

## ΕΚΤΕΛΕΣΤΙΚΟΣ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΕ) αριθ. 1348/2013 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

της 16ης Δεκεμβρίου 2013

για την τροποποίηση του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91 σχετικά με τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών των ελαιολάδων και των πυρηνελαίων καθώς και με τις μεθόδους προσδιορισμού

Η ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ,

Έχοντας υπόψη τη Συνθήκη για τη λειτουργία της Ευρωπαϊκής Ένωσης,

Έχοντας υπόψη τον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1234/2007 του Συμβουλίου, της 22ας Οκτωβρίου 2007, για τη θέσπιση κοινής οργάνωσης των γεωργικών αγορών και ειδικών διατάξεων για ορισμένα γεωργικά προϊόντα (Ενιαίος κανονισμός ΚΟΑ) <sup>(1)</sup>, και ιδίως το άρθρο 113 παράγραφος 1 στοιχείο α) και το άρθρο 121 πρώτο εδάφιο στοιχείο α) και η), σε συνδυασμό με το άρθρο 4,

Εκτιμώντας τα ακόλουθα:

- (1) Ο κανονισμός (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91 της Επιτροπής <sup>(2)</sup> ορίζει τα χημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των ελαιολάδων και των πυρηνελαίων, καθώς και τις μεθόδους αξιολόγησης των χαρακτηριστικών αυτών. Οι εν λόγω μέθοδοι και οι οριακές τιμές για τα χαρακτηριστικά των ελαιολάδων θα πρέπει να επικαιροποιηθούν με βάση τη γνωμοδότηση των χημικών εμπειρογνομόνων και σε συμφωνία με το έργο που επιτελείται στο πλαίσιο του Διεθνούς Συμβουλίου Ελαιοκομίας («ΔΣΕ»).
- (2) Προκειμένου να διασφαλιστεί η εφαρμογή σε ενωσιακό επίπεδο των πιο πρόσφατων διεθνών προτύπων του ΔΣΕ, θα πρέπει να επικαιροποιηθούν ορισμένες μέθοδοι ανάλυσης, όπως και ορισμένες οριακές τιμές για τα χαρακτηριστικά των ελαιολάδων, που προβλέπονται στον κανονισμό (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91.
- (3) Κατά συνέπεια, οι οριακές τιμές για τα στιγμασταδιένια, τους κηρούς, το μυριστικό οξύ και τους αλκυλεστέρες λιπαρών οξέων θα πρέπει να αναπροσαρμοστούν, και ορισμένα δενδροδιαγράμματα αποφάσεων για την εξακρίβωση της συμφωνίας ενός δείγματος ελαιολάδου με τη δηλούμενη κατηγορία θα πρέπει να τροποποιηθούν αναλόγως. Θα πρέπει να προστεθούν δενδροδιαγράμματα αποφάσεων για την καμπεστερόλη και τη δ-7-στιγμαστενόλη, συνοδευόμενα από πιο περιοριστικές παραμέτρους, προκειμένου να διευκολυνθεί το εμπόριο και να διασφαλιστεί η γνησιότητα του ελαιολάδου, προς όφελος της προστασίας των καταναλωτών. Η μέθοδος ανάλυσης που αφορά τη σύνθεση και την περιεκτικότητα σε στερόλες και τον προσδιορισμό της ερυθροδιόλης και της ουβαόλης θα πρέπει να αντικατασταθεί από πιο αξιόπιστη μέθοδο που να καλύπτει και τις τριτερπενικές διακρίσεις. Είναι επίσης σκόπιμο να αναθεωρηθεί η οργανοληπτική εξέταση του ελαιολάδου και να προστεθεί μια μέθοδος που να επιτρέπει την ανίχνευση εξωγενών φυτικών ελαίων στα ελαιόλαδα.
- (4) Υπό το πρίσμα της εξέλιξης των διαδικασιών για τους ελέγχους συμμόρφωσης των ελαίων, θα πρέπει να αναπροσαρμοστεί αναλόγως η μέθοδος δειγματοληψίας ελαιολάδων και πυρηνελαίων.

- (5) Ως εκ τούτου, ο κανονισμός (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91 θα πρέπει να τροποποιηθεί αναλόγως.
- (6) Για να υπάρξει περίοδος προσαρμογής στους νέους κανόνες, να δοθεί χρόνος για τη συγκρότηση των αναγκαίων μέσων εφαρμογής τους και να μην διαταραχθούν οι εμπορικές συναλλαγές, οι τροποποιήσεις που επιφέρει ο παρών κανονισμός θα πρέπει να εφαρμόζονται από την 1η Μαρτίου 2014. Για τους ίδιους λόγους, θα πρέπει να προβλεφθεί η διάθεση στην αγορά, μέχρι να εξαντληθούν τα αποθέματα, των ελαιολάδων και πυρηνελαίων που έχουν νόμιμα παραχθεί και επισημανθεί στην Ένωση ή έχουν νόμιμα εισαχθεί στην Ένωση και τεθεί σε ελεύθερη κυκλοφορία πριν από τη συγκεκριμένη ημερομηνία.
- (7) Τα μέτρα που προβλέπονται στον παρόντα κανονισμό είναι σύμφωνα με τη γνώμη της επιτροπής διαχείρισης της κοινής οργάνωσης των γεωργικών αγορών,

ΕΞΕΔΩΣΕ ΤΟΝ ΠΑΡΟΝΤΑ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟ:

Άρθρο 1

Ο κανονισμός (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91 τροποποιείται ως εξής:

- (1) Το άρθρο 2 αντικαθίσταται από το ακόλουθο κείμενο:
  - «Άρθρο 2
    1. Τα προβλεπόμενα στο παράρτημα I του παρόντος κανονισμού χαρακτηριστικά των ελαίων προσδιορίζονται σύμφωνα με τις ακόλουθες μεθόδους ανάλυσης:
      - α) για τον προσδιορισμό των ελευθέρων λιπαρών οξέων, εκφραζόμενων σε εκατοστιαία αναλογία ελαϊκού οξέος, εφαρμόζεται η μέθοδος που περιγράφεται στο παράρτημα II·
      - β) για τον προσδιορισμό του αριθμού υπεροξειδίων, εφαρμόζεται η μέθοδος που περιγράφεται στο παράρτημα III·
      - γ) για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε κηρούς, εφαρμόζεται η μέθοδος που περιγράφεται στο παράρτημα IV·
      - δ) για τον προσδιορισμό της σύστασης και της περιεκτικότητας σε στερόλες και τριτερπενικές διακρίσεις με αεριοχρωματογραφία τριχοειδούς στήλης, εφαρμόζεται η μέθοδος που περιγράφεται στο παράρτημα V·
      - ε) για τον προσδιορισμό της εκατοστιαίας αναλογίας μονοπαλμιτικού 2-γλυκερυλίου, εφαρμόζεται η μέθοδος που περιγράφεται στο παράρτημα VII·
      - στ) για τη φασματοφωτομετρική ανάλυση, εφαρμόζεται η μέθοδος που περιγράφεται στο παράρτημα IX·
      - ζ) για τον προσδιορισμό της σύνθεσης σε λιπαρά οξέα, εφαρμόζεται η μέθοδος που περιγράφεται στα παραρτήματα X «Α» και X «Β»·
      - η) για τον προσδιορισμό των αλογονούχων πηκτικών διαλυτών, εφαρμόζεται η μέθοδος που περιγράφεται στο παράρτημα XI·

<sup>(1)</sup> ΕΕ L 299 της 16.11.2007, σ. 1.<sup>(2)</sup> Κανονισμός (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91 της Επιτροπής, της 11ης Ιουλίου 1991, σχετικά με τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών των ελαιολάδων και των πυρηνελαίων καθώς και με τις μεθόδους προσδιορισμού (ΕΕ L 248 της 5.9.1991, σ. 1).

- θ) για την αξιολόγηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των παρθένων ελαιολάδων, εφαρμόζεται η μέθοδος που περιγράφεται στο παράρτημα XII·
- ι) για τον προσδιορισμό των στιγμασταδιενίων, εφαρμόζεται η μέθοδος που περιγράφεται στο παράρτημα XVII·
- ια) για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε τριγλυκερίδια με ECN42, εφαρμόζεται η μέθοδος που περιγράφεται στο παράρτημα XVIII·
- ιβ) για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε αλειφατικές αλκοόλες, εφαρμόζεται η μέθοδος που περιγράφεται στο παράρτημα XIX·
- ιγ) για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε κηρούς, καθώς και σε μεθυλεστέρες και αιθυλεστέρες λιπαρών οξέων, εφαρμόζεται η μέθοδος που περιγράφεται στο παράρτημα XX·

Για την ανίχνευση της παρουσίας εξωγενών φυτικών ελαίων στα ελαιόλαδα, εφαρμόζεται η μέθοδος ανάλυσης που αναφέρεται στο παράρτημα XXα.

2. Ο έλεγχος των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των παρθένων ελαιολάδων από τις εθνικές αρχές ή τους αντιπροσώπους τους διενεργείται από ομάδες δοκιμαστών αναγνωρισμένες από τα κράτη μέλη.

Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά ελαιολάδου που αναφέρονται στο πρώτο εδάφιο θεωρούνται σύμφωνα με τη δηλούμενη κατηγορία του ελαιολάδου, εάν η αναγνωρισμένη από το κράτος μέλος ομάδα επιβεβαιώσει τη συγκεκριμένη κατάταξη.

Σε περίπτωση που η αναγνωρισμένη ομάδα δεν επιβεβαιώσει τη δηλούμενη κατηγορία ως προς τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, οι εθνικές αρχές ή οι αντιπρόσωποί τους αναθέτουν χωρίς καθυστέρηση, ύστερα από αίτηση του ενδιαφερομένου, τη διενέργεια δύο κατ' έφεση εξετάσεων από άλλες αναγνωρισμένες ομάδες, από τις οποίες η μία τουλάχιστον διενεργείται από ομάδα αναγνωρισμένη από το κράτος μέλος παραγωγής του ελαιολάδου. Τα υπόψη χαρακτηριστικά θεωρούνται σύμφωνα με τα δηλωθέντα, εάν οι δύο κατ' έφεση εξετάσεις επιβεβαιώσουν τη συγκεκριμένη κατάταξη. Σε αντίθετη περίπτωση, τα έξοδα των κατ' έφεση εξετάσεων βαρύνουν τον ενδιαφερόμενο.

3. Κατά τον έλεγχο των χαρακτηριστικών των ελαίων από τις εθνικές αρχές ή τους αντιπροσώπους τους, όπως προβλέπεται στην παράγραφο 1, η δειγματοληψία διενεργείται σύμφωνα με τα διεθνή πρότυπα EN ISO 661 για την προετοιμασία δείγματος δοκιμής και EN ISO 5555 για τη δειγματοληψία. Ωστόσο, κατά παρέκκλιση από το σημείο 6.8 του προτύπου EN ISO 5555, για τις παρτίδες που αποτελούνται από τα εν λόγω έλαια σε άμεσες συσκευασίες, η δειγματοληψία διενεργείται σύμφωνα με το παράρτημα Ia του παρόντος κανονισμού. Στην περίπτωση των χύδην ελαιολάδων για τα οποία δεν μπορεί να εφαρμοστεί το πρότυπο EN ISO 5555, η δειγματοληψία διενεργείται σύμφωνα με τις υποδείξεις της αρμόδιας αρχής του κράτους μέλους.

Με την επιφύλαξη των διατάξεων του προτύπου EN ISO 5555 και του κεφαλαίου 6 του προτύπου EN ISO 661, τα δείγματα

προφυλάσσονται από το φως και από υψηλές θερμοκρασίες το ταχύτερο δυνατό και αποστέλλονται στο εργαστήριο για ανάλυση το αργότερο την πέμπτη εργάσιμη ημέρα από τη λήψη τους. Σε αντίθετη περίπτωση, τα δείγματα φυλάσσονται κατά τρόπο ώστε να μην υποστούν υποβάθμιση ή φθορά κατά τη διάρκεια της μεταφοράς ή της αποθήκευσής τους προτού αποσταλούν στο εργαστήριο.

4. Για τους ελέγχους που προβλέπονται στην παράγραφο 3, οι αναλύσεις που αναφέρονται στα παραρτήματα II, III, IX, XII και XX, καθώς και, κατά περίπτωση, οι κατ' έφεση αναλύσεις που απαιτούνται βάσει της εθνικής νομοθεσίας, διεξάγονται πριν από την ημερομηνία ελάχιστης διατηρησιμότητας στην περίπτωση των συσκευασμένων προϊόντων. Σε περίπτωση δειγματοληψίας χύδην ελαίων, οι αναλύσεις αυτές διεξάγονται το αργότερο τον έκτο μήνα ύστερα από τον μήνα κατά τον οποίο ελήφθη το δείγμα.

Δεν ισχύει καμία προθεσμία για τις άλλες αναλύσεις που προβλέπονται στον παρόντα κανονισμό.

Εάν τα αποτελέσματα των αναλύσεων δεν αντιστοιχούν στα χαρακτηριστικά της κατηγορίας ελαιολάδου ή πυρηνελαιίου που δηλώθηκε, ο ενδιαφερόμενος ενημερώνεται σχετικά, το αργότερο έναν μήνα πριν από τη λήξη της προθεσμίας που ορίζεται στο πρώτο εδάφιο, εκτός εάν η δειγματοληψία διενεργήθηκε λιγότερο από δύο μήνες πριν από την ημερομηνία ελάχιστης διατηρησιμότητας.

5. Για τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών των ελαιολάδων με τις μεθόδους που προβλέπονται στο πρώτο εδάφιο της παραγράφου 1, τα αποτελέσματα των αναλύσεων συγκρίνονται απευθείας με τα όρια που προβλέπονται στον παρόντα κανονισμό.»

- (2) Το παράρτημα I αντικαθίσταται από το κείμενο του παραρτήματος I του παρόντος κανονισμού.
- (3) Το παράρτημα Ia αντικαθίσταται από το κείμενο του παραρτήματος II του παρόντος κανονισμού.
- (4) Το παράρτημα Ib αντικαθίσταται από το κείμενο του παραρτήματος III του παρόντος κανονισμού.
- (5) Το παράρτημα V αντικαθίσταται από το κείμενο του παραρτήματος IV του παρόντος κανονισμού.
- (6) Το παράρτημα VI απαλείφεται.
- (7) Το παράρτημα XII αντικαθίσταται από το κείμενο του παραρτήματος V του παρόντος κανονισμού.
- (8) Μετά το παράρτημα XX παρεμβάλλεται το παράρτημα XXα, το κείμενο του οποίου παρατίθεται στο παράρτημα VI του παρόντος κανονισμού.

## Άρθρο 2

Τα προϊόντα που έχουν νόμιμα παραχθεί και επισημανθεί στην Ένωση ή έχουν νόμιμα εισαχθεί στην Ένωση και τεθεί σε ελεύθερη κυκλοφορία πριν από την 1η Μαρτίου 2014 μπορούν να διατεθούν στην αγορά μέχρι να εξαντληθούν τα αποθέματα.

*Άρθρο 3*

Ο παρών κανονισμός αρχίζει να ισχύει την έβδομη ημέρα από τη δημοσίευσή του στην *Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης*.

Εφαρμόζεται από την 1η Μαρτίου 2014.

Ο παρών κανονισμός είναι δεσμευτικός ως προς όλα τα μέρη του και ισχύει άμεσα σε κάθε κράτος μέλος.

Βρυξέλλες, 16 Δεκεμβρίου 2013.

Για την Επιτροπή  
Ο Πρόεδρος  
José Manuel BARROSO

---

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

## «ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

## ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Κατηγορία	Αιθυλεστέρες λιπαρών οξέων (FAEE) mg/kg (*)	Οξύτητα (%) (*)	Αριθμός υπεροξειδίων mEq O <sub>2</sub> /Kg (*)	Κηροί mg/kg (**)	Μονοπαλμτικό 2-γλυκερύλιο (%)	Στιγμασταδιένια mg/kg (1)	Διαφορά μεταξύ ECN42 (HPLC) και ECN42 (2) (θεωρητικός υπολογισμός)	K <sub>232</sub> (*)	K <sub>268</sub> ή K <sub>270</sub> (*)	ΔΚ (*)	Οργανοληπτική εξέταση Διάμεση τιμή των ελατωμάτων (Md) (*)	Οργανοληπτική εξέταση Διάμεση τιμή του φρουτώδους (Mf) (*)
1. Εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο	FAEE ≤ 40 (ελαιοκομική περίοδος 2013-2014) (3) FAEE ≤ 35 (ελαιοκομική περίοδος 2014-2015) FAEE ≤ 30 (ελαιοκομική περίοδος μετά το 2015)	≤ 0,8%	≤ 20%	C <sub>42</sub> + C <sub>44</sub> + C <sub>46</sub> ≤ 150	≤ 0,9 εάν ολικό παλμτικό οξύ % ≤ 14 %	≤ 0,05	≤  0,2	≤ 2,50	≤ 0,22	≤ 0,01	Md = 0	Mf > 0
					≤ 1,0 εάν ολικό παλμτικό οξύ % > 14 %							
2. Παρθένο ελαιόλαδο	—	≤ 2,0	≤ 20%	C <sub>42</sub> + C <sub>44</sub> + C <sub>46</sub> ≤ 150	≤ 0,9 εάν ολικό παλμτικό οξύ % ≤ 14 %	≤ 0,05	≤  0,2	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,01	Md ≤ 3,5	Mf > 0
					≤ 1,0 εάν ολικό παλμτικό οξύ % > 14 %							
3. Ελαιόλαδο λαμπάντε	—	> 2,0%	—	C <sub>40</sub> + C <sub>42</sub> + C <sub>44</sub> + C <sub>46</sub> ≤ 300 (4)	≤ 0,9 εάν ολικό παλμτικό οξύ % ≤ 14 %	≤ 0,50	≤  0,3	—	—	—	Md = 3,5 (5)	—
					≤ 1,1 εάν ολικό παλμτικό οξύ % > 14 %							
4. Εξευγενισμένο ελαιόλαδο	—	≤ 0,3	≤ 5	C <sub>40</sub> + C <sub>42</sub> + C <sub>44</sub> + C <sub>46</sub> ≤ 350	≤ 0,9 εάν ολικό παλμτικό οξύ % ≤ 14 %	—	≤  0,3	—	≤ 1,10	≤ 0,16	—	—
					≤ 1,1 εάν ολικό παλμτικό οξύ % > 14 %							

Κατηγορία	Λιθιλεστέρες λιπαρών οξέων (FAEE) mg/kg (*)	Οξύτητα (%) (*)	Αριθμός υπεροξειδίων mEq O <sub>2</sub> /Kg (*)	Κηροί mg/kg (**)	Μονοπαλμικό 2-γλυκερύλιο (%)	Στιγμασταδιένια mg/kg (1)	Διαφορά μεταξύ ECN42 (HPLC) και ECN42 (2) (θεωρητικός υπολογισμός)	K <sub>232</sub> (*)	K <sub>268</sub> ή K <sub>270</sub> (*)	ΔΚ (*)	Οργανοληπτική εξέταση Διάμεση τιμή των ελαττωμάτων (M <sub>d</sub> ) (*)	Οργανοληπτική εξέταση Διάμεση τιμή του φρουτώδους (M <sub>f</sub> ) (*)
5. Σύνθετο ελαιόλαδο αποτελούμενο από εξευγενισμένα και παρθένα ελαιόλαδα	—	≤ 1,0	≤ 15	C <sub>40</sub> + C <sub>42</sub> + C <sub>44</sub> + C <sub>46</sub> ≤ 350	≤ 0,9 εάν ολικό παλμικό οξύ % ≤ 14 % ≤ 1,0 εάν ολικό παλμικό οξύ % > 14 %	—	≤  0,3	—	≤ 0,90	≤ 0,15	—	—
6. Ακατέργαστο πυρηνέλαιο	—	—	—	C <sub>40</sub> + C <sub>42</sub> + C <sub>44</sub> + C <sub>46</sub> > 350 (6)	≤ 1,4	—	≤  0,6	—	—	—	—	—
7. Εξευγενισμένο πυρηνέλαιο	—	≤ 0,3	≤ 5	C <sub>40</sub> + C <sub>42</sub> + C <sub>44</sub> + C <sub>46</sub> > 350	≤ 1,4	—	≤  0,5	—	≤ 2,00	≤ 0,20	—	—
8. Πυρηνέλαιο	—	≤ 1,0	≤ 15	C <sub>40</sub> + C <sub>42</sub> + C <sub>44</sub> + C <sub>46</sub> > 350	≤ 1,2	—	≤  0,5	—	≤ 1,70	≤ 0,18	—	—

(1) Άθροισμα των ισομερών που θα μπορούσαν να διαχωριστούν (ή όχι) με τριχοειδή στήλη.

(2) Το ελαιόλαδο πρέπει να συμμορφώνεται με τη μέθοδο που αναφέρεται στο παράρτημα ΧΧα.

(3) Το όριο αυτό ισχύει για τα ελαιόλαδα που έχουν παραχθεί από την 1η Μαρτίου 2014 και έπειτα.

(4) Τα έλαια με περιεκτικότητα σε κηρούς μεταξύ 300 και 350 mg/kg θεωρούνται ελαιόλαδα λαμπάντε, εάν η περιεκτικότητα σε ολικές αλειφατικές αλκοόλες είναι μικρότερη ή ίση με 350 mg/kg ή εάν η εκατοστιαία αναλογία ερυθροδιόλης και ουβαόλης είναι μικρότερη ή ίση με 3,5%.

(5) Ή όταν η διάμεση τιμή των ελαττωμάτων είναι μεγαλύτερη από 3,5 ή όταν αυτή είναι μικρότερη ή ίση με 3,5 και η διάμεση τιμή του φρουτώδους ισούται με 0.

(6) Τα έλαια με περιεκτικότητα σε κηρούς μεταξύ 300 και 350 mg/kg θεωρούνται ακατέργαστα πυρηνέλαια, εάν η περιεκτικότητα σε ολικές αλειφατικές αλκοόλες υπερβαίνει τα 350 mg/kg και η εκατοστιαία αναλογία ερυθροδιόλης και ουβαόλης υπερβαίνει το 3,5%.

Κατηγορία	Σύσταση σε λιπαρά οξέα (1)							Ολικά ισομερή του trans-λιγνελικού οξέος (%)	Ολικά ισομερή του trans-λιγνελικού + trans-λιγνελικού οξέος (%)	Σύσταση σε στερόλες					Ολικές στερόλες (mg/kg)	Ερυθροδιόλη και ουβαόλη (%) (**)
	Μυρι-στικό (%)	Λιγνελικό (%)	Αραχιδικό (%)	Εικοσενικό (%)	Βεχενικό (%)	Λιγνοκηρικό (%)	Χοληστερόλη (%)			Βρασικα-στερόλη (%)	Καμπεστερόλη (2) (%)	Στιγμαστερόλη (%)	Φαινόμενη β-σιτοστερόλη (3) (%)	δ-7 Στιγμαστενόλη (2) (%)		
1. Εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< καμπ.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
2. Παρθένο ελαιόλαδο	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< καμπ.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
3. Ελαιόλαδο λαμπάντε	≤ 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. Εξευγενισμένο ελαιόλαδο	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< καμπ.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5

Κατηγορία	Σύσταση σε λιπαρά οξέα <sup>(1)</sup>						Ολική ισομερή του trans-ελαϊκού οξέος (%)	Ολική ισομερή του trans-λινολεϊκού + trans-λινολενικού οξέος (%)	Σύσταση σε στερόλες						Ολικές στερόλες (mg/kg)	Ερυθροδιόλη και ουβαόλη (%) (**)
	Μυρι-στικό (%)	Λινολενικό (%)	Αραχιδικό (%)	Εικοσενικό (%)	Βεχενικό (%)	Λιγνοκηρικό (%)			Χοληστερόλη (%)	Βρασικα-στερόλη (%)	Καμπεστερόλη <sup>(2)</sup> (%)	Στιγμαστερόλη (%)	Φαινόμενη β-σιτοστερόλη <sup>(3)</sup> (%)	δ-7 Στιγμαστενόλη <sup>(2)</sup> (%)		
5. Σύνθετο ελαιόλαδο αποτελούμενο από εξευγενισμένα και παρθένα ελαιόλαδα	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< καμπ.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
6. Ακατέργαστο πυρηνέλαιο	≤ 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 <sup>(5)</sup>
7. Εξευγενισμένο πυρηνέλαιο	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,30	≤ 0,20	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< καμπ.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 800	> 4,5
8. Πυρηνέλαιο	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,30	≤ 0,20	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< καμπ.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 600	> 4,5

<sup>(1)</sup> Περιεκτικότητα σε άλλα λιπαρά οξέα (%): παλμιτικό: 7,50-20,00· παλμιτελαϊκό: 0,30-3,50· δεκαεπτανικό: ≤ 0,30· δεκαεπενικό: ≤ 0,30· στεατικό: 0,50-5,00· ελαϊκό: 55,00-83,00· λινολεϊκό: 3,50-21,00.

<sup>(2)</sup> Βλ. προσάρτημα του παρόντος παραρτήματος.

<sup>(3)</sup> Φαινόμενη β-σιτοστερόλη: δ-5,23-στιγμασταδιενόλη + κλεροστερόλη + β-σιτοστερόλη + σιτοστανόλη + δ-5-αβεναστερόλη + δ-5,24-στιγμασταδιενόλη.

<sup>(4)</sup> Τα έλαια με περιεκτικότητα σε κηρούς μεταξύ 300 και 350 mg/kg θεωρούνται ελαιόλαδα λαμπάντε, εάν η περιεκτικότητα σε ολικές αλειφατικές αλκοόλες είναι μικρότερη ή ίση με 350 mg/kg ή εάν η εκατοστιαία αναλογία ερυθροδιόλης και ουβαόλης είναι μικρότερη ή ίση με 3,5%.

<sup>(5)</sup> Τα έλαια με περιεκτικότητα σε κηρούς μεταξύ 300 και 350 mg/kg θεωρούνται ακατέργαστα πυρηνέλαια, εάν η περιεκτικότητα σε ολικές αλειφατικές αλκοόλες υπερβαίνει τα 350 mg/kg και η εκατοστιαία αναλογία ερυθροδιόλης και ουβαόλης υπερβαίνει το 3,5%.

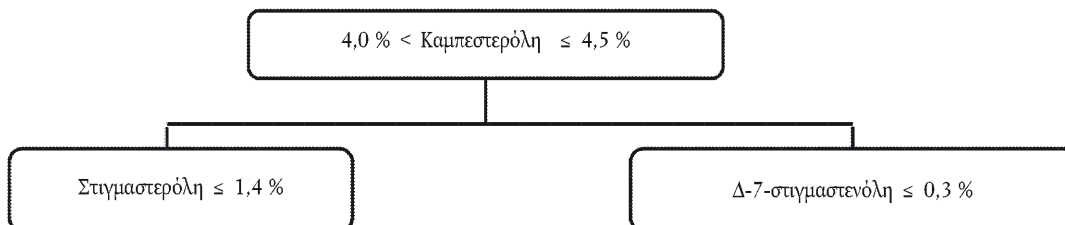
#### Σημειώσεις:

- Τα αποτελέσματα των αναλύσεων πρέπει να εκφράζονται με τον αριθμό δεκαδικών ψηφίων που προβλέπεται για κάθε χαρακτηριστικό. Το τελευταίο αριθμητικό ψηφίο πρέπει να αυξάνεται κατά μία μονάδα, εάν το επόμενο ψηφίο είναι μεγαλύτερο από 4.
- Αρκεί έστω και ένα χαρακτηριστικό να μην ανταποκρίνεται στις αναγραφόμενες τιμές για να καταταχθεί το ελαιόλαδο σε άλλη κατηγορία ή να δηλωθεί ότι δεν είναι καθαρό για τους σκοπούς του παρόντος κανονισμού.
- Τα αναφερόμενα στην ποιότητα του ελαιολάδου χαρακτηριστικά που σημειώνονται με αστερίσκο (\*) υποδηλώνουν ότι: - προκειμένου για ελαιόλαδο λαμπάντε, τα δύο σχετικά όρια μπορούν να διαφέρουν συγχρόνως από τις αναγραφόμενες τιμές, - προκειμένου για παρθένο ελαιόλαδο, η διαφορά ενός τουλάχιστον από τα όρια αυτά από τις αναγραφόμενες τιμές συνεπάγεται αλλαγή κατηγορίας, το ελαιόλαδο όμως εξακολουθεί να κατατάσσεται σε μία από τις κατηγορίες παρθένου ελαιολάδου.
- Τα χαρακτηριστικά που σημειώνονται με διπλό αστερίσκο (\*\*) υποδηλώνουν ότι, για όλα τα είδη πυρηνελαιών, τα δύο σχετικά όρια μπορούν να διαφέρουν συγχρόνως από τις αναγραφόμενες τιμές.

## Προσάρτημα

## Δενδροδιαγραμμα αποφάσεων

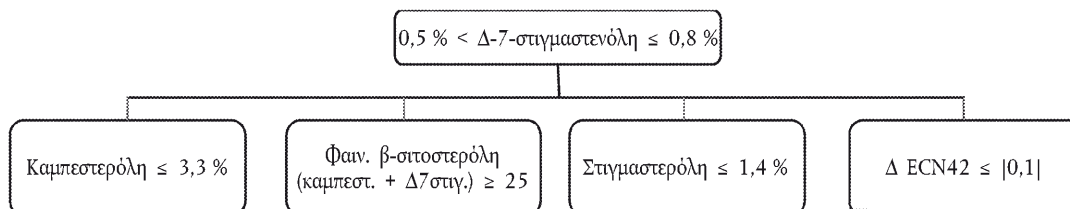
Δενδροδιάγραμμα αποφάσεων σχετικά με την **καμπεστερόλη** για παρθένα και εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα:



Οι άλλες παράμετροι συμμορφώνονται με τα όρια του παρόντος κανονισμού.

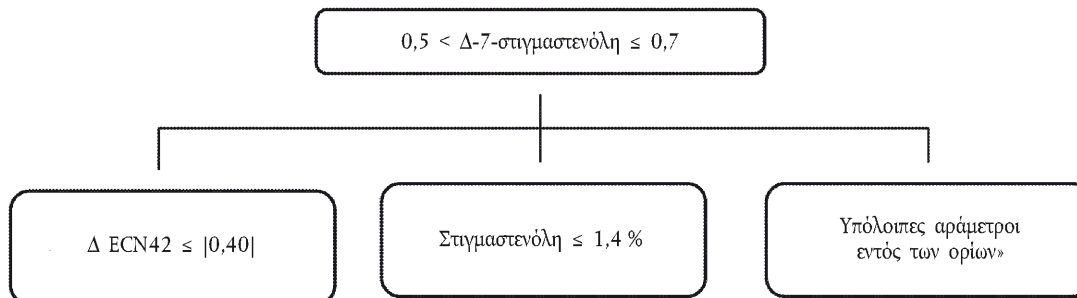
Δενδροδιάγραμμα αποφάσεων σχετικά με τη **δ-7 στιγμαστενόλη** για:

— εξαιρετικά παρθένα και παρθένα ελαιόλαδα



Οι άλλες παράμετροι συμμορφώνονται με τα όρια του παρόντος κανονισμού.

— πυρηνέλαια (ακατέργαστα και εξευγενισμένα)



## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ II

## «ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ia

**ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ Ή ΠΥΡΗΝΕΛΑΙΟΥ ΠΟΥ ΠΑΡΑΔΙΔΟΝΤΑΙ ΣΕ ΑΜΕΣΕΣ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΕΣ**

Η παρούσα μέθοδος δειγματοληψίας εφαρμόζεται σε παρτίδες ελαιολάδου ή πυρηνελαίου σε άμεσες συσκευασίες. Ισχύουν διαφορετικές μέθοδοι δειγματοληψίας ανάλογα με το αν η περιεκτικότητα της άμεσης συσκευασίας υπερβαίνει τα 5 λίτρα ή όχι.

Ως «παρτίδα» νοείται ένα σύνολο μονάδων πώλησης που παράγονται, μεταποιούνται και συσκευάζονται σε τέτοιες συνθήκες ώστε το έλαιο που περιέχει καθεμία από αυτές τις μονάδες πώλησης να θεωρείται ομοιογενές ως προς όλα τα αναλυτικά χαρακτηριστικά. Οι παρτίδες πρέπει να ταυτοποιούνται σύμφωνα με την οδηγία 2011/91/ΕΕ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου <sup>(1)</sup>.

Ως «στοιχειώδες δείγμα» νοείται η ποσότητα ελαίου που περιέχεται σε μια άμεση συσκευασία και λαμβάνεται από τυχαίο σημείο της παρτίδας.

## 1. ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΟΥ ΒΑΣΙΚΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

## 1.1. Άμεση συσκευασία με χωρητικότητα που δεν υπερβαίνει τα 5 λίτρα

Ως «βασικό δείγμα», προκειμένου για άμεση συσκευασία με χωρητικότητα που δεν υπερβαίνει τα 5 λίτρα, νοείται ο αριθμός των στοιχειωδών δειγμάτων που λαμβάνονται από μια παρτίδα και σύμφωνα με τον πίνακα 1.

Πίνακας 1

**Το ελάχιστο μέγεθος βασικού δείγματος πρέπει να είναι το εξής**

Όταν η χωρητικότητα της άμεσης συσκευασίας είναι	Το βασικό δείγμα πρέπει να είναι το έλαιο που περιέχεται
α) 1 λίτρο ή μεγαλύτερη	α) σε 1 άμεση συσκευασία
β) μικρότερη από 1 λίτρο	β) στον ελάχιστο αριθμό συσκευασιών με συνολική χωρητικότητα τουλάχιστον 1,0 λίτρου

Κάθε κράτος μέλος δύναται να αυξάνει τον αριθμό των συσκευασιών που αναφέρονται στον πίνακα 1 και συλλέγει ένα βασικό δείγμα, ανάλογα με τις ανάγκες του (για παράδειγμα, οργανοληπτική εξέταση από διαφορετικό εργαστήριο από αυτό που διενήργησε τις χημικές αναλύσεις, κατ' έφεση ανάλυση κ.λπ.).

## 1.2. Άμεση συσκευασία με χωρητικότητα που υπερβαίνει τα 5 λίτρα

Ως «βασικό δείγμα», προκειμένου για άμεση συσκευασία με χωρητικότητα που υπερβαίνει τα 5 λίτρα, νοείται ένα αντιπροσωπευτικό μέρος του συνόλου των στοιχειωδών δειγμάτων, λαμβανόμενο με διαδικασία μείωσης και σύμφωνα με τον πίνακα 2. Το βασικό δείγμα πρέπει να αποτελείται από διάφορα αντιπροσωπευτικά δείγματα.

Ως «αντιπροσωπευτικό δείγμα» βασικού δείγματος νοείται καθεμία από τις συσκευασίες που απαρτίζουν το βασικό δείγμα.

Πίνακας 2

**Ελάχιστος αριθμός στοιχειωδών δειγμάτων που πρέπει να επιλέγονται**

Αριθμός συσκευασιών στην παρτίδα	Ελάχιστος αριθμός στοιχειωδών δειγμάτων που πρέπει να επιλέγονται
Έως 10	1
Από ... 11 έως 150	2
Από ... 151 έως 500	3
Από ... 501 έως 1 500	4
Από ... 1 501 έως 2 500	5
> 2 500 ανά 1 000 συσκευασίες	1 επιπλέον στοιχειώδες δείγμα

<sup>(1)</sup> Οδηγία 2011/91/ΕΕ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, της 13ης Δεκεμβρίου 2011, σχετικά με τις ενδείξεις ή τα σήματα που επιτρέπουν την αναγνώριση της παρτίδας στην οποία ανήκει ένα τρόφιμο (ΕΕ L 334 της 16.12.2011, σ. 1).



Προκειμένου να μειωθεί ο όγκος των δειγματιζόμενων άμεσων συσκευασιών, το περιεχόμενο των στοιχειωδών δειγμάτων ομοιογενοποιείται για την παρασκευή του βασικού δείγματος. Τα τμήματα περιεχομένου των διαφορετικών στοιχειωδών δειγμάτων τοποθετούνται σε κοινό δοχείο για ομοιογενοποίηση με ανάδευση, ώστε να προστατεύονται όσο το δυνατόν καλύτερα από τον αέρα.

Το περιεχόμενο του βασικού δείγματος πρέπει να τοποθετείται σε σειρά συσκευασιών με την ελάχιστη χωρητικότητα του 1,0 λίτρου, καθεμία από τις οποίες αποτελεί αντιπροσωπευτικό δείγμα βασικού δείγματος.

Κάθε κράτος μέλος δύναται να αυξάνει τον αριθμό των βασικών δειγμάτων, ανάλογα με τις ανάγκες του (για παράδειγμα, οργανοληπτική εξέταση από διαφορετικό εργαστήριο από αυτό που διενήργησε τις χημικές αναλύσεις, κατ' έφεση ανάλυση κ.λπ.).

Κάθε συσκευασία πρέπει να πληρούται κατά τρόπο που ελαχιστοποιεί το στρώμα αέρα στο πάνω μέρος της και, στη συνέχεια, να κλείνεται κατάλληλα και να σφραγίζεται ώστε να διασφαλίζεται ο αλύμαντο του προϊόντος.

Αυτά τα αντιπροσωπευτικά δείγματα πρέπει να επισημαίνονται προκειμένου να εξασφαλίζεται η ορθή ταυτοποίησή τους.

## 2. ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΚΑΙ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

2.1. Κάθε βασικό δείγμα πρέπει να χωρίζεται σε εργαστηριακά δείγματα, σύμφωνα με το σημείο 2.5 του προτύπου EN ISO 5555, και να υποβάλλεται σε ανάλυση με τη σειρά που εμφανίζεται στο δενδροδιάγραμμα αποφάσεων του παραρτήματος Ιβ ή με οποιαδήποτε άλλη τυχαία σειρά.

2.2. Εάν όλα τα αποτελέσματα των αναλύσεων συμφωνούν με τα χαρακτηριστικά της δηλωθείσας κατηγορίας ελαίου, ολόκληρη η παρτίδα θεωρείται σύμφωνη.

Εάν έστω και ένα αποτέλεσμα των αναλύσεων δεν συμφωνεί με τα χαρακτηριστικά της δηλωθείσας κατηγορίας ελαίου, ολόκληρη η παρτίδα θεωρείται μη σύμφωνη.

## 3. ΕΠΑΛΗΘΕΥΣΗ ΤΗΣ ΚΑΤΗΓΟΡΙΑΣ ΤΗΣ ΠΑΡΤΙΔΑΣ

3.1. Προκειμένου να επαληθευθεί η κατηγορία της παρτίδας, η αρμόδια αρχή μπορεί να αυξήσει τον αριθμό των βασικών δειγμάτων που λαμβάνονται από διάφορα σημεία της παρτίδας σύμφωνα με τον επόμενο πίνακα:

Πίνακας 3

### Αριθμός βασικών δειγμάτων καθοριζόμενος από το μέγεθος της παρτίδας

Μέγεθος της παρτίδας (λίτρα)	Αριθμός βασικών δειγμάτων
Λιγότερα από 7 500	2
7 500 έως λιγότερα από 25 000	3
25 000 έως λιγότερα από 75 000	4
75 000 έως λιγότερα από 125 000	5
125 000 ή περισσότερα	6 + 1 για κάθε επιπλέον 50 000 λίτρα

Κάθε στοιχειώδες δείγμα που αποτελεί μέρος του βασικού δείγματος πρέπει να λαμβάνεται από μη διακριτή θέση της παρτίδας· είναι απαραίτητο να σημειώνεται η θέση κάθε βασικού δείγματος και να ταυτοποιείται με σαφήνεια.

Κάθε βασικό δείγμα πρέπει να σχηματίζεται σύμφωνα με τις διαδικασίες που αναφέρονται στα σημεία 1.1 και 1.2.

Στη συνέχεια, κάθε βασικό δείγμα υποβάλλεται στις αναλύσεις που αναφέρονται στο άρθρο 2 παράγραφος 1.

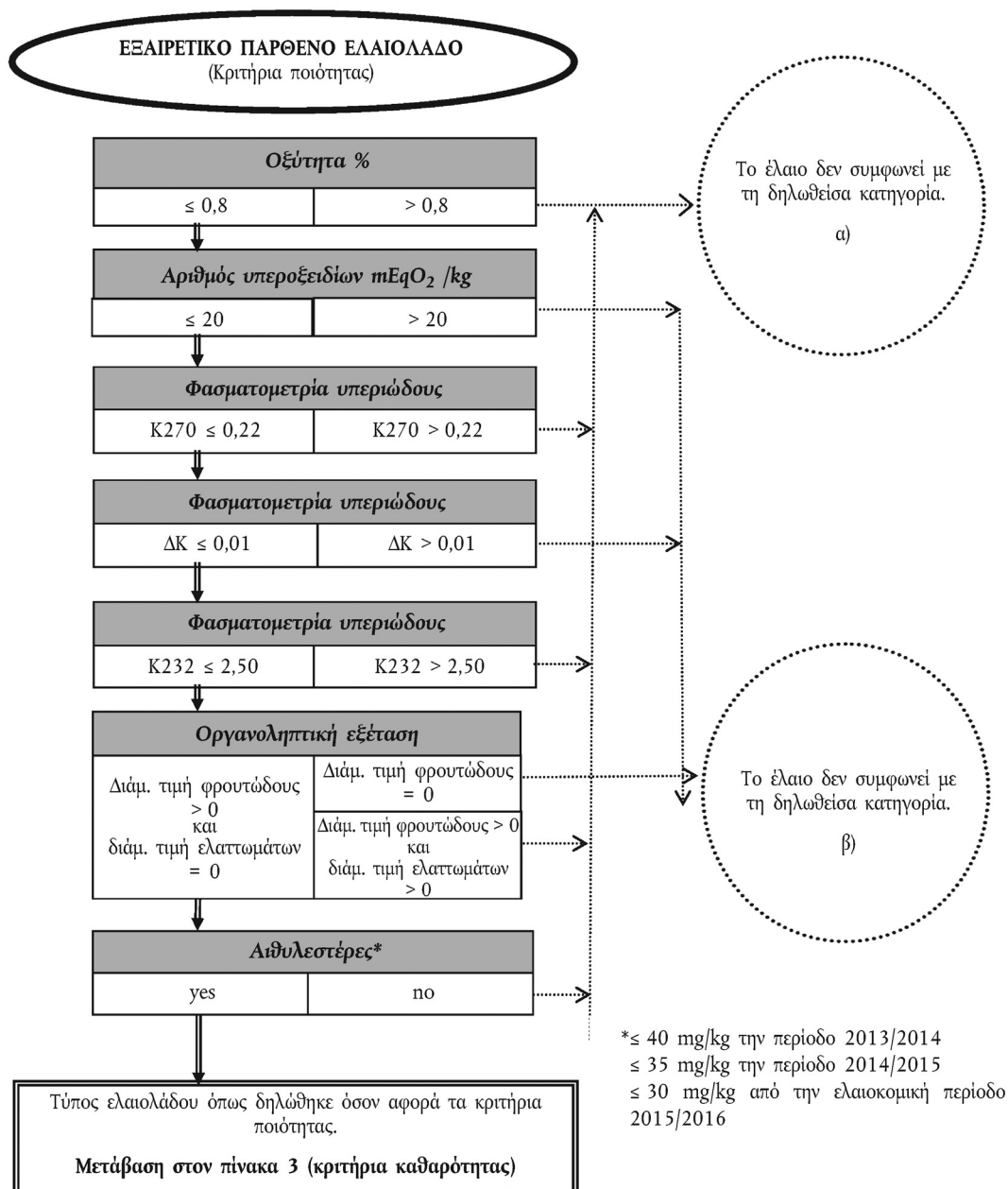
3.2. Όταν ένα από τα αποτελέσματα των αναφερόμενων στο άρθρο 2 παράγραφος 1 αναλύσεων ενός τουλάχιστον βασικού δείγματος δεν συμφωνεί με τα χαρακτηριστικά της δηλωθείσας κατηγορίας ελαίου, ολόκληρη η παρτίδα δειγματοληψίας θεωρείται μη σύμφωνη.»

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ III

## «ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ιβ

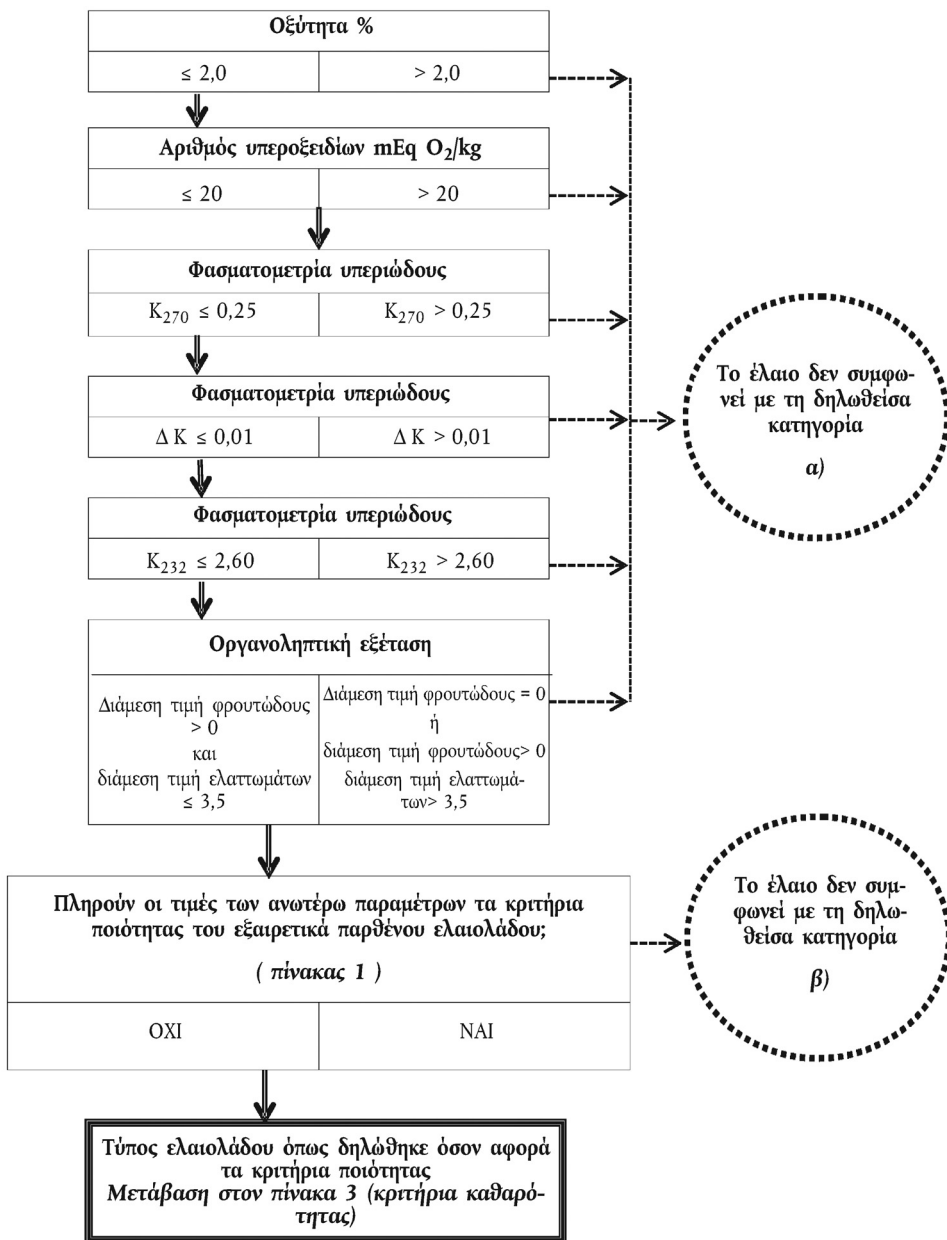
## ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΑΠΟΦΑΣΕΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΞΑΚΡΙΒΩΣΗ ΤΗΣ ΣΥΜΦΩΝΙΑΣ ΕΝΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΜΕ ΤΗ ΔΗΛΩΘΕΙΣΑ ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ

Πίνακας 1

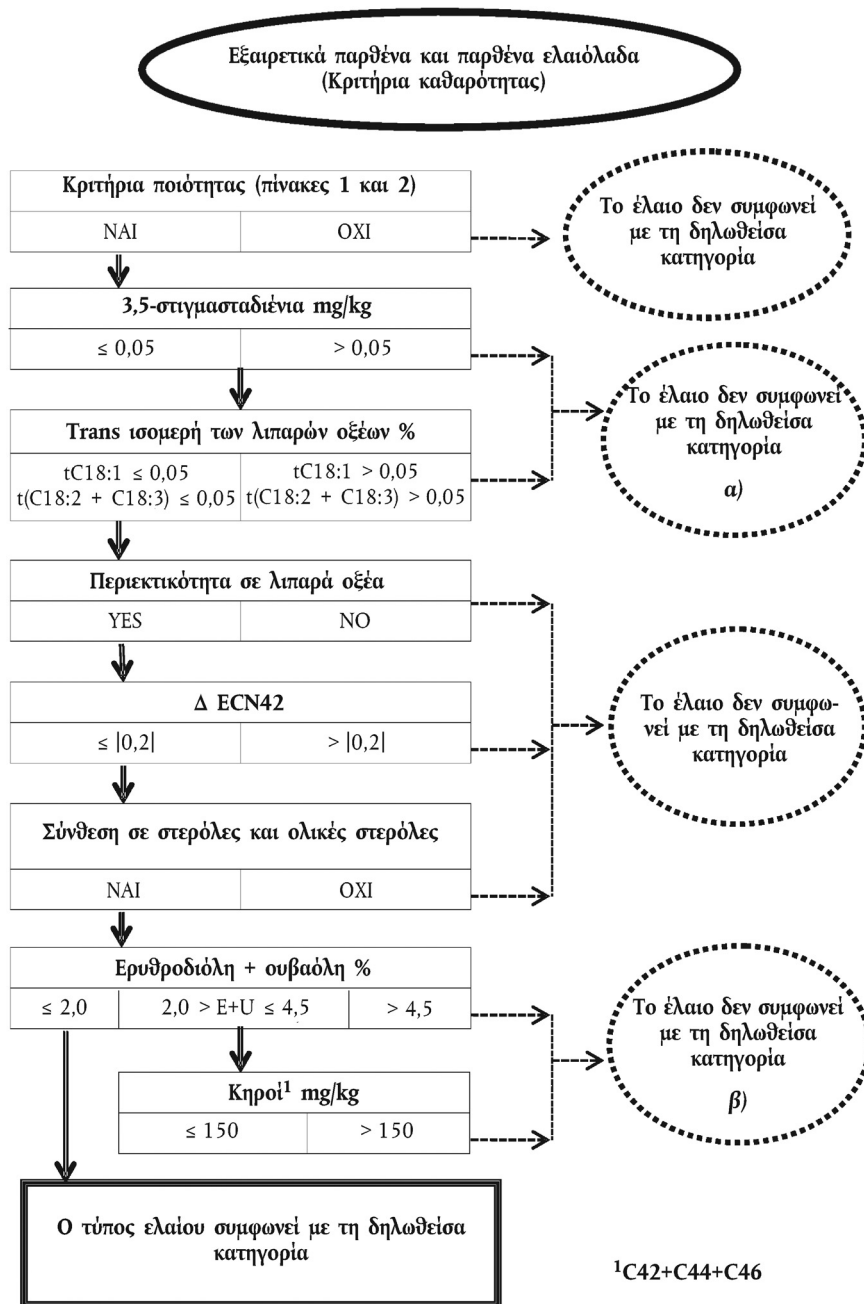


Πίνακας 2

**Παρθένα ελαιόλαδα  
(Κριτήρια ποιότητας)**



Πίνακας 3



## Προσάρτημα 1

## Πίνακας αντιστοιχίας μεταξύ των παραρτημάτων του παρόντος κανονισμού και των αναλύσεων που αναφέρονται στο δενδροδιάγραμμα αποφάσεων

— Οξύτητα	Παράρτημα II	Προσδιορισμός των ελεύθερων λιπαρών οξέων, ψυχρή μέθοδος
— Αριθμός υπεροξειδίων	Παράρτημα III	Προσδιορισμός του αριθμού υπεροξειδίων
— Φασματομετρία υπεριώδους	Παράρτημα IX	Φασματοφωτομετρική ανάλυση
— Οργανοληπτική εξέταση	Παράρτημα XII	Οργανοληπτική εξέταση παρθένου ελαιολάδου
— Αιθυλεστέρες	Παράρτημα XX	Μέθοδος προσδιορισμού της περιεκτικότητας σε κηρούς, καθώς και σε μεθυλεστέρες και αιθυλεστέρες λιπαρών οξέων, με αεριοχρωματογραφία τριχοειδούς στήλης
— 3,5-στιγμασταδιένια	Παράρτημα XVII	Μέθοδος προσδιορισμού των στιγμασταδιενίων στα φυτικά έλαια
— Trans ισομερή των λιπαρών οξέων	Παράρτημα X «Α» και	Ανάλυση μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων με αεριοχρωματογραφία
	Παράρτημα X «Β»	Παρασκευή μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων
— Σύνθεση σε λιπαρά οξέα	Παράρτημα X «Α» και	Ανάλυση μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων με αεριοχρωματογραφία
	Παράρτημα X «Β»	Παρασκευή μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων
— ΔECN42	Παράρτημα XVIII	Προσδιορισμός της σύνθεσης σε τριγλυκερίδια με ECN42 (διαφορά μεταξύ των δεδομένων HPLC και της θεωρητικής περιεκτικότητας)
— Σύνθεση σε στερόλες και ολικές στερόλες — Ερυθροδιόλη και ουβαόλη	Παράρτημα V	Προσδιορισμός της σύστασης και της περιεκτικότητας σε στερόλες και τριτερπενικές διακοόλες μέσω αέριας χρωματογραφίας τριχοειδούς στήλης
— Κηροί	Παράρτημα IV	Προσδιορισμός της περιεκτικότητας σε κηρούς με αεριοχρωματογραφία τριχοειδούς στήλης
— Αλειφατικές αλκοόλες	Παράρτημα XIX	Προσδιορισμός της περιεκτικότητας σε αλειφατικές αλκοόλες με αεριοχρωματογραφία τριχοειδούς στήλης
— Κορεσμένα λιπαρά οξέα στη θέση 2	Παράρτημα VII	Προσδιορισμός της εκατοστιαίας αναλογίας 2-μονοπαλμτινής»

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ IV

## «ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ V

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΣΤΕΡΟΛΕΣ ΚΑΙ ΤΡΙΤΕΡΠΕΝΙΚΕΣ ΔΙΑΛΚΟΟΛΕΣ ΜΕ ΑΕΡΙΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΤΡΙΧΟΞΕΙΔΟΥΣ ΣΤΗΛΗΣ**

## 1. ANTIKΕΙΜΕΝΟ

Η μέθοδος περιγράφει τη διαδικασία προσδιορισμού της περιεκτικότητας ελαιολάδων και πυρηνελαίων σε στερόλες και σε τριτερπενικές διαλκοόλες, μεμονωμένες και ολικές.

## 2. APXH THΣ MEΘOΔOY

Το έλαιο, στο οποίο έχει προστεθεί α-χολεστανόλη ως εσωτερικό πρότυπο, σαπωνοποιείται με αιθανολικό διάλυμα υδροξειδίου του καλίου· στη συνέχεια, οι ασαπωνοποίητες ύλες εκχυλίζονται με αιθυλαϊθέρα.

Το κλάσμα στερολών και τριτερπενικών διαλκοολών διαχωρίζεται από τις ασαπωνοποίητες ύλες με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας σε βασική πλάκα πυριτικής πηκτής (silica gel). Τα ανακτώμενα από την πλάκα κλάσματα μετατρέπονται σε τριμεθυλοσιλυλαϊθέρες και, στη συνέχεια, υποβάλλονται σε ανάλυση με αεριοχρωματογραφία τριχοξειδούς στήλης.

## 3. EPΓAΣTHPIAKA SKEYH KAI OPΓANA

Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός και, ειδικότερα, τα εξής:

- 3.1. Σφαιρική φιάλη των 250 ml, εφοδιασμένη με κάθετο ψυκτήρα με εσφυρισμένους κωνικούς συνδέσμους.
  - 3.2. Διαχωριστική χοάνη των 500 ml.
  - 3.3. Σφαιρικές φιάλες των 250 ml.
  - 3.4. Πλήρης εξοπλισμός για ανάλυση με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας, με γυάλινες πλάκες διαστάσεων 20 × 20 cm.
  - 3.5. Λυχνία υπεριώδους φωτός, με μήκος κύματος 254 ή 366 nm.
  - 3.6. Μικροσύριγγες των 100 και 500 μl.
  - 3.7. Κυλινδρική διηθητική χοάνη με πορώδες διάφραγμα G3 (πορώδους 15-40 μm), διαμέτρου 2 cm περίπου και ύψους 5 cm, κατάλληλη για διήθηση υπό κενό, και με εσφυρισμένο κωνικό σύνδεσμο (αρσενικό).
  - 3.8. Κωνική φιάλη κενού των 50 ml, με εσφυρισμένο κωνικό σύνδεσμο (θηλυκό), η οποία μπορεί να συνδεθεί με τη διηθητική χοάνη (σημείο 3.7).
  - 3.9. Δοκιμαστικός σωλήνας με κωνικό πυθμένα, των 10 ml, με γυάλινο πώμα ασφαλείας.
  - 3.10. Αεριοχρωματογράφος, κατάλληλος για λειτουργία με τριχοειδή στήλη, εφοδιασμένος με σύστημα έγχυσης με διαμοιρασμό (split injector), αποτελούμενος από:
    - 3.10.1. θερμοστατούμενο θάλαμο για στήλες, που επιτρέπει να διατηρείται η επιθυμητή θερμοκρασία με ακρίβεια  $\pm 1^{\circ}\text{C}$ .
    - 3.10.2. μονάδα έγχυσης με ρυθμιζόμενη θερμοκρασία, ψεκαστικό στοιχείο από υπερσιλιανωμένο γυαλί και σύστημα διαμοιρασμού.
    - 3.10.3. ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (FID).
    - 3.10.4. σύστημα απόκτησης δεδομένων κατάλληλο για χρήση με τον ανιχνευτή FID (σημείο 3.10.3.), με δυνατότητα μη αυτόματης ολοκλήρωσης.
  - 3.11. Τριχοειδής στήλη από τετηγμένο διοξείδιο του πυριτίου, μήκους 20 έως 30 m, εσωτερικής διαμέτρου 0,25 έως 0,32 mm, επιστρωμένη με διφαινύλιο 5% - διμεθυλοπολυσιλοξάνιο 95% (στατική φάση SE-52 ή SE-54 ή ανάλογη), ομοιόμορφου πάχους 0,10 έως 0,30 μm.
  - 3.12. Μικροσύριγγα των 10 μl για αέρια χρωματογραφία, με μη αποσπώμενη βελόνα, κατάλληλη για έγχυση με διαμοιρασμό.
  - 3.13. Ξηραντήρας με χλωριούχο ασβέστιο
4. ANTIΔPAΣTHPIA
- 4.1. Υδροξείδιο του καλίου τίτλου τουλάχιστον 85 %.

- 4.2. Αιθανολικό διάλυμα υδροξειδίου του καλίου, περίπου 2 N.  
Διαλύονται υπό ψύξη 130 g υδροξειδίου του καλίου (σημείο 4.1) σε 200 ml απεσταγμένου νερού και συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι το ένα λίτρο με αιθανόλη (σημείο 4.10). Το διάλυμα φυλάσσεται σε καλά πωματισμένες σκοτεινόχρωμες γυάλινες φιάλες, για δύο ημέρες κατά μέγιστο όριο.
- 4.3. Αιθυλαιθέρας, αναλυτικής καθαρότητας.
- 4.4. Αιθανολικό διάλυμα υδροξειδίου του καλίου, περίπου 0,2 N.  
Διαλύονται 13 g υδροξειδίου του καλίου (σημείο 4.1) σε 20 ml απεσταγμένου νερού και συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι το ένα λίτρο με αιθανόλη (σημείο 4.10).
- 4.5. Άνυδρο θειικό νάτριο, αναλυτικής καθαρότητας.
- 4.6. Γυάλινες πλάκες (20x20 cm), επιστρωμένες με πυριτική πηκτή χωρίς δείκτη φθορισμού, πάχους 0,25 mm (διατίθενται στο εμπόριο έτοιμες για χρήση).
- 4.7. Τολουόλιο, χρωματογραφικής καθαρότητας.
- 4.8. Ακετόνη, χρωματογραφικής καθαρότητας.
- 4.9. n-εξάνιο, χρωματογραφικής καθαρότητας.
- 4.10. Αιθυλαιθέρας, χρωματογραφικής καθαρότητας.
- 4.11. Αιθανόλη, αναλυτικής καθαρότητας.
- 4.12. Οξικός αιθυλεστέρας, αναλυτικής καθαρότητας.
- 4.13. Διάλυμα αναφοράς για χρωματογραφία λεπτής στιβάδας: χοληστερόλη ή φυτοστερόλη, και διάλυμα ερυθροδιόλης 5 % σε οξικό αιθυλεστέρα (σημείο 4.11).
- 4.14. Αιθανολικό διάλυμα 2-7-δihλωροφλουορεσκεΐνης 0,2 %. Το διάλυμα καθίσταται ελαφρώς αλκαλικό με την προσθήκη μερικών σταγόνων αλκοολικού διαλύματος υδροξειδίου του καλίου 2 N (σημείο 4.2).
- 4.15. Άνυδρη πυριδίνη, χρωματογραφικής καθαρότητας (βλ. σημείωση 5).
- 4.16. Εξαμεθυλοδισιλαζάνιο, αναλυτικής καθαρότητας.
- 4.17. Τριμεθυλοχλωροσιλάνιο, αναλυτικής καθαρότητας.
- 4.18. Διαλύματα δείγματος τριμεθυλοσιλυλαιθέρων των στερολών.  
Παρασκευάζονται κατά τον χρόνο της χρήσης από στερόλες και ερυθροδιόλη, προερχόμενες από τα έλαια που τις περιέχουν.
- 4.19. α-χολεστανόλη, καθαρότητας άνω του 99% (η καθαρότητα πρέπει να ελέγχεται με αεριοχρωματογραφική ανάλυση).
- 4.20. Διάλυμα εσωτερικού προτύπου α-χολεστανόλης 0,2% (m/V) σε οξικό αιθυλεστέρα (σημείο 4.11).
- 4.21. Διάλυμα φαινολοφθαλεΐνης 10 g/L σε αιθανόλη (σημείο 4.10).
- 4.22. Φέρον αέριο: υδρογόνο ή ήλιο, αεριοχρωματογραφικής καθαρότητας.
- 4.23. Βοηθητικά αέρια: υδρογόνο, ήλιο, άζωτο και αέρας, αεριοχρωματογραφικής καθαρότητας.
- 4.24. Μείγμα n-εξανίου (σημείο 4.9)/αιθυλαιθέρα (σημείο 4.10) 65:35 (V/V).
- 4.25. Αντιδραστήριο σιλυλίωσης, το οποίο είναι μείγμα πυριδίνης-εξαμεθυλοδισιλαζανίου-τριμεθυλοχλωροσιλανίου 9:3:1 (V/V/V).
5. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ
- 5.1. Παρασκευή των ασαπωνοποίητων υλών.
- 5.1.1. Με τη βοήθεια μικροσύριγγας των 500 μl (σημείο 3.6), εισάγεται στη σφαιρική φιάλη των 250 ml (σημείο 3.1) όγκος διαλύματος εσωτερικού προτύπου α-χολεστανόλης (σημείο 4.20) ο οποίος περιέχει ποσότητα χολεστανόλης που αντιστοιχεί σε 10 % περίπου της περιεκτικότητας του δείγματος σε στερόλες. Για παράδειγμα, για 5 g δείγματος ελαιοάδου πρέπει να προστεθούν 500 μl του διαλύματος α-χολεστανόλης (σημείο 4.20), ενώ για 5 g δείγματος πυρηνελαιίου πρέπει να προστεθούν 1 500 μl. Το διάλυμα εξατμίζεται σε θερμό υδατόλουτρο, σε ελαφρύ ρεύμα αζώτου, μέχρι ξηρού. Μετά την ψύξη της σφαιρικής φιάλης ζυγίζονται  $5 \pm 0,01$  g ξηρού διηθημένου δείγματος στην ίδια σφαιρική φιάλη.
- Σημείωση 1: Στην περίπτωση των ζωικών ή φυτικών λιπών και ελαίων τα οποία περιέχουν σημαντικές ποσότητες χοληστερόλης, μπορεί να εμφανιστεί κορυφή η οποία έχει παρόμοιο χρόνο κατακράτησης με αυτόν της χολεστανόλης. Σε αυτές τις περιπτώσεις, πρέπει να αναλύεται το στερολικό κλάσμα εις διπλούν, με και χωρίς εσωτερικό πρότυπο.

5.1.2. Προστίθενται 50 ml αιθανολικού διαλύματος υδροξειδίου του καλίου 2 N (σημείο 4.2) και τεμαχίδια ελαφρόπετρας, συνδέεται ο κάθετος ψυκτήρας και το σύνολο θερμαίνεται, διατηρούμενο σε ήπιο βρασμό, μέχρι να πραγματοποιηθεί η σαπωνοποίηση (το διάλυμα γίνεται διαυγές). Συνεχίζεται η θέρμανση για 20 λεπτά, έπειτα προστίθενται 50 ml απεσταγμένου νερού από το επάνω μέρος του ψυκτήρα, αποσυνδέεται ο ψυκτήρας και ψύχεται η σφαιρική φιάλη μέχρι τους 30 °C περίπου.

5.1.3. Μεταγγίζεται ποσοτικώς το περιεχόμενο της σφαιρικής φιάλης σε διαχωριστική χοάνη των 500 ml (σημείο 3.2), με τη βοήθεια διαδοχικών ποσοτήτων απεσταγμένου νερού (50 ml). Προστίθενται περίπου 80 ml αιθυλαιθέρα (σημείο 4.10) και ανακινείται ζωηρά η διαχωριστική χοάνη για περίπου 60 δευτερόλεπτα, ενώ κατά διαστήματα εκτονώνεται η πίεση με αναστροφή της χοάνης και άνοιγμα της στρόφιγγας. Αφήνεται σε ηρεμία μέχρι να ολοκληρωθεί ο διαχωρισμός των δύο φάσεων (σημείωση 2).

Στη συνέχεια, αφαιρείται όσο το δυνατόν πληρέστερα το διάλυμα σάβωνα και φέρεται σε δεύτερη διαχωριστική χοάνη. Εκτελούνται δύο ακόμη εκχυλίσεις της υδατικής-αλκοολικής φάσης, με τον ίδιο τρόπο και με 60 έως 70 ml αιθυλαιθέρα (σημείο 4.10).

Σημείωση 2: Τα πιθανά γαλακτώματα μπορούν να καταστραφούν με την προσθήκη μικρών ποσοτήτων αιθανόλης (σημείο 4.11).

5.1.4. Ενώνεται τα τρία αιθερικά εκχυλίσματα σε μία διαχωριστική χοάνη η οποία περιέχει 50 ml νερού. Συνεχίζεται η έκπλυση με νερό (50 ml) μέχρις ότου το νερό έκπλυσης δεν χρωματίζεται πλέον ρόδινο με την προσθήκη μιας σταγόνας διαλύματος φαινολοφθαλεΐνης (σημείο 4.21).

Μετά την απομάκρυνση του νερού έκπλυσης, ακολουθεί διήθηση σε άνυδρο θεικό νάτριο (σημείο 4.5) σε προζυγισμένη σφαιρική φιάλη των 250 ml, ενώ η χοάνη και ο ηθμός εκπλύνονται με μικρές ποσότητες αιθυλαιθέρα (σημείο 4.10).

5.1.5. Εξατμίζεται ο διαλύτης με απόσταξη σε περιστροφικό εξατμιστήρα στους 30 °C υπό κενό. Προστίθενται 5 ml ακετόνης και απομακρύνεται πλήρως ο πτητικός διαλύτης με ελαφρύ ρεύμα αέρα. Το υπόλειμμα ξηραίνεται σε κλίβανο στους 103 ± 2 °C επί 15 λεπτά. Ψύχεται σε ξηραντήρες και ζυγίζεται με ακρίβεια 0,1 mg.

5.2. Διαχωρισμός του κλάσματος στερολών και τριτερπενικών διαλκοολών (ερυθροδιόλη + ουβαόλη)

5.2.1. Ετοιμασία των βασικών πλακών χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας. Οι πλάκες πυριτικής πηκτής (σημείο 4.6) βυθίζονται σε βάθος περίπου 4 cm στο αιθανολικό διάλυμα υδροξειδίου του καλίου 0,2 N (σημείο 4.5) επί 10 δευτερόλεπτα, στη συνέχεια αφήνονται να στεγνώσουν σε απαγωγό επί δύο ώρες και, τέλος, τοποθετούνται σε κλίβανο στους 100 °C επί μία ώρα.

Απομακρύνονται από τον κλίβανο και φυλάσσονται σε ξηραντήρα με χλωριούχο ασβέστιο (σημείο 3.13) μέχρι να χρησιμοποιηθούν (οι πλάκες που έχουν υποστεί αυτή την κατεργασία πρέπει να χρησιμοποιούνται εντός 15 ημερών).

Σημείωση 3: Η χρήση βασικών πλακών πυριτικής πηκτής για τον διαχωρισμό του στερολικού κλάσματος εξαλείφει την ανάγκη κατεργασίας του ασαπωνοποίητου κλάσματος με αλουμίνα. Με τον τρόπο αυτό, όλες οι ενώσεις όξινου χαρακτήρα (λιπαρά οξέα και άλλες) συγκρατούνται στη γραμμή τοποθέτησης των κηλίδων δείγματος και η ζώνη των αλειφατικών και τριτερπενικών αλκοολών εμφανίζεται σαφώς διαχωρισμένη από τη ζώνη των στερολών.

5.2.2. Στον θάλαμο ανάπτυξης εισάγεται μείγμα εξανίου-αιθυλαιθέρα (σημείο 4.24) (σημείωση 4) μέχρι ύψους περίπου 1 cm. Ο θάλαμος κλείνεται με κατάλληλο κάλυμμα και αφήνεται σε ηρεμία επί μισή ώρα τουλάχιστον, σε ψυχρό χώρο, ώστε να αποκατασταθεί ισορροπία υγρού-ατμών. Στις εσωτερικές επιφάνειες του θαλάμου είναι δυνατόν να στερεωθούν λωρίδες διηθητικού χαρτιού που βυθίζονται στο υγρό έκλουσης. Με τον τρόπο αυτό μειώνεται κατά το ένα τρίτο περίπου ο χρόνος ανάπτυξης του χρωματογραφήματος και επιτυγχάνεται πιο ομοιόμορφη και ομαλή έκλουση των συστατικών.

Σημείωση 4: Για να επιτυγχάνονται απολύτως αναπαραγώγιμες συνθήκες έκλουσης, πρέπει να χρησιμοποιείται νέο μείγμα ανάπτυξης σε κάθε δοκιμή. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εναλλακτικός διαλύτης μείγμα n-εξανίου-αιθυλεθέρα 50:50 (V/V).

5.2.3. Παρασκευάζεται διάλυμα ασαπωνοποίητων υλών (σημείο 5.1.5) 5 % περίπου σε οξικό αιθυλεστέρα (σημείο 4.12). Με μικροσύριγγες των 100 ml τοποθετούνται στο κάτω χείλος (2 cm) της χρωματογραφικής πλάκας (σημείο 5.2.1) 0,3 ml του προαναφερθέντος διαλύματος σε μια λεπτή και ομοιόμορφη γραμμή. Στην ευθεία της γραμμής τοποθέτησης, φέρονται 2 έως 3 μl του διαλύματος αναφοράς του υλικού (σημείο 4.13), για την ταυτοποίηση της ζώνης των στερολών και τριτερπενικών διαλκοολών μετά την ανάπτυξη.

5.2.4. Η πλάκα τοποθετείται στον θάλαμο ανάπτυξης, ο οποίος έχει προετοιμαστεί όπως περιγράφεται στο σημείο 5.2.2. Η θερμοκρασία του περιβάλλοντος πρέπει να διατηρείται μεταξύ 15 και 20 °C (σημείωση 5). Ο θάλαμος κλείνεται αμέσως με το κάλυμμα και αφήνεται προς έκλυση μέχρι το μέτωπο του διαλύτη να φθάσει σε ύψος περίπου 1 cm από το πάνω χείλος της πλάκας. Απομακρύνεται η πλάκα από τον θάλαμο ανάπτυξης και ο διαλύτης εξατμίζεται σε ρεύμα θερμού αέρα ή αφήνοντας την πλάκα να στεγνώσει σε απαγωγό.

Σημείωση 5: Τυχόν υψηλότερη θερμοκρασία θα μπορούσε να δυσχεράνει τον διαχωρισμό.



- 5.2.5. Η πλάκα ψεκάζεται ελαφρά και ομοιόμορφα με το διάλυμα 2,7-διχλωροφλουορεσκεΐνης (σημείο 4.14) και, στη συνέχεια, αφήνεται να στεγνώσει. Όταν η πλάκα παρατηρείται κάτω από υπεριώδες φως, οι ζώνες των στερολών και τριτερπενικών διαλκοολών μπορούν να αναγνωριστούν από την ευθυγράμμιση τους με τις κηλίδες του διαλύματος αναφοράς (σημείο 4.13). Σημειώνεται με μαύρο μολύβι το περίγραμμα των ζωνών κατά μήκος των άκρων του φθορισμού (βλ. εικόνα πλάκας χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας στο σχήμα 3).
- 5.2.6. Αφαιρείται η πυριτική πηκτή από τη σημειωμένη επιφάνεια με απόξεση με τη βοήθεια μεταλλικής σπάτουλας. Το αφαιρούμενο θρυμματισμένο υλικό φέρεται σε διηθητική χοάνη (σημείο 3.7). Προστίθενται 10 ml οξικού αιθυλεστέρα (σημείο 4.12) και το σύνολο αναμιγνύεται προσεκτικά με τη μεταλλική σπάτουλα και διηθείται υπό κενό. Το διήθημα συλλέγεται στην κωνική φιάλη (σημείο 3.8) που είναι συνδεδεμένη με τη διηθητική χοάνη.
- Εκπλύνεται το υπόλειμμα στη χοάνη τρεις φορές με αιθυλαϊθέρα (σημείο 4.3) (περίπου 10 ml κάθε φορά) και το διήθημα συλλέγεται ομοίως στη φιάλη που είναι συνδεδεμένη με τη διηθητική χοάνη. Εξατμίζεται το διήθημα μέχρι όγκου περίπου 4-5 ml, μεταγγίζεται το υπολειπόμενο διάλυμα μέσα στον προζυγισμένο σωλήνα των 10 ml (σημείο 3.9) και εξατμίζεται μέχρι ξηρού με ήπια θέρμανση σε ελαφρύ ρεύμα αζώτου. Προστίθενται μερικές σταγόνες ακετόνης (σημείο 4.8) και εξατμίζεται εκ νέου μέχρι ξηρού.
- Το υπόλειμμα που περιέχει ο δοκιμαστικός σωλήνας αποτελείται από τα κλάσματα των στερολών και των τριτερπενικών διαλκοολών.
- 5.3. Παρασκευή των τριμεθυλοσιλυλαϊθέρων.
- 5.3.1. Στον δοκιμαστικό σωλήνα που περιέχει το κλάσμα στερολών και τριτερπενικών διαλκοολών προστίθεται το αντιδραστήριο σιλυλίωσης (σημείο 4.25) (σημείωση 6), σε αναλογία 50 μl ανά χιλιοστόγραμμα στερολών και τριτερπενικών διαλκοολών, αποφεύγοντας κάθε απορρόφηση υγρασίας (σημείωση 7).
- Σημείωση 6:* Υπάρχουν στο εμπόριο διαλύματα έτοιμα προς χρήση. Διατίθενται στο εμπόριο και άλλα σιλυλιωτικά αντιδραστήρια, όπως π.χ. το δις(τριμεθυλοσιλυλο)τριφθορακεταμίδιο + 1 % τριμεθυλοχλωροσιλάνιο, το οποίο πρέπει να αραιώνεται με ίσο όγκο άνυδρης πυριδίνης.
- Η πυριδίνη μπορεί να αντικατασταθεί από την ίδια ποσότητα ακετοντριλίου.
- 5.3.2. Ο δοκιμαστικός σωλήνας πωματίζεται, ανακινείται προσεκτικά (χωρίς αναστροφή) έως την πλήρη διαλυτοποίηση των ενώσεων. Αφήνεται σε ηρεμία για 15 τουλάχιστον λεπτά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και κατόπιν φυγοκεντρείται για μερικά λεπτά: το διαυγές διάλυμα είναι έτοιμο για αεριοχρωματογραφική ανάλυση.
- Σημείωση 7:* Η ενδεχόμενη εμφάνιση ελαφρού γαλακτώδους ιριδισμού είναι φυσιολογική και δεν προκαλεί κανένα πρόβλημα. Ένδειξη παρουσίας υγρασίας ή αλλοίωσης του αντιδραστηρίου αποτελεί ο σχηματισμός λευκών νιφάδων ή η εμφάνιση ρόδινου χρώματος. Στην περίπτωση αυτή, η δοκιμή πρέπει να επαναληφθεί (μόνο εάν χρησιμοποιείται μείγμα εξαμεθυλοδισιλαζανίου-τριμεθυλοχλωροσιλάνιου).
- 5.4. Ανάλυση με αεριοχρωματογραφία.
- 5.4.1. Προκαταρκτικές εργασίες, σταθεροποίηση της τριχοειδούς στήλης.
- 5.4.1.1. Τοποθετείται η στήλη (σημείο 3.11) στον αεριοχρωματογράφο, συνδέοντας το άκρο εισόδου με το σύστημα έγχυσης με διαμορισμό και το άκρο εξόδου με τον ανιχνευτή.
- Διενεργούνται οι συνήθεις έλεγχοι της αεριοχρωματογραφικής μονάδας (διαρροές από τα κυκλώματα των αερίων, απόδοση του ανιχνευτή, του συστήματος διαμορισμού και του συστήματος καταγραφής κ.λπ.).
- 5.4.1.2. Εάν η στήλη χρησιμοποιείται για πρώτη φορά, συνιστάται να προηγηθεί σταθεροποίηση: Διοχετεύεται ελαφρύ ρεύμα αερίου διαμέσου της στήλης, τίθεται σε λειτουργία η αεριοχρωματογραφική μονάδα και αρχίζει βαθμιαία θέρμανση μέχρις ότου η θερμοκρασία υπερβεί κατά τουλάχιστον 20 °C εκείνη της κανονικής λειτουργίας (σημείωση 8). Η θερμοκρασία αυτή διατηρείται για δύο ώρες τουλάχιστον, κατόπιν ολόκληρη η μονάδα τίθεται σε κατάσταση λειτουργίας (ρύθμιση της ροής των αερίων και του διαμορισμού, έναυση της φλόγας, σύνδεση με το υπολογιστικό σύστημα, ρύθμιση της θερμοκρασίας της στήλης, του ανιχνευτή και του συστήματος έγχυσης κ.λπ.) και, στη συνέχεια, καταγράφεται το σήμα με ευαισθησία τουλάχιστον διπλάσια της σκοπούμενης για την ανάλυση. Η γραμμή βάσης πρέπει να είναι ευθεία, χωρίς κανενός είδους κορυφή, και να μην παρουσιάζει ολίσθηση.
- Τυχόν αρνητική ευθύγραμμη ολίσθηση υποδηλώνει ατελή στεγανότητα των συνδέσεων της στήλης, ενώ η θετική ολίσθηση υποδηλώνει ανεπαρκή σταθεροποίηση της στήλης.
- Σημείωση 8:* Η θερμοκρασία σταθεροποίησης πρέπει να είναι πάντοτε χαμηλότερη κατά 20 °C τουλάχιστον από τη μέγιστη θερμοκρασία που προβλέπεται στις προδιαγραφές της χρησιμοποιούμενης στατικής φάσης.
- 5.4.2. Επιλογή συνθηκών λειτουργίας
- 5.4.2.1. Οι συνθήκες λειτουργίας είναι οι ακόλουθες:
- θερμοκρασία της στήλης: 260 ± 5 °C·
  - θερμοκρασία του συστήματος έγχυσης: 280-300 °C·
  - θερμοκρασία του ανιχνευτή: 280-300 °C·
  - γραμμική ταχύτητα του φέροντος αερίου: ήλιο 20 έως 35 cm/s, υδρογόνο 30 έως 50 cm/s·

- αναλογία διαμοίρασμού: από 1:50 έως 1:100·
- ευαισθησία του οργάνου: τετραπλάσια έως 16πλάσια της ελάχιστης εξασθένισης·
- ευαισθησία καταγραφής: 1 έως 2 mV στην πλήρη κλίμακα,
- ποσότητα εγχόμενης ουσίας: 0,5 έως 1 μl διαλύματος τριμεθυλοσιλυλαϊθέρων (TMSE).

Οι συνθήκες αυτές μπορούν να μεταβάλλονται ανάλογα με τα χαρακτηριστικά της στήλης και του αεριοχρωματογράφου, ώστε να λαμβάνονται χρωματογραφήματα που να πληρούν τις ακόλουθες απαιτήσεις:

- ο χρόνος κατακράτησης για την κορυφή της β-σιτοστερόλης θα πρέπει να είναι  $20 \pm 5$  min·
- η κορυφή της καμπεστερόλης θα πρέπει να είναι: για το ελαιόλαδο (μέση περιεκτικότητα 3%)  $20 \pm 5$  % της πλήρους κλίμακας, για το σογιέλαιο (μέση περιεκτικότητα 20 %)  $80 \pm 10$  % της πλήρους κλίμακας·
- πρέπει να διαχωρίζονται όλες οι περιεχόμενες στερόλες. Οι κορυφές, εκτός του διαχωρισμού τους, πρέπει να είναι και τελείως διακριτές, δηλαδή το ίχνος κάθε κορυφής θα πρέπει να επιστρέφει στη γραμμή βάσης, πριν αρχίσει να διαγράφεται η επόμενη κορυφή. Η ανεπαρκής διαχωριστική ικανότητα είναι, παρ' όλα αυτά, ανεκτή, υπό την προϋπόθεση ότι η κορυφή που αντιστοιχεί στον χρόνο κατακράτησης 1,02 (σιτοστανόλη) είναι ποσοτικά μετρήσιμη με τη χρήση της καθέτου.

#### 5.4.3. Εκτέλεση της ανάλυσης

- 5.4.3.1. Με τη μικροσύριγγα των 10 μl λαμβάνεται 1 μl εξανίου, αναρροφώνται 0,5 μl αέρα και στη συνέχεια 0,5 έως 1 μl του διαλύματος του δείγματος. Ανυψώνεται λίγο ακόμη το έμβολο της σύριγγας ώστε να κενωθεί η βελόνα. Εισάγεται η βελόνα στη μεμβράνη του συστήματος έγχυσης και μετά από ένα έως δύο δευτερόλεπτα εγχέεται ταχύτατα το περιεχόμενό της. Στη συνέχεια, έπειτα από πέντε δευτερόλεπτα περίπου, η βελόνα αποσύρεται αργά.

Μπορεί να χρησιμοποιηθεί επίσης αυτόματο σύστημα έγχυσης.

- 5.4.3.2. Εκτελείται καταγραφή μέχρι πλήρους έκλουσης των TMSE των περιεχόμενων τριτερπενικών διαλκοολών. Η γραμμή βάσης πρέπει να εξακολουθεί να πληροί τις απαιτήσεις (σημείο 5.4.1.2).

#### 5.4.4. Ταυτοποίηση των κορυφών

Οι κορυφές ταυτοποιούνται βάσει των χρόνων κατακράτησης και μέσω σύγκρισης με το μείγμα TMSE των στερολών και των τριτερπενικών διαλκοολών που έχει υποβληθεί σε ανάλυση υπό τις ίδιες συνθήκες (βλ. προσάρτημα).

Οι στερόλες και οι τριτερπενικές διαλκοόλες εκλούνται με την ακόλουθη σειρά: χοληστερόλη, βρασικαστερόλη, εργοστερόλη, 24-μεθυλενο-χοληστερόλη, καμπεστερόλη, καμπεστανόλη, στιγμαστερόλη, δ-7-καμπεστερόλη, δ-5,23-στιγμασταδιενόλη, κλεροστερόλη, β-σιτοστερόλη, σιτοστανόλη, δ-5-αβεναστερόλη, δ-5,24-στιγμασταδιενόλη, δ-7-στιγμαστερόλη, δ-7-αβεναστερόλη, ερυθροδιόλη και ουβαόλη.

Στον πίνακα 1 αναφέρονται οι χρόνοι κατακράτησης της β-σιτοστερόλης για τις στήλες SE-52 και SE-54.

Στα σχήματα 1 και 2 απεικονίζονται τυπικά χρωματογραφήματα για ορισμένα έλαια.

#### 5.4.5. Ποσοτική αξιολόγηση.

- 5.4.5.1. Με τη βοήθεια του υπολογιστικού συστήματος υπολογίζονται τα εμβαδά των κορυφών που αντιστοιχούν στην α-χολεστανόλη και στις στερόλες και τριτερπενικές διαλκοόλες. Δεν λαμβάνονται υπόψη οι κορυφές ενώσεων που δεν περιλαμβάνονται στις ενώσεις του πίνακα 1 (δεν πρέπει υπολογίζεται η εργοστερόλη). Ο συντελεστής απόκρισης για την α-χολεστανόλη θα πρέπει να θεωρείται ότι ισούται με 1.

- 5.4.5.2. Υπολογίζεται η συγκέντρωση κάθε στερόλης χωριστά, σε mg/100 g λιπαρής ουσίας, ως ακολούθως:

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

όπου:

$A_x$  = εμβαδόν της κορυφής της στερόλης x, σε μονάδες υπολογιστικού συστήματος·

$A_s$  = εμβαδόν της κορυφής της α-χολεστανόλης, σε μονάδες υπολογιστικού συστήματος·

$m_s$  = μάζα της α-χολεστανόλης που προστέθηκε, σε χιλιοστόγραμμα·

$m$  = μάζα του δείγματος που ελήφθη για τον προσδιορισμό, σε γραμμάρια.

## 6. ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

- 6.1. Αναφέρονται οι συγκεντρώσεις των επιμέρους στερολών, σε mg/kg λιπαρής ουσίας, καθώς και το άθροισμά τους ως «ολικές στερόλες».

Η σύνθεση σε επιμέρους στερόλες και σε ερυθροδιόλη και ουβαόλη θα πρέπει να εκφράζεται με ένα δεκαδικό ψηφίο.

Η σύνθεση σε ολικές στερόλες πρέπει να εκφράζεται χωρίς δεκαδικά ψηφία.

- 6.2. Υπολογίζεται η εκατοστιαία αναλογία κάθε στερόλης από τον λόγο του εμβαδού της αντίστοιχης κορυφής προς το άθροισμα των εμβαδών των κορυφών των στερολών, της ερυθροδιόλης και της ουβαόλης:

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

όπου:

$A_x$  = εμβαδόν της κορυφής της στερόλης x·

$\Sigma A$  = άθροισμα των εμβαδών όλων των κορυφών·

- 6.3. Φαινόμενη β- σιτοστερόλη: δ-5,23-σιγμασταδιενόλη + χολεστερόλη + β-σιτοστερόλη + σιτοστανόλη + δ-5-αβεναστερόλη + δ-5,24-σιγμασταδιενόλη.
- 6.4. Υπολογίζεται η εκατοστιαία αναλογία ερυθροδιόλης και ουβαόλης:

$$\text{Ερυθροδιόλη} + \text{Ουβαόλη} = \frac{E_r + U_v}{E_r + U_v + \Sigma A} \times 100$$

όπου

$\Sigma A$  = αθροιστικό εμβαδόν των κορυφών των στερολών, σε μονάδες υπολογιστικού συστήματος·

$E_r$  = εμβαδόν της κορυφής της ερυθροδιόλης, σε μονάδες υπολογιστικού συστήματος·

$U_v$  = εμβαδόν της κορυφής της ουβαόλης, σε μονάδες υπολογιστικού συστήματος·

## Προσαρτημα

## Προσδιορισμός της γραμμικής ταχύτητας του αερίου

Εγχέονται 1 έως 3 μl μεθανίου (ή προπανίου) στον αεροχρωματογράφο, ο οποίος έχει προηγουμένως ρυθμιστεί στις κανονικές συνθήκες λειτουργίας. Χρονομετράται η διαδρομή του αερίου μέσω της στήλης από την έγχυσή του μέχρι την εμφάνιση της κορυφής (tM).

Η γραμμική ταχύτητα, σε cm/s, παρέχεται από τον τύπο L/tM, όπου L το μήκος της στήλης, σε εκατοστόμετρα, και tM ο μετρούμενος χρόνος, σε δευτερόλεπτα.

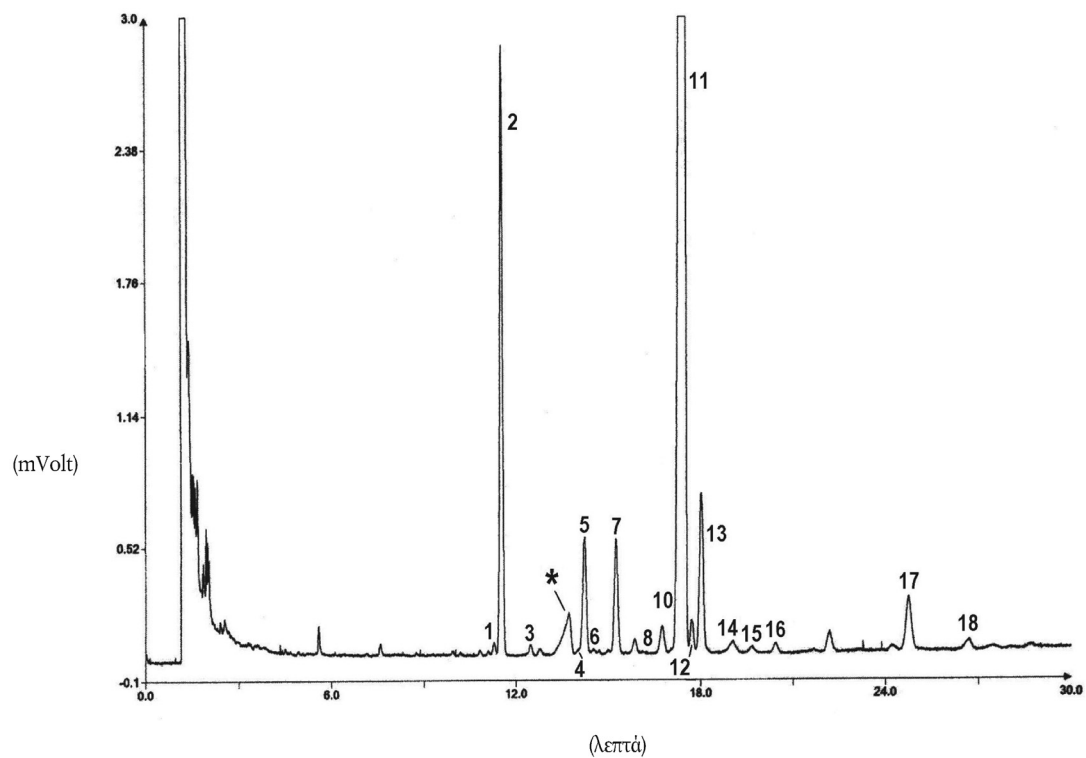
Πίνακας 1

## Σχετικοί χρόνοι κατακράτησης των στερολών

Κορυφή	Ταυτοποίηση		Σχετικός χρόνος κατακράτησης	
			Στήλη SE 54	Στήλη SE 52
1	Χοληστερόλη	δ-5-χοληστεν-3β-όλη	0,67	0,63
2	Χολεστανόλη	5α-χολησταν-3β-όλη	0,68	0,64
3	Βρασικαστερόλη	[24S]-24-μεθυλο-δ-5,22-χολησταδιεν-3β-όλη	0,73	0,71
*	Εργοστερόλη	[24S]-24-μεθυλο-Δ-5,7,22-χοληστατριεν-3β-όλη	0,78	0,76
4	24-μεθυλενο-χοληστερόλη	24-μεθυλενο-Δ-5,24-χολησταδιεν-3β-όλη	0,82	0,80
5	Καμπεστερόλη	(24R)-24-μεθυλο-Δ-5-χοληστεν-3β-όλη	0,83	0,81
6	Καμπεστανόλη	(24 R)- 24-μεθυλο-χολησταν-3β-όλη	0,85	0,82
7	Στιγμαστερόλη	(24S)-24-αιθυλο-Δ-5,22-χολησταδιεν-3β-όλη	0,88	0,87
8	Δ-7-καμπεστερόλη	(24R)-24-μεθυλο-Δ-7-χοληστεν-3β-όλη	0,93	0,92
9	Δ-Δ5,23-στιγμασταδιενόλη	(24R,S)-24-αιθυλο-Δ-5,23-χολησταδιεν-3β-όλη	0,95	0,95
10	Κλεροστερόλη	(24S)-24-αιθυλο-Δ-5,25-χολεσταδιεν-3β-όλη	0,96	0,96
11	β-σιτοστερόλη	(24R)-24-αιθυλ-Δ5-χοληστεν-3β-όλη	1,00	1,00
12	Σιτοστανόλη	24-αιθυλο-χολησταν-3β-όλη	1,02	1,02
13	Δ-5-αβεναστερόλη	(24Z)-24-αιθυλιδενο-Δ-5-χοληστεν-3β-όλη	1,03	1,03
14	Δ-5,24-στιγμασταδιενόλη	(24R,S)-24-αιθυλο-Δ-5,24-χολησταδιεν-3β-όλη	1,08	1,08
15	Δ-7-στιγμαστενóλη	(24R,S)-24-αιθυλο-Δ-7-χοληστεν-3β-όλη	1,12	1,12
16	Δ-7-αβεναστερόλη	(24Z)-24-αιθυλιδενο-Δ-7-χοληστεν-3β-όλη	1,16	1,16
17	Ερυθροδιόλη	5α-ελαιαν-12-εν-3β,28-διόλη	1,41	1,41
18	Ουβαόλη	Δ-12-ουρσεν-3β,28-διόλη	1,52	1,52

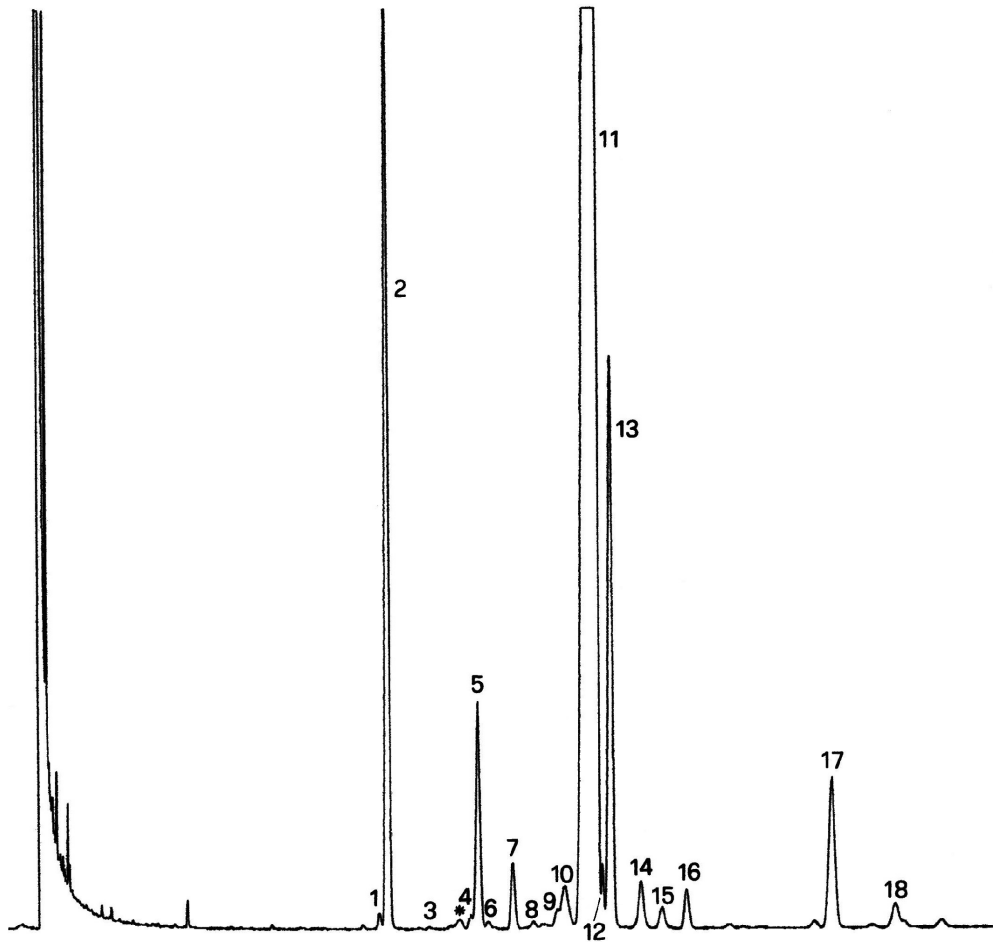
Σχήμα 1

Αεριοχρωματογράφημα του κλάσματος στερολών και τριτερπενικών διαλκοολών ελαιολάδου λαμπάντε (δείγμα εμβολιασμένο με εσωτερικό πρότυπο)



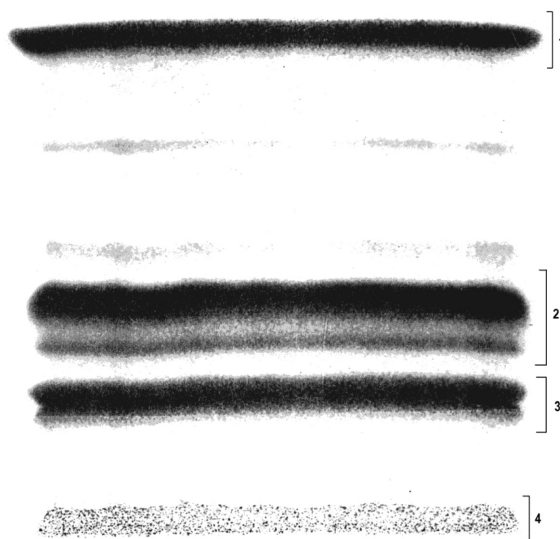
Σχήμα 2

Αεριοχρωματογράφημα του κλάσματος στερολών και τριτερπενικών διαλκοολών εξευγενισμένου ελαιολάδου (δείγμα εμβολιασμένο με εσωτερικό πρότυπο)



Σχήμα 3

Πλάκα χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας ελαιολάδου-πυρηνελαιίου με τη ζώνη που πρέπει να αποξεστεί για τον προσδιορισμό των στερολών και τριτερπενικών διαλκοολών



- 1 - Σκουαλένιο
- 2 - Τριτερπενικές και αλειφατικές αλκοόλες
- 3 - Στερόλες και τριτερπενικές διαλκοόλες
- 4 - Εκκίνηση και ελεύθερα λιπαρά οξέα

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ V

## «ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ XII

**ΜΕΘΟΔΟΣ ΤΟΥ ΔΙΕΘΝΟΥΣ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ ΕΛΑΙΟΚΟΜΙΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΠΑΡΘΕΝΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ**

## 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η παρούσα διεθνής μέθοδος αποβλέπει στον καθορισμό, αφενός της διαδικασίας αξιολόγησης των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του παρθένου ελαιολάδου, κατά την έννοια του σημείου 1 του παραρτήματος XVI του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 1234/2007, και αφετέρου, της διαδικασίας ταξινόμησης των παρθένων ελαιολάδων βάσει των εν λόγω χαρακτηριστικών. Η μέθοδος περιλαμβάνει επίσης ενδείξεις για προαιρετική επίσημανση.

Η περιγραφόμενη μέθοδος ισχύει μόνο για τα παρθένα ελαιόλαδα και για την ταξινόμηση και επίσημάνσή τους με βάση την ένταση των αντιληπτών ελαττωμάτων και του φρουτώδους, που προσδιορίζονται από ομάδα δοκιμαστών οι οποίοι επιλέγονται, εκπαιδεύονται και ελέγχονται ως ομάδα.

Η μέθοδος περιλαμβάνει επίσης ενδείξεις για προαιρετική επίσημανση.

Τα πρότυπα IOC (Διεθνές Συμβούλιο Ελαιοκομίας) που αναφέρονται στο παρόν παράρτημα χρησιμοποιούνται στην τελευταία διαθέσιμη έκδοσή τους.

## 2. ΓΕΝΙΚΟ ΒΑΣΙΚΟ ΛΕΞΙΛΟΓΙΟ ΤΗΣ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

Βλ. πρότυπο IOC/T.20/Doc. No 4 «Sensory Analysis: General Basic Vocabulary » (Οργανοληπτική ανάλυση: Γενικό βασικό λεξιλόγιο)

## 3. ΕΙΔΙΚΟ ΛΕΞΙΛΟΓΙΟ

3.1. **Αρνητικές ιδιότητες**

*Ατροχάδο/Μούργα:* Χαρακτηριστική οσμή-γεύση ελαιολάδου που προέρχεται από ελιές στοιβαγμένες σε σωρούς ή αποθηκευμένες υπό συνθήκες τέτοιες ώστε να βρίσκονται σε προχωρημένο στάδιο αναερόβιας ζύμωσης, ή ελαιολάδου που έχει παραμείνει σε επαφή με το ίζημα το οποίο καθίζει σε δεξαμενές και βαρέλια σε υπόγειες αποθήκες και έχει επίσης υποστεί αναερόβια ζύμωση.

*Μουχλιασμένο- νοτισμένο-χωματίλα:* Χαρακτηριστική οσμή-γεύση ελαιολάδου που προέρχεται από καρπούς προσβεβλημένους σε μεγάλη έκταση από μύκητες και ζυμομύκητες, λόγω της αποθήκευσής τους επί πολλές ημέρες σε υγρό περιβάλλον, ή ελαιολάδου που προέρχεται από ελιές οι οποίες συλλέχθηκαν μαζί με χώμα ή λάσπη και δεν πλύθηκαν.

*Κρασώδες-ξυδάτο- ξινό-ξινισμένο:* Χαρακτηριστική οσμή-γεύση ορισμένων ελαιολάδων που θυμίζει κρασί ή ξύδι. Οφείλεται κυρίως σε διεργασία αερόβιας ζύμωσης των ελιών ή υπολειμμάτων ελαιοζύμης σε σάκους (τάπητες) ελαιοπεστηρίου που δεν καθαρίστηκαν σωστά, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό οξικού οξέος, οξικού αιθυλεστέρα και αιθανόλης.

*Ταγγό:* Οσμή-γεύση των ελαιολάδων που έχουν υποστεί έντονη οξείδωση.

*Παγωμένες ελιές (υγρό ξύλο):* Χαρακτηριστική οσμή-γεύση ελαιολάδων που έχουν παραχθεί από ελιές οι οποίες επλήγησαν από παγετό πάνω στο δένδρο.

3.2. **Άλλες αρνητικές ιδιότητες**

*Ψημένο ή:* Χαρακτηριστική οσμή-γεύση ελαιολάδων προερχόμενη από υπερβολική και/ή παρατεταμένη

*Καμένο:* Θέρμανση κατά την επεξεργασία και, ιδιαίτερα, κατά τη θερμομάλαξη της ελαιοζύμης, όταν αυτή πραγματοποιείται σε ακατάλληλες θερμικές συνθήκες.

*Άχυρο-ξύλο:* Χαρακτηριστική οσμή-γεύση ορισμένων ελαιολάδων που προέρχονται από ελιές οι οποίες έχουν αφυδατωθεί.

*Τραχύ:* Πηχτή, κολλώδης γευστική αίσθηση που δημιουργούν ορισμένα παλαιά έλαια.

*Γράσο:* Οσμή-γεύση ελαιολάδου που θυμίζει πετρέλαιο, λιπαντικά ή ορυκτέλαια.

*Φυτικά υγρά:* Οσμή-γεύση που αποκτά το ελαιόλαδο ύστερα από παρατεταμένη επαφή του με φυτικά υγρά του ελαιοτριβείου τα οποία έχουν υποστεί ζύμωση.

*Άλμη:* Οσμή-γεύση ελαιολάδου που προέρχεται από ελιές διατηρημένες σε άλμη.

*Μεταλλικό:* Οσμή-γεύση που θυμίζει μέταλλο. Είναι χαρακτηριστική ιδιότητα ελαιολάδου που έχει παραμείνει επί μακρόν σε επαφή με μεταλλικές επιφάνειες, κατά τη θραύση του ελαιοκάρπου, τη μάλαξη, την έκθλιψη ή την αποθήκευση.



**Σπάρτο:** Χαρακτηριστική οσμή-γεύση ελαιολάδου που προέρχεται από ελιές οι οποίες έχουν υποστεί έκθλιψη σε καινούργιους σάκους ελαιοπιεστηρίου από σπάρτο. Μπορεί να διαφέρει ανάλογα με το αν πρόκειται για σάκους κατασκευασμένους από χλωρό ή από αποξηραμένο σπάρτο.

**Σκουληκιασμένο:** Οσμή-γεύση ελαιολάδου που προέρχεται από ελιές οι οποίες έχουν προσβληθεί σοβαρά από νύμφες δάκου (*Bactrocera oleae*).

**Αγγορώδες:** Οσμή-γεύση ελαιολάδου η οποία οφείλεται σε υπερβολικά μακρόχρονη ερμητική συσκευασία, και ειδικότερα σε λευκοσιδηρά δοχεία, και αποδίδεται στον σχηματισμό 2,6-εννεαδιενάλης.

### 3.3. Θετικές ιδιότητες

**Φρουτώδες:** Σύνολο οσφραντικών αισθήσεων χαρακτηριστικών των ελαιολάδων, το οποίο εξαρτάται από την ποικιλία της ελιάς και προέρχεται από υγιείς και φρέσκες ελιές, ώριμες ή άγουρες. Γίνεται αντιληπτό απευθείας με την όσφρηση και/ή από την οπισθορινική οδό.

**Πικρό:** Χαρακτηριστική πρωταρχική γεύση ελαιολάδου που έχει ληφθεί από πράσινες ελιές ή από ελιές των οποίων το χρώμα αρχίζει να αλλάζει. Γίνεται αντιληπτή μέσω των περιχαρακωμένων γευστικών θηλών που σχηματίζουν το γευστικό λάμδα της γλώσσας.

**Πικάντικο:** Καυστική απτική αίσθηση, χαρακτηριστική των ελαιολάδων που παράγονται στην αρχή της ελαιοκομικής περιόδου, κυρίως από ελιές που είναι ακόμη άγουρες. Μπορεί να γίνει αντιληπτή σε όλη τη στοματική κοιλότητα, ιδίως στον φάρυγγα.

### 3.4. Προαιρετική ορολογία για την επίσημωση

Κατόπιν αιτήματος, ο επικεφαλής της ομάδας των δοκιμαστών μπορεί να πιστοποιήσει ότι τα αξιολογηθέντα ελαιόλαδα ανταποκρίνονται στους ορισμούς και στα πεδία τιμών που αντιστοιχούν στους ακόλουθους επιθετικούς προσδιορισμούς, ανάλογα με την ένταση και την αντίληψη των ιδιοτήτων:

**Θετικές ιδιότητες (φρουτώδες, πικρό και πικάντικο):** Ανάλογα με την ένταση της αντίληψης:

- έντονο, όταν η διάμεση τιμή της ιδιότητας υπερβαίνει το 6·
- μεσαίο, όταν η διάμεση τιμή της ιδιότητας κυμαίνεται μεταξύ 3 και 6·
- ελαφρό, όταν η διάμεση τιμή της ιδιότητας είναι μικρότερη του 3·

**Φρουτώδες:** Σύνολο οσφραντικών αισθήσεων χαρακτηριστικών των ελαιολάδων, το οποίο εξαρτάται από την ποικιλία της ελιάς και προέρχεται από υγιείς και φρέσκες ελιές, όπου δεν κυριαρχεί ούτε το άγουρο ούτε το ώριμο φρουτώδες. Γίνεται αντιληπτό απευθείας με την όσφρηση και/ή από την οπισθορινική οδό.

**Άγουρο φρουτώδες:** Σύνολο οσφραντικών αισθήσεων χαρακτηριστικών των ελαιολάδων, το οποίο θυμίζει άγουρο φρούτο, εξαρτάται από την ποικιλία της ελιάς και προέρχεται από πράσινες, υγιείς και φρέσκες ελιές. Γίνεται αντιληπτό απευθείας με την όσφρηση και/ή από την οπισθορινική οδό.

**Όριμο φρουτώδες:** Σύνολο οσφραντικών αισθήσεων χαρακτηριστικών των ελαιολάδων, το οποίο θυμίζει ώριμο φρούτο, εξαρτάται από την ποικιλία της ελιάς και προέρχεται από υγιείς και φρέσκες ελιές. Γίνεται αντιληπτό απευθείας με την όσφρηση και/ή από την οπισθορινική οδό.

**Ισορροπημένο:** Έλαιο που δεν παρουσιάζει έλλειψη ισορροπίας. Ως έλλειψη ισορροπίας νοείται η γευστικο-οσφραντική και απτική αίσθηση όπου η διάμεση τιμή της ιδιότητας του πικρού και/ή της ιδιότητας του πικάντικου υπερβαίνει κατά δύο μονάδες τη διάμεση τιμή της ιδιότητας του φρουτώδους.

**Γλυκό ελαιόλαδο:** Ελαιόλαδο στο οποίο η διάμεση τιμή της ιδιότητας του πικρού και εκείνη της ιδιότητας του πικάντικου είναι μικρότερες ή ίσες με 2.

### 4. ΠΟΤΗΡΙ ΓΙΑ ΤΗ ΓΕΥΣΙΓΝΩΣΤΙΚΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΕΛΑΙΩΝ

Βλ. πρότυπο IOC/T.20/Doc. No 5 «Glass for Oil Tasting» (Ποτήρι για τη γευσιγνωστική δοκιμασία ελαίων).

### 5. ΑΙΘΟΥΣΑ ΓΕΥΣΙΓΝΩΣΤΙΚΗΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ

Βλ. πρότυπο IOC/T.20/Doc. No 6 «Guide for the Installation of a Test Room» (Οδηγός για την εγκατάσταση αίθουσας γευσιγνωστικής δοκιμασίας).

### 6. ΥΛΙΚΟ

Κάθε θάλαμος πρέπει να είναι εφοδιασμένος με το ακόλουθο υλικό, το οποίο απαιτείται για την ορθή εκτέλεση των καθηκόντων των δοκιμαστών και πρέπει να είναι εύκολα προσίτο:

- ποτήρια (τυποποιημένα) που περιέχουν τα δείγματα, φέρουν κωδικό αριθμό, καλύπτονται με υάλους ωρολογίου και διατηρούνται σε θερμοκρασία 28 °C ± 2 °C·
- φύλλο χαρακτηρισμού (βλ. σχήμα 1), σε έντυπη ή ηλεκτρονική μορφή, υπό την προϋπόθεση ότι πληρούνται οι προϋποθέσεις του φύλλου χαρακτηρισμού, μαζί με τις οδηγίες χρήσης του, εάν είναι απαραίτητο·
- στυλό διαρκείας ή με ανεξίτηλο μελάνι·
- δίσκοι με φέτες μήλου και/ή νερό, ανθρακούχο ή μη, και/ή φρυγανιές·
- ένα ποτήρι νερό σε θερμοκρασία δωματίου·
- φύλλο στο οποίο υπενθυμίζονται οι γενικοί κανόνες που παρατίθενται στις ενότητες 8.4 και 9.1.1·
- πτυελοδοχείο.

## 7. ΕΠΙΚΕΦΑΛΗΣ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ ΔΟΚΙΜΑΣΤΩΝ ΚΑΙ ΔΟΚΙΜΑΣΤΕΣ

### 7.1. Επικεφαλής της ομάδας

Ο επικεφαλής της ομάδας δοκιμαστών πρέπει να είναι κατάλληλα εκπαιδευμένο πρόσωπο με άρτια γνώση των ειδών ελαιολάδου που πρόκειται να εξεταστεί στο πλαίσιο της εργασίας του. Αποτελεί το βασικό πρόσωπο της ομάδας και είναι υπεύθυνος για την οργάνωση και τη λειτουργία της.

Η εργασία του επικεφαλής της ομάδας απαιτεί βασική κατάρτιση στα εργαλεία οργανοληπτικής ανάλυσης, οξύτητα των αισθήσεων, σχολαστική προετοιμασία, οργάνωση και διεξαγωγή των δοκιμασιών, καθώς και δεξιότητες και υπομονή για τον σχεδιασμό και την εκτέλεση των δοκιμασιών με επιστημονικό τρόπο.

Είναι ο μόνος υπεύθυνος για την επιλογή, την κατάρτιση και την παρακολούθηση των δοκιμαστών προκειμένου να διαπιστώνει το επίπεδο των δεξιοτήτων τους. Ως εκ τούτου, είναι υπεύθυνος για τις εκτιμήσεις των δοκιμαστών, που πρέπει να είναι πάντα αντικειμενικές. Για τον σκοπό αυτό, πρέπει να εκπονεί ειδικές διαδικασίες βασισμένες σε δοκιμασίες και σαφή κριτήρια αποδοχής και απόρριψης. Βλ. πρότυπο IOC/T.20/Doc. No 14 «Guide for the selection, training and monitoring of skilled virgin olive oil tasters» (Οδηγός για την επιλογή, την κατάρτιση και την παρακολούθηση ειδικευμένων δοκιμαστών ελαιολάδου).

Ο επικεφαλής της ομάδας είναι υπεύθυνος για τις επιδόσεις της και, συνεπώς, για την αξιολόγησή της, για την οποία πρέπει να παρέχει αξιόπιστα και αντικειμενικά αποδεικτικά στοιχεία. Σε κάθε περίπτωση, θα πρέπει να μπορεί να αποδεικνύει ανά πάσα στιγμή ότι η χρησιμοποιούμενη μέθοδος και οι δοκιμαστές ελέγχονται. Συνιστάται η περιοδική βαθμολόγηση της ομάδας (πρότυπο IOC/T.20/Doc. No 14, παράγραφος 5).

Φέρει την τελική ευθύνη για την τήρηση των αρχείων της ομάδας. Τα αρχεία αυτά πρέπει να είναι πάντα ανιχνεύσιμα. Πρέπει να πληρούν τις απαιτήσεις διασφάλισης και ποιότητας που καθορίζονται στα διεθνή πρότυπα οργανοληπτικής ανάλυσης και να εξασφαλίζουν σε κάθε περίπτωση την ανωνυμία των δειγμάτων.

Ο επικεφαλής της ομάδας είναι υπεύθυνος για την καταγραφή των εργαλείων και του εξοπλισμού που είναι απαραίτητα για τη συμμόρφωση με τις προδιαγραφές της παρούσας μεθόδου, καθώς και για τη διασφάλιση του ότι αυτά καθαρίζονται και συντηρούνται δεόντως. Ο επικεφαλής φυλάσσει γραπτές αποδείξεις των ανωτέρω, καθώς και της τήρησης των συνθηκών δοκιμασίας.

Είναι αρμόδιος για την παραλαβή και τη φύλαξη των δειγμάτων μετά την άφιξή τους στο εργαστήριο, καθώς και για την αποθήκευσή τους μετά τη δοκιμασία. Κατά την εκτέλεση των ανωτέρω καθηκόντων, διασφαλίζει σε κάθε περίπτωση ότι όλα τα δείγματα παραμένουν ανώνυμα και ότι αποθηκεύονται με τον ενδεδειγμένο τρόπο. Για τον σκοπό αυτόν, οφείλει να εκπονεί γραπτές διαδικασίες προκειμένου να διασφαλίζεται ότι η όλη διαδικασία είναι ανιχνεύσιμη και παρέχει εγγυήσεις.

Επιπλέον, ο επικεφαλής της ομάδας είναι υπεύθυνος για την προετοιμασία, την κωδικοποίηση και την παρουσίαση των δειγμάτων στους δοκιμαστές, σύμφωνα με τον ενδεδειγμένο πειραματικό σχεδιασμό βάσει προκαθορισμένων πρωτοκόλλων, καθώς και για τη συγκέντρωση και τη στατιστική επεξεργασία των δεδομένων που παρέχουν οι δοκιμαστές.

Είναι αρμόδιος για την εκπόνηση και την κατάρτιση τυχόν άλλων διαδικασιών που ενδεχομένως είναι απαραίτητες για τη συμπλήρωση του παρόντος προτύπου και τη διασφάλιση της εύρυθμης λειτουργίας της ομάδας.

Πρέπει να αναζητεί τρόπους σύγκρισης των αποτελεσμάτων της ομάδας του με τα αποτελέσματα άλλων ομάδων που αναλαμβάνουν την ανάλυση παρθένων ελαιολάδων, προκειμένου να βεβαιώνεται για την εύρυθμη λειτουργία της ομάδας του.

Είναι καθήκον του επικεφαλής της ομάδας να εμπνέει τα μέλη της, κεντρίζοντας το ενδιαφέρον και την περιέργειά τους και καλλιεργώντας ανταγωνιστικό πνεύμα μεταξύ τους. Για να το επιτύχει αυτό ο επικεφαλής, συνιστάται ένθερμα να εξασφαλίζει ομαλή αμφίδρομη ροή πληροφοριών με τα μέλη της ομάδας, ενημερώνοντάς τα για όλα τα καθήκοντα που εκτελεί και τα αποτελέσματα που επιτυγχάνονται. Επιπρόσθετα, διασφαλίζει ότι η γνώμη του δεν γίνεται γνωστή και εμποδίζει τους δοκιμαστές με πιθανές αρχηγικές τάσεις να επιβάλλουν τα κριτήριά τους στους υπόλοιπους δοκιμαστές.

Ο επικεφαλής της ομάδας συγκαλεί τους δοκιμαστές αρκετά πριν από τη διενέργεια των δοκιμασιών και απαντά σε τυχόν ερωτήσεις τους σχετικά με την εκτέλεση των δοκιμασιών, χωρίς όμως να εκφράζει γνώμη σχετικά με το δείγμα.

### 7.2. Δοκιμαστές

Τα άτομα που μετέχουν ως δοκιμαστές στις οργανοληπτικές δοκιμασίες ελαιολάδων πρέπει να ενεργούν εθελοντικά, με ό, τι συνεπάγεται η εθελοντική αυτή συμμετοχή τους όσον αφορά τις υποχρεώσεις και την απουσία χρηματικής αμοιβής. Ως εκ τούτου, είναι σκόπιμο να υποβάλλουν οι υποψήφιοι γραπτή αίτηση. Οι υποψήφιοι επιλέγονται, εκπαιδεύονται και παρακολουθούνται από τον επικεφαλής της ομάδας με βάση την ικανότητά τους να διακρίνουν μεταξύ ομοειδών δειγμάτων. Υπενθυμίζεται ότι η ακρίβεια των εκτιμήσεών τους βελτιώνεται με την κατάρτιση.

Οι δοκιμαστές πρέπει να ενεργούν ως πραγματικοί αισθητηριακοί παρατηρητές, παραβλέποντας τις προσωπικές γευστικές προτιμήσεις τους και αναφέροντας αποκλειστικά τις αισθήσεις που αντιλαμβάνονται. Για να το επιτύχουν αυτό, πρέπει να εργάζονται πάντα σιωπηλά, ήρεμα και χωρίς βιασύνη, εστιάζοντας στον μέγιστο δυνατό βαθμό τις αισθήσεις τους στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του δείγματος που δοκιμάζουν.

Για κάθε δοκιμασία απαιτούνται 8 έως 12 δοκιμαστές. Ωστόσο, συνιστάται να προβλέπονται ορισμένοι επιπλέον δοκιμαστές προκειμένου να καλύψουν τυχόν απουσίες.

## 8. ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ

### 8.1. Παρουσίαση του δείγματος

Το δείγμα ελαίου προς ανάλυση παρουσιάζεται σε τυποποιημένα ποτήρια γευσιγνωστικής δοκιμασίας που συμμορφώνονται με το πρότυπο IOC/T.20/Doc. No 5 «Glass for Oil Tasting».

Το ποτήρι περιέχει 14–16 ml ελαίου, ή 12,8 έως 14,6 g ελαίου εάν πρόκειται να ζυγιστούν τα δείγματα, και καλύπτεται με ύαλο ωρολογίου.

Κάθε ποτήρι σημειώνεται με κωδικό ο οποίος αποτελείται είτε από αριθμούς είτε από συνδυασμό γραμμάτων και αριθμών που επιλέγονται τυχαία. Ο κωδικός σημειώνεται με άοσμο σύστημα σήμανσης.

### 8.2. Θερμοκρασία δοκιμασίας και δείγματος

Τα προς γευσιγνωστική δοκιμασία δείγματα ελαίου διατηρούνται στα ποτήρια σε θερμοκρασία  $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  καθόλη τη διάρκεια της δοκιμασίας. Η συγκεκριμένη θερμοκρασία έχει επιλεγεί επειδή διευκολύνει την παρατήρηση οργανοληπτικών διαφορών σε σύγκριση με τη θερμοκρασία δωματίου και επειδή σε χαμηλότερες θερμοκρασίες οι αρωματικές ενώσεις που χαρακτηρίζουν τα εν λόγω έλαια εξατμίζονται ασθενώς, ενώ οι υψηλότερες θερμοκρασίες οδηγούν στον σχηματισμό των πτητικών ενώσεων που αποτελούν ιδιαίτερο χαρακτηριστικό των θερμών ελαίων. Σχετικά με τη μέθοδο που πρέπει να χρησιμοποιείται για τη θέρμανση των δειγμάτων όταν έχουν τοποθετηθεί στα ποτήρια, βλ. πρότυπο IOC/T.20/Doc. No 5 «Glass for Oil Tasting».

Η θερμοκρασία της αίδουσας γευσιγνωστικής δοκιμασίας πρέπει να είναι  $20^{\circ}$  έως  $25^{\circ}\text{C}$  (βλ. πρότυπο IOC/T.20/Doc. No 6).

### 8.3. Ώρες διεξαγωγής των δοκιμασιών

Οι βέλτιστες ώρες εργασίας για τη δοκιμασία ελαίων είναι οι πρωινές. Έχει αποδειχθεί ότι υπάρχουν διασπήματα κατά τη διάρκεια της ημέρας όπου η αντίληψη της γεύσης και της οσμής είναι καλύτερη. Για ένα διάστημα πριν από τα γεύματα οι αισθήσεις της όσφρησης και της γεύσης είναι οξύτερες, ενώ μετά τα γεύματα εξασθενίζουν.

Εντούτοις, αυτό το κριτήριο δεν πρέπει να εφαρμόζεται σε βαθμό τέτοιο ώστε η πείνα να αποσπά την προσοχή των δοκιμαστών, με αποτέλεσμα να ελαττώνεται η διακριτική τους ικανότητα. Συνεπώς, συνιστάται να πραγματοποιούνται οι συνεδρίες γευσιγνωστικής δοκιμασίας το πρωί, μεταξύ των ωρών 10.00 και 12.00.

### 8.4. Δοκιμαστές: γενικοί κανόνες δεοντολογίας

Οι κατωτέρω συστάσεις αφορούν τη συμπεριφορά των δοκιμαστών κατά τη διάρκεια της εργασίας τους.

Οι δοκιμαστές που καλούνται από τον επικεφαλής της ομάδας να συμμετάσχουν σε οργανοληπτική δοκιμασία θα πρέπει να μπορούν να παραστούν τις καθορισμένες ώρες και οφείλουν να τηρούν τους ακόλουθους κανόνες:

- Να μην καπνίζουν ούτε να πίνουν καφέ τουλάχιστον 30 λεπτά πριν από την καθορισμένη ώρα της δοκιμασίας.
- Να μη χρησιμοποιούν άρωμα, καλλυντικό ή σαπούνι του οποίου η οσμή θα μπορούσε να παραμείνει έως τον χρόνο διεξαγωγής της δοκιμασίας. Να χρησιμοποιούν σαπούνι χωρίς άρωμα για να πλένουν τα χέρια τους, τα οποία θα πρέπει στη συνέχεια να ξεπλένουν καλά και να στεγνώνουν όσες φορές είναι απαραίτητο για να εξαλειφθεί κάθε ίχνος οσμής.
- Να μην τρώνε τίποτα τουλάχιστον μία ώρα πριν από τη διεξαγωγή της γευσιγνωστικής δοκιμασίας.
- Εάν οι δοκιμαστές δεν αισθάνονται καλά σωματικά και, συγκεκριμένα, εάν επηρεάζεται η αίσθηση της όσφρησης και της γεύσης τους, ή εάν βρίσκονται υπό ψυχολογική πίεση που τους εμποδίζει να συγκεντρωθούν στην εργασία τους, πρέπει να μην συμμετέχουν στη γευσιγνωστική δοκιμασία και να ειδοποιούν σχετικά τον επικεφαλής της ομάδας.
- Εφόσον οι δοκιμαστές τηρούν τους ανωτέρω κανόνες, καταλαμβάνουν τη θέση τους στον καθορισμένο θάλαμο με τάξη και ησυχία.
- Διαβάζουν προσεκτικά τις οδηγίες που παρέχονται στο φύλλο χαρακτηρισμού και αρχίζουν να εξετάζουν το δείγμα μόνον αφού προηγουμένως έχουν προετοιμαστεί πλήρως για την εργασία που καλούνται να εκτελέσουν (ήρεμα και χωρίς βιασύνη). Σε περίπτωση αμφιβολίας, θα πρέπει να συμβουλευονται κατ' ιδίαν τον επικεφαλής της ομάδας.
- Πρέπει να παραμένουν σιωπηλοί κατά την εκτέλεση των καθηκόντων τους.
- Πρέπει να έχουν απενεργοποιημένο το κινητό τους τηλέφωνο καθόλη τη διάρκεια της δοκιμασίας ώστε να μην αποσπούν την προσοχή των συναδέλφων τους και να μην τους ενοχλούν.

## 9. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ ΚΑΙ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗΣ ΤΩΝ ΠΑΡΘΕΝΩΝ ΕΛΑΙΟΛΑΔΩΝ

### 9.1. Τεχνική γευσιγνωστικής δοκιμασίας

- 9.1.1. Οι δοκιμαστές σηκώνουν το ποτήρι, κρατώντας το καλυμμένο με την ύαλο ωρολογίου, το γέρνουν ελαφρά και σε αυτή τη θέση το περιστρέφουν πλήρως, ώστε να διαβραγεί όσο το δυνατόν περισσότερο η εσωτερική επιφάνεια. Μόλις ολοκληρωθεί αυτό το στάδιο, αφαιρούν την ύαλο ωρολογίου και οσφραίνονται το δείγμα με αργές, βαθιές εισπνοές για να αξιολογήσουν το ελαιόλαδο. Η διάρκεια της όσφρησης δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 30 δευτερόλεπτα. Εάν κατά τη διάρκεια αυτού του διαστήματος οι δοκιμαστές δεν καταλήξουν σε κανένα συμπέρασμα, πρέπει να κάνουν ένα σύντομο διάλειμμα και μετά να επαναλάβουν την προσπάθεια.

Αφού πραγματοποιηθεί η οσφρητική δοκιμασία, οι δοκιμαστές αξιολογούν τις αισθήσεις που δημιουργεί το έλαιο στο στόμα (σύνολο των αισθήσεων όσφρησης-γεύσης-αφής από την οπισθορινική οδό). Για τον σκοπό αυτό, βάζουν στο στόμα τους μια μικρή ποσότητα ελαίου, 3 ml περίπου. Είναι πολύ σημαντικό να κατανέμεται το έλαιο σε όλη τη στοματική κοιλότητα, από το πρόσθιο τμήμα του στόματος και της γλώσσας, στα πλάγια και στο οπίσθιο τμήμα τους έως την υπερώα και τον φάρυγγα, καθώς είναι γνωστό ότι η ένταση με την οποία γίνονται αντιληπτές οι γεύσεις και οι απτικές αισθήσεις διαφέρει ανάλογα με τη ζώνη της γλώσσας, της υπερώας και του φάρυγγα.

Θα πρέπει να τονιστεί ότι είναι αναγκαίο να διασκορπίζεται το έλαιο, σε επαρκή ποσότητα και πολύ αργά, πάνω από το οπίσθιο τμήμα της γλώσσας μέχρι την υπερώα και τον φάρυγγα, ενώ οι δοκιμαστές επικεντρώνουν την προσοχή τους στη σειρά εμφάνισης των ερεθισμάτων «πικρό» και «πικάντικο». Σε αντίθετη περίπτωση, σε ορισμένα έλαια και τα δύο αυτά ερεθίσματα μπορεί να περάσουν απαρατήρητα, ενώ σε άλλα, το ερέθισμα «πικρό» μπορεί να συγκαλύπτεται από το ερέθισμα «πικάντικο».

Οι μικρές και διαδοχικές εισπνοές αέρα από το στόμα επιτρέπουν στον δοκιμαστή όχι μόνο να διασκορπίσει το δείγμα σε όλη τη στοματική κοιλότητα, αλλά και να αντιληφθεί τις πτητικές αρωματικές ενώσεις με το πίσω μέρος της ρινικής κοιλότητας, επιβάλλοντας τη χρήση αυτής της οδού.

Θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η απτική αίσθηση του πικάντικου. Για τον σκοπό αυτόν, συνιστάται η κατάποση του ελαίου.

- 9.1.2. Κατά την οργανοληπτική εξέταση παρθένου ελαιολάδου, συνιστάται να αξιολογούνται το πολύ ΤΕΣΣΕΡΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ σε κάθε συνεδρία, με ανώτατο όριο τις τρεις συνεδρίες ημερησίως, προκειμένου να αποφεύγεται η αντίθεση που θα μπορούσε να προκληθεί από τη γευσιγνωστική δοκιμασία άλλων δειγμάτων αμέσως.

Καθώς στις διαδοχικές γευσιγνωστικές δοκιμασίες προκαλείται κόπωση ή απώλεια της ευαισθησίας από τα δείγματα που έχουν προηγηθεί, είναι απαραίτητο να χρησιμοποιείται ένα προϊόν ικανό να εξαλείψει από το στόμα τα υπολείμματα του ελαιολάδου της προηγούμενης γευσιγνωστικής δοκιμασίας.

Συνιστάται να χρησιμοποιείται μια λεπτή φέτα μήλου, την οποία αφού μασήσει ο δοκιμαστής μπορεί να την πετάξει στο πτυελοδοχείο. Στη συνέχεια, ο δοκιμαστής ξεπλένει το στόμα του με λίγο νερό σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Πρέπει να μεσολαβούν τουλάχιστον 15 λεπτά από τη λήξη μιας συνεδρίας έως την έναρξη της επόμενης.

## 9.2. Χρήση του φύλλου χαρακτηρισμού από τους δοκιμαστές

Το φύλλο χαρακτηρισμού που προορίζεται για χρήση από τους δοκιμαστές περιγράφεται λεπτομερώς στο σχήμα 1 του παρόντος παραρτήματος.

Κάθε δοκιμαστής της ομάδας οσφραίνεται και έπειτα γεύεται το εξεταζόμενο ελαιόλαδο<sup>(1)</sup>. Στη συνέχεια, καταγράφει στην κλίμακα των 10 cm που υπάρχει στο φύλλο χαρακτηρισμού που έχει στη διάθεσή του την ένταση με την οποία αντιλαμβάνεται καθένα από τις αρνητικές και θετικές ιδιότητες.

Εάν οι δοκιμαστές αντιληφθούν αρνητικές ιδιότητες που δεν αναφέρονται στο τμήμα 4, τις καταγράφουν κάτω από την επικεφαλίδα «Άλλες», χρησιμοποιώντας τον όρο ή τους όρους που τις περιγράφουν με τη μεγαλύτερη δυνατή ακρίβεια.

## 9.3. Χρήση των δεδομένων από τον επικεφαλής της ομάδας

Ο επικεφαλής της ομάδας συλλέγει τα φύλλα χαρακτηρισμού που έχουν συμπληρώσει οι δοκιμαστές και εξετάζει τις εντάσεις που έχουν αποδοθεί στις διάφορες ιδιότητες. Σε περίπτωση που εντοπίσει κάποια ανωμαλία, καλεί τον δοκιμαστή να αναθεωρήσει το φύλλο χαρακτηρισμού και, αν κρίνεται αναγκαίο, να επαναλάβει τη δοκιμασία.

Ο επικεφαλής της ομάδας εισάγει τα δεδομένα κάθε μέλους της ομάδας σε πρόγραμμα υπολογιστή παρόμοιο με αυτό που προβλέπεται στο πρότυπο IOC/T.20/Doc. No 15, με σκοπό τον στατιστικό υπολογισμό των αποτελεσμάτων της ανάλυσης, βάσει υπολογισμού της διάμεσης τιμής τους. Βλ. σημείο 9.4 και προσάρτημα του παρόντος παραρτήματος. Τα δεδομένα για συγκεκριμένο δείγμα εισάγονται με τη βοήθεια πίνακα αποτελούμενου από εννέα στήλες, οι οποίες αντιστοιχούν στις εννέα αισθητηριακές ιδιότητες, και από η σειρές, οι οποίες αντιστοιχούν στα η μέλη της ομάδας που μετείχαν στη δοκιμασία.

Όταν τουλάχιστον το 50 % των μελών της ομάδας έχει αντιληφθεί ένα ελάττωμα και το έχει καταγράψει κάτω από την επικεφαλίδα «Άλλες», ο επικεφαλής της ομάδας υπολογίζει τη διάμεση τιμή του εν λόγω ελαττώματος και συνάγει την αντίστοιχη ταξινόμηση.

Η τιμή του ανθεκτικού συντελεστή μεταβλητότητας που καθορίζει την ταξινόμηση (ελάττωμα με τη μεγαλύτερη ένταση και ιδιότητα του φρουτώδους) δεν πρέπει να υπερβαίνει το 20 %.

Σε αντίθετη περίπτωση, ο επικεφαλής της ομάδας οφείλει να επαναλάβει την αξιολόγηση του συγκεκριμένου δείγματος σε άλλη συνεδρία γευσιγνωστικής δοκιμασίας.

Εάν αυτή η κατάσταση προκύπτει συχνά, συνιστάται να παρέχει ο επικεφαλής της ομάδας ειδική πρόσθετη κατάρτιση στους δοκιμαστές (πρότυπο IOC/T.20/Doc. No 14, παράγραφος 5) και να χρησιμοποιεί τον δείκτη επαναληψιμότητας και τον δείκτη απόκλισης για τον έλεγχο των επιδόσεων της ομάδας (πρότυπο IOC/T.20/Doc. No 14, παράγραφος 6).

## 9.4. Ταξινόμηση του ελαίου

Το έλαιο κατατάσσεται στις κατωτέρω κατηγορίες, ανάλογα με τη διάμεση τιμή των ελαττωμάτων και τη διάμεση τιμή της ιδιότητας του φρουτώδους. Η διάμεση τιμή των ελαττωμάτων ορίζεται ως η διάμεση τιμή του ελαττώματος που γίνεται αντιληπτό με τη μεγαλύτερη ένταση. Η διάμεση τιμή των ελαττωμάτων και η διάμεση τιμή του φρουτώδους εκφράζονται με ένα δεκαδικό ψηφίο.

(1) Οι δοκιμαστές μπορούν να μην δοκιμάζουν το έλαιο, όταν παρατηρούν μέσω της όσφρησης οποιαδήποτε εξαιρετικά έντονη αρνητική ιδιότητα. Στην περίπτωση αυτή καταγράφουν την εξαιρετική αυτή περίπτωση στο φύλλο χαρακτηρισμού.

Το έλαιο κατατάσσεται μέσω σύγκρισης της διάμεσης τιμής των ελαττωμάτων και της διάμεσης τιμής του φρουτώδους με τα πεδία τιμών αναφοράς που παρέχονται κατωτέρω. Τα όρια των εν λόγω πεδίων τιμών έχουν καθοριστεί λαμβανομένου υπόψη του σφάλματος της μεθόδου και, ως εκ τούτου, θεωρούνται απόλυτα. Τα πακέτα λογισμικού δίνουν τη δυνατότητα απεικόνισης της κατάταξης σε πίνακα στατιστικών δεδομένων ή σε γράφημα.

- α) Εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο: η διάμεση τιμή των ελαττωμάτων είναι ίση με 0 και η διάμεση τιμή για το φρουτώδες είναι μεγαλύτερη του 0.
- β) Παρθένο ελαιόλαδο: η διάμεση τιμή των ελαττωμάτων είναι μεγαλύτερη του 0, χωρίς όμως να υπερβαίνει το 3,5, και η διάμεση τιμή του φρουτώδους είναι μεγαλύτερη του 0.
- γ) Ελαιόλαδο λαμπάντε: η διάμεση τιμή των ελαττωμάτων υπερβαίνει το 3,5 ή η διάμεση τιμή των ελαττωμάτων είναι μικρότερη ή ίση με 3,5 και η διάμεση τιμή του φρουτώδους είναι ίση με 0.

**Σημείωση 1:**

Όταν η διάμεση τιμή της ιδιότητας του πικρού και/ή του πικάντικου είναι μεγαλύτερη του 5,0, ο επικεφαλής της ομάδας το σημειώνει στο πιστοποιητικό δοκιμασίας.

**Σχήμα 1**

**ΦΥΛΛΟ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΥ ΠΑΡΘΕΝΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ**

Ενταση αντιληψις των ελαττωματων		
Ατροχάδο/Μούργα (*)		
Μουχλιασμένο/νοτισμένο/χωματίλα (*)		
Κρασώδες/ξυδάτο		
Ξινό/ξινισμένο (*)		
Παγωμένης ελιάς (υγρό ξύλο)		
Ταγγό:		
Άλλες αρνητικές ιδιότητες:		
Περιγραφή:	Μεταλλικό <input type="checkbox"/> Άχυρο <input type="checkbox"/> Σκουληκιασμένο <input type="checkbox"/> Τραχύ Άλμη <input type="checkbox"/> Ψημένο ή καμένο <input type="checkbox"/> Φυτικά υγρά Σπάρτο <input type="checkbox"/> Αγγουρώδες <input type="checkbox"/> Γράσο	
(*) Διαγράφεται ό,τι δεν ισχύει.		
Ενταση αντιληψις των θετικων ιδιοτητων		
Φρουτώδες:		
	Άγουρο <input type="checkbox"/>	Όριμο <input type="checkbox"/>
Πικρό		
Πικάντικο:		
Όνομα του δοκιμαστή:		Κωδικός δοκιμαστή:
Κωδικός δείγματος:	Υπογραφή:	

## Προσάρτημα

## Μεθοδος υπολογισμού της διάμεσης τιμης και των διαστημάτων εμπιστοσύνης

## Διάμεση τιμή

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

Η διάμεση τιμή ορίζεται ως ο πραγματικός αριθμός  $X_m$  που χαρακτηρίζεται από το γεγονός ότι η πιθανότητα ( $p$ ) να είναι οι τιμές ( $X$ ) της κατανομής μικρότερες από τον αριθμό αυτόν ( $X_m$ ) είναι μικρότερη ή ίση με 0,5 και ότι, ταυτόχρονα, η πιθανότητα ( $p$ ) να είναι οι τιμές ( $X$ ) της κατανομής μικρότερες ή ίσες με  $X_m$  είναι μεγαλύτερη ή ίση με 0,5. Σύμφωνα με έναν πιο πρακτικό ορισμό, η διάμεση τιμή είναι το 50ό εκατοστημόριο μιας κατανομής αριθμών διατεταγμένων κατ' αύξουσα σειρά. Με πιο απλά λόγια, είναι ο κεντρικός αριθμός ενός συνόλου διατεταγμένων αριθμών των οποίων το πλήθος είναι περιττός αριθμός ή ο μέσος όρος των δύο κεντρικών αριθμών ενός συνόλου διατεταγμένων αριθμών των οποίων το πλήθος είναι άρτιος αριθμός.

## Ανθεκτική τυπική απόκλιση

Προκειμένου να εκτιμηθεί αξιόπιστα η μεταβλητότητα γύρω από τη μέση τιμή, είναι απαραίτητη η αναφορά στην ανθεκτική τυπική απόκλιση κατά Stuart και Kendall (4). Ο τύπος εκφράζει την ασυμπτωτική ανθεκτική τυπική απόκλιση, δηλ. την ανθεκτική εκτίμηση της μεταβλητότητας των εξεταζόμενων δεδομένων, όπου  $N$  είναι ο αριθμός των παρατηρήσεων και  $IQR$  το ενδοτεταρτημοριακό διάστημα, το οποίο περιλαμβάνει ακριβώς το 50 % των περιπτώσεων μιας δεδομένης κατανομής πιθανότητας:

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

Το ενδοτεταρτημοριακό εύρος υπολογίζεται με υπολογισμό του μεγέθους της διαφοράς μεταξύ του 75ου και του 25ου εκατοστημορίου.

$$IQR = 75^\circ - 25^\circ \text{ εκατοστημόριο}$$

όπου εκατοστημόριο είναι η τιμή  $X_{pc}$  που χαρακτηρίζεται από το γεγονός ότι η πιθανότητα ( $p$ ) να είναι οι τιμές της κατανομής μικρότερες της  $X_{pc}$  είναι μικρότερη ή ίση με ένα συγκεκριμένο εκατοστό και ότι, ταυτόχρονα, η πιθανότητα ( $p$ ) να είναι οι τιμές της κατανομής μικρότερες ή ίσες με τη  $X_{pc}$  είναι μεγαλύτερη ή ίση με το εν λόγω εκατοστό. Εκατοστό είναι το επιλεγόμενο κλάσμα της λαμβανόμενης κατανομής. Στην περίπτωση της διάμεσης τιμής, ισούται με το 50/100.

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

Πρακτικά, εκατοστημόριο είναι η τιμή κατανομής που αντιστοιχεί σε καθορισμένο εμβαδόν, το οποίο οριοθετείται από την καμπύλη κατανομής ή πυκνότητας. Για παράδειγμα, το 25ο εκατοστημόριο αντιπροσωπεύει την τιμή κατανομής που αντιστοιχεί σε εμβαδόν ίσο με 0,25 ή 25/100.

Στο πλαίσιο της παρούσας μεθόδου, τα εκατοστημόρια υπολογίζονται βάσει των πραγματικών τιμών που εμφανίζονται στον πίνακα δεδομένων (διαδικασία υπολογισμού εκατοστημορίων).

## Ανθεκτικός συντελεστής μεταβλητότητας (%)

Ο  $CV_r$ % αποτελεί καθαρό αριθμό που δείχνει το επί τοις εκατό ποσοστό μεταβλητότητας του αναλυόμενου συνόλου αριθμών. Για τον λόγο αυτόν, ο εν λόγω συντελεστής είναι πολύ χρήσιμος για τον έλεγχο της αξιοπιστίας των δοκιμασιών της ομάδας.

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

## Διαστήματα εμπιστοσύνης 95 % για τη διάμεση τιμή

Τα διαστήματα εμπιστοσύνης 95 % (τιμή του σφάλματος πρώτης τάξης ίση με 0,05 ή 5 %) αντιπροσωπεύουν το εύρος εντός του οποίου θα μπορούσε να κυμαίνεται η διάμεση τιμή εάν ήταν δυνατή η επανάληψη του πειράματος άπειρες φορές. Στην πράξη, δείχνουν το εύρος διακύμανσης της δοκιμής υπό τις συνθήκες λειτουργίας που έχουν επιλεγεί, με την παραδοχή ότι είναι δυνατή η επανάληψη της δοκιμασίας πολλές φορές. Όπως και ο  $CV_r$ %, το διάστημα βοηθά στην εκτίμηση της αξιοπιστίας της δοκιμής.

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

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

όπου  $C = 1,96$  στην περίπτωση του διαστήματος εμπιστοσύνης 95%.

Παράδειγμα του φύλλου υπολογισμού παρατίθεται στο παράρτημα I του προτύπου IOC/T 20/Doc. No 15.

*Βιβλιογραφία*

- (1) Wilkinson, L. 1990. Systat: The system for statistics. Evanston, IL.SYSTAT A.E.
  - (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. No 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. No 14.
  - (8) IOC/T.20/Doc. No 15.
  - (9) ISO/IEC 17025:05.»
-



## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ VI

## «ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ XXa

## ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΕΞΩΓΕΝΩΝ ΕΛΑΙΩΝ ΣΤΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΑ

## 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ

Η παρούσα μέθοδος χρησιμοποιείται για την ανίχνευση της παρουσίας εξωγενών φυτικών ελαίων στα ελαιόλαδα. Στα ελαιόλαδα μπορούν να ανιχνευθούν φυτικά έλαια υψηλής περιεκτικότητας σε λινελαϊκό οξύ (σογιέλαιο, κραμβέλαιο, ηλιέλαιο κ.λπ.), καθώς και ορισμένα φυτικά έλαια υψηλής περιεκτικότητας σε ελαϊκό οξύ, όπως φουντουκέλαιο, ηλιέλαιο με υψηλή περιεκτικότητα σε ελαϊκό οξύ και πυρηνέλαιο. Το επίπεδο ανίχνευσης εξαρτάται από το είδος του εξωγενούς ελαίου και την ποικιλία των ελιών. Για το φουντουκέλαιο, είναι σύνθηες ένα επίπεδο εντοπισμού 5-15 %. Η μέθοδος δεν επιτρέπει την ταυτοποίηση του εξωγενούς ελαίου που ανιχνεύεται· δείχνει απλώς αν το ελαιόλαδο είναι γνήσιο ή όχι.

## 2. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το έλαιο υποβάλλεται σε καθαρισμό με εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE) σε φύσιγγες πυριτικής πηκτής (silica gel). Προσδιορίζεται η σύνθεση σε τριακυλογλυκερόλες (TAG) με υψηλής διαχωριστικής ικανότητας υδροχρωματογραφία αντίστροφης φάσης, κατά την οποία χρησιμοποιούνται ανιχνευτής δείκτη διάθλασης και προπιοντρίλιο ως κινητή φάση. Από το καθαρισμένο έλαιο παρασκευάζονται μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων (FAME) με μεθυλίωση με ψυχρό διάλυμα υδροξειδίου του καλίου (KOH) σε μεθανόλη (παράρτημα X «B») και, στη συνέχεια, οι εστέρες αναλύονται με αεριοχρωματογραφία τριχοειδούς στήλης σε στήλες υψηλής πολικότητας (παράρτημα X «A»). Με τη βοήθεια προγράμματος υπολογιστή, υπολογίζεται η θεωρητική σύνθεση σε τριακυλογλυκερόλες από τη σύνθεση σε λιπαρά οξέα, με την παραδοχή τυχαίας κατανομής των λιπαρών οξέων μεταξύ των θέσεων 1,3- και 2 των τριακυλογλυκερολών (1,3-random, 2-random) και με περιορισμούς για τα κορεσμένα λιπαρά οξέα στη θέση 2. Η μέθοδος υπολογισμού αποτελεί τροποποίηση της διαδικασίας που περιγράφεται στο παράρτημα XVIII. Υπολογίζονται διάφοροι μαθηματικοί αλγόριθμοι από θεωρητικές και πειραματικές (HPLC) συνθέσεις σε τριακυλογλυκερόλες και οι προκύπτουσες τιμές συγκρίνονται με αυτές που περιέχονται σε μια βάση δεδομένων που έχει δημιουργηθεί με δεδομένα για γνήσια ελαιόλαδα.

## 3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

## 3.1. Καθαρισμός του ελαίου

- 3.1.1. Κωνικές φιάλες των 25 ml.
- 3.1.2. Γυάλινοι σωλήνες των 5 ml με κοχλιωτό χείλος και πώματα με κωνικό σύνδεσμο από πολυτετραφθοροαιθυλένιο (PTFE).
- 3.1.3. Φύσιγγες πυριτικής πηκτής του 1 g (6 ml), για εκχύλιση στερεάς φάσης (π.χ., Waters, Massachusetts, USA).
- 3.1.4. *n*-εξάνιο, αναλυτικής καθαρότητας.
- 3.1.5. Μείγμα των διαλυτών εξανίου-διαιθυλαιθέρα (87:13, v/v).
- 3.1.6. *N*-επτάνιο, αναλυτικής καθαρότητας.
- 3.1.7. Ακετόνη, αναλυτικής καθαρότητας.

## 3.2. Ανάλυση τριακυλογλυκερολών με HPLC

- 3.2.1. Μικροσύριγγες (50  $\mu$ L) και βελόνες για έγχυση σε HPLC.
- 3.2.2. Προπιοντρίλιο, εξαιρετικής καθαρότητας ή καθαρότητας HPLC (για παράδειγμα, ROMIL, Cambridge, United Kingdom), το οποίο χρησιμοποιείται ως κινητή φάση.
- 3.2.3. Στήλη HPLC [25 cm (μήκος) x 4 mm (εσωτερική διάμετρος)], πληρωμένη με φάση RP-18 (μέγεθος σωματιδίων: 4  $\mu$ m).

## 3.3. Παρασκευή μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων

(βλ. παράρτημα X «B»)

- 3.3.1. Μεθανόλη με μέγιστη περιεκτικότητα σε νερό 0,5 %.
- 3.3.2. Επτάνιο, αναλυτικής καθαρότητας.
- 3.3.3. Διάλυμα υδροξειδίου του καλίου 2N σε μεθανόλη. Διαλύονται 1,1 g υδροξειδίου του καλίου σε 10 ml μεθανόλης.
- 3.3.4. Γυάλινοι σωλήνες των 5 ml με κοχλιωτό χείλος και πώματα με κωνικό σύνδεσμο από PTFE.

## 3.4. Αεριοχρωματογραφική ανάλυση των FAME

(Βλ. τη μέθοδο προσδιορισμού των *trans* ακόρεστων λιπαρών οξέων με αεριοχρωματογραφία τριχοειδούς στήλης που παρατίθεται στο παράρτημα X «A»).

- 3.4.1. Μικροσύριγγες (5  $\mu$ L) και βελόνες για έγχυση σε αεριοχρωματογραφία.
- 3.4.2. Υδρογόνο ή ήλιο ως φέρον αέριο.



- 3.4.3 Υδρογόνο και οξυγόνο για τον ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (FID).
- 3.4.4 Άζωτο ή ήλιο ως βοηθητικό φέρον αέριο.
- 3.4.5 Τριχοειδής στήλη από τετηγμένο διοξείδιο του πυριτίου [50-60 m (μήκος) × 0,25 – 0,30 mm (εσωτερική διάμετρος)], επιστρωμένη με φάση κυανοπροπολυοπολυσιλοξανίου ή κυανοπροπολυοφαινοσυλοξανίου (SP-2380 ή παρόμοιο), πάχους 0,20-0,25 μm.
4. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΣΚΕΥΗ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΑ
- 4.1. Συσκευή κενού για εκχύλιση στερεάς φάσης.
- 4.2. Περιστροφικός εξατμιστήρας.
- 4.3. Εξοπλισμός HPLC, που αποτελείται από:
- 4.3.1. απαεριωτή για την κινητή φάση,
- 4.3.2. βαλβίδα έγχυσης Rheodyne με βρόχο 10 μL,
- 4.3.3. αντλία υψηλής πίεσης,
- 4.3.4. θερμοστατικό κλίβανο για τη στήλη HPLC, ικανό να διατηρεί θερμοκρασίες χαμηλότερες από αυτές του περιβάλλοντος (15-20 °C) (για παράδειγμα, τύπου Peltier),
- 4.3.5. ανιχνευτή δείκτη διάθλασης,
- 4.3.6. ηλεκτρονικό σύστημα λήψης δεδομένων, εφοδιασμένο με πρόγραμμα ολοκλήρωσης.
- 4.4. Εξοπλισμός αεροχρωματογραφίας τριχοειδούς στήλης, που περιγράφεται στο παράρτημα X «Α» και διαθέτει:
- 4.4.1. σύστημα έγχυσης με διαμοιρασμό (split),
- 4.4.2. ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (FID),
- 4.4.3. κλίβανο προγραμματιζόμενης θερμοκρασίας,
- 4.4.4. ηλεκτρονικό σύστημα λήψης δεδομένων, εφοδιασμένο με πρόγραμμα ολοκλήρωσης.
- 4.5. Υπολογιστής με το πρόγραμμα Microsoft Excel.

## 5. ΕΚΤΕΛΕΣΗ ΤΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

### 5.1. Καθαρισμός του ελαίου

Σε συσκευή έκλουσης υπό κενό τοποθετείται μια φύσιγγα πυριτικής πηκτής για SPE και εκπλύνεται υπό κενό με 6 ml εξανίου. Διακόπτεται η εφαρμογή κενού για να αποφευχθεί η ξήρανση της στήλης και τοποθετείται μια κωνική φιάλη κάτω από τη φύσιγγα. Εισάγεται στη στήλη διάλυμα του ελαίου (περίπου 0,12 g) σε 0,5 ml εξανίου, το οποίο αναρροφάται και, στη συνέχεια, εκλούεται με 10 ml του μείγματος των διαλυτών (3.1.5) εξανίου-διαιθυλαιθέρα (87:13 v/v) υπό κενό. Ο εκρέων διαλύτης ομοιογενοποιείται και περίπου η μισή ποσότητα εισάγεται σε άλλη κωνική φιάλη. Τα δύο διαλύματα εξατμίζονται χωριστά μέχρι ξηρού σε περιστροφικό εξατμιστήρα υπό ελαττωμένη πίεση και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Για την ανάλυση των τριακυλογλυκερολών, ένα από τα υπολείμματα διαλύεται σε 1 ml ακετόνης (βλ. πρώτο εδάφιο του σημείου 5.2) και το διάλυμα μεταγγίζεται σε γυάλινο σωλήνα των 5 ml με κοχλιωτό πώμα. Το άλλο υπόλειμμα διαλύεται σε 1 ml n-επτανίου και το διάλυμα μεταγγίζεται σε δεύτερο γυάλινο σωλήνα των 5 ml με κοχλιωτό πώμα για την παρασκευή των μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων.

Σημείωση: Ο καθαρισμός του ελαίου μπορεί να επιτευχθεί με στήλη πυριτικής πηκτής, όπως περιγράφεται στη μέθοδο 2.507 της IUPAC.

### 5.2. Ανάλυση τριακυλογλυκερολών με HPLC

Ρυθμίζεται το σύστημα HPLC σε σταθερή θερμοκρασία 20 °C και με προπιονιτρίλιο ως κινητή φάση με ταχύτητα ροής 0,6 ml/min. Όταν σταθεροποιηθεί η γραμμή βάσης, εγχέεται διαλύτης: εάν η γραμμή βάσης διαταραχθεί στην περιοχή 12 έως 25 λεπτά, πρέπει να χρησιμοποιηθεί άλλο είδος ακετόνης ή μείγμα προπιονιτρίου-ακετόνης (25:75) για την αραιώση του δείγματος.

Σημείωση: Ορισμένα είδη ακετόνης προκαλούν διαταραχές της γραμμής βάσης στην προαναφερθείσα περιοχή.

Εγχέεται ποσότητα 10 ml του διαλύματος καθαρισμένου ελαίου σε ακετόνη (5 %). Η ανάλυση διαρκεί περίπου 60 λεπτά. Η θερμοκρασία του κλιβάνου και/ή η ταχύτητα ροής πρέπει να ρυθμίζονται κατά τρόπο ώστε να λαμβάνεται χρωματογράφημα παρόμοιο με αυτό που απεικονίζεται στο σχήμα 1, όπου η τριλινελαΐνη (κορυφή 1) εκλούεται σε 15,5 min και τα ζεύγη LLL/OLLn (κορυφές 1 και 2) και OLL/OOLn (κορυφές 4 και 5) διαχωρίζονται ικανοποιητικά.

Το ύψος της κορυφής 2 (OLLn+PoLL) πρέπει να φθάνει τουλάχιστον το 3% της πλήρους κλίμακας.

### 5.3. Παρασκευή μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων

Στο διάλυμα καθαρισμένου ελαίου σε 1 mL *n*-επτανίου προστίθενται 0,1 mL διαλύματος υδροξειδίου του καλίου 2N σε μεθανόλη. Ο σωλήνας πωματίζεται, αναδεύεται ζωηρά επί 15 δευτερόλεπτα και αφήνεται σε ηρεμία για να διαχωριστούν οι φάσεις, μέχρις ότου η υπερκείμενη στοιβάδα καταστεί διαυγής (5 λεπτά). Το διάλυμα σε *n*-επτάνιο είναι έτοιμο για έγχυση στον χρωματογράφο. Το διάλυμα μπορεί να παραμείνει σε θερμοκρασία δωματίου 12 ώρες κατά μέγιστο όριο.

### 5.4. Αεριοχρωματογραφική ανάλυση των μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων

Πρέπει να ακολουθείται η διαδικασία που περιγράφεται στη μέθοδο προσδιορισμού των *trans* ακόρεστων λιπαρών οξέων (βλ. παράρτημα X «Α»).

Το σύστημα αεριοχρωματογραφίας ρυθμίζεται σε θερμοκρασία κλιβάνου 165 °C. Η συνιστώμενη θερμοκρασία κλιβάνου είναι ισόθερμη στους 165 °C επί 10 λεπτά και, στη συνέχεια, αυξάνεται στους 200 °C με ρυθμό 1,5 °C/min. Η θερμοκρασία του συστήματος έγχυσης συνιστάται να είναι 220 °C έως 250 °C για να ελαχιστοποιείται ο σχηματισμός *trans* λιπαρών οξέων (βλ. παράρτημα X «Α»). Θερμοκρασία ανιχνευτή: 250 °C. Πρέπει να χρησιμοποιείται υδρογόνο ή ήλιο ως φέρον αέριο, με πίεση στην κορυφή της στήλης 130 kPa περίπου. Έγχυση ποσότητας 1 μL, σε κατάσταση έγχυσης με διαμοιρασμό.

Πρέπει να λαμβάνεται αεριοχρωματογράφημα παρόμοιο με αυτό που εμφανίζεται στο σχήμα 2. Πρέπει να αποδίδεται ιδιαίτερη προσοχή στον διαχωρισμό μεταξύ των C18:3 και C20:1 (η κορυφή C18:3 πρέπει να εμφανίζεται πριν από την C20:1). Για να επιτευχθούν αυτές οι συνθήκες, η αρχική θερμοκρασία και/ή η πίεση στην κορυφή της στήλης πρέπει να βελτιστοποιούνται. Οι συνθήκες έγχυσης (θερμοκρασία, λόγος διαμοιρασμού και εγχέομενη ποσότητα) πρέπει να ρυθμίζονται κατά τρόπο ώστε να ελαχιστοποιείται η διάκριση μεταξύ παλμιτικού και παλμιτελαϊκού οξέος.

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των *trans* ισομερών το ύψος της κορυφής C20:0 πρέπει να είναι περίπου το 20% της πλήρους κλίμακας. Εάν η κορυφή C18:0 εμφανίζεται παραμορφωμένη, πρέπει να μειώνεται η ποσότητα του δείγματος.

## 6. ΟΛΟΚΛΗΡΩΣΗ ΤΩΝ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΩΝ ΚΟΡΥΦΩΝ

### 6.1. Χρωματογράφημα HPLC

Στο σχήμα 1 εμφανίζεται ένα τυπικό χρωματογράφημα HPLC των τριακυλογλυκερολών καθαρισμένου ελαιολάδου. Για την ολοκλήρωση των κορυφών, πρέπει να χαράσσονται τρεις γραμμές βάσης: η πρώτη μεταξύ της αρχής της κορυφής 1 και του τέλους της κορυφής 3, η δεύτερη μεταξύ της αρχής της κορυφής 4 και της κοιλιάς πριν από την κορυφή 8 και η τρίτη μεταξύ της κοιλιάς πριν από την κορυφή 8 και του τέλους της κορυφής 18.

Το συνολικό εμβαδόν είναι το άθροισμα των εμβαδών όλων των κορυφών (ταυτοποιημένων και μη) από την κορυφή 1 έως την κορυφή 18. Το ποσοστό κάθε κορυφής υπολογίζεται με τον τύπο:

$$TAG_x (\%) = 100 (A_x + A_T)$$

Τα ποσοστά πρέπει να αναφέρονται με δύο δεκαδικά ψηφία.

### 6.2. Αεριοχρωματογράφημα

Στο σχήμα 2 εμφανίζεται ένα αεριοχρωματογράφημα αλκυλεστέρων λιπαρών οξέων από καθαρισμένο ελαιόλαδο. Πρέπει να υπολογίζονται οι εκατοστιαίες αναλογίες των εξής λιπαρών οξέων:

Παλμιτικό	P (C16:0)	=	μεθυλεστέρας + αιθυλεστέρας
Στεατικό	S (C18:0)	=	μεθυλεστέρας
Παλμιτελαϊκό	PO (C16:1)	=	άθροισμα των μεθυλεστέρων των δύο <i>cis</i> ισομερών
Ελαϊκό	O (C18:1)	=	άθροισμα των μεθυλεστέρων των δύο <i>cis</i> ισομερών + αιθυλεστέρας + <i>trans</i> ισομερή
Λινελαϊκό	L (C18:2)	=	μεθυλεστέρας + αιθυλεστέρας + <i>trans</i> ισομερή
Λινολενικό	Ln (C18:3)	=	μεθυλεστέρας + <i>trans</i> ισομερή
Αραχιδικό	A (C20:0)	=	μεθυλεστέρας
Εικοσενικό (γονδοϊκό)	G (C20:1)	=	μεθυλεστέρας

Οι αιθυλεστέρες και οι *trans* ισομερείς εστέρες μπορεί να απουσιάζουν στο αεριοχρωματογράφημα.

Συνολικό εμβαδόν (AT) είναι το άθροισμα όλων των κορυφών που εμφανίζονται στο χρωματογράφημα από το C14:0 έως το C24:0, εκτός από την κορυφή που αντιστοιχεί στο σκουαλένιο. Το ποσοστό κάθε κορυφής υπολογίζεται ως εξής:

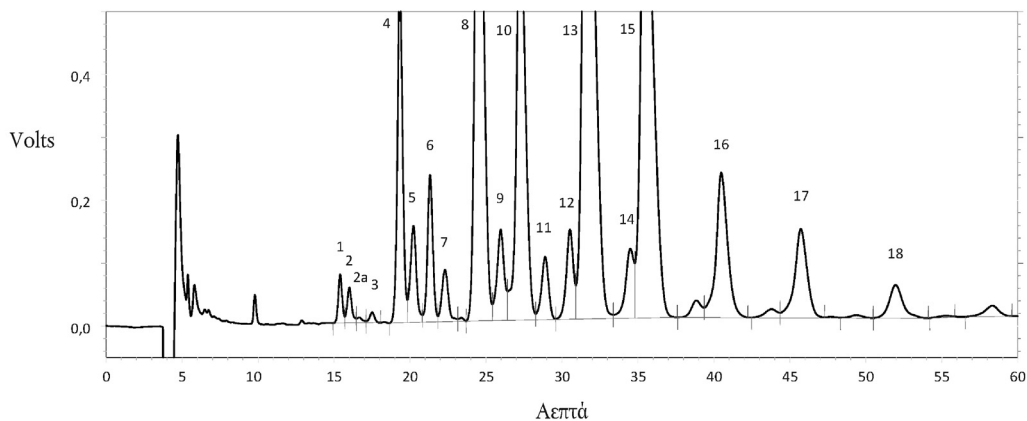
$$FA_x (\%) = 100 (A_x + A_T)$$

Τα αποτελέσματα πρέπει να εκφράζονται με δύο δεκαδικά ψηφία.

Για τους υπολογισμούς με προγράμματα υπολογιστή, δεν είναι απαραίτητη η κανονικοποίηση στο 100, καθώς γίνεται αυτόματα.

Σχήμα 1

**Χροματογράφημα HPLC των TAG παρθένου ελαιολάδου «Chamali».** Βασικά συστατικά των χροματογραφικών κορυφών



- (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.

Πίνακας 1

**Δεδομένα επαναληψιμότητας του προσδιορισμού των TAG παρθένου ελαιολάδου με HPLC σε θερμοκρασία στήλης 20 °C και με τη χρήση προπιονιτριλίου ως κινητής φάσης**

ECN	Κορυ- φές HPLC	TAG	Δείγμα 1		Δείγμα 2		Δείγμα 3		Δείγμα 4		Δείγμα 5	
			Μέση τιμή (%)	RSD <sub>r</sub> (%)	Μέση τιμή (%)	RSD <sub>r</sub> (%)	Μέση τιμή (%)	RSD <sub>r</sub> (%)	Μέση τιμή (%)	RSD <sub>r</sub> (%)	Μέση τιμή (%)	RSD <sub>r</sub> (%)
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+ Ppo- Po+ 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+ SpOPo	0,64	4,42	0,69	3,02	0,79	1,23	1,53	0,89	1,70	1,66

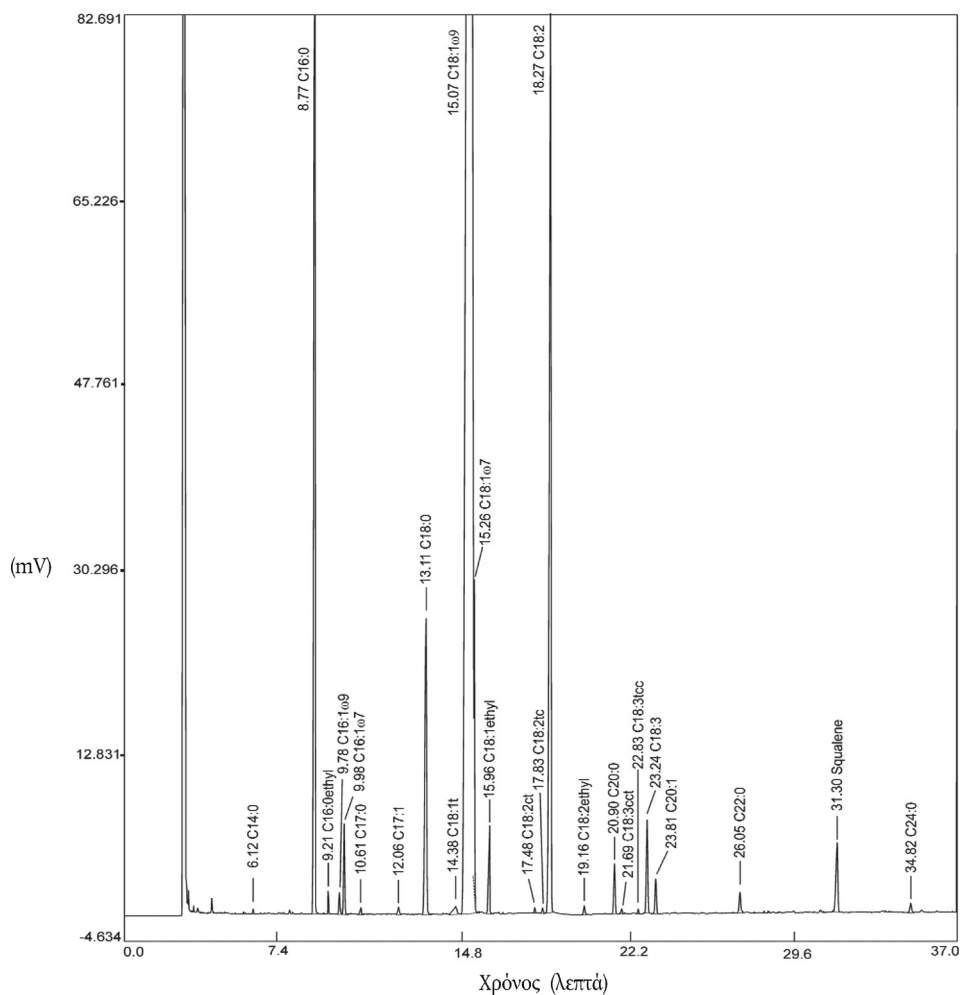
ECN	Κορυφές HPLC	TAG	Δείγμα 1		Δείγμα 2		Δείγμα 3		Δείγμα 4		Δείγμα 5	
			Μέση τιμή (%)	RSD <sub>r</sub> (%)	Μέση τιμή (%)	RSD <sub>r</sub> (%)	Μέση τιμή (%)	RSD <sub>r</sub> (%)	Μέση τιμή (%)	RSD <sub>r</sub> (%)	Μέση τιμή (%)	RSD <sub>r</sub> (%)
48	12+13	OOO+ PLP+ PoPP	49,60	0,07	48,15	0,06	42,93	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 επαναλήψεις

RSD<sub>r</sub> = Σχετική τυπική απόκλιση της επαναληψιμότητας

Σχήμα 2

Αεριοχρωματογράφημα αλκυλεστέρων λιπαρών οξέων που ελήφθησαν από πυρηνέλαιο με μετεστεροποίηση με ψυχρό διάλυμα KOH σε μεθανόλη



## 7. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΕΞΩΓΕΝΩΝ ΕΛΑΙΩΝ ΣΕ ΕΛΑΙΟΛΑΔΑ

Η μέθοδος υπολογισμού για την ανίχνευση εξωγενών ελαίων σε ελαιόλαδα, μέσω σύγκρισης μαθηματικών αλγορίθμων με μια βάση δεδομένων που έχει δημιουργηθεί με δεδομένα για γνήσια ελαιόλαδα, παρατίθεται στο παράρτημα Ι του προτύπου IOC/T.20/Doc. No 25.»

---