

II

(Nelegislatívne akty)

NARIADENIA

NARIADENIE KOMISIE (EÚ) č. 61/2011

z 24. januára 2011,

ktorým sa mení a dopĺňa nariadenie (EHS) č. 2568/91 o charakteristikách olivového oleja a oleja z olivových zvyškov a o príslušných analytických metódach

EURÓPSKA KOMISIA,

so zreteľom na Zmluvu o fungovaní Európskej únie,

so zreteľom na nariadenie Rady (ES) č. 1234/2007 z 22. októbra 2007 o vytvorení spoločnej organizácie poľnohospodárskych trhov a o osobitných ustanoveniach pre určité poľnohospodárske výrobky (nariadenie o jednotnej spoločnej organizácii trhov)⁽¹⁾, a najmä na jeho článok 113 ods. 1 písm. a) a článok 121 písm. h) v spojení s jeho článkom 4,

keďže:

- (1) Nariadením Komisie (EHS) č. 2568/91⁽²⁾ sa vymedzujú fyzikálne a chemické vlastnosti olivových olejov a olejov z olivových výliskov a metódy analýzy týchto vlastností. Uvedené metódy, ako aj medzné hodnoty vlastností olejov sa musia aktualizovať so zreteľom na názor chemických odborníkov a v súlade s prácou vykonanou v rámci Medzinárodnej rady pre olivový olej.
- (2) Chemickí odborníci usúdili najmä, že obsah etylesterov masných kyselín a metylesterov masných kyselín je užitočným parametrom kvality extra panenských olivových olejov, a preto je vhodné medzné hodnoty uvedených esterov, ako aj metódu stanovenia ich obsahu doplniť.
- (3) Zmeny a doplnenia ustanovené týmto nariadením by sa mali začať uplatňovať od 1. apríla 2011, aby sa poskytlo určité obdobie na prispôbenie novým normám a zavedenie prostriedkov na ich uplatňovanie a zároveň aby sa predišlo narušeniu obchodných transakcií. Z rovnakých dôvodov je potrebné ustanoviť, aby sa olivové oleje a oleje z olivových výliskov, ktoré boli v súlade s právnymi predpismi vyrobené a označené štítkami v Únii alebo dovezené do Únie a prepustené do voľného obehu pred uvedeným dátumom, mohli uvádzať na trh až do vyčerpania zásob.

(4) Nariadenie (EHS) č. 2568/91 by sa preto malo zodpovedajúcim spôsobom zmeniť a doplniť.

(5) Opatrenia ustanovené v tomto nariadení sú v súlade so stanoviskom Riadiaceho výboru pre spoločnú organizáciu poľnohospodárskych trhov,

PRIJALA TOTO NARIADENIE:

Článok 1

Nariadenie (EHS) č. 2568/91 sa mení a dopĺňa takto:

1) V článku 2 ods. 1 sa dopĺňa táto zarážka:

„— na stanovenie obsahu voskov, metylesterov masných kyselín a etylesterov masných kyselín kapilárnou plynovou chromatografiou metóda uvedená v prílohe XX.“

2) Do obsahu príloh sa dopĺňa toto:

„Príloha XX: Metóda na stanovenie obsahu voskov, metylesterov masných kyselín a etylesterov masných kyselín kapilárnou plynovou chromatografiou“

3) Príloha I sa nahrádza znením prílohy I k tomuto nariadeniu.

4) Príloha XX sa dopĺňa tak, ako sa uvádza v prílohe II k tomuto nariadeniu.

Článok 2

Výrobky, ktoré boli v súlade s právnymi predpismi vyrobené a označené štítkami v Únii alebo dovezené do Únie a prepustené do voľného obehu pred 1. aprílom 2011, sa môžu uvádzať na trh až do vyčerpania zásob.

⁽¹⁾ Ú. v. EÚ L 299, 16.11.2007, s. 1.

⁽²⁾ Ú. v. ES L 248, 5.9.1991, s. 1.

Článok 3

Toto nariadenie nadobúda účinnosť tretím dňom po jeho uverejnení v *Úradnom vestníku Európskej únie*.

Uplatňuje sa od 1. apríla 2011.

Toto nariadenie je záväzné v celom rozsahu a priamo uplatniteľné vo všetkých členských štátoch.

V Bruseli 24. januára 2011

Za Komisiu
predseda
José Manuel BARROSO

PRÍLOHA I

„PRÍLOHA I

VLASTNOSTI OLIVOVÝCH OLEJOV

Kategória	Metylestery mastných kyselín (FAME) a etylestery mastných kyselín (FAEE)	Acidita (%) (*)	Peroxidové číslo mEq O ₂ /kg (*)	Vosky mg/kg (**)	2-glyceril monopalmitát (%)	Stigmasta-dién mg/kg (1)	Rozdiel: ECN42 (HPLC) a ECN42 (teoretický výpočet)	K ₂₃₂ (*)	K ₂₇₀ (*)	Delta-K (*)	Organoleptické hodnotenie Medán defektoru (Md) (*)	Organoleptické hodnotenie Medán ovocnosti (Mf) (*)
1. Extra panenský olivový olej	Σ FAME + FAEE ≤ 75 mg/kg alebo 75 mg/kg < Σ FAME + FAEE ≤ 150 mg/kg a (FAEE/FAME) ≤ 1,5	≤ 0,8	≤ 20	≤ 250	≤ 0,9 ak je % kyseliny palmitovej celkom ≤ 14 % ≤ 1,0 ak je % kyseliny palmitovej celkom > 14 %	≤ 0,10	≤ 0,2	≤ 2,50	≤ 0,22	≤ 0,01	Md = 0	Mf > 0
2. Panenský olivový olej	—	≤ 2,0	≤ 20	≤ 250	≤ 0,9 ak je % kyseliny palmitovej celkom ≤ 14 % ≤ 1,0 ak je % kyseliny palmitovej celkom > 14 %	≤ 0,10	≤ 0,2	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,01	Md ≤ 3,5	Mf > 0
3. Lampantový olivový olej	—	> 2,0	—	≤ 300 (3)	≤ 0,9 ak je % kyseliny palmitovej celkom ≤ 14 % ≤ 1,1 ak je % kyseliny palmitovej celkom > 14 %	≤ 0,50	≤ 0,3	—	—	—	Md > 3,5 (2)	—
4. Rafinovaný olivový olej	—	≤ 0,3	≤ 5	≤ 350	≤ 0,9 ak je % kyseliny palmitovej celkom ≤ 14 % ≤ 1,1 ak je % kyseliny palmitovej celkom > 14 %	—	≤ 0,3	—	≤ 1,10	≤ 0,16	—	—
5. Olivový olej - zložený z rafinovaných olivových olejov a panenských olivových olejov	—	≤ 1,0	≤ 15	≤ 350	≤ 0,9 ak je % kyseliny palmitovej celkom ≤ 14 % ≤ 1,0 ak je % kyseliny palmitovej celkom > 14 %	—	≤ 0,3	—	≤ 0,90	≤ 0,15	—	—
6. Surový olej z olivových výliskov	—	—	—	> 350 (4)	≤ 1,4	—	≤ 0,6	—	—	—	—	—
7. Rafinovaný olej z olivových výliskov	—	≤ 0,3	≤ 5	> 350	≤ 1,4	—	≤ 0,5	—	≤ 2,00	≤ 0,20	—	—
8. Olej z olivových výliskov	—	≤ 1,0	≤ 15	> 350	≤ 1,2	—	≤ 0,5	—	≤ 1,70	≤ 0,18	—	—

(1) Súhrn izomérov, ktoré sa (ne-)dajú separovať pomocou kapilárnej kolóny.

(2) Alebo ak medián defektoru je najviac 3,5 a medián ovocnosti je rovný 0.

(3) Oleje s obsahom voskov 300 mg/kg až 350 mg/kg sa považujú za lampantový olivový olej, ak je celkový obsah alifatických alkoholov najviac 350 mg/kg alebo ak je percentuálny podiel erytrodiolu a uvaolu najviac 3,5 %.

(4) Oleje s obsahom voskov 300 mg/kg až 350 mg/kg sa považujú za surový olej z olivových výliskov, ak je celkový obsah alifatických alkoholov vyšší ako 350 mg/kg a ak je percentuálny podiel erytrodiolu a uvaolu vyšší ako 3,5 %.

Kategória	Obsah kyselín ⁽¹⁾						Súhrn trans-izomérov kyseliny olejovej (%)	Súhrn trans-izomérov kyselín linolovej + linolovej (%)	Zloženie sterolov						Steroly celkom (mg/kg)	Erytrodiol a uvaol (%) (**)
	Myristová (%)	Linole-nová (%)	Arašidová (%)	Eikozá-nová (%)	Behénová (%)	Lignoce-rová (%)			Cholesterol (%)	Brassikas-terol (%)	Kampesterol (%)	Stigmas-terol (%)	Betasitos-terol (%) ⁽²⁾	Delta-7-stigmas-tenol (%)		
1. Extra panenský olivový olej	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
2. Panenský olivový olej	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
3. Lampantový olivový olej	≤ 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. Rafinovaný olivový olej	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
5. Zmiešaný olivový olej - zložený z rafinovaných olivových olejov a panenských olivových olejov	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
6. Surový olej z olivových výlis-kov	≤ 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. Rafinovaný olej z olivových výliskov	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 800	> 4,5
8. Olej z olivových výliskov	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 600	> 4,5

⁽¹⁾ Obsah ostatných mastných kyselín (%): palmitovej: 7,5 - 20,0; palmitoolejovej: 0,3 - 3,5; heptadekánovej: ≤ 0,3; heptadecénovej: ≤ 0,3; stearovej: 0,5 - 5,0; olejovej: 55,0 - 83,0; linolovej: 3,5 - 21,0

⁽²⁾ Súhrn : Delta-5,23-stigmastadienol+chlerosterol+beta-sitosterol+sitostanol+delta-5-avenasterol+delta-5,24-stigmastadienol.

⁽³⁾ Oleje s obsahom voskov 300 mg/kg až 350 mg/kg sa považujú za lampantový olivový olej, ak je celkový obsah alifatických alkoholov najviac 350 mg/kg alebo ak je percentuálny podiel erytrodiolu a uvaolu najviac 3,5 %.

⁽⁴⁾ Oleje s obsahom voskov 300 mg/kg až 350 mg/kg sa považujú za surový olej z olivových výliskov, ak je celkový obsah alifatických alkoholov vyšší ako 350 mg/kg a ak je percentuálny podiel erytrodiolu a uvaolu vyšší ako 3,5 %.

Poznámky:

(a) Výsledky analýz sa uvádzajú s rovnakým počtom desiatinných miest, aký je určený pre jednotlivé vlastnosti.

Číslica na poslednom desatinnom mieste sa zaokrúhli smerom hore, ak je nasledujúca číslica väčšia ako 4.

(b) Ak aspoň jedna charakteristika nezodpovedá určeným hodnotám, na účely tohto nariadenia je to dostačujúci dôvod na zaradenie olivového oleja do inej kategórie alebo na jeho označenie za nevyhovujúci z hľadiska čistoty.

(c) Kvalitatívne vlastnosti olejov označené hviezdikou (*) znamenajú, že:

— v prípade lampantového olivového oleja sa príslušné medzné hodnoty nemusia dodržať súčasne,

— v prípade panenských olivových olejov je nedodržanie aspoň jednej z týchto medzných hodnôt dôvodom na zmenu kategórie pri zachovaní zaradenia v kategórii panenských olivových olejov.

(d) Kvalitatívne vlastnosti olivových olejov označené dvoma hviezdikami (**) znamenajú, že pre všetky olivové oleje z olivových výliskov sa príslušné medzné hodnoty nemusia dodržať súčasne.“

PRÍLOHA II

„PRÍLOHA XX

Metóda na stanovenie obsahu voskov, metylesterov mastných kyselín a etylesterov mastných kyselín kapilárnou plynovou chromatografiou

1. ÚČEL

Účelom tejto metódy je stanovenie obsahu voskov, metylesterov mastných kyselín a etylesterov mastných kyselín v olivových olejoch. Jednotlivé vosky a alkylestery sa oddelia podľa počtu atómov uhlíka. Metóda sa odporúča ako nástroj na rozlíšenie olivového oleja a oleja z olivových výliskov, ako aj kvalitatívny parameter extra panenských olivových olejov, ktorým sa umožňuje detekcia falšovanej zmesi extra panenských olivových olejov s olejmi nižšej kvality, či už sú to panenské, lampantové oleje alebo niektoré oleje zbavené zápachu.

2. PRINCÍP METÓDY

Pridanie vhodného vnútorného štandardu k oleju a následná frakcionácia chromatografiou na kolóne s hydratovaným silikagélom. Získanie frakcie eluovanej za skúšobných podmienok (ktorej polarita je nižšia ako polarita triglyceridov) a následná priama analýza kapilárnou plynovou chromatografiou.

3. PRÍSTROJE

3.1. **Erlenmeyerova banka, 25 ml.**3.2. **Sklená kolóna** na kvapalinovú chromatografiu, s vnútorným priemerom 15 mm, dĺžkou 30 až 40 cm vybavená vhodným kohútikom.3.3. **Plynový chromatograf** vhodný na použitie s kapilárnou kolónou, vybavený systémom priamej injektáže na kolónu (tzv. technika on-column), ktorého súčasťou sú:3.3.1. **Pec regulovaná termostatom s programovateľnou teplotou.**3.3.2. **Studený injektor** na priamu injektáž na kolónu.3.3.3. **Plameňový ionizačný detektor a zariadenie na prevod a zosilnenie signálu.**3.3.4. **Zapisovač-integrátor** (poznámka 1) na použitie so zariadením na prevod a zosilnenie signálu (bod 3.3.3), s časovou odozvou nepresahujúcou 1 sekundu a s rôznymi rýchlosťami posunu papiera.

Poznámka 1: Môžu sa používať aj automatizované systémy, ktoré umožňujú zadávanie údajov z plynovej chromatografie prostredníctvom osobného počítača.

3.3.5. **Kapilárna kolóna, tavený kremeň (na analýzu voskov a metyl- a etylesterov)**, dĺžka 8 až 12 m, vnútorný priemer 0,25 až 0,32 mm, z vnútornej strany pokrytá kvapalnou fázou (poznámka 2) s homogénnou hrúbkou 0,10 až 0,30 μm .

Poznámka 2: Na tieto účely sú dostupné vhodné komerčné kvapalné fázy ako SE52, SE54 atď.

3.4. **Mikrostriekačka** s kapacitou 10 μl na priamu injektáž na kolónu, vybavená cementovanou ihlou.3.5. **Elektrická miešačka.**3.6. **Rotačná odparka.**3.7. **Mufľová pec.**3.8. **Analytické váhy** s presnosťou merania na $\pm 0,1$ mg.

3.9. Bežné laboratórne sklo.

4. ČINIDLÁ

- 4.1. **Silikagél**, veľkosť zrna 60 až 200 µm. Vložte silikagél do muflovej pece na 500 °C aspoň na 4 hodiny. Po vychladnutí pridajte 2 % vody vzhľadom na množstvo použitého silikagélu. Dobré pretrepte, aby sa hmota homogenizovala, a pred použitím uchovávajte v sušičke najmenej počas 12 hodín.

- 4.2. **n-hexán**, na chromatografiu alebo analýzu zvyškov (čistota musí byť overená).

VAROVANIE – Výpary sa môžu vznietiť. Chráňte pred zdrojom tepla, iskrami alebo otvoreným ohňom. Uistite sa, že fľaše sú vždy dobre uzatvorené. Počas použitia zaistite riadnu ventiláciu. Zabráňte hromadeniu výparov a odstráňte všetky príčiny možného vzniku požiaru, ako sú ohrievacie telesá alebo elektrické zariadenia, ktoré nie sú vyrobené z nehorľavého materiálu. Vdýchnutie je škodlivé, lebo môže spôsobiť poškodenie nervových buniek. Zabráňte vdýchnutiu výparov. V prípade potreby použite vhodný dýchací prístroj. Zabráňte kontaktu s očami a pokožkou.

4.3. **Dietyléter, na chromatografiu.**

VAROVANIE – Vysokohorľavý a mierne toxický. Dráždi pokožku. Vdýchnutie je škodlivé. Môže spôsobiť poškodenie očí. Môže mať oneskorené účinky. Môže vytvárať výbušné peroxidy. Výpary sa môžu vznietiť. Chráňte pred zdrojom tepla, iskrami alebo otvoreným ohňom. Uistite sa, že fľaše sú vždy dobre uzatvorené. Počas použitia zaistite riadnu ventiláciu. Zabráňte hromadeniu výparov a odstráňte všetky príčiny možného vzniku požiaru, ako sú ohrievacie telesá alebo elektrické zariadenia, ktoré nie sú vyrobené z nehorľavého materiálu. Neodparujete dosucha ani takmer dosucha. Pridaním vody alebo vhodného redukčného činidla možno znížiť tvorbu peroxidov. Nepite. Zabráňte vdýchnutiu výparov. Zabráňte dlhotrvajúcemu alebo opakovanému kontaktu s pokožkou.

4.4. **n-heptán**, na chromatografiu alebo **izo-oktán**.

VAROVANIE – Vznetlivý. Vdýchnutie je škodlivé. Chráňte pred zdrojom tepla, iskrami alebo otvoreným ohňom. Uistite sa, že fľaše sú vždy dobre uzatvorené. Počas použitia zaistite riadnu ventiláciu. Zabráňte vdýchnutiu výparov. Zabráňte dlhotrvajúcemu alebo opakovanému kontaktu s pokožkou.

- 4.5. **Štandardný roztok laurylarašidátu** (poznámka 3) s koncentráciou 0,05 % (m/V) v heptáne (vnútorný štandard pre vosky).

Poznámka 3: Možno použiť aj palmityl-palmitát, myristyl-stearát alebo aršidyl-laureát.

- 4.6. **Štandardný roztok metyl-heptadekanoátu s koncentráciou 0,02 % (m/V) v heptáne (vnútorný štandard pre metyl- a etylestery).**

4.7. **Sudán 1** [1-(fenyldiazenyl)naftalén-2-ol].

- 4.8. **Nosný plyn: vodík alebo hélium, čistý, na plynovú chromatografiu.**

VAROVANIE

Vodík. Vysokohorľavý, pod tlakom. Chráňte pred zdrojom tepla, iskrami, otvoreným ohňom alebo elektrickými zariadeniami, ktoré nie sú vyrobené z nehorľavého materiálu. Uistite sa, že ventil fľaše je uzavretý, keď sa nepoužíva. Vždy používajte s redukčným ventilom. Uvoľnite napätie redukčnej pružiny pred otvorením ventilu fľaše. Pri otváraní ventilu nestojte pred výpustným otvorom fľaše. Počas použitia zaistite riadnu ventiláciu. Neprepúšťajte vodík z jednej fľaše do druhej. Nemiešajte plyn vo fľaši. Uistite sa, že fľaše sa nemôžu prevrhnúť. Chráňte ich pred slnečným žiarením a zdrojmi tepla. Skladujte v nekorozívnom prostredí. Nepoužívajte poškodené alebo neoznačené fľaše.

Hélium. Vysokostlačený plyn. Znižuje množstvo kyslíka, ktoré je k dispozícii na dýchanie. Fľaše udržiavajte uzatvorené. Počas použitia zaistite riadnu ventiláciu. Nevstupujte do skladovacích priestorov, ak nie sú riadne vetrané. Vždy používajte s redukčným ventilom. Uvoľnite napätie redukčnej pružiny pred otvorením ventilu fľaše. Neprepúšťajte plyn z jednej fľaše do druhej. Uistite sa, že fľaše sa nemôžu prevrhnúť. Pri otváraní ventilu nestojte pred výpustným otvorom fľaše. Chráňte ich pred slnečným žiarením a zdrojmi tepla. Skladujte v nekorozívnom prostredí. Nepoužívajte poškodené alebo neoznačené fľaše. Nevdychujte. Používajte výhradne na technické účely.

4.9. Pomocné plyny:

- Vodík, čistý, na plynovú chromatografiu.
- Vzduch, čistý, na plynovú chromatografiu.

VAROVANIE

Vzduch. Vysokostlačený plyn. V prítomnosti horľavých látok používajte opatrne, keďže teplota samovznietenia väčšiny organických zložiek vzduchu je výrazne nižšia pod vysokým tlakom. Uistite sa, že ventil fľaše je uzavretý, keď sa nepoužíva. Vždy používajte s redukčným ventilom. Uvoľnite napätie redukčnej pružiny pred otvorením ventilu fľaše. Pri otváraní ventilu nestojte pred výpustným otvorom fľaše. Neprepúšťajte plyn z jednej fľaše do druhej. Nemiešajte plyn vo fľaši. Uistite sa, že fľaše sa nemôžu prevrhnúť. Chráňte ich pred slnečným žiarením a zdrojmi tepla. Skladujte v nekorozívnom prostredí. Nepoužívajte poškodené alebo neoznačené fľaše. Vzduch na technické účely sa nesmie používať na vdychovanie ani v dýchacích prístrojoch.

5. POSTUP

5.1. Príprava chromatografickej kolóny

Preveďte do suspenzie 15 g silikagél (bod 4.1) v n-hexáne (bod 4.2) a zaveďte do kolóny (bod 3.2). Nechajte samovoľne usadiť. Usadzovanie dokončíte pomocou elektrickej trepačky s cieľom dosiahnuť homogénnejšiu chromatografickú vrstvu. Premyte 30 ml n-hexánu s cieľom odstrániť všetky prípadné nečistoty. Analytickými váhami (bod 3.8) navážte presne 500 mg vzorky do 25 ml banky (bod 3.1) a pridajte vhodné množstvo vnútorného štandardu (bod 4.5) v závislosti od predpokladaného obsahu vosku, napríklad pridajte 0,1 mg laurylarašidátu v prípade olivového oleja, 0,25 až 0,50 mg v prípade oleja z olivových výliskov a 0,05 mg metyl-heptadekanóatu v prípade olivových olejov (bod 4.6).

Pripravenú vzorku preneste do chromatografickej kolóny pomocou dvoch 2-ml dávok n-hexánu (bod 4.2).

Napustite rozpúšťadlo do výšky 1 mm nad hornou úrovňou absorbentu. Premyte ďalším roztokom n-hexánu/dietyléteru v pomere 99:1 a zachyťte 220 ml roztoku pri prietoku približne 15 kvapiek každých 10 sekúnd. (**Táto frakcia obsahuje metyl- a etylestery a vosky**). (Poznámka 4) (Poznámka 5).

Poznámka 4: Zmes n-hexánu/dietyléteru (99:1) by sa mala každý deň čerstvo pripraviť.

Poznámka 5: Na umožnenie vizuálnej kontroly správnej elúcie voskov možno do vzorky roztoku pridať 100 µl 1 % farbiva Sudan I v elučnej zmesi.

Retenčný čas uvedeného farbiva sa nachádza medzi retenčným časom voskov a triglyceridov. Preto keď farbivo dosiahne dno chromatografickej kolóny, je potrebné elúciu zastaviť, lebo všetky vosky už boli eluované.

Sušte výslednú frakciu v rotačnej odparke až do odstránenia takmer celého rozpúšťadla. Odstráňte posledné 2 ml pomocou slabého prúdu dusíka. Frakcia obsahujúca metyl- a etylestery sa zachytáva v 2 až 4 ml n-heptánu alebo izo-oktánu ako rozpúšťadla.

5.2. Plynová chromatografická analýza

5.2.1. Postup prípravy

Namontujte kolónu do plynového chromatografu (bod 3.3), pričom vstupný port sa pripojí k systému na kolóne a výstupný port k detektoru. Skontrolujte prístroj na plynovú chromatografiu (činnosť uzavretých plynových obvodov, účinnosť detektora a zapisovača atď.).

Pokiaľ sa kolóna používa po prvýkrát, je potrebné ju kondicionovať. Zaveďte mierny prietok plynu cez kolónu a potom zapnite prístroj na plynovú chromatografiu. Postupne zahrievajte, až kým sa približne po 4 hodinách dosiahne teplota 350 °C.

Túto teplotu udržiavajte najmenej počas 2 hodín, potom prístroj nastavte na prevádzkové podmienky [nastavte prietok plynu, zapáľte plamienok, pripojte k elektrickému zapisovaču (bod 3.3.4), nastavte teplotu pece pre kolónu, nastavte detektor atď.]. Zapište signál pri citlivosti najmenej dvakrát vyššej, ako sa vyžaduje na vykonanie analýzy. Základná línia by mala byť lineárna, nesmie obsahovať píky žiadneho druhu a nesmie vykazovať žiadnu nestabilitu (drift).

Záporný priamočiary drift indikuje nedokonalú tesnosť spojov kolóny, kým kladný drift indikuje nedostatočné kondicionovanie kolóny.

5.2.2. Výber prevádzkových podmienok v prípade voskov a metyl- a etylesterov (poznámka 6)

Prevádzkové podmienky sú spravidla tieto:

— Teplota kolóny:

20 °C/min 5 °C/min

80 °C počiatočná teplota (1') ——— 140 °C ——— 335 °C (20)

— Teplota detektora: 350 °C.

— Injektované množstvo: 1 µl roztoku n-heptánu (2 až 4 ml).

— Nosný plyn: hélium alebo vodík s optimálnou lineárnou rýchlosťou pre zvolený plyn (pozri dodatok A).

— Citlivosť prístroja: vhodná na splnenie uvedených podmienok.

Poznámka 6: Vzhľadom na vysokú konečnú teplotu sa pripúšťa kladný drift, ktorý nesmie prekročiť 10 % rozsahu stupnice.

Uvedené podmienky možno upraviť tak, aby vyhovovali charakteristikám kolóny a prístroju na plynovú chromatografiu, a to s cieľom oddeliť všetky vosky a metylestery mastných kyselín a etylestery mastných kyselín, ako aj získať uspokojivú separáciu pík (pozri obrázky 2, 3 a 4) a retenčný čas 18 ± 3 min. pre vnútorný štandard laurylarašidátu. Najreprezentatívnejší pík voskov sa musí nachádzať nad 60 % rozsahu stupnice, zatiaľ čo pík metyl-heptadekanoátu – vnútorný štandard pre metyl- a etylestery musí dosiahnuť plný rozsah stupnice.

Parametre integrácie píku by sa mali určiť tak, aby sa dosiahlo správne vyhodnotenie príslušných plôch pík.

5.3. Vykonanie analýzy

Pomocou 10 µl mikrostriekačky naberte 10 µl roztoku, pričom piestik ťahajte dozadu až dovtedy, kým ihla nebude prázdna. Ihlu zaveďte do injekčného systému a po uplynutí 1 až 2 sekúnd rýchlo vstreknite. Po asi 5 sekundách ihlu jemne vytiahnite.

Zápis nechajte prebiehať dovtedy, kým vosky alebo stigmastadiény nebudú úplne eluované v závislosti od analyzovanej frakcie.

Základná línia musí vždy zodpovedať požadovaným podmienkam.

5.4. Identifikácia píku

Píky identifikujte z retenčných časov ich porovnaním so zmesami voskov so známymi retenčnými časmi analyzovanými za rovnakých podmienok. Alkylestery sa stanovujú zo zmesi metylesterov a etylesterov hlavných mastných kyselín v olivových olejoch (palmitovej a olejovej).

Na obrázku 1 je znázornený chromatogram voskov panenského olivového oleja. Na obrázkoch 2 a 3 sú znázornené chromatogramy dvoch maloobchodne predávaných extra panenských olivových olejov, jedného s metylestermi a etylestermi a druhého bez nich. Na obrázku 4 sú znázornené chromatogramy v prípade extra panenského olivového oleja najvyššej kvality a toho istého oleja, ku ktorému sa primiešalo 20 % oleja zbaveného zápachu.

5.5. Kvantitatívna analýza voskov

Pomocou integrátora určíte plochy píkov zodpovedajúce vnútornému štandardu laurylarašidátu a alifatickým esterom od C₄₀ do C₄₆.

Určíte obsah všetkých voskov pripočítaním každého jednotlivého vosku v mg/kg tuku podľa tohto vzorca:

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

kde:

A_x = plocha zodpovedajúca píku pre jednotlivé estery, vypočítaná pomocou počítača

A_s = plocha zodpovedajúca píku pre vnútorný štandard laurylarašidátu, vypočítaná pomocou počítača

m_s = hmotnosť pridaného vnútorného štandardu laurylarašidátu, v miligramoch

m = hmotnosť vzorky odobratej na stanovenie, v gramoch.

5.5.1. Kvantitatívna analýza metylesterov a etylesterov

Pomocou integrátora určíte plochy píkov zodpovedajúce vnútornému štandardu metyl-heptadekanoátu, metylesterov masných kyselín C₁₆ a C₁₈ a etylesterov masných kyselín C₁₆ a C₁₈.

Obsah alkylesterov v mg/kg tuku určíte takto:

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

kde:

A_x = plocha zodpovedajúca píku pre jednotlivé estery C₁₆ a C₁₈, vypočítaná pomocou počítača

A_s = plocha zodpovedajúca píku pre vnútorný štandard metyl-heptadekanoátu, vypočítaná pomocou počítača

m_s = hmotnosť pridaného vnútorného štandardu metyl-heptadekanoátu, v miligramoch

m = hmotnosť vzorky odobratej na stanovenie, v gramoch.

6. VYJADRENIE VÝSLEDKOV

V správe uveďte súčet obsahov rôznych voskov od C₄₀ do C₄₆ (poznámka 7) v miligramoch na kilogram tuku.

V správe uveďte súčet obsahov metylesterov a etylesterov od C₁₆ do C₁₈ a celkový súčet oboch.

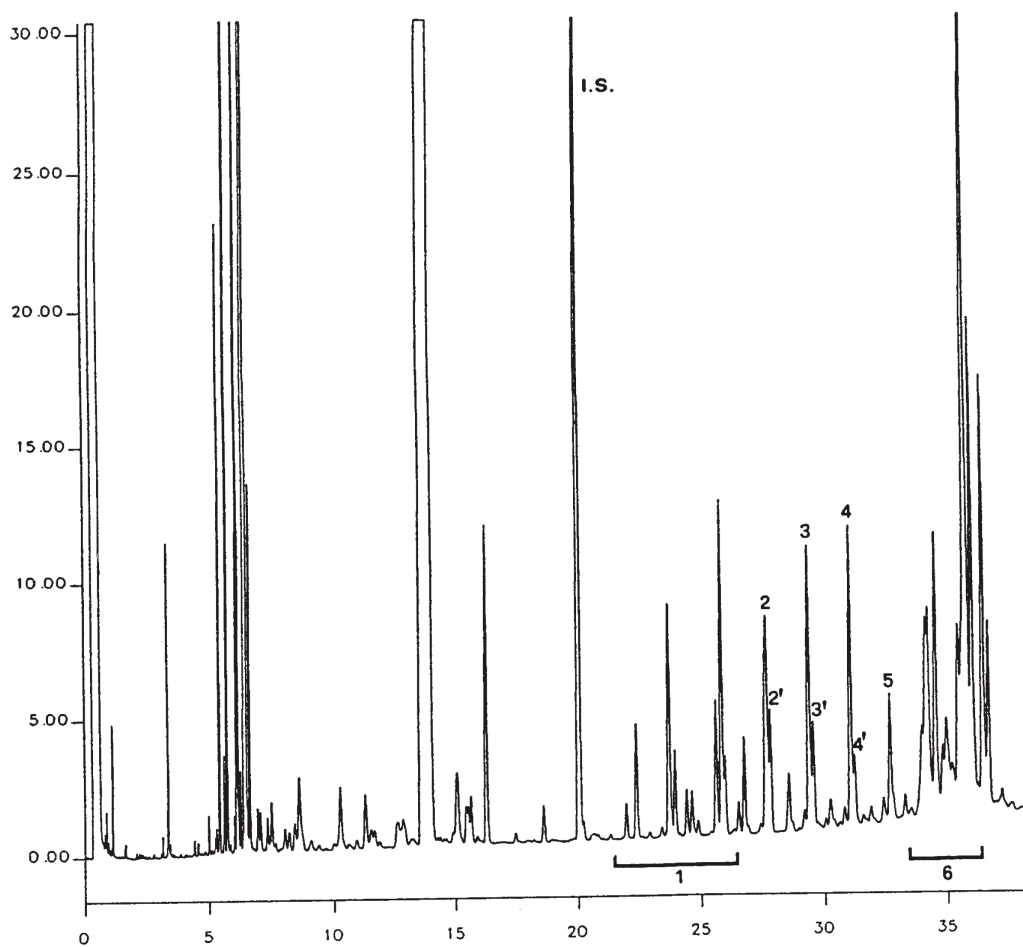
Výsledky by sa mali vyjadriť v najbližších mg/kg.

Poznámka 7: Prvky kvantitatívneho hodnotenia sa vzťahujú na píky esterov s párnym počtom atómov uhlíka medzi C₄₀ a C₄₆ v súlade so vzorom chromatogramu voskov olivového oleja znázorneným na pripojenom obrázku. Pokiaľ sa ester C₄₆ rozštiepi, na účely identifikácie sa odporúča analyzovať frakciu vosku oleja z olivových výliskov, kde možno pík C₄₆ rozlíšiť, lebo zreteľne prevláda.

V správe uveďte pomer obsahov etylesterov a metylesterov

Obrázok 1

Príklad plynového chromatogramu frakcie voskov v olivovom oleji (*)



Píky s retenčným časom 5 až 8 min. metyl- a etylesterov mastných kyselín

Legenda:

I.S. = (vnútorný štandard – V.S.) laurylarašidát

1 = diterpénové estery

2+2' = estery C_{40}

3+3' = estery C_{42}

4+4' = estery C_{44}

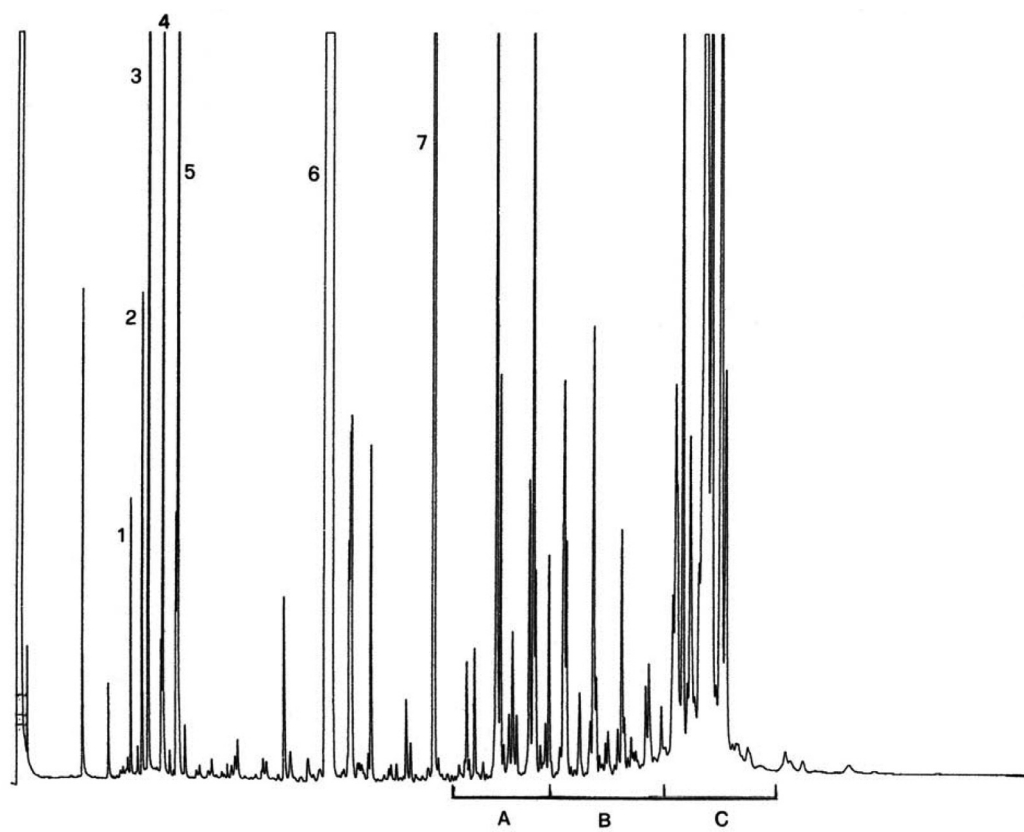
5 = estery C_{46}

6 = sterol-estery a triterpénové alkoholy

(*) Po elúcii sterol-esterov by chromatografický záznam nemal vykazovať žiadne významné píky (triglyceridy).

Obrázok 2

Metylestery, etylestery a vosky v panenskom olivovom oleji

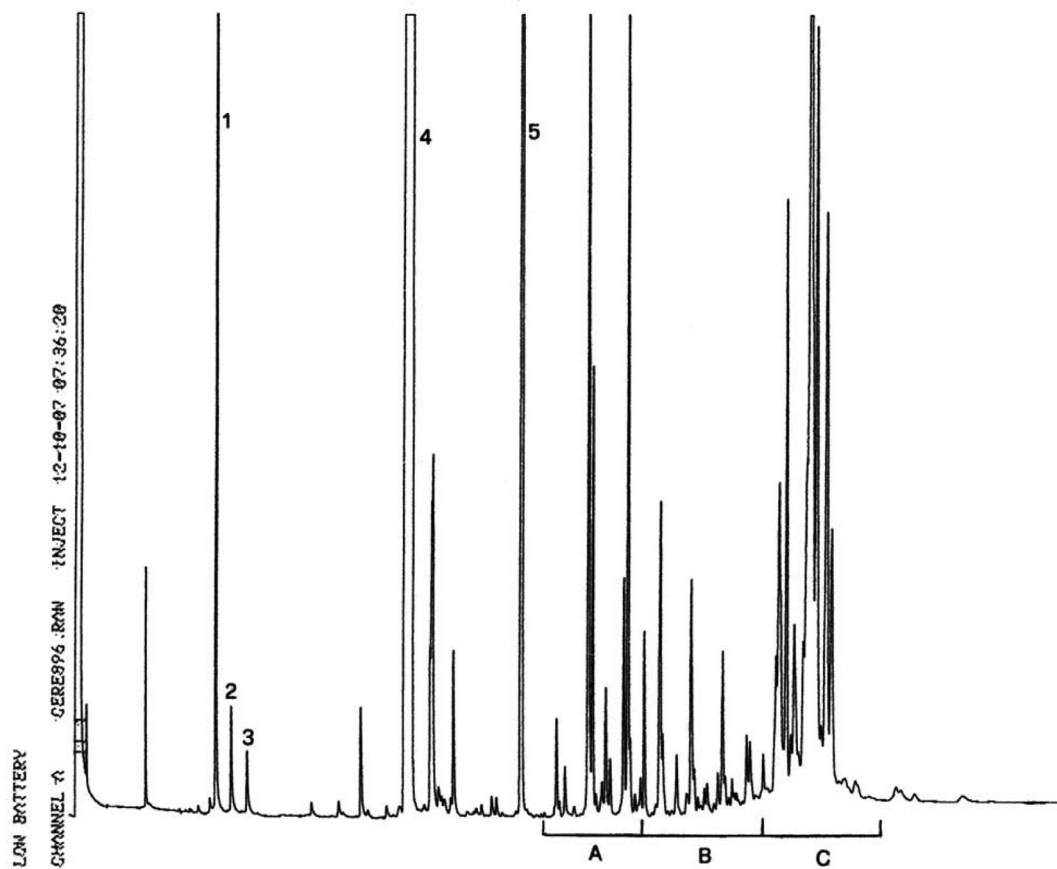


Legenda:

- 1 – Metyl C_{16}
- 2 – Etyl C_{16}
- 3 – Metyl-heptadekanoát V.S.
- 4 – Metyl C_{18}
- 5 – Etyl C_{18}
- 6 – Skvalén
- 7 – Laurylarašidát V.S.
- A – Diterpénové estery
- B – Vosky
- C – Sterol-estery a triterpénové estery

Obrázok 3

Metylestery, etylestery a vosky v extra panenskom olivovom oleji

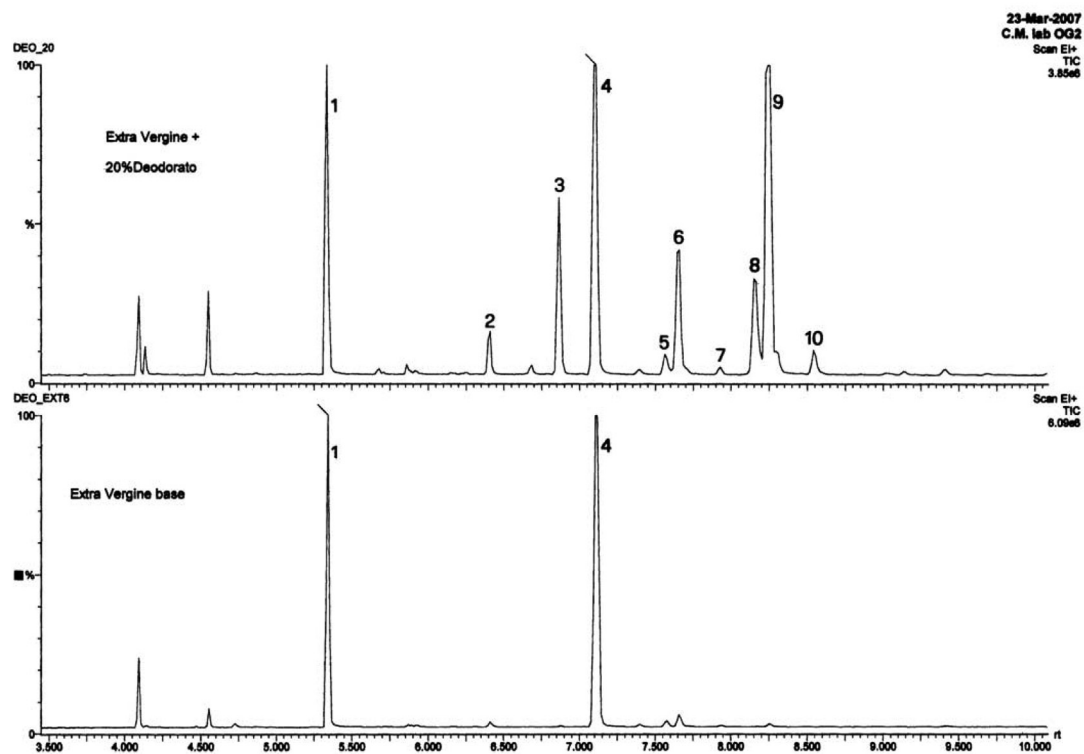


Legenda:

- 1 – Metyl-heptadekanoát V.S.
- 2 – Metyl C₁₈
- 3 – Etyl C₁₈
- 4 – Skvalén
- 5 – Laurylarašidát V.S.
- A – Diterpénové estery
- B – Vosky
- C – Sterol-estery a triterpénové estery

Obrázok 4

Časť chromatogramu extra panenského olivového oleja a toho istého oleja, ku ktorému sa primiešal olej zbavený zápachu



Legenda:

- 1 – Metyl-myristát V.S.
- 2 – Metyl-palmitát
- 3 – Etyl-palmitát
- 4 – Metyl-heptadekanoát V.S.
- 5 – Metyl-linoleát
- 6 – Metyl-oleát
- 7 – Metyl-stearát
- 8 – Etyl-linoleát
- 9 – Etyl oleát
- 10 – Etyl-stearát

*Dodatok A***Stanovenie lineárnej rýchlosti plynu**

Vstreknite 1:3 μ l metánu (alebo propánu) do plynového chromatografu po jeho nastavení na bežné prevádzkové podmienky. Odmerajte čas, ktorý potrebuje plyn na prechod cez kolónu od momentu jeho vstreknutia až do času, keď sa objaví pík (t_M).

Lineárna rýchlosť v cm/s je daná vzorcom L/t_M , kde L je dĺžka kolóny v cm a t_M je čas nameraný v sekundách.“
