

ROZPORZĄDZENIE WYKONAWCZE KOMISJI (UE) 2015/1833**z dnia 12 października 2015 r.****zmieniające rozporządzenie (EWG) nr 2568/91 w sprawie właściwości oliwy z oliwek i oliwy z wycłoczyn oliwek oraz w sprawie odpowiednich metod analizy**

KOMISJA EUROPEJSKA,

uwzględniając Traktat o funkcjonowaniu Unii Europejskiej,

uwzględniając rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1308/2013 z dnia 17 grudnia 2013 r. ustanawiające wspólną organizację rynków produktów rolnych oraz uchylające rozporządzenia Rady (EWG) nr 922/72, (EWG) nr 234/79, (WE) nr 1037/2001 i (WE) nr 1234/2007⁽¹⁾, w szczególności jego art. 91 akapit pierwszy lit. d) i akapit drugi,

a także mając na uwadze, co następuje:

- (1) W rozporządzeniu Komisji (EWG) nr 2568/91⁽²⁾ zdefiniowano właściwości fizyczno-chemiczne i organoleptyczne oliwy z oliwek i oliwy z wycłoczyn z oliwek oraz określono metody oceny tych właściwości. Metody te są regularnie uaktualniane na podstawie opinii ekspertów w dziedzinie chemii oraz zgodnie z wynikami prac prowadzonych w ramach Międzynarodowej Rady ds. Oliwy (IOC).
- (2) Aby zapewnić wdrożenie na poziomie Unii najnowszych norm międzynarodowych określonych przez IOC, należy zaktualizować niektóre metody analizy określone w rozporządzeniu (EWG) nr 2568/91.
- (3) Ze zdobytego doświadczenia wynika, że metoda wykrywania obecności obcych olejów roślinnych w oliwie z oliwek może dawać wyniki fałszywie dodatnie. W związku z tym należy skreślić odesłania do tej metody.
- (4) Należy zatem odpowiednio zmienić rozporządzenie (EWG) nr 2568/91.
- (5) Środki przewidziane w niniejszym rozporządzeniu są zgodne z opinią Komitetu ds. Wspólnej Organizacji Rynków Rolnych,

PRZYJMUJE NINIEJSZE ROZPORZĄDZENIE:

Artykuł 1

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

- 1) w art. 2 ust. 1 wprowadza się następujące zmiany:
 - a) w akapicie pierwszym wprowadza się następujące zmiany:
 - (i) lit. g) otrzymuje brzmienie:
„g) metoda oznaczania składu kwasu tłuszczowego, przedstawiona w załączniku X;”;
 - (ii) lit. l) otrzymuje brzmienie:
„l) metoda oznaczania zawartości alkoholi alifatycznych i triterpenowych, przedstawiona w załączniku XIX;”;
 - b) skreśla się akapit drugi;
- 2) w streszczeniu załączników wprowadza się następujące zmiany:
 - a) odesłania do załączników X A i X B, w tym tytuły załączników, zastępuje się następującym jednym odesłaniem:
„Załącznik X Oznaczanie estrów metylowych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej”;

⁽¹⁾ Dz.U. L 347 z 20.12.2013, s. 671.⁽²⁾ Rozporządzenie Komisji (EWG) nr 2568/91 z dnia 11 lipca 1991 r. w sprawie właściwości oliwy z oliwek i oliwy z wycłoczyn z oliwek oraz w sprawie odpowiednich metod analizy (Dz.U. L 248 z 5.9.1991, s. 1).

- b) w odesłaniu do załącznika XIX tytuł otrzymuje brzmienie:
„Oznaczanie zawartości alkoholi alifatycznych i triterpenowych metodą chromatografii gazowej na kolumnach kapilarnych”;
- c) skreśla się odesłanie do załącznika XXa;
- 3) w dodatku 1 do załącznika Ib wprowadza się zmiany zgodnie z załącznikiem I do niniejszego rozporządzenia;
- 4) w załączniku V wprowadza się zmiany zgodnie z załącznikiem II do niniejszego rozporządzenia;
- 5) załącznik IX zastępuje się tekstem znajdującym się w załączniku III do niniejszego rozporządzenia;
- 6) załączniki X A i X B zastępuje się tekstem znajdującym się w załączniku IV do niniejszego rozporządzenia;
- 7) w załączniku XII wprowadza się zmiany zgodnie z załącznikiem V do niniejszego rozporządzenia;
- 8) w załączniku XIX wprowadza się zmiany zgodnie z załącznikiem VI do niniejszego rozporządzenia;
- 9) skreśla się załącznik XXa.

Artykuł 2

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

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

Sporządzono w Brukseli dnia 12 października 2015 r.

W imieniu Komisji
Jean-Claude JUNCKER
Przewodniczący

ZAŁĄCZNIK I

W dodatku 1 do załącznika Ib do rozporządzenia (EWG) nr 2568/91, w tabeli równoważności wprowadza się następujące zmiany:

- 1) wiersze dotyczące izomerów *trans* kwasów tłuszczowych oraz zawartości kwasów tłuszczowych otrzymują brzmienie:

„— Izomery <i>trans</i> kwasów tłuszczowych	Załącznik X	Oznaczanie estrów metylowych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej
— Zawartość kwasów tłuszczowych	Załącznik X	Oznaczanie estrów metylowych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej”

- 2) wiersz dotyczący alkoholi alifatycznych otrzymuje brzmienie:

„— Alkohole alifatyczne i triterpenowe	Załącznik XIX	Oznaczanie zawartości alkoholi alifatycznych i triterpenowych metodą chromatografii gazowej na kolumnach kapilarnych”
--	---------------	---

ZAŁĄCZNIK II

Pkt 6.2 w załączniku V do rozporządzenia (EWG) nr 2568/91 otrzymuje brzmienie:

- „6.2. Procentową zawartość każdego sterolu obliczyć na podstawie stosunku powierzchni odpowiedniego pików do sumy powierzchni pików steroli:

$$\text{sterol}_x = \frac{A_x}{\sum A} \times 100$$

gdzie:

A_x = powierzchnia pików dla x;

$\sum A$ = suma powierzchni pików dla steroli.”

ZAŁĄCZNIK III

„ZAŁĄCZNIK IX

BADANIE SPEKTROFOTOMETRYCZNE W ULTRAFIOLECIE

WPROWADZENIE

Dzięki badaniu spektrofotometrycznemu w ultrafiolecie można uzyskać informacje o jakości substancji tłuszczowej, jej stanie zachowania i zmianach wywołanych procesami technologicznymi. Efekty absorpcji fal o długości ustalonej w tej metodzie wywołane są obecnością sprzężonych systemów dienowych i trienowych wynikającą z utleniania lub rafinacji. Wielkość takiej absorpcji jest wyrażana jako właściwa gęstość optyczna $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (gęstość optyczna 1 % w/v roztworu substancji tłuszczowej w określonym rozpuszczalniku w ogniwie 10 mm) oznaczona zgodnie z konwencją jako K (zwana również »współczynnikiem ekstynkcji«).

1. ZAKRES

W niniejszym załączniku opisuje się procedurę przeprowadzania badania spektrofotometrycznego oliwy z oliwek w zakresie ultrafioletu.

2. PODSTAWOWA ZASADA METODY

Próbkę rozpuszcza się w wymaganym rozpuszczalniku, a następnie mierzy się absorbancję roztworu dla określonych długości fal w porównaniu z czystym rozpuszczalnikiem.

Właściwą gęstość optyczną oblicza się przy 232 nm i 268 nm w izooktanie lub przy 232 nm i 270 nm w cykloheksanie dla stężenia 1 % w/v w ogniwie 10 mm.

3. URZĄDZENIA

- 3.1. Spektrofotometr odpowiedni do pomiarów długości fal ultrafioletowych (220 nm do 360 nm) z możliwością odczytu pojedynczych jednostek nanometrycznych. Zaleca się regularną kontrolę dokładności i odtwarzalności skal absorbancji i długości fal, a także kontrolę światła rozproszonego.

- 3.1.1. *Skala długości fal:* Można ją sprawdzić poprzez zastosowanie materiału wzorcowego złożonego z filtra ze szkła optycznego zawierającego tlenek holmu lub roztwór tlenku holmu (zamkniętego hermetycznie lub niehermetycznie) o różnych pasmach absorpcyjnych. Materiały wzorcowe służą do weryfikacji i kalibracji skali długości fal w spektrofotometrach w świetle widzialnym i ultrafiolecie o nominalnej spektralnej szerokości wiązki do 5 nm. Pomiaru są wykonywane względem próbki wzorcowej z powietrzem otoczenia w zakresie długości fal od 640 do 240 nm, według instrukcji załączonej do materiałów wzorcowych. Przeprowadzana jest korekta bazowa przy pustym torze wiązki dla każdej zmiany szerokości szczeliny. Długości fal dla normy są wymienione w certyfikacie materiału wzorcowego.

- 3.1.2. *Skala absorbancji:* Można ją sprawdzić z użyciem dostępnych w sprzedaży hermetycznie zamkniętych materiałów wzorcowych złożonych z kwasowych roztworów dichromianu potasu o określonych stężeniach i certyfikowanych wartościach absorbancji przy λ_{max} (4 roztwory dichromianu potasu w kwasie nadchlorowym szczelnie zamkniętych w czterech kwarcowych ośniewach ultrafioletowych do pomiaru wartości referencyjnej liniowości i dokładności fotometrycznej w ultrafiolecie). Pomiaru roztworów dichromianu potasu są wykonywane względem próbki wzorcowej użytego kwasu, po dokonaniu korekty bazowej, według instrukcji załączonej do materiału wzorcowego. Wartości absorbancji są wymienione w certyfikacie materiału wzorcowego.

Inną możliwością sprawdzenia reakcji ogniwa fotoelektrycznego i powielacza fotoelektrycznego jest następująca procedura: odważyć 0,2000 g czystego chromianu potasu do badań spektrofotometrycznych, rozpuścić w roztworze 0,05 N wodorotlenku potasu i dopełnić do kreski w kolbie o pojemności 1 000 ml. Następnie pobrać dokładnie 25 ml otrzymanego roztworu i przenieść do kolby miarowej o pojemności 500 ml, po czym uzupełnić do kreski tym samym roztworem wodorotlenku potasu.

Zmierzyć gęstość optyczną otrzymanego w ten sposób roztworu dla długości fali 275 nm, używając roztworu wodorotlenku potasu jako wzorca. Gęstość optyczna zmierzona przy użyciu kuwety o grubości 1 cm powinna wynosić $0,200 \pm 0,005$.

- 3.2. Prostokątne kuwety kwarcowe z pokrywą, odpowiednie do pomiarów przy długości fal ultrafioletowych (220–360 nm) o długości drogi optycznej 10 mm. Po napełnieniu ich wodą lub innym odpowiednim rozpuszczalnikiem kuwety nie powinny się różnić między sobą o więcej niż 0,01 jednostki gęstości optycznej.

- 3.3. Kolby miarowe z miarką, pojemność 25 ml, klasa A.
- 3.4. Waga analityczna z dokładnością odczytu do najbliższego 0,0001 g.

4. ODCZYNNIKI

W trakcie analizy, jeżeli nie ma innych wskazań, stosuje się jedynie odczynniki o uznanej klasie analitycznej oraz wodę destylowaną lub demineralizowaną lub wodę o równorzędnej czystości.

Rozpuszczalnik: izooktan (2,2,4-trimetylopentan) do pomiarów przy 232 nm i 268 nm i cykloheksan do pomiarów przy 232 nm i 270 nm, przy czym absorbancja wynosi mniej niż 0,12 przy 232 nm i mniej niż 0,05 przy 270 nm w stosunku do wody destylowanej; pomiar w ogniwie 10 mm.

5. PROCEDURA

- 5.1. Próbką musi być całkowicie jednorodna i pozbawiona wszelkich zanieczyszczeń występujących w postaci zawiesiny. W przeciwnym razie musi zostać przefiltrowana przez filtr papierowy w temperaturze około 30 °C.
- 5.2. Odważyć około 0,25 g (z dokładnością do najbliższego 1 mg) przygotowanej w ten sposób próbki w kolbie miarowej o pojemności 25 ml, uzupełnić wskazanym rozpuszczalnikiem do kreski i poddać homogenizacji. Uzyskany roztwór musi być idealnie przezroczysty. W razie wystąpienia opalizacji lub mętnienia przefiltrować szybko przez filtr papierowy.

UWAGA: Zasadniczo próbka 0,25–0,30 g jest wystarczająca do pomiarów absorbancji oliwy z oliwek z pierwszego tłoczenia i oliwy z oliwek najwyższej jakości z pierwszego tłoczenia przy 268 nm i 270 nm. Dla pomiarów 232 nm zazwyczaj wymaga się próbki 0,05 g, przygotowuje się zatem dwa oddzielne roztwory. W pomiarach absorbancji oliwy z wytłocznym z oliwek, rafinowanej oliwy z oliwek oraz fałszowanej oliwy z oliwek potrzebna jest zazwyczaj mniejsza próbka, np. 0,1 g, ze względu na większą absorbancję tych oliw.

- 5.3. Jeżeli jest to konieczne, przeprowadzić korektę bazową (220–290 nm) rozpuszczalnikiem w obu ogniwach kwarcowych (próbka i materiał wzorcowy), a następnie wypełnić ogniwo kwarcowe próbki badanym roztworem i zmierzyć gęstość optyczną przy 232, 268 lub 270 nm względem rozpuszczalnika wzorcowego.

Zarejestrowane wartości gęstości optycznej muszą mieścić się w przedziale od 0,1 do 0,8 lub w przedziale liniowości spektrofotometru, którą należy zweryfikować. Jeżeli się nie mieszczą, należy powtórzyć pomiary, stosując odpowiednio silniejsze lub słabsze roztwory.

- 5.4. Po dokonaniu pomiaru absorbancji przy 268 lub 270 nm, zmierzyć absorbancję przy λ_{\max} , $\lambda_{\max}+4$ i $\lambda_{\max}-4$. Uzyskanych wartości absorbancji używa się do określenia zmienności właściwej gęstości optycznej (ΔK).

UWAGA: λ_{\max} jest przyjmowane za 268 nm dla izooktanu używanego jako rozpuszczalnik i 270 nm dla cykloheksanu.

6. PREZENTACJA WYNIKÓW

- 6.1. Należy zarejestrować właściwe gęstości optyczne (współczynniki ekstynkcji) dla różnych długości fal, obliczając je w następujący sposób:

$$K\lambda = \frac{E\lambda}{c \times s}$$

gdzie:

$K\lambda$ = właściwa gęstość optyczna przy długości fali λ ;

$E\lambda$ = gęstość optyczna zmierzona przy długości fali λ ;

c = stężenie roztworu w g/100 ml;

s = droga optyczna ogniwa kwarcowego w cm;

z dokładnością do dwóch miejsc po przecinku.

6.2. Zmienność właściwej gęstości optycznej (ΔK)

Zmienność wartości bezwzględnej gęstości (ΔK) oblicza się według wzoru:

$$\Delta K = \left| K_m - \left(\frac{K_{\lambda m - 4} + K_{\lambda m + 4}}{2} \right) \right|$$

gdzie K_m oznacza właściwą gęstość optyczną przy długości fali dla maksymalnej absorpcji 270 nm i 268 nm w zależności od zastosowanego rozpuszczalnika.

Wynik należy podać z dokładnością do dwóch miejsc po przecinku.”

ZAŁĄCZNIK IV

„ZAŁĄCZNIK X

OZNACZANIE ESTRÓW METYLOWYCH KWASÓW TŁUSZCZOWYCH METODĄ CHROMATOGRAFII GAZOWEJ

1. ZAKRES

Niniejszy załącznik zawiera wytyczne w zakresie oznaczania metodą chromatografii gazowej wolnych i związanych kwasów tłuszczowych w tłuszczach i olejach roślinnych po ich przekształceniu na estry metylowe kwasów tłuszczowych (FAME).

Związane kwasy tłuszczowe w formie triglicerydów (TAG) oraz – w zależności od metody estryfikacji – wolne kwasy tłuszczowe (FFA) są przekształcane na estry metylowe kwasów tłuszczowych (FAME), które oznacza się metodą chromatografii gazowej na kolumnach kapilarnych.

Metoda opisana w niniejszym załączniku pozwala na oznaczanie FAME od C12 do C24, w tym estrów metylowych kwasów tłuszczowych nasyconych, *cis*- i *trans*-jednonienasyconych oraz *cis*- i *trans*-wielonienasyconych.

2. ZASADA

Do analizy ilościowej FAME stosuje się chromatografię gazową (GC). FAME są przygotowywane zgodnie z częścią A. Następnie są wstrzykiwane do dozownika i odparowywane. Rozdział FAME przeprowadza się w kolumnach analitycznych o określonej polarności i długości. Do wykrywania FAME stosuje się detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID). Warunki badania określono w części B.

W chromatografii gazowej FAME z użyciem FID można użyć wodoru lub helu jako gazu nośnego (faza ruchoma). Wodór przyspiesza rozdział i daje wyraźniejsze piki. Fazą stacjonarną jest mikroskopijna warstwa cienkiego filmu cieczy naniesiona na obojętną powierzchnię z topionej krzemionki.

Podczas przejścia związków lotnych poddawanych analizie przez kolumnę kapilarną następuje ich oddziaływanie z fazą stacjonarną pokrywającą wewnętrzną powierzchnię kolumny. W wyniku różnych oddziaływań różnych związków elucja ma miejsce w różnym czasie – jest to tak zwany czas retencji związku chemicznego przy danym zbiorze parametrów analitycznych. Porównanie czasów retencji służy identyfikacji różnych związków chemicznych.

CZĘŚĆ A

PRZYGOTOWANIE ESTRÓW METYLOWYCH KWASÓW TŁUSZCZOWYCH Z OLIWY Z OLIWEK ORAZ OLIWY Z WYTŁOCZYN Z OLIWEK

1. ZAKRES

W niniejszej części opisano przygotowanie estrów metylowych kwasów tłuszczowych. Zawarto w niej metody przygotowania estrów metylowych kwasów tłuszczowych z oliw z oliwek oraz z oliw z wytlóczyn z oliwek.

2. ZAKRES ZASTOSOWANIA

Przygotowanie estrów metylowych kwasów tłuszczowych z oliw z oliwek oraz z oliw z wytlóczyn z oliwek przeprowadza się w drodze transestryfikacji roztworem metanolowym wodorotlenku potasu w temperaturze pokojowej. Konieczność oczyszczania próbki przed transestryfikacją zależy od zawartości wolnych kwasów tłuszczowych w próbce oraz od oznaczanych parametrów analitycznych; metodę można wybrać zgodnie z następującą tabelą:

Kategoria oliwy	Metoda
Oliwa z oliwek z pierwszego tłoczenia, o kwasowości $\leq 2,0$ %	1. Kwasy tłuszczowe 2. Kwasy tłuszczowe <i>trans</i>
Rafinowana oliwa z oliwek	3. Δ ECN42 (po oczyszczeniu żelem krzemionkowym SPE)
Oliwa z oliwek złożona z rafinowanej oliwy z oliwek i oliwy z oliwek z pierwszego tłoczenia	

Kategoria oliwy	Metoda
Rafinowana oliwa z wycłoczyn z oliwek	
Oliwa z wycłoczyn z oliwek	
Oliwa z oliwek z pierwszego tłoczenia, o kwasowości > 2,0 % Surowa oliwa z wycłoczyn z oliwek	1. Kwasy tłuszczowe (po oczyszczeniu żelem krzemionkowym SPE) 2. Kwasy tłuszczowe <i>trans</i> (po oczyszczeniu żelem krzemionkowym SPE) 3. ΔECN42 (po oczyszczeniu żelem krzemionkowym SPE)

3. METODOLOGIA

3.1. **Transestryfikacja roztworem metanolem wodorotlenku potasu w temperaturze pokojowej**

3.1.1. *Zasada*

Estry metylowe powstają w wyniku transestryfikacji roztworem metanolem wodorotlenku potasu na etapie pośrednim przed zmydleniem.

3.1.2. *Odczynniki*

3.1.2.1. Metanol o zawartości wody nieprzekraczającej 0,5 % (m/m).

3.1.2.2. Heksan, jakość chromatograficzna.

3.1.2.3. Heptan, jakość chromatograficzna.

3.1.2.4. Eter dietylowy do analizy, stabilizowany.

3.1.2.5. Aceton, jakość chromatograficzna.

3.1.2.6. Rozpuszczalnik elucyjny do oczyszczania oliwy metodą chromatografii kolumnowej/SPE, w mieszaninie heksanu z eterem dietylowym 87/13 (v/v).

3.1.2.7. Wodorotlenek potasu, roztwór metanolem ok. 2M: rozpuścić 11,2 g wodorotlenku potasu w 100 ml metanolu.

3.1.2.8. Wkłady z żelem krzemionkowym, 1 g (6 ml), do ekstrakcji do fazy stałej.

3.1.3. *Aparatura*

3.1.3.1. Probówki zakręcane (objętość 5 ml), zakrętka z uszczelką PTFE.

3.1.3.2. Pipety miarowe lub automatyczne, 2 ml i 0,2 ml.

3.1.4. *Oczyszczanie próbek oliwy*

W razie potrzeby próbki można oczyścić przez przepuszczenie oliwy przez wkład z żelem krzemionkowym do ekstrakcji do fazy stałej. Wkład z żelem krzemionkowym (3.1.2.8) umieszcza się w elucyjnej aparaturze próżniowej i przemywa się 6 ml heksanu (3.1.2.2); przemywanie odbywa się bez próżni. Następnie do kolumny podaje się roztwór oliwy (około 0,12 g) w 0,5 ml heksanu (3.1.2.2). Roztwór przepuszcza się przez kolumnę, a następnie poddaje elucji mieszaniną 10 ml heksanu/eteru dietylowego (87:13 v/v) (3.1.2.6). Wszystkie eluaty są homogenizowane i dzielone na dwie podobne objętości. Podwielokrotność odparowuje się do suchości w wyparce obrotowej pod zmniejszonym ciśnieniem w temperaturze pokojowej. Pozostałość rozpuszcza się w 1 ml heptanu i roztwór jest gotowy do analizy kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej. Drugą podwielokrotność odparowuje się, a pozostałość rozpuszcza się w 1 ml acetonu do analizy triglicerydów metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), jeśli jest to konieczne.

3.1.5. Procedura

W zakręcanej probówce o pojemności 5 ml (3.1.3.1) odważyć ok. 0,1 g próbki oliwy. Dodać 2 ml heptanu (3.1.2.2) i wstrząsnąć. Dodać 0,2 ml roztworu metanolowego wodorotlenku potasu (3.1.2.7), zamknąć nakrętką z uszczelką PTFE, zacisnąć nakrętkę i wstrząsać energicznie przez 30 sekund. Pozostawić do rozwarstwienia, aż górna warstwa roztworu stanie się klarowna. Dekantować górną warstwę zawierającą estry metylowe. Roztwór heptanu jest gotowy do wstrzyknięcia do chromatografu gazowego. Zaleca się przechowywanie roztworu w chłodziarce do czasu analizy metodą chromatografii gazowej. Nie zaleca się przechowywania roztworu dłużej niż przez 12 godzin.

CZĘŚĆ B

ANALIZA ESTRÓW METYLOWYCH KWASÓW TŁUSZCZOWYCH METODĄ CHROMATOGRAFII GAZOWEJ

1. ZAKRES

Niniejsza część zawiera ogólne wytyczne stosowania chromatografii gazowej na kolumnach kapilarnych do oznaczania składu jakościowego i ilościowego mieszaniny estrów metylowych kwasów tłuszczowych uzyskanych zgodnie z metodą określoną w części A.

Niniejsza część nie stosuje się do spolimeryzowanych kwasów tłuszczowych.

2. ODCZYNNIKI

2.1. Gaz nośny

Gaz obojętny (hel lub wodór) dokładnie osuszony i zawierający mniej niż 10 mg/kg tlenu.

Uwaga 1: Wodór może dwukrotnie przyspieszyć analizę, ale stwarza zagrożenie. Istnieją jednak urządzenia zabezpieczające.

2.2. Gazy pomocnicze

2.2.1. Wodór (czystość $\geq 99,9\%$) niezawierający zanieczyszczeń organicznych.

2.2.2. Powietrze lub tlen niezawierające zanieczyszczeń organicznych.

2.2.3. Azot (czystość $> 99\%$).

2.3. Produkty wzorcowania

Mieszanina estrów metylowych czystych kwasów tłuszczowych lub estrów metylowych substancji tłuszczowej o znanym składzie, o ile to możliwe jak najbardziej zbliżonym do składu substancji tłuszczowej poddawanej analizie. Izomery *cis* i *trans*, oktadekanowe, oktadekadienowe i oktadekatrienowe estrów metylowych są przydatne w identyfikacji izomerów *trans* kwasów nienasyconych.

Należy przedsięwziąć wszelkie środki ostrożności, aby zapobiec utlenieniu kwasów tłuszczowych wielonienasyconych.

3. APARATURA

Podane zalecenia dotyczą powszechnie stosowanego sprzętu do chromatografii gazowej z wykorzystaniem kolumn kapilarnych i detektora płomieniowo-jonizacyjnego.

3.1. Chromatograf gazowy

Chromatograf gazowy składa się z następujących elementów:

3.1.1. System dozowania

Należy korzystać z systemu dozowania z kolumnami kapilarnymi, przy czym system ten powinien być tak skonstruowany, aby można było go używać z takimi kolumnami. Może to być dozownik z rozdziałem strumienia lub dozownik typu *on-column* bez rozdziału strumienia.

3.1.2. Piec

Piec musi być w stanie nagrzać kolumnę kapilarną do temperatury co najmniej 260 °C i utrzymać pożądaną temperaturę z dokładnością do 0,1 °C. Ten drugi wymóg jest szczególnie istotny w przypadku użycia rurki z topionej krzemionki.

Stosowanie urządzenia wyposażonego w programator temperatury jest zalecane we wszystkich przypadkach, w szczególności w przypadku kwasów tłuszczowych o liczbie atomów węgla mniejszej niż 16.

3.1.3. Kolumna kapilarna

3.1.3.1. Rurka z materiału obojętnego w stosunku do badanych substancji (na ogół ze szkła lub topionej krzemionki). Wewnętrzna średnica musi mieścić się w przedziale 0,20–0,32 mm. Powierzchnia wewnątrz musi być poddana odpowiedniej obróbce (np. przygotowanie powierzchni, dezaktywacja) przed nałożeniem warstwy fazy stacjonarnej. Długość 60 m jest wystarczająca dla kwasów tłuszczowych oraz izomerów *cis* i *trans* kwasów tłuszczowych.

3.1.3.2. Odpowiednie są kolumny z fazą sieciowanych polisiloksanów polarnych (cyjanopropylsilikon).

Uwaga 2: Istnieje ryzyko, że polisiloksany polarne mogą spowodować trudności przy określaniu i rozdzielaniu kwasu linolenowego i kwasów C20.

Warstwy powinny być cienkie, tj. 0,1–0,2 µm.

3.1.3.3. Montaż i kondycjonowanie kolumny

Należy przestrzegać normalnych środków ostrożności obowiązujących przy czynnościach montażu kolumn kapilarnych, takich jak umieszczenie kolumny w piecu (podłoże), dobór i montaż połączeń (szczelność), rozmieszczenie końcówek kolumny w dozowniku i detektorze (zmniejszenie martwych przestrzeni). Umieścić kolumnę pod strumieniem gazu nośnego (na przykład o ciśnieniu 0,3 bara (30 kPa) dla kolumny o długości 25 m i średnicy wewnętrznej 0,3 mm).

Kondycjonować kolumnę, programując wzrost temperatury pieca na 3 °C/min od poziomu temperatury otoczenia aż do temperatury niższej o 10 °C od granicznej wartości temperatury, w której następuje rozpad fazy stacjonarnej. Utrzymywać tę temperaturę pieca przez jedną godzinę do momentu stabilizacji linii podstawowej. Obniżyć temperaturę do 180 °C, aby kontynuować pracę w warunkach stałej temperatury.

Uwaga 3: Odpowiednio prekondycjonowane kolumny są dostępne w handlu.

3.1.4. Detektor płomieniowo-jonizacyjny i konwerter-wzmacniacz

3.2. Strzykawka

Strzykawka musi mieć maksymalną pojemność 10 µl i być wyskalowana co 0,1 µl.

3.3. System odbioru danych

System odbioru danych, połączony bezpośrednio z detektorami i używany wraz z oprogramowaniem odpowiednim do integracji i normalizacji piku.

4. PROCEDURA

Szczegółowe zasady postępowania podane w pkt. 4.1–4.3 odnoszą się do stosowania detektora płomieniowo-jonizacyjnego.

4.1. **Warunki badania**4.1.1. *Dobór optymalnych warunków pracy dla kolumn kapilarnych*

W związku ze sprawnością i drożnością kolumn kapilarnych rozdzielanie składników i czas trwania analizy zależą w bardzo dużym stopniu od natężenia przepływu gazu nośnego w kolumnie. Konieczne będzie zatem dokonanie optymalizacji warunków pracy przez dostosowanie tego parametru (lub spadku ciśnienia na wlocie kolumny) w zależności od tego, czy celem jest poprawa rozdzielania czy przyspieszenie analizy.

Poniższe warunki okazały się odpowiednie do rozdziału FAME (C₄–C₂₆). Przykładowe chromatogramy są zamieszczone w dodatku B:

Temperatura dozownika:	250 °C
Temperatura detektora:	250 °C
Temperatura pieca:	165 °C (8 min) do 210 °C przy 2 °C/min
Gaz nośny wodór:	ciśnienie na wlocie kolumny, 179 kPa
Przepływ łącznie:	154,0 ml/min;
Stosunek strumienia dzielonego:	1:100
Dozowana objętość:	1 µl

4.1.2. *Określanie rozdzielczości (zob. dodatek A)*

Obliczyć rozdzielczość R dwóch sąsiednich pików I i II, stosując wzór:

$$R = 2 \times ((d_{r(II)} - d_{r(I)}) / (\omega_{(I)} + \omega_{(II)})) \text{ lub } R = 2 \times ((t_{r(II)} - t_{r(I)}) / (\omega_{(I)} + \omega_{(II)})) \text{ (USP) (United States Pharmacopeia),}$$

lub

$$R = 1,18 \times ((t_{r(II)} - t_{r(I)}) / (\omega_{0,5(I)} + \omega_{0,5(II)})) \text{ (EP, BP, JP, DAB), (JP (Japanese Pharmacopeia), EP (Pharmacopée Européenne), BP (British Pharmacopeia))}$$

gdzie:

$d_{r(I)}$ to odległość retencji pików I;

$d_{r(II)}$ to odległość retencji pików II;

$t_{r(I)}$ to czas retencji pików I;

$t_{r(II)}$ to czas retencji pików II;

$\omega_{(I)}$ to szerokość pików I przy podstawie;

$\omega_{(II)}$ to szerokość pików II przy podstawie;

$\omega_{0,5}$ to szerokość pików danego związku w połowie wysokości pików;

Jeżeli $\omega_{(I)} \approx \omega_{(II)}$, należy obliczyć R, korzystając z następujących wzorów:

$$R = (d_{r(II)} - d_{r(I)}) / \omega = (d_{r(II)} - d_{r(I)}) / 4\sigma$$

gdzie:

σ to odchylenie standardowe (zob. dodatek A, rys. 1).

Jeżeli odległość dr pomiędzy dwoma pikami $d_{r(i)} - d_{r(j)}$ jest równa 4σ , wówczas współczynnik rozdzielczości $R = 1$.

Jeżeli dwa piki nie są całkowicie oddzielone, styczne do punktów przegięcia tych dwóch pików przecinają się w punkcie C. Aby oddzielić całkowicie te dwa piki, odległość między nimi musi być równa:

$$d_{r(i)} - d_{r(j)} = 6 \sigma \text{ skąd } R = 1,5 \text{ (zob. dodatek A, rys. 3).}$$

5. PREZENTACJA WYNIKÓW

5.1. Analiza jakościowa

Należy określić piki estrów metylowych próby z chromatogramu w dodatku B, rys. 1 w razie potrzeby przez interpolację lub przez porównanie z pikami mieszanin wzorcowych estrów metylowych (jak określono w pkt 2.3).

5.2. Analiza ilościowa

5.2.1. Oznaczanie składu

Należy obliczyć ułamek masowy w_i poszczególnych estrów metylowych kwasów tłuszczowych, wyrażony jako wartość procentowa masy estrów metylowych, w następujący sposób:

5.2.2. Metoda obliczania

5.2.2.1. Przypadek ogólny

Obliczyć zawartość danego składnika i , wyrażoną jako wartość procentową masy estrów metylowych, określając wartość procentową powierzchni odpowiedniego piku do sumy powierzchni wszystkich pików, stosując wzór:

$$w_i = (A_i / \Sigma A) \times 100$$

gdzie:

A_i to powierzchnia pod pikiem danego estru metylowego kwasu tłuszczowego i ;

ΣA to suma powierzchni pod wszystkimi pikami dla wszystkich estrów metylowych kwasów tłuszczowych.

Wyniki podaje się z dokładnością do dwóch miejsc po przecinku.

Uwaga 4: Dla tłuszczów i olejów, ułamek masowy estrów metylowych kwasów tłuszczowych jest równy ułamkowi masowemu w przypadku triglicerydów w gramach na 100 g. W przypadkach, gdy takie założenie jest niedopuszczalne, zob. pkt. 5.2.2.2.

5.2.2.2. Stosowanie współczynników korygujących

W niektórych przypadkach, na przykład w obecności kwasów tłuszczowych o liczbie atomów węgla mniejszej niż osiem lub kwasów z grupami drugorzędowymi, powierzchnie koryguje się odpowiednimi współczynnikami korygującymi (Fci). Współczynniki te ustala się dla każdego instrumentu. W tym celu należy używać odpowiednich materiałów wzorcowych z certyfikowaną zawartością kwasów tłuszczowych w odpowiednim zakresie.

Uwaga 5: Współczynniki korygujące nie są identyczne z teoretycznymi współczynnikami korygującymi FID, które podano w dodatku A, ponieważ obejmują one również wydajność systemu dozowania itp. Jednakże w przypadku większych różnic, należy sprawdzić działanie całego systemu.

Dla tej mieszaniny wzorcowej ułamek masowy FAME i oblicza się zgodnie ze wzorem:

$$w_i = (m_i / \Sigma m) \times 100$$

gdzie:

m_i to masa FAME i w mieszaninie wzorcowej;

Σm to suma mas różnych składników jako FAME w mieszaninie wzorcowej.

Na podstawie chromatogramu mieszaniny wzorcowej, należy obliczyć wartość procentową według powierzchni dla FAME i w następujący sposób:

$$w_i = (A_i/\Sigma A) \times 100$$

gdzie:

A_i to powierzchnia FAME i w mieszaninie wzorcowej;

ΣA to suma wszystkich powierzchni wszystkich FAME w mieszaninie wzorcowej.

Współczynnik korygujący F_c wynosi wówczas

$$F_c = (m_i \times \Sigma A)/(A_i \times \Sigma m)$$

Dla próbki ułamek masowy każdego FAME i wynosi:

$$w_i = (F_i \times A_i)/\Sigma (F_i \times A_i)$$

Wyniki podaje się z dokładnością do dwóch miejsc po przecinku.

Uwaga 6: Obliczona wartość odpowiada wartości procentowej masy każdego kwasu tłuszczowego obliczonej jako zawartość triglicerydów w 100 g tłuszczu.

5.2.2.3. Stosowanie wzorca wewnętrznego

W niektórych analizach (na przykład wówczas, gdy nie wszystkie kwasy tłuszczowe są oznaczane ilościowo i obok kwasów C16 i C18 występują kwasy C4 i C6, lub gdy zachodzi konieczność oznaczenia bezwzględnej ilości kwasów tłuszczowych w próbce), niezbędne jest zastosowanie wzorca wewnętrznego. Stosowane są często kwasy tłuszczowe z 5, 15 lub 17 atomami węgla. Należy wyznaczyć współczynnik korygujący wewnętrznego wzorca (jeżeli zachodzi taka potrzeba).

Procentowy udział masy składnika i wyrażony jako estry metylowe jest określany wzorem:

$$w_i = (m_{IS} \times F_i \times A_i)/(m \times F_{IS} \times A_{IS})$$

gdzie:

A_i to powierzchnia FAME i ;

A_{IS} to powierzchnia wzorca wewnętrznego;

F_i to współczynnik korygujący kwasu tłuszczowego i , wyrażony jako FAME;

F_{IS} to współczynnik korygujący wzorca wewnętrznego;

m to masa naważki, w miligramach;

m_{IS} to masa wzorca wewnętrznego, w miligramach;

Wyniki podaje się z dokładnością do dwóch miejsc po przecinku.

6. SPRAWOZDANIE Z BADANIA

Sprawozdanie z badania musi określać metody zastosowane do przygotowania estrów metylowych i do analizy za pomocą chromatografii gazowej. Musi także ujmować wszystkie dane operacyjne niesprecyzowane w niniejszej metodzie normatywnej lub uznane za fakultatywne, łącznie z danymi dotyczącymi incydentów, które mogły wpłynąć na wyniki.

W sprawozdaniu z badania podaje się wszystkie informacje konieczne do pełnej identyfikacji próbki.

7. PRECYZJA

7.1. Wyniki badania międzylaboratoryjnego

Szczegółowe dane odnośnie do badania międzylaboratoryjnego dotyczącego precyzji metody podano w załączniku C do normy IOC/T.20/Doc. No 33. Wartości uzyskane w tym badaniu międzylaboratoryjnym nie mogą mieć zastosowania do zakresów stężeń i matryc innych niż podane.

7.2. Powtarzalność

Różnica bezwzględna między dwoma niezależnymi wynikami oddzielnych badań uzyskanymi przy użyciu tej samej metody i materiału badanego, w tym samym laboratorium, przez tego samego operatora, na tym samym sprzęcie i w zbliżonym czasie, nie może być w więcej niż 5 % przypadków większa od »r« podanego w tabelach 1–14 w załączniku C do normy IOC/T.20/Doc. No 33.

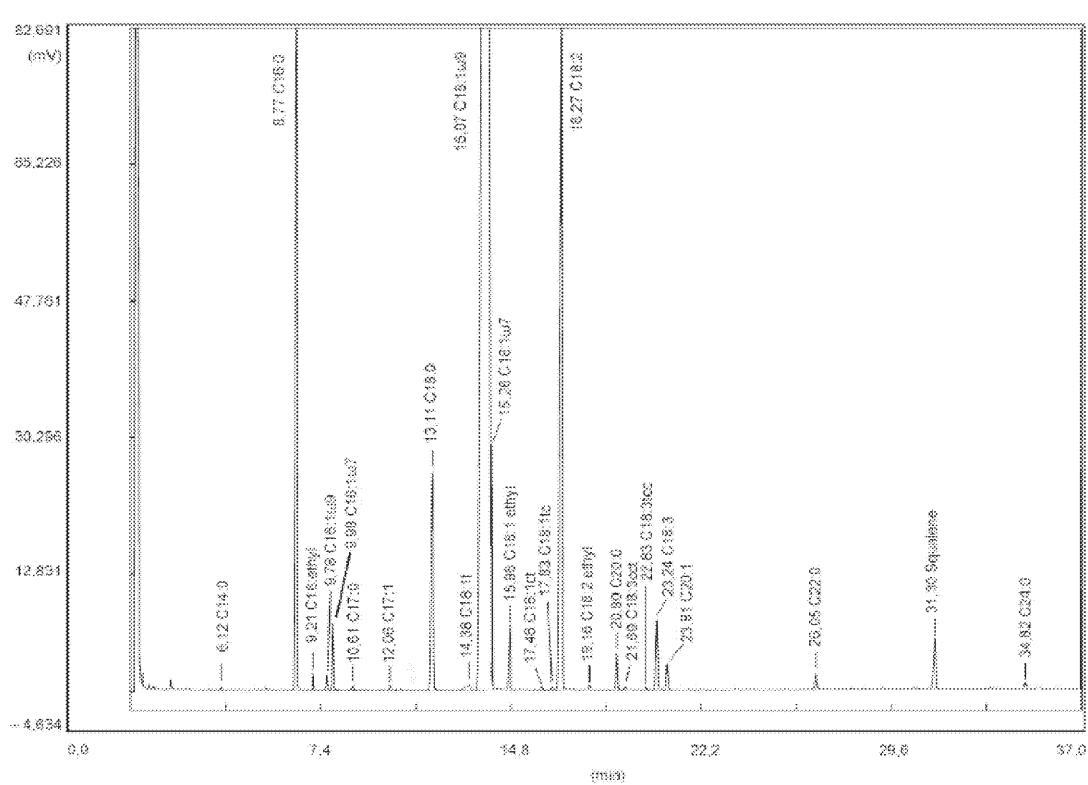
7.3. Odtwarzalność

Różnica bezwzględna między dwoma wynikami oddzielnych badań uzyskanymi przy użyciu tej samej metody i materiału badanego, w różnych laboratoriach, przez różnych operatorów korzystających z różnego sprzętu, nie może być w więcej niż 5 % przypadków większa od »R« podanego w tabelach 1–14 w załączniku C do normy IOC/T.20/Doc. No 33.

Dodatek B

Rysunek 1

Chromatogram gazowy otrzymany po metylacji na zimno z oliwy z wytloczyn z oliwek



Piki chromatograficzne odpowiadają estrom metylowym i etylowym, o ile nie wskazano inaczej.”

ZAŁĄCZNIK V

W załączniku XII do rozporządzenia (EWG) nr 2568/91 wprowadza się następujące zmiany:

1) pkt 1 otrzymuje brzmienie:

„1. CEL I ZAKRES

Celem międzynarodowej metody opisanej w niniejszym załączniku jest określenie procedury oceny organoleptycznych cech charakterystycznych oliwy z oliwek z pierwszego tłoczenia w rozumieniu pkt 1 w części VIII załącznika VII do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1308/2013 (*) oraz ustanowienie metody jej klasyfikacji w oparciu o wspomniane cechy charakterystyczne. Metoda ta zawiera również wskazania w zakresie nieobowiązkowego etykietowania.

Opisywana metoda ma zastosowanie jedynie do oliw z oliwek z pierwszego tłoczenia oraz do klasyfikacji lub etykietowania takich rodzajów oliwy, uwzględniając intensywność dostrzeżonych wad oraz owocowości, określaną przez grupę wybranych, przeszkolonych i nadzorowanych degustatorów tworzących zespół.

Normy IOC wymienione w niniejszym załączniku stosowane są w ich najnowszej dostępnej wersji.

(*) Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1308/2013 z dnia 17 grudnia 2013 r. ustanawiające wspólną organizację rynków produktów rolnych oraz uchylające rozporządzenia Rady (EWG) nr 922/72, (EWG) nr 234/79, (WE) nr 1037/2001 i (WE) nr 1234/2007 (Dz.U. L 347 z 20.12.2013, s. 671).”;

2) pkt 3.2, 3.3 i 3.4 otrzymują brzmienie:

„3.1.1. Pozostałe cechy negatywne

<i>Zapach gotowania lub spalania</i>	charakterystyczny zapach oliwy spowodowany nadmiernym lub długotrwałym podgrzewaniem podczas przetwarzania, w szczególności podczas termougniatania masy, jeżeli proces ten prowadzony jest w niewłaściwych warunkach termicznych.
<i>Zapach siana i drewna</i>	charakterystyczny zapach niektórych rodzajów oliwy wyprodukowanych z wysuszonych oliwek.
<i>Szorstkie wrażenie</i>	charakterystyczne wrażenie, jakie dają niektóre rodzaje starszej oliwy, których degustacja pozostawia w ustach uczucie gęstości i maziowatości.
<i>Zapach smaru</i>	zapach oliwy przypominający zapach oleju napędowego, smaru lub oleju mineralnego.
<i>Zapach wody pochodzenia roślinnego</i>	zapach, którego oliwa nabrała na skutek długotrwałego kontaktu z wodą pochodzenia roślinnego, która przeszła proces fermentacji.
<i>Smak solanki</i>	smak oliwy pozyskanej z oliwek zakonserwowanych w solance.
<i>Metaliczny</i>	smak lub zapach przypominający metal. Jest charakterystyczny dla oliwy, która miała długotrwały kontakt z powierzchniami metalicznymi w trakcie rozdrabniania, ugniatania, wyciskania lub przechowywania.
<i>Zapach ostnicy</i>	charakterystyczny zapach oliwy uzyskanej z oliwek wyciskanych przy pomocy nowych mat wykonanych z ostnicy. Zapach ten może różnić się w zależności od tego, czy maty te wykonane są ze świeżej, czy z suchej ostnicy.
<i>Zapach robaczywych owoców</i>	zapach oliwy uzyskanej z oliwek silnie zaatakowanych przez larwy muszki oliwnej (<i>Bactrocera oleae</i>).
<i>Smak ogórka</i>	smak oliwy powstający w wyniku zbyt długiego przechowywania w zamkniętym hermetycznie opakowaniu, w szczególności w pojemnikach z blachy cynowanej, przypisywany powstawaniu 2,6-nonadienu.

3.2. Cechy pozytywne

<i>Owocowy</i>	charakterystyczny dla oliwy ogół doznań węchowych, zależnych od odmiany oliwek, właściwych dla oliwy z oliwek uzyskanej ze zdrowych i świeżych oliwek, dojrzałych lub niedojrzałych. Doznania te odbierane są bezpośrednio lub poprzez jamę nosowo-gardłową.
<i>Gorzki</i>	charakterystyczny, podstawowy smak oliwy uzyskanej z oliwek zielonych lub będących na etapie dojrzewania. Wyczuwalny jest za pomocą brodawek okolonych układających się w tylnej części języka w kształt litery V.
<i>Ostry</i>	wrażenie szczypania charakterystyczne dla rodzajów oliwy produkowanych na początku roku posadzenia, w szczególności z oliwek jeszcze niedojrzałych. Wrażenie to daje się odczuć w całej jamie ustnej, a w szczególności w gardle.

3.3. Nieobowiązkowa terminologia stosowana do celów etykietowania

Na żądanie kierownik zespołu degustatorów może potwierdzić, że oceniane oliwy są zgodne z definicjami i przedziałami odpowiadającymi następującym określeniom i przymiotnikom, w zależności od stopnia intensywności i percepcji cech oliwy.

Cechy pozytywne (owocowy, gorzki i ostry): W odniesieniu do intensywności percepcji:

- określenie *intensywny* stosuje się, jeżeli mediana danej cechy jest wyższa niż 6,
- określenie *średni* stosuje się, jeżeli mediana danej cechy wynosi 3–6,
- określenie *lekki* stosuje się, jeżeli mediana danej cechy jest niższa niż 3.

Owocowy	charakterystyczny dla oliwy ogół doznań węchowych, zależnych od odmiany oliwek, właściwych dla oliwy z oliwek uzyskanej ze zdrowych i świeżych oliwek, niezdominowanej zapachem ani zielonych, ani dojrzałych oliwek. Doznania te odbierane są bezpośrednio lub poprzez jamę nosowo-gardłową.
Owoc niedojrzały	charakterystyczny dla oliwy ogół doznań węchowych przypominających zapach niedojrzałych owoców, zależnych od odmiany oliwek i właściwych dla oliwy z oliwek uzyskanej ze zielonych, zdrowych i świeżych oliwek. Doznania te odbierane są bezpośrednio lub poprzez jamę nosowo-gardłową.
Owoc dojrzały	charakterystyczny dla oliwy ogół doznań węchowych przypominających zapach dojrzałych owoców, zależnych od odmiany oliwek, właściwych dla oliwy z oliwek uzyskanej ze zdrowych i świeżych oliwek. Doznania te odbierane są bezpośrednio lub poprzez jamę nosowo-gardłową.
Oliwa zrównoważona	oliwa, która nie wykazuje braku równowagi, co oznacza wrażenie węchowo-smakowe i dotykowe, w którym mediana goryczy lub ostrego smaku jest o dwa punkty wyższa od mediany owocowego smaku/zapachu.
Oliwa łagodna	oliwa, w odniesieniu do której mediana goryczy i ostrego smaku jest niższa lub równa 2.”;

3) w pkt 7 dodaje się następujący punkt po pkt 7.1:

„7.1.1. Zastępca kierownika zespołu

Kierownik zespołu degustatorów może, w uzasadnionych przypadkach, być zastępowany przez zastępcę kierownika zespołu, który może zastępować go w obowiązkach związanych z przeprowadzaniem badań. Zastępca musi mieć wszystkie niezbędne umiejętności wymagane od kierownika zespołu.”;

4) pkt 7.2 otrzymuje brzmienie:

„7.2 Degustatorzy

Osoby pełniące funkcje degustatorów w ocenie organoleptycznych właściwości oliwy z oliwek wykonują swoje zadania dobrowolnie. Zaleca się zatem kandydatom składanie wniosków w formie pisemnej. Kandydaci są wybierani, szkoleni i nadzorowani przez kierownika zespołu, z uwzględnieniem ich umiejętności w zakresie rozróżniania podobnych próbek; należy pamiętać, że ich dokładność ulegnie poprawie dzięki szkoleniom.

Degustatorzy muszą zachowywać się jak prawdziwi obserwatorzy sensoryczni, odkładając na bok swoje osobiste gusty i przedstawiając jedynie wrażenia, jakie odbierają. W związku z tym muszą zawsze pracować w ciszy, w sposób nierestrykcyjny i bez pośpiechu, w pełni skupiając swoją sensoryczną uwagę na poddawanej degustacji próbce.

Każde badanie wymaga obecności 8–12 degustatorów, warto jest jednak mieć kilku dodatkowych degustatorów w rezerwie, w razie potrzeby zastąpienia nieobecnych degustatorów.”;

5) pkt 9.3 otrzymuje brzmienie:

„9.3. Wykorzystanie danych przez kierowników zespołu degustatorów

Kierownik zespołu zbiera formularze wypełnione przez każdego z degustatorów i dokonuje przeglądu stopni intensywności przypisanych do różnych cech. W przypadku stwierdzenia jakiegokolwiek nieprawidłowości kierownicy zwracają się do degustatora z prośbą o wprowadzanie poprawek w jego formularzu oceny oraz, w razie potrzeby, o powtórzenie badania.

Kierownik zespołu wprowadza dane z oceny dostarczone przez każdego z degustatorów do programu komputerowego, takiego jak program przewidziany w normie (IOC/T.20/Doc. No 15) w celu statystycznego obliczenia wyników analizy w oparciu o obliczenie median tych wyników. Zob. pkt 9.4 i dodatek do niniejszego załącznika. Wprowadzenie danych dotyczących jednej próbki odbywa się przy pomocy matrycy składającej się z 9 kolumn odpowiadających 9 cechom sensorycznym i n linijek odpowiadających liczbie n członków zespołu.

Jeżeli co najmniej 50 % członków zespołu odbierze daną cechę negatywną i odnotuje ją w rubryce »inne«, kierownik zespołu oblicza medianę takiej wady i otrzymuje odpowiednią klasyfikację.

Wartość odpornego współczynnika zmienności określającej klasyfikację (wada, której cechą jest największa intensywność, i owocowy charakter) musi być niższa lub równa 20 %.

W przeciwnym wypadku kierownik zespołu musi powtórzyć ocenę danej próbki, przeprowadzając drugą degustację.

W przypadku częstego występowania takiej sytuacji zaleca się, aby kierownik zespołu przeprowadził wśród degustatorów dodatkowe szczegółowe szkolenie (IOC/T.20/Doc. No 14, § 5) oraz aby skorzystał ze wskaźnika powtarzalności i wskaźnika odchyżeń w celu sprawdzenia efektywności zespołu (IOC/T.20/Doc. No 14, § 6).”;

6) pkt 9.4 otrzymuje brzmienie:

„9.4. **Klasyfikacja oliwy**

Oliwa klasyfikowana jest zgodnie z wymienionymi poniżej kategoriami, w zależności od mediany wad i mediany charakteru owocowego. Medianę wad określa się jako medianę wady odebranej z największą intensywnością. Mediana wad i mediana charakteru owocowego przedstawiane są z dokładnością do jednego miejsca po przecinku.

Klasyfikacji oliwy dokonuje się poprzez porównanie wartości mediany wad i mediany charakteru owocowego z przedstawionymi poniżej przedziałami odniesienia. Ponieważ przy ustalaniu poziomów przedziałów uwzględniono błąd metody, uznaje się, iż poziomy te są ostateczne. Pakiety oprogramowania umożliwiają przedstawienie klasyfikacji w formie tabeli danych statystycznych lub w formie wykresu.

- a) Oliwa z oliwek najwyższej jakości z pierwszego tłoczenia: mediana wad jest równa 0, a mediana charakteru owocowego jest wyższa niż 0;
- b) Oliwa z oliwek z pierwszego tłoczenia: mediana wad jest wyższa niż 0, ale nie przekracza 3,5, a mediana charakteru owocowego jest wyższa niż 0;
- c) Oliwa z oliwek typu lampante: mediana wad jest wyższa niż 3,5 lub mediana wad jest niższa lub równa 3,5, a mediana charakteru owocowego jest równa 0.

Uwaga 1: jeżeli mediana cech dotyczących goryczy lub ostrego smaku jest wyższa niż 5,0, kierownik zespołu zaznacza to na świadectwie badania oliwy z oliwek.

W przypadku analiz przeprowadzonych w ramach kontroli zgodności przeprowadza się jeden test. W przypadku sprzeczności ocen kierownik zespołu musi zorganizować przeprowadzenie dwóch ocen w różnych sesjach; medianę cech oblicza się na podstawie wszystkich danych z formularzy dla obu testów.”;

7) rysunek 1 zastępuje się następującym rysunkiem:

„Rysunek 1

FORMULARZ OCENY OLIWY Z OLIVEK Z PIERWSZEGO TŁOCZENIA

Intensywność percepcji wad

Zleżały/błotnisty osad

Stęchły/wilgotny/ziemisty

Winny/octowy

kwaśny/cierpki

Przemrożone oliwki

(wilgotne drewno)

Zjełczały

Pozostałe cechy negatywne:

Metaliczny Zapach siana Zapach robaczywych owoców Szorstkie wrażenie

Cecha:

Smak solanki Zapach gotowania lub spalenizny Zapach wody pochodzenia roślinnego

Zapach ostnicy Smak ogórka Zapach smaru

Intensywność percepcji cech pozytywnych

Owocowy

Niedojrzały

Dojrzały

Gorzki

Ostry

Nazwisko degustatora:

Kod degustatora:

Kod próbki:

Data:

Podpis:

Uwagi:”

ZAŁĄCZNIK VI

W załączniku XIX do rozporządzenia (EWG) nr 2568/91 wprowadza się następujące zmiany:

1) tytuł otrzymuje brzmienie:

„OZNACZANIE ZAWARTOŚCI ALKOHOLI ALIFATYCZNYCH I TRITERPENOWYCH METODĄ CHROMATOGRAFII GAZOWEJ NA KOLUMNACH KAPILARNYCH”;

2) pkt 1 otrzymuje brzmienie:

„1. PRZEDMIOT

Niniejszy załącznik opisuje metodę oznaczania zawartości alkoholi alifatycznych i triterpenowych w olejach i tłuszczach.”;

3) pkt 4.11 otrzymuje brzmienie:

„4.11. Roztwór wzorcowy stosowany w chromatografii cienkowarstwowej: Alkohole (C_{20} - C_{28}) w chloroformie o stężeniu 0,5 % lub frakcja alkoholi uzyskana zgodnie z pkt 5.2 z substancji niezmydlającej się w oliwie z wyciśniętych oliwek.”;

4) pkt 5.2.5 i 5.2.6 otrzymują brzmienie:

„5.2.5. Spryskać płytkę lekko i równomiernie roztworem 2',7'-dichlorofluoresceiny, gdy płytka jest obserwowana w świetle ultrafioletowym. Pasma alkoholi alifatycznych można zidentyfikować przez przyrównanie go do plamy uzyskanej z roztworu wzorcowego: zaznaczyć granicę pasma czarnym ołówkiem; obrysować pasmo alkoholi alifatycznych i pasmo bezpośrednio nad nim, które jest pasmem alkoholi terpenowych (uwaga 4).

Uwaga 4: Pasma alkoholi alifatycznych i alkoholi terpenowych muszą być zgrupowane w związku z ewentualną migracją alkoholi alifatycznych do pasma alkoholi triterpenowych. Przykład rozdzielania w TLC podano na rysunku 1 w dodatku.

5.2.6. Należy zdrapać żel krzemionkowy umieszczony na zaznaczonym obszarze za pomocą metalowej szpatułki. Usunięty i dokładnie rozdrobniony materiał przenieść do lejka do sączenia (3.7). Dodać 10 ml gorącego chloroformu, ostrożnie wymieszać za pomocą metalowej szpatułki i przefiltrować w próżni, zbierając filtrat do kolby stożkowej (3.8) połączonej z lejkiem do sączenia.

Żel krzemionkowy znajdujący się w kolbie należy przemyć trzykrotnie eterem etylowym (ok. 10 ml każdorazowo), a filtrat zebrać do tej samej kolby połączonej z lejkiem. Filtrat odparować do objętości 4–5 ml i pozostały roztwór przelać do uprzednio odważonej probówki o pojemności 10 ml (3.9); odparować do sucha przez lekkie podgrzewanie w słabym strumieniu azotu; pozostałość rozcieńczyć ponownie kilkoma kroplami acetonu, ponownie odparować do sucha, a następnie umieścić w piecu w temperaturze 105 °C na około 10 minut; wyjąć, schłodzić w eksykatorze i zważyć.

Pozostałość w próbówce składa się z frakcji alkoholowej.”;

5) pkt 5.4.4 otrzymuje brzmienie:

„5.4.4. Wyznaczanie pików.

Poszczególne piki wyznacza się w oparciu o czas retencji i porównanie ze standardową mieszaniną TMSE poddawaną analizie w tych samych warunkach.

Przykłady chromatogramu frakcji alkoholowej rafinowanej oliwy z oliwek przedstawiono na rysunkach 2 i 3 w dodatku.”;

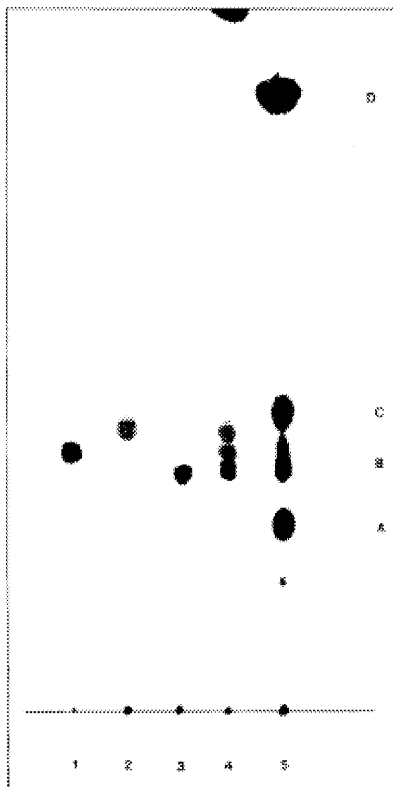
6) dodatek otrzymuje brzmienie:

„Dodatek

Przykład rozdziału w TLC i przykłady chromatogramów

Rysunek 1

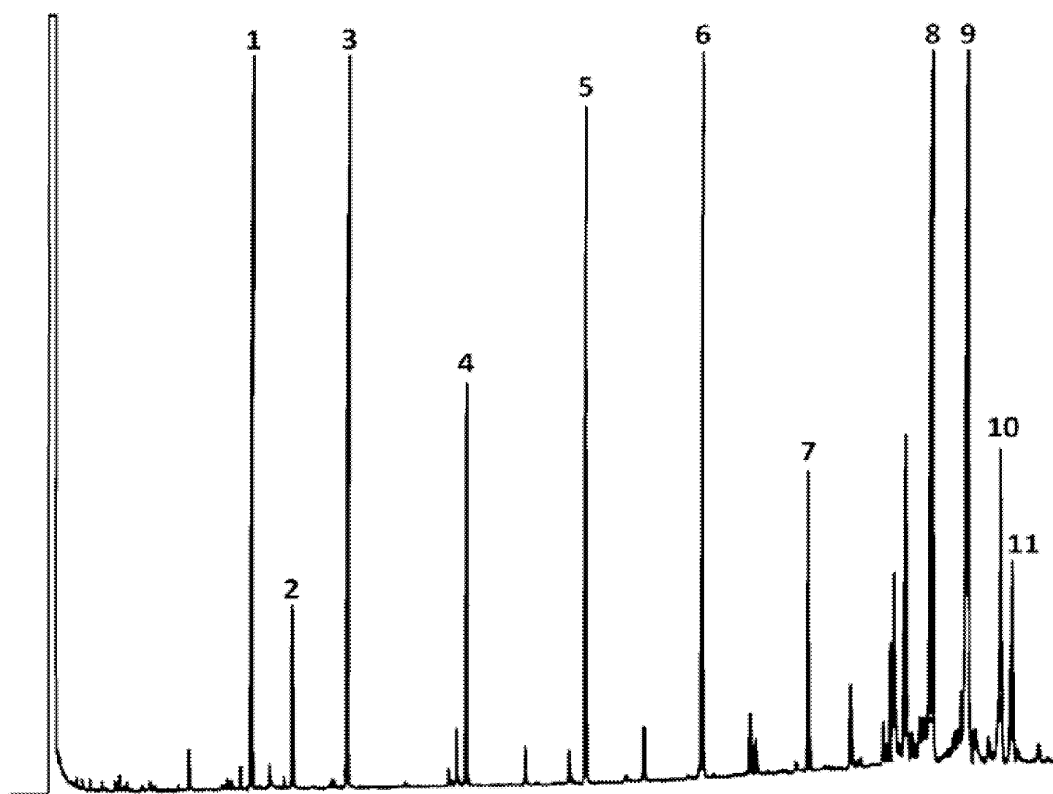
Płytkę do chromatografii cienkowarstwowej dla nieulegającej zmydleniu frakcji z oliwy z oliwek poddanej elucji heksanem/eterem etylowym (65/35)



- | | | | |
|---|--|---|-----------------------|
| 1 | Alkohol C ₂₆ | A | Sterole |
| 2 | Alkohol C ₃₀ | B | Alkohole alifatyczne |
| 3 | Alkohol C ₂₀ | C | Alkohole triterpenowe |
| 4 | Mieszanina alkoholi C ₂₀₋₂₂₋₂₆₋₃₀ | D | Skwalen |
| 5 | Najwyższej jakości z pierwszego tłoczenia nie-zmydlająca się | | |

Rysunek 2

Chromatogram frakcji alkoholowej rafinowanej oliwy z oliwek



1 = Fitol

2 = Geraniol geranylu

3 = Alkohol C₂₀ (IS)4 = Alkohol C₂₂5 = Alkohol C₂₄6 = Alkohol C₂₆7 = Alkohol C₂₈

8 = Cykloartenol

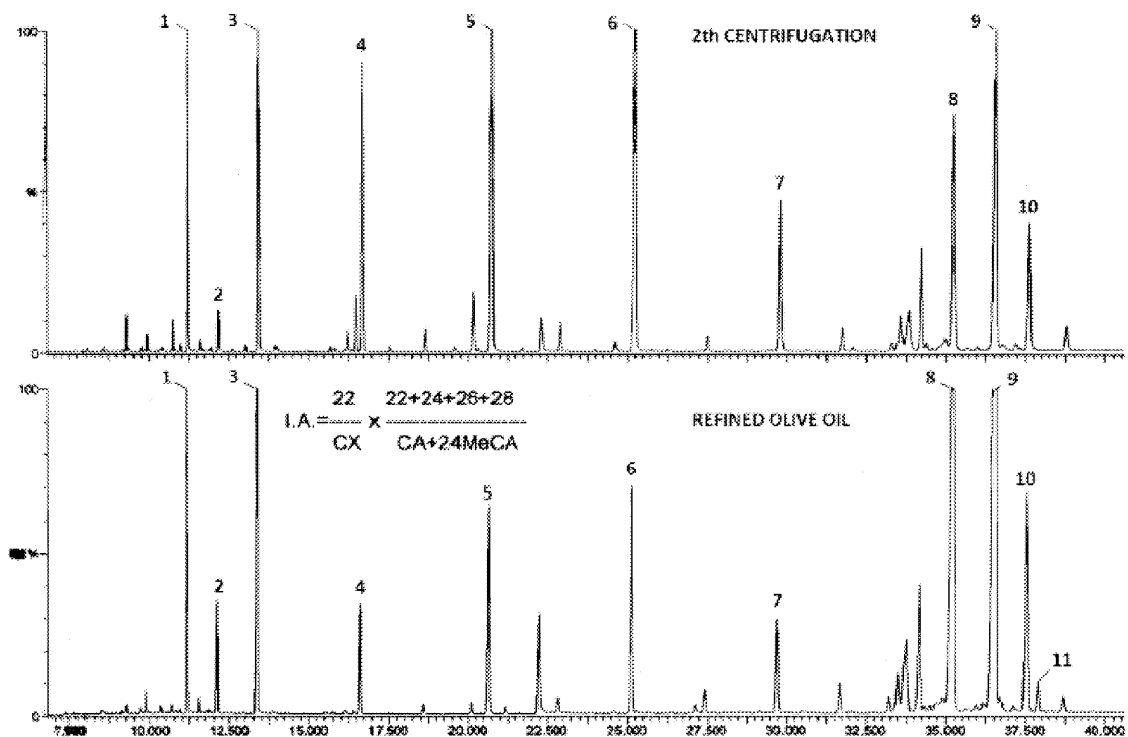
9 = 24-metyleno-cykloartenol

10 = Cytrostadienol

11 = Cyklobranol

Rysunek 3

Alkohole alifatyczne i triterpenowe w rafinowanej oliwie z oliwek i oliwie z oliwek z drugiego odwirowania oliwy z oliwek



1 = Fitol

2 = Geraniol geranylu (CX)

3 = Alkohol C₂₀4 = Alkohol C₂₂5 = Alkohol C₂₄6 = Alkohol C₂₆7 = Alkohol C₂₈

8 = Cykloartenol (CA)”.

9 = 24-metyleno-cykloartenol (24MeCA)

10 = Cytrostadienol

11 = Cyklobranol