruotos rūgštys, nei chromo rūgšties mišiniai.

Stiklinės, kol jų nereikia darbui, laikomos džiovinimo spintoje arba spintoje, kurioje jos turi būti apsaugotos nuo užteršimo pašaliniais kvapais.

Prieš naudojant kiekviena stiklinė apuostoma, siekiant įsitikinti, kad ji neturi jokio pašalinio kvapo. Ruošiantis analizei, turi būti pasirūpinta, kad kiekviena stiklinė ir jos turinys turėtų kodą. Analizės organizatorius turi būti vienintelis asmuo, žinantis atitinkamą kiekvieno aliejaus kodą.

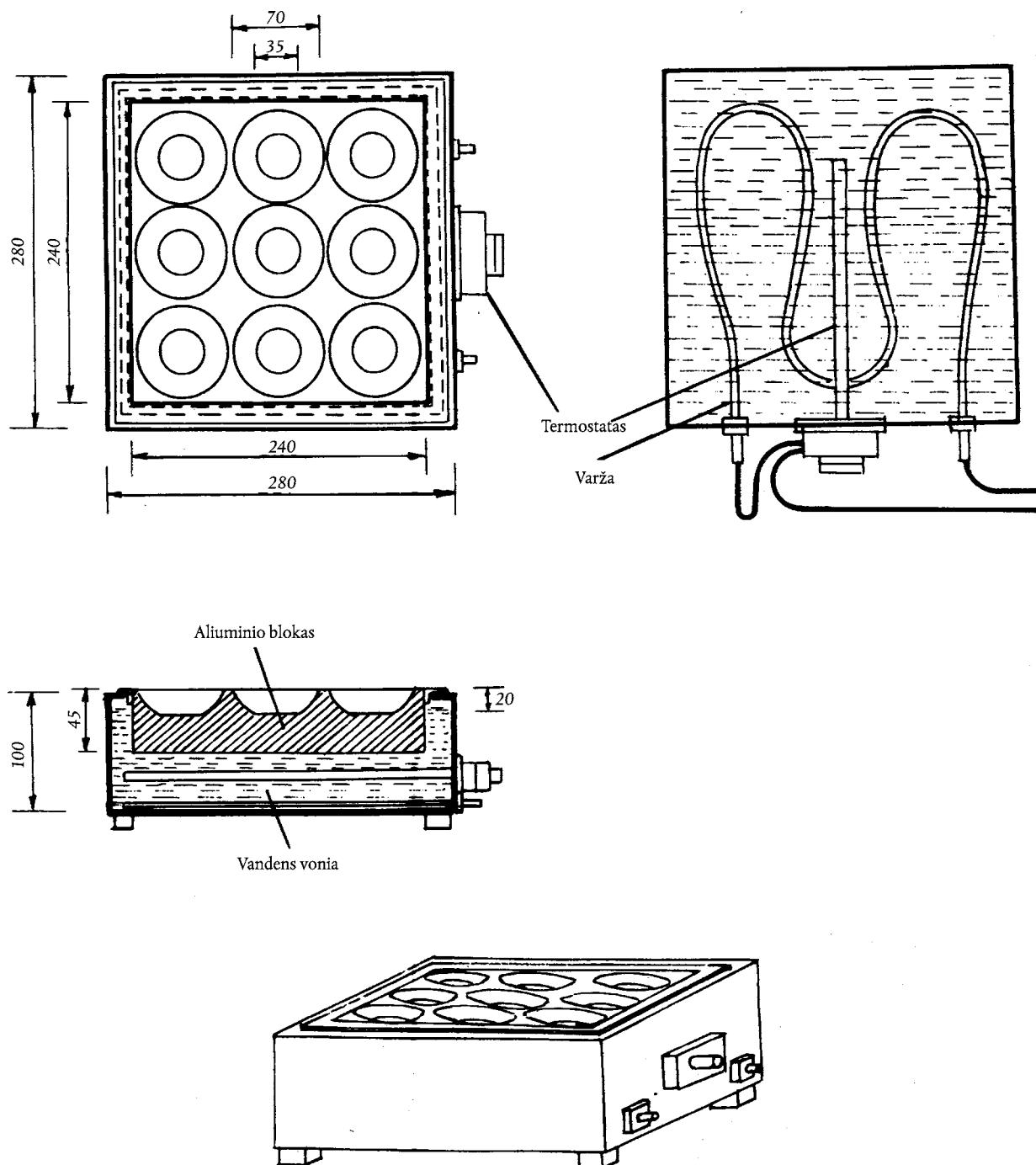
3. ĮTAISAS BANDINIAMS KAITINTI

Bandiniai organoleptiškai analizuojami nustatytoje temperatūroje, kuri aliejams turi būti 28 ± 2 °C. Šiuo tikslu kiekvienoje kabinoje netoli degustatoriaus įrengiamas kaitinimo įtaisas (2 brėžinys). Jis sudarytas iš aliuminio bloko, panardinto į termostatuojamą vandens vonią, kad būtų galima palaikyti pastovią temperatūrą. Šiame bloke yra eilė pagilimų, kurie pritaikyti stiklinių dugnams. Temperatūros skirtumas tarp kaitinimo įtaiso ir aliejaus, įpilto į įvairios rūšies blokų pagilimuose įstatytas stiklines, neturi viršyti ± 2 °C.



Matmenys (mm)

2 brėžinys – Įtaisas bandiniams kaitinti (matmenys pateikti milimetrais)



ANALIZĖS KAMBARIO ĮRENGIMO INSTRUKCIJA**1. PRATARMĖ**

Analizės kambarys skirtas jutiminiuose bandymuose dalyvaujančiai degustatorių grupei sudaryti tinkamą, patogią, standartizuotą aplinką, kuri lengvina užduotį ir padeda gerinti rezultatų pakartojamumą ir atkuriamumą.

2. TIKSLAS

Šio standarto tikslas apibrėžti pagrindines sąlygas, kurių turi būti laikomasi įrengiant analizės kambarį.

3. BENDRI TECHINIAI ĮRENGIMO REIKALAVIMAI

Patalpos, kad ir kokios didelės jos būtų (žr. 3.1 punktą) turi atitikti šiuos techninius reikalavimus:

jos turi būti jaukios ir tinkamai apšviestos (žr. 3.2 punktą), tačiau neutralaus stiliaus. Todėl sienoms rekomenduojama raminanti, viena šviesi spalva, nes taip sukuriamas atpalaiduojanti atmosfera ⁽¹⁾.

Patalpos turi būti tokios, kad jas būtų lengva plauti ir izoliuotos nuo bet kokio triukšmo; taigi, pageidautina, kad jos turėtų garso izoliaciją. Jose taip pat neturi būti pašalinių kvapų, todėl, esant galimybei, jose turi būti įrengta efektyvi ventiliacija. Jei aplinkos temperatūros svyravimai to reikalauja, 20–22 °C temperatūrai palaikyti bandymų kambaryje įrengiamas oro kondicionavimas.

3.1. Matmenys

Patalpų matmenys dažnai priklauso nuo laboratorijų arba kompanijų galimybių. Paprastai patalpos turi būti pakankamai erdvios, kad būtų galima įrengti 10 kabinų ir liktų vietos bandiniams ruošti.

Tačiau akivaizdu, kad kuo daugiau vietos paliekama įrengimui, tuo geriau, kadangi galima numatyti pagalbinis plotus, pvz., aparatūrai plauti, kulinarijoms ruošiniams daryti ir grupės susirinkimams rengti.

3.2. Apšvietimas

Bendras saulės arba lempinis apšvietimas (pvz., juostinis apšvietimas) turi būti vienodas, reguliuojamas ir išsklaidytasis.

3.3. Temperatūra ir drėgnumas

Patalpose turi būti palaikoma maloni temperatūra ir atitinkamos drėgnumo sąlygos. Išskyrus ypatingas aplinkybes, rekomenduojama 20–22 °C temperatūra ir 60–70 % santykinis drėgnumas.

4. KABINŲ APRAŠYMAS**4.1. Bendros savybės**

Kabinos patalpose išdėstomos viena šalia kitos. Jos turi būti vienodos ir atskirtos pakankamai aukštomis pertvaromis, kad izoliuotų sėdinčius degustatorius.

Kabinos gali būti pagamintos iš bet kurios tinkamos medžiagos, kuri lengvai plaunama ir prižiūrima (pvz., iš medžio, glazūruotos faneros, daugiasluoksnių plokščių ir t. t.). Jei naudojami dažai, išdžiūvę jie turi būti bekvapiai.

Kabinose esančios kėdės turi būti patogios ir turi turėti aukščio reguliavimo įtaisą.

Kiekvienoje kabinoje taip pat turi būti atskiras apšvietimas, kurio kryptį ir intensyvumą būtų galima reguliuoti.

Labai rekomenduojama, kad kabinose būtų įtaisytas išorinės lempos mygtukas, kuriuo degustatorius, neblaškydamas kitų degustatorių, galėtų pranešti už durų esančiam aptarnaujančiam asmeniui, kad jis baigė analizę, kad jam reikia kitų bandinių, kad jam trūksta priemonių, kad jis pastebėjo nukrypimą nuo normos arba nori gauti informacijos ir t. t.

⁽¹⁾ Kambario spalvų derinys ir apšvietimas gali įtakoti jutiminės analizės rezultatus.

4.2. Matmenys

Kabinos turi būti pakankamai didelės ir patogios. Paprastai jos turi būti tokių matmenų:

- plotis:
 - 0,75 m (be kriauklės),
 - 0,85 m (su kriaukle);
- ilgis:
 - 0,50 m (stalas),
 - 0,20 m viršaus pertvarai;
- pertvarų aukštis:
 - ne mažiau kaip 0,60 m nuo stalo;
- stalo aukštis:
 - 0,75 m.

4.3. Išdėstymas

Stalo paviršius turi būti toks, kad jį būtų galima lengvai plauti.

Dalyje stalo turi būti įtaisyta kriauklė, į kurią yra atvestas geriamas vandentiekio vanduo. Tačiau, jei to padaryti negalima, šis plotas gali būti panaudotas padėklui, spaudyklei arba panašiai įrangos daliai.

Kai bandiniai analizės metu turi būti laikomi pastovioje temperatūroje, kuri būtų žemesnė arba aukštesnė nei kambario temperatūra, patartina šiam tikslui turėti tinkamą įtaisą (vandens vonią, elektrinę vėyklę ir t. t.).

Maždaug 1,10 m aukštyje nuo grindų gali būti įtaisyta lentyna įvairiems pagalbinėms priemonėms padėti (akiniams, mažiems prietaisams ir t. t.).

Jei kabinų išdėstymas analizės kambarioje tai leidžia, verta įsirengti priemonę bandinių padavimui lengvinti. Tai galėtų būti anga su slankiojančiu dangčiu (1 brėžinys), vertikaliai sukamas įtaisas (2 brėžinys), pritaikytas stiklinėms arba puodeliams (aukšti konteineriai), arba horizontaliai atsidaranti anga, kai konteineriai, kuriuose laikomi bandiniai, yra žemi (3 brėžinys). Užtikrinama, kad anga būtų pakankamai didelė padėklams ir stiklinėms su bandiniais paduoti.

Žr. 4 brėžinį, kuriame parodytas laboratorijos ir papildomų patalpų pavyzdys.

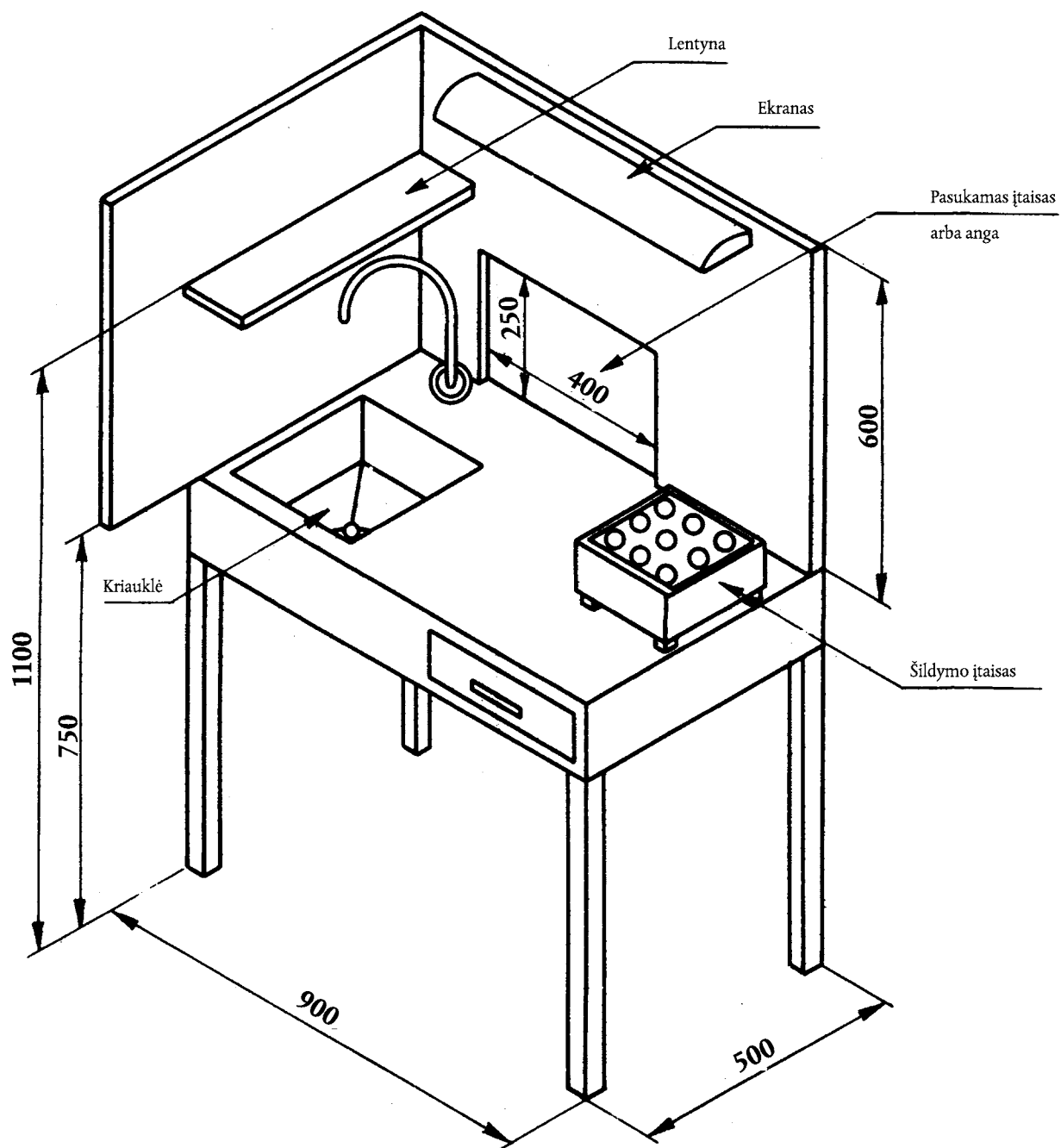
5. PAPILDOMOS PATALPOS

Turint pakankamai vietos, patartina įtaisyti atskiras patalpas bandiniams ruošti (kulinarijoms arba kitiems), tvarkyti stiklinėms arba prietaisams ir diskusijoms prieš arba po analizės rengti. Jei tokios patalpos yra, jos turi būti švarios; jokių būdu degustatorių darbo negali trikdyti iš šių patalpų sklindantys kokie nors kvapai, triukšmas arba kalbos.

Pastabos. Aprašytos idealios sąlygos. Tačiau, jei neįmanoma turėti tokių patalpų atskirai jutiminėms analizėms, tikrinimams galėtų būti atliekami patalpose, kurios atitinka minimalias aprašytas sąlygas (apšvietimas, temperatūra, triukšmas, kvapai), įrengiant jose kilnojamas kabinas, surinktas iš sudedamųjų elementų tokiu būdu, kad jos bent atskirtų degustatorius vieną nuo kito.

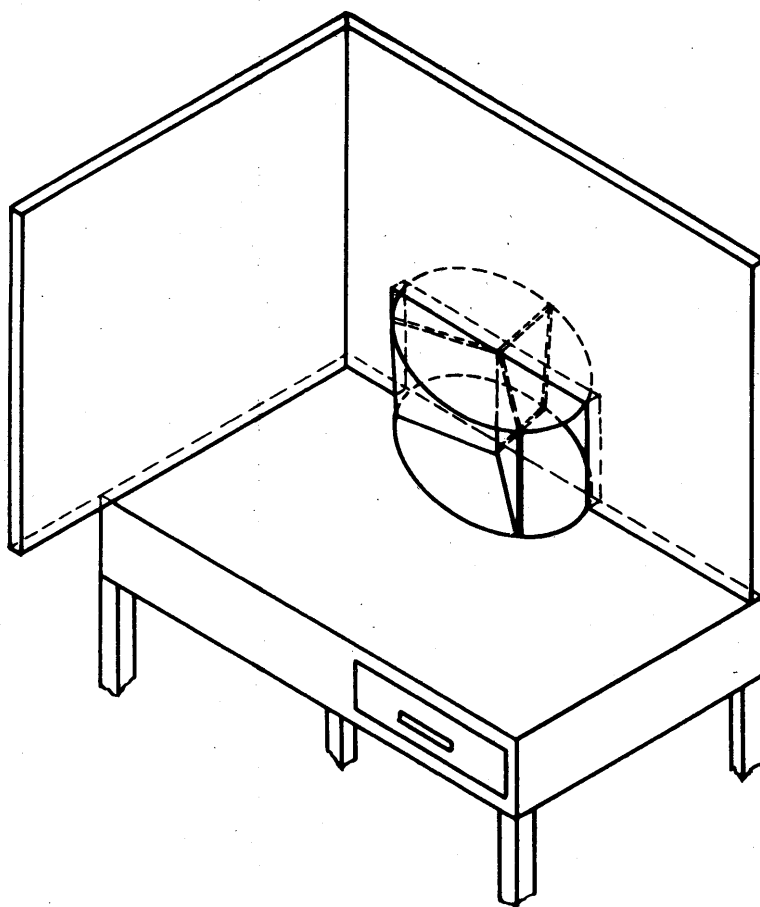
KABINOS ĮŠSIDĖSTYMAS

1 brėžinys



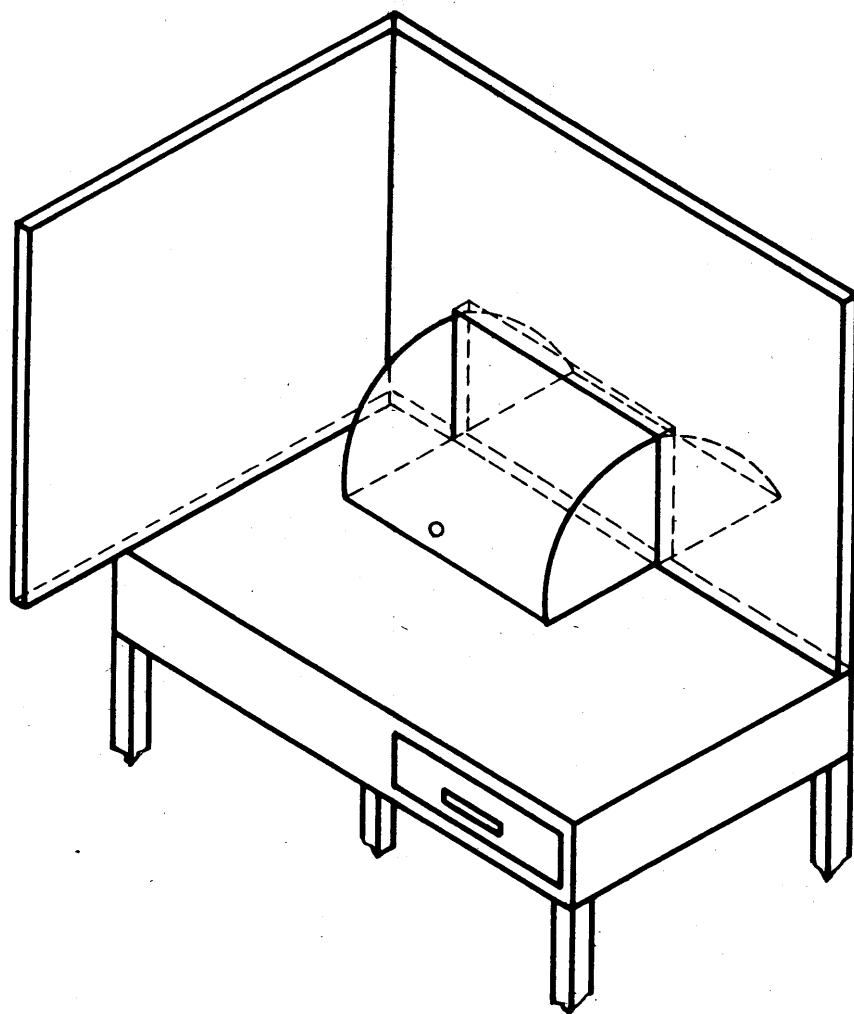
PASUKAMAS ĮTAISAS BANDINIAMS PADUOTI

2 brėžinys



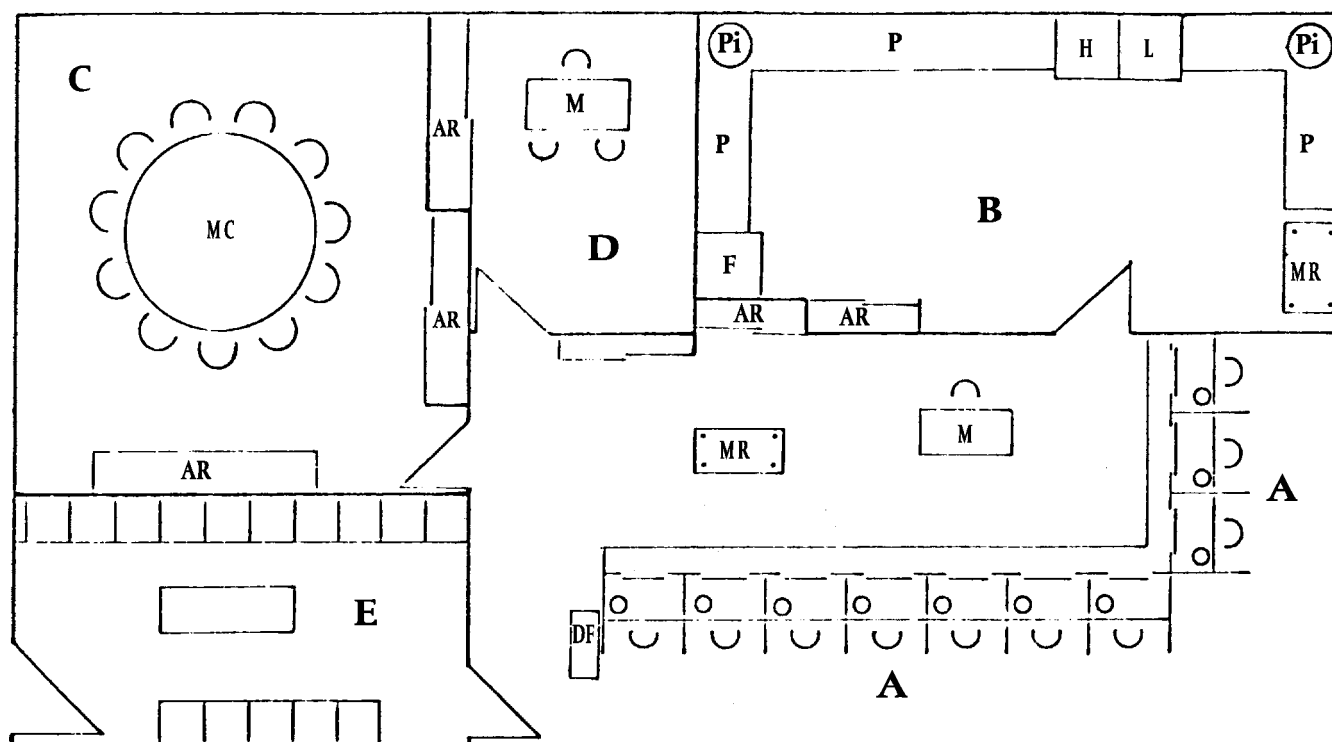
ANGA BANDINIAMS PADUOTI

3 brėžinys



JUTIMINĖS ANALIZĖS LABORATORIJA (pavyzdys)

4 brėžinys – Tikrinimo kambario pavyzdys



- A: analizės kabina,
 B: kambarys įrangai plauti ir bandiniams ruošti,
 C: pasitarimų kambarys,
 D: tarnybinės patalpos,
 E: priimamasis,
 F: šaldytuvas,
 H: krosnis,
 L: indų plovykla,
 Pi: kriauklė,
 AR: sieninė spinta,
 MR: vežimėlis,
 DF: blankų dalinimo vieta,
 MC: apvalus stalas,
 P: darbo vietų paviršius.

XIII PRIEDAS

GRYNINIMO ATLIKIMO PATVIRTINIMAS

1. ALYVUOGIŲ ALIEJAUS NEUTRALIZAVIMAS IR SPALVOS NAIKINIMAS LABORATORIJOJE

1.1. Aliejaus neutralizavimas

1.1.1. Aparatūra

- aukšta 300 ml talpos cheminė stiklinė,
- laboratorinė centrifuga su 100 ml talpos mėgintuvėliais,
- 250 ml talpos cheminė stiklinė,
- 100 ml talpos apvaliadugnės kolbos,
- 1 litro talpos dalijamasis piltuvai.

1.1.2. Reagentai

- natrio hidroksido 12 % vandeninis tirpalas,
- fenoltaleino 1 % tirpalas etanolyje,
- heksanas, analiziškai grynas, AR,
- propan-2-olis, analiziškai grynas, AR.

1.1.3. Darbo eiga

a) Aliejai, kuriuose laisvųjų rūgščių kiekis, skaičiuojant oleino rūgštims, mažesnis kaip 30 %

50 g neapdoroto aliejaus įpilama į aukštą 300 ml talpos stiklinę ir pašildoma vandens vonioje iki 65 °C. Visą laiką nespriamai maišant, įpilama 12 % natrio hidroksido tirpalo, kurio kiekis atitiktų laisvosios rūgšties kiekį aliejuje, ir dar 5 % pertekliaus. Maišoma dar penkias minutes, palaikant 65 °C temperatūrą.

Mišinys supilamas į 100 ml centrifugavimo mėgintuvėlius, muilo pavidalo masė atskiriama centrifuguojant. Dekantuotas aliejus supilamas į 250 ml cheminę stiklinę ir plaunamas 50–60 ml verdančio distiliuoto vandens, vandenį nusiurbiant sifonu. Plovimas kartojamas tol, kol visiškai nelieta muilo pėdsakų (išnyksta rožinė fenoltaleino spalva).

Aliejus centrifuguojamas, kad būtų pašalinti visi maži likusio vandens kiekiai.

b) Aliejai, kuriuose laisvųjų rūgščių kiekis skaičiuojant oleino rūgštims didesnis kaip 30 %

Į dalijamąjį piltuvą įpilama 50 g neapdoroto aliejaus, 200 ml heksano, 100 ml propan-2-olio ir 12 % natrio hidroksido tirpalo, kurio kiekis atitiktų laisvosios rūgšties kiekį aliejuje, ir dar 0,3 % pertekliaus.

Mišinys vieną minutę stipriai maišomas. Įpilama 100 ml distiliuoto vandens, vėl maišoma ir paliekama stovėti.

Sluoksniams atsiskyrus, žemutinis sluoksnis su muilais išpilamas. Tarp dviejų sluoksnių (aliejingas viršuje ir vandeninis apačioje) dažnai susidaro tarpinis sluoksnis, iš gleivių ir netirpių medžiagų ir kuris taip pat turi būti pašalintas.

1.2. Neutralizuoto aliejaus spalvos naikinimas

1.1.1. Aparatūra

- apvaliadugnė, 250 ml kolba su trimis šlifo kaklais, į kuriuos įstatomi:
 - a) laipsniais graduotas termometras, kuriuo būtų galima matuoti 90 °C temperatūrą;
 - b) mechaninis maišiklis, dirbantis 250–300 apsisukimų per minutę greičiu ir pritaikytas dirbti vakuumė;
 - c) vakuuminio siurblio prijungimas,
- vakuuminis siurblys, galintis sukurti 15–30 milibarų liekamąjį slėgį, su manometru.

1.1.2. Darbo eiga

Triaklėje kolboje pasverama apie 100 g neutralizuoto aliejaus. Įstatomi termometras ir maišiklis, prijungiamas vakuuminis siurblys ir šildoma iki 90 °C, visą laiką maišant. Nenustojant maišyti ši temperatūra laikoma tol, kol iš analizuojamo aliejaus visiškai pašalinamas vanduo (apie 30 minučių). Tuomet vakuumas atjungiamas ir įdedama 2–3 g aktyvinto diatomito.

Vėl prijungiamas vakuumas, kol gaunamas 15–30 milibarų liekamasis slėgis, ir, palaikant 90 °C temperatūrą, 30 minučių maišoma maždaug 250 apsisukimų per minutę greičiu.

Kol dar karštas, aliejus filtruojamas termostatuojamoje džiovinimo spintoje (50–60 °C).

XIV PRIEDAS

KOMBINUOTOSIOS NOMENKLATŪROS 15 SKYRIAUS 2, 3 IR 4 PAPILDOMOS PASTABOS

1. „2 A pastaba. Pagal KN (*Combined Nomenclature* – Kombinuotoji nomenklatura) kodus 1509 ir 1510 „alyvuogių aliejus“ reiškia tiksliai iš alyvuogių pagamintus aliejus, neįskaitant peresterinto alyvuogių aliejaus ir alyvuogių aliejų mišinių su kitais aliejais.

Peresterintų alyvuogių aliejų arba kitų aliejų buvimu įsitikinama, taikant V, VII, IX, X ir XII prieduose nurodytus metodus. Visų alyvuogių aliejų, kuriems taikomi KN kodai 1509 ir 1510, sterolių kiekio ir rūgščių sudėties analizinės savybės pateiktos lentelėje:

I lentelė – Rūgščių sudėtis bendro kiekio procentais		II lentelė – Sterolių sudėtis bendro sterolių kiekio procentais	
Miristo rūgštis	M 0,1	Cholesterolis	M 0,5
Linoleno rūgštis	M 0,9	Brasikasterolis	M 0,2
Eikozano rūgštis	M 0,7	Kampesterolis	M 4,0
Eikozeno rūgštis	M 0,5	Stigmasterolis	< kampesterolio kiekį
Beheno rūgštis	M 0,3	β-sitosterolis ⁽¹⁾	m 93,0
Lignocero rūgštis	M 0,5	Δ-7-stigmasterolis	M 0,5

M = didžiausias kiekis.
m = mažiausias kiekis

⁽¹⁾ Δ-5,23-stigmastadienolis + klerosterolis + β-sitosterolis + sitostanolis + Δ-5-avenasterolis + Δ-5,24-stigmastadienolis. m = M didžiausias kiekis. m mažiausias kiekis.

- 2 B pastaba. „Pirmo spaudimo alyvuogių aliejus“ reiškia vien tik iš alyvuogių pagamintus aliejus, naudojant tiksliai mechanines arba kitokias fizines priemones sąlygomis, ir ypač temperatūros sąlygomis, kuriomis nepablogėja aliejaus kokybė, kurie nebuvo kaip nors kitaip apdorojami, išskyrus plovimą, dekantavimą, centrifugavimą arba filtravimą, tačiau neįskaitant iš alyvuogių tirpikliais ekstrahuotų aliejų (1510) ir aliejų apibrėžtų I ir II skirsniuose.

- I. Subpozicijoje 1509 10 10 „pirmo spaudimo klasikinis aliejus *lampante*“ nepriklausomai nuo rūgštingumo reiškia alyvuogių aliejų, kuriame:

- alifatinių alkoholių kiekis neviršija 400 mg/kg;
- eritrodolio ir uvaolio kiekis neviršija 4,5 %;
- sočiųjų rūgščių kiekis 2-oje trigliceridų padėtyje neviršija 1,3 % ir (arba)
- kuris turi vieną arba daugiau šių savybių:
 - d1) peroksidų skaičius didesnis kaip 20 meq O₂/kg;
 - d2) lakiųjų halogenintų tirpiklių kiekis didesnis kaip 0,2 mg/kg arba bet kuriam vienam tirpikliui didesnis kaip 0,1 mg/kg;
 - d3) ekstinkcijos koeficientas K₂₇₀ (100) didesnis kaip 0,250, ir po aliejaus apdorojimo aktyvuotu aliuminio oksidu ne didesnis kaip 0,11. Kai kurie aliejai, turintys daugiau kaip 3,3 g laisvųjų riebiųjų rūgščių 100 g aliejaus, skaičiuojant oleino rūgštimi, po apdorojimo aktyvuotu aliuminio oksidu pagal XV priede nurodytą metodą, gali turėti ekstinkcijos koeficientą K₂₇₀ didesnį kaip 0,11. Tokiu atveju po neutralizacijos ir spalvos panaikinimo laboratorijoje jie turi turėti tokias savybes:

- ekstinkcijos koeficientą K_{270} ne didesnį kaip 1,20,
 - ekstinkcijos koeficiento pokytį (ΔK) ⁽¹⁾ 270 nm srityje didesnį kaip 0,01, bet ne didesnį kaip 0,16;
 - d4) organoleptinės savybės, tarp kurių nustatomi priimtinas ribas viršijantys trūkumai, ir degustatorių grupės tikrinimo rezultatas mažesnis kaip 3,5.
- II. Subpozicijoje 1509 10 90 „pirmo spaudimo aliejus“ yra alyvuogių aliejus, kuris turi tokias savybes:
- a) rūgščių kiekis, skaičiuojant oleino rūgštimi, neviršija 3,3 g 100 g;
 - b) peroksidų skaičius neviršija 20 meq O_2 /kg;
 - c) alifatinių alkoholių kiekis neviršija 300 mg/kg;
 - d) lakiųjų halogenintų tirpiklių bendras kiekis neviršija 0,2 mg/kg arba kiekvienam tirpikliui neviršija 0,1 mg/kg;
 - e) ekstinkcijos koeficientas K_{270} ne didesnis kaip 0,250 ir po aliejaus apdorojimo aktyvuotu aliuminio oksidu ne didesnis kaip 0,10 ⁽²⁾ ;
 - f) ekstinkcijos koeficiento pokytis (ΔK) 270 nm srityje ne didesnis kaip 0,010;
 - g) organoleptinės savybės, tarp kurių gali būti priimtinas ribas neviršijantys nustatomi trūkumai, degustatorių grupės tikrinimo rezultatas didesnis kaip 3,5;
 - h) eritrodolio ir uvaolio kiekis neviršija 4,5 %;
 - i) sočiųjų rūgščių kiekis 2-oje trigliceridų padėtyje neviršija 1,3 %.
- 2 C *pastaba*. Subpozicija 1509 90 00 apima alyvuogių aliejų, gaunamą apdorojant alyvuogių aliejus, patenkančius į subpoziciją 1509 10 10 arba 1509 10 90, maišytą arba nemaišytą su pirmo spaudimo alyvuogių aliejumi ir turintį tokias savybes:
- a) rūgščių kiekis, skaičiuojant oleino rūgštimi, neviršija 3,3 g 100 g;
 - b) alifatinių alkoholių kiekis neviršija 350 mg/kg;
 - c) ekstinkcijos koeficientas K_{270} (100) didesnis kaip 0,250 ir ne didesnis kaip 1,20; po bandinio apdorojimo aliuminio oksidu – didesnis kaip 0,10 ;
 - d) ekstinkcijos koeficiento pokytis (ΔK) 270 nm srityje didesnis kaip 0,010 ir ne didesnis kaip 0,160;
 - e) eritrodolio ir uvaolio kiekis neviršija 4,5 %;
 - f) sočiųjų rūgščių kiekis 2-oje trigliceridų padėtyje neviršija 1,5 %.
- 2 D *pastaba*. Subpozicija 1510 00 10 „neapdoroti aliejai“ apibūdina aliejus, ypač alyvuogių išspaudų aliejus, kurie turi tokias savybes:
- a) rūgščių kiekis, skaičiuojant oleino rūgštimi, didesnis kaip 2 g 100 g;
 - b) eritrodolio ir uvaolio kiekis viršija 12 %;
 - c) sočiųjų rūgščių kiekis 2-oje trigliceridų padėtyje neviršija 1,8 %;
- 2 E *pastaba*. Subpozicija 1509 00 90 apima aliejus, gaunamus apdorojant aliejus, patenkančius į subpoziciją 1509 00 10, maišytus arba nemaišytus su pirmo spaudimo alyvuogių aliejumi, nepasižyminčius I ir II punktuose nurodytų aliejų savybėmis, su sąlyga, kad sočiųjų rūgščių kiekis 2-oje trigliceridų padėtyje neviršija 2,0 %.

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

K_m reiškia ekstinkcijos koeficientą bangos ilgiui su didžiausia absorbcija 270 nm srityje.

K_{m-4} ir K_{m+4} yra ekstinkcijos koeficientai bangos ilgiui 4 nm trumpesniai ir ilgesniai kaip K_m nustatymo bangos ilgis.

⁽²⁾ Jei K_{270} viršija 0,25, po apdorojimo aliuminio oksidu jis iš naujo nustatomas. K_{270} negali viršyti 0,10.

2. „3 pastaba. Subpozicijos 1522 00 31 ir 1522 00 39 neapima:
- likučių, a) gautų apdorojant riebalines medžiagas, turinčias aliejaus, kurio jodo skaičius, nustatytas pagal metodą, nurodytą XVI priede, yra mažesnis kaip 70 arba didesnis kaip 100;
- likučių, b) gautų apdorojant riebalines medžiagas, turinčias aliejaus su jodo skaičiumi ne mažesniu kaip 70 arba didesniu kaip 100, kurio β -sitosterolio sulaikymo turį atitinkančios smailės plotas, išmatuotas pagal metodą, nurodytą toliau papildomoje 4 pastaboje paminėtame reglamento priede, yra mažesnis kaip 93 % bendro sterolių smailių ploto.“
3. „4 pastaba. Ankščiau nurodytų produktų savybių nustatymo analiziniai metodai yra pateikti Reglamento (EEB) Nr. 2568/91 prieduose.“
-

XV PRIEDAS

1. ALIEJAUS KIEKIO ALYVUOGIŲ ATLIEKOSE NUSTATYMAS

1.1. Aparatūra

- tinkamas ekstrahavimo aparatas su 200–250 ml talpos apvaliadugne kolba,
- elektra kaitinama vonia (pvz., smėlio vonia, vandens vonia) arba elektrinė viryklė,
- analizinės svarstyklės,
- džiovinimo spinta, reguliuojama ne daugiau kaip iki 80 °C temperatūros,
- elektrinė džiovinimo spinta su 103 ± 2 °C temperatūrai nustatytu termostataavimo įtaisu, per kurią būtų galima pūsti orą ir dirbti sumažintame slėgyje,
- mechaninis, lengvai valomas malūnas, kuriame alyvuogių atliekos gali būti sumaltos nepakeliant jų temperatūros arba jose žymiai nepakeičiant drėgmės, lakiųjų arba heksanu ekstrahuojamų medžiagų kiekio,
- ekstrahavimo tūta ir vata arba filtravimo popierius, iš kurių yra pašalintos heksanu ekstrahuojamos medžiagos,
- eksikatorius,
- sietas su 1 mm skersmens akutėmis,
- iš anksto išdžiovintos pemzos gabaliukai.

1.2. Reagentas

Techniškai grynas *n*-heksanas, kurio 100 ml visiškai išgarinus turi likti ne didesnės kaip 0,002 g masės likutis.

2. DARBO EIGA

2.1. Analizuojamo bandinio ruošimas

Prireikus laboratorinį bandinį sumalti, kad visos dalelės sumažėtų iki sijoamo dydžio, naudojamas mechaninis malūnas, kuris prieš tai gerai išvalomas.

Maždaug dvidešimtoji bandinio dalis sunaudojama malūno valymui užbaigti, sumalta medžiaga išmetama, likusi dalis malama, surenkama, kruopščiai sumaišoma ir iš karto analizuojama.

2.2. Analizuojamo bandinio dalis

Užbaigus malimo operaciją, 0,01 g tikslumu analizei pasveriami maždaug 10 g bandinio.

2.3. Ekstrahavimo tūtos ruošimas

Analizuojama dalis sudedama į tūtą, kuri užkemšama vata. Jei naudojamas filtravimo popierius, analizuojama bandinio dalis suvyniojama į jį.

2.4. Išankstinis džiovinimas

Jei alyvuogių atliekos yra labai drėgnos (t. y. drėgmės ir lakiųjų medžiagų kiekis didesnis kaip 10 %), jos iš anksto džiovinamos, užpildytą tūtą (arba filtravimo popierių) laikant reikiamą laiką džiovinimo spintoje, kaitinamoje ne daugiau kaip iki 80 °C, kad drėgmės ir lakiųjų medžiagų kiekis sumažėtų iki mažiau kaip 10 %.

2.5. Apvaliadugnės kolbos ruošimas

Kolba su vienu arba dviem gabaliukais pemzos, prieš tai išdžiovinta džiovinimo spintoje 103 ± 2 °C temperatūroje ir ne trumpiau kaip valandą aušinta eksikatoriuje, pasveriami 1 mg tikslumu.

2.6. Pradinis ekstrahavimas

Į ekstrahavimo aparatą įkišama tūta (arba filtro popierius) su analizuojama bandinio dalimi. Į kolbą įpilamas reikiamas kiekis heksano. Kolba prijungiama prie ekstrahavimo aparato ir visas įstatoma į elektra šildomą vonią. Šildymas nustatomas taip, kad tekėjimo atgal greitis būtų ne mažesnis kaip trys lašai per sekundę (vidutinis, ne audringas virimas). Po keturių ekstrahavimo valandų paliekama ataušti. Tūta išimama iš ekstrahavimo aparato ir įsigėrusio tirpiklio didesnei daliai pašalinti pakišama po oro srove.

2.7. Antrasis ekstrahavimas

Tūtos turinys išskratomas į mažą grūstuvę ir kiek galima smulkiau sumalamas. Sumaltas mišinys be nuostolių vėl supilamas į tūtą, kuri dedama atgal į ekstrahavimo aparatą.

Ekstrahuojama dar dvi valandas toje pačioje apvaliadugnėje kolboje su pradiniu ekstraktu.

Ekstrahavimo kolboje gautas tirpalas turi būti skaidrus. Jei taip nėra, tirpalas filtruojamas per filtravimo popierių, paskui kolba, kurioje jis buvo laikomas, bei filtravimui naudotas popierius kelis kartus plaunami heksanu. Filtratas ir plovimo tirpiklis supilami į antrą apvaliadugnę kolbą, kuri buvo išdžiovinta ir pasverta 1 mg tikslumu.

2.8. Tirpiklio šalinimas ir ekstrakto svėrimas

Didesnė tirpiklio dalis pašalinama distiliuojant ant elektra šildomos vonios. Paskutiniai tirpiklio pėdsakai šalinami kolbą 20 minučių kaitinant džiovinimo spintoje 103 ± 2 °C temperatūroje. Tirpiklio šalinimas greitina mas pučiant orą, geriausia inertines dujas, arba džiovinant sumažintame slėgyje.

Kolba ne trumpiau kaip valandą paliekama eksikatoriuje ataušti ir pasveriami 1 mg tikslumu.

Kolba pašildoma dar kartą 10 minučių tomis pačiomis sąlygomis, ataušinama eksikatoriuje ir vėl pasveriami.

Skirtumas tarp dviejų svėrimų neturi viršyti 10 mg. Jei jis didesnis, šildoma dar po 10 minučių, paskui aušinama ir sveriami, kol skirtumas sumažėja iki 10 mg arba mažiau. Paskutinė kolbos masės vertė užrašoma.

Atliekama pakartotina paties bandinio analizė.

3. REZULTATŲ APSKAIČIAVIMAS

3.1. Apskaičiavimo metodas ir formulė

- a) Ektrakto kiekis, analizei gauto bandinio masės procentais, skaičiuojamas pagal formulę:

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

kurioje: S = ekstrakto kiekis analizei gauto bandinio masės procentais,
 m_0 = bandinio analizuojamos dalies masė gramais,
 m_1 = išdžiovinto ekstrakto masė gramais.

Rezultatu imamas pakartotinių nustatymų vidurkis, jei buvo laikomasi pakartojamumo sąlygų.

Rezultatas skaičiuojamas vieno ženklo po kablelio tikslumu.

- b) Ektrakto kiekis, procentais išdžiovinto bandinio masei, skaičiuojamas pagal formulę:

$$S \times \frac{100}{100 - U} = \text{aliejaus ekstrakto kiekis procentais, skaičiuojant sausai medžiagai,}$$

kurioje: S = ekstrakto kiekis analizei gauto bandinio masės procentais (žr. a punktą),

U = drėgmės ir lakiųjų medžiagų kiekis bandinyje.

3.2. Pakartojamumas

Dviejų rezultatų, gautų tam pačiam analitikui lygiagrečiai arba greitai paeiliui atliekant du nustatymus, skirtumas neturi viršyti 0,2 g heksaninio ekstrakto 100 gramų bandinio.

Jei ši sąlyga neįvykdoma, analizė pakartojama su kitomis dviem bandinio dalimis. Jei ir šiuo atveju skirtumas didesnis kaip 0,2 g, rezultatu imamas šių keturių nustatymų aritmetinis vidurkis.

XVI PRIEDAS

JODO SKAIČIAUS NUSTATYMAS

1. TAIKYMO SRITIS

Šis tarptautinis standartas tiksliai apibrėžia metodą gyvulinių ir augalinių riebalų bei aliejų, toliau vadinamų riebalais, jodo skaičiui nustatyti.

2. APIBRĖŽIMAS

Šiame tarptautiniame standarte vartojamas toks apibrėžimas:

2.1. Jodo skaičius. Masė jodo, kurį bandinys sugeria šiame tarptautiniame standarte nurodytomis sąlygomis.

Jodo skaičius skaičiuojamas jodo gramais 100 g bandinio.

3. METODO ESMĖ

Analizuojama bandinio dalis ištirpinama tirpiklyje ir pridedama Wijs reagento. Po tam tikro laiko įpilama kalio jodido tirpalo bei vandens ir išsiskyręs jodas titruojamas natrio tiosulfato tirpalu.

4. REAGENTAI

Visi reagentai turi būti pripažintos analiziškai grynų reagentų kokybės:

4.1. vanduo, atitinkantis ISO 3696 reikalavimus, 3 rūšis;

4.2. kalio jodidas. 100 g/l tirpalas, be jodato arba laisvo jodo;

4.3. krakmolo tirpalas;

5 g tirpaus krakmolo sumaišoma su 30 ml vandens, mišinys supilamas į 1 000 ml verdančio vandens, tris minutes virinama ir paliekama ataušti;

4.4. natrio tiosulfatas, etaloninis tirpalas titruoti voliumetriškai, kurio $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}) = 0,1 \text{ mol/l}$, ir kurio titras nustatomas ne anksčiau kaip septynios dienos prieš naudojimą;

4.5. tirpiklis, ruošiamas sumaišant lygiomis dalimis cikloheksaną ir acto rūgštį;

4.6. Wijs reagentas, kurį sudaro jodo monochlorido tirpalas acto rūgštyje. Naudojamas prekyboje esantis Wijs reagentas.

5. APARATŪRA

Įprasta laboratorinė įranga ir konkrečiai tokia:

5.1. svėrimui skirtos stiklinės bertuvėlės, pritaikytos bandiniui ir įdėjimui į kolbas (5.2);

5.2. kūginės kolbos, 500 ml talpos, su šlifo kamščiais ir visiškai sausos.

6. ANALIZUOJAMO BANDINIO RUOŠIMAS

Homogenizuotas bandinys džiovinamas virš natrio sulfato ir filtruojamas.

7. DARBO EIGA

7.1. Analizuojamo bandinio dalis

Analizuojamos bandinio dalies masė priklauso nuo numatomo jodo skaičiaus, kaip tai parodyta 1 lentelėje.

1 lentelė

Numatomas jodo skaičius	Analizuojamos bandinio dalies masė (g)
mažesnis kaip 5	3,00
5–20	1,00
21–50	0,40
51–100	0,20
101–150	0,13
151–200	0,10

Analizuojama bandinio dalis 0,1 mg tikslumu sverama stiklinėje bertuvėlėje (5.1).

7.2. Nustatymas

Analizuojama bandinio dalis supilama į 500 ml kolbą (6.2). Įpilama 20 ml tirpiklio (4.5) riebalams ištirpinti. Pridedama tiksliai 25 ml *Wijs* reagento (4.6), užkemšama kamščiu, turinys sumaišomas ir kolba pastatoma tamsoje vietoje. *Wijs* reagentui imti nenaudojama pipetė, į kurią siurbiamą burna.

Panašiai paruošiamas tuščiasis bandymas, įpilant tirpiklio ir *Wijs* reagento, bet neįdedant paties bandinio.

Jei bandinio jodo skaičius mažesnis kaip 150, kolba tamsoje paliekama vieną valandą, jei jodo skaičius didesnis kaip 150 arba produktai yra polimerizuoti arba dideliu laipsniu oksiduoti, paliekama dvi valandas.

Šiam laikui baigiantis, į kiekvieną kolbą įpilama 20 ml kalio jodido tirpalo (4.2) ir 150 ml vandens (4.1).

Titruojama etaloniniu tūrio analizėje naudojamu natrio tiosulfato tirpalu (4.4), kol dėl išsiskyrusio jodo atsiradusi geltona tirpalo spalva beveik išnyksta. Įlašinami keli lašai krakmolo tirpalo (4.3) ir titravimas tęsiamas, kol žydra spalva vos tik dingsta po labai stipraus kratymo.

Pastaba. Ekvivalentinį tašką leidžiama nustatyti potenciometriškai.

7.3. Nustatymų skaičius

To paties bandinio analizė atliekama du kartus.

8. REZULTATŲ APSKAIČIAVIMAS

Jodo skaičius apskaičiuojamas pagal formulę:

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

kurioje:

c = naudoto etaloninio natrio tiosulfato tirpalo (4.4) tikslios koncentracijos skaitinė vertė moliais litre;

V_1 = tuščiajame bandyme sunaudoto etaloninio natrio tiosulfato tirpalo (4.4) skaitinė tūrio vertė mililitrais;

V_2 = nustatymui sunaudoto etaloninio natrio tiosulfato tirpalo (4.4) skaitinė tūrio vertė mililitrais;

m = analizuojamos bandinio dalies (7.1) masės skaitinė vertė gramais.

Rezultatu imamas dviejų nustatymų aritmetinis vidurkis, jei įvykdytos pakartojamumo (9.2) sąlygos.