REGOLAMENTO DI ESECUZIONE (UE) N. 1348/2013 DELLA COMMISSIONE

del 16 dicembre 2013

che modifica il regolamento (CEE) n. 2568/91 relativo alle caratteristiche degli oli d'oliva e degli oli di sansa d'oliva nonché ai metodi ad essi attinenti

LA COMMISSIONE EUROPEA,

visto il trattato sul funzionamento dell'Unione europea,

visto il regolamento (CE) n. 1234/2007 del Consiglio, del 22 ottobre 2007, recante organizzazione comune dei mercati agricoli e disposizioni specifiche per taluni prodotti agricoli (regolamento unico OCM) [1], in particolare l'articolo 113, paragrafo 1, lettera a), e l'articolo 121, primo comma, lettere a) e h), in combinato disposto con l'articolo 4,

considerando quanto segue:

(1) Il regolamento (CEE) n. 2568/91 della Commissione [2] definisce le caratteristiche chimiche e organolettiche degli oli di oliva e degli oli di sansa di oliva e stabilisce i metodi di valutazione di tali caratteristiche. Occorre aggiornare tali metodi e i valori limite relativi alle caratteristiche degli oli sulla base del parere degli esperti chimici e conformemente all'attività svolta in sede di Consiglio oleicolo internazionale (in appresso: "COI").

(2) Per garantire l'applicazione a livello dell'Unione delle più recenti norme internazionali stabilite dal COI, occorre aggiornare taluni metodi di analisi nonché taluni valori limite relativi alle caratteristiche degli oli stabiliti nel regolamento (CEE) n. 2568/91.

(3) Pertanto, è necessario adeguare i valori limite relativi agli stigmastadieni, alle cere, all'acido miristico e agli alchil esteri degli acidi grassi e occorre modificare di conseguenza alcuni schemi decisionali che servono a verificare se un campione di olio di oliva è conforme alla categoria dichiarata. Occorre stabilire gli schemi decisionali relativi al campesterolo e al delta-7-stigmastenolo corredandoli di parametri più restrittivi, al fine di agevolare gli scambi e garantire l'autenticità degli oli, nell'interesse della protezione dei consumatori. È necessario sostituire il metodo di analisi relativo alla composizione e al contenuto di steroli, nonché alla determinazione dell'eritrodiolo e dell'uvaolo con un metodo più attendibile che comprenda anche i dialcoli triterpenici. È inoltre opportuno rivedere la valutazione organolettica degli oli di oliva e inserire un metodo che consenta di rilevare la presenza di oli vegetali estranei negli oli di oliva.

(4) Alla luce dell'evoluzione delle procedure relative ai controlli di conformità degli oli, occorre adeguare di conseguenza il metodo di campionamento dell'olio di oliva e dell'olio di sansa di oliva.

(5) È pertanto necessario modificare di conseguenza il regolamento (CEE) n. 2568/91.

(6) Al fine di concedere il tempo necessario per adeguarsi alle nuove disposizioni, per poter adottare le relative modalità di applicazione nonché per evitare di perturbare le transazioni commerciali, è opportuno che le modifiche apportate dal presente regolamento si applichino a decorrere dal 1º marzo 2014. Per gli stessi motivi, occorre stabilire che gli oli di oliva e gli oli di sansa di oliva legalmente fabbricati ed etichettati nell'Unione o legalmente importati nell'Unione e immessi in libera pratica prima di tale data possano essere commercializzati fino ad esaurimento delle scorte.

(7) Le misure previste dal presente regolamento sono conformi al parere del comitato di gestione per l'organizzazione comune dei mercati agricoli,

HA ADOTTATO IL PRESENTE REGOLAMENTO:

Articolo 1

Il regolamento (CEE) n. 2568/91 è così modificato:

(1) L'articolo 2 è sostituito dal seguente:

"*Articolo 2*

1. Le caratteristiche degli oli figuranti nell'allegato I sono determinate in base ai seguenti metodi di analisi:

(a) per la determinazione degli acidi grassi liberi, espressi in percentuale di acido oleico, il metodo di cui all'allegato II;

(b) per la determinazione dell'indice di perossidi, il metodo di cui all'allegato III;

(c) per la determinazione del contenuto di cere, il metodo di cui all'allegato IV;

(d) per la determinazione della composizione e del contenuto di steroli e dialcoli triterpenici mediante gascromatografia con colonna capillare, il metodo di cui all'allegato V;

(e) per la determinazione della percentuale di 2-gliceril monopalmitato, il metodo di cui all'allegato VII;

(f) per l'analisi spettrofotometrica, il metodo di cui all'allegato IX;

(g) per la determinazione della composizione di acidi grassi, il metodo di cui all'allegato X A e X B;

(h) per la determinazione dei solventi alogenati volatili, il metodo di cui all'allegato XI;

[1] GU L 299 del 16.11.2007, pag. 1.

[2] Regolamento (CEE) n. 2568/91, dell'11 luglio 1991, relativo alle caratteristiche degli oli d'oliva e degli oli di sansa d'oliva nonché ai metodi ad essi attinenti (GU L 248 del 5.9.1991, pag. 1).

(i) per la valutazione delle caratteristiche organolettiche degli oli di oliva vergini, il metodo di cui all'allegato XII;

(j) per la determinazione degli stigmastadieni, il metodo di cui all'allegato XVII;

(k) per la determinazione dei trigliceridi con ECN42, il metodo di cui all'allegato XVIII;

(l) per la determinazione del contenuto di alcoli alifatici, il metodo di cui all'allegato XIX;

(m) per la determinazione del contenuto di cere e metil ed etil esteri degli acidi grassi, il metodo di cui all'allegato XX.

Per rilevare la presenza di oli vegetali estranei negli oli di oliva si applica il metodo di analisi di cui all'allegato XX *bis*.

2. La verifica delle caratteristiche organolettiche degli oli di oliva vergini da parte delle autorità nazionali o dei loro rappresentanti è effettuata da panel di assaggiatori riconosciuti dagli Stati membri.

Le caratteristiche organolettiche di un olio, ai sensi del primo comma, si considerano conformi alla categoria di olio di oliva dichiarata se il panel di assaggiatori riconosciuto dallo Stato membro ne conferma la classificazione.

Qualora il panel non confermi la categoria dichiarata, sotto il profilo delle sue caratteristiche organolettiche, a richiesta dell'interessato le autorità nazionali o i loro rappresentanti incaricano altri panel riconosciuti di effettuare quanto prima due controanalisi, di cui almeno una deve essere effettuata da un panel riconosciuto dallo Stato membro di produzione dell'olio. Le caratteristiche in questione sono considerate conformi a quelle dichiarate se le due controanalisi confermano la classificazione dichiarata. In caso contrario il costo delle controanalisi è a carico dell'interessato.

3. Per quanto riguarda la verifica delle caratteristiche degli oli da parte delle autorità nazionali o di loro rappresentanti, prevista al paragrafo 1, il prelievo dei campioni si effettua secondo le norme internazionali EN ISO 661 relativa alla preparazione dei campioni per le prove e EN ISO 5555 relativa al campionamento. Tuttavia, in deroga al punto 6.8 della norma EN ISO 5555, per le partite di oli in imballaggi immediati il prelievo del campione si effettua conformemente all'allegato I *bis* del presente regolamento. Nel caso degli oli sfusi per i quali il campionamento non può essere eseguito conformemente alla norma EN ISO 5555, i campioni sono prelevati secondo le istruzioni impartite dall'autorità competente dello Stato membro.

Fatte salve le disposizioni della norma EN ISO 5555 e del capitolo 6 della norma EN ISO 661, i campioni prelevati sono messi quanto prima al riparo dalla luce e da fonti di calore elevato e sono inviati al laboratorio per le analisi entro il quinto giorno lavorativo successivo a quello del prelievo; altrimenti i campioni sono conservati in modo da evitarne il degrado o il danneggiamento durante il trasporto o lo stoccaggio in attesa di essere inviati al laboratorio.

4. Ai fini della verifica prevista al paragrafo 3, le analisi di cui agli allegati II, III, IX, XII e XX nonché, eventualmente, le controanalisi previste dalla legislazione nazionale, sono effettuate anteriormente alla data di durata minima per quanto riguarda i prodotti condizionati. In caso di campionamento di oli sfusi, tali analisi sono effettuate entro il sesto mese successivo a quello del prelievo del campione.

Per le altre analisi previste dal presente regolamento non si applica nessun termine.

Salvo se il campione sia stato prelevato meno di due mesi prima della data di durata minima, nel caso in cui i risultati delle analisi non corrispondano alle caratteristiche della categoria di olio di oliva o di olio di sansa di oliva dichiarata, l'interessato ne viene informato al più tardi un mese prima dello scadere del termine di cui al primo comma.

5. Ai fini della determinazione delle caratteristiche degli oli di oliva secondo i metodi di cui al paragrafo 1, primo comma, i risultati delle analisi sono direttamente confrontati con i limiti fissati dal presente regolamento.";

(2) l'allegato I è sostituito dal testo che figura nell'allegato I del presente regolamento;

(3) l'allegato I *bis* è sostituito dal testo che figura nell'allegato II del presente regolamento;

(4) l'allegato I *ter* è sostituito dal testo che figura nell'allegato III del presente regolamento;

(5) l'allegato V è sostituito dal testo che figura nell'allegato IV del presente regolamento;

(6) l'allegato VI è soppresso;

(7) l'allegato XII è sostituito dal testo che figura nell'allegato V del presente regolamento;

(8) l'allegato XX *bis*, il cui testo figura nell'allegato VI del presente regolamento, è inserito dopo l'allegato XX.

Articolo 2

I prodotti che sono stati legalmente fabbricati ed etichettati nell'Unione o legalmente importati nell'Unione e immessi in libera pratica anteriormente al 1º marzo 2014 possono essere commercializzati fino ad esaurimento delle scorte.

Articolo 3

Il presente regolamento entra in vigore il settimo giorno successivo alla pubblicazione nella *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea*.

Esso si applica a decorrere dal 1º marzo 2014.

Il presente regolamento è obbligatorio in tutti i suoi elementi e direttamente applicabile in ciascuno degli Stati membri.

Fatto a Bruxelles, il 16 dicembre 2013

Per la Commissione
Il presidente
José Manuel BARROSO

ALLEGATO I

«ALLEGATO 1

CARATTERISTICHE DEGLI OLI DI OLIVA

Categoria	Etil esteri degli acidi grassi (EEAG) mg/kg (*)	Acidità (%) (*)	Numero dei perossidi mEq O_2/kg (*)	Cere mg/kg (**)	2 gliceril monopalmitato (%)	Stigmastadieni mg/kg [1]	Differenza: ECN42 (HPLC) e ECN42 [2] (calcolo teorico)	K_{232} (*)	K_{268} o K_{270} (*)	Delta-K (*)	Valutazione organolettica Mediana del difetto (Md) (*)	Valutazione organolettica Mediana del fruttato (Mf) (*)
1. Olio extra vergine di oliva	EEAG ≤ 40 (campagna 2013-2014) [3] EEAG ≤ 35 (campagna 2014-2015) EEAG ≤ 30 (campagne successive al 2015)	≤ 0,8	≤ 20	$C_{42} + C_{44} + C_{46} \leq 150$	≤ 0,9 se % acido palmitico totale ≤ 14 % ≤ 1,0 se % acido palmitico totale > 14 %	≤ 0,05	≤ |0,2|	≤ 2,50	≤ 0,22	≤ 0,01	Md = 0	Mf > 0
2. Olio di oliva vergine	—	≤ 2,0	≤ 20	$C_{42} + C_{44} + C_{46} \leq 150$	≤ 0,9 se % acido palmitico totale ≤ 14 % ≤ 1,0 se % acido palmitico totale > 14 %	≤ 0,05	≤ |0,2|	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,01	Md ≤ 3,5	Mf > 0
3. Olio di oliva lampante	—	> 2,0	—	$C_{40} + C_{42} + C_{44} + C_{46} \leq 300$ [4]	≤ 0,9 se % acido palmitico totale ≤ 14 % ≤ 1,1 se % acido palmitico totale > 14 %	≤ 0,50	≤ |0,3|	—	—	—	Md > 3,5 [5]	—
4. Olio di oliva raffinato	—	≤ 0,3	≤ 5	$C_{40} + C_{42} + C_{44} + C_{46} \leq 350$	≤ 0,9 se % acido palmitico totale ≤ 14 % ≤ 1,1 se % acido palmitico totale > 14 %	—	≤ |0,3|	—	≤ 1,10	≤ 0,16	—	—

Categoria	Etil esteri degli acidi grassi (EEAG) mg/kg (*)	Acidità (%) (*)	Numero dei perossidi mEq O_2/kg (*)	Cere mg/kg (**)	2 gliceril monopalmitato (%)	Stigmastadieni mg/kg (1)	Differenza: ECN42 (HPLC) e ECN42 (2) (calcolo teorico)	K_{232} (*)	K_{268} o K_{270} (*)	Delta-K (*)	Valutazione organolettica Mediana del difetto (Md) (*)	Valutazione organolettica Mediana del fruttato (Mf) (*)
5. Olio di oliva composto di oli di oliva raffinati e di oli di oliva vergini	—	≤ 1,0	≤ 15	$C_{40} + C_{42} + C_{44} + C_{46} \leq 350$	≤ 0,9 se % acido palmitico totale ≤ 14 % ≤ 1,0 se % acido palmitico totale > 14 %	—	≤ |0,3|	—	≤ 0,90	≤ 0,15	—	—
6. Olio di sansa di oliva greggio	—	—	—	$C_{40} + C_{42} + C_{44} + C_{46} > 350$ (6)	≤ 1,4	—	≤ |0,6|	—	—	—	—	—
7. Olio di sansa di oliva raffinato	—	≤ 0,3	≤ 5	$C_{40} + C_{42} + C_{44} + C_{46} > 350$	≤ 1,4	—	≤ |0,5|	—	≤ 2,00	≤ 0,20	—	—
8. Olio di sansa di oliva	—	≤ 1,0	≤ 15	$C_{40} + C_{42} + C_{44} + C_{46} > 350$	≤ 1,2	—	≤ |0,5|	—	≤ 1,70	≤ 0,18	—	—

(1) Somma degli isomeri che potrebbero (o non potrebbero) essere separati mediante colonna capillare.
(2) L'olio di oliva deve essere conforme al metodo di cui all'allegato XX *bis*.
(3) Questo limite si applica agli oli di oliva prodotti a decorrere dal 1° marzo 2014.
(4) Gli oli con un tenore di cera compreso tra 300 mg/kg e 350 mg/kg sono considerati olio di oliva lampante se gli alcoli alifatici totali sono pari o inferiori a 350 mg/kg o se la percentuale di eritrodiolo e uvaolo è pari o inferiore a 3,5%.
(5) O quando la mediana del difetto è superiore a 3,5 oppure la mediana del difetto è pari o inferiore a 3,5 e la mediana del fruttato è uguale a 0.
(6) Gli oli con un tenore di cera compreso tra 300 mg/kg e 350 mg/kg sono considerati olio di sansa di oliva greggio se gli alcoli alifatici totali sono superiori a 350 mg/kg e se la percentuale di eritrodiolo e uvaolo è superiore a 3,5%.

Categoria	Composizione in acidi grassi (1)						Somma degli isomeri transoleici (%)	Somma degli isomeri translinoleici + translinolenici (%)	Composizione in steroli						Steroli totali (mg/kg)	Eritrodiolo e uvaolo (%) (**)
	Miristico (%)	Linolenico (%)	Arachico (%)	Eico-senoico (%)	Beenico (%)	Ligno-cerico (%)			Cole-sterolo (%)	Brassica-sterolo (%)	Campe-sterolo (2) (%)	Stigma sterolo (%)	β–sitoste-rolo apparente (%) (3)	Delta-7-stigma-stenolo (2) (%)		
1. Olio extra vergine di oliva	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
2. Olio di oliva vergine	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
3. Olio di oliva lampante	≤ 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. Olio di oliva raffinato	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5

Categoria	Composizione in acidi grassi (1)						Somma degli isomeri transoleici (%)	Somma degli isomeri translinoleici + translinolenici (%)	Composizione in steroli						Steroli totali (mg/kg)	Eritrodiolo e uvaolo (%) (**)
	Miristico (%)	Linolenico (%)	Arachico (%)	Eico-senoico (%)	Beenico (%)	Ligno-cerico (%)			Cole-sterolo (%)	Brassica-sterolo (%)	Campe-sterolo (2) (%)	Stigma sterolo (%)	β–sitoste-rolo apparente (%) (3)	Delta-7-stigma-stenolo (2) (%)		
5. Olio di oliva composto di oli di oliva raffinati e di oli di oliva vergini	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
6. Olio di sansa di oliva greggio	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,30	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 2 500	> 4,5 (5)
7. Olio di sansa di oliva raffinato	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,30	≤ 0,20	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 800	> 4,5
8. Olio di sansa di oliva	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,30	≤ 0,20	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 600	> 4,5

(1) Tenore di altri acidi grassi (%): palmitico: 7,50-20,00; palmitoleico: 0,30-3,50; eptadecanoico: ≤ 0,30; eptadecenoico: ≤ 0,30; stearico: 0,50-5,00; oleico: 55,00-83,00; linoleico: 3,50-21,00.
(2) V. Appendice del presente allegato.
(3) β-sitosterolo apparente: delta-5,23-stigmastadienolo+clerosterolo+beta-sitosterolo+sitostanolo+delta-5-avenasterolo+delta-5,24-stigmastadienolo.
(4) Gli oli con un tenore di cera compreso tra 300 mg/kg e 350 mg/kg sono considerati olio di oliva lampante se gli alcoli alifatici totali sono pari o inferiori a 350 mg/kg o se la percentuale di eritrodiolo e uvaolo è pari o inferiore a 3,5%.
(5) Gli oli con un tenore di cera compreso tra 300 mg/kg e 350 mg/kg sono considerati olio di sansa di oliva greggio se gli alcoli alifatici totali sono superiori a 350 mg/kg e se la percentuale di eritrodiolo e uvaolo è superiore a 3,5%.

Note:

a) I risultati delle analisi devono essere espressi con un numero di decimali uguale a quello previsto per ogni caratteristica. L'ultima cifra deve essere aumentata di una unità se la cifra successiva è superiore a 4.

b) È sufficiente che una sola caratteristica non sia conforme ai valori indicati perché l'olio venga cambiato di categoria o dichiarato non conforme riguardo alla sua purezza ai fini del presente regolamento.

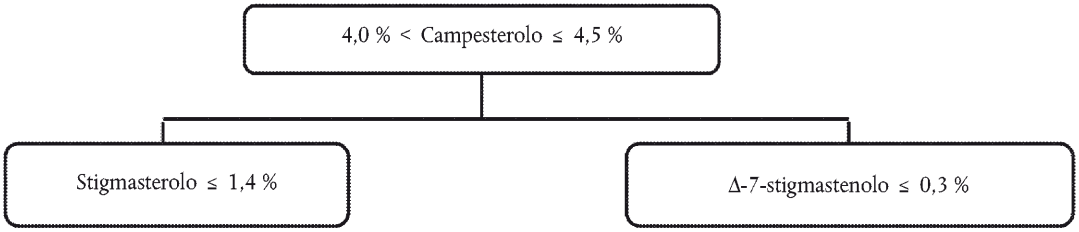
c) Le caratteristiche contrassegnate con un asterisco (*) e riguardanti le qualità dell'olio implicano che: - per l'olio di oliva lampante, i due corrispondenti valori limite possono non essere rispettati simultaneamente, - per gli oli di oliva vergini, l'inosservanza di almeno uno di questi valori limite comporta il cambiamento di categoria, pur rimanendo classificati in una delle categorie degli oli di oliva vergini.

d) Le caratteristiche contrassegnate con due asterischi (**) implicano che per tutti gli oli di sansa di oliva i due corrispondenti valori limite possono non essere rispettati simultaneamente.

Appendice

Schema decisionale

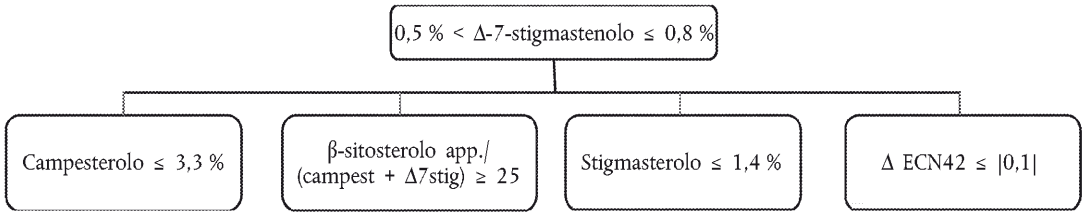
Schema decisionale per il **campesterolo** nell'olio di oliva vergine e nell'olio extra vergine di oliva.



Gli altri parametri devono rispettare i limiti fissati dal presente regolamento.

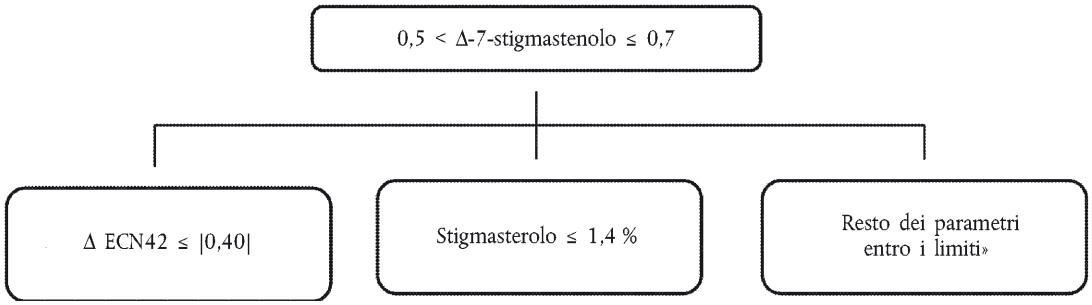
Schema decisionale per il **delta-7-stigmastenolo**.

— Nell'olio di oliva vergine e nell'olio extra vergine di oliva



Gli altri parametri devono rispettare i limiti fissati dal presente regolamento.

— Negli oli di sansa di oliva (greggio e raffinato)



ALLEGATO II

«*ALLEGATO I* bis

CAMPIONATURA DELLE PARTITE DI OLIO DI OLIVA O DI OLIO DI SANSA DI OLIVA CONSEGNATE IN IMBALLAGGI IMMEDIATI

Il presente metodo di campionatura si applica alle partite di olio di oliva o di olio di sansa di oliva condizionate in imballaggi immediati. A seconda che la capacità dell'imballaggio immediato sia o no superiore a 5 litri si applicano metodi di campionatura diversi.

Si intende per «partita» un insieme di unità di vendita prodotte, fabbricate e condizionate in circostanze tali che l'olio contenuto in ciascuna di queste unità di vendita è considerato omogeneo per tutte le caratteristiche analitiche. La partita deve essere identificata conformemente alla direttiva 2011/91/UE del Parlamento europeo e del Consiglio [1].

Si intende per «incremento» la quantità di olio contenuta in un imballaggio immediato prelevata da un punto a caso della partita.

1. CONTENUTO DEL CAMPIONE ELEMENTARE

1.1. **Imballaggi immediati di capacità non superiore a 5 litri**

Nel caso degli imballaggi immediati di capacità non superiore a 5 litri si intende per «campione elementare» il numero di incrementi prelevati da una partita in conformità alla tabella 1.

Tabella 1

Dimensione minima del campione elementare

In caso di imballaggi immediati aventi una capacità	Il campione elementare deve essere costituito dall'olio proveniente da
a) superiore o uguale a 1 litro	a) 1 imballaggio immediato
b) inferiore a 1 litro	b) dal numero minimo di imballaggi la cui capacità totale è almeno pari a 1,0 litro

Il numero di imballaggi di cui alla tabella 1, che costituiscono un campione elementare, può essere aumentato dai singoli Stati membri, secondo le rispettive esigenze (ad esempio, valutazione organolettica da parte di un laboratorio diverso da quello che ha eseguito le analisi chimiche, controanalisi ecc.).

1.2. **Imballaggi immediati di capacità superiore a 5 litri**

Nel caso degli imballaggi immediati di capacità superiore a 5 litri si intende per «campione elementare» una parte rappresentativa del totale degli incrementi, ottenuta mediante un processo di riduzione in conformità alla tabella 2. Il campione elementare deve essere costituito da più esemplari.

Si intende per «esemplare» di un campione elementare ciascuno degli imballaggi che costituiscono il campione elementare.

Tabella 2

Numero minimo di incrementi da selezionare

Numero di imballaggi del lotto	Numero minimo di incrementi da selezionare
Fino a 10	1
Da …. 11 a 150	2
Da …. 151 a 500	3
Da …. 501 a 1 500	4
Da …. 1 501 a 2 500	5
> 2 500 per 1 000 imballaggi	1 incremento supplementare

[1] Direttiva 2011/91/UE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 13 dicembre 2011, relativa alle diciture o marche che consentono di identificare la partita alla quale appartiene una derrata alimentare (GU L 334 del 16.12.2011, pag. 1).

Per ridurre il volume degli imballaggi immediati da sottoporre a campionamento, il contenuto degli incrementi è omogeneizzato ai fini della preparazione del campione elementare. Le porzioni dei diversi incrementi sono versate in un contenitore comune per essere omogeneizzati mediante agitazione, in modo da essere protetti al meglio dall'aria.

Il contenuto del campione elementare deve essere versato in una serie di imballaggi della capacità minima di 1,0 litro, ciascuno dei quali costituisce un esemplare del campione elementare.

Il numero di campioni elementari può essere aumentato dai singoli Stati membri, secondo le rispettive esigenze (ad esempio, valutazione organolettica da parte di un laboratorio diverso da quello che ha eseguito le analisi chimiche, controanalisi ecc.).

Ciascun imballaggio deve essere riempito in modo tale ridurre il più possibile lo strato d'aria sovrastante e quindi idoneamente chiuso e sigillato per garantire che il prodotto non possa essere manomesso.

Gli esemplari in questione devono essere etichettati per identificarli con precisione.

2. ANALISI E RISULTATI

2.1. Ciascun campione elementare deve essere suddiviso in campioni di laboratorio, conformemente al punto 2.5 della norma EN ISO 5555, e sottoposto alle analisi nell'ordine indicato nello schema decisionale di cui all'allegato I *ter* o in qualunque altro ordine casuale.

2.2. Qualora tutti i risultati delle analisi siano conformi alle caratteristiche della categoria di olio dichiarata, l'intera partita in questione è dichiarata conforme.

Qualora anche uno solo dei risultati non sia conforme alle caratteristiche della categoria di olio dichiarata, l'intera partita in questione è dichiarata non conforme.

3. VERIFICA DELLA CATEGORIA DELLA PARTITA

3.1. Per verificare la categoria della partita, l'autorità competente può aumentare il numero di campioni elementari effettuati in punti diversi della partita secondo la tabella seguente:

Tabella 3

Numero di campioni elementari determinati dalle dimensioni della partita

Dimensione della partita (litri)	Numero di campioni elementari
Meno di 7 500	2
Da 7 500 a meno di 25 000	3
Da 25 000 a meno di 75 000	4
Da 75 000 a meno di 125 000	5
125 000 o più	6 + 1 ogni 50 000 litri supplementari

Ciascun incremento che costituisce un campione elementare deve essere prelevato da punti contigui della partita; è necessario annotare l'ubicazione di ciascun campione elementare e identificarlo inequivocabilmente.

La costituzione di ciascun campione elementare deve rispettare le procedure di cui ai punti 1.1 e 1.2.

Ciascun campione elementare è quindi sottoposto alle analisi di cui all'articolo 2, paragrafo 1.

3.2. Qualora, per almeno uno dei campioni elementari, uno dei risultati delle analisi di cui all'articolo 2, paragrafo 1, non sia conforme alle caratteristiche della categoria di olio dichiarata, l'intera partita è dichiarata non conforme.»

ALLEGATO III

«ALLEGATO I ter

SCHEMA DECISIONALE PER LA VERIFICA DELLA CONFORMITÀ DI UN CAMPIONE DI OLIO DI OLIVA ALLA CATEGORIA DICHIARATA

Tabella 1

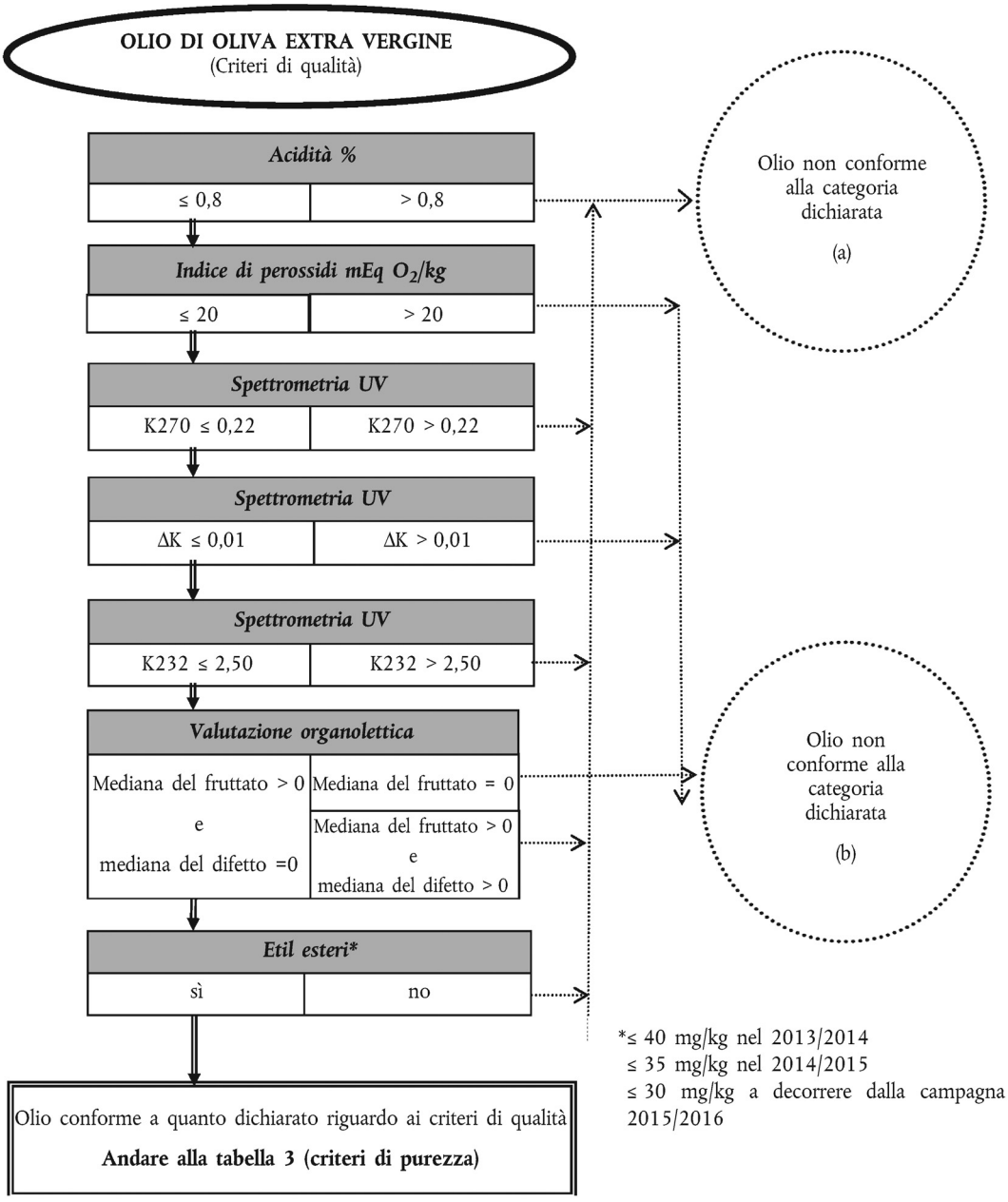


Tabella 2

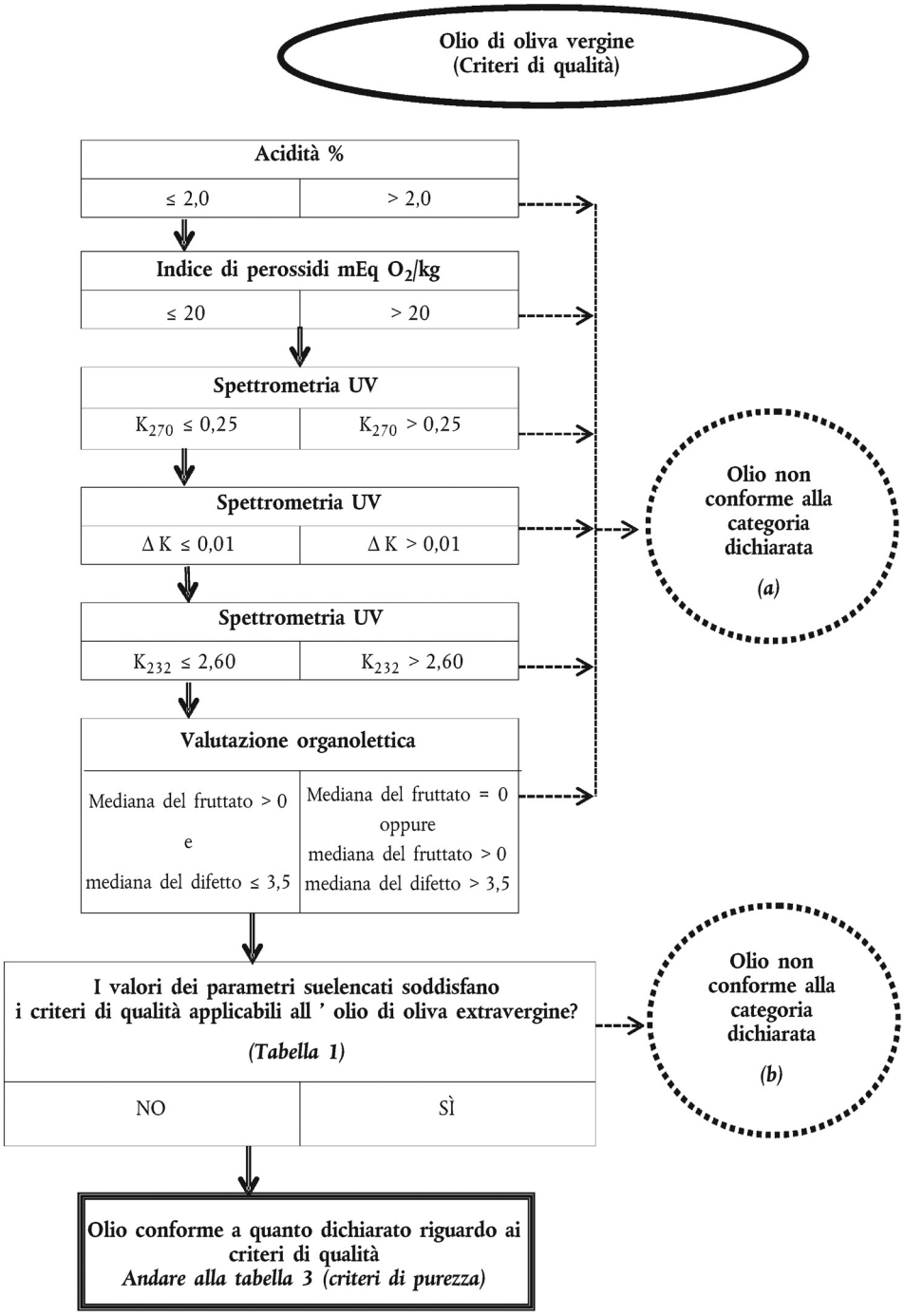
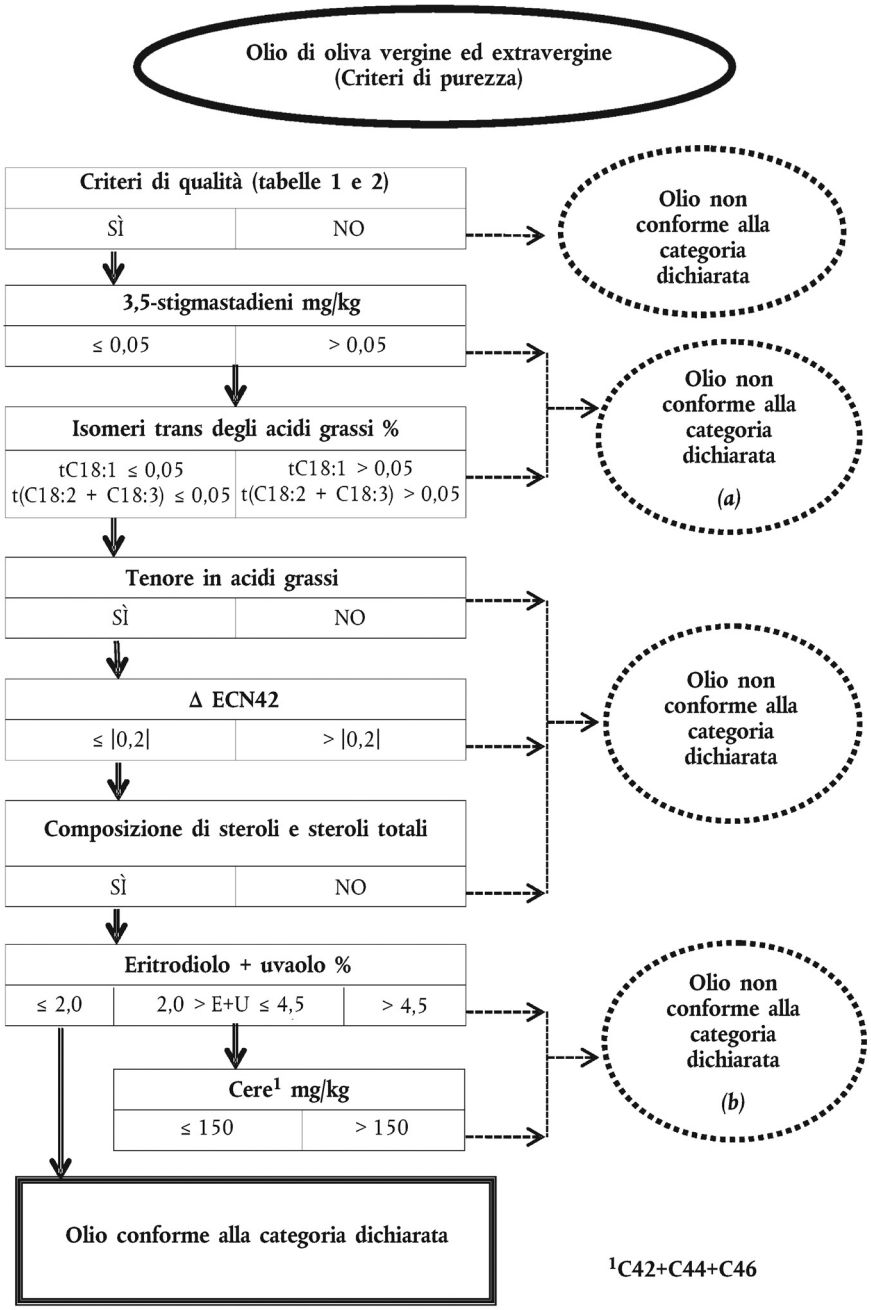

Olio di oliva vergine
(Criteri di qualità)
Acidità %
≤ 2,0
> 2,0
Indice di perossidi mEq O_2/kg
≤ 20
> 20
Spettrometria UV
K_{270} ≤ 0,25
K_{270} > 0,25
Spettrometria UV
ΔK ≤ 0,01
ΔK > 0,01
Spettrometria UV
K_{232} ≤ 2,60
K_{232} > 2,60
Valutazione organolettica
Mediana del fruttato > 0
e
mediana del difetto ≤ 3,5
Mediana del fruttato = 0
oppure
mediana del fruttato > 0
mediana del difetto > 3,5
Olio non conforme alla categoria dichiarata
(a)
I valori dei parametri suelencati soddisfano i criteri di qualità applicabili all ' olio di oliva extravergine?
(Tabella 1)
NO
SÌ
Olio non conforme alla categoria dichiarata
(b)
Olio conforme a quanto dichiarato riguardo ai criteri di qualità
Andare alla tabella 3 (criteri di purezza)

Tabella 3


Olio di oliva vergine ed extravergine
(Criteri di purezza)
Criteri di qualità (tabelle 1 e 2)
SÌ
NO
Olio non conforme alla categoria dichiarata
3,5-stigmastadieni mg/kg
≤ 0,05
> 0,05
Isomeri trans degli acidi grassi %
tC18:1 ≤ 0,05
t(C18:2 + C18:3) ≤ 0,05
tC18:1 > 0,05
t(C18:2 + C18:3) > 0,05
Olio non conforme alla categoria dichiarata
(a)
Tenore in acidi grassi
SÌ
NO
Δ ECN42
≤ |0,2|
> |0,2|
Olio non conforme alla categoria dichiarata
Composizione di steroli e steroli totali
SÌ
NO
Eritrodiolo + uvaolo %
≤ 2,0
2,0 > E+U ≤ 4,5
> 4,5
Cere[1] mg/kg
≤ 150
> 150
Olio non conforme alla categoria dichiarata
(b)
Olio conforme alla categoria dichiarata
[1]C42+C44+C46

Appendice 1

Corrispondenza tra gli allegati del presente regolamento e le analisi previste nello schema decisionale

— Acidità	Allegato II	Determinazione degli acidi grassi liberi, metodo a freddo
— Indice di perossidi	Allegato III	Determinazione del numero di perossidi
— Spettrometria a raggi ultravioletti	Allegato IX	Analisi spettrofotometrica
— Valutazione organolettica	Allegato XII	Valutazione organolettica degli oli di oliva vergini
— Etil esteri	Allegato XX	Metodo per la determinazione del contenuto di cere e metil ed etil esteri degli acidi grassi mediante gascromatografia con colonna capillare
— Stigmasta-3,5-diene	Allegato XVII	Metodo di determinazione degli stigmastadieni negli oli vegetali
— Isomeri trans degli acidi grassi	Allegato X A e	Analisi gascromatografica degli esteri metilici degli acidi grassi
	Allegato X B	Preparazione degli esteri metilici degli acidi grassi
— Composizione di acidi grassi	Allegato X A e	Analisi gascromatografica degli esteri metilici degli acidi grassi
	Allegato X B	Preparazione degli esteri metilici degli acidi grassi
— ΔECN42	Allegato XVIII	Determinazione dei trigliceridi con ECN42 (differenze fra i dati HPLC e il contenuto teorico)
— Composizione di steroli e steroli totali — Eritrodiolo e uvaolo	Allegato V	Determinazione della composizione e del contenuto di steroli e dialcoli triterpenici mediante gascromatografia con colonna capillare
— Cere	Allegato IV	Determinazione del contenuto di cere mediante gascromatografia con colonna capillare
— Alcoli alifatici	Allegato XIX	Determinazione del contenuto di alcoli alifatici mediante gascromatografia con colonna capillare
— Acidi grassi saturi in posizione 2	Allegato VII	Determinazione della percentuale di 2- gliceril monopalmitato»

ALLEGATO IV

«ALLEGATO V

DETERMINAZIONE DELLA COMPOSIZIONE E DEL CONTENUTO DI STEROLI E DIALCOLI TRITERPENICI MEDIANTE GASCROMATOGRAFIA CON COLONNA CAPILLARE

1. OGGETTO

Il metodo descrive un procedimento per la determinazione del contenuto di steroli e dialcoli triterpenici, singoli e totali, degli oli di oliva e degli oli di sansa di oliva.

2. PRINCIPIO

L'olio, addizionato di α-colestanolo quale standard interno, è saponificato con idrossido di potassio in soluzione etanolica, quindi l'insaponificabile viene estratto con etere etilico.

La frazione costituita da steroli e dialcoli triterpenici è separata dall'insaponificabile mediante cromatografia su strato sottile su una placca di gel di silice basica. Le frazioni recuperate dal gel di silice vengono trasformate in trimetilsilileteri e quindi analizzate mediante gascromatografia in colonna capillare.

3. APPARECCHIATURA

La normale apparecchiatura di laboratorio e in particolare quanto segue.

3.1. Matraccio da 250 ml, munito di refrigerante a ricadere con giunti a smeriglio.

3.2. Imbuto separatore da 500 ml.

3.3. Matracci da 250 ml.

3.4. Attrezzatura completa per analisi cromatografica su strato sottile, per lastre di vetro 20 × 20 cm.

3.5. Lampada a luce ultravioletta, con lunghezza d'onda 254 o 366 nm.

3.6. Microsiringhe da 100 µl e 500 µl.

3.7. Imbuto cilindrico filtrante a setto poroso G 3 (porosità 15-40 µm) di diametro circa 2 cm e altezza circa 5 cm, idoneo per filtrazione sotto vuoto con giunto smerigliato maschio.

3.8. Beuta per vuoto da 50 ml con giunto femmina smerigliato, adattabile all'imbuto filtrante (punto 3.7.).

3.9. Provetta da 10 ml a fondo conico con tappo di vetro a tenuta.

3.10. Gascromatografo idoneo per il funzionamento con colonna capillare, dotato di dispositivo di iniezione di tipo split, costituito da:

3.10.1. camera termostatica per le colonne, in grado di mantenere la temperatura desiderata con la precisione di ± 1 °C;

3.10.2. complesso di iniezione termoregolabile con elemento vaporizzatore in vetro persilanizzato e sistema split;

3.10.3. rivelatore a ionizzazione di fiamma;

3.10.4. sistema di acquisizione di dati idoneo per il funzionamento con il rivelatore a ionizzazione di fiamma (punto 3.10.3.), integrabile manualmente.

3.11. Colonna capillare in silice fusa, lunga 20 - 30 m, diametro interno 0,25 - 0,32 mm, internamente ricoperta di una miscela costituita da 5% difenil - 95% dimetilpolisilossano (fase stazionaria SE-52 o SE-54 o equivalenti), fino a uno spessore uniforme compreso fra 0,10 e 0,30 µm.

3.12. Microsiringa per gascromatografia da 10 µl con ago cementato idonea all'iniezione split.

3.13. Essiccatore a cloruro di calcio.

4. REAGENTI

4.1. Idrossido di potassio, titolo minimo 85%.

4.2. Idrossido di potassio, soluzione etanolica circa 2 N:

si sciolgono, sotto raffreddamento, 130 g di idrossido di potassio (punto 4.1) in 200 ml di acqua distillata, quindi si porta ad 1 litro con etanolo (punto 4.10). Si conserva la soluzione in bottiglie di vetro scuro ben tappate, per un massimo di due giorni.

4.3. Etere etilico, puro per analisi.

4.4. Idrossido di potassio, soluzione etanolica circa 0,2 N:

si sciolgono 13 g di idrossido di potassio (punto 4.1) in 20 ml di acqua distillata e si porta a 1 litro con etanolo (punto 4.10).

4.5. Sodio solfato anidro, puro per analisi.

4.6. Lastre di vetro (20x20 cm) stratificate con gel di silice, senza indicatore di fluorescenza, spessore 0,25 mm (sono reperibili in commercio già pronte per l'uso).

4.7. Toluene, per cromatografia.

4.8. Acetone, per cromatografia.

4.9. n-esano, per cromatografia.

4.10. Etere etilico, per cromatografia.

4.11. Etanolo per analisi.

4.12. Acetato di etile per analisi.

4.13. Soluzione di riferimento per la cromatografia su strato sottile: colesterolo o fitosteroli, e soluzione di eritrodiolo al 5% in acetato di etile (punto 4.11).

4.14. 2,7-diclorofluoresceina, soluzione etanolica allo 0,2%. Si rende leggermente basica aggiungendo qualche goccia di soluzione alcolica 2 N di idrossido di potassio (punto 4.2).

4.15. Piridina anidra, per cromatografia (v. Nota 5).

4.16. Esametildisilazano per analisi.

4.17. Trimetilclorosilano per analisi.

4.18. Soluzioni campione di trimetilsilileteri degli steroli:

si preparano al momento dell'impiego partendo da steroli ed eritrodiolo ottenuti da oli che li contengano.

4.19. α-colestanolo, puro ad oltre il 99% (la purezza deve essere verificata mediante analisi gascromatografica).

4.20. α-colestanolo, soluzione di standard interno allo 0,2% (m/V) in acetato di etile (punto 4.11).

4.21. Fenolftaleina, soluzione di 10 g/l in etanolo (punto 4.10).

4.22. Gas vettore: idrogeno o elio, puri per gascromatografia.

4.23. Gas ausiliari: idrogeno, elio, azoto e aria, puri per gascromatografia.

4.24. Miscela n-esano (punto 4.9)/etere etilico (punto 4.10) in rapporto 65:35 (V/V).

4.25. Reagente per la sililazione costituito da una miscela 9:3:1 (V/V/V) di piridina-esametildisilazano- trimetilclorosilano.

5. PROCEDIMENTO

5.1. Preparazione dell'insaponificabile.

5.1.1. Nel matraccio da 250 ml (punto 3.1) si introduce, impiegando la microsiringa da 500 µl (punto 3.6), un volume di soluzione di standard interno α-colestanolo (punto 4.20) che contenga una quantità di colestanolo corrispondente a circa il 10% del contenuto di steroli del campione. Ad esempio, per 5 g di campione si aggiungano 500 µl della soluzione di α-colestanolo (punto 4.20) se trattasi di un olio di oliva e 1 500 µl se trattasi di olio di sansa di oliva. Si fa evaporare fino a secchezza in leggera corrente di azoto su bagnomaria caldo; dopo il raffreddamento, nello stesso matraccio si pesano 5±0,01 g di campione secco filtrato.

Nota 1: In oli e grassi animali e vegetali contenenti quantità notevoli di colesterolo può essere presente un picco avente tempo di ritenzione identico al colestanolo. In tali casi occorre analizzare la frazione sterolica in doppio con e senza standard interno.

5.1.2. Si aggiungono 50 ml di soluzione etanolica di idrossido di potassio 2 N (punto 4.2) e della pomice, si applica il refrigerante a ricadere e si scalda a leggera ebollizione fino a saponificazione avvenuta (la soluzione diviene limpida). Si continua il riscaldamento ancora per 20 minuti, quindi si aggiungono 50 ml di acqua distillata facendoli scendere dall'alto del refrigerante, si stacca il refrigerante e si raffredda il matraccio a circa 30 °C.

5.1.3. Si travasa il contenuto del matraccio quantitativamente, in un imbuto separatore da 500 ml (punto 3.2), aiutandosi con acqua distillata, a più riprese (50 ml). Si aggiungono circa 80 ml di etere etilico (punto 4.10), si agita energicamente per circa 60 secondi, smettendo periodicamente di applicare pressione mediante capovolgimento dell'imbuto separatore e apertura del rubinetto. Si lascia quindi riposare fino alla completa separazione delle due fasi (Nota 2).

A questo punto si raccoglie la maggior quantità possibile di soluzione saponificata in un secondo imbuto separatore. Sulla fase acquosa-alcolica si effettuano ancora due estrazioni, con le stesse modalità, impiegando 60-70 ml di etere etilico (punto 4.10).

Nota 2: Eventuali emulsioni possono essere eliminate aggiungendo piccole quantità di etanolo (punto 4.11).

5.1.4. Si riuniscono i tre estratti eterei in un unico imbuto separatore contenente 50 ml di acqua e si continua il lavaggio con acqua (50 ml) finché quest'ultima non presenta più una colorazione rosa all'aggiunta di una goccia di soluzione di fenolftaleina (punto 4.21).

Eliminata l'acqua di lavaggio, si filtra su sodio solfato anidro (punto 4.5) in un matraccio da 250 ml precedentemente pesato, lavando imbuto e filtro con piccole quantità di etere etilico (punto 4.10).

5.1.5. Si distilla il solvente in un evaporatore rotante a 30°C sotto vuoto. Si aggiungono 5 ml di acetone e si rimuove completamente il solvente volatile in una leggera corrente di aria. Il residuo viene essiccato in stufa a 103±2°C per 15 minuti, raffreddato in essiccatori e pesato approssimando a 0,1 mg.

5.2. Separazione della frazione costituita da steroli e dialcoli triterpenici (eritrodiolo + uvaolo)

5.2.1. Preparazione delle lastre basiche per la cromatografia su strato sottile: si immergono le lastre al gel di silice (punto 4.6) per circa 4 cm nella soluzione etanolica 0,2 N di idrossido di potassio (punto 4.5) per 10 secondi, si lasciano quindi asciugare sotto cappa per due ore e infine si pongono in stufa a 100 °C per un'ora.

Si tolgono dalla stufa e si conservano in essiccatore a cloruro di calcio (punto 3.13) fino al momento dell'impiego (le lastre così trattate devono essere impiegate entro 15 giorni).

Nota 3: Impiegando per la separazione della frazione sterolica delle lastre al gel di silice basiche si elimina la necessità del trattamento della frazione insaponificabile con allumina. In tal modo vengono trattenuti sulla linea di caricamento tutti i composti di natura acida (acidi grassi ed altro) ottenendosi così la banda degli steroli nettamente separata dalle bande degli alcoli alifatici e triterpenici.

5.2.2. Nella camera di sviluppo delle lastre si introduce una miscela esano/etere etilico (punto 4.24) (Nota 4) fino all'altezza di circa 1 cm. Si chiude la camera con l'apposito coperchio e si lascia così per almeno mezz'ora, in luogo fresco, in modo che si stabilisca l'equilibrio liquido-vapore. Sulle superfici interne della camera possono essere fissate delle strisce di carta da filtro che peschino nell'eluente: questo accorgimento permette di ridurre di circa 1/3 il tempo di sviluppo e di ottenere una più uniforme e regolare eluizione dei componenti.

Nota 4: Al fine di ottenere condizioni di eluizione perfettamente riproducibili, la miscela di sviluppo deve essere sostituita a ogni prova; in alternativa è possibile utilizzare un solvente costituito da n-esano/etere etilico 50:50 (V/V).

5.2.3. Si prepara una soluzione al 5% circa di insaponificabile (punto 5.1.5) in acetato di etile (punto 4.12) e, con la microsiringa da 100 µl, si depositano sulla placca cromatografica, a 2 cm dall'estremità inferiore, 0,3 ml della soluzione in una striscia sottile e uniforme (punto 5.2.1). In allineamento con la linea di caricamento, si depositano 2-3 µl della soluzione di riferimento (punto 4.13), allo scopo di identificare, a sviluppo ultimato, la banda degli steroli e dei dialcoli triterpenici.

5.2.4. Si pone la placca nella camera di sviluppo preparata come descritto al punto 5.2.2. La temperatura ambiente dovrà essere mantenuta fra 15 e 20°C (Nota 5). Si chiude subito la camera col coperchio e si lascia eluire fino a che il fronte del solvente sia arrivato a circa 1 cm dal bordo superiore della placca. Si rimuove quindi la placca dalla camera di sviluppo e si fa evaporare il solvente in corrente di aria calda oppure lasciando la placca per un po' di tempo sotto cappa.

Nota 5: Una temperatura più elevata potrebbe peggiorare la separazione.

5.2.5. Si spruzza la placca debolmente e uniformemente con la soluzione di 2,7-diclorofluoresceina (punto 4.14) e la si lascia asciugare. Osservando la placca alla luce ultravioletta si individuano le bande degli steroli e dei dialcoli triterpenici per allineamento con la macchia ottenuta con la soluzione di riferimento (punto 4.13); si delimitano con una matita nera i limiti delle bande lungo i margini di fluorescenza (v. placca cromatografica figura 3).

5.2.6. Con una spatola metallica si raschia il gel di silice compreso nell'area delimitata. Il materiale asportato, finemente sminuzzato, viene introdotto nell'imbuto filtrante (punto 3.7); si aggiungono 10 ml di acetato di etile caldo (punto 4.12), si mescola accuratamente con la spatola metallica e si filtra sotto vuoto, raccogliendo il filtrato nella beuta (punto 3.8.), collegata all'imbuto filtrante.

Si lava il residuo nella beuta per tre volte con etere etilico (punto 4.3) (circa 10 ml per volta), raccogliendo sempre il filtrato nella stessa beuta attaccata all'imbuto; si fa evaporare il filtrato fino a un volume di circa 4-5 ml, si trasferisce la soluzione residua nella provetta da 10 ml precedentemente pesata (punto 3.9), si porta a secco con blando riscaldamento in leggera corrente di azoto, si riprende con qualche goccia di acetone (punto 4.8), si riporta ancora a secco mediante evaporazione,

Il residuo contenuto nella provetta deve essere costituito dalle frazioni di steroli e dialcoli triterpenici.

5.3. Preparazione dei trimetilsilileteri.

5.3.1. Nella provetta contenente la frazione sterolica e triterpenica si aggiunge il reagente per la sililazione (punto 4.25) (Nota 6), in ragione di 50 µl per ogni milligrammo di steroli e di dialcoli triterpenici, evitando ogni assorbimento di umidità (Nota 7).

Nota 6: Esistono in commercio soluzioni già pronte per l'uso; sono inoltre disponibili altri reagenti per la sililazione, quali ad esempio il bis-trimetilsililtrifluorolacetammide + 1% di trimetilclorosilano da diluire in uno stesso volume di piridina anidra.

La piridina può essere sostituita dalla stessa quantità di acetonitrile.

5.3.2. Si tappa la provetta, si agita cautamente (senza capovolgere) fino a completa solubilizzazione dei composti. Si lascia a sé per almeno 15 minuti a temperatura ambiente, quindi si centrifuga per alcuni minuti: la soluzione limpida è pronta per l'analisi gascromatografica.

Nota 7: L'eventuale formazione di una leggera opalescenza è normale e non è causa di alcuna anomalia. La formazione di un flocculato bianco o la comparsa di una colorazione rosa sono indizio della presenza di umidità o di alterazione del reagente. In questo caso la prova dovrà essere ripetuta (solo se si utilizza esametildisilazano/trimetilclorosilano).

5.4. Analisi gascromatografica.

5.4.1. Operazioni preliminari, condizionamento della colonna capillare.

5.4.1.1. Si installa la colonna (punto 3.11) nel gascromatografo, collegando il terminale di ingresso all'iniettore del dispositivo split e il terminale di uscita al rivelatore.

Si eseguono i controlli generali del complesso gascromatografico (tenuta dei circuiti dei gas, efficienza del rivelatore, efficienza del sistema di split e del sistema di registrazione, ecc.).

5.4.1.2. Se la colonna è messa in uso per la prima volta è consigliabile procedere al suo condizionamento: si fa scorrere un leggero flusso di gas attraverso la colonna stessa, quindi si accende il complesso gascromatografico e si inizia un riscaldamento graduale fino a raggiungere una temperatura di almeno 20 °C superiore a quella di esercizio (Nota 8). Si mantiene tale temperatura per almeno 2 ore, quindi si porta il complesso alle condizioni di funzionamento (regolazione del flusso dei gas e del dispositivo split, accensione della fiamma, collegamento con l'elaboratore, regolazione della temperatura della colonna, del rivelatore e dell'iniettore, ecc.) e si registra il segnale a una sensibilità almeno 2 volte superiore a quella prevista per l'esecuzione dell'analisi. Il tracciato della linea di base deve risultare lineare, esente da picchi di qualsiasi natura, e non deve presentare deriva.

Una deriva rettilinea negativa indica imperfetta tenuta delle connessioni della colonna, mentre una deriva positiva indica un insufficiente condizionamento della colonna.

Nota 8: La temperatura di condizionamento deve in ogni caso essere inferiore di almeno 20 °C rispetto alla temperatura massima prevista per la fase stazionaria utilizzata.

5.4.2. Scelta delle condizioni operative.

5.4.2.1. Le condizioni operative di massima sono le seguenti:

— temperatura della colonna: 260 ± 5°C

— temperatura dell'iniettore: 280-300°C

— temperatura del rivelatore: 280-300°C

— velocità lineare del gas vettore: elio 20 - 35 cm/s; idrogeno 30 - 50 cm/s

— rapporto di split: da 1:50 a 1:100

— sensibilità strumentale: da 4 a 16 volte l'attenuazione minima

— sensibilità di registrazione: 1 - 2 mV f.s.

— quantità di sostanza iniettata: 0,5 - 1 µl di soluzione di TMSE.

Tali condizioni possono essere modificate in funzione delle caratteristiche della colonna e del gascromatografo, in modo da ottenere cromatogrammi che soddisfino le condizioni seguenti:

— il tempo di ritenzione del picco di β-sitosterolo deve essere 20 ± 5 minuti

— il picco del campesterolo deve essere: per l'olio di oliva (contenuto medio 3%) 20 ± 5 % del fondo scala, per l'olio di soia (contenuto medio 20%) 80 ± 10% del fondo scala

— si deve avere separazione di tutti gli steroli presenti; è necessario che i picchi oltre che separati siano anche completamente risolti cioè che il tracciato del picco raggiunga la linea di base prima di risalire per il picco successivo. È tuttavia tollerata anche una risoluzione incompleta purché il picco TRR 1,02 (sitostanolo) sia quantificabile secondo la perpendicolare.

5.4.3. Esecuzione dell'analisi.

5.4.3.1. Con la microsiringa da 10 µl si preleva 1 µl di esano, si aspirano 0,5 µl di aria e successivamente 0,5 - 1 µl della soluzione del campione; si alza ancora lo stantuffo della siringa in modo che l'ago sia vuoto. Si introduce l'ago attraverso la membrana dell'iniettore e dopo 1-2 secondi si inietta rapidamente e si estrae quindi lentamente l'ago dopo circa 5 secondi.

È possibile utilizzare anche un iniettore automatico.

5.4.3.2. Si effettua la registrazione fino a completa eluizione dei TMSE dei dialcoli triterpenici presenti. La linea di base deve essere sempre corrispondente ai requisiti richiesti (punto 5.4.1.2).

5.4.4. Identificazione dei picchi.

L'identificazione dei singoli picchi viene effettuata in base ai tempi di ritenzione e per paragone con miscele di TMSE degli steroli e dei dialcoli triterpenici, analizzate nelle medesime condizioni (v. Appendice).

Gli steroli e i dialcoli triterpenici vengono eluiti secondo il seguente ordine: colesterolo, brassicasterolo, ergosterolo, 24-metilencolesterolo, campesterolo, campestanolo, stigmasterolo, Δ7-campesterolo, Δ5,23-stigmastadienolo, clerosterolo, ß-sitosterolo, sitostanolo, Δ5-avenasterolo, Δ5,24-stigmastadienolo, Δ7-stigmastenolo, Δ7-avenasterolo, eritrodiolo e uvaolo.

Nella Tabella I sono riportati i tempi di ritenzione relativi al ß-sitosterolo per le colonne SE-52 e SE-54.

Le figure 1 e 2 illustrano cromatogrammi tipici di alcuni oli.

5.4.5. Valutazione quantitativa.

5.4.5.1. Si procede al calcolo delle aree dei picchi di α-colestanolo, steroli e dialcoli triterpenici mediante l'elaboratore. Non vengono considerati i picchi di eventuali componenti non compresi fra quelli elencati nella Tabella I (non si deve calcolare l'ergosterolo). Il coefficiente di risposta dell'α-colestanolo si deve intendere unitario.

5.4.5.2. Si calcola la concentrazione di ogni singolo sterolo, in mg/kg di sostanza grassa, come segue:

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

in cui:

A_x = area del picco dello sterolo x, in unità di calcolo dell'elaboratore;

A_s = area del picco dell'α-colestanolo, in unità di calcolo dell'elaboratore;

m_s = massa di α-colestanolo aggiunta, in milligrammi;

m = massa del campione prelevato per la determinazione, in grammi.

6. ESPRESSIONE DEI RISULTATI

6.1. Si riportano le concentrazioni dei singoli steroli, in mg/kg di sostanza grassa e, come steroli totali, la loro somma.

Il contenuto di ogni singolo sterolo, dell'eritrodiolo e dell'uvaolo deve essere espresso con una cifra decimale.

Il contenuto totale di steroli deve essere espresso senza decimali.

6.2. Si calcola il contenuto percentuale di ogni singolo sterolo dal rapporto fra l'area del picco corrispondente e la somma delle aree dei picchi degli steroli, dell'eritrodiolo e dell'uvaolo:

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

in cui:

A_x = area del picco x;

ΣA = somma delle aree di tutti i picchi degli steroli;

6.3. β-sitosterolo apparente: Δ5-23-stigmastadienolo + clerosterolo + β-sitosterolo + sitostanolo + Δ5-avenasterolo + Δ5-24-stigmastadienolo.

6.4 Si calcola il contenuto percentuale di eritrodiolo e uvaolo:

$$\text{Eritrodiolo} + \text{uvaolo} = \frac{Er + Uv}{Er + Uv + \Sigma A} \times 100$$

in cui:

ΣA = somma delle aree degli steroli in unità di calcolo dell'integratore;

Er = area dell'eritrodiolo in unità di calcolo dell'integratore;

Uv = area dell'uvaolo in unità di calcolo dell'integratore.

Appendice

Determinazione della velocità lineare del gas

Nel gascromatografo, regolato alle normali condizioni operative, si iniettano 1 - 3 µl di metano (o propano) e si cronometra il tempo che il gas impiega a percorrere la colonna, dal momento dell'iniezione al momento della comparsa del picco (tM).

La velocità lineare in cm/s è data da L/tM, in cui L è la lunghezza della colonna in centimetri e tM è il tempo cronometrato in secondi.

Tabella 1

Tempi di ritenzione relativi degli steroli

Picco	Identificazione		Tempo di ritenzione relativo	
			Colonna SE 54	Colonna SE 52
1	Colesterolo	Δ-5-colesten-3ß-olo	0,67	0,63
2	Colestanolo	5α-colestan-3ß-olo	0,68	0,64
3	Brassicasterolo	[24S]-24-metil-Δ-5,22-colestadien-3ß-olo	0,73	0,71
*	Ergosterolo	[24S] 24 metil Δ5-7-22 colestatrien 3ß-olo	0,78	0,76
4	24-metilencolesterolo	24-metilen-Δ-5,24-colestadien-3ß-o1o	0,82	0,80
5	Campesterolo	(24R)-24-metil-Δ-5-colesten-3ß-olo	0,83	0,81
6	Campestanolo	(24R)-24-metil-colestan-3ß-olo	0,85	0,82
7	Stigmasterolo	(24S)-24-etil-Δ-5,22-colestadien-3ß-olo	0,88	0,87
8	Δ-7-campesterolo	(24R)-24-metil-Δ-7-colesten-3ß-olo	0,93	0,92
9	Δ-5,23-stigmastadienolo	(24R,S)-24-etil-Δ-5,23-colestadien-3ß-olo	0,95	0,95
10	Clerosterolo	(24S)-24-etil-Δ-5,25-colestadien-3ß-olo	0,96	0,96
11	ß-sitosterolo	(24R)-24-etil-Δ-5-colesten-3ß-olo	1,00	1,00
12	Sitostanolo	24-etil-colestan-3ß-olo	1,02	1,02
13	Δ-5-avenasterolo	(24Z)-24-etiliden-Δ-colesten-3ß-olo	1,03	1,03
14	Δ-5-24-stigmastadienolo	(24R,S)-24-etil-Δ-5,24-colestadien-3ß-olo	1,08	1,08
15	Δ-7-stigmastenolo	(24R,S)-24-etil-Δ-7-colesten-3ß-olo	1,12	1,12
16	Δ-7-avenasterolo	(24Z)-24-etiliden-Δ-7-colesten-3ß-olo	1,16	1,16
17	Eritrodiolo	5α olean-12en-3ß28 diolo	1,41	1,41
18	Uvaolo	Δ12-ursen-3ß28 diolo	1,52	1,52

Figura 1

Gascromatogramma della frazione costituita da steroli e dialcoli triterpenici di un olio di oliva lampante (addizionato di standard interno)

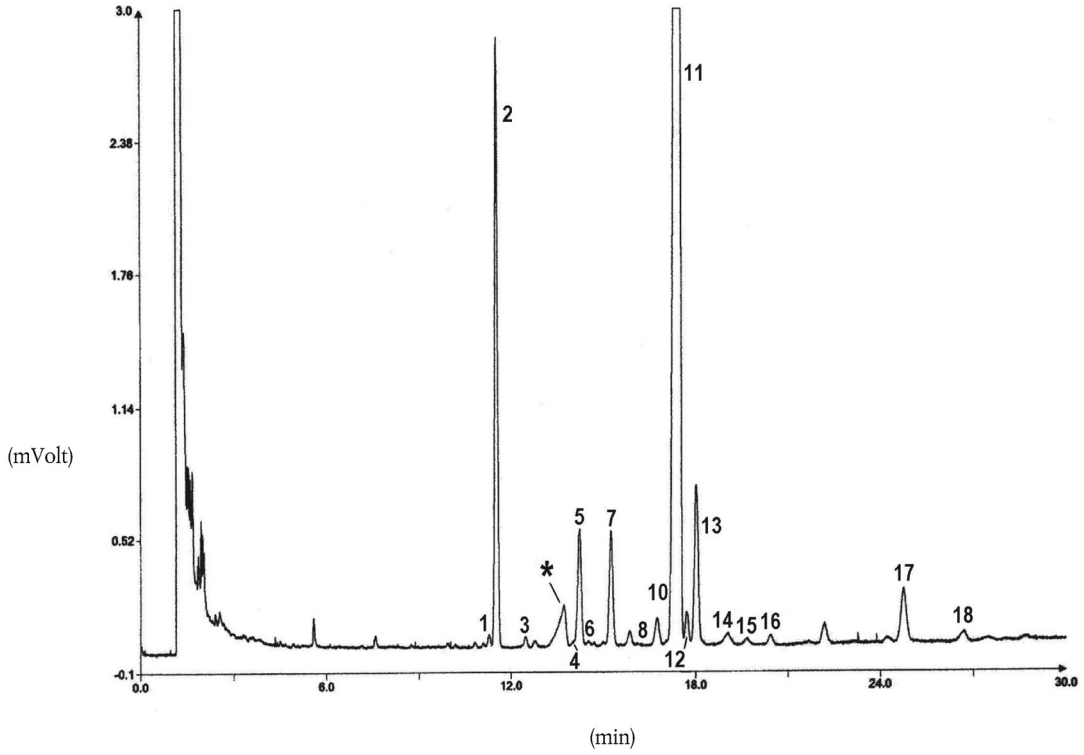


Figura 2

Gascromatogramma della frazione costituita da steroli e dialcoli triterpenici di un olio di oliva raffinato (addizionato di standard interno)

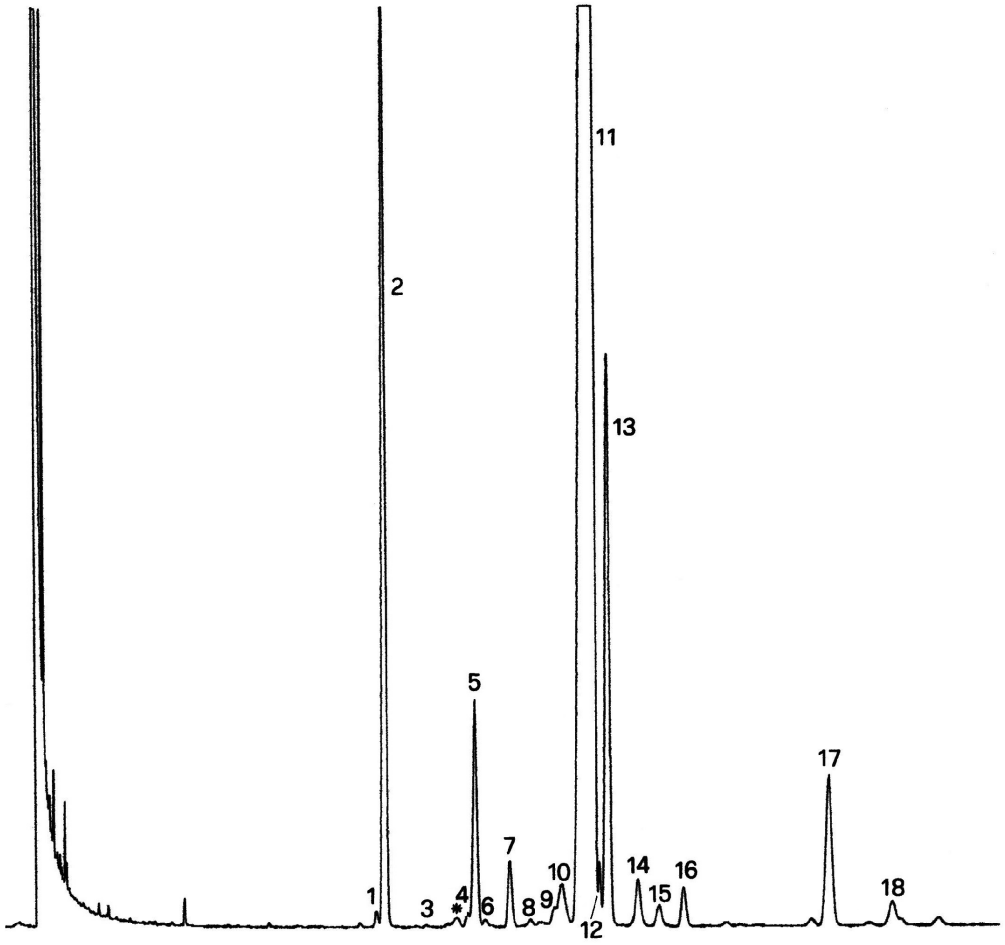
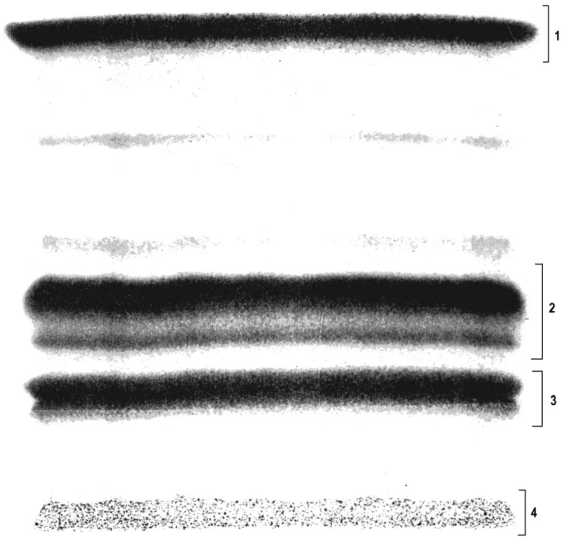


Figura 3

Placca cromatografica di un olio di sansa di oliva con la zona da raschiare per la determinazione degli steroli e dei dialcoli triterpenici



1 – Squalene

2 – Alcoli triterpenici e alifatici

3 – Steroli e dialcoli triterpenici

4 – Acidi grassi iniziali e liberi»

ALLEGATO V

«ALLEGATO XII

METODO DEL CONSIGLIO OLEICOLO INTERNAZIONALE PER LA VALUTAZIONE ORGANOLETTICA DEGLI OLI DI OLIVA VERGINI

1. OGGETTO E CAMPO D'APPLICAZIONE

Il presente metodo internazionale stabilisce una procedura che consente di valutare le caratteristiche organolettiche degli oli di oliva vergini ai sensi dell'allegato XVI, punto 1, del regolamento (CE) n. 1234/2007 e di classificarli in base a tali caratteristiche. Il metodo contiene inoltre indicazioni per un'etichettatura facoltativa.

Il metodo descritto è applicabile soltanto agli oli di oliva vergini e alla loro classificazione o etichettatura in funzione dell'intensità dei difetti percepiti e del flavor fruttato, determinata da un gruppo di assaggiatori selezionati, addestrati e controllati, costituito in panel.

Il presente metodo contiene inoltre una serie di indicazioni facoltative per l'etichettatura.

Le norme COI citate nel presente Allegato si intendono nell'ultima versione disponibile.

2. VOCABOLARIO GENERALE DI BASE PER L'ANALISI SENSORIALE

V. norma COI/T.20/Doc. n. 4 "Analisi sensoriale: vocabolario generale"

3. VOCABOLARIO SPECIFICO

3.1. **Attributi negativi**

Riscaldo/Morchia Flavor caratteristico dell'olio ottenuto a partire da olive ammassate o depositate in condizioni che hanno favorito un forte sviluppo della fermentazione anaerobica, o flavor dell'olio rimasto in contatto con fanghi di decantazione in serbatoi o vasche, che abbiano anch'essi subito processi di fermentazione anaerobica.

Muffa-umidità-terra Flavor caratteristico dell'olio ottenuto da frutti nei quali si sono sviluppati abbondanti funghi e lieviti per essere rimasti ammassati in ambienti umidi per molti giorni o dell'olio ottenuto da olive raccolte con terra o infangate e non lavate.

Avvinato-inacetito-acido-agro Flavor caratteristico di alcuni oli che ricorda quello del vino o dell'aceto. Esso è dovuto essenzialmente a un processo di fermentazione aerobica delle olive o dei resti di pasta di olive in fiscoli non lavati correttamente, che porta alla formazione di acido acetico, acetato di etile ed etanolo.

Rancido Flavor degli oli che hanno subito un processo ossidativo intenso.

Olive gelate (legno umido) Flavor caratteristico dell'olio estratto da olive che hanno subito una gelata sull'albero.

3.2. **Altri attributi negativi**

Cotto o Flavor caratteristico dell'olio dovuto ad eccessivo e/o prolungato

stracotto riscaldamento, che si verifica in particolare durante la termo-gramolatura, se realizzata in condizioni termiche inadeguate.

Fieno-legno Flavor caratteristico di alcuni oli provenienti da olive secche.

Grossolano Sensazione orale/tattile densa e pastosa prodotta da alcuni oli vecchi.

Lubrificanti Flavor dell'olio che ricorda il gasolio, il grasso o l'olio minerale.

Acqua di vegetazione Flavor acquisito dall'olio a causa di un contatto prolungato con le acque di vegetazione che hanno subito un processo di fermentazione.

Salamoia Flavor dell'olio estratto da olive conservate in salamoia.

Metallico Flavor che ricorda il metallo. È caratteristico dell'olio mantenuto a lungo in contatto con superfici metalliche durante i procedimenti di frangitura, gramolatura, pressione o stoccaggio.

Sparto Flavor caratteristico dell'olio ottenuto da olive pressate in fiscoli di sparto nuovi. Può presentare caratteristiche diverse a seconda dello sparto utilizzato per costruire i fiscoli (sparto verde o secco).

Verme: Flavor dell'olio ottenuto da olive fortemente colpite da larve di mosca dell'olivo (*Bactrocera oleae*).

Cetriolo Flavor dell'olio che ha subito un condizionamento ermetico eccessivamente prolungato, particolarmente in lattine, e che viene attribuito alla formazione di 2-6 nonadienale.

3.3. **Attributi positivi**

Fruttato Insieme delle sensazioni olfattive, che dipendono dalla varietà delle olive, caratteristiche dell'olio ottenuto da frutti sani e freschi, verdi o maturi, percepite per via diretta e/o retronasale.

Amaro Sapore elementare caratteristico dell'olio ottenuto da olive verdi o invaiate, percepito dalle papille caliciformi che formano la V linguale.

Piccante Sensazione tattile di pizzicore caratteristica degli oli prodotti all'inizio della campagna, principalmente da olive ancora verdi, che può essere percepita in tutta la cavità orale, in particolare in gola.

3.4. **Terminologia facoltativa ai fini dell'etichettatura**

Su richiesta, il capo panel può certificare che gli oli valutati corrispondono alle definizioni e agli intervalli relativi agli aggettivi di seguito elencati, in funzione dell'intensità e della percezione degli attributi.

Attributi positivi (fruttato, amaro e piccante): in funzione dell'intensità della percezione:

— *intenso*, quando la mediana dell'attributo è superiore a 6;

— *medio*, quando la mediana dell'attributo è compresa fra 3 e 6;

— *leggero*, quando la mediana dell'attributo è inferiore a 3.

Fruttato Insieme delle sensazioni olfattive, che dipendono dalla varietà delle olive, caratteristiche dell'olio ottenuto da frutti sani e freschi senza predominanza del fruttato verde o del fruttato maturo, percepite per via diretta e/o retronasale.

Fruttato verde Insieme delle sensazioni olfattive che ricordano i frutti verdi, dipendono dalla varietà delle olive e sono caratteristiche dell'olio ottenuto da frutti verdi, sani e freschi, percepite per via diretta e/o retronasale.

Fruttato maturo Insieme delle sensazioni olfattive che ricordano i frutti maturi, dipendono dalla varietà delle olive e sono caratteristiche dell'olio ottenuto da frutti sani e freschi, percepite per via diretta e/o retronasale.

Equilibrato Olio che non presenta squilibrio. Per squilibrio si intende la sensazione olfatto-gustativa e tattile dell'olio in cui la mediana dell'attributo amaro e/o quella dell'attributo piccante supera di due punti la mediana del fruttato.

Olio dolce Olio in cui la mediana dell'attributo amaro e quella dell'attributo piccante sono inferiori o uguali a 2.

4. BICCHIERE PER L'ASSAGGIO DI OLI

V. norma COI/T.20/Doc. n. 5 "Bicchiere per l'assaggio di oli".

5. SALA DI ASSAGGIO

V. norma COI/T.20/Doc. n. 6 "Guida per l'allestimento di una sala di assaggio".

6. ACCESSORI

Affinché gli assaggiatori possano svolgere correttamente il loro compito, ogni cabina deve essere attrezzata con i seguenti accessori:

— bicchieri (normalizzati) contenenti i campioni, contrassegnati in chiave, coperti da vetri di orologio e mantenuti a 28 °C ± 2 °C;

— scheda di profilo (v. figura 1) su carta, o in formato elettronico che riproduca le caratteristiche della scheda di profilo, eventualmente corredata da istruzioni per l'uso;

— penna a sfera o inchiostro indelebile;

— piattini con fettine di mela e/o acqua, acqua gassata e/o fette biscottate;

— bicchiere d'acqua a temperatura ambiente;

— un documento che riassume le norme generali citate ai punti 8.4 e 9.1.1;

— sputacchiere.

7. IL CAPO PANEL E GLI ASSAGGIATORI

7.1. **Il capo panel**

Il capo panel dovrà essere una persona sufficientemente formata, intenditrice ed esperta nei tipi di olio che troverà nel suo lavoro. È la figura chiave del panel e il responsabile della sua organizzazione e del suo funzionamento.

Per poter svolgere il suo compito il capo del panel deve possedere una formazione di base in analisi sensoriale e conoscerne gli strumenti. Il suo lavoro richiede abilità sensoria, meticolosità nella preparazione, nell'organizzazione e nell'esecuzione delle prove, nonché abilità e pazienza per pianificare ed eseguire le prove con rigore scientifico.

Il capo panel seleziona gli assaggiatori e provvede al loro addestramento e al controllo del loro operato in modo da garantire il mantenimento di un adeguato livello attitudinale. La qualificazione degli assaggiatori rientra pertanto nelle sue responsabilità. La valutazione della qualificazione deve essere obiettiva e a tal fine il capo panel prevederà procedure specifiche, basate su prove e criteri di inclusione/esclusione ben definiti. V. norma COI/T.20/Doc. n. 14 "Guida per la selezione, l'addestramento e il controllo degli assaggiatori qualificati di olio di oliva extra vergine".

Il capo panel è responsabile della prestazione del panel ed è pertanto chiamato a effettuare la valutazione del panel, che andrà accreditata in modo fedele e obiettivo. In ogni caso, il capo panel deve essere sempre in grado di dimostrare che ha il pieno controllo del metodo e degli assaggiatori. Si raccomanda la calibrazione periodica del panel (COI/T.20/Doc. n. 14, § 5).

È il primo responsabile per quanto riguarda la tenuta e la conservazione dei registri del panel. I registri saranno sempre rintracciabili e conformi alle esigenze di garanzia e qualità previste dalla norme internazionali sull'analisi sensoriale e garantiranno in ogni momento l'anonimato dei campioni.

Il capo panel è responsabile delle attrezzature e del materiale da utilizzare in conformità con le specificazioni del presente metodo, ne assicura l'inventario, la perfetta pulizia e conservazione. Redige un rendiconto relativo agli aspetti sopra citati, in cui dichiara che la prova si è svolta nel rispetto delle condizioni previste.

Il ricevimento e lo stoccaggio dei campioni al loro arrivo in laboratorio e la conservazione dei campioni dopo analisi avviene sotto la sua responsabilità; il capo panel assicura in ogni momento l'anonimato e l'adeguata conservazione dei campioni. A tal fine formulerà procedure scritte che consentano di assicurare la tracciabilità del processo.

Si svolgono sotto la sua responsabilità anche le operazioni di preparazione e codificazione dei campioni, la presentazione dei campioni agli assaggiatori secondo il protocollo sperimentale fissato, la raccolta e l'elaborazione statistica dei dati ricevuti dagli assaggiatori.

Il capo panel ha inoltre il compito di definire tutte le procedure eventualmente necessarie al completamento della presente norma e al buon funzionamento del panel.

Cercherà formule che permettono di raffrontare i risultati del panel con quelli di altri panel che svolgono l'analisi dell'olio di oliva vergine, per verificare il buon funzionamento del suo panel.

Il capo panel ha inoltre il compito di motivare i membri del gruppo, suscitandone l'interesse, la curiosità e lo spirito di emulazione. Per questo motivo si raccomanda vivamente di curare una buona comunicazione con i membri del gruppo, che devono sentirsi partecipi del lavoro che svolgono e dei risultati ottenuti. Deve d'altra parte evitare di far conoscere la sua opinione e impedire che i criteri di possibili leader si impongano agli altri assaggiatori.

Convocherà gli assaggiatori con sufficiente anticipo e chiarirà loro qualsiasi dubbio sulla realizzazione delle prove, pur astenendosi dal suggerire qualsiasi opinione sul campione.

7.2. **Gli assaggiatori**

Le persone che intervengono come assaggiatori nelle prove organolettiche di oli di oliva devono farlo a titolo volontario, con tutto ciò che questo comporta in termini di obblighi e di non-remunerazione. Si raccomanda pertanto di richiedere ai candidati la presentazione di una domanda scritta. I candidati sono selezionati, addestrati ed esaminati dal capo panel in base alla capacità di distinguere campioni simili; occorre ricordare che la precisione dell'assaggiatore migliora con l'addestramento.

L'assaggiatore deve comportarsi come un vero osservatore sensoriale e riferire esclusivamente le sensazioni percepite, senza tener conto dei gusti personali. Svolgerà il suo lavoro in silenzio, con animo disteso e senza fretta, prestando la massima attenzione al campione che sta analizzando.

Per ciascuna prova occorrono da 8 a 12 assaggiatori. È bene prevedere alcuni assaggiatori di riserva, per supplire a eventuali assenze.

8. CONDIZIONI DELLA PROVA

8.1. **Presentazione del campione**

Il campione di olio di oliva da analizzare sarà presentato in bicchieri per l'assaggio standardizzati, conformemente alla norma COI/T.20/Doc. n. 5 «Bicchiere per l'assaggio di oli».

Il bicchiere conterrà 14-16 ml di olio o un quantitativo compreso tra 12,8 e 14,6 g se i campioni sono pesati, e sarà coperto da un vetro d'orologio.

Ogni bicchiere sarà contraddistinto, mediante un sistema di scrittura inodore, da un codice composto da cifre, o da cifre e lettere, scelto aleatoriamente.

8.2. **Temperatura del campione e della sala**

I campioni di olio oggetto della prova sensoriale devono essere mantenuti a una temperatura di 28 °C ± 2 °C per tutta la durata della prova. Questa temperatura è stata scelta perché, a differenza della temperatura ambiente, consente di rilevare più facilmente le differenze organolettiche. A temperature inferiori si ha infatti una scarsa volatilizzazione dei composti aromatici propri degli oli, mentre temperature superiori portano alla formazione dei composti volatili propri degli oli riscaldati. V. norma COI/T.20/Doc. n. 5 "Bicchiere per l'assaggio di oli" per quanto riguarda il sistema di riscaldamento dei campioni, da usare quando i campioni sono stati introdotti nei bicchieri.

La temperatura della sala di assaggio deve essere compresa tra 20 ° e 25 °C (v. COI/T. 20/Doc. n. 6).

8.3. **Orario delle prove**

Le ore di lavoro più idonee all'assaggio di oli sono quelle del mattino: è stato dimostrato che durante la giornata si hanno dei momenti in cui la percezione di gusti e odori è ottimale. I pasti sono preceduti da un periodo di aumento della sensibilità olfatto-gustativa, e seguiti da una diminuzione.

Tale criterio tuttavia non va applicato in modo troppo radicale e occorre evitare che gli assaggiatori siano distratti dalla fame, con la conseguente riduzione della capacità di discriminazione. Le prove di assaggio dovrebbero pertanto essere organizzate tra le 10 e le 12 del mattino.

8.4. **Norme generali di condotta per gli assaggiatori**

Si indicano di seguito alcune raccomandazioni circa il comportamento richiesto agli assaggiatori durante la prova.

Ricevuto da parte del responsabile del panel l'invito a partecipare alla prova organolettica, l'assaggiatore si dispone a effettuarla all'ora indicata, attenendosi a quanto segue.

— Non fumare e non bere caffè per almeno 30 minuti prima dell'ora fissata per la prova.

— Non aver usato profumi, cosmetici o saponi il cui odore può persistere al momento della prova. Per lavarsi le mani, servirsi di un sapone non profumato, poi sciacquarle e asciugarle in modo da eliminare ogni traccia di odore.

— Non mangiare nulla per almeno un'ora prima della prova.

— Se le sue condizioni fisiologiche sono compromesse, specie in caso di alterazione del senso dell'olfatto o del gusto, o se risente di qualsiasi effetto psicologico che può impedirgli di concentrarsi sul suo lavoro, dovrà astenersi dall'assaggio e comunicarlo al capo panel.

— L'assaggiatore, rispettate le norme precedenti, occuperà il suo posto nella cabina assegnatagli, nella maniera più ordinata e silenziosa possibile.

— Leggerà con attenzione le istruzioni contenute nella scheda di profilo e non inizierà l'esame del campione finché non sarà totalmente pronto a svolgere il suo compito (rilassato e non affrettato). In caso di dubbio, si consulterà in privato con il capo del panel.

— Realizzerà il suo lavoro in silenzio.

— Manterrà spento il telefono cellulare, per salvaguardare la concentrazione e il lavoro dei suoi colleghi.

9. PROCEDURA DI VALUTAZIONE ORGANOLETTICA E CLASSIFICAZIONE DELL'OLIO DI OLIVA VERGINE

9.1. **Tecnica di assaggio**

9.1.1. L'assaggiatore prenderà il bicchiere tenendolo coperto col vetro di orologio, lo inclinerà leggermente e in questa posizione lo girerà completamente per bagnare il più possibile la superficie interna. Fatto ciò, separerà il vetro d'orologio e odorerà il campione, facendo inspirazioni lente e profonde, al fine di valutare il campione. Il periodo di odorazione non deve eccedere i 30 secondi. Se in questo periodo non è giunto a nessuna conclusione, l'assaggiatore farà una pausa e procederà a un nuovo tentativo.

Conclusa la prova olfattiva, procederà alla valutazione delle sensazioni orali (sensazione congiunta olfatto-gustativa per via retronasale e tattile). Prenderà un sorso d'olio di circa 3 ml. È importante ripartire l'olio per tutta la cavità orale, dalla parte anteriore e dalla lingua, passando sulle parti laterali e la parte posteriore, fino al velo palatino e alla gola, in quanto, come è noto, la percezione dei sapori e delle sensazioni tattili varia d'intensità secondo le zone della lingua e del palato e della gola.

Si deve insistere sulla necessità che l'olio si spanda in quantità sufficiente e molto lentamente dalla parte posteriore della lingua verso il velo palatino e la gola, concentrando l'attenzione sull'ordine di apparizione degli stimoli amaro e piccante; in caso contrario, per alcuni oli i due stimoli potrebbero passare inavvertiti o l'amaro potrebbe essere coperto dal piccante.

Aspirazioni corte e successive, attraverso la bocca, permettono sia di estendere il campione nella cavità orale sia di percepire i componenti volatili aromatici mediante il passaggio forzato per la via retronasale.

Occorre tener conto anche della sensazione tattile del piccante, ed è pertanto opportuno che l'olio venga inghiottito.

9.1.2. Per gli oli vergini si raccomanda di effettuare la valutazione organolettica su un numero di campioni non superiore a QUATTRO per seduta, con un massimo di 3 sedute al giorno, per evitare l'effetto di contrasto che potrebbe produrre l'assaggio immediato di altri campioni.

Poiché gli assaggi successivi sono alterati dalla fatica o dalla perdita di sensibilità dovuta ai precedenti, sarà necessario servirsi di un prodotto capace di eliminare dalla bocca i resti d'olio dell'assaggio precedente.

Si raccomanda l'uso di un pezzettino di mela che, una volta masticato, può essere sputato; sciacquarsi poi con un poco d'acqua a temperatura ambiente. Tra un assaggio e l'altro devono passare almeno 15 minuti.

9.2. **Uso della scheda di profilo da parte dell'assaggiatore**

La scheda di profilo ad uso dell'assaggiatore è oggetto della figura 1 del presente Allegato.

Ogni assaggiatore membro del panel deve odorare l'olio sottoposto ad esame, e poi passare all'assaggio [1]. In seguito appunterà sulla scala di 10 cm della scheda di profilo a sua disposizione l'intensità alla quale percepisce ciascuno degli attributi negativi e positivi.

Nel caso in cui fossero percepiti attributi negativi non enumerati al punto 4, questi devono essere indicati alla voce "altri" impiegando il o i termini che li descrivono con la maggior precisione.

9.3. **Uso dei dati da parte del capo panel**

Il capo panel raccoglie le schede di profilo compilate dagli assaggiatori e controlla le intensità assegnate ai diversi attributi; se constata un'anomalia, chiede all'assaggiatore di rivedere la sua scheda di profilo e, se necessario, di ripetere la prova.

Il capo panel introduce i dati di ogni assaggiatore in un programma informatico come quello previsto dalla norma COI/T.20/Doc. n. 15 e procede a calcolare statisticamente i risultati dell'analisi, basandosi sul calcolo della mediana. V. punto 9.4 e Appendice del presente Allegato. L'inserimento dei dati per un campione va effettuato servendosi di una matrice composta di 9 colonne corrispondenti ai 9 attributi sensoriali e di 9 righe corrispondenti agli n assaggiatori impiegati.

Quando un difetto percepito è riportato alla voce "altri" da almeno il 50% del panel, il capo panel deve procedere al calcolo della mediana del difetto in questione e alla corrispondente classificazione.

Il valore del coefficiente di variazione robusto che definisce la classificazione (difetto con l'intensità più alta e attributo fruttato) deve essere inferiore o pari al 20%.

Altrimenti, il capo panel deve ripetere la valutazione del campione in questione in una seduta di assaggio distinta.

Se tale situazione si verifica frequentemente, si raccomanda al capo panel di fornire agli assaggiatori un ulteriore addestramento specifico (COI/T.20/Doc. n. 14, § 5) e di controllare le prestazioni del panel avvalendosi dell'indice di ripetibilità e di deviazione (COI/T.20/Doc. n. 14, § 6).

9.4. **Classificazione dell'olio di oliva**

L'olio è classificato nelle categorie sotto riportate in funzione della mediana dei difetti e della mediana dell'attributo fruttato. Per mediana dei difetti si intende la mediana del difetto percepito con l'intensità più alta. La mediana dei difetti e la mediana del fruttato sono espresse con una sola cifra decimale.

[1] Qualora osservi per via olfattiva diretta attributi negativi estremamente intensi, l'assaggiatore, in via eccezionale, potrà astenersi dall'assaggio. Indicherà l'accaduto sulla scheda di profilo.

La classificazione dell'olio avviene confrontando il valore della mediana dei difetti e della mediana del fruttato con gli intervalli di riferimento indicati di seguito. Poiché i limiti di questi intervalli sono stati stabiliti tenendo conto del margine di errore del metodo, sono considerati assoluti. I programmi informatici consentono di visualizzare la classificazione su una tabella di dati statistici o un grafico.

(a) Olio extra vergine di oliva: la mediana dei difetti è pari a 0 e la mediana del fruttato è superiore a 0

(b) Olio di oliva vergine: la mediana dei difetti è superiore a 0 e inferiore o pari a 3,5 e la mediana del fruttato è superiore a 0

(c) Olio di oliva lampante: la mediana dei difetti è superiore a 3,5 oppure la mediana dei difetti è inferiore o pari a 3,5 e la mediana del fruttato è pari a 0.

Nota 1:

Quando la mediana dell'amaro e/o piccante è superiore a 5,0, il capo panel lo segnalerà nel certificato di analisi dell'olio.

Figura 1

SCHEDA DI PROFILO DELL'OLIO DI OLIVA VERGINE

Intensità di percezione dei difetti		
Riscaldo/morchia (*)		
Muffa-umidità-terra (*)		
Avvinato - inacetito acido - agro (*)		
Olive gelate (legno umido)		
Rancido		
Altri attributi negativi:		
Descrittore:	Metallico ☐ Fieno ☐ Verme ☐ Grossolano ☐ Salamoia ☐ Cotto o stracotto ☐ Acqua di vegetazione ☐ Sparto ☐ Cetriolo ☐ Lubrificanti ☐	

(*) *Cancellare le diciture inutili*

Intensità di percezione degli attributi positivi		
Fruttato		
	Verde ☐	Maturo ☐
Amaro		
Piccante		
Nome dell'assaggiatore:		Codice dell'assaggiatore:
Codice del campione:	Firma:	

Appendice

Metodo di calcolo della mediana e degli intervalli di confidenza

Mediana

$$Me = [p\ (X < x_m) \leq ½ \wedge p\ (X \leq x_m) \geq ½]$$

La mediana è definita come il numero reale X_m caratterizzato dal fatto che la probabilità (*p*) che i valori della distribuzione (X) siano minori di questo numero (X_m) è minore o uguale a 0,5 e che, contemporaneamente, la probabilità (*p*) che i valori della distribuzione (X) siano minori o uguali a X_m è maggiore o uguale a 0,5. Una definizione più operativa è quella che definisce la mediana come il 50° percentile di una distribuzione di numeri ordinata in modo crescente. In termini più semplici, essa rappresenta il valore centrale di una serie ordinata di numeri dispari, oppure la media dei due valori centrali di una serie ordinata di numeri pari.

Deviazione standard robusta

Per avere una stima attendibile della variabilità intorno alla mediana ci si rifà alla stima della deviazione standard robusta secondo Stuart e Kendall (4). La formula indica la deviazione standard robusta asintotica, ossia la stima robusta della variabilità dei dati considerati, in cui N è il numero di osservazioni e IQR l'intervallo interquartile, che racchiude esattamente il 50% dei casi di una data distribuzione probabilistica:

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

Il calcolo dell'intervallo interquartile si esegue calcolando la grandezza dello scarto tra il 75° e il 25° percentile.

$$\mathrm{IQR} = 75^{\mathrm{o}}\ \text{percentile} - 25^{\mathrm{o}}\ \text{percentile}$$

in cui il percentile è quel valore X_{pc} caratterizzato dal fatto che la probabilità (*p*) che i valori della distribuzione siano minori di X_{pc} è minore o uguale a un determinato centesimo e che, contemporaneamente, la probabilità (*p*) che i valori della distribuzione siano minori o uguali a X_{pc} è maggiore o uguale a quel determinato centesimo. Il centesimo indica la frazione di distribuzione scelta. Nel caso della mediana questa è pari a 50/100.

$$percentile = [p\ (X < x_{pc}) \leq \frac{n}{100} \wedge p\ (X \leq x_{pc}) \rightleftharpoons \frac{n}{100}]$$

Operativamente, il percentile è quel valore di distribuzione che corrisponde a una determinata area sottesa dalla curva di distribuzione o di densità. Ad esempio, il 25° percentile rappresenta il valore di distribuzione corrispondente a un'area pari a 0,25 o 25/100.

Questo metodo prevede il computo dei percentili sulla base dei valori reali figuranti nella matrice dei dati (procedura di computo dei percentili).

Coefficiente di variazione robusto (in %)

Il *CVr%* rappresenta un numero puro che indica la percentuale di variabilità della serie di numeri analizzata; per questo motivo risulta molto informativo sull'attendibilità dei giudici del panel.

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

Intervalli di confidenza della mediana al 95%

Gli intervalli di confidenza al 95% (valore dell'errore del primo tipo pari a 0,05 o 5%) rappresentano l'intervallo entro il quale il valore della mediana potrebbe variare se fosse possibile ripetere infinite volte un esperimento. In pratica indicano l'intervallo di variabilità della prova nelle condizioni operative adottate qualora si potesse ripeterla parecchie volte. L'intervallo aiuta a valutare, come con il *CVr%*, l'attendibilità della prova.

$$IC_{sup} = Me + (c \times s^*)$$

$$IC_{inf} = Me - (c \times s^*)$$

in cui C = 1,96 per l'intervallo di confidenza al 95%.

Un esempio di foglio di calcolo è riportato nell'allegato I della norma COI/T 20/Doc. n. 15.

Bibliografia

(1) Wilkinson, L. 1990. Systat: The system for statistics. Evanston, IL.SYSTAT Inc.

(2) Cicchitelli, G. 1984. Probabilità e Statistica. Maggioli Editore, Rimini.

(3) Massart, D.L.; Vandeginste, B.G.M.; Deming, Y.; Michotte, L. 1988. Chemometrics. A textbook. Elsevier. Amsterdam.

(4) Kendall, M.G.; Stuart, A. 1967. The advanced theory of statistics. Vol. 1. Hafner Publishing Co.

(5) McGill, R.; Tukey, J.W.; Larsen, W.A. 1978. Variation of Box Plots. The American Statistician, 32, (2), 12-16.

(6) COI/T.28/Doc. n. 1 Settembre 2007, Linee guida per l'accreditamento dei laboratori di analisi sensoriale con particolare riguardo all'olio vergine di oliva secondo la norma ISO/IEC 17025:2005.

(7) COI/T.20/Doc. n. 14.

(8) COI /T.20/Doc. n. 15.

(9) ISO/IEC 17025:05.»

ALLEGATO VI

«*ALLEGATO XX* bis

METODO DI RILEVAZIONE DELLA PRESENZA DI OLI ESTRANEI NEGLI OLI DI OLIVA

1. OGGETTO

Scopo del presente metodo è individuare la presenza di oli vegetali estranei negli oli di oliva. Il metodo individua gli oli vegetali alto linoleici (soia, colza, girasole, ecc.) e alcuni oli vegetali alto oleici (nocciola, girasole alto oleico e oli di sansa). Il livello di individuazione dipende dal tipo di olio estraneo e dalla varietà delle olive. Per l'olio di nocciole si raggiunge di solito un livello di individuazione compreso tra il 5 e il 15%. Il metodo non è in grado di individuare il tipo di olio estraneo, e si limita ad indicare se l'olio è genuino o no.

2. PRINCIPIO

L'olio viene purificato mediante estrazione in fase solida (SPE) su cartucce di gel di silice. Il contenuto in triacilgliceroli (TAG) è determinato mediante cromatografia liquida ad alta risoluzione in fase inversa, mediante un rilevatore dell'indice di rifrazione e con propionitrile come fase mobile. Gli esteri metilici degli acidi grassi vengono preparati a partire da oli purificati per mezzo di metilazione con una soluzione fredda di KOH in metanolo (Allegato X B) e in seguito gli esteri sono analizzati mediante gascromatografia capillare utilizzando colonne polari (Allegato X A). La composizione teorica del triacilglicerolo si calcola a partire dalla composizione degli acidi grassi mediante un programma informatico ipotizzando una distribuzione 1,3 random, 2 random degli acidi grassi nel triacilglicerolo, con restrizioni per gli acidi grassi saturi in posizione 2. Il metodo di calcolo è una modifica della procedura descritta all'allegato XVIII. Diversi algoritmi matematici vengono calcolati in base alle composizioni (HPLC) di triacilglicerolo teoriche e sperimentali, e i valori risultanti sono raffrontati con quelli contenuti in una base dati in cui sono stati inseriti dati provenienti da oli di oliva genuini.

3. MATERIALI E REAGENTI

3.1. **Purificazione dell'olio**

3.1.1. Beute da 25 ml.

3.1.2. Provette di vetro da 5 ml con tappo a vite munito di giunto PTFE.

3.1.3. Cartucce di gel di silice, 1 g (6 ml), per l'estrazione in fase solida (per esempio tipo Waters, Massachusetts, USA).

3.1.4. *n*-esano di grado analitico.

3.1.5. Miscela solvente esano/etere etilico (87:13, v/v).

3.1.6. N-eptano di grado analitico.

3.1.7. Acetone di grado analitico.

3.2. **Analisi HPLC dei triacilgliceroli**

3.2.1. Microsiringhe (50 µL) e aghi per HPLC.

3.2.2. Propionitrile, purezza superiore o grado HPLC (per esempio, ROMIL, Cambridge, United Kingdom), usato come fase mobile.

3.2.3. Colonna HPLC (25 cm × 4 mm di diametro interno), riempita con RP-18 (particelle da 4µm).

3.3. **Preparazione degli esteri metilici degli acidi grassi**

(v. Allegato X B)

3.3.1. Metanolo con un contenuto di acqua non superiore allo 0,5%.

3.3.2. Eptano di grado analitico.

3.3.3. Idrossido di potassio, soluzione metanolica 2 N: si sciolgono 1,1 g di idrossido di potassio in 10 ml di metanolo.

3.3.4. Provette di vetro da 5 ml con tappo a vite munito di giunto PTFE.

3.4. **Analisi gascromatografica dei MEAG**

(V. il metodo per la determinazione degli acidi grassi *trans*-insaturi mediante analisi gascromatografica con colonna capillare di cui all'Allegato X A).

3.4.1 Microsiringhe da 5 µL e aghi per analisi gascromatografica.

3.4.2 Gas vettore: idrogeno o elio.

3.4.3 Idrogeno ed ossigeno per rilevatore a ionizzazione di fiamma.

3.4.4 Gas ausiliari: azoto o elio.

3.4.5. Colonna capillare in silice fusa (50-60 m × 0,25 – 0,30 mm di diametro interno) ricoperta di cianopropilpolisilossano o cianopropilfenilsilossano (tipo SP 2380 o simili) la cui pellicola ha uno spessore compreso tra 0,20 e 0,25 µm.

4. APPARECCHIATURA

4.1. Dispositivo per vuoto per l'estrazione in fase solida.

4.2. Evaporatore rotante.

4.3. Cromatografo in fase liquida ad alta prestazione costituito da:

4.3.1. Degassificatore per la fase mobile.

4.3.2. Valvola di iniezione Rheodyne (con loop da 10µL).

4.3.3. Pompa ad alta pressione.

4.3.4. Camera termostatica per colonna HPLC in grado di mantenere temperature subambiente (15-20 °C), (per esempio, tipo Peltier).

4.3.5. Rivelatore dell'indice di rifrazione.

4.3.6. Sistema informatico per l'acquisizione dei dati munito di un programma di integrazione.

4.4 Gascromatografo capillare descritto nell'Allegato X A dotato di:

4.4.1. dispositivo di iniezione split;

4.4.2. rilevatore a ionizzazione di fiamma;

4.4.3. forno con temperatura programmabile;

4.4.4. sistema informatico di acquisizione dei dati munito di un programma di integrazione.

4.5. Computer con programma Microsoft EXCEL.

5. PROCEDIMENTO ANALITICO

5.1. **Purificazione dell'olio**

Una cartuccia di gel di silice SPE si sistema in un apparecchio per l'eluizione sotto vuoto e si lava con 6 ml di esano. Si interrompe il vuoto per evitare l'essiccamento della colonna e si sistema una beuta sotto la cartuccia. Si deposita nella colonna una soluzione di olio (0,12 g circa) in 0,5 ml di esano. La soluzione si introduce e si eluisce con 10 ml della miscela solvente (3.1.5) di esano/etere etilico (87:13 v/v) sotto vuoto. Si omogeneizzano gli eluati e si trasferisce circa la metà del volume in un'altra beuta. Entrambe le aliquote sono evaporate fino ad essiccamento, separatamente, in un evaporatore rotante, operando sotto pressione ridotta, a temperatura ambiente. Per l'analisi dei triacilgliceroli, si dissolve uno dei residui in 1 ml di acetone (v. primo paragrafo del punto 5.2) e si versa la soluzione in una provetta di vetro da 5 ml con tappo a vite. L'altro residuo si dissolve in 1 ml di *n*-eptano e si versa in una seconda provetta di vetro da 5 ml con tappo a vite per preparare i metil esteri degli acidi grassi.

Nota: La purificazione dell'olio può anche essere realizzata mediante una colonna di gel di silice, secondo quanto descritto dal metodo IUPAC 2.507.

5.2. **Analisi HPLC dei triacilgliceroli**

Montare il sistema HPLC mantenendo la temperatura della colonna a 20 °C e usando il propionitrile come fase mobile a una velocità di efflusso di 0,6 ml/min. Una volta stabilizzata la linea di base far passare una iniezione di solvente; se la linea base appare alterata nella regione da 12 a 25 minuti, usare un altro tipo di acetone o una miscela di propionitrile/acetone (25:45) per sciogliere il campione.

Nota: Alcuni tipi di acetone producono alterazioni della linea di base nella regione sopra citata.

Iniettare un'aliquota di 10 µl della soluzione di olio purificato in acetone (5%). Il passaggio richiede circa 60 minuti. La temperatura del forno e/o la velocità di efflusso devono essere programmate al fine di ottenere un cromatogramma simile a quello rappresentato in figura 1: la trilinoleina (picco 1) compare a 15,5 minuti e le risoluzioni tra le coppie LLL/OLL (picchi 1 e 2) e OLL/OLLn (picchi 4 e 5) sono buone.

L'altezza del picco 2 (OLLn+PoLL) deve essere pari ad almeno il 3% del fondo scala.

5.3. **Preparazione degli esteri metilici degli acidi grassi**

Si aggiungono 0,1 mL di una soluzione metanolica di idrossido di potassio alla soluzione di olio purificato in 1 mL di *n*-eptano. Tappare la provetta e avvitare bene. Si agita la provetta vigorosamente per 15 secondi e si lascia stratificare finché lo strato superiore non diventa trasparente (5 minuti). La soluzione di *n*-eptano è pronta per l'iniezione nel gascromatografo. La soluzione può essere lasciata a temperatura ambiente per un massimo di 12 ore.

5.4. **Analisi gascromatografica degli esteri metilici degli acidi grassi**

Il procedimento da impiegare è quello descritto nel metodo per la determinazione degli acidi grassi *trans*-insaturi (v. Allegato X A).

Regolare il complesso gascromatografico a una temperatura di 165 °C. La temperatura raccomandata è isotermica a 165 °C per 10 minuti, in seguito portata a 200 °C al ritmo di 1,5 °C/min. Si raccomanda una temperatura dell'iniettore compresa tra 220 °C e 250 °C per ridurre al minimo la formazione di acidi grassi *trans* (v. Allegato X A). Temperatura del rilevatore 250 °C. Come gas vettore si deve usare idrogeno o elio a una pressione in testa alla colonna di 130 kPa circa. Volume di sostanza iniettata 1µ nella modalità di iniezione a split.

Deve essere ottenuto un profilo gascromatografico simile a quello della figura 2. Verificare in particolare la risoluzione dei picchi C18:3 e C20:1 (il picco C18:3 deve comparire prima del picco C20:1). Per ottenere queste condizioni la temperatura iniziale e/o la pressione in testa di colonna devono essere ottimizzate. Regolare le condizioni operative dell'iniettore (temperatura, rapporto di splittaggio e volume iniezione) per minimizzare la discriminazione dell'acido palmitico e palmitoleico.

L'altezza del picco C20:0 deve essere del 20% circa del fondo scala per consentire la quantificazione degli isomeri *trans*. Se il picco C18:0 appare distorto, ridurre il quantitativo del campione.

6. INTEGRAZIONE DEI PICCHI CROMATOGRAFICI

6.1. **Cromatogramma HPLC**

La figura 1 mostra un tipico cromatogramma HPLC dei triacilgliceroli di un olio di oliva purificato. Per l'integrazione dei picchi si devono tracciare tre linee di base: la prima tra l'inizio del picco 1 e la fine del picco 3; la seconda tra l'inizio del picco 4 e la valle prima del picco 8; la terza tra la valle che precede il picco 8 e la fine del picco 18.

L'area totale risulta dalla somma delle aree di tutti i picchi (identificati e non identificati) dal picco 1 al picco 18. La percentuale di ogni picco si ricava mediante

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

I risultati in percentuale devono essere espressi con due cifre decimali.

6.2. **Cromatogramma GC**

La figura 2 mostra un cromatogramma degli alchil esteri degli acidi grassi ottenuto da un olio di oliva purificato. È necessario calcolare le percentuali dei seguenti acidi grassi:

Palmitico;	P (C16:0)	=	estere metilico + estere etilico
Stearico;	S (C18:0)	=	estere metilico
Palmitoleico;	Po (C16:1)	=	somma degli esteri metilici dei due isomeri *cis*
Oleico;	O (C18:1)	=	somma degli esteri metilici dei due isomeri *cis* + estere etilico+ *trans*-isomeri
Linoleico;	L (C18:2)	=	estere metilico + estere etilico + *trans*-isomeri
Linolenico;	Ln (C18:3)	=	estere metilico + *trans*-isomeri
Arachico;	A (C20:0)	=	estere metilico
Eicosenoico (gondoico);	G (C20:1)	=	estere metilico

Gli esteri etilici e gli isomeri *trans* possono essere assenti dal cromatogramma GC.

L'area totale (AT) è la somma di tutti i picchi che appaiono nel cromatogramma, da C14:0 a C24:0, tranne il picco corrispondente allo squalene. La percentuale di ogni picco si calcola come segue:

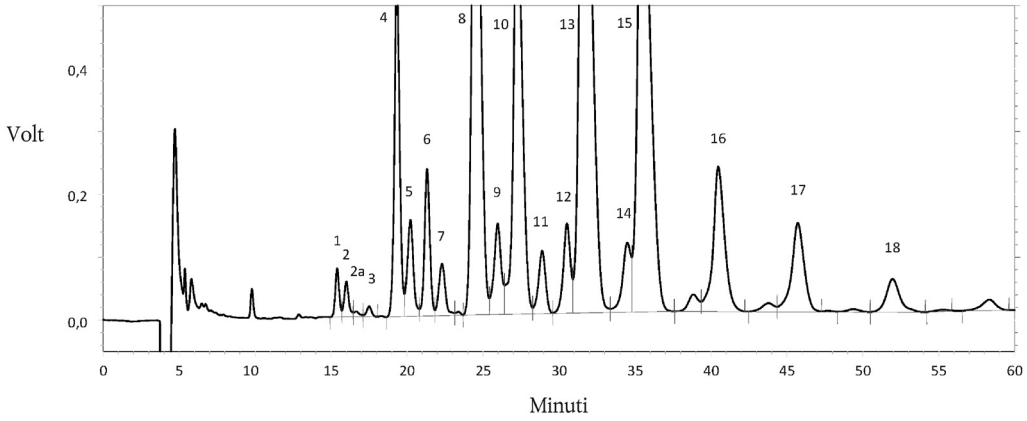
$$FA_x\ (\%) = 100\ (A_x + A_T)$$

I risultati devono essere espressi con due cifre decimali.

Per i calcoli del programma informatico non è necessario normalizzare a 100 in quanto tale operazione viene effettuata automaticamente.

Figura 1

Cromatogramma HPLC dei TAG di un olio di oliva vergine "Chamlali". Componenti principali dei picchi cromatografici



(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.

Tabella 1

Dati relativi alla ripetibilità della determinazione dei TAG nell'olio di oliva vergine mediante HPLC con colonna alla temperatura di 20 °C, utilizzando come fase mobile il propionitrile

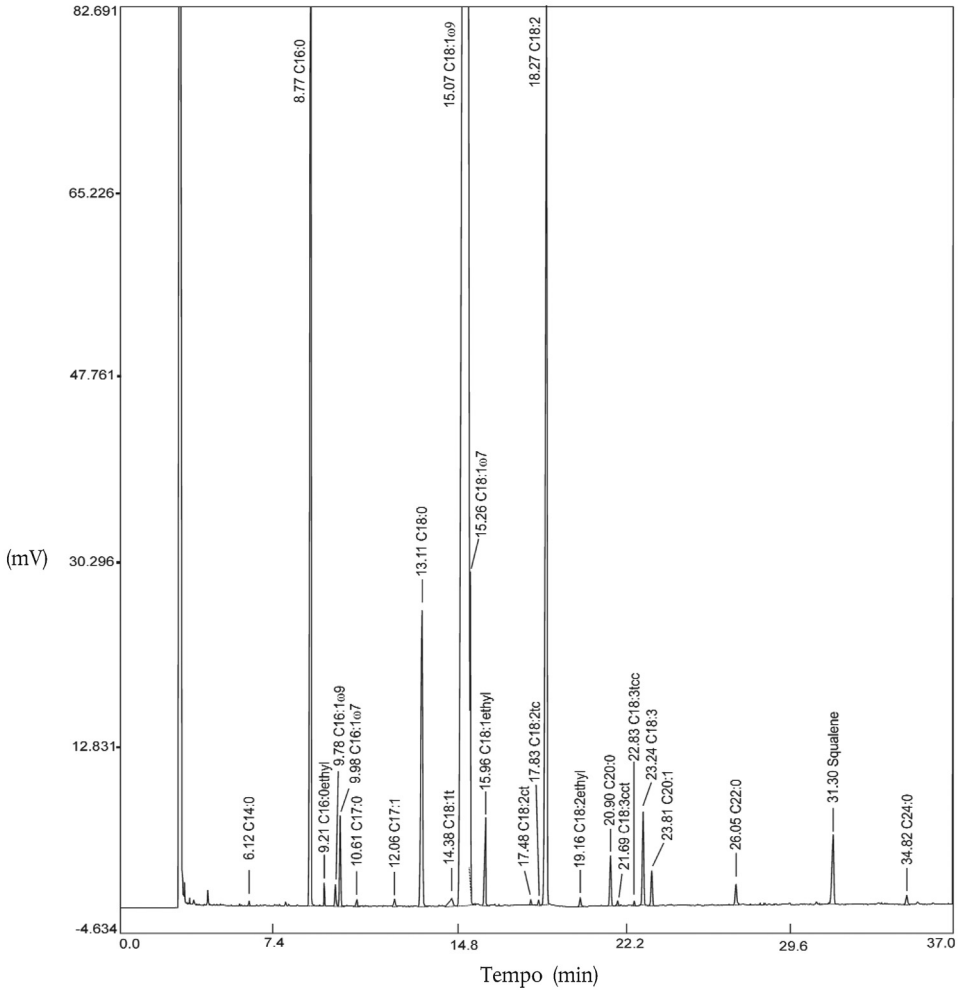
ECN	Picchi HPLC	TAG	Campione 1		Campione 2		Campione 3		Campione 4		Campione 5	
			Media (%)	RSD_r (%)	Media (%)	RSD_r (%)	Media (%)	RSD_r (%)	Media (%)	RSD_r (%)	Media (%)	RSD_r (%)
42	**1**	LLL	0,020	7,23	0,066	5,18	0,095	4,10	0,113	0,95	0,34	1,05
	2	OLLn+ PoLL	0,085	7,44	0,24	1,78	0,26	2,25	0,35	2,02	0,50	2,83
	3	PLLn	0,023	15,74	0,039	5,51	0,057	5,62	0,082	4,35	0,12	6,15
44	**4**	OLL	0,47	1,52	1,53	0,42	2,62	0,98	3,35	1,05	4,37	1,13
	5	OOLn+ PoOL	1,07	2,01	1,54	0,46	1,61	0,71	1,72	1,07	1,77	2,40
	6	PLL+ PoPoO	0,11	12,86	0,24	4,37	0,65	1,32	1,35	0,73	2,28	1,24
	7	POLn+ 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	Picchi HPLC	TAG	Campione 1		Campione 2		Campione 3		Campione 4		Campione 5	
			Media (%)	RSD_r (%)	Media (%)	RSD_r (%)	Media (%)	RSD_r (%)	Media (%)	RSD_r (%)	Media (%)	RSD_r (%)
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 repliche
RSD_r = Deviazione standard relativa della ripetibilità

Figura 2

Cromatogramma GC degli alchil esteri degli acidi grassi ottenuti da un olio di sansa mediante transesterificazione con una soluzione fredda di KOH in metanolo



7. RILEVAZIONE DELLA PRESENZA DI OLI ESTRANEI NEGLI OLI DI OLIVA

Il metodo di calcolo per la rilevazione della presenza di oli estranei negli oli di oliva mediante il raffronto di algoritmi matematici con una banca dati costituita da oli di oliva genuini è illustrato nell'allegato 1 della norma COI/T.20/Doc. n. 25.»