

II

(Akty o charakterze nieustawodawczym)

ROZPORZĄDZENIA

ROZPORZĄDZENIE KOMISJI (UE) NR 61/2011

z dnia 24 stycznia 2011 r.

zmieniające rozporządzenie (EWG) nr 2568/91 w sprawie właściwości oliwy z oliwek i oliwy z wyłoczyn oliwek oraz w sprawie odpowiednich metod analizy

KOMISJA EUROPEJSKA,

uwzględniając Traktat o funkcjonowaniu Unii Europejskiej,

uwzględniając rozporządzenie Rady (WE) nr 1234/2007 z dnia 22 października 2007 r. ustanawiające wspólną organizację rynków rolnych oraz przepisy szczegółowe dotyczące niektórych produktów rolnych („rozporządzenie o jednolitej wspólnej organizacji rynku”) ⁽¹⁾, w szczególności jego art. 113 ust. 1 lit. a) i art. 121 lit. h) w związku z jego art. 4,

a także mając na uwadze, co następuje:

- (1) Rozporządzenie Komisji (EWG) nr 2568/91 ⁽²⁾ określa właściwości fizyczne i chemiczne oliwy z oliwek i oliwy z wyłoczyn oliwek oraz metody oceny tych właściwości. Metody i wartości dopuszczalne stosowane w odniesieniu do właściwości różnych rodzajów oliwy należy uaktualnić na podstawie opinii ekspertów z dziedziny chemii oraz zgodnie z wynikami prac prowadzonych w ramach Międzynarodowej Rady ds. Oliwy z Oliwek.
- (2) W szczególności, ponieważ w opinii ekspertów z dziedziny chemii zawartość estrów etylowych kwasów tłuszczowych (FAEE) i estrów metylowych kwasów tłuszczowych (FAME) jest użytecznym wskaźnikiem jakości w przypadku oliwy z oliwek ekstra z pierwszego tłoczenia, należy zatem uwzględnić wartości dopuszczalne dla tych estrów oraz metodę określania ich zawartości.
- (3) Aby zapewnić czas na dostosowanie się do nowych norm oraz na wprowadzenie środków niezbędnych do ich stosowania, oraz w celu uniknięcia zakłóceń w transakcjach handlowych, zmiany do niniejszego rozporządzenia należy stosować od dnia 1 kwietnia 2011 r. Z tych samych powodów należy ustanowić przepisy dotyczące oliwy z oliwek i oliwy z wyłoczyn oliwek legalnie wyprodukowanych i oznakowanych w Unii lub legalnie do niej wwiezionych i dopuszczonych do

swobodnego obrotu przed tą datą, aby mogły być wprowadzane do obrotu do momentu wyczerpania zapasów.

- (4) Należy zatem odpowiednio zmienić rozporządzenie (EWG) nr 2568/91.
- (5) Środki przewidziane w niniejszym rozporządzeniu są zgodne z opinią Komitetu Zarządzającego ds. Wspólnej Organizacji Rynków Rolnych,

PRZYJMUJE NINIEJSZE ROZPORZĄDZENIE:

Artykuł 1

W rozporządzeniu (EWG) nr 2568/91 wprowadza się następujące zmiany:

- 1) W art. 2 ust. 1 dodaje się tiret w brzmieniu:
„— metoda przedstawiona w załączniku XX dla oznaczania zawartości wosków, estrów metylowych kwasów tłuszczowych i estrów etylowych kwasów tłuszczowych metodą kapilarnej chromatografii gazowej”
- 2) W spisie załączników dodaje się następującą pozycję:
„Załącznik XX: Metoda dla oznaczenia zawartości wosków, estrów metylowych kwasów tłuszczowych i estrów etylowych kwasów tłuszczowych metodą kapilarnej chromatografii gazowej”
- 3) Załącznik I zastępuje się tekstem znajdującym się w załączniku I do niniejszego rozporządzenia.
- 4) Dodaje się załącznik XX w brzmieniu określonym w załączniku II do niniejszego rozporządzenia.

Artykuł 2

Produkty, które zostały legalnie wyprodukowane i oznakowane w Unii lub legalnie do niej wwiezione i dopuszczone do swobodnego obrotu przed dniem 1 kwietnia 2011 r. mogą być wprowadzane do obrotu do chwili wykorzystania wszystkich zapasów.

⁽¹⁾ Dz.U. L 299 z 16.11.2007, s. 1.

⁽²⁾ Dz.U. L 248 z 5.9.1991, s. 1.

Artykuł 3

Niniejsze rozporządzenie wchodzi w życie trzeciego dnia po jego opublikowaniu w *Dzienniku Urzędowym Unii Europejskiej*.

Niniejszą decyzję stosuje się od dnia 1 kwietnia 2011 r.

Niniejsze rozporządzenie wiąże w całości i jest bezpośrednio stosowane we wszystkich państwach członkowskich.

Sporządzono w Brukseli dnia 24 stycznia 2011 r.

W imieniu Komisji
José Manuel BARROSO
Przewodniczący

WŁAŚCIWOŚCI OLIWY Z OLIVEK

Kategoria	Estry metylowe kwasu tłuszczowego (FAME) i estry etylowe kwasu tłuszczowego (FAEE)	Kwasowość (%) (*)	Liczba nadtlenkowa mEq O ₂ /kg (*)	Woski mg/kg (**)	2-monopalmitynian glicerolu (%)	Stigmastadien mg/kg (1)	Różnica między HPLC ECN42 a teoretycznym ECN42	K ₂₃₂ (*)	K ₂₇₀ (*)	Delta-K (*)	Ocena organoleptyczna Mediana błędów (Md) (*)	Ocena organoleptyczna Mediana owocowości (Mf) (*)
1. Oliwa z oliwek ekstra z pierwszego tłoczenia	Σ FAME + FAEE \leq 75 mg/kg lub 75 mg/kg < Σ FAME + FAEE \leq 150 mg/kg oraz [FAEE/FAME] \leq 1,5	\leq 0,8	\leq 20	\leq 250	\leq 0,9 jeśli % zawartość kwasu palmitynowego ogółem \leq 14 % \leq 1,0 jeśli % zawartość kwasu palmitynowego ogółem > 14 %	\leq 0,10	\leq 0,2	\leq 2,50	\leq 0,22	\leq 0,01	Md = 0	Mf > 0
2. Oliwa z oliwek z pierwszego tłoczenia	—	\leq 2,0	\leq 20	\leq 250	\leq 0,9 jeśli % zawartość kwasu palmitynowego ogółem \leq 14 % \leq 1,0 jeśli % zawartość kwasu palmitynowego ogółem > 14 %	\leq 0,10	\leq 0,2	\leq 2,60	\leq 0,25	\leq 0,01	Md \leq 2,5	Mf > 0
3. Oliwa z oliwek typu lampante	—	> 2,0	—	\leq 300 (3)	\leq 0,9 jeśli % zawartość kwasu palmitynowego ogółem \leq 14 % \leq 1,1 jeśli % zawartość kwasu palmitynowego ogółem > 14 %	\leq 0,50	\leq 0,3	—	—	—	Md > 2,5 (2)	—
4. Rafinowana oliwa z oliwek	—	\leq 0,3	\leq 5	\leq 350	\leq 0,9 jeśli % zawartość kwasu palmitynowego ogółem \leq 14 % \leq 1,1 jeśli % zawartość kwasu palmitynowego ogółem > 14 %	—	\leq 0,3	—	\leq 1,10	\leq 0,16	—	—
5. Oliwa z oliwek złożona z rafinowanej oliwy z oliwek oraz oliwy z oliwek z pierwszego tłoczenia	—	\leq 1,0	\leq 15	\leq 350	\leq 0,9 jeśli % zawartość kwasu palmitynowego ogółem \leq 14 % \leq 1,0 jeśli % zawartość kwasu palmitynowego ogółem > 14 %	—	\leq 0,3	—	\leq 0,90	\leq 0,15	—	—
6. Surowa oliwa z wyciżczyn oliwek	—	—	—	> 350 (4)	\leq 1,4	—	\leq 0,6	—	—	—	—	—
7. Rafinowana oliwa z wyciżczyn oliwek	—	\leq 0,3	\leq 5	> 350	\leq 1,4	—	\leq 0,5	—	\leq 2,00	\leq 0,20	—	—
8. Oliwa z wyciżczyn oliwek	—	\leq 1,0	\leq 15	> 350	\leq 1,2	—	\leq 0,5	—	\leq 1,70	\leq 0,18	—	—

(1) Suma izomerów, które mogłyby (lub nie mogłyby) być oddzielone kolumną kapilarną.

(2) Lub jeżeli mediana błędów jest mniejsza lub równa 3,5, a mediana owocowości wynosi 0.

(3) Oliwa z zawartością wosków między 300 mg/kg a 350 mg/kg uznawana jest za oliwę lampante, jeżeli całkowita zawartość alkoholi alifatycznych jest mniejsza lub równa 350 mg/kg lub jeżeli zawartość procentowa erytrodiolu i uwaolu jest niższa lub równa 3,5.

(4) Oliwa z zawartością wosków między 300 mg/kg a 350 mg/kg uznawana jest za surową oliwę z wyciżczyn oliwek, jeżeli całkowita zawartość alkoholi alifatycznych wynosi powyżej 350 mg/kg i jeżeli zawartość procentowa erytrodiolu i uwaolu jest większa niż 3,5.

Kategoria	Zawartość kwasów ⁽¹⁾						Suma izomerów transolei- nowych (%)	Suma izomerów translinolei- nowych (%)	Skład steroli						Łącznie sterole (mg/kg)	Erytrodiol i uwaol (%) (**)
	Mirystynowy (%)	Linoleowy (%)	Arachidowy (%)	Eikozae- nowy (%)	Behenowy (%)	Lignocery- nowy (%)			Cholesterol (%)	Brassika- sterol (%)	Kampesterol (%)	Stigma- sterol (%)	Betasito- sterol (%) ⁽²⁾	Delta-7- stigma- stenol (%)		
1. Oliwa z oliwek ekstra z pierwszego tłoczenia	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
2. Oliwa z oliwek z pierwszego tłoczenia	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
3. Oliwa z oliwek typu lampante	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,10	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5 ⁽³⁾
4. Rafinowana oliwa z oliwek	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
5. Oliwa z oliwek złożona	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
6. Surowa oliwa z wyłoczn oliwek	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,20	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 2 500	> 4,5 ⁽⁴⁾
7. Rafinowana oliwa z wyłoczn oliwek	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 800	> 4,5
8. Oliwa z wyłoczn oliwek	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 600	> 4,5

⁽¹⁾ Zawartość innych kwasów tłuszczowych (%): palmitynowy: 7,5 - 20,0; palmitolejowy: 0,3 - 3,5; heptadekanowy: ≤ 0,3; heptadekenowy: ≤ 0,3; stearynowy: 0,5 - 5,0; olejowy: 55,0 - 83,0; linolowy: 3,5 - 21,0.

⁽²⁾ Suma: delta-5,23-stigmastadienol+cholesterol+beta-sitosterol+sitostanol+delta-5-awenasterol+delta-5,24-stigmastadienol.

⁽³⁾ Oliwa z zawartością wosków między 300 mg/kg a 350 mg/kg uznawana jest za oliwę lampante, jeżeli całkowita zawartość alkoholi alifatycznych jest niższa lub równa 350 mg/kg lub jeżeli zawartość procentowa erytrodiolu i uwaolu jest niższa lub równa 3,5.

⁽⁴⁾ Oliwa z zawartością wosków między 300 mg/kg a 350 mg/kg uznawana jest za surową oliwę z wyłoczn oliwek, jeżeli całkowita zawartość alkoholi alifatycznych wynosi powyżej 350 mg/kg i jeżeli zawartość procentowa erytrodiolu i uwaolu jest większa niż 3,5.

Uwagi:

- Wyniki analiz muszą być wyrażone ze wskazaniem tej samej liczby miejsc po przecinku, jak te, które zostały użyte w odniesieniu do każdej właściwości. Ostatnia cyfra musi być powiększona o jeden, jeżeli następną cyfrą jest większa niż 4.
- Wystarczy, że jedna właściwość nie jest zgodna z wartościami wskazanymi, a kategoria oliwy może być zmieniona lub zgłoszona jako niezgodna w odniesieniu do czystości do celów niniejszego rozporządzenia.
- Jeżeli właściwość oznaczona jest gwiazdką (*), odnosząc się do jakości oliwy, oznacza to, że:
 - dla oliwy lampante, odpowiednie limity jej dotyczące nie muszą być równocześnie przestrzegane;
 - dla oliwy z oliwek pierwszego tłoczenia, jeżeli co najmniej jeden z tych limitów różni się od wartości wskazanych, kategoria oliwy będzie zmieniona, chociaż będą one klasyfikowane w jednej z kategorii oliwy z oliwek pierwszego tłoczenia.
- Jeżeli właściwość oznaczona jest dwiema gwiazdkami (**) oznacza to, dla wszystkich typów oliwy z wyłoczn oliwek, że odpowiednie limity jej dotyczące mogą nie być równocześnie przestrzegane."

ZAŁĄCZNIK II

„ZAŁĄCZNIK XX

Metoda oznaczania zawartości wosków, metylowych estrów kwasu tłuszczowego i etylowych estrów kwasu tłuszczowego metodą kapilarnej chromatografii gazowej

1. CEL

Niniejsza metoda służy do oznaczania zawartości wosków, metylowych i etylowych estrów kwasu tłuszczowego w różnych rodzajach oliwy z oliwek. Poszczególne woski i estry alkilowe rozdziela się w zależności od liczby atomów węgla. Zaleca się stosowanie tej metody do rozróżnienia oliwy z oliwek od oliwy z wyłocznin oliwek oraz jako wskaźnik jakości w przypadku oliwy z oliwek ekstra z pierwszego tłoczenia, który umożliwia wykrycie oszukańczych mieszanin oliwy z oliwek ekstra z pierwszego tłoczenia z rodzajami oliw o niższej jakości, takim jak oliwa z oliwek z pierwszego tłoczenia, oliwa z oliwek typu lampante lub niektóre rodzaje oleju dezodoryzowanego.

2. ZASADA

Dodanie odpowiednich wzorców wewnętrznych do oleju, następnie frakcjonowanie z wykorzystaniem metody chromatografii w kolumnie z uwodnionym żelom krzemionkowym. Odzyskanie frakcji wymytej uprzednio w warunkach testowych (której biegunowość jest mniejsza niż w przypadku triglicerydów), następnie przeprowadzenie bezpośredniej analizy metodą kapilarnej chromatografii gazowej.

3. APARATURA

3.1. **Kolba Erlenmeyera o pojemności 25 ml.**

3.2. **Szklana kolumna** do chromatografii cieczowej, średnica wewnętrzna 15 mm, wysokość 30–40 cm, wyposażona w odpowiedni kranik.

3.3. **Chromatograf gazowy**, który można stosować razem z kolumną kapilarną, wyposażony w system do bezpośredniego wprowadzania do kolumny, składający się z:

3.3.1. **kontrolowanego termostatem piecyka z możliwością programowania temperatury;**

3.3.2. **zimnego dozownika** do bezpośredniego wprowadzania do kolumny;

3.3.3. **detektora płomieniowo-jonizacyjnego i konwertera – wzmacniacza;**

3.3.4. współpracującego ze wzmacniaczem-konwerterem (pkt. 3.3.3) **rejestratora-integratora** (Uwaga 1), którego czas reakcji nie przekracza jednej sekundy, ze zmienną szybkością przesuwu papieru;

Uwaga 1: można również zastosować systemy informatyczne w przypadku wprowadzania danych z chromatografii gazowej przy użyciu komputera osobistego

3.3.5. **kolumny kapilarnej, z topionej krzemionki (dla celów analizy wosków oraz metylowych i etylowych estrów)**, o wysokości 8–12 m, średnicy wewnętrznej 0,25–0,32 mm, pokrytej od środka płynem rozdzielającym (Uwaga 2), o jednolitej grubości 0,10–0,30 μm ;

Uwaga 2: ogólnodostępne, odpowiednie do tego celu płyny rozdzielające typu SE52 lub SE 54, dostępne w handlu, itp.

3.4. **Mikrostrzykawka** umożliwiająca wstrzyknięcie do kolumny porcji 10 μl , wyposażona w igłę o utwardzonej powierzchni.

3.5. **Wstrząsarka elektryczna.**

3.6. **Wyparka rotacyjna.**

3.7. **Piec muflowy.**

3.8. **Waga analityczna** zapewniająca precyzję pomiaru $\pm 0,1$ mg.

3.9. Zwykłe szkło laboratoryjne.

4. ODCZYNNIKI

4.1. **Żel krzemionkowy** o granulometrii w zakresie od 60 do 200 µm. Umieścić żel krzemionkowy w piecu muflowym w temp. 500 °C na co najmniej 4 godziny. Po ostudzeniu dodać 2 % wody względem zastosowanej ilości żelu krzemionkowego. Dobrze wstrząsnąć do otrzymania jednolitej zawiesiny i umieścić w suszarce laboratoryjnej na nie mniej niż 12 godzin przed zastosowaniem.

4.2. **n-heksan** o klasie czystości do chromatografii lub do wykrywania pozostałości (należy sprawdzić czystość).

UWAGA – Opary mogą ulec samozapłonowi. Należy trzymać z daleka od źródeł ciepła, iskier lub nieosłoniętego płomienia. Należy upewnić się zawsze, że pojemniki są zawsze dobrze zamknięte. Należy zapewnić odpowiednią wentylację podczas użytkowania. Należy unikać nagromadzenia oparów i usunąć wszelkie możliwe źródła zagrożenia pożarowego takie jak grzejniki czy aparatura elektryczna wyprodukowana z materiałów innych niż materiały niepalne. Wdychanie oparów może mieć, szkodliwe skutki, ponieważ może prowadzić do uszkodzenia komórek nerwowych. Nie należy wdychać oparów. Należy w razie potrzeby zastosować odpowiednie urządzenia umożliwiające oddychanie. Chronić oczy i skórę przed kontaktem.

4.3. **Eter etylowy o klasie czystości do chromatografii.**

UWAGA – bardzo łatwopalny i umiarkowanie toksyczny. Podrażnia skórę. Wdychanie oparów może mieć, szkodliwe skutki, ponieważ może prowadzić do uszkodzenia komórek nerwowych. Może powodować uszkodzenia oczu. Skutki mogą być odczuwalne z opóźnieniem. Może tworzyć nadtlarki o właściwościach wybuchowych. Opary mogą ulec samozapłonowi. Należy trzymać z daleka od źródeł ciepła, iskier lub nieosłoniętego płomienia. Należy upewnić się każdorazowo, że pojemniki są zawsze dobrze zamknięte. Należy zapewnić odpowiednią wentylację podczas użytkowania. Należy unikać nagromadzenia oparów i usunąć wszelkie możliwe źródła zagrożenia pożarowego, takie jak grzejniki czy aparatura elektryczna wyprodukowana z materiałów innych niż materiały niepalne. Nie odparowywać do sucha lub prawie do sucha. Dodanie wody lub odpowiedniego czynnika redukującego może ograniczyć tworzenie nadtlarków. Nie pić. Nie należy wdychać oparów. Należy unikać przedłużonego lub powtarzalnego kontaktu ze skórą.

4.4. **n-heptan**, do chromatografii, lub **izooktan**.

UWAGA – łatwopalny. Wdychanie oparów może mieć, szkodliwe skutki, ponieważ może prowadzić do uszkodzenia komórek nerwowych. Należy trzymać z daleka od źródeł ciepła, iskier lub nieosłoniętego płomienia. Należy upewnić się każdorazowo, że pojemniki są zawsze dobrze zamknięte. Należy zapewnić odpowiednią wentylację podczas użytkowania. Nie należy wdychać oparów. Należy unikać przedłużonego lub powtarzalnego kontaktu ze skórą.

4.5. **Roztwór wzorca arachidynianu laurylowego** (Uwaga 3) o stężeniu 0,05 % (m/V) w heptanie (wzorzec wewnętrzny dla wosków).

Uwaga 3: można również zastosować palmitynian palmitylu, stearynian mirystylu lub arachidynian laurylowy.

4.6. **Roztwór wzorca estru metylowego kwasu heptadekanowego o stężeniu 0,02 % (m/V) w heptanie (wzorzec wewnętrzny dla estrów metylowych i etylowych).**

4.7. **Sudan 1 (1-fenyl-azo-2-naftol).**

4.8. **Gaz nośny: czysty wodór lub hel, do chromatografii gazowej.**

UWAGA

Wodór Bardzo łatwopalny, pod ciśnieniem. Należy trzymać z daleka od źródeł ciepła, iskier lub nieosłoniętego płomienia lub aparatury elektrycznej wyprodukowanej z materiałów innych niż niepalne. Należy upewnić się, że zawór butli jest zamknięty na czas przerwy w użytkowaniu. Stosować zawsze razem z reduktorem ciśnienia. Należy zmniejszyć nacisk na sprężynę reduktora przed otwarciem zaworu butli. Nie należy stać naprzeciw ujścia butli w momencie otwierania zaworu. Należy zapewnić odpowiednią wentylację podczas użytkowania. Nie należy przemieszczać wodoru z jednej butli do drugiej. Nie należy mieszać gazu w butli. Należy zapewnić stabilność butli. Należy przechowywać z dala od światła słonecznego i źródeł ciepła. Przechowywać w warunkach wolnych od czynników korozyjnych. Nie należy używać butli, jeśli są one uszkodzone lub pozbawione etykiet.

Hel Gaz sprężony pod ciśnieniem. Zmniejsza ilość tlenu dostępnego do oddychania. Należy przechowywać butlę zamkniętą. Należy zapewnić odpowiednią wentylację podczas użytkowania. Nie należy przebywać w pomieszczeniach, w których przechowywane są butle, jeżeli pomieszczenia te nie są odpowiednio wentylowane. Stosować zawsze razem z reduktorem ciśnienia. Należy zmniejszyć nacisk na sprężynę reduktora przed otwarciem zaworu butli. Nie należy przemieszczać gazu z jednej butli do drugiej. Należy zapewnić stabilność butli. Nie należy stać naprzeciw ujścia butli w momencie otwierania zaworu. Należy przechowywać z dala od światła słonecznego i źródeł ciepła. Przechowywać w warunkach wolnych od czynników korozyjnych. Nie należy używać butli, jeśli są one uszkodzone lub pozbawione etykiet. Nie wdychać. Wykorzystywać jedynie do celów technicznych.

4.9. Gazy pomocnicze:

- Czysty wodór, w postaci gazowej, do chromatografii gazowej.
- Czyste powietrze, w postaci gazowej, do chromatografii gazowej.

UWAGA

Powietrze Gaz sprężony pod ciśnieniem. Należy stosować przy zachowaniu środków ostrożności w obecności substancji palnych, ponieważ temperatura samozapłonu większości organicznych składników powietrza jest znacznie niższa w warunkach wysokiego ciśnienia. Należy upewnić się, że zawór butli jest zamknięty na czas przerwy w użytkowaniu. Stosować zawsze razem z reduktorem ciśnienia. Należy zmniejszyć nacisk na sprężynę reduktora przed otwarciem zaworu butli. Nie należy stać naprzeciw ujścia butli w momencie otwierania zaworu. Nie należy przemieszczać gazu z jednej butli do drugiej. Nie należy mieszać gazu w butli. Należy zapewnić stabilność butli. Należy przechowywać z dala od światła słonecznego i źródeł ciepła. Przechowywać w warunkach wolnych od czynników korozyjnych. Nie należy używać butli, jeśli są one uszkodzone lub pozbawione etykiet. Powietrze przeznaczone dla celów technicznych nie może być wykorzystywane do wdychania lub w urządzeniach umożliwiających oddychanie.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

5.1. Przygotowanie kolumny chromatograficznej

Sporządzić zawiesinę 15 g żelu krzemionkowego (pkt. 4.1) w n-heksanie (pkt. 4.2) i wprowadzić do kolumny (pkt. 3.2). Po spontanicznym wytrąceniu osadu zakończyć ten proces przy użyciu wstrząsarki elektrycznej, tak aby warstwa chromatograficzna stała się bardziej jednolita. Przesączyć 30 ml n-heksanu, by usunąć wszelkie zanieczyszczenia. Odważyć dokładnie 500 mg próbki do kolby 25-ml (pkt. 3.1) posługując się wagą analityczną (pkt. 3.8) i dodać odpowiednią ilość wzorca wewnętrznego (pkt. 4.5), w zależności od założonej zawartości wosku, np. dodać 0,1 mg arachidynianu laurylowego w przypadku oliwy z oliwek, 0,25-0,50 mg w przypadku oliwy z wytlóczyn z oliwek i 0,05 mg w przypadku estru metyloвого kwasu heptadekanowego dla oliwy z oliwek (pkt. 4.6).

Do tak przygotowanej próbki dodać dwie porcje po 2 ml n-heksanu (pkt. 4.2) i przenieść do kolumny chromatograficznej.

Wprowadzić próbkę, tak aby rozpuszczalnik napłynął do wysokości 1 mm powyżej górnego poziomu absorbentu. Następnie przesączyć resztę n-heksanu/eteru etylowego (99:1) i pobrać 220 ml przy przepływie około 15 kropli w ciągu 10 sekund. (**Ta frakcja zawiera estry metylowe i etylowe oraz woski**). (Uwaga 4) (Uwaga 5).

Uwaga 4: codziennie należy przygotowywać świeżą mieszaninę n-heksanu/eteru etylowego (99/1).

Uwaga 5: w celu wzrokowego skontrolowania prawidłowości wymywania wosków można dodać do próbki 100 µl roztworu 1 % barwnika Sudan I w mieszaninie wymywającej.

Wartość retencji tego barwnika jest pośrednia pomiędzy wartościami retencji wosków i triglicerydów. Z tego względu należy zatrzymać wymywanie gdy barwnik dotrze do dna kolumny chromatograficznej, ponieważ wszystkie woski zostały już wymyte.

Otrzymaną w ten sposób frakcję suszy się w wyparce rotacyjnej do niemal całkowitego wyeliminowania rozpuszczalnika. Usuwa się ostatnie 2 ml rozpuszczalnika przy użyciu słabego strumienia azotu. Frakcję zawierającą estry metylowe i etylowe pobiera się z wykorzystaniem 2-4 ml n-heptanu lub izooktanu jako rozpuszczalnika.

5.2. Analiza metodą chromatografii gazowej

5.2.1. Procedura wstępna

Umieścić kolumnę w chromatografie gazowej (pkt. 3.3), łącząc szczelinę wlotową z systemem kolumnowym, a wylotową z detektorem. Wykonać ogólne kontrole aparatury do chromatografii gazowej (działanie pętli gazowych, sprawność detektora i systemu rejestracyjnego itp.).

Jeżeli kolumna używana jest po raz pierwszy, zaleca się jej kondycjonowanie. Przepuścić przez kolumnę gaz o małym natężeniu przepływu, następnie uruchomić aparaturę do chromatografii gazowej. Stopniowo podgrzewać do uzyskania, po około 4 godzinach, temperatury 350 °C.

Utrzymać tę temperaturę przez co najmniej 2 godziny, a następnie ustawić aparaturę według zadanych warunków pracy (ustawić natężenie przepływu gazu, zapalić płomień, podłączyć do elektronicznego przyrządu rejestrującego (pkt. 3.3.4), ustawić temperaturę pieca kolumny, ustawić detektor itd.). Rejestrować sygnał z czułością co najmniej dwukrotnie wyższą niż czułość wymagana do przeprowadzenia analizy. Przebieg linii podstawowej powinien mieć charakter liniowy, bez jakichkolwiek pików, i linia ta nie powinna wykazywać nachyleń.

Prostoliniowe, ujemne nachylenie linii wskazuje na to, że połączenia kolumn są nieprawidłowe; nachylenie dodatnie oznacza, że kolumna nie została poddana wystarczającemu kondycjonowaniu.

5.2.2. Dobór warunków roboczych dla wosków i estrów metylowych i etylowych (Uwaga 6).

Ogólnie należy przestrzegać następujących warunków roboczych:

— Temperatura kolumny:

20 °C/min 5 °C/min

Początkowo 80 °C (1') ——— 140 °C ——— 335 °C (20)

— Temperatura detektora: 350 °C.

— Porcja wstrzykiwana: 1 µl roztworu (2–4 ml) n-heptanu.

— Gaz nośny: hel lub wodór z szybkością liniową optymalną dla wybranego gazu (patrz: dodatek A).

— Czułość urządzenia: taka, aby były spełnione warunki określone powyżej.

Uwaga 6: Ze względu na wysoką temperaturę końcową przyjmuje się dodatnie nachylenie, które nie może przekraczać 10 % objętościowych wartości pełnego zakresu skali.

Warunki te mogą być modyfikowane w sposób dostosowany do charakterystyk kolumny i aparatu do chromatografii gazowej, tak aby zostały oddzielone wszystkie woski i metylowe i etylowe estry kwasu tłuszczowego oraz aby uzyskać zadowalającą rozdzielczość pików (zob. rysunki 2, 3 i 4) oraz czas retencji 18 ± 3 minut dla wewnętrznego wzorca arachidnianu laurylowego. Najbardziej reprezentatywny pik dla wosków musi wynosić ponad 60 % wartości pełnego zakresu skali, a wewnętrzny wzorec estru metylowego kwasu heptadekanowego dla estrów metylowych i etylowych musi osiągnąć górny zakres skali.

Należy ustalić parametry całkowania pików w taki sposób, by uzyskać dokładną wartość pola powierzchni rozpatrywanego piku.

5.3. Przeprowadzenie analizy

Pobrać 10 µl roztworu za pomocą mikrostrzykawki o pojemności 10 µl, odciągnąć tłoczek, aż igła zostanie całkowicie opróżniona. Wprowadzić igłę do układu nastrzykowego i szybko wstrzyknąć po upływie jednej do dwóch sekund. Po upływie około 5 sekund powoli wyciągnąć igłę.

Przeprowadzać rejestrację danych aż do momentu całkowitego wymycia wosków lub stigmastadienów, w zależności od analizowanej frakcji.

Linia podstawowa musi przez cały czas spełniać ustalone wymagania.

5.4. Identyfikacja pików

Zidentyfikować piki po czasach retencji, porównując je z mieszaninami wosków o znanych czasach retencji, analizowanymi w takich samych warunkach. Estry alkilowe identyfikuje się po mieszaninach metylowych i etylowych estrów podstawowych kwasów tłuszczowych w oliwie z oliwek (palmitynowego i oleinowego).

Rysunek 1 przedstawia chromatogram wosków oliwy z oliwek z pierwszego tłoczenia. Rysunki 2 i 3 przedstawiają chromatogramy dwóch oferowanych w sprzedaży detalicznej rodzajów oliwy z oliwek ekstra z pierwszego tłoczenia, jeden z estrami metylowymi i etylowymi, a drugi bez nich. Rysunek 4 przedstawia chromatogram najwyższej jakości oliwy z oliwek ekstra z pierwszego tłoczenia oraz tej samej oliwy z dodatkiem 20 % oleju dezodoryzowanego.

5.5. Analiza ilościowa wosków

Ustalić za pomocą integratora pola powierzchni pików odpowiadające wzorcowi wewnętrznemu arachidynianu laurylowego i estrom alifatycznym od C₄₀ do C₄₆.

Obliczyć zawartość całkowitą wosków dodając poszczególne woski, w mg/kg tłuszczu, zgodnie ze wzorem:

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

gdzie:

A_x = pole odpowiadające pikowi każdego z estrów, zgodnie z wyliczeniami programu komputerowego dostosowanego do obliczania pola powierzchni pod pikiem

A_s = pole odpowiadające pikowi wewnętrznego wzorca arachidynianu laurylowego, zgodnie z wyliczeniami programu komputerowego dostosowanego do obliczania pola powierzchni pod pikiem

m_s = masa dodanego wewnętrznego wzorca arachidynianu laurylowego, w miligramach;

m = masa próbki pobranej do oznaczenia, w gramach.

5.5.1. Analiza ilościowa estrów metylowych i etylowych

Ustalić za pomocą integratora pola powierzchni pików odpowiadające wewnętrznemu wzorcowi estru metylowego kwasu heptadekanowego, estrom metylowym kwasów tłuszczowych C₁₆ i C₁₈ oraz estrom etylowym kwasów tłuszczowych C₁₆ i C₁₈.

Obliczyć zawartość poszczególnych estrów alkilowych, w mg/kg, zgodnie ze wzorem:

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

gdzie:

A_x = pole odpowiadające pikowi poszczególnych estrów C₁₆ i C₁₈, zgodnie z wyliczeniami programu komputerowego dostosowanego do obliczania pola powierzchni pod pikiem

A_s = pole odpowiadające pikowi wewnętrznego wzorca estru metylowego kwasu heptadekanowego, zgodnie z wyliczeniami programu komputerowego dostosowanego do obliczania pola powierzchni pod pikiem

m_s = masa dodanego wewnętrznego wzorca estru metylowego kwasu heptadekanowego, w miligramach;

m = masa próbki pobranej do oznaczenia, w gramach.

6. PREZENTACJA WYNIKÓW

Podać sumę zawartości różnych wosków od C₄₀ do C₄₆ (Uwaga 7) w miligramach na kilogram tłuszczu.

Podać sumę zawartości estrów metylowych i estrów etylowych od C₁₆ do C₁₈ oraz wartość całkowitą obydwu.

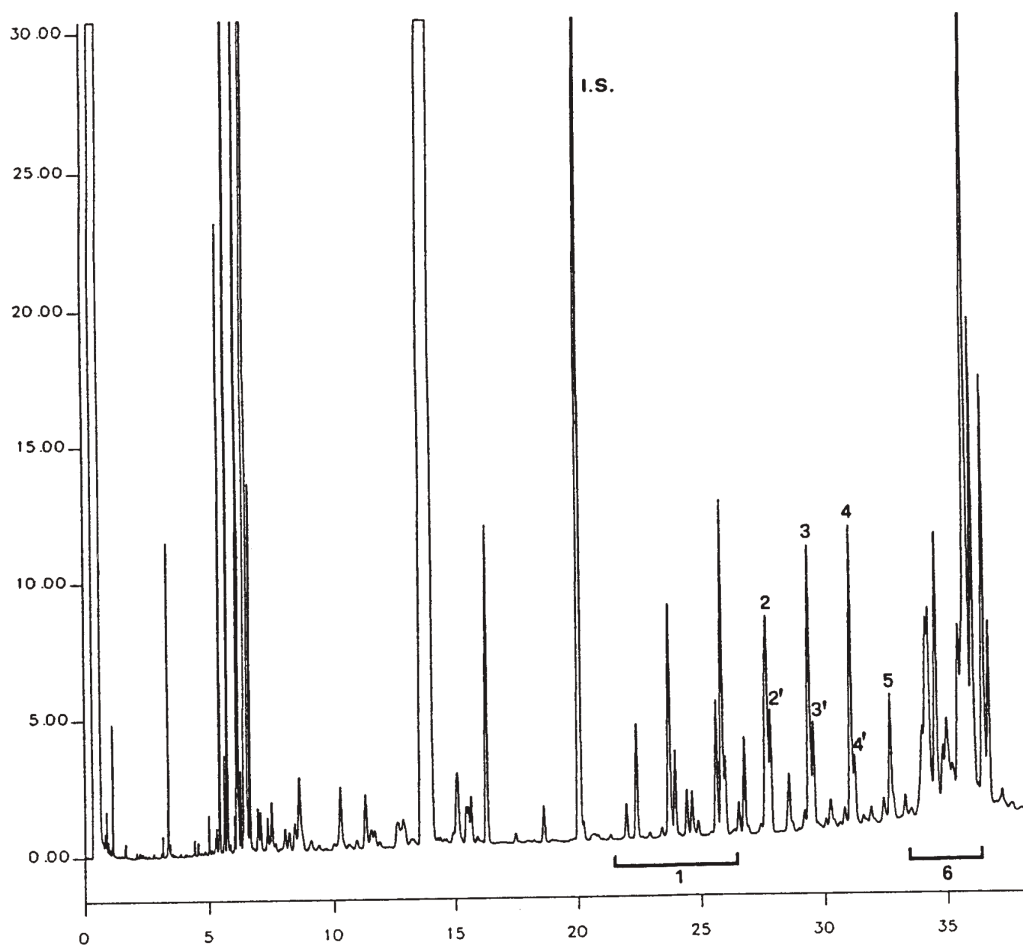
Wynik należy podać z dokładnością do mg/kg.

Uwaga 7: Składniki dla celów kwantyfikacji odnoszą się do pików o parzystej liczbie atomów węgla estrów C₄₀ – C₄₆, zgodnie z przykładowym chromatogramem wosków w oliwie z oliwek przedstawionym na załączonym rysunku. Dla celów identyfikacji, jeśli ester C₄₆ jest rozdzielony, zaleca się przeprowadzić analizę frakcji wosków oliwy z wytłocznym oliwek, w której pik C₄₆ jest możliwy do odróżnienia ponieważ wyraźnie dominuje.

Podać stosunek estrów etylowych do estrów metylowych.

Rysunek 1

Przykład chromatografii gazowej frakcji wosków oliwy z oliwek (*)



Piki z czasem retencji od 5 do 8 minut metylowych i etylowych estrów kwasu tłuszczowego

Legenda:

I.S. arachidynian laurylowy

1 = estry diterpenowe

2+2' = estry C₄₀

3+3' = estry C₄₂

4+4' = estry C₄₄

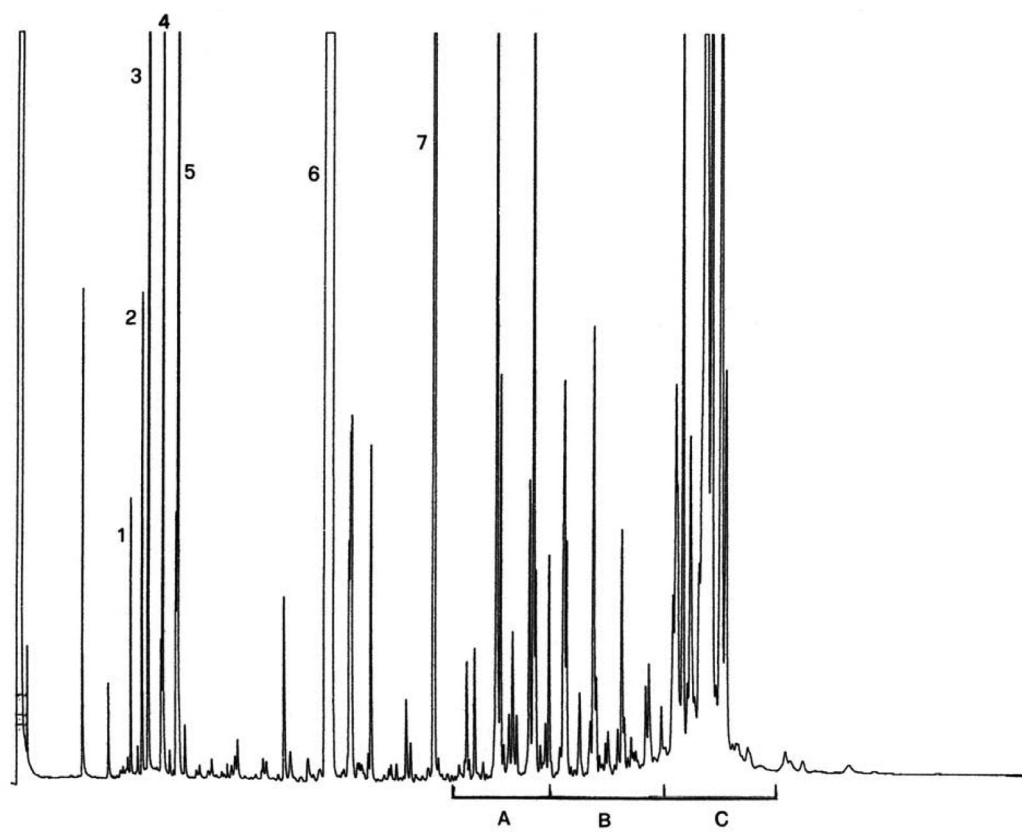
5 = estry C₄₆

6 = estry steroli i alkohole triterpenowe

(*) Po wymyciu estrów steroli w zapisie chromatograficznym nie powinny być widoczne istotne piki (triglicerydy).

Rysunek 2

Estry metylowe, estry etylowe i woski w oliwie z oliwek z pierwszego tłoczenia



Legenda:

1 — metyl C_{16}

2 — etyl C_{16}

3 — ester metylowy kwasu heptadekanowego I.S.

4 — metyl C_{18}

5 — etyl C_{18}

6 — skwalen

7 — arachidynian laurylowy I.S.

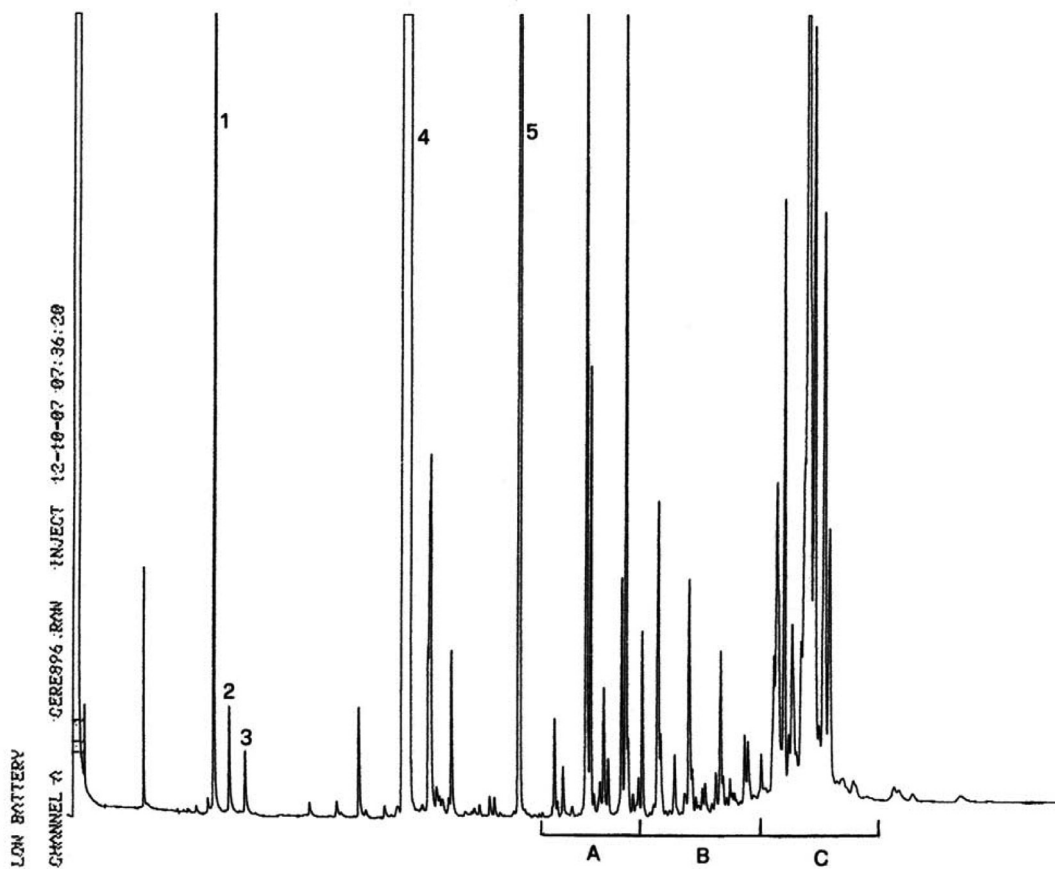
A = estry diterpenowe

B — woski

C — estry steroli i estry triterpenowe

Rysunek 3

Estry metylowe, estry etylowe i woski w oliwie z oliwek ekstra z pierwszego tłoczenia

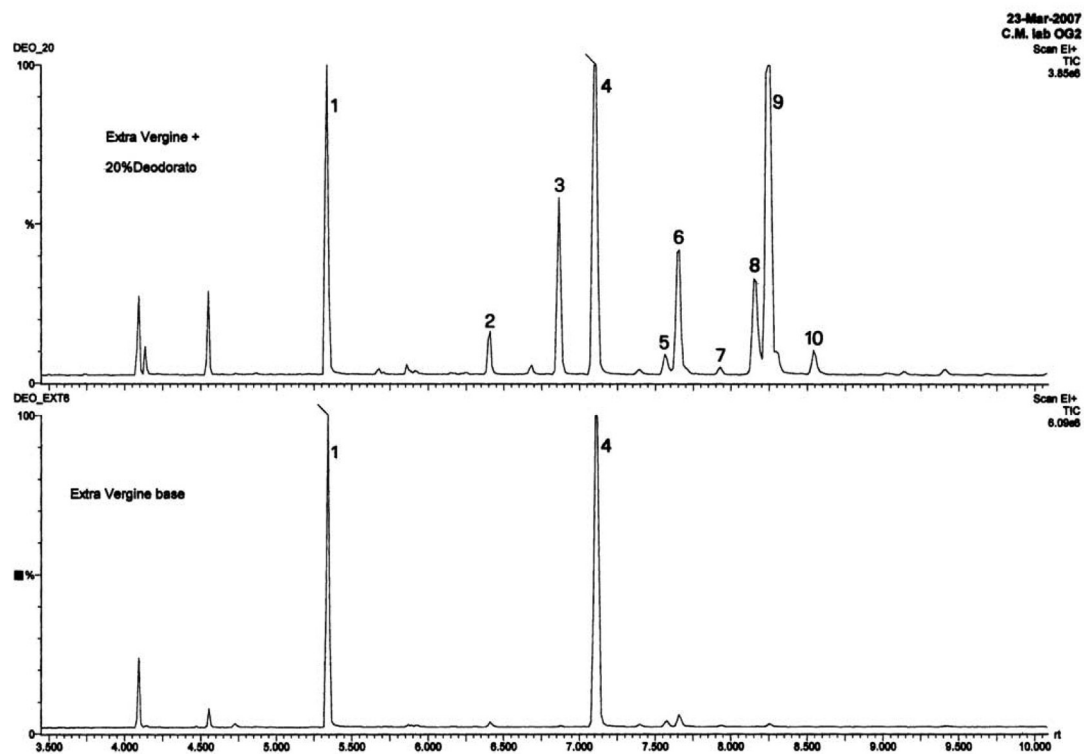


Legenda:

- 1 — ester metylowy kwasu heptadekanowego I.S.
- 2 — metyl C₁₈
- 3 — etyl C₁₈
- 4 — skwalen
- 5 — arachidynian laurylowy I.S.
- A = estry diterpenowe
- B — woski
- C — estry steroli i estry triterpenowe

Rysunek 4

Część chromatogramu oliwy z oliwek ekstra z pierwszego tłoczenia oraz tej samej oliwy z dodatkiem oleju dezodoryzowanego



Legenda:

- 1 – mirystynian metylu I.S.
- 2 – palmitynian metylu
- 3 – palmitynian etylu
- 4 – ester metylowy kwasu heptadekanowego I.S.
- 5 – linolenian metylu
- 6 – oleinian metylu
- 7 – stearynian metylu
- 8 – linolenian etylu
- 9 – oleinian etylu
- 10 – stearynian etylu

*Appendix A***Oznaczenie prędkości liniowej gazu**

Wstrzyknąć 1:3 μ l metanu (lub propanu) do chromatografu gazowego ustawionego na normalne warunki robocze. Mierzyć czas potrzebny na przejście gazu przez kolumnę, počawszy od momentu wstrzyknięcia do momentu osiągnięcia wartości szczytowej (t_M).

Prędkość liniową w cm/sek. oblicza się zgodnie ze wzorem L/t_M , gdzie L jest wysokością kolumny w cm, a t_M jest czasem mierzonym w sekundach.”
