

VYKONÁVACIE NARIADENIE KOMISIE (EÚ) č. 1348/2013

zo 16. decembra 2013,

ktorým sa mení 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 prvý odsek písm. a) a h) v spojení s jeho článkom 4,

keďže:

- (1) Nariadením Komisie (EHS) č. 2568/91⁽²⁾ sa vymedzujú chemické a organoleptické vlastnosti olivových olejov a olejov z olivových výliskov a stanovujú metódy posudzovania týchto vlastností. Uvedené metódy, ako aj medzné hodnoty vlastností olejov by sa mali aktualizovať so zreteľom na názor chemických odborníkov a v súlade s prácou vykonanou v rámci Medzinárodnej rady pre olivy (ďalej len „IOC“ – International Olive Council).
- (2) S cieľom zabezpečiť vykonávanie najnovších medzinárodných noriem, ktoré IOC zaviedla, na úrovni Únie by sa určité analytické metódy, ako aj určité medzné hodnoty vlastností olejov stanovené v nariadení (EHS) č. 2568/91 mali aktualizovať.
- (3) Medzné hodnoty stigmastiénu, voskov, kyseliny myristovej (tetradekánovej) a alkylesterov mastných kyselín by sa preto mali prispôbiť a niektoré rozhodovacie stromy na overovanie súladu vzorky olivového oleja s deklarovanou kategóriou by sa preto mali zodpovedajúcim spôsobom zmeniť. V záujme ochrany spotrebiteľov a s cieľom uľahčiť obchodovanie a zabezpečiť autenticitu olivového oleja by sa mali zaviesť rozhodovacie stromy pre kampesterol a delta-7-stigmastenol spolu s prísnejšími obmedzujúcimi parametrami. Analytické metódy stanovovania zloženia a obsahu sterolov a určovania erytrodiolu a uvaolu by sa mali nahradiť spoľahlivejšími metódami, ktoré možno použiť aj na stanovovanie triterpénových diolov. Takisto je vhodné zrevidovať organoleptické hodnotenie olivového oleja a začleniť metódu, ktorou sa umožní zisťovanie cudzích prímiesí rastlinných olejov v olivovom oleji.
- (4) Vzhľadom na rozvoj postupov pri kontrolách súladu olejov by sa metóda odoberania vzoriek olivového oleja a oleja z olivových výliskov mala zodpovedajúcim spôsobom prispôbiť.
- (5) Nariadenie (EHS) č. 2568/91 by sa preto malo zodpovedajúcim spôsobom zmeniť.

(6) Zmeny ustanovené týmto nariadením by sa mali uplatňovať od 1. marca 2014, aby sa poskytlo určité obdobie na prispôbenie sa novým pravidlám a zavedenie prostriedkov na ich uplatňovanie a zároveň aby sa predišlo narušeniu obchodných transakcií. Z rovnakých dôvodov je potrebné stanoviť, 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 dňom, mohli uvádzať na trh až do vyčerpania zásob.

(7) Opatrenia stanovené 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 takto:

(1) Článok 2 sa nahrádza takto:

„Článok 2

1. Vlastnosti olejov uvedené v prílohe I sa stanovujú v súlade s týmito analytickými metódami:

- a) na stanovenie voľných mastných kyselín vyjadrených ako percentuálny obsah kyseliny olejovej – metóda uvedená v prílohe II;
- b) na stanovenie peroxidového čísla – metóda uvedená v prílohe III;
- c) na stanovenie obsahu voskov – metóda uvedená v prílohe IV;
- d) na stanovenie zloženia a obsahu sterolov a triterpénových diolov kapilárnou plynovou chromatografiou – metóda uvedená v prílohe V;
- e) na stanovenie percentuálneho obsahu 2-glyceril monopalmitátu – metóda uvedená v prílohe VII;
- f) na spektrofotometrickú analýzu – metóda uvedená v prílohe IX;
- g) na stanovenie zloženia mastných kyselín – metóda uvedená v prílohách X A a X B;
- h) na stanovenie prchavých halogénovaných rozpúšťadiel – metóda uvedená v prílohe XI;

(¹) Ú. v. EÚ L 299, 16.11.2007, s. 1.

(²) Nariadenie Komisie (EHS) č. 2568/91 z 11. júla 1991 o charakteristikách olivového oleja a oleja z olivových zvyškov a o príslušných analytických metódach (Ú. v. ES L 248, 5.9.1991, s. 1).

- i) na hodnotenie organoleptických vlastností panenského olivového oleja – metóda uvedená v prílohe XII;
- j) na stanovenie stigmastadiénov – metóda uvedená v prílohe XVII;
- k) na stanovenie obsahu triacylglycerolov prostredníctvom ECN42 – metóda uvedená v prílohe XVIII;
- l) na stanovenie obsahu alifatických alkoholov – metóda uvedená v prílohe XIX;
- m) na stanovenie obsahu voskov, metylesterov mastných kyselín a etylesterov mastných kyselín – metóda uvedená v prílohe XX.

Na zisťovanie prítomnosti cudzích prímiesí rastlinných olejov v olivovom oleji sa uplatňuje analytická metóda uvedená v prílohe XXa.

2. Overovanie organoleptických vlastností panenských olejov uskutočňujú vnútroštátne orgány alebo ich zástupcovia prostredníctvom degustačných porôt schválených členskými štátmi.

Organoleptické vlastnosti olejov, ako sa uvádza v prvom pododseku, sa považujú za zhodné s deklarovanou kategóriou, ak degustačná porota schválená príslušným členským štátom toto zatriedenie potvrdila.

V prípade, že by degustačná porota nepotvrdila deklarovanú kategóriu, pokiaľ ide o organoleptické vlastnosti, vnútroštátne orgány alebo ich zástupcovia na žiadosť zainteresovanej strany bezodkladne vykonajú dve kontrolné posúdenia prostredníctvom iných schválených porôt, z ktorých aspoň jedna je porotou schválenou dotknutým členským štátom produkujúcim olivový olej. Príslušné vlastnosti sa považujú za zhodné s deklarovanými vlastnosťami, ak sa deklarované zatriedenie potvrdí aspoň dvomi kontrolnými posúdeniami. Ak sa tak nestane, uvedená zainteresovaná strana znáša náklady na kontrolné posúdenia.

3. Na overovanie vlastností oleja podľa odseku 1 vnútroštátnymi orgánmi alebo ich zástupcami sa vzorky odoberajú v súlade s medzinárodnými normami EN ISO 661 o príprave vzoriek na analýzu a EN ISO 5555 o odbere vzoriek. Bez ohľadu na bod 6.8 normy EN ISO 5555 sa však odber vzorky v prípade dávok takýchto olejov vo vnútornom obale uskutoční v súlade s prílohou Ia k tomuto nariadeniu. Odber vzoriek olejov v prepravných obaloch, v prípade ktorých odber nemožno uskutočniť podľa normy EN ISO 5555, sa uskutočňuje v súlade s pokynmi príslušných orgánov členského štátu.

Bez toho, aby bola dotknutá norma EN ISO 5555 a kapitola 6 normy EN ISO 661, sa odobraté vzorky čo najskôr

umiestnia na tmavé miesto, mimo silného zdroja tepla, a zašlú do laboratória na analýzu, a to najneskôr piaty pracovný deň po odobratí, inak sa vzorky udržiavajú spôsobom, aby sa ich kvalita neznížila alebo aby sa neznehodnotili počas prepravy alebo skladovania pred odoslaním do laboratória.

4. Na účely overovania stanoveného v odseku 3 sa analýzy uvedené v prílohách II, III, IX, XII a XX a všetky kontrolné analýzy vyžadované podľa vnútroštátnych zákonov, ak také sú, vykonávajú v prípade balených výrobkov pred uplynutím minimálnej doby trvanlivosti. Pokiaľ ide o odber vzoriek olejov v prepravných obaloch, uvedené analýzy sa vykonávajú najneskôr šesť mesiacov po mesiaci odberu vzorky.

Na ostatné analýzy stanovené v tomto nariadení sa neuplatňuje žiadne časové obmedzenie.

Ak výsledky analýz nezodpovedajú deklarovaným vlastnostiam kategórie olivového oleja alebo oleja z olivových výlisov, táto skutočnosť sa oznámi dotknutej strane najneskôr mesiac pred koncom lehoty stanovenej v prvom pododseku, a to okrem prípadov, keď sa vzorka odobrala menej ako dva mesiace pred dátumom minimálnej trvanlivosti.

5. Na účely určenia vlastností olivových olejov metódami stanovenými v odseku 1 prvom pododseku sa výsledky analýzy priamo porovnávajú s medznými hodnotami stanovenými v tomto nariadení.“

- (2) Príloha I sa nahrádza textom uvedeným v prílohe I k tomuto nariadeniu.
- (3) Príloha Ia sa nahrádza textom uvedeným v prílohe II k tomuto nariadeniu.
- (4) Príloha Ib sa nahrádza textom uvedeným v prílohe III k tomuto nariadeniu.
- (5) Príloha V sa nahrádza textom uvedeným v prílohe IV k tomuto nariadeniu.
- (6) Príloha VI sa vypúšťa.
- (7) Príloha XII sa nahrádza textom uvedeným v prílohe V k tomuto nariadeniu.
- (8) Príloha XXa, ktorej text sa uvádza v prílohe VI k tomuto nariadeniu, sa vkladá za prílohu XX.

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. marcom 2014, sa môžu uvádzať na trh až do vyčerpania zásob.

Článok 3

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

Uplatňuje sa od 1. marca 2014.

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

V Bruseli 16. decembra 2013

Za Komisiu
predseda
José Manuel BARROSO

VLASTNOSTI OLIVOVÝCH OLEJOV

Kategória	Etylestery mastných kyselín (EEMK) mg/kg (*)	Kyslosť (%) (*)	Peroxidové číslo mEq O ₂ /kg (*)	Vosky mg/kg (**)	2-glyceril monopalmitát (%)	Stigmastadiény mg/kg (1)	Rozdiel: ECN42 (HPLC) a ECN42 (2) (teoretický výpočet)	K ₂₃₂ (*)	K ₂₆₈ alebo K ₂₇₀ (*)	Delta-K (*)	Organoleptické hodnotenie Medián defektoru (Md) (*)	Organolep- tické hodnotenie Medián ovocnosti (Mf) (*)
1. Extra panenský olivový olej	EEMK ≤ 40 (rok zberu 2013 – 2014) (3) EEMK ≤ 35 (rok zberu 2014 – 2015) EEMK ≤ 30 (roky zberu po roku 2015)	≤ 0,8	≤ 20	C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ ≤ 150	≤ 0,9 ak je celkový obsah kyseliny palmitovej v % ≤ 14 %	≤ 0,05	≤ 0,2	≤ 2,50	≤ 0,22	≤ 0,01	Md = 0	Mf > 0
					≤ 1,0 ak je celkový obsah kyseliny palmitovej v % > 14 %							
2. Panenský olivový olej	—	≤ 2,0	≤ 20	C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ ≤ 150	≤ 0,9 ak je celkový obsah kyseliny palmitovej v % ≤ 14 %	≤ 0,05	≤ 0,2	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,01	Md ≤ 3,5	Mf > 0
					≤ 1,0 ak je celkový obsah kyseliny palmitovej v % > 14 %							
3. Lampový olivový olej	—	> 2,0	—	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ ≤ 300 (4)	≤ 0,9 ak je celkový obsah kyseliny palmitovej v % ≤ 14 %	≤ 0,50	≤ 0,3	—	—	—	Md > 3,5 (5)	—
					≤ 1,1 ak je celkový obsah kyseliny palmitovej v % > 14 %							
4. Rafinovaný olivový olej	—	≤ 0,3	≤ 5	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ ≤ 350	≤ 0,9 ak je celkový obsah kyseliny palmitovej v % ≤ 14 %	—	≤ 0,3	—	≤ 1,10	≤ 0,16	—	—
					≤ 1,1 ak je celkový obsah kyseliny palmitovej v % > 14 %							

Kategória	Eylestery mastných kyselín (EEMK) mg/kg (*)	Kyslosť (%) (*)	Peroxidové číslo mEq O ₂ /kg (*)	Vosky mg/kg (**)	2-glyceril monopalmitát (%)	Stigmastiédiény mg/kg (1)	Rozdiel: ECN42 (HPLC) a ECN42 (2) (teoretický výpočet)	K ₂₃₂ (*)	K ₂₆₈ alebo K ₂₇₀ (*)	Delta-K (*)	Organoleptické hodnotenie Medián defektoru (Md) (*)	Organolep- tické hodnotenie Medián ovocnosti (Mf) (*)
5. Olivový olej zložený z rafinovaných a panenských olivových olejov	—	≤ 1,0	≤ 15	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ ≤ 350	≤ 0,9 ak je celkový obsah kyseliny palmitovej v % ≤ 14 %	—	≤ 0,3	—	≤ 0,90	≤ 0,15	—	—
					≤ 1,0 ak je celkový obsah kyseliny palmitovej v % > 14 %							
6. Surový olej z olivových výliskov	—	—	—	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ > 350 (6)	≤ 1,4	—	≤ 0,6	—	—	—	—	—
7. Rafinovaný olej z olivových výliskov	—	≤ 0,3	≤ 5	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ > 350	≤ 1,4	—	≤ 0,5	—	≤ 2,00	≤ 0,20	—	—
8. Olej z olivových výliskov	—	≤ 1,0	≤ 15	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ > 350	≤ 1,2	—	≤ 0,5	—	≤ 1,70	≤ 0,18	—	—

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

(2) Olivový olej musí spĺňať požiadavky podľa metódy stanovenej v prílohe XXa.

(3) Táto mezdná hodnota sa uplatňuje na olivové oleje vyrobené počnúc 1. marcom 2014.

(4) Oleje s obsahom voskov od 300 mg/kg do 350 mg/kg sa považujú za lampový olivový olej, ak celkovo obsahujú najviac 350 mg/kg alifatických alkoholov alebo ak obsahujú najviac 3,5 % erytrodiolu a uvaolu.

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

(6) Oleje s obsahom voskov medzi 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 obsah erytrodiolu a uvaolu vyšší ako 3,5 %.

Kategória	Skladba mastných kyselín (1)						Celkový obsah trans-izomérov kyseliny olejovej (%)	Celkový obsah trans-izomérov kyseliny linolovej + kyseliny linolénovej (%)	Skladba sterolov					Celkový obsah sterolov (mg/kg)	Erytrodiol a uvaol (%) (**)	
	Myristová (%)	Linolénová (%)	Ikozánová (%)	Eikosenová (%)	Behénová (%)	Lignoce-rová (%)			Cholesterol (%)	Brasikas-terol (%)	Kampes-terol (2) (%)	Stigmas-terol (%)	App β-sitosterol (3) (%)			Delta-7-stigmaste-nol (2) (%)
1. Extra panenský olivový olej	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
2. Panenský olivový olej	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
3. Lampový olivový olej	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,10	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5 (4)
4. Rafinovaný olivový olej	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5

Kategória	Skladba masných kyselín ⁽¹⁾						Celkový obsah trans-izomérov kyseliny olejovej (%)	Celkový obsah trans-izomérov kyseliny linolovej + kyseliny linolénovej (%)	Skladba sterolov					Celkový obsah sterolov (mg/kg)	Erytrodiol a uvaol (%) (**)	
	Myristová (%)	Linolénová (%)	Ikozánová (%)	Eikosenová (%)	Behénová (%)	Lignoce-rová (%)			Cholesterol (%)	Brasikas-terol (%)	Kampes-terol ⁽²⁾ (%)	Stigmas-terol (%)	App β-sitosterol ⁽³⁾ (%)			Delta-7-stigmaste-nol ⁽²⁾ (%)
5. Olivový olej zložený z rafinovaných a panenských olivových olejov	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
6. Surový olej z olivových výliskov	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,30	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 2 500	> 4,5 ⁽⁵⁾
7. Rafinovaný olej z olivových výliskov	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,30	≤ 0,20	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 800	> 4,5
8. Olej z olivových výliskov	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,30	≤ 0,20	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< kamp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 600	> 4,5

⁽¹⁾ Obsah ostatných masných kyselín (%): palmitovej: 7,50 – 20,00; palmitoolejovej: 0,30 – 3,50; heptadekánovej: ≤ 0,30; heptadecénovej: ≤ 0,30; stearovej: 0,50 – 5,00; olejovej: 55,00 – 83,00; linolovej: 3,50 – 21,00.

⁽²⁾ Pozri dodatok k tejto prílohe.

⁽³⁾ App β-sitosterol: Delta-5,23-stigmastadienol+cholesterol+beta-sitosterol+sitostanol+delta-5-avenasterol+delta-5,24-stigmastadienol.

⁽⁴⁾ Oleje s obsahom voskov od 300 mg/kg do 350 mg/kg sa považujú za lampový olivový olej, ak celkovo obsahujú najviac 350 mg/kg alifatických alkoholov alebo ak obsahujú najviac 3,5 % erytrodiolu a uvaolu.

⁽⁵⁾ Oleje s obsahom voskov medzi 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 obsah erytrodiolu a uvaolu vyšší ako 3,5 %.

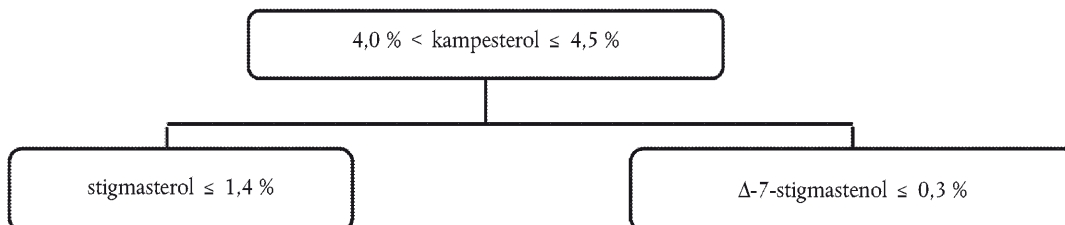
Poznámky:

- Výsledky analýz sa musia uvádzať s rovnakým počtom desatinných miest, aký je určený pre jednotlivé vlastnosti. Číslica na poslednom desatinnom mieste sa musí zaokrúhliť smerom nahor, ak je nasledujúca číslica väčšia ako 4.
- Ak hoci len jediná vlastnosť nezodpovedá určeným hodnotám, je to dostačujúci dôvod na to, aby sa na účely tohto nariadenia tento olivový olej zaradil do inej kategórie alebo aby bol označený za nevyhovujúci z hľadiska čistoty.
- Kvalitatívna vlastnosť oleja označená hviezdíčkou (*) znamená, že: – v prípade lampového olivového oleja sa obe príslušné medzné hodnoty môžu líšiť od stanovených hodnôt súčasne; – v prípade panenských olivových olejov, ak sa aspoň jedna z týchto medzných hodnôt líši od stanovených hodnôt, je to dôvod na zmenu kategórie olejov, hoci ich zaradenie v jednej z kategórií panenských olivových olejov sa naďalej zachová.
- Kvalitatívne vlastnosti olivových olejov označené dvoma hviezdíčkami (**) znamenajú, že pre všetky druhy olivových olejov z olivových výliskov sa obe príslušné medzné hodnoty môžu líšiť od stanovených hodnôt súčasne.

Dodatok

Rozhodovací strom

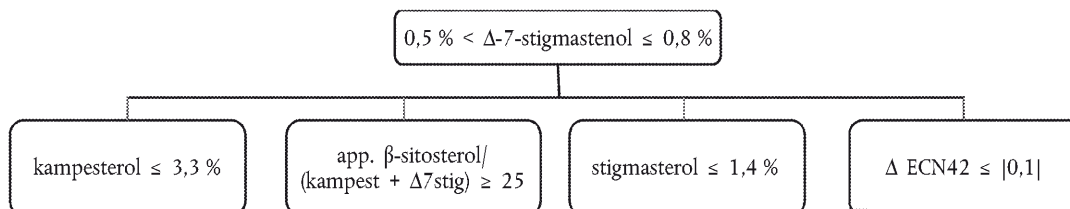
Rozhodovací strom pre kampesterol v panenských a extra panenských olivových olejoch:



Ostatné parametre musia spĺňať medzné hodnoty stanovené v tomto nariadení.

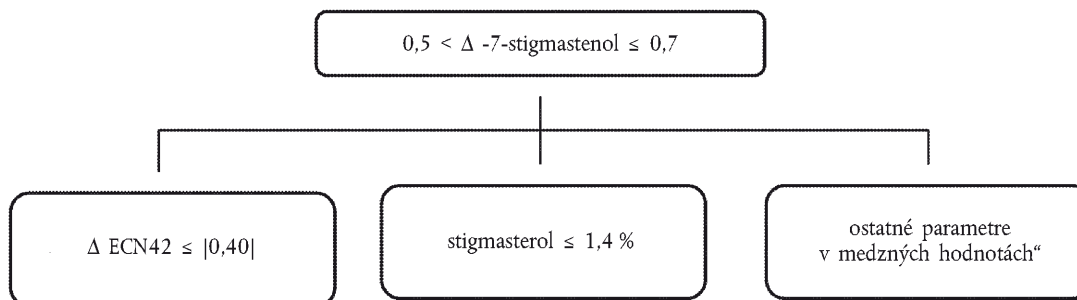
Rozhodovací strom pre **delta-7-stigmastenol**:

— v extra panenských a panenských olivových olejoch



Ostatné parametre musia spĺňať medzné hodnoty stanovené v tomto nariadení.

— v oleji z olivových výliskov (surovom a rafinovanom)



PRÍLOHA II

„PRÍLOHA Ia

ODBER VZORIEK OLIVOVÉHO OLEJA ALEBO OLEJA Z OLIVOVÝCH VÝLISKOV DODÁVANÝCH V BEZPROSTREDNOM OBALE

Táto metóda odberu vzoriek sa uplatňuje na dávky olivového oleja alebo oleja z olivových výliskov umiestnené v bezprostrednom obale. V závislosti od toho, či bezprostredný obal presahuje 5 litrov alebo nie, sa uplatňujú rôzne metódy odberu.

„Dávka“ je sada predajných jednotiek, ktoré sa produkujú, vyrábajú a balia v takých podmienkach, že olej nachádzajúci sa v každej predajnej jednotke sa považuje za homogénny, pokiaľ ide o všetky analytické vlastnosti. Individualizácia dávky sa musí uskutočniť v súlade so smernicou Európskeho parlamentu a Rady 2011/91/EÚ ⁽¹⁾.

„Čiastková vzorka“ je množstvo oleja v bezprostrednom obale odobraného z náhodného bodu dávky.

1. OBSAH PRIMÁRNEJ VZORKY

1.1. **Bezprostredný obal nepresahujúci 5 litrov**

„Primárna vzorka“ v prípade bezprostredného obalu nepresahujúceho 5 litrov je počet čiastkových vzoriek odobraných z dávky, a to v súlade s tabuľkou 1.

Tabuľka 1

Minimálna veľkosť primárnej vzorky musí pozostávať z nasledovného

Pokiaľ má bezprostredný obal objem	Primárna vzorka sa skladá z oleja
a) aspoň 1 liter	a) z 1 bezprostredného obalu
b) menej ako 1 liter	b) z minimálneho počtu balení s celkovým objemom aspoň 1,0 litra

Každý členský štát môže zvýšiť počet balení, ktorý sa uvádza v tabuľke 1 a ktorý predstavuje primárnu vzorku, podľa vlastných potrieb (napr. na účely organoleptického hodnotenia iným laboratóriom, ako tým, ktoré vykonalo chemickú analýzu, kontrolné analýzy atď.).

1.2. **Bezprostredný obal presahujúci 5 litrov**

„Primárna vzorka“ v prípade bezprostredného obalu presahujúceho 5 litrov je reprezentatívna časť všetkých čiastkových vzoriek získaná ich delením, a to v súlade s tabuľkou 2. Primárna vzorka sa musí skladať z rôznych ukážok.

„Ukážka“ primárnej vzorky je každé balenie, z ktorého prvotná vzorka pozostáva.

Tabuľka 2

Minimálny počet čiastkových vzoriek, ktoré sa majú vybrať

Počet balení v dávke	Minimálny počet čiastkových vzoriek, ktoré sa majú vybrať
Do 10	1
Od ... 11 do 150	2
Od ... 151 do 500	3
Od ... 501 do 1 500	4
Od ... 1 501 do 2 500	5
> 2 500 na 1 000 balení	1 čiastková vzorka navyše

⁽¹⁾ Smernica Európskeho parlamentu a Rady 2011/91/EÚ z 13. decembra 2011 o identifikácii alebo rozlíšení dávky, do ktorej potraviny patria (Ú. v. EÚ L 334, 16.12.2011, s. 1).

S cieľom zmenšiť objem vzoriek z bezprostredných obalov sa obsah čiastkových vzoriek homogenizuje na účely prípravy primárnej vzorky. Obsah jednotlivých čiastkových vzoriek sa naleje do spoločnej nádoby, kde sa miešaním zhomogenizuje, pričom sa čo najviac chráni pred prevzdušením.

Celý obsah primárnej vzorky sa rozleje do série obalov s minimálnym objemom 1,0 litra, z ktorých každý predstavuje ukážku primárnej vzorky.

Každý členský štát môže zvýšiť počet primárnych vzoriek podľa vlastných potrieb (napr. na účely organoleptického hodnotenia iným laboratóriom, ako tým, ktoré vykonalo chemickú analýzu, kontrolné analýzy atď.).

Každý obal sa musí naplniť spôsobom, pri ktorom je vrstva vzduchu nad povrchom vzorky minimálna, a následne vhodne uzavrieť a utesniť, aby sa zabezpečil proti nevhodnej manipulácii.

Uvedené ukážky sa musia označiť, aby sa zabezpečila ich správna identifikácia.

2. ANALÝZA A VÝSLEDKY

2.1. Každá primárna vzorka sa musí v súlade s bodom 2.5 normy EN ISO 5555 rozdeliť na laboratórne vzorky, ktoré sa musia analyzovať v poradí podľa rozhodovacieho stromu uvedeného v prílohe Ib alebo v akomkoľvek inom náhodnom poradí.

2.2. Pokiaľ sú všetky výsledky analýzy v súlade s vlastnosťami deklarovanej kategórie oleja, celá dávka sa vyhlási za vyhovujúcu.

Pokiaľ jediný výsledok analýzy nie je v súlade s vlastnosťami deklarovanej kategórie oleja, celá dávka sa vyhlási za nevyhovujúcu.

3. OVEROVANIE KATEGÓRIE DÁVKY

3.1. S cieľom overiť kategóriu dávky môže príslušný orgán zvýšiť počet primárnych vzoriek odobraných v rôznych bodoch dávky podľa tejto tabuľky:

Tabuľka 3

Počet primárnych vzoriek určený podľa veľkosti dávky

Veľkosť dávky (v litroch)	Počet primárnych vzoriek
menej ako 7 500	2
od 7 500 do menej ako 25 000	3
od 25 000 do menej ako 75 000	4
od 75 000 do menej ako 125 000	5
najmenej 125 000	6 + 1 na každých ďalších 50 000 litrov

Každá čiastková vzorka tvoriaca primárnu vzorku sa musí odobrať z kontinuálneho miesta dávky, pričom je nevyhnutné uviesť do poznámky miesto odberu každej primárnej vzorky a jednoznačne ju identifikovať.

Zostavenie každej primárnej vzorky sa musí uskutočniť v súlade s postupmi uvedenými v bodoch 1.1 a 1.2.

Každá primárna vzorka sa následne podrobí analýze uvedenej v článku 2 ods. 1.

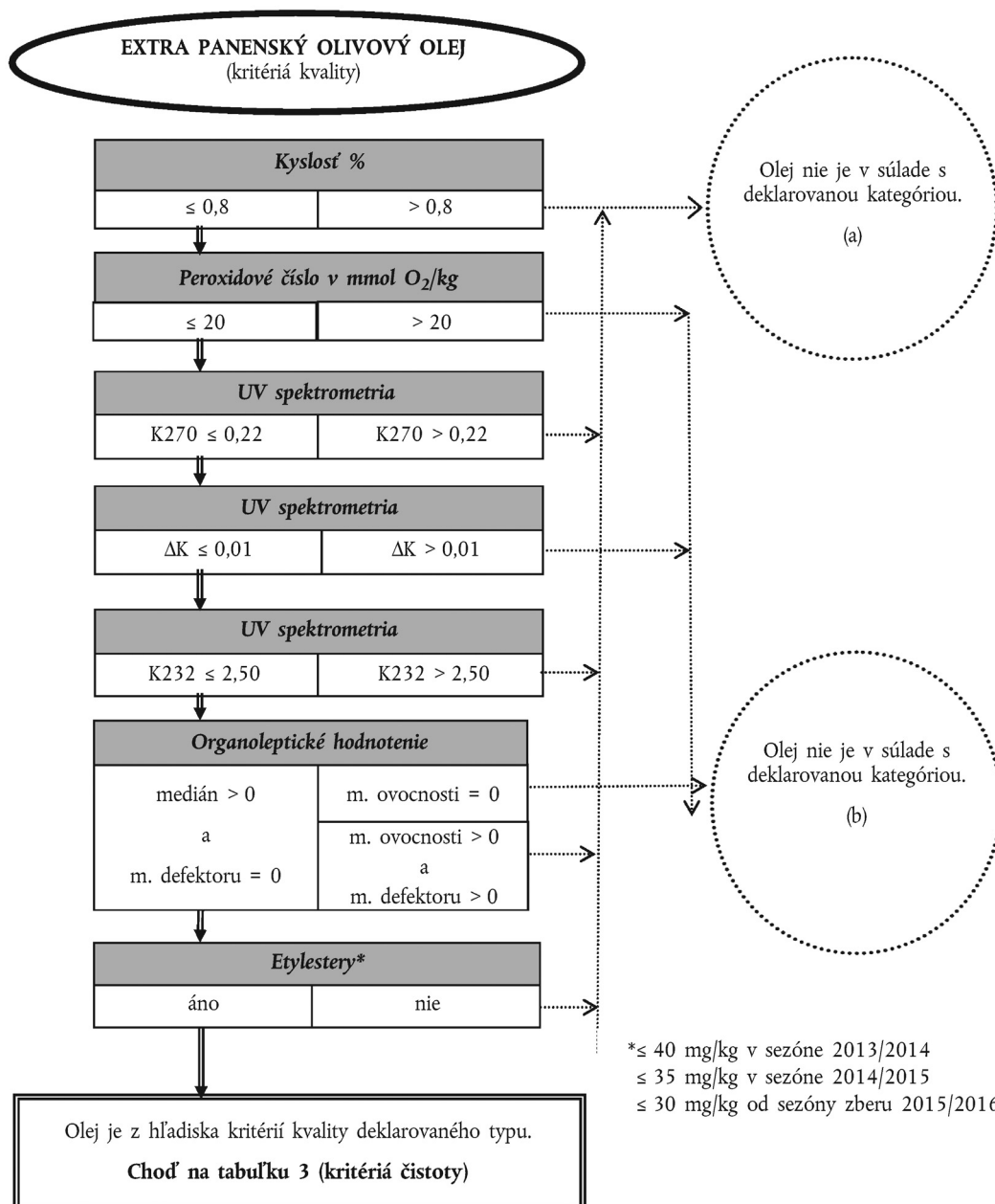
3.2. Pokiaľ jeden z výsledkov analýzy uvedenej v článku 2 ods. 1 týkajúcej sa aspoň jednej primárnej vzorky nie je v súlade s vlastnosťami deklarovanej kategórie oleja, celá dávka, z ktorej sa vzorka odobrala, sa vyhlási za nevyhovujúcu.“

PRÍLOHA III

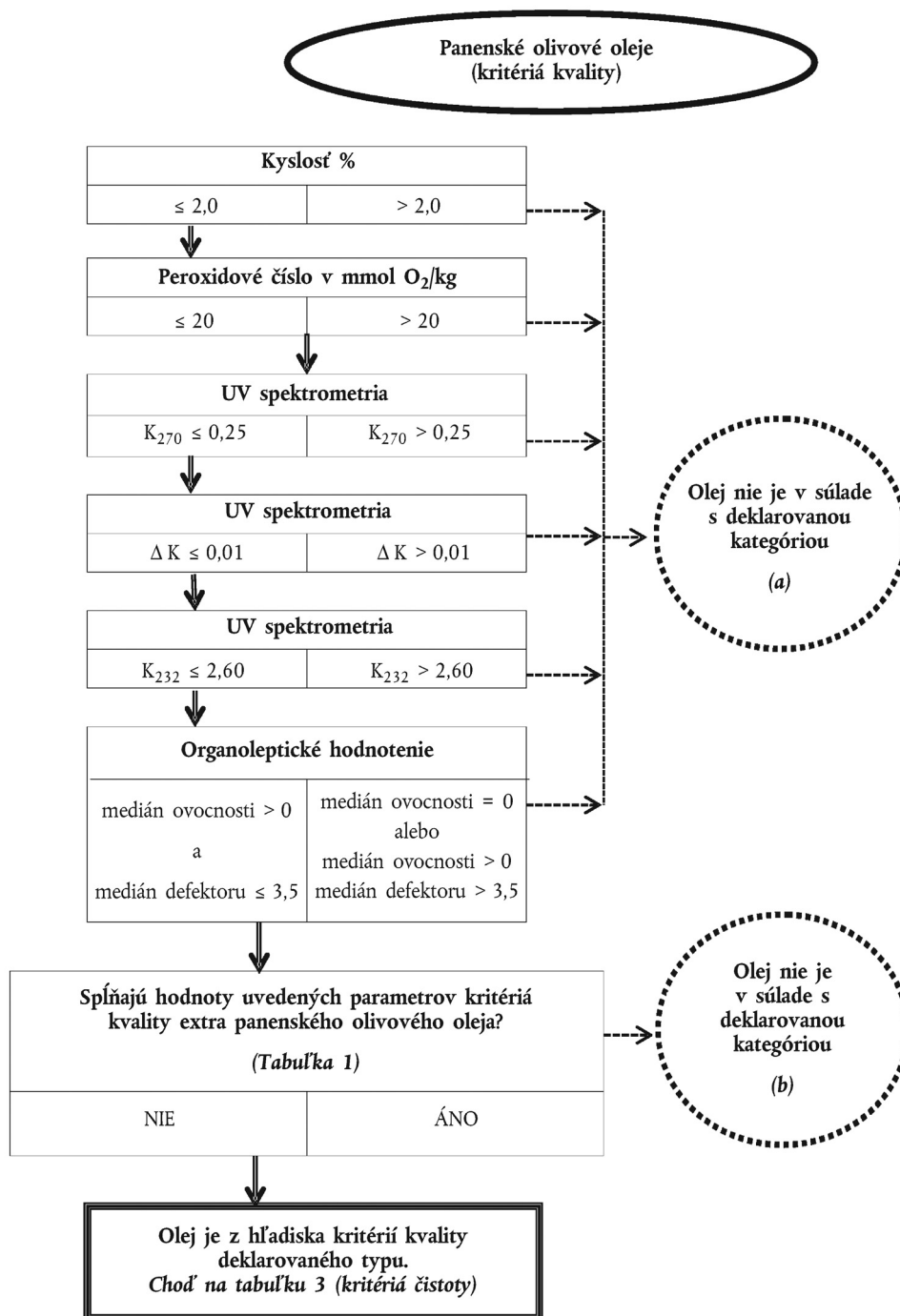
„PRÍLOHA Ib

ROZHODOVACÍ STROM NA OVERENIE SÚLADU VZORKY OLIVOVÉHO OLEJA S DEKLAROVANOU KATEGÓRIOU

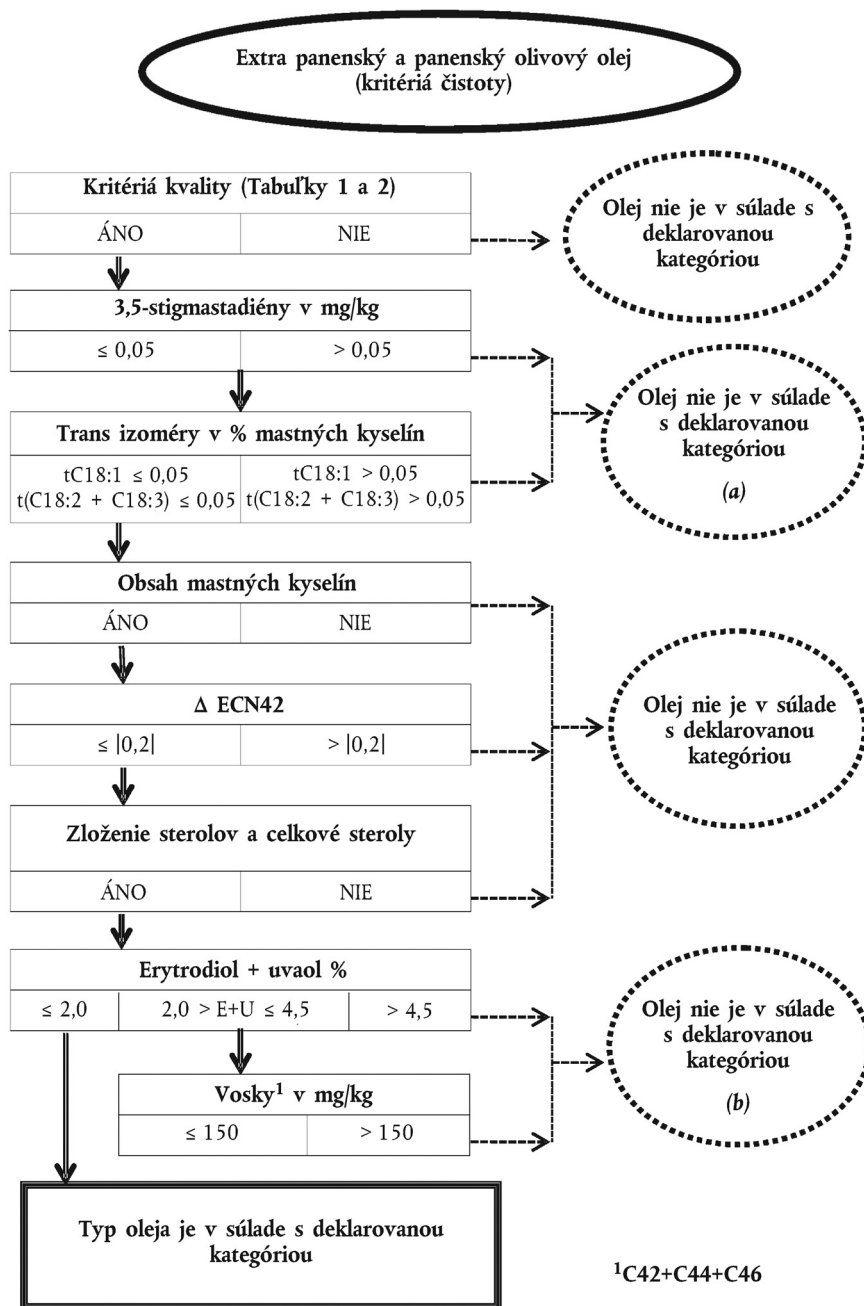
Tabuľka 1



Tabuľka 2



Tabuľka 3



Dodatok 1

Tabuľka rovnocennosti medzi prílohami k tomuto nariadeniu a analýzami špecifikovanými v rozhodovacom strome

— Kyslosť	Príloha II	Stanovovanie voľných mastných kyselín, studená metóda
— Peroxidové číslo	Príloha III	Stanovovanie peroxidového čísla
— UV spektrometria	Príloha IX	Spektrofotometrická analýza
— Organoleptické hodnotenie	Príloha XII	Organoleptické hodnotenie panenského olivového oleja
— Etylestery	Príloha XX	Metóda stanovovania obsahu voskov, metylesterov mastných kyselín a etylesterov mastných kyselín kapilárnou plynovou chromatografiou
— 3,5–stigmastadiény	Príloha XVII	Metóda stanovovania stigmastadiénov v rastlinných olejoch
— Trans–izoméry mastných kyselín	Príloha X A a	Analýza metylesterov mastných kyselín plynovou chromatografiou
	Príloha X B	Príprava metylesterov mastných kyselín
— Obsah mastných kyselín	Príloha X A a	Analýza metylesterov mastných kyselín plynovou chromatografiou
	Príloha X B	Príprava metylesterov mastných kyselín
— ΔECN42	Príloha XVIII	Stanovovanie skladby triacylglycerolov s ECN42 (rozdiel medzi údajmi z HPLC a teoretickým obsahom)
— Skladba sterolov a celkové steroly — Erytrodiol a uvaol	Príloha V	Stanovovanie skladby a obsahu sterolov a triterpénových diolov kapilárnou plynovou chromatografiou
— Vosky	Príloha IV	Stanovovanie obsahu voskov kapilárnou plynovou chromatografiou
— Alifatické alkoholy	Príloha XIX	Stanovovanie obsahu alifatických alkoholov kapilárnou plynovou chromatografiou
— Mastné kyseliny nasýtené v pozícii 2	Príloha VII	Stanovovanie percentuálneho obsahu 2-glyceril monopalmitátu“

PRÍLOHA IV

„PRÍLOHA V

STANOVOVANIE SKLADBY A OBSAHU STEROLOV A TRITERPÉNOVÝCH DIOLOV KAPILÁRNOU PLYNOVOU CHROMATOGRAFIU

1. ROZSAH PÔSOBNOSTI

Táto metóda opisuje postup stanovovania obsahu jednotlivých sterolov a celkového obsahu sterolov a triterpénových diolov v olivových olejoch a olejoch z olivových výliskov.

2. PODSTATA METÓDY

Olej s pridaným α -cholestanolom ako vnútorným štandardom sa zmydelní etanolovým roztokom hydroxidu draselného a látky nepodliehajúce zmydelneniu sa extrahujú dietyléterom.

Frakcia sterolov a triterpénových diolov sa oddelí od nezmydelniteľnej časti pomocou tenkovrstvovej chromatografie na základnej silikagélovej platni. Frakcie získané zo silikagélu sa transformujú na trimetylsilylétery (TMSE) a následne sa analyzujú kapilárnou plynovou chromatografiou.

3. LABORATÓRNA TECHNIKA

Bežné laboratórne vybavenie, a najmä:

- 3.1. 250 ml banka so spätným chladičom a zábrusovými sklenenými spojami.
 - 3.2. 500 ml oddeľovací lievik.
 - 3.3. 250 ml banky.
 - 3.4. Kompletná zostava na analýzu tenkovrstvovou chromatografiou so sklenenými platňami s rozmermi 20 × 20 cm.
 - 3.5. UV lampa s vlnovou dĺžkou 254 alebo 366 nm.
 - 3.6. Mikrostriekačky s objemom 100 μ l a 500 μ l.
 - 3.7. Valcovitý filtračný lievik s fritou G3 (pórovitosť 15 – 40 μ m) s priemerom približne 2 cm a hĺbkou 5 cm, vhodný na filtrovanie vo vákuu, s vonkajším zábrusom.
 - 3.8. 50 ml vákuová kónická banka s vnútorným zábrusom, vhodná na použitie s uvedeným filtračným lievikom (podľa bodu 3.7).
 - 3.9. 10 ml skúmavka s kónickým dnom a so zabrúsenou sklenenou zátkou.
 - 3.10. Plynový chromatograf vhodný na použitie s kapilárnou kolónou vybavený injekčným systémom s deličom a pozostávajúci z/zo:
 - 3.10.1. termostatickej komory pre kolóny schopné udržiavať požadovanú teplotu s presnosťou ± 1 °C,
 - 3.10.2. dávkovacej jednotky s nastaviteľnou teplotou so silyvaným skleneným odparovacím prvkom a deličom,
 - 3.10.3. plameňovoionizačného detektora (FID),
 - 3.10.4. systému získavania údajov vhodného na použitie s detektorom FID (podľa bodu 3.10.3) s možnosťou manuálnej integrácie.
 - 3.11. Kapilárna kolóna z taveného kremeňa s dĺžkou 20 až 30 m, s vnútorným priemerom 0,25 až 0,32 mm, potiahnutá vrstvou skladajúcou sa z 5 % difenylu a 95 % dimetylpolysiloxanu (SE-52 alebo SE-54 stacionárnu fázou alebo ekvivalentnou fázou) s jednotnou hrúbkou filmu od 0,10 do 0,30 μ m.
 - 3.12. Mikrostriekačka s kapacitou 10 μ l na plynovú chromatografiu s cementovanou ihlou vhodnou pre injekčný systém s deličom.
 - 3.13. Exsikátor s chloridom vápenatým
4. ČINIDLÁ
- 4.1. Hydroxid draselný s minimálnou koncentráciou stanovenou titrovaním 85 %.

- 4.2. Hydroxid draselný, približne 2 normálny etanolový roztok.
130 g hydroxidu draselného (podľa bodu 4.1) sa rozpustí za chladenia v 200 ml destilovanej vody a potom sa doplní etanolom na objem 1 litra (bod 4.10). Roztok sa môže skladovať v dobre uzatvorenej fľaši z tmavého skla najviac dva dni.
- 4.3. Dietyléter, analytickej kvality.
- 4.4. Hydroxid draselný, približne 0,2 normálny etanolový roztok.
13 g hydroxidu draselného (podľa bodu 4.1) sa rozpustí v 20 ml destilovanej vody a potom sa doplní etanolom na objem 1 litra (bod 4.10).
- 4.5. Bezvodý síran sodný, analytickej kvality.
- 4.6. Silikagélové tenkovrstvé sklenené platne (20 × 20 cm), bez fluorescenčného detektora, hrúbky 0,25 mm (komerčne dostupné a vhodné na okamžité použitie).
- 4.7. Toluén, chromatografickej kvality.
- 4.8. Acetón, chromatografickej kvality.
- 4.9. n-hexán, chromatografickej kvality.
- 4.10. Dietyléter, chromatografickej kvality.
- 4.11. Etanol, analytickej kvality.
- 4.12. Etylacetát, analytickej kvality.
- 4.13. Referenčný roztok na tenkovrstvovú chromatografiu: cholesterol alebo fytoosteroly a 5 % roztok erytrodiolu v etylacetáte (podľa bodu 4.11).
- 4.14. 0,2 % roztok 2,7-dichlórfloresceínu v etanole. Slabo alkalický roztok získame pridaním niekoľkých kvapiek 2 normálneho alkoholového roztoku hydroxidu draselného (podľa bodu 4.2).
- 4.15. Bezvodý pyridín, chromatografickej kvality (pozri poznámku 5).
- 4.16. Hexametyldisilazán, analytickej kvality.
- 4.17. Trimetylchlórsilán, analytickej kvality.
- 4.18. Skúšobné roztoky sterol trimetylsilyléterov.
Pripraví sa priamo pred použitím zo sterolov a erytrodiolu získaných z olejov, ktoré ich obsahujú.
- 4.19. α -cholestanol, s čistotou viac ako 99 % (čistota sa musí skontrolovať prostredníctvom plynovochromatografickej analýzy).
- 4.20. α -cholestanol, vnútorný štandardný roztok, 0,2 % roztok (m/V) v etylacetáte (podľa bodu 4.11).
- 4.21. Fenoltaleínový roztok, 10 g/l v etanole (podľa bodu 4.10)
- 4.22. Nosný plyn: vodík alebo hélium, čistoty vhodnej na plynovú chromatografiu.
- 4.23. Pomocné plyny: vodík, hélium, dusík a vzduch, čistoty vhodnej na plynovú chromatografiu.
- 4.24. n-hexán (podľa bodu 4.9)/dietyléter (podľa bodu 4.10) – zmes v pomere 65:35 (V/V).
- 4.25. Silylačné činidlo, pozostávajúce zo zmesi pyridínu/hexametyldisilazánu/trimetylchlórsilánu v pomere 9:3:1 (V/V/V).
5. POSTUP
- 5.1. Príprava nezmydeliteľnej látky.
- 5.1.1. Pomocou 500 μ l mikrostriekačky (podľa bodu 3.6) sa do 250 ml banky (podľa bodu 3.1) zavedie taký objem vnútorného štandardného roztoku α -cholestanolu (podľa bodu 4.20), ktorý obsahuje množstvo cholestanolu zodpovedajúce približne 10 % obsahu sterolov vo vzorke. Napr. v prípade 5 g vzorky olivového oleja sa pridá 500 μ l roztoku α -cholestanolu (podľa bodu 4.20) a v prípade oleja z olivových výlisov 1 500 μ l. V teplom vodnom kúpeli sa roztok pomocou jemného prúdu dusíka odparí dosucha, po vychladení banky sa do tej istej banky naváži $5 \pm 0,01$ g suchej prefiltrovanej vzorky.
- Poznámka 1:* Živočíšne alebo rastlinné oleje a tuky s obsahom zistiteľných množstiev cholesterolu môžu vykazovať píky s retenčným časom blízkym cholestanolu. V takom prípade sa sterolová frakcia musí analyzovať zdvojene, a to s vnútorným štandardom a bez vnútorného štandardu.

- 5.1.2. Pridá sa 50 ml 2 normálneho etanolového roztoku hydroxidu draselného (podľa bodu 4.2) a trochu pemzy, nasadí sa spätný chladič a zariadenie sa zahrieva do mierneho varu, až kým neprebehne zmydelňovanie (roztok sa vyčíri). Zahrieva sa ešte ďalších 20 minút a potom sa cez chladič prileje 50 ml destilovanej vody, chladič sa odpojí a banka sa ochladí na teplotu približne 30 °C.
- 5.1.3. Obsah banky sa pomocou niekoľkých dávok destilovanej vody (50 ml) kvantitatívne preniesie do 500 ml oddeľovacieho lievika (podľa bodu 3.2). Pridá sa približne 80 ml dietyléteru (podľa bodu 4.10) a obsah sa silno pretrepáva približne 60 sekúnd, pričom sa tlak pravidelne uvoľňuje prevracaním oddeľovacieho lievika a otváraním kohútika. Nechá sa stáť do úplného oddelenia oboch fáz (poznámka 2).

Následne sa mydlový roztok čo najdokonalejšie oddelí do druhého oddeľovacieho lievika. Rovnakým spôsobom sa vykonajú dve ďalšie extrakcie z vodno-alkoholovej fázy, pričom sa použije 60 až 70 ml dietyléteru (podľa bodu 4.10).

Poznámka 2: Akákoľvek emulzia sa dá odstrániť pridaním malých množstiev etanolu (podľa bodu 4.11).

- 5.1.4. Získané tri éterové extrakty sa skombinujú v jednom oddeľovacom lieviku, ktorý obsahuje 50 ml vody. Extrakt sa opakovane premýva vodou (50 ml) dovtedy, kým sa premývací voda neprestane sfarbovať do ružova po pridaní kvapky roztoku fenoltaleínu (podľa bodu 4.21).

Po odstránení premývacej vody sa zostávajúca vrstva prefiltruje cez bezvodý síran sodný (podľa bodu 4.5) do predtým odvázenej 250 ml banky, pričom sa lievik a filter prepláchnu malými množstvami dietyléteru (podľa bodu 4.10).

- 5.1.5. Rozpúšťadlo sa odparí destilovaním v rotačnej vákuovej odparke pri 30 °C. Pridá sa 5 ml acetónu a prchavé rozpúšťadlo sa úplne odstráni miernym prúdom vzduchu. Zvyšok sa vysuší v peci pri 103 ± 2 °C počas 15 min. Nechá sa vychladiť v exsikátore a odváži sa s presnosťou na 0,1 mg.

- 5.2. Oddelenie frakcie sterolov a triterpénových diolov (erytrodiol + uvaol)

- 5.2.1. Príprava základných platní pre tenkovrstvovú chromatografiu. Silikagelové platne (podľa bodu 4.6) sa ponoria asi 4 cm na 10 sekúnd do 0,2 normálneho etanolového roztoku hydroxidu draselného (podľa bodu 4.5), potom sa nechajú dve hodiny sušiť v digestore a nakoniec sa umiestnia na jednu hodinu do pece vyhriatej na 100 °C.

Platne sa po vybratí z pece uložia až do ďalšieho použitia do exsikátora s chloridom vápenatým (podľa bodu 3.13) (takto ošetrované platne sa musia použiť do 15 dní).

Poznámka 3: Ak sa na separáciu sterolovej frakcie použijú základné silikagelové platne, nezmydeliteľnú frakciu nie je potrebné upravovať oxidom hlinitým. Takýmto spôsobom sa všetky zlúčeniny kyslého charakteru (mastné kyseliny a iné) zachytia pri štarte a pásma sterolov sa zreteľne oddelí od pásma alifatických a triterpénových alkoholov.

- 5.2.2. Do vyvíjacej komory sa naleje zmes hexánu/dietyléteru (podľa bodu 4.24) (Poznámka 4) do výšky asi 1 cm. Komora sa uzatvorí vhodným krytom a nechá sa aspoň pol hodinu na chladnom mieste tak, aby sa dosiahla rovnováha nasýtených pár nad hladinou. Na vnútorné povrchy komory možno umiestniť prúžky filtračného papiera siahajúceho do eluentu (vyvíjacej zmesi). Tým sa zníži elučný čas približne o tretinu a elúcia zložiek bude jednotnejšia a pravidelnejšia.

Poznámka 4: Elučnú zmes je potrebné vymeniť pri každej skúške, aby sa dosiahli dokonale reprodukovateľné elučné podmienky. Možno pri tom použiť aj alternatívne rozpúšťadlo, a to zmes n-hexánu/dietyléteru v pomere 50:50 (V/V).

- 5.2.3. Pripraví sa približne 5 % roztok nezmydeliteľnej látky (podľa bodu 5.1.5) v etylacetáte a pomocou 100 μ l mikrostriekačky sa na spodný okraj (2 cm) chromatografickej platne (podľa bodu 5.2.1) naniesie 0,3 ml roztoku v úzkom a rovnomernom prúžku. V línii s týmto prúžkom sa naniesú 2 až 3 μ l referenčného roztoku látky (podľa bodu 4.13) tak, aby sa pásma sterolov a triterpénových diolov dalo po vyvolaní identifikovať.

- 5.2.4. Platňa sa umiestni do vyvíjacej komory pripravenej podľa opisu v bode 5.2.2. Teplota okolia by sa mala udržiavať v rozmedzí 15 až 20 °C (poznámka 5). Komora sa ihneď uzatvorí krytom a vzorka sa nechá eluovať, kým čelo rozpúšťadla nedosiahne vzdialenosť približne 1 cm od horného okraja platne. Potom sa platňa vyberie z vyvíjacej komory a rozpúšťadlo sa nechá odpariť prúdom horúceho vzduchu alebo krátkym ponechaním platne v digestore.

Poznámka 5: Pri vyššej teplote sa separácia zhoršuje.

5.2.5. Platňa sa zľahka rovnomerne postrieka roztokom 2,7-dichlórfloresceínu (podľa bodu 4.14) a nechá sa vyschnúť. Keď sa platňa sleduje pod ultrafialovým svetlom, pásma sterolov a triterpénových diolov sa dajú identifikovať podľa škvŕn získaných z referenčného roztoku, s ktorými sú zarovno. Hranice pásiem sa označia čiernou ceruzkou pozdĺž okrajov fluorescencie (pozri TLC platňu na obr. 3).

5.2.6. Pomocou kovovej škrabky (kopistky) sa silikagél zoškriabe z označenej plochy. Následne sa získaný jemne rozotretý materiál umiestni do filtračného lievika (podľa bodu 3.7). Pridá sa 10 ml horúceho etylacetátu (podľa bodu 4.12), opatrne sa premieša kovovou kopistkou a prefiltruje sa vo vákuu, pričom sa filtrát zbiera do kónickej banky (podľa bodu 3.8) pripojenej k filtračnému lieviku.

Zvyšok v banke sa trikrát premyje dietyléterom (podľa bodu 4.3) (použije sa približne 10 ml pri každom oplachovaní), pričom sa filtrát zbiera do tej istej banky pripojenej k lieviku. Filtrát sa odparí na objem 4 až 5 ml, zvyšný roztok sa preniesie do predtým odváženej 10 ml skúmavky (podľa bodu 3.9), odparí sa dosucha miernym teplom pomocou jemného prúdu dusíka, následne sa opäť skvapalní pridaním niekoľkých kvapiek acetónu (podľa bodu 4.8) a opäť sa nechá dosucha odpariť.

Zvyšok vo vnútri skúmavky musí pozostávať z frakcie sterolov a frakcie triterpénových diolov.

5.3. Príprava trimetylsilyléterov.

5.3.1. Do skúmavky, v ktorej sa nachádza frakcia sterolov a triterpénov, sa pridá silylačné činidlo (podľa bodu 4.25) (poznámka 6) v pomere 50 µl na každý miligram sterolov a triterpénových diolov, pričom sa bráni navlhnutiu (poznámka 7).

Poznámka 6: Hotové roztoky sú komerčne dostupné. Dostupné sú takisto iné silylačné činidlá, ako napr. bis-trimetylsilyl trifluóracetamid + 1 % trimetylchlórsilán, ktorý sa musí riediť rovnakým objemom bezvodého pyridínu.

Pyridín možno nahradiť rovnakým množstvom acetonitrilu.

5.3.2. Skúmavka sa zazátkuje a opatrne pretrepáva (bez obracania), až kým sa zložky úplne nerozpustia. Potom sa skúmavka nechá aspoň 15 minút stáť pri izbovej teplote a následne sa niekoľko minút odstredzuje. Číry roztok je pripravený na plynovochromatografickú analýzu.

Poznámka 7: Slabá opalescencia, ktorá sa prípadne vytvorí, je bežný jav a nespôsobuje žiadnu anomáliu. Vznik bielych vločiek alebo ružového zafarbenia sú znaky prítomnosti vlhkosti alebo znehodnotenia činidla. V takom prípade sa skúška musí zopakovať (jedine, ak sa použili hexametyldisilazán/trimetylchlórsilán).

5.4. Plynovochromatografická analýza

5.4.1. Prípravné práce, kondicionovanie kapilárnej kolóny.

5.4.1.1. Kolóna sa (podľa bodu 3.11) upevní do plynového chromatografu tak, že vstupný koniec kolóny sa pripevní k injektoru s deličom a výstupný koniec k detektoru.

Vykoná sa celková kontrola jednotky plynového chromatografu (netesnosti v plynových okruhoch, výkonnosť detektora, výkonnosť deliaceho systému a zapisovača atď.).

5.4.1.2. Ak sa kolóna používa prvýkrát, odporúča sa jej kondicionovanie: cez samotnú kolónu sa púšťa jemný prúd plynu a následne sa prepne na plynovochromatografickú jednotku a postupne sa zahrieva na teplotu aspoň o 20 °C vyššiu, ako je prevádzková teplota (poznámka 8). Táto teplota sa udržiava aspoň dve hodiny, potom sa jednotka nastaví na prevádzkový režim (upraví sa prietoky plynov a delič, zapáli sa plamienok, pripojí sa počítačový systém, upraví sa teplota kolóny, detektora a injektora atď.) a nakoniec sa zaznamená signál s citlivosťou, ktorá je aspoň dvakrát vyššia ako citlivosť určená pre analýzu. Základná línia má byť lineárna, bez akýchkoľvek pík, a nesmie vykazovať žiadne výkyvy (drifty).

Negatívny priamočiary drift základnej línie indikuje nedokonalú tesnosť kolónových spojov, kým pozitívny drift indikuje nedostatočné kondicionovanie kolóny.

Poznámka 8: Teplota kondicionovania musí byť vždy aspoň o 20 °C nižšia, ako je maximálna teplota špecifikovaná pre používanú stacionárnu fázu.

5.4.2. Výber pracovných podmienok.

5.4.2.1. Prevádzkové podmienky sú tieto:

— teplota kolóny: 260 ± 5 °C,

— teplota injektora: 280 – 300 °C,

— teplota detektora: 280 – 300 °C,

— lineárna rýchlosť nosného plynu: hélium 20 až 35 cm/s, vodík 30 až 50 cm/s,

- deliaci pomer: 1:50 až 1:100,
- citlivosť prístroja: 4 až 16-násobok minimálneho útlmu,
- citlivosť záznamu: 1 až 2 mV v celom rozsahu,
- množstvo dávkovanej látky: 0,5 až 1 μ l TMSE roztoku.

Tieto podmienky možno upraviť podľa vlastností kolóny a plynového chromatografu tak, aby sa získali chromatogramy spĺňajúce tieto požiadavky:

- retenčný čas píku β -sitosterolu by mal byť 20 ± 5 min,
- pík kampasterolu by mal byť: v prípade olivového oleja (priemerný obsah 3 %) 20 ± 5 % celého rozsahu, v prípade sójového oleja (priemerný obsah 20 %) 80 ± 10 % celého rozsahu,
- všetky prítomné steroly sa musia separovať. Okrem toho, že píky musia byť oddelené, musia byť aj úplne rozlíšené, t. j. záznam píku by sa mal vrátiť na základnú líniu pred vykreslením ďalšieho píku. Neúplné rozlíšenie je avšak tolerované, pod podmienkou, že pík možno pri relatívnom retenčnom čase 1,02 (sitostanol) kvantifikovať použitím kolmice.

5.4.3. Postup analýzy

- 5.4.3.1. Do 10 μ l mikrostriekačky sa natiahne 1 μ l hexánu, potom sa natiahne 0,5 μ l vzduchu a následne 0,5 až 1 μ l roztoku vzorky. Piest mikrostriekačky sa vytiahne natoľko, aby sa ihla vyprázdnila. Ihla sa zavedie cez membránu injektora a po jednej až dvoch sekundách sa roztok rýchlo vstrekuje a ihla sa približne po piatich sekundách pomaly vytiahne.

Miesto striekačky možno použiť aj automatický dávkovač.

- 5.4.3.2. Zaznamenávanie sa uskutočňuje do úplnej eluácie TMSE prítomných triterpénových diolov. Základná línia musí naďalej spĺňať požiadavky (podľa bodu 5.4.1.2).

5.4.4. Identifikácia pík

Identifikácia jednotlivých pík sa vykoná podľa retenčných časov a porovnaním so zmesou TMSE sterolov a triterpénových diolov analyzovanou za rovnakých podmienok (pozri dodatok).

Steroly a triterpénové dioly sa eluujú v tomto poradí: cholesterol, brasikasterol, ergosterol, 24-metylén-cholesterol, kampesterol, kampestanol, stigmasterol, Δ 7-kampesterol, Δ 5,23-stigmastadienol, klerosterol, β -sitosterol, sitostanol, Δ 5-avenasterol, Δ 5,24-stigmastadienol, Δ 7-stigmastenol, Δ 7-avenasterol, erytrodiol a uvaol.

Retenčné časy β -sitosterolu v kolónach SE-52 a SE-54 sa uvádzajú v tabuľke 1.

Na obr.1 a 2 sú zobrazené typické chromatogramy niektorých olejov.

5.4.5. Kvantitatívne vyhodnotenie.

- 5.4.5.1. Pomocou počítačového systému sa vypočítajú plochy pík α -cholestanolu, sterolov a triterpénových diolov. Vynechajú sa píky pre všetky zlúčeniny, ktoré nie sú zahrnuté (ergosterol sa nemusí počítať) medzi zlúčeninami uvedenými v tabuľke 1. Odozvoový faktor α -cholestanolu by sa mal považovať za rovný 1.

- 5.4.5.2. Koncentrácia jednotlivých sterolov vyjadrená v mg/kg tukových látok sa vypočíta takto:

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

kde:

A_x = plocha píku sterolu x vypočítaná počítačovým systémom;

A_s = plocha píku α -cholestanolu vypočítaná počítačovým systémom;

m_s = hmotnosť α -cholestanolu v miligramoch;

m = hmotnosť vzorky použitej pri stanovení, v gramoch.

6. VYJADRENIE VÝSLEDKOV

- 6.1. Uvedú sa jednotlivé koncentrácie sterolov vyjadrené v mg/kg tukových látok a ich súčet ako „steroly spolu“.
Zloženie jednotlivých sterolov a erytrodiolu a uvaolu by sa malo vyjadriť na jedno desatinné miesto.
Steroly spolu sa musia vyjadriť v celých číslach.
- 6.2. Percentuálny obsah jednotlivých sterolov sa vypočíta z pomeru plochy príslušného píku k celkovej ploche píkov sterolov a erytrodiolu a uvaolu:

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

kde:

A_x = plocha píku sterolu x;

ΣA = celková plocha píkov sterolov.

- 6.3. Zdanlivý β -sitosterol: Δ^5 -23-stigmastadienol + klerosterol + β -sitosterol + sitostanol + Δ^5 -avenasterol + Δ^5 -24-stigmastadienol.
- 6.4. Percentuálny obsah erytrodiolu a uvaolu sa vypočíta:

$$\text{Erytrodiol} + \text{Uvaol} = \frac{E_r + U_v}{E_r + U_v + \Sigma A} \times 100$$

kde

ΣA = súčet plôch píkov sterolov vypočítaných počítačovým systémom;

E_r = plocha píku erytrodiolu vypočítaná počítačovým systémom;

U_v = plocha píku uvaolu vypočítaná počítačovým systémom.

Dodatok

Stanovenie lineárnej rýchlosti plynu

Do plynového chromatografu nastaveného na bežné pracovné podmienky sa nadávkuje metán (alebo propán) v objeme 1 až 3 μ l a odmeria sa čas, za ktorý plyn prejde kolónou od momentu nástreku až po moment, kedy sa objaví pík (tM).

Lineárna rýchlosť v cm/s je daná L/tM , kde L je dĺžka kolóny v centimetroch a tM nameraný čas v sekundách.

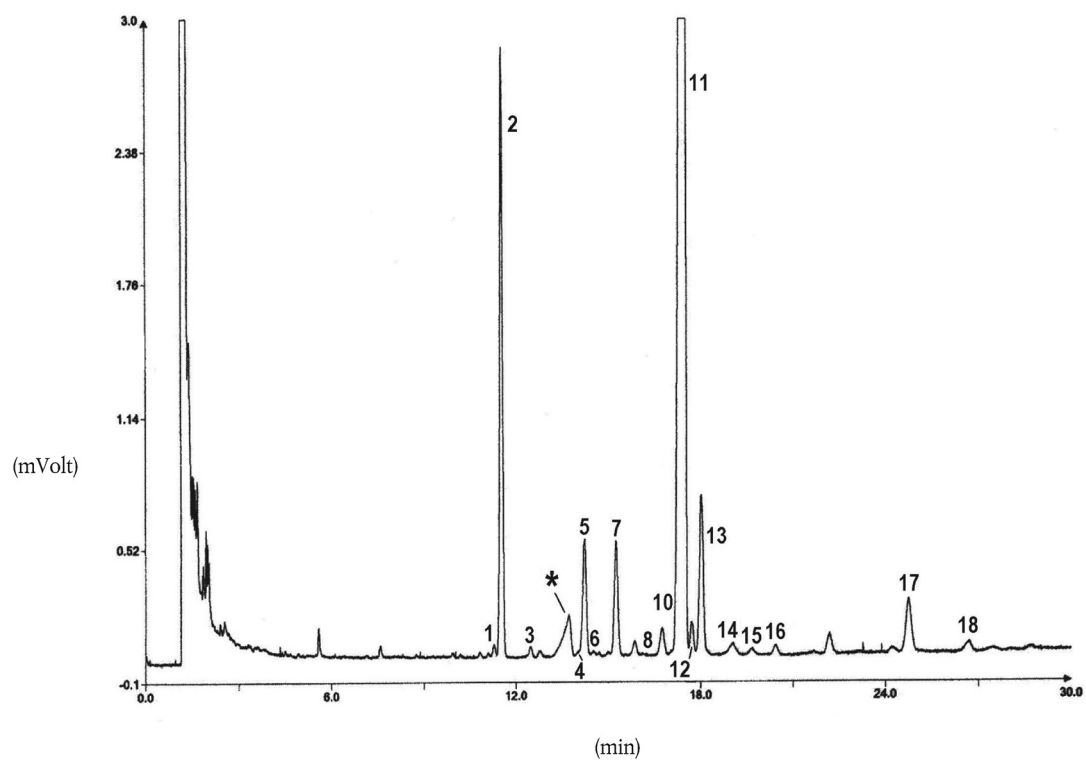
Tabuľka 1

Relatívne retenčné časy sterolov

Pík	Identifikácia		Relatívny retenčný čas	
			SE 54 kolóna	SE 52 kolóna
1	cholesterol	Δ -5-cholestén-3 β -ol	0,67	0,63
2	cholestanol	5 α -cholestan-3 β -ol	0,68	0,64
3	brasikasterol	[24S]-24-metyl- Δ -5,22-cholestadién-3 β -ol	0,73	0,71
*	ergosterol	[24S] 24 metyl Δ 5-7-22 cholestatrién 3 β -ol	0,78	0,76
4	24-metylén-cholesterol	24-metylén- Δ -5,24-cholestadién-3 β -o1	0,82	0,80
5	kampesterol	(24R)-24-metyl- Δ -5-cholestén-3 β -ol	0,83	0,81
6	kampestanol	(24R)-24-metyl-cholestan-3 β -ol	0,85	0,82
7	stigmasterol	(24S)-24-etyl- Δ -5,22-cholestadién-3 β -ol	0,88	0,87
8	Δ -7-kampesterol	(24R)-24-metyl- Δ -7-cholestén-3 β -ol	0,93	0,92
9	Δ -5,23-stigmastadienol	(24R,S)-24-etyl- Δ -5,23-cholestadién-3 β -ol	0,95	0,95
10	klerosterol	(24S)-24-etyl- Δ -5,25-cholestadién-3 β -ol	0,96	0,96
11	β -sitosterol	(24R)-24-etyl- Δ -5-cholestén-3 β -ol	1,00	1,00
12	sitostanol	24-etyl-cholestan-3 β -ol	1,02	1,02
13	Δ -5-avenasterol	(24Z)-24-etylidén- Δ -cholestén-3 β -ol	1,03	1,03
14	Δ -5-24-stigmastadienol	(24R,S)-24-etyl- Δ -5,24-cholestadién-3 β -ol	1,08	1,08
15	Δ -7-stigmastenol	(24R,S)-24-etyl- Δ -7-cholestén-3 β -ol	1,12	1,12
16	Δ -7-avenasterol	(24Z)-24-etylidén- Δ -7-cholestén-3 β -ol	1,16	1,16
17	erytrodiol	5 α oleán-12-én-3 β 28 diol	1,41	1,41
18	uvaol	Δ 12-ursen-3 β 28 diol	1,52	1,52

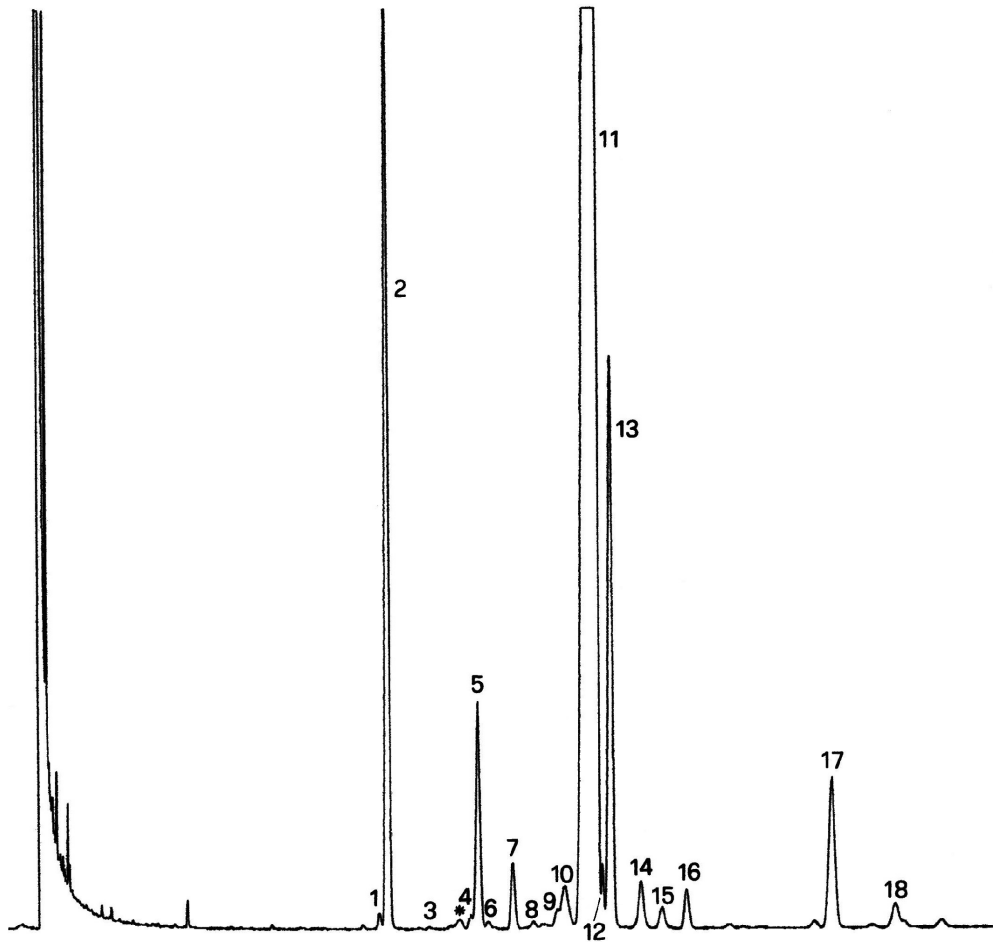
Obrázok 1

Plynový chromatogram frakcie sterolov a triterpénových diolov lampového olivového oleja (s vnútorným štandardom)



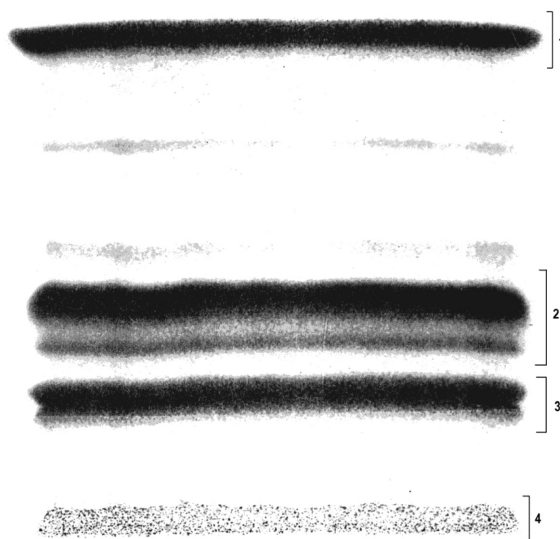
Obrázok 2

Plynový chromatogram frakcie sterolov a triterpénových diolov rafinovaného olivového oleja (s vnútorným štandardom)



Obrázok 3

TLC platňa oleja z olivových výliskov so zónou, ktorá sa musí zoškriabať na účely stanovenia sterolov a triterpénových diolov



- 1 – Skvalén
- 2 – Triterpénové a alifatické alkoholy
- 3 – Steroly a triterpénové dioly
- 4 – Štart a voľné mastné kyseliny“

PRÍLOHA V

„PRÍLOHA XII

METÓDA MEDZINÁRODNEJ RADY PRE OLIVY NA ORGANOLEPTICKÉ HODNOTENIE PANENSKÝCH OLIVOVÝCH OLEJOV

1. ÚČEL A ROZSAH PÔSOBNOSTI

Cieľom tejto medzinárodnej metódy je stanoviť postup hodnotenia organoleptických vlastností panenských olivových olejov v zmysle bodu 1 prílohy XVI k nariadeniu (ES) č. 1234/2007 a zaviesť metódu ich zatriedovania na základe uvedených vlastností. Touto metódou sa poskytujú aj pokyny týkajúce sa nepovinného označovania.

Opísaná metóda sa vzťahuje iba na panenské olivové oleje a na ich zatriedovanie alebo označovanie podľa intenzity vnímaných nedostatkov a ovocnosti, ako ich stanovila skupina vybraných vyškolených a odskúšaných degustátorov tvoriacich porotu.

Touto metódou sa stanovujú aj pokyny týkajúce sa nepovinného označovania.

Normy IOC uvedené v tejto prílohe sa používajú v ich poslednom znení.

2. VŠEOBECNÝ ZÁKLADNÝ SLOVNÍK SENZORICKEJ ANALÝZY

Pozri normu IOC/T.20/Doc. č. 4 „Senzorická analýza: všeobecný základný slovník.“

3. ŠPECIFICKÝ SLOVNÍK

3.1. **Negatívne atribúty**

Stuchnutý/po kalových usadeninách charakteristická príchuť oleja získaného z olív, ktoré sa hromadili alebo skladovali v takých podmienkach, že prešli do pokročilého stavu anaeróbnej fermentácie, alebo oleja, ktorý sa ponechal v kontakte s kalmi usadzujúcimi sa v podzemných kadiach a nádržiach, ktoré takisto prešli anaeróbnou fermentáciou.

Zatuchnutý-vlhký-zemný charakteristická príchuť olejov získaných z ovocia, v ktorom sa v dôsledku niekoľkodňového skladovania vo vlhkom prostredí vyvinulo veľké množstvo plesní a kvasiniek, alebo oleja získaného z olív, ktoré boli pri zbere zablatené alebo pokryté bahnom a neboli umyté.

Vínový-octový-kyslý-kyslastý charakteristická príchuť niektorých olejov, ktorá pripomína víno alebo ocot. Táto príchuť je spôsobená hlavne aeróbnou fermentáciou olív alebo olivovej hmoty na lisovacích diskoch, ktoré neboli dobre očistené, v dôsledku čoho dochádza k tvorbe kyseliny octovej, etylacetátu a etanolu.

Zožltnutý príchuť olejov, ktoré prešli intenzívnym procesom oxidácie.

Po omrznutých olivách (po vlhkom dreve) charakteristická príchuť niektorých olejov extrahovaných z olív, ktoré boli poškodené mrazom ešte na strome.

3.2. **Ďalšie negatívne atribúty**

Prehriaty alebo charakteristická príchuť olejov spôsobená príliš silným alebo dlhým

pripálený zahrievaním počas spracovania, najmä ak sa pasta mieša za tepla a za nevhodných termálnych podmienok.

Po sene–dreve charakteristická príchuť určitých olejov vyrobených z vyschnutých olív.

Drsný hutný, pastovitý chuťový vnem vyvolaný určitými starými olejmi.

Mastný príchuť pripomínajúca motorovú naftu, vazelínu alebo minerálny olej.

Po rastlinných šťavách príchuť, ktorú olej získava v dôsledku predĺženého styku s rastlinnými šťavami, ktoré prešli procesom fermentácie.

Slaný príchuť oleja extrahovaného z olív konzervovaných v slanom náleve.

Kovový príchuť pripomínajúca kovy. Je charakteristická pre olej, ktorý bol dlho v kontakte s kovovými povrchmi počas drvenia, miešania, lisovania alebo skladovania.

Esparto charakteristická príchuť oleja získaného z olív lisovaných na nových diskoch z trávy *esparto*. Táto príchuť sa môže líšiť v závislosti od toho, či ide o disky vyrobené zo zeleného *esparto* alebo zo suchého *esparto*.

Po *larvách* príchuť oleja získaného z olív silne napadnutých larvami muchy olivovej (*Bactrocera oleae*).

Po *uhorkách* príchuť, ktorá vzniká v oleji príliš dlho hermeticky uzavretom najmä v plechovkách a ktorá sa spája so vznikom 2,6-nonadienalu.

3.3. Pozitívne atribúty

Ovocný súbor čuchových vnemových vlastností oleja, ktoré závisia od odrody a pochádzajú z nepoškodených, čerstvých, zrelých alebo nezrelých olív. Pociťuje sa priamo a/alebo retronazálne.

Horký charakteristická primárna chuť oleja získaného zo zelených olív alebo olív začínajúcich meniť farbu. Pociťuje sa hradenými papilami jazyka v oblasti okolo brázd v tvare „V“.

Štiplavý ostrá taktilná vnemová vlastnosť olejov vyrobených začiatkom zberovej sezóny primárne zo zatiaľ nedozretých olív. Možno ju vnímať v celej ústnej dutine, hlavne v hrdle.

3.4. Nepovinná terminológia na účely označovania

Predseda poroty môže na požiadanie potvrdiť, že hodnotené oleje spĺňajú vymedzenia a rozsah zodpovedajúce týmto prívlastkom v závislosti od intenzity a vnímania atribútov:

Pozitívne atribúty (ovocný, horký a štiplavý): Podľa intenzity vnímania:

- *Intenzívne*, ak je medián atribútu väčší ako 6,
- *Stredne*, ak je medián atribútu medzi 3 a 6,
- *Lahko*, ak je medián atribútu menší ako 3.

Ovocný súbor čuchových vnemových vlastností oleja, ktoré závisia od odrody olív a pochádzajú z nepoškodených, čerstvých olív, v ktorých nedominuje zrelá ovocná ani nezrelá ovocná príchuť. Pociťuje sa priamo a/alebo retronazálne.

Zelený ovocný súbor čuchových vnemových vlastností oleja, ktoré pripomínajú zelené ovocie, závisia od odrody olív a pochádzajú zo zelených, nepoškodených, čerstvých olív. Pociťuje sa priamo a/alebo retronazálne.

Zrelý ovocný súbor čuchových vnemových vlastností oleja, ktoré pripomínajú zrelé ovocie, závisia od odrody olív a pochádzajú z nepoškodených, čerstvých olív. Pociťuje sa priamo a/alebo retronazálne.

Dobre vyvážený olej nevykazujúci žiadnu nevyváženosť, ktorou sa myslí čuchovo-chuťový a taktilný vnem a pri ktorej je medián atribútov horkosti a/alebo štiplavosti o dva body vyšší ako medián ovocnosti.

Jemný olej olej, ktorého medián horkosti a štiplavosti je najviac 2.

4. POHÁR NA DEGUSTÁCIU OLEJA

Pozri normu IOC/T.20/Doc. č. 5, „Pohár na degustáciu oleja“.

5. TESTOVACIA MIESTNOSŤ

Pozri normu IOC/T.20/Doc. č. 6, „Usmernenie pre zriadenie testovacej miestnosti“.

6. PRÍSLUŠENSTVO

Každá kabína sa musí vybaviť tak, aby mali degustátori na riadne vykonávanie svojej úlohy na dosah toto príslušenstvo:

- (normalizované) číselným znakom označené poháre obsahujúce vzorky, prikryté hodinovým sklíčkom a udržiavané pri teplote $28\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$,
- profilový hárok (pozri obr. 1) v tlačenej alebo elektronickej podobe za predpokladu, že podmienky uvedené na profilovom liste sú splnené, spolu s prípadnými pokynmi na jeho použitie,
- pero alebo nezmazateľný atrament,
- podnosy s plátkami jablk a/alebo vodou, sýtenou vodou a/alebo suchármi,
- pohár vody izbovej teploty,
- hárok so všeobecnými pravidlami uvedenými v oddieloch 8.4 a 9.1.1,
- pľuvadlá.

7. PREDESDA POROTY A DEGUSTÁTORI

7.1. Predseda poroty

Predseda poroty musí byť vhodne vyškolenou osobou s odbornými znalosťami olejov jednotlivých druhov, ktoré sa budú vyskytovať počas jeho práce. Je kľúčovou postavou poroty a je zodpovedný za jej organizáciu a fungovanie.

Práca predsedu poroty si vyžaduje základnú odbornú prípravu v oblasti nástrojov senzorickej analýzy, zručnosti v oblasti senzorickej analýzy, dôslednosť pri príprave, organizovaní a vykonávaní skúšok a zručnosť a trpezlivosť pri vedeckom plánovaní a vykonávaní skúšok.

Je jedinou osobou zodpovednou za výber, vyškolenie a monitorovanie degustátorov s cieľom zaistiť adekvátnu úroveň ich schopností. Je zodpovedný za hodnotenie degustátorov, ktoré musí byť vždy objektívne a ku ktorému musí vypracovať osobitné postupy na základe skúšok a pevne stanovených kritérií prijímania a vyradzovania. Pozri normu IOC/T.20/Doc. č. 14, „Usmernenia pre výber, výcvik a monitorovanie odborných degustátorov olivového oleja“.

Predseda poroty je zodpovedný za výkon poroty, a preto aj za jej hodnotenie, ku ktorému musí predložiť spoľahlivý a objektívny dôkaz. V každom prípade musí kedykoľvek preukázať, že metóda aj degustátori sú pod kontrolou. Odporúča sa pravidelná kalibrácia poroty (IOC/T.20/Doc. č. 14, časť 5).

Takisto nesie aj konečnú zodpovednosť za vedenie záznamov poroty. Tieto záznamy sa musia dať kedykoľvek vysledovať. Musia byť v súlade s požiadavkami na zabezpečenie a kvalitu stanovenými v medzinárodných normách senzorickej analýzy a celý čas sa v nich musí zaisťovať anonymita vzoriek.

Predseda poroty zodpovedá za inventarizáciu prístrojov a zariadenia potrebných na splnenie špecifikácií uvedenej metódy a zabezpečuje ich riadne čistenie a údržbu, o čom uchováva písomný dôkaz, ako aj dôkaz o splnení podmienok skúšania.

Zodpovedá za príjem a uskladnenie vzoriek pri ich príchode do laboratória, ako aj za ich skladovanie po vykonaní skúšok. Pritom zabezpečuje, že vzorky zostanú po celý čas anonymné a že sa správne skladujú. Na tieto účely písomne vypracuje postup, aby sa zabezpečilo, že celý proces je vysledovateľný a poskytuje príslušné záruky.

Okrem toho je zodpovedný za prípravu, pridelenie číselného znaku a prezentáciu vzoriek degustátorom podľa vhodného návrhu skúšky v súlade s vopred pripravenými protokolmi, ako aj za zostavenie a štatistické spracovanie údajov, ktoré degustátori získali.

Má na starosti vypracovanie a načrtnutie všetkých ďalších postupov, ktoré môžu byť nevyhnutné na doplnenie tejto normy a na zabezpečenie riadneho fungovania poroty.

Musí hľadať spôsoby porovnávania výsledkov dotknutej poroty s výsledkami, ktoré získali iné poroty vykonávajúce analýzy panenských olivových olejov, aby sa ubezpečil, že dotknutá porota pracuje správne.

Povinnosťou predsedu poroty je motivovať členov poroty povzbudzovaním ich záujmov, zvedavosti a súťaživeho ducha. Na uvedené účely sa mu dôrazne odporúča, aby zabezpečil bezproblémový obojsmerný tok informácií s členmi poroty tým, že ich priebežne informuje o všetkých vykonávaných úlohách a dosiahnutých výsledkoch. Okrem toho drží v tajnosti vlastný názor a v prípade potreby pribojnejším členom poroty bráni v tom, aby ostatným degustátorom vnucovali vlastné kritériá.

Degustátorov zvoláva v dostatočnom predstihu a odpovedá na všetky otázky týkajúce sa vykonávania skúšok, zdržiava sa však vyjadrovania akéhokoľvek názoru na vzorky.

7.2. Degustátori

Osoby, ktoré pôsobia ako degustátori pri organoleptickom skúšaní olivových olejov, tak musia robiť dobrovoľne, a to so všetkými dôsledkami vyplývajúcimi z takéhoto dobrovoľného aktu, pokiaľ ide o povinnosti a fakt, že za svoje pôsobenie nie sú finančne odmenení. Preto je vhodné, aby kandidáti predkladali žiadosti v písomnej forme. Kandidátov vyberá, odborne pripravuje a ich činnosť monitoruje predseda poroty v súlade s ich zručnosťami pri rozoznávaní podobných vzoriek; pri tom by mal mať na zreteli, že ich presnosť sa bude precvičovaním zlepšovať.

Degustátori musia konať ako skutoční zmysloví pozorovatelia, nesmú sa nechať ovplyvniť vlastnými preferenciami a musia oznamovať jedine vnemy, ktoré pociťujú. Z uvedeného dôvodu musia vždy pracovať v tichosti, uvoľneným a nenáhlivým spôsobom, pričom musia čo možno najsústredenejšie zamerať svoju vnemovú pozornosť na vzorku, ktorú degustujú.

Pri každej skúške sa vyžaduje prítomnosť 8 až 12 degustátorov, hoci je vhodné mať v rezerve niekoľkých ďalších degustátorov pre prípadnú neprítomnosť.

8. PODMIENKY DEGUSTÁCIE

8.1. Podávanie vzorky

Vzorka oleja na analýzu sa podáva v normalizovaných pohároch na degustáciu v súlade s normou IOC/T.20/Doc. č. 5, „Pohár na degustáciu oleja“.

Pohár musí obsahovať od 14 do 16 ml oleja, resp. od 12,8 do 14,6 g, ak sa vzorky majú vážiť, a prikryje sa hodinovým sklíčkom.

Jednotlivé poháre sa označujú náhodne zvolenými kódmi skladajúcimi sa z čísel alebo z kombinácie písmen a čísel. Označenie kódom nesmie zanechať nijaký zápach.

8.2. Degustácia a teplota vzorky

Vzorky oleja určené na degustáciu sa počas celej degustácie v pohároch udržiavajú pri teplote $28\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$. Táto teplota bola stanovená, lebo pri izbovej teplote sa ľahšie určujú organoleptické rozdiely, ako aj preto, že pri nižších teplotách aromatické uhľovodíky charakteristické pre tieto oleje nedostatočne prchajú, zatiaľ čo vyššie teploty vedú k tvorbe prchavých zlúčenín charakteristických pre zahrievané oleje. Pozri normu IOC/T.20/Doc. č. 5, „Pohár na degustáciu oleja“, pokiaľ ide o metódu, ktorá sa má použiť na zohrievanie vzoriek v pohári.

Teplota v testovacej miestnosti musí byť od 20 °C do 25 °C (pozri IOC/T.20/Doc. č. 6).

8.3. Čas degustácie

Najlepší čas na degustáciu olejov je ráno. Je dokázané, že existujú obdobia optimálneho vnímania chuti a čuchu počas dňa. Čuchová a chuťová citlivosť narastá pred jedlom, zatiaľ čo po ňom klesá.

Pri zohľadňovaní tohto faktoru by sa však nemalo zachádzať do krajnosti, keďže hlad môže degustátorov rozptýliť a znížiť tak ich posudzovacie schopnosti. Preto sa odporúča degustáciu uskutočňovať medzi desiatou hodinou ráno a poľudním.

8.4. Degustátori: všeobecné pravidlá profesionálnej etiky

Počas výkonu úloh degustátora sa uplatňujú tieto odporúčania:

Potom, čo predseda poroty vyzve degustátorov, aby sa zúčastnili na organoleptickom teste, mali by sa dostať vo vopred stanovenom čase a dodržiavať tieto pravidlá:

- Aspoň 30 minút pred časom určeným na degustáciu nesmú fajčiť ani piť kávu.
- Nesmú používať parfumy, kozmetické prípravky ani mydlá, ktorých vôňa by mohla pretrvať až do času degustácie. Tak často, ako je to potrebné, si musia na odstránenie akejkoľvek vône alebo zápachu umývať ruky, pričom používajú neparfumované mydlo, ktoré musia dokonale zmyť, a ruky si následne musia osušiť.
- Aspoň jednu hodinu pred začiatkom degustácie nesmú jesť.
- Ak sa degustátori necítia v dobrej fyzickej kondícii, najmä ak má tento stav vplyv na čuchové alebo chuťové vnímanie, alebo ak sú v akomkoľvek psychickom stave, ktorý im nedovoľuje sústrediť sa na prácu, musia sa zdržať degustácie a náležite informovať predsedu poroty.
- Ak degustátori splnili všetky uvedené podmienky, potichu a disciplinovane zaujmú miesto v kabínke, ktorá im bola pridelená.
- Pozorne si prečítajú inštrukcie uvedené na profilovom hárkú a vzorku začnú posudzovať až vtedy, keď sú úplne pripravení vykonať pridelenú úlohu (uvoľnene a nenáhľivo). V prípade pochybností by sa degustátori mali v súkromí obrátiť na predsedu poroty.
- Pridelené úlohy musia vykonávať potichu.
- Celý čas musia mať vypnutý mobilný telefón, aby sa nerozptyľovali a nerušili kolegov pri práci.

9. POSTUP ORGANOLEPTICKÉHO HODNOTENIA A KLASIFIKÁCIE PANENSKÉHO OLIVOVÉHO OLEJA

9.1. Technika degustácie

- 9.1.1. Degustátori zdvihnú pohár, pričom ho držia zakrytý hodinovým sklíčkom a mierne naklonený, a začnú ním v tejto polohe otáčať tak, aby sa čo najviac navlhčili vnútorné strany. Hneď po skončení tejto fázy odstránia hodinové sklíčko a ovoniavajú vzorku pomalými a hlbokými nádychmi, aby posúdili olej. Ovoniavanie by nemalo trvať dlhšie ako 30 sekúnd. Ak v danom čase nedospejú k rozhodnutiu, mali by si pred ďalším skúšaním urobiť malú prestávku.

Po vykonaní čuchového testu degustátori posúdia chuť, teda celkový(-é) retronazálny(-e) čuchový(-é), chuťový(-é) a taktilný(-é) vnemy. S týmto cieľom si dajú malý dúšok oleja, približne 3 ml. Je veľmi dôležité, aby sa olej rozšíril po celej ústnej dutine, od prednej časti úst a jazyka pozdĺž strán do zadnej časti až po podnebie a do hrdla, keďže intenzita chuťových a taktilných vnemov je rozdielna v závislosti od miesta jazyka, podnebia a hrdla.

Treba zdôrazniť, že je veľmi dôležité, aby sa dostatočné množstvo oleja veľmi pomaly rozšírilo na zadnú časť jazyka smerom k podnebiu a hrdlu, pričom degustátor sa sústreďuje na poradie, v ktorom sa objaví horkosť a štiplavosť. V opačnom prípade sa môže v prípade niektorých olejov stať, že obidva tieto vnemy uniknú pozornosti, alebo že horkosť sa zastreje štiplavosťou.

Krátke, za sebou nasledujúce nádychy vháňajúce vzduch cez ústa nielen umožnia degustátorovi rozptýliť vzorku po celých ústach, ale aj vnímať prchavé aromatické uhlíkovodíky cez zadnú časť nosa vynúteným použitím tohto kanálu.

Malo by sa zohľadniť aj taktilné vnímanie štiplavosti. Na tento účel je vhodné olej prehltnúť.

- 9.1.2. Odporúča sa, aby sa pri organoleptickom hodnotení panenského olivového oleja posudzovali v každej skúške maximálne ŠTYRI VZORKY a aby sa uskutočnili maximálne tri skúšky za deň, a tak sa zabránilo kontrastnému účinku, ktorý by mohol vzniknúť, ak by sa vzorky ochutnávali bezprostredne jedna za druhou.

Keďže za sebou nasledujúce ochutnávanie vedie k únave alebo strate citlivosti spôsobeným predchádzajúcimi vzorkami, je potrebné vhodným spôsobom odstrániť z úst zvyšky olivového oleja z predchádzajúceho hodnotenia.

Odporúča sa použiť malý kúsok jablka, ktoré sa po požití vypluje do odpúvadla. Následne sa ústa vypláchnu malým množstvom vody izbovej teploty. Medzi koncom jednej skúšky a začiatkom ďalšej má uplynúť najmenej 15 minút.

9.2. Použitie profilového hárku degustátormi

Profilový hárk, ktorý majú použiť degustátori, sa nachádza na obrázku 1 tejto prílohy.

Každý degustátor v porote ovonia a potom ochutná ⁽¹⁾ posudzovaný olej. Degustátori následne uvedú na 10-cm stupnici v profilovom hárku intenzitu, s akou vnímajú každý z negatívnych a pozitívnych atribútov.

Ak degustátori vnímajú akékoľvek negatívne atribúty neuvedené v oddiele 4, zaznamenajú ich v položke „ostatné“, pričom použijú termín alebo termíny, ktoré atribúty najpresnejšie opisujú.

9.3. Použitie údajov predsedami poroty

Predseda poroty zozbiera profilové hárky vyplnené jednotlivými degustátormi a skontroluje intenzitu zaznamenanú pri jednotlivých atribútoch. Ak zistí akúkoľvek anomáliu, vyzve degustátora, aby svoj profilový hárk zrevidoval a v prípade potreby skúšku zopakoval.

Predseda poroty zadá údaje z hodnotenia získané od jednotlivých členov poroty do počítačového programu podobného tomu, ktorý stanovuje norma IOC/T.20/Doc. č. 15) na účely štatistického výpočtu výsledkov analýzy na základe výpočtu ich mediánu (pozri oddiel 9.4 a dodatok k tejto prílohe). Údaje týkajúce sa danej vzorky sa zaznamenajú na matici z deviatich stĺpcov, ktoré zodpovedajú deviatim organoleptickým vlastnostiam a z n riadkov, ktoré zodpovedajú n počtu členov poroty.

Ak aspoň 50 % členov poroty zaznamená vnímaný defektor do položky „ostatné“, predseda poroty vypočíta medián tohto defektoru a vykoná príslušnú klasifikáciu.

Hodnota robustného variačného koeficientu, ktorý vyjadruje klasifikáciu (defektor s najsilnejšou intenzitou a atribútom ovocnosti), musí byť nižšia alebo rovná 20 %.

V opačnom prípade musí predseda poroty hodnotenie konkrétnej vzorky zopakovať pri inej skúške.

Ak k takejto situácii dochádza často, odporúča sa, aby predseda poroty poskytol degustátorom osobitnú dodatočnú odbornú prípravu (IOC/T.20/Doc. č. 14, časť 5) a posúdil výkonnosť poroty na základe indexu opakovateľnosti a indexu odchýlky (IOC/T.20/Doc. č. 14, časť 6).

9.4. Klasifikácia oleja

Olej sa klasifikuje do niektorej z ďalej uvedených kategórií podľa mediánu defektorov a mediánu atribútu ovocnosti. Medián defektorov sa vymedzuje ako medián defektoru vnímaného s najväčšou intenzitou. Medián defektorov a medián atribútu ovocnosti sa uvádzajú s presnosťou na jedno desatinné číslo.

(1) Ak pri priamom ovoniavaní zaznamenajú, že niektorý z negatívnych atribútov je extrémne intenzívny, olej nemusia ochutnávať, a v tom prípade zaznamenajú túto výnimočnú okolnosť na profilový hárk.

Olej sa zaraďuje na základe porovnania hodnoty mediánu defektorov a mediánu atribútu ovocnosti s ďalej uvedenými referenčnými intervalmi. Pri stanovovaní hraníc týchto intervalov sa zohľadnila chybnosť metódy, a preto sa tieto hranice považujú za absolútne. Počítačové programy umožňujú vizuálne zobrazenie klasifikácie vo forme tabuľky alebo grafu.

- a) Extra panenský olivový olej: medián defektorov je 0 a medián atribútu ovocnosti je vyšší ako 0;
- b) Panenský olivový olej: medián defektorov je vyšší ako 0, ale nie vyšší ako 3,5 a medián atribútu ovocnosti je vyšší ako 0;
- c) Lampantový olivový olej: medián defektoru je vyšší ako 3,5, alebo medián defektoru je nižší alebo rovný 3,5 a medián ovocnosti je rovný 0.

Poznámka 1:

Ak je medián atribútu horký a/alebo atribútu štiplavý vyšší ako 5,0, predseda poroty túto skutočnosť uvedie do protokolu o skúške.

Obrázok 1

PROFILOVÝ HÁROK PANENSKÉHO OLIVOVÉHO OLEJA

Intenzita vnímania defektorov	
Stuchnutý/po kalových usadeninách (*)	
Zatuchnutý/vlhký/zemitý (*)	
Vínový/octový kyslý/kyslastý (*)	
Po omrznutých olivách (po vlhkom dreve)	
Zožltnutý	
Ďalšie negatívne atribúty:	
Deskriptor:	Kovový <input type="checkbox"/> Po sene <input type="checkbox"/> Po larvách <input type="checkbox"/> Drsný <input type="checkbox"/> Slaný <input type="checkbox"/> Prehriaty alebo pripálený <input type="checkbox"/> Po rastlinných šťavách <input type="checkbox"/> Esparto <input type="checkbox"/> Po uhorkách <input type="checkbox"/> Mastný <input type="checkbox"/>
(*) Nehodiace sa preškrtnite.	
Intenzita vnímania pozitívnych atribútov	
Ovocný	
	Zelený <input type="checkbox"/> Zrelý <input type="checkbox"/>
Horký	
Štiplavý	
Meno degustátora:	Kód degustátora:
Kód vzorky:	Podpis:

Dodatok

Metóda výpočtu mediánu a intervaly spoľahlivosti**Medián**

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

Medián je definovaný ako reálne číslo X_m , ktoré charakterizuje skutočnosť, že pravdepodobnosť (p) toho, že hodnoty rozdelenia (X) sú nižšie ako toto číslo (X_m), je nižšia alebo rovná 0,5, a zároveň pravdepodobnosť (p) toho, že hodnoty rozdelenia (X) sú nižšie alebo rovné X_m , je vyššia alebo rovná 0,5. Podľa praktickejšej definície je medián je 50. percentil rozdelenia čísel vo vzostupnom poradí. Jednoduchšie povedané, ide o prostrednú hodnotu usporiadaného súboru nepárnych čísel alebo priemer dvoch prostredných hodnôt usporiadaného súboru párných čísel.

Robustná štandardná odchýlka

Aby sa zostavil spoľahlivý odhad variability okolo strednej hodnoty, je potrebné použiť robustnú štandardnú odchýlku podľa Stuarta a Kendalla (4). Vzorec udáva asymptotickú robustnú štandardnú odchýlku, t. j. robustný odhad variability posudzovaných údajov, kde N je počet pozorovaní a IQR je medzikvartilové rozpätie, ktoré zahŕňa presne 50 % prípadov daného rozdelenia pravdepodobnosti:

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

Pri výpočte medzikvartilového rozpätia sa vypočítava veľkosť rozdielu medzi 75. a 25. percentilom.

$$\text{IQR} = 75. \text{ percentil} - 25. \text{ percentil}$$

Percentil je hodnota X_{pc} , ktorú charakterizuje skutočnosť, že pravdepodobnosť (p) toho, že hodnoty rozdelenia sú nižšie ako X_{pc} , je nižšia ako konkrétna stotina alebo sa jej rovná, a zároveň pravdepodobnosť (p) toho, že hodnoty rozdelenia sú nižšie alebo rovné X_{pc} , je vyššia ako konkrétna stotina alebo sa jej rovná. Stotina udáva vybraný fraktíl rozdelenia. V prípade mediánu sa rovná 50/100.

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

V praxi predstavuje percentil hodnotu rozdelenia, ktorá zodpovedá určitej ploche vyznačenej od krivky rozdelenia alebo hustoty. Napríklad 25. percentil predstavuje hodnotu rozdelenia zodpovedajúcu ploche, ktorá sa rovná 0,25 alebo 25/100.

Pri tejto metóde sa percentily vypočítavajú na základe reálnych hodnôt, ktoré sa vyskytujú v matici údajov (postup výpočtu percentilov).

Robustný variáčny koeficient (%)

$CV_r\%$ predstavuje čisté číslo, ktoré udáva percento variability analyzovaného súboru čísel. Z tohto dôvodu je veľmi užitočný na overenie spoľahlivosti členov poroty.

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

95 % intervaly spoľahlivosti mediánu

95% intervaly spoľahlivosti (hodnota chyby prvého druhu sa rovná 0,05 alebo 5 %) predstavujú interval, v ktorom by hodnota mediánu mohla kolísať za predpokladu, že by bolo možné skúšanie donekonečna opakovať. V praxi udáva interval variability skúšky za prijatých prevádzkových podmienok vychádzajúc z predpokladu, že skúšku je možné veľakrát opakovať. Rovnako ako v prípade $CV_r\%$, interval je užitočný pri hodnotení spoľahlivosti skúšky.

$$C.I_{upper} = Me + (c \times s^*)$$

$$C.I_{lower} = Me - (c \times s^*)$$

kde $C = 1,96$ pre 95 % interval spoľahlivosti.

Príklad výpočtového hárku je uvedený v prílohe I normy IOC/T 20/Doc. č. 15.

Odkazy

- (1) Wilkinson, L. 1990. Systat: The system for statistics. Evanston, IL.SYSTAT Inc.
 - (2) Cicchitelli, G. 1984. Probabilità e Statistica. Maggioli Editore, Rimini.
 - (3) Massart, D.L.; Vandeginste, B.G.M.; Deming, Y.; Michotte, L. 1988. Chemometrics. A textbook. Elsevier. Amsterdam.
 - (4) Kendall, M.G.; Stuart, A. 1967. The advanced theory of statistics. Vol. 1. Hafner Publishing Co.
 - (5) McGill, R.; Tukey, J.W.; Larsen, W.A. 1978. Variation of Box Plots. The American Statistician, 32, (2), 12-16.
 - (6) IOC/T.28/Doc. č. 1 september 2007, Guidelines for the accreditation of sensory testing laboratories with particular reference to virgin olive oil according to standard ISO/IEC 17025:2005.
 - (7) IOC/T.20/Doc. č. 14.
 - (8) IOC/T.20/Doc. č. 15.
 - (9) ISO/IEC 1702505).“
-

PRÍLOHA VI

„PRÍLOHA XXa

METÓDA ZISŤOVANIA CUDZÍCH OLEJOV V OLIVOVÝCH OLEJOCH**1. ROZSAH PÔSOBNOSTI**

Tato metóda sa používa na zisťovanie prítomnosti cudzích rastlinných olejov v olivových olejoch. Rastlinné oleje s vysokým obsahom kyseliny linolovej (sójový, repkový, slnečnicový atď.) a rastlinné oleje s vysokým obsahom kyseliny olejovej, ako sú lieskovo orieškový olej, slnečnicový olej so zvýšeným obsahom kyseliny olejovej a olej z olivových výliskov, možno v olivových olejoch zistiť. Zistená úroveň závisí od druhu cudzieho oleja a odrody olív. V prípade lieskovo orieškoveho oleja možno bežne zistiť 5 až 15 %. Uvedenou metódou nemožno zistiť druh cudzieho oleja, dá sa ním určiť iba to, či je olivový olej pravý alebo nie.

2. PODSTATA METÓDY

Olej sa vyčistí metódou extrakcie tuhou fázou (SPE) pomocou silikagélových patrónov. Zloženie triacylglycerolov (TAG) sa stanoví kvapalinovou chromatografiou na reverzných fázach s vysokým rozlíšením a použitím refraktometrického detektora a propionitrilu ako mobilnej fázy. Metylestery mastných kyselín (FAME) sa pripraví z vyčisteného oleja metyláciou studeným roztokom KOH v metanole (príloha X B) a následne sa estery analyzujú kapilárnou plynovou chromatografiou s použitím vysokopolárnych kolón (príloha X A). Teoretické zloženie triacylglycerolov sa vypočíta zo zloženia mastných kyselín prostredníctvom počítačového programu za predpokladu 1,3-náhodného a 2-náhodného rozdelenia mastných kyselín v triacylglycerole s obmedzeniami v prípade nasýtených mastných kyselín na pozícii 2. Metóda výpočtu je upraveným postupom opísaným v prílohe XVIII. Z teoretických a experimentálnych (pomocou HPLC) zložení triacylglycerolov sa vypočíta niekoľko matematických algoritmov a výsledné hodnoty sa porovnávajú s hodnotami uvedenými v databáze, ktorá bola vybudovaná z pravých olivových olejov.

3. MATERIÁL A ČINIDLÁ**3.1. Čistenie oleja**

3.1.1. 25 ml kónické banky.

3.1.2. 5 ml skúmavky so závitom a uzáverom s PTFE spojmi.

3.1.3. Silikagélové patróny 1 g (6 ml) na extrakciu tuhou fázou (napr. od firmy Waters, Massachusetts, USA).

3.1.4. *n*-hexán, analytickej čistoty

3.1.5. Zmes rozpúšťadla *n*-hexán/dietyléter (v pomere 87:13, V/V)

3.1.6. *N*-heptán, analytickej čistoty.

3.1.7. Acetón, analytickej čistoty.

3.2. Analýza triacylglycerolov pomocou HPLC

3.2.1. Mikrostriekačky (50 µL) a ihly na dávkovanie do HPLC.

3.2.2. Propionitril, najvyššej čistoty alebo HPLC čistoty (napr. od firmy ROMIL, Cambridge, United Kingdom). Použije sa ako mobilná fáza.

3.2.3. Kolóna pre HPLC (25 cm x 4 mm vnútorný priemer), naplnená fázou RP-18 (4 µm rozmer častíc).

3.3. Príprava metylesterov mastných kyselín

(pozri prílohu X B)

3.3.1. Metanol s obsahom vody najviac 0,5 %.

3.3.2. Heptán, analytickej čistoty.

3.3.3. 2 normálny metanolový roztok hydroxidu draselného. 1,1 g hydroxidu draselného sa rozpustí v 10 ml metanolu.

3.3.4. 5 ml skúmavky so závitom a uzáverom s PTFE spojmi.

3.4. Analýza FAME plynovou chromatografiou.

(Pozri metódu stanovovania *trans*-nenasýtených mastných kyselín kapilárnou plynovou chromatografiou uvedenou v prílohe X A).

3.4.1. Mikrostriekačky (5 µL) a ihly na dávkovanie do GC.

3.4.2. Vodík alebo hélium ako nosný plyn.

- 3.4.3. Vodík a kyslík pre FID detektor.
- 3.4.4. Dusík alebo hélium ako pomocný nosný plyn.
- 3.4.5. Kapilárna kolóna z taveného kremeňa (50 – 60 m x 0,25 – 0,30 mm vnútorný priemer) s nanosenou fázou kyanopropylpolysiloxánu alebo kyanopropylfenylsiloxánu (SP-2380 alebo podobne), pričom ide o film s hrúbkou 0,20 – 0,25 μm .

4. LABORATÓRNA TECHNIKA

- 4.1. Vákuové zariadenie na extrakciu tuhou fázou.
- 4.2. Rotačná odparka.
- 4.3. Prístroj HPLC zložený z:
 - 4.3.1. odplyňovača pre mobilnú fázu,
 - 4.3.2. ventilu dávkovača Rheodyne s 10 μL slučkou,
 - 4.3.3. jednotky vysokotlakového čerpadla,
 - 4.3.4. termostatickej sušičky pre HPLC kolónu s možnosťou udržiavať teplotu nižšiu ako je teplota okolia (15 – 20 °C) (napr. typu Peltier),
 - 4.3.5. refraktometrického detektora,
 - 4.3.6. systému získavania digitálnych údajov s integračným programom.
- 4.4. Zariadenie na kapilárnu plynovú chromatografiu opísané v prílohe X A vybavené:
 - 4.4.1. injektorom s deličom,
 - 4.4.2. plameňovoionizačným detektorom (FID),
 - 4.4.3. sušičkou s programovateľnou teplotou,
 - 4.4.4. systémom získavania digitálnych údajov s integračným programom.
- 4.5. Počítač s programom Microsoft EXCEL.

5. POSTUP ANALÝZY

5.1. Čistenie oleja

Silikagelová patróna SPE sa umiestni do vákuového elučného zariadenia a vo vákuu sa premyje 6 ml hexánu. Vákuum sa uvoľní, aby sa predišlo vysušeniu kolóny a pod patrónu sa umiestni kónická banka. Roztok oleja (približne 0,12 g) v 0,5 ml hexánu sa zavedie do kolóny a po prechode cez kolónu sa následne nechá vo vákuu eluovať pomocou 10 ml zmesi rozpúšťadiel (podľa bodu 3.1.5) hexán-dietyléter (87:13 V/V). Eluované rozpúšťadlo sa homogenizuje a asi polovica jeho objemu sa preleje do druhej kónickej banky. Oba roztoky sa oddelene nechajú odpariť do sucha v rotačnom odparovači za zníženého tlaku pri izbovej teplote. Na účely analýzy triacylglycerolu sa jeden zvyšok rozpustí v 1 ml acetónu (pozri prvý odsek bodu 5.2) a naleje do 5 ml skúmavky so závitom. Druhý zvyšok sa rozpustí v 1 ml *n*-heptánu a naleje sa do druhej 5 ml skúmavky so závitom na prípravu metylesterov mastných kyselín.

Poznámka: Čistenie oleja sa môže uskutočniť pomocou kolóny so silikagelom, ako sa uvádza v metóde 2.507 od IUPAC.

5.2. Analýza triacylglycerolov pomocou HPLC

HPLC systém sa nastaví, teplota kolóny sa udržiava na 20 °C, pričom sa ako mobilná fáza používa propionitril s prietokom of 0,6 ml/min. Po ustálení základnej línie sa nadávkuje rozpúšťadlo. V prípade, že sa základná línia zdá nestála v oblasti 12 až 25 min., na rozpustenie vzorky sa použije iný druh acetónu alebo zmes propionitril/acetón (25:75).

Poznámka: Niektoré druhy acetónu spôsobujú nestálosť základnej línie v uvedenej oblasti.

Nadávkuje sa 10 μL alikvótnej časti roztoku čisteného oleja v acetóne (5 %). Analýza prebieha približne 60 min. Teplota sušičky a/alebo prietok sa musia upraviť tak, aby bol výsledný chromatogram podobný chromatogramu zobrazenému na obr. 1, na ktorom trilinoleín (pík 1) eluuje pri 15,5 min. a medzi páirmi LLL/OLLn (píky 1 a 2) a OLL/OLLn (píky 4 a 5) je dobré rozlíšenie.

Výška píku 2 (OLLn+PoLL) musí dosiahnuť aspoň 3 % celého rozsahu.

5.3. Príprava metylesterov mastných kyselín

K roztoku čisteného oleja v 1 ml *n*-heptánu sa pridá 0,1 ml 2 normálneho metanolového roztoku hydroxidu draselného. Skúmavka sa zaskrutkuje a uzáver sa utiahne. Skúmavka sa silno pretrepáva 15 sekúnd a potom sa nechá odstáť, kým sa nevytvoria vrstvy a vrchná vrstva sa nevyčíri (5 min.). Roztok *n*-heptánu je tým pripravený na dávkovanie do plynového chromatografu. Roztok možno nechať pri izbovej teplote najviac počas 12 hodín.

5.4. Analýza metylesterov mastných kyselín pomocou GC

Musí sa použiť postup opísaný v metóde pre stanovenie *trans*-nenasýtených mastných kyselín (pozri prílohu X A).

Pec systému GC sa nastaví na teplotu 165 °C. Odporúčaná teplota pece je izotermálna pri 165 °C počas 10 min. a následne stúpa na 200 °C rýchlosťou 1,5 °C/min. Na minimalizovanie tvorby *trans*-mastných kyselín (pozri prílohu X A) sa odporúča teplota injektora medzi 220 °C a 250 °C. Teplota detektora je 250 °C. Vodík alebo hélium sa musia použiť ako nosné plyny na vstupe do kolóny pri tlaku približne 130 kPa. Objem nástreku 1 µL v režime s deleným nástrekom.

Musí sa dosiahnuť profil GC podobný profilu zobrazenému na obr. 2. Osobitná pozornosť sa musí venovať rozlíšeniu medzi C18:3 a C20:1 (pík pre C18:3 sa musí objaviť pred píkom pre C20:1). Na dosiahnutie týchto podmienok sa musí optimalizovať počiatočná teplota a/alebo tlak na začiatku kolóny. Aby sa minimalizovala diskriminácia kyseliny palmitovej a palmitoolejovej, podmienky injektora (teplota, deliaci pomer a objem nástreku) sa upraví.

Výška píku pre C20:0 musí dosiahnuť asi 20 % celého rozsahu, aby sa *trans*-izoméry mohli kvantifikovať. Ak sa pík pre C18:0 zdá deformovaný, zníži sa množstvo vzorky.

6. INTEGRÁCIA CHROMATOGRAFICKÝCH PÍKOV

6.1. HPLC chromatogram

Na obrázku 1 je zobrazený typický HPLC chromatogram triacylglycerolov čisteného olivového oleja. Na vykonanie integrácie píkov sa musia sledovať tri základné línie: prvá medzi počiatkom píku 1 a koncom píku 3; druhá medzi počiatkom píku 4 a sedlom pred píkom 8; tretia medzi sedlom pred píkom 8 a koncom píku 18.

Celková plocha je súčtom plôch všetkých píkov (určených aj neurčených) od píku 1 po píku 18. Percentuálne zastúpenie každého píku je dané vzťahom

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

Percentuálne hodnoty sa musia uvádzať na dve desatinné miesta.

6.2. GC chromatogram

Na obrázku 2 je zobrazený GC chromatogram alkylesterov mastných kyselín získaný z čisteného olivového oleja. Musí sa vypočítať percentuálne zastúpenie týchto mastných kyselín:

palmitovej;	P (C16:0)	= metylester + etylester
stearovej;	S (C18:0)	= metylester
palmitoolejovej;	Po (C16:1)	= súčet metylesterov oboch <i>cis</i> -izomérov
olejovej;	O (C18:1)	= súčet metylesterov oboch <i>cis</i> -izomérov + etylester + <i>trans</i> -izoméry
linolovej;	L (C18:2)	= metylester+ etylester + <i>trans</i> -izoméry
linolénovej;	Ln (C18:3)	= metylester + <i>trans</i> -izoméry
íkozánovej;	A (C20:0)	= metylester
eikosenovej (gondoovej);	G (C20:1)	= metylester

Etylester a estery *trans*-izomérov môžu v GC chromatograme chýbať.

Celková plocha (AT) je súčtom plôch všetkých píkov v chromatograme od C14:0 po C24:0, okrem píku zodpovedajúceho skvalénu. Percentuálne zastúpenie každého píku sa vypočíta takto:

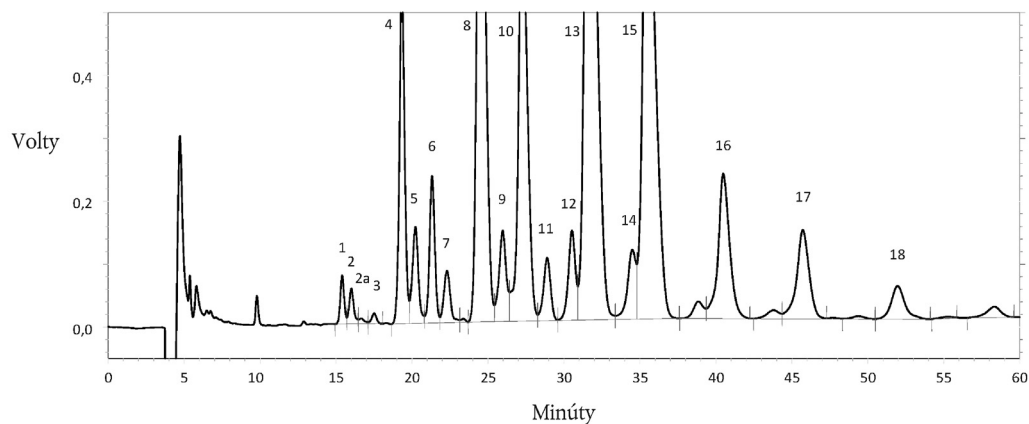
$$\text{FA}_x (\%) = 100 (A_x + A_T)$$

Výsledky sa musia uviesť na dve desatinné miesta.

Pri výpočtoch pomocou počítačového programu, nie je nutné urobiť normalizačný prevod na 100, pretože sa uskutoční automaticky.

Obrázok 1

HPLC chromatogram TAG extrapanenského olivového oleja „Chamlali“. Hlavné zložky chromatografických pík



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

Tabuľka 1

Údaje o opakovateľnosti stanovovania TAG extra panenského olivového oleja pomocou HPLC pri teplote kolóny 20 °C a s použitím propionitrilu ako mobilnej fázy

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

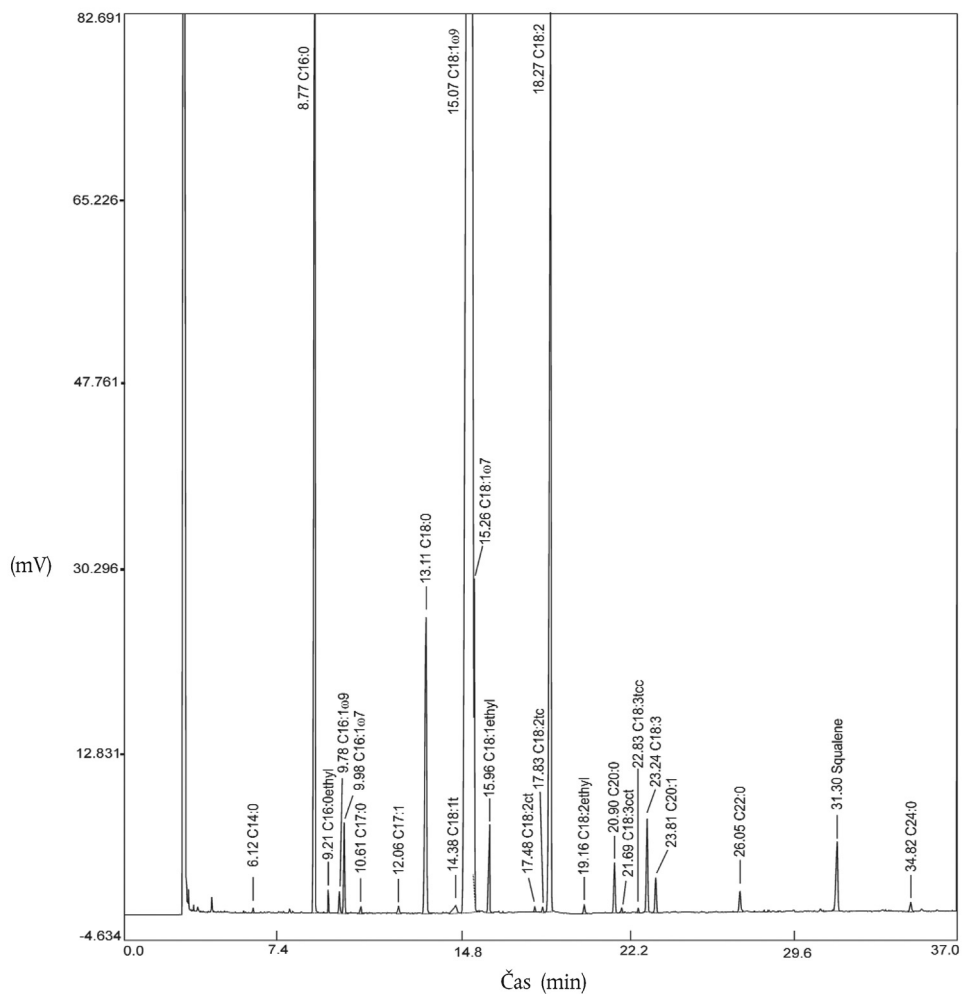
ECN	HPLC piky	TAG	Vzorka 1		Vzorka 2		Vzorka 3		Vzorka 4		Vzorka 5	
			Priemer (%)	RSD _r (%)	Priemer (%)	RSD _r (%)	Priemer (%)	RSD _r (%)	Priemer (%)	RSD _r (%)	Priemer (%)	RSD _r (%)
48	12.+1-3.	OOO+ PLP+ PoPP	49,60	0,07	48,15	0,06	42,93	0,06	33,25	0,10	24,16	0,06
	14	SOL	0,82	1,72	0,92	1,56	1,05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

n = 3 opakovania

RSD_r = relatívna štandardná odchýlka opakovateľnosti

Obrázok 2

GC chromatogram alkylesterov mastných kyselín získaných z oleja z olivových výliskov transesterifikáciou studeným roztokom KOH v metanole



7. ZISŤOVANIE CUDZÍCH OLEJOV V OLIVOVÝCH OLEJOCH

Na účely zisťovania cudzích olejov v olivových olejoch sa metóda výpočtu pomocou porovnávania matematických algoritmov s hodnotami uvedenými v databáze, ktorá bola vybudovaná z pravých olivových olejov, uvádza v prílohe I k norme IOC/T.20/Doc. č. 25.“
