II

(Neleģislatīvi akti)

REGULAS

KOMISIJAS REGULA (ES) Nr. 61/2011

(2011. gada 24. janvāris),

ar ko groza Regulu (EEK) Nr. 2568/91 par olīveļļas un olīvu izspaidu eļļas īpašībām un attiecīgajām analīzes metodēm

EIROPAS KOMISIJA,

ņemot vērā Līgumu par Eiropas Savienības darbību,

ņemot vērā Padomes 2007. gada 22. oktobra Regulu (EK) Nr. 1234/2007, ar ko izveido lauksaimniecības tirgu kopīgu organizāciju un paredz īpašus noteikumus dažiem lauksaimniecības produktiem (Vienotā TKO regula) ([1]), un jo īpaši tās 113. panta 1. punkta a) apakšpunktu un 121. panta h) punktu saistībā ar tās 4. pantu,

tā kā:

(1) Regulā (EEK) Nr. 2568/91 ([2]) definētas olīveļļas un olīvu izspaidu eļļas fizikālās un ķīmiskās īpašības, kā arī analīžu metodes šo īpašību noteikšanai. Šīs metodes un pēc tām nosakāmo īpašību robežvērtības jāaktualizē saskaņā ar ķīmijas nozares speciālistu atzinumu un ņemot vērā Olīveļļas starptautiskajā padomē veikto darbu.

(2) Jo īpaši tāpēc, ka ķīmijas speciālisti konstatējuši, ka taukskābju etilesteru un taukskābju metilesteru saturs izmantojams par neapstrādātas augstākā labuma olīveļļas raksturlielumu, ir lietderīgi iekļaut šo esteru satura robežvērtības un tā noteikšanas metodi.

(3) Lai dotu laiku pielāgojumu izdarīšanai šiem jaunajiem standartiem, to piemērošanas līdzekļu ieviešanai, un lai neradītu tirdzniecības traucējumus, ar šo regulu izdarītos grozījumus piemēro no 2011. gada 1. aprīļa. Šo pašu iemeslu dēļ jānosaka, ka olīveļļu un olīvu izspaidu eļļu, kas legāli ražota un marķēta Savienībā, vai Savienībā legāli importēta un laista brīvā apgrozībā pirms iepriekš minētās dienas, var laist tirgū, līdz tiek izlietoti visi tās krājumi.

(4) Tāpēc attiecīgi jāgroza Regula (EEK) Nr. 2568/91.

(5) Šajā regulā paredzētie pasākumi ir saskaņā ar Lauksaimniecības tirgu kopīgās organizācijas pārvaldības komitejas atzinumu,

IR PIEŅĒMUSI ŠO REGULU.

1. pants

Regulu (EEK) Nr. 2568/91 groza šādi.

1) Regulas 2. panta 1. punktā pievieno šādu ievilkumu:

"— vasku, taukskābju metilesteru un taukskābju etilesteru saturu nosaka ar XX pielikumā aprakstīto kapilārās kolonnas gāzu hromatogrāfijas metodi".

2) Pielikumu kopsavilkumā pievieno šādu ierakstu:

"XX pielikums: Vasku, taukskābju metilesteru un taukskābju etilesteru satura noteikšana ar kapilārās kolonnas gāzu hromatogrāfijas metodi".

3) Regulas I pielikumu aizstāj ar šīs regulas I pielikuma tekstu.

4) Pievieno XX pielikumu, kā noteikts šīs regulas II pielikumā.

2. pants

Produktus, kuri ir legāli ražoti un marķēti Savienībā, vai Savienībā likumīgi importēti un laisti brīvā apgrozībā pirms 2011. gada 1. aprīļa, var laist tirgū, līdz tiek izlietoti visi to krājumi.

([1]) OV L 299, 16.11.2007., 1. lpp.
([2]) OV L 248, 5.9.1991., 1. lpp.

3. pants

Šī regula stājas spēkā trešajā dienā pēc tās publicēšanas *Eiropas Savienības Oficiālajā Vēstnesī.*

To piemēro no 2011. gada 1. aprīļa.

Šī regula uzliek saistības kopumā un ir tieši piemērojama visās dalībvalstīs.

Briselē, 2011. gada 24. janvārī

Komisijas vārdā –
priekšsēdētājs
José Manuel BARROSO

I PIELIKUMS

"I PIELIKUMS

OLĪVEĻĻAS ĪPAŠĪBAS

Veids	Taukskābju metilesteri (*FAME*) un taukskābju etilesteri (*FAEE*)	Skābes (%) (*)	Peroksīda skaitlis mekv. O_2/kg (*)	Vaski mg/kg (**)	2-glicerilmonopalmitāts (%)	Stigmastadiēns mg/kg (1)	Starpība: ECN42 (*HPLC*) and ECN42 (teorētiski aprēķinātā)	K_{232} (*)	K_{270} (*)	Delta-K (*)	Organoleptiskais novērtējums Defektu mediāna (Md) (*)	Organoleptiskais novērtējums Augļainuma mediāna (Mf) (*)
1. Neapstrādāta augstākā labuma olīveļļa	Σ *FAME* + *FAEE* ≤ 75 mg/kg vai 75 mg/kg <Σ *FAME* + *FAEE* ≤ 150 mg/kg un (*FAEE*/*FAME*) ≤ 1,5	≤ 0,8	≤ 20	≤ 250	≤ 0,9 ja palmitīnskābes kop. saturs % ≤ 14 % ≤ 1,0 ja palmitīnskābes kop. saturs % > 14 %	≤ 0,10	≤ 0,2	≤ 2,50	≤ 0,22	≤ 0,01	Md = 0	Mf > 0
2. Neapstrādāta olīveļļa	—	≤ 2,0	≤ 20	≤ 250	≤ 0,9 ja palmitīnskābes kop. saturs % ≤ 14 % ≤ 1,0 ja palmitīnskābes kop. saturs % > 14 %	≤ 0,10	≤ 0,2	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,01	Md ≤ 3,5	Mf > 0
3. Spīdīgā olīveļļa	—	> 2,0	—	≤ 300 (3)	≤ 0,9 ja palmitīnskābes kop. saturs % ≤ 14 % ≤ 1,1 ja palmitīnskābes kop. saturs % > 14 %	≤ 0,50	≤ 0,3	—	—	—	Md > 3,5 (2)	—
4. Rafinēta olīveļļa	—	≤ 0,3	≤ 5	≤ 350	≤ 0,9 ja palmitīnskābes kop. saturs % ≤ 14 % ≤ 1,1 ja palmitīnskābes kop. saturs % > 14 %	—	≤ 0,3	—	≤ 1,10	≤ 0,16	—	—
5. Olīveļļa no rafinētas un neapstrādātām olīveļļām	—	≤ 1,0	≤ 15	≤ 350	≤ 0,9 ja palmitīnskābes kop. saturs % ≤ 14 % ≤ 1,0 ja palmitīnskābes kop. saturs % > 14 %	—	≤ 0,3	—	≤ 0,90	≤ 0,15	—	—
6. Neattīrīta olīvu izspaidu eļļa	—	—	—	> 350 (4)	≤ 1,4	—	≤ 0,6	—	—	—	—	—
7. Rafinēta olīvu izspaidu eļļa	—	≤ 0,3	≤ 5	> 350	≤ 1,4	—	≤ 0,5	—	≤ 2,00	≤ 0,20	—	—
8. Olīvu izspaidu eļļa	—	≤ 1,0	≤ 15	> 350	≤ 1,2	—	≤ 0,5	—	≤ 1,70	≤ 0,18	—	—

(1) Izomēru kopējais saturs, kurus var (vai nevar) atdalīt ar kapilāra kolonnu
(2) Vai ja defektu mediāna ir mazāka vai vienāda ar 3,5 un augļainuma mediāna ir vienāda ar 0.
(3) Eļļas ar vasku saturu no 300 mg/kg līdz 350 mg/kg uzskata par lampantes olīveļļu, ja alifātisko spirtu kopējais saturs ir mazāks vai vienāds ar 350 mg/kg, vai eritrodiola un uvaola kopējais saturs ir mazāks vai vienāds ar 3,5%.
(4) Eļļas ar vasku saturu no 300 mg/kg līdz 350 mg/kg uzskata par nerafinētu olīvu izspaidu eļļu, ja alifātisko spirtu kopējais saturs ir lielāks par 350 mg/kg un eritrodiola un uvaola kopējais saturs ir lielāks par 3,5%.

Veids	Skābju saturs ([1])						Kopā transoleīnskābes izomēri (%)	Kopā translinolskābes + translinolēnskābes izomēri (%)	Sterīna sastāvs						Kopā sterīni (mg/kg)	Eritrodiols un uvaols (%) (**)
	Miristīnskābe (%)	Linolēnskābe (%)	Arahīnskābe (%)	Eikozānskābe (%)	Behenskābe (%)	Lignocerīnskābe (%)			Holesterīns (%)	Brasikasterīns (%)	Kampesterīns (%)	Stigmasterīns (%)	Betasitosterīns (%) ([2])	Delta-7-stigmastenols (%)		
1. Neapstrādāta augstākā labuma olīveļļa	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
2. Neapstrādāta olīveļļa	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
3. Spīdīgā olīveļļa	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,10	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5 ([3])
4. Rafinēta olīveļļa	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
5. Olīveļļas maisījums	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
6. Neattīrīta olīvu izspaidu eļļa	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,20	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 2 500	> 4,5 ([4])
7. Rafinēta olīvu izspaidu eļļa	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 800	> 4,5
8. Olīvu izspaidu eļļa	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 600	> 4,5

([1]) Pārējo tauksābju saturs (%) - palmitīnskābe: 7,5 - 20,0; palmitoleīnskābe: 0,3 - 3,5; heptadekanoinskābe: ≤ 0,3; heptadecēnskābe: ≤ 0,3; stearīnskābe: 0,5 - 5,0; oleīnskābe: 55,0 - 83,0; linolēnskābe: 3,5 - 21,0

([2]) Kopā: Delta-5,23-stigmastadienols+klerosterīns+beta-sitosterīns+sitostanols+delta-5-avenasterīns+delta-5,24-stigmastadienols.

([3]) Eļļas ar vasku saturu no 300 mg/kg līdz 350 mg/kg tiek uzskatītas par spīdīgajām olīveļļām, ja alifātisko spirtu kopējais saturs ir mazāks vai vienāds ar 350 mg/kg, vai ja eritrodiola un uvaola saturs ir mazāks vai vienāds ar 3,5%.

([4]) Eļļas ar vasku satur no 300 mg/kg līdz 350 mg/kg tiek uzskatītas par neattīrītām olīvu izspaidu eļļām, ja alifātisko spirtu kopējais saturs ir lielāks par 350 mg/kg, un eritrodiola un uvaola saturs ir lielāks par 3,5%.

Piezīmes:

a) Analīžu rezultāti jāuzrāda ar tādu pašu decimālciparu skaitu aiz komata kā attiecīgajai raksturlieluma skaitliskajai vērtībai.
Pēdējais cipars jānoapaļo uz augšu, ja aiz tā nākamais cipars, kas jāatmet, ir lielāks par 4.

b) ja kaut viens raksturlielums neatbilst tam norādītajai vērtībai, šīs regulas vajadzībām var mainīt eļļas veidu vai to deklarēt par neattīrītu.

c) Ja raksturlielums ir atzīmēts ar zvaigznīti (*), attiecībā uz eļļas kvalitāti tas nozīmē ka:
— spīdīgajai olīveļļai ir iespējams, ka abas attiecīgās robežvērtības vienlaicīgi atšķiras no noteiktajām;
— neapstrādātajām olīveļļām ja vismaz viena no šim robežvērtībām atšķiras no noteiktajām vērtībām, oils, jāmaina eļļas veids, lai gan tā jorojām jāklasificē kā viens no neapstrādātas olīveļļas veidiem

d) Ja raksturlielums atzīmēts ar divām zvaigznītēm (**), attiecībā uz eļļas kvalitāti tas nozīmē, ka visu veidu olīvu izspaidu eļļām ir iespējams, ka vienlaicīgi abas robežvērtības no noteiktajām var atšķirties vienlaicīgi."

II PIELIKUMS

"XX PIELIKUMS

Vasku, taukskābju metilesteru un taukskābju etilesteru satura noteikšana ar kapilārās kolonnas gāzu hromatogrāfijas metodi

1. MĒRĶIS

Pēc šīs metodes nosaka vasku, taukskābju metilesteru un taukskābju etilesteru saturu olīveļļās. Vaskus un alkilesterus sadala pēc oglekļa atomu skaita to molekulās. Metodi ieteicams izmantot olīveļļas atšķiršanai no olīvu izspaidu eļļas, kā arī par neapstrādātas augstākā labuma olīveļļas kvalitātes parametru, kas dod iespējas konstatēt neapstrādātas augstākā labuma olīveļļas viltojumus, kuros tā ir maisījumos ar zemākas kvalitātes neapstrādātu olīveļļu, spīdīgās olīveļļas vai dearomatizētām eļļām.

2. PRINCIPS

Eļļai pievieno atbilstošu iekšējo standartu, pēc tam hidrēta silikagela kolonnā hromatogrāfiski sadala frakcijās. Iegūst frakciju, kas testēšanas apstākļos eluējas vispirms (kura ir mazāk polāra par triglicerīdiem), un to tieši analizē, izmantojot kapilārās kolonnas gāzu hromatogrāfiju.

3. APRĪKOJUMS

3.1. **Erlenmeijera kolba, 25 ml**.

3.2. **Stikla kolonna** šķidruma hromatogrāfijai, iekšējais diametrs 15 mm, augstums 30 līdz 40 cm, ar krānu.

3.3. **Gāzu hromatogrāfs**, kas piemērots darbam ar kapilāro kolonnu, ir aprīkots ar sistēmu parauga tiešai ievadīšanai kolonnā, un kuram ir šādas sastāvdaļas.

3.3.1. **Termostatējama krāsns ar temperatūras programmēšanu.**

3.3.2. **Aukstais inžektors** parauga tiešai ievadīšanai kolonnā.

3.3.3. **Liesmas jonizācijas detektors un pārveidotājs-pastiprinātājs.**

3.3.4. **Reģistrējošā iekārta-integrators** (1. piezīme) darbam ar pārveidotāju/pastiprinātāju (3.3.3.) ar atbildes reaģēšanas laiku ne lielāku par 1 s.

1. piezīme. Ja gāzu hromatogrāfijas datus ievada ar *PC*, var izmantot arī datorizētas sistēmas.

3.3.5. **Kapilārā kolonna, kausēta kvarca (vasku, metilesteru un etilesteru analīzei)**, garums 8-12 m, iekšējais diametrs 0,25-0,32 mm, ar 0,10-0,30 μm šķidrās fāzes (2. piezīme) slāņa pārklājumu iekšpusē.

2. piezīme. Šim nolūkam piemērotākās gatavas nopērkamās šķidrās fāzes ir SE52, SE54, u.c.

3.4. **Mikrošļirce**, 10 μl, ar rūdītu adatu, parauga tiešai ievadīšanai kolonnā.

3.5. **Elektriskais kratītājs.**

3.6. **Rotācijas iztvaicētājs.**

3.7. **Mufeļkrāsns.**

3.8. **Analītiskie svari** ar svēršanas precizitāti ± 0,1 mg.

3.9. Laboratorijas stikla trauki.

4. REAKTĪVI

4.1. **Silikagels**, daļiņu izmērs 60-200 μm. Silikagelu uz vismaz 4 h karsē mufeļkrāsnī pie 500°C. Atdzesē un pievieno 2 % ūdens no silikagela daudzuma. Homogenizācijai labi sakrata un vismaz 12 h pirms lietošanas ievieto eksikatorā.

4.2. **n-heksāns**, hromatogrāfijai vai ķīmiski tīrs (tīrība jāpārbauda).

UZMANĪBU – Tvaiki var uzliesmot. Turēt pietiekamā attālumā no siltuma un dzirksteļu avotiem un atklātas uguns. Jāraugās, lai tā pudeles vienmēr būtu cieši noslēgtas. Lietošanas laikā jānodrošina pienācīga ventilācija. Jānovērš tvaiku veidošanās un jānovērš iespējamie ugunsgrēka riski, ko rada, piemēram, sildītāji vai elektroaparāti, kas nav ražoti no nedegamiem materiāliem. Ieelpojot ļoti kaitīgs, var radīt nervu šūnu bojājumus. Neieelpot tvaikus. Ja vajadzīgs, lietot piemērotus elpošanas aparātus. Nepieļaut nokļūšanu acīs vai saskari ar bojātu ādu

4.3. **Etilēteris, hromatogrāfijai.**

UZMANĪBU – Ļoti viegli uzliesmojošs un vidēji toksisks. Kairina ādu. Ieelpojot ļoti kaitīgs. Var radīt acu bojājumus. Iedarbība var būt aizkavēta. Var veidot sprādzienbīstamus peroksīdus. Tvaiki var uzliesmot. Turēt pietiekamā attālumā no siltuma un dzirksteļu avotiem un atklātas uguns. Jāraugās, lai tā pudeles vienmēr būtu cieši noslēgtas. Lietošanas laikā jānodrošina pienācīga ventilācija. Jānovērš tvaiku veidošanās un jānovērš iespējamie ugunsgrēka riski, ko rada, piemēram, sildītāji vai elektroaparāti, kas nav ražoti no nedegamiem materiāliem. Neiztvaicēt sausu vai gandrīz sausu. Pievienojot ūdeni vai piemērotu reducētāju, var samazināt peroksīdu veidošanos. Nedzert. Neieelpot tvaikus. Novērst ilgstošu vai atkārtotu saskari ar ādu.

4.4. **n-heptāns**, hromatogrāfijai, vai **izooktāns**.

UZMANĪBU – Uzliesmojošs. Ieelpojot ļoti kaitīgs. Turēt pietiekamā attālumā no siltuma un dzirksteļu avotiem un atklātas uguns. Jāraugās, lai tā pudeles vienmēr būtu cieši noslēgtas. Lietošanas laikā jānodrošina pienācīga ventilācija. Neieelpot tvaikus. Novērst ilgstošu vai atkārtotu saskari ar ādu.

4.5. **Laurilarahidāta standartšķīdums** (3. iezīme) heptānā, 0,05% (m/V) (iekšējais standarts vasku noteikšanai).

3. piezīme. Var lietot arī palmitilpalmitātu, miristilstearātu vai arahidillaureātu.

4.6. Metilheptadekanoāta standartšķīdums heptānā, 0,02% (m/V) (iekšējais standarts metilesteru un etilesteru noteikšanai).

4.7. **Sudānas 1 krāsviela (1-fenil-azo-2-naftols).**

4.8. **Nesējgāze: ūdeņradis vai hēlijs, tīrs, gāzu hromatogrāfijai.**

BRĪDINĀJUMS

Ūdeņradis. Ļoti viegli uzliesmojošs, zem spiediena. Turēt pietiekamā attālumā no siltuma un dzirksteļu avotiem un atklātas uguns, sildītājiem vai elektroaparātiem, kas nav ražoti no nedegamiem materiāliem. Nelietojot balona vārsts jānoslēdz. Obligāti jālieto reduktors spiediena samazināšanai. Pirms balona vārsta atvēršanas jāatbrīvo reduktora atspere. Atverot vārstu, nestāvēt pret izeju no balona. Lietošanas laikā jānodrošina pienācīga ventilācija. Nepārvietot ūdeņradi no viena balona uz citu. Nemaisīt gāzi balonā. Raudzīties, lai baloni nevarētu apgāzties. Neturēt saules staros un pie siltuma avotiem. Glabāt nekorozīvā vidē. Nelietot bojātus vai nemarķētus balonus.

Hēlijs. Saspiesta gāze zem augsta spiediena. Samazina elpošanai pieejamā skābekļa daudzumu. Turēt balonu noslēgtu. Lietošanas laikā jānodrošina pienācīga ventilācija. Neieiet glabāšanas zonās, ja tajās nav pietiekamas ventilācijas. Obligāti jālieto reduktors spiediena samazināšanai. Pirms balona vārsta atvēršanas jāatbrīvo reduktora atspere. Nepārvietot gāzi no viena balona uz citu. Raudzīties, lai baloni nevarētu apgāzties. Atverot vārstu, nestāvēt pret izeju no balona. Neturēt saules staros un pie siltuma avotiem. Glabāt nekorozīvā vidē. Nelietot bojātus vai nemarķētus balonus. Neieelpot. Lietot tikai tehniskām vajadzībām.

4.9. **Palīggāzes**:

— ūdeņradis, tīrs, gāzu hromatogrāfijai.

— gaiss, tīrs, gāzu hromatogrāfijai.

BRĪDINĀJUMS

Gaiss. Saspiesta gāze zem augsta spiediena. Degamu vielu klātbūtnē lietot uzmanīgi, organisko savienojumu lielākas daļas pašaizdegšanās temperatūra gaisā ievērojami pazeminās pie augsta spiediena. Nelietojot balona vārsts jānoslēdz. Obligāti jālieto reduktors spiediena samazināšanai. Pirms balona vārsta atvēršanas jāatbrīvo reduktora atspere. Atverot vārstu, nestāvēt pret izeju no balona. Nepārvietot gāzi no viena balona uz citu. Nemaisīt gāzi balonā. Raudzīties, lai baloni nevarētu apgāzties. Neturēt saules staros un pie siltuma avotiem. Glabāt nekorozīvā vidē. Nelietot bojātus vai nemarķētus balonus. Gaiss ir paredzēts tehniskām vajadzībām, to nedrīkst lietot ieelpošanai vai elpošanas aparātos.

5. PROCEDŪRA

5.1. **Hromatogrāfijas kolonnas sagatavošana**

Suspendē 15 g silikagela (4.1.) n-heksānā (4.2.) un pārnes kolonnā (3.2.). Nostādina. Lai hromatogrāfijas slānis būtu iespējami viendabīgāks, nostādināšanas beigās izmanto elektrisko kratītāju. Eluē 30 ml n-heksāna attīrīšanai no piemaisījumiem. Uz analītiskajiem svariem (3.8.) 25 ml tilpuma kolbā (3.1.) ņem apmēram 500 mg analizējamā parauga iesvaru un atkarībā no sagaidāmā vasku satura pievieno vajadzīgo daudzumu iekšējā standarta, t.i., analizējot olīveļļu vai olīvu izspaidu eļļu, pievieno attiecīgi 0,1 mg vai 0,25-0,50 mg laurilarahidāta (4.5.), bet, analizējot olīveļļas, 0,05 mg metilheptadekanoāta (4.6.).

Sagatavoto paraugu ar divām 2 ml n-heksāna (4.2.) porcijām pārnes hromatogrāfijas kolonnā.

Uztur 1 mm šķīdinātāja līmeni virs absorbenta slāņa. Ar plūsmas ātrumu apmēram 15 pilieni 10 sekundēs eluē n-heksāna/etilētera (99:1) maisījumu un savāc 220 ml. (Šī **frakcija satur metilesterus, etilesterus un vaskus**). (*4. piezīme*) (*5. piezīme*).

4. piezīme. n-heksāna/etilētera maisījums (99:1) jāsagatavo tajā pašā dienā.

5. piezīme. Vasku eluēšanas kontrolei parauga šķīdumam var pievienot 100 µl Sudānas I krāsvielas 1 % šķīdumu eluēšanas maisījumā.

Krāsvielas aiztures laiks ir starp vasku un triglicerīdu aiztures laiku. Tāpēc eluēšanu var pārtraukt pēc tam, kad krāsviela sasniedz hromatogrāfijas kolonnas apakšu, jo tad visi vaski ir eluēti.

No iegūtajām frakcijām rotācijas ietvaicētājā iztvaicē gandrīz visu šķīdinātāja daudzumu. Pēdējos 2 ml iztvaicē ar vāju slāpekļa plūsmu. Savāc metilesterus un etilesterus saturošo frakciju, ko izšķīdina 2-4 ml n-heptāna vai izooktāna.

5.2. **Gāzu hromatogrāfijas analīze**

5.2.1. *Sagatavošanas procedūra*

Kolonnu uzstāda gāzu hromatogrāfam (3.3.), pievienojot ieeju kolonnā virskolonnas sistēmai, bet kolonnas izeju detektoram. Pārbauda gāzu hromatogrāfa darbību (gāzes cilpas, detektoru, pašrakstītāju u.c.).

Kolonnu lietojot pirmo reizi, to ieteicams kondicionēt. Kolonnai laiž cauri nelielu gāzes plūsmu, un tad ieslēdz gāzu hromatogrāfu. Apmēram 4 h laikā pakāpeniski paaugstina temperatūru līdz 350°C.

Šādu temperatūru uztur vismaz 2 h, tad noregulē aparatūru darba režīmā (regulē gāzes plūsmu, iededz liesmu, pievieno elektronisko pašrakstītāju (3.3.4.), noregulē kolonnas krāsns temperatūru, noregulē detektoru u.c.). Reģistrē signālu ar jutību, kas ir vismaz divas reizes lielāka par analīzei nepieciešamo. Bāzes līnijai jābūt taisnai, bez jebkādiem signāliem, un tai nedrīkst būt dreifa.

Negatīvs taisnlīnijas dreifs liecina, ka kolonas savienojumi nav pareizi, savukārt pozitīvs dreifs norāda uz to, ka kolonna nav pienācīgi kondicionēta.

5.2.2. *Darba režīma izraudzīšanās vasku, metilesteru un etilesteru noteikšanai (6. piezīme)*

Parasti izmanto šādu darba režīmu:

— kolonnas temperatūra:

20°C/min 5°C/min

80 °C sākumā (1') ——— 140 °C ——— 335 °C (20);

— detektora temperatūra 350°C;

— ievadītais daudzums 1 µl n-heptāna šķīduma (2–4 ml);

— nesējgāze hēlijs vai ūdeņradis ar attiecīgajai gāzei optimālo lineāro ātrumu (sk. A papildinājumā);

— instrumenta jutība: piemērota iepriekš minētajiem apstākļiem.

6. piezīme. Augstas beigu temperatūras dēļ pieļaujams pozitīvs dreifs, taču tas nedrīkst būt lielāks par 10 % no skalas pilnas vērtības.

Lai sadalītu visus vaskus, taukskābju metilesterus un etilesterus, panāktu attiecīgo signālu pietiekamu atdalīšanu (sk. 2., 3. un 4. att.) un iekšējā standarta laurilarahidāta aiztures laiku 18 ± 3 min, atbilstoši kolonnas un gāzu hromatogrāfa raksturlielumiem šos apstākļus var mainīt. Pašam reprezentatīvākajam vasku signālam jābūt lielākam par 60 % no skalas pilnas vērtības, bet metilesteru un etilesteru noteikšanai par iekšējo standartu izmantojamā metilheptadekanoāta signālam jāsasniedz skalas pilna vērtība.

Hromatogrāfiskā signāla integrēšanas parametrus nosaka tā, lai iegūtu attiecīgo signālu laukuma pareizu novērtējumu.

5.3. **Analīzes veikšana**

Ar 10 µl tilpuma mikrošļirci ņem 10 µl šķīduma, velkot tās virzuli atpakaļ, līdz šļirces adata ir tukša. Adatu ievada inžekcijas sistēmā un pēc 1–2 s šļirci ātri iztukšo. Pēc apmēram 5 s adatu uzmanīgi izvelk.

Reģistrāciju atkarībā no analizējamās frakcijas veic tik ilgi, līdz pilnībā eluējas vaski vai stigmastadiēni.

Bāzes līnijai noteikti jāatbilst nepieciešamajiem nosacījumiem.

5.4. **Signālu identificēšana**

Signālus identificē pēc izdalīšanas laika, tos salīdzinot ar tādos pašos apstākļos analizētu vasku maisījumu izdalīšanas laikiem, kas ir zināmi. Olīveļļu galveno taukskābju (palmitīnskābes un oleīnskābes) alkilesterus identificē no metilesteru un etilesteru maisījumiem.

1. att. parādīta neapstrādātas augstākā labuma olīveļļas vasku hromatogramma. 2. un 3. att. parādītas hromatogrammas divām neapstrādātām augstākā labuma olīveļļām no mazumtirdzniecības, no tām viena satur metilesterus un etilesterus, bet otra ir bez tiem. 4. att. parādītas hromatogrammas neapstrādātai augstākā labuma olīveļļai un tai pašai eļļai ar 20 % dearomatizētas eļļas piedevu.

5.5. **Vasku kvantitatīvā analīze**

Ar integratoru nosaka to signālu laukumu, kas atbilst iekšējam standartam laurilarahidātam un C_{40} līdz C_{46} alifātiskajiem esteriem.

Vasku kopējo saturu mg/kg eļļas nosaka, saskaitot visu atsevišķo vasku saturu:

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

kur

A_x = attiecīgajam esterim atbilstošā signāla laukums, skaitītāja vienībās,

A_s = iekšējam standartam laurilarahidātam atbilstošā signāla laukums, skaitītāja vienībās,

m_s = pievienotā iekšējā standarta laurilarahidāta masa miligramos,

m = noteikšanai ņemtā parauga masa gramos.

5.5.1. *Metilesteru un etilesteru kvantitatīvā analīze*

Ar integratoru nosaka to signālu laukumu, kas atbilst iekšējam standartam metilheptadekanoātam, C_{16} un C_{18} taukskābju metilesteriem C_{16} un C_{18} taukskābju etilesteriem.

Katra alkilestera saturu mg/kg eļļas nosaka šādi:

$$\text{Esteris, mg/kg} = \frac{A_x \cdot m_{s.} \cdot 1\,000}{A_s \cdot m}$$

kur

A_x = attiecīgajam C_{16} un C_{18} esterim atbilstošā signāla laukums, skaitītāja vienībās,

A_s = iekšējam standartam metilheptadekanoātam atbilstošā signāla laukums, skaitītāja vienībās,

m_s = pievienotā iekšējā standarta metilheptadekanoāta masa miligramos,

m = noteikšanai ņemtā parauga masa gramos.

6. REZULTĀTU IZTEIKŠANA

Norāda dažādu C_{40} līdz C_{46} vasku (*7. piezīme*) satura summu mg/kg eļļas.

Norāda atsevišķi C_{16} līdz C_{18} metilesteru un etilesteru satura summu un to kopējo summu.

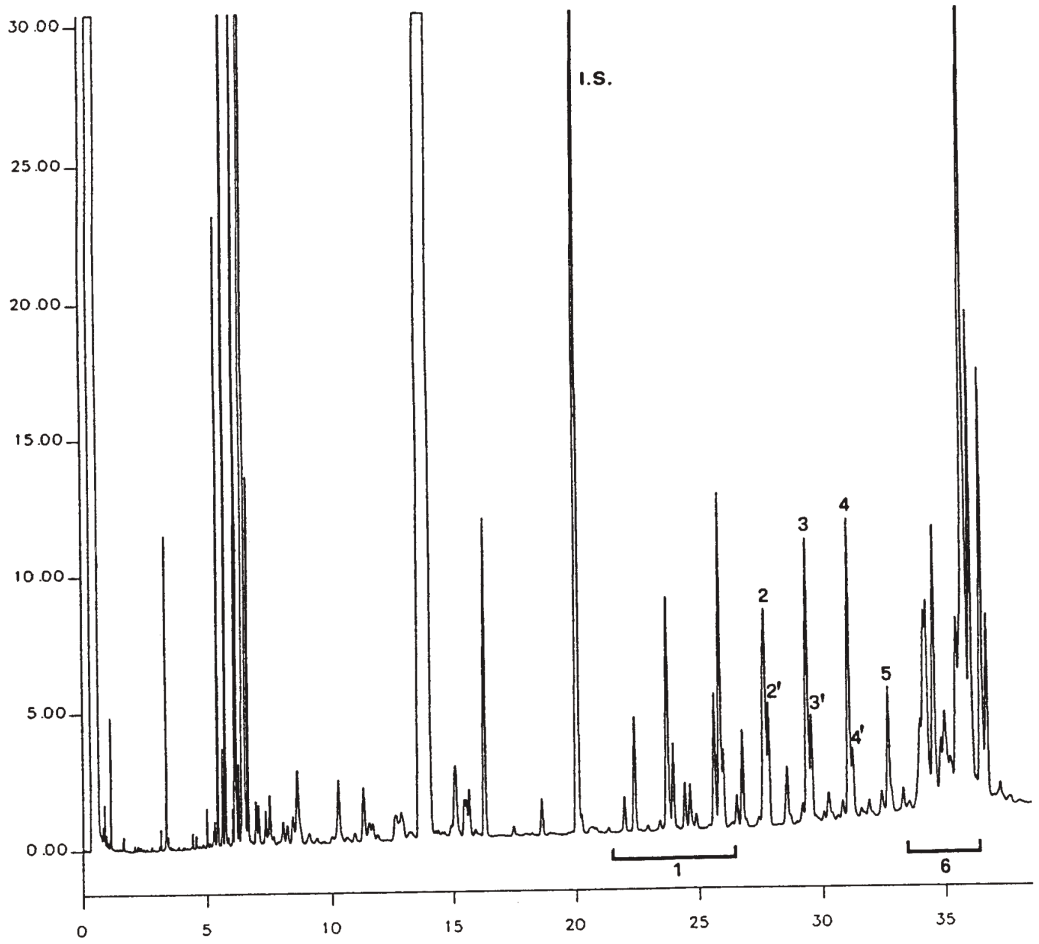
Rezultātus izsaka, noapaļojot līdz vienam mg/kg.

7. piezīme. Kvantitatīvai noteikšanai izmanto signālus, kas attiecas uz C_{40}–C_{46} esteriem ar oglekļa atomu pāra skaitli molekulā pēc olīveļļā esošo vasku hromatogrammas piemēra pievienotajā attēlā. Identifikācijas nolūkiem, ja C_{46} esteris ir sašķelts, ieteicams analizēt olīvu izspaidu eļļas vasku frakciju, kur C_{46} signāls ir atšķirams, jo ir lielākais.

Norāda metilesteru un etilesteru satura attiecību.

1. attēls

Olīveļļas vasku frakcijas gāzu hromatogrammas piemērs (*)



Taukskābju metilesteru un etilesteru signāli ar aiztures laiku no 5 līdz 8 min

Paskaidrojumi:

I.S. = Laurilarahidāts

1 = Diterpēnesteri

2+2′ = C_{40} esteri

3+3′ = C_{42} esteri

4+4′ = C_{44} esteri

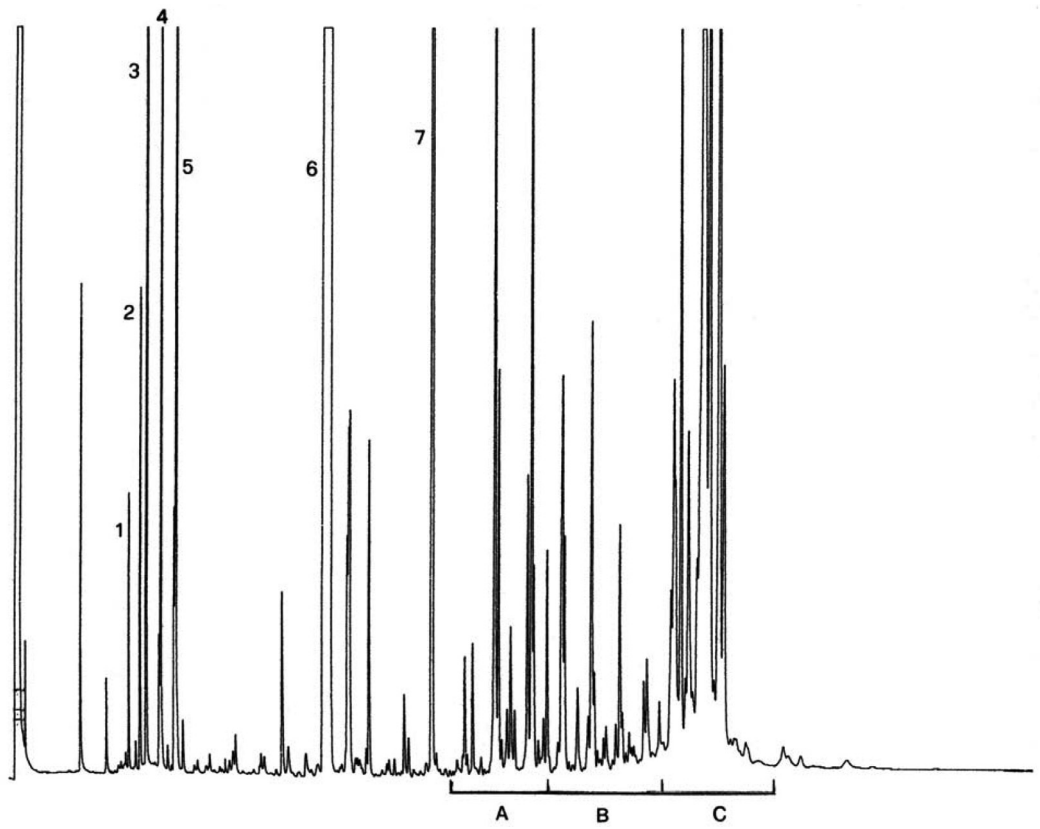
5 = C_{46} esteri

6 = Sterīna esteri un triterpēnspirti

(*) Pēc sterīna esteru eluēšanas hromatogrammā nedrīkst būt nekādu būtisku signālu (triglicerīdi).

2. attēls

Neapstrādātas olīveļļas metilesteri, etilesteri un vaski



Paskaidrojumi:

1 – Metil- C_{16}

2 – Etil- C_{16}

3 – Metilheptadekanoāts,

4 – Metil- C_{18}

5 – Etil- C_{18}

6 – Skvalēns

7 – Laurilarahidāts, *I.S.*

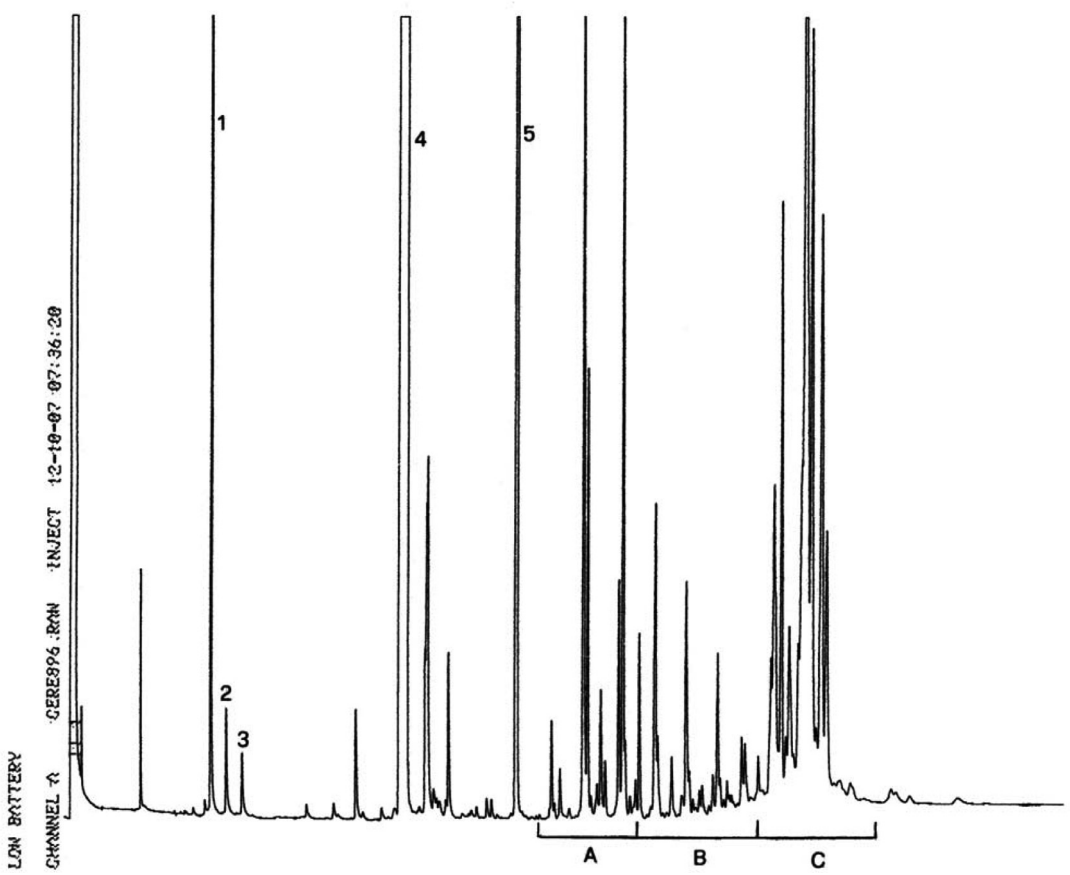
A – Diterpēnesteri

B – Vaski

C – Sterīna esteri un triterpēnesteri

3. attēls

Neapstrādātas augstākā labuma olīveļļas metilesteri, etilesteri un vaski



Paskaidrojumi:

1 – Metilheptadekanoāts, *I.S.*

2 – Metil- C_{18}

3 – Etil- C_{18}

4 – Skvalēns

5 – Laurilarahidāts, *I.S.*

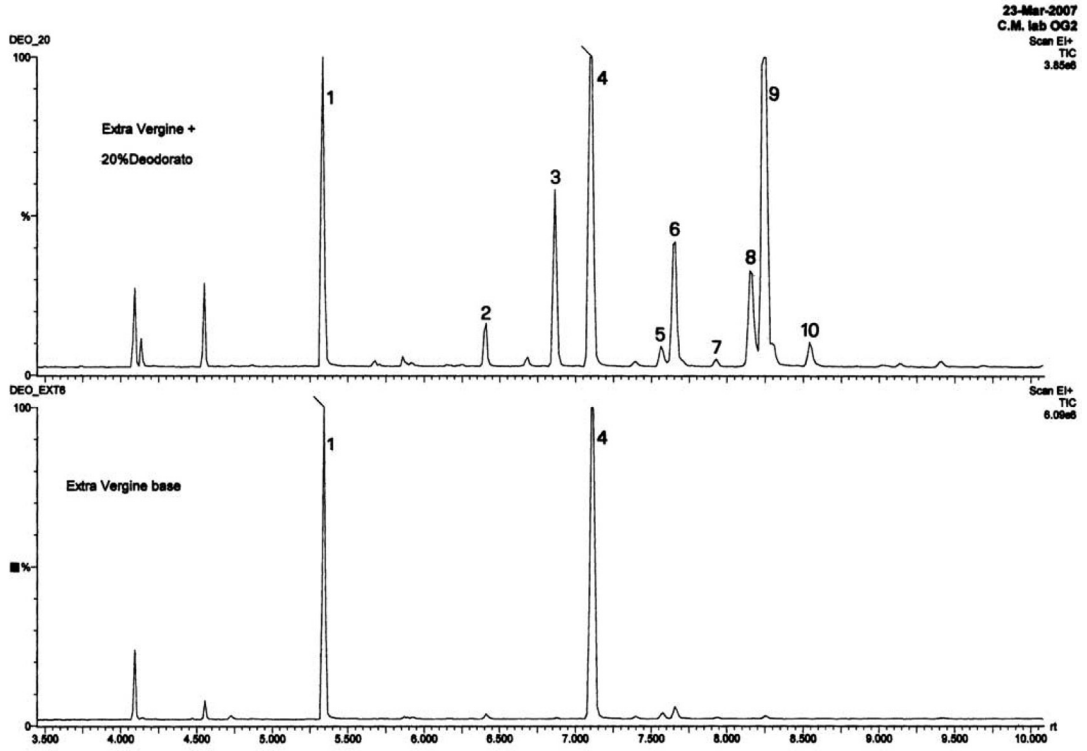
A – Diterpēnesteri

B – Vaski

C – Sterīna esteri un triterpēnesteri

4. attēls

Neapstrādātas olīveļļas hromatogrammas daļa un hromatogrammas daļa tai pašai eļļai ar dearomatizētas eļļas piedevu



Paskaidrojumi:

1 – Metilmiristāts, *I.S.*

2 – Metilpalmitāts

3 – Etilpalmitāts

4 – Metilheptadekanoāts, *I.S.*

5 – Metillinoleāts

6 – Metiloleāts

7 – Metilstearāts

8 – Etillinoleāts

9 – Etiloleāts

10 – Etilstearāts

A papildinājums

Gāzes lineārā ātruma noteikšana

Pēc darba režīma iestatīšanas gāzu hromatogrāfā ievada 1 līdz 3 µl metāna (vai propāna). Mēra laiku, kas paiet kamēr gāze iziet caur kolonnu, no tās ievadīšanas līdz signāla parādīšanās brīdim (tM).

Lineāro ātrumu cm/s aprēķina pēc formulas L/tM, kur L ir kolonnas garums centimetros, un tM - laiks sekundēs."