

VERORDENING (EG) Nr. 796/2002 VAN DE COMMISSIE

van 6 mei 2002

tot wijziging van Verordening (EEG) nr. 2568/91 inzake de kenmerken van olijfoliën en oliën uit afvallen van olijven en de desbetreffende analysemethoden, alsmede van de aanvullende aantekeningen in de bijlage bij Verordening (EEG) nr. 2658/87 van de Raad met betrekking tot de tarief- en statistiek nomenclatuur en het gemeenschappelijk douanetarief

DE COMMISSIE VAN DE EUROPESE GEMEENSCHAPPEN,

Gelet op het Verdrag tot oprichting van de Europese Gemeenschap,

Gelet op Verordening nr. 136/66/EEG van de Raad van 22 september 1966 houdende de totstandbrenging van een gemeenschappelijke ordening der markten in de sector oliën en vetten ⁽¹⁾, laatstelijk gewijzigd bij Verordening (EG) nr. 1513/2001 ⁽²⁾, en met name op artikel 35 bis,

Gelet op Verordening (EEG) nr. 2658/87 van de Raad van 23 juli 1987 met betrekking tot de tarief- en statistiek nomenclatuur en het gemeenschappelijk douanetarief ⁽³⁾, laatstelijk gewijzigd bij Verordening (EG) nr. 578/2002 van de Commissie ⁽⁴⁾, en met name op artikel 9,

Overwegende hetgeen volgt:

- (1) In Verordening (EG) nr. 2568/91 van de Commissie van 11 juli 1991 inzake de kenmerken van olijfoliën en oliën uit afvallen van olijven en de desbetreffende analysemethoden ⁽⁵⁾, laatstelijk gewijzigd bij Verordening (EG) nr. 2042/2001 ⁽⁶⁾, worden de fysische en chemische en de organoleptische kenmerken van olijfolie en van olie uit afvallen van olijven vastgesteld, alsmede de methoden om die kenmerken te beoordelen. Volgens de nieuwe omschrijving van ruwe olie uit afvallen van olijven in punt 4 van de bijlage bij Verordening nr. 136/66/EEG, die sedert 1 november 2001 van toepassing is, komen bepaalde oliën uit afvallen van olijven, op bepaalde kenmerken na, overeen met olijfolie voor verlichting.
- (2) Om door centrifugering van afvallen van olijven verkregen olie te kunnen onderscheiden van olijfolie voor verlichting en omdat geen analytische kenmerken beschikbaar zijn, dienen grenswaarden te worden vastgesteld voor het gehalte aan was, aan erytrodiol en aan uvaol of voor het totaalgehalte aan alifatische alcoholen, zodat die oliën van elkaar kunnen worden onderscheiden, ongeacht de productiewijze. Er moet dan ook worden voorzien in een methode om het totaalgehalte aan alifatische alcoholen vast te stellen.
- (3) Deze nieuwe grenswaarden maken een wijziging van aanvullende aantekening 2 in hoofdstuk 15 van de gecombineerde nomenclatuur in bijlage I bij Verordening (EEG) nr. 2658/87 noodzakelijk. Tegelijkertijd moeten artikel 5 van en bijlage XIV bij Verordening (EEG) nr. 2568/91 worden geschrapt en moeten enige fouten in de tekst van de verordening worden verbeterd.
- (4) Met het oog op de harmonisatie van de bereiding van methylesters van vetzuren die ervoor bestemd zijn om de vetzuursamenstelling van olijfolie te analyseren, kan het nu in bijlage X.B opgenomen aantal analysemethoden dankzij de technische vooruitgang worden verminderd tot twee op het gehalte aan vrije vetzuren gebaseerde werkwijzen.
- (5) Op grond van de ervaring heeft de Internationale Olijfolieraad een nieuwe methode voor de beoordeling van de organoleptische kenmerken van bij de eerste persing verkregen olijfolie ontwikkeld. Deze methode blijkt betrouwbaarder en eenvoudiger te zijn dan de momenteel in bijlage XII bij Verordening (EG) nr. 2568/91 beschreven methode. De in bijlage XII vermelde methode moet derhalve worden vervangen door de nieuwe methode voor organoleptische beoordeling van bij de eerste persing verkregen olijfolie.
- (6) Voor de toepassing van de nieuwe methode voor organoleptische beoordeling moet worden voorzien in een bemiddelingsprocedure voor het geval dat het erkende panel dat de beoordeling uitvoert, de betrokken olie in een andere dan de aangegeven categorie indeelt.
- (7) Om de uitvoering van de analyses mogelijk te maken en met het oog op de geografische verbrokkeling van bepaalde gebieden moeten, rekening houdend met de weersomstandigheden in elk seizoen, verschillende termijnen voor de toezending van de monsters na de monsterneming worden vastgesteld. Voor de indeling van de olie moet worden bepaald dat de analyseresultaten vergeleken worden met de in Verordening (EEG) nr. 2568/91 bepaalde grenswaarden waarin de herhaalbaarheids- en reproduceerbaarheidsmarges van de aangevande analysemethoden reeds verdisconteerd zijn.
- (8) Om aanpassing aan de nieuwe normen en totstandbrenging van de nodige middelen voor de toepassing ervan mogelijk te maken en om het handelsverkeer niet te verstoren, moet worden bepaald dat de in deze verordening vastgestelde wijzigingen pas ingaan op 1 september 2002 en moet een uitzondering worden gemaakt voor olijfolie en olie uit afvallen van olijven die vóór deze datum voor de kleinhandel zijn verpakt.
- (9) De in deze verordening vervatte maatregelen die aan het Comité van beheer voor oliën en vetten, respectievelijk aan het Comité douanewetboek moeten worden voorgesteld, zijn in overeenstemming met het advies van deze comités,

⁽¹⁾ PB L 72 van 30.9.1966, blz. 3025/66.

⁽²⁾ PB L 201 van 26.7.2001, blz. 4.

⁽³⁾ PB L 256 van 7.9.1987, blz. 1.

⁽⁴⁾ PB L 97 van 13.4.2002, blz. 1.

⁽⁵⁾ PB L 248 van 5.9.1991, blz. 1.

⁽⁶⁾ PB L 276 van 19.10.2001, blz. 8.

HEEFT DE VOLGENDE VERORDENING VASTGESTELD:

Artikel 1

Verordening (EEG) nr. 2568/91 wordt als volgt gewijzigd:

1. In artikel 2, lid 1, wordt:

a) het derde streepje vervangen door:

„— voor de bepaling van het gehalte aan was, de in bijlage IV beschreven methode;”;

b) het volgende streepje toegevoegd:

„— voor de bepaling van het gehalte aan alifatische alcoholen, de in bijlage XIX beschreven methode.”.

2. Artikel 2, lid 2, wordt vervangen door:

„2. De verificatie van de organoleptische kenmerken van bij de eerste persing verkregen olijfolie door de nationale autoriteiten of hun vertegenwoordigers wordt uitgevoerd door een door de lidstaten erkend proeverspanel.

De organoleptische kenmerken van in de eerste alinea genoemde olie zijn die van de voor de olijfolie opgegeven categorie wanneer een door de betrokken lidstaat erkend panel de indeling in die categorie bevestigt.

Wanneer het panel de indeling van de olie ten aanzien van de organoleptische kenmerken van de opgegeven categorie niet bevestigt, laten de nationale autoriteiten of hun vertegenwoordigers op verzoek van de belanghebbende twee tegenanalyses door andere proeverspanels uitvoeren, waarvan minstens één door een panel dat is erkend door de lidstaat van de betrokken producent. Er wordt aangenomen dat de betrokken kenmerken overeenstemmen met de opgegeven kenmerken als de twee tegenanalyses de indeling bevestigen. Zo niet, komen de kosten van de tegenanalyses, onverminderd andere sancties, voor rekening van de belanghebbende.”.

3. Artikel 2, lid 3, tweede alinea, wordt vervangen door:

„Onverminderd de voorschriften van norm EN ISO 5555 en hoofdstuk 6 van norm EN 661, worden de monsters zo snel mogelijk tegen licht en hitte beschermd en:

— wat de periode oktober-mei betreft, uiterlijk op de tiende werkdag na de dag waarop ze zijn genomen, of

— wat de periode juni-september betreft, uiterlijk op de vijfde werkdag na de dag waarop ze zijn genomen,

voor analyse naar het laboratorium gezonden.”.

4. Aan artikel 2 wordt het volgende lid 5 toegevoegd:

„5. Voor de bepaling van de kenmerken van olijfolie volgens de in lid 1 aangegeven methoden worden de analysesresultaten rechtstreeks vergeleken met de in deze verordening vastgestelde grenswaarden.”.

5. De artikelen 3 en 3 bis worden geschrapt.

6. Artikel 3 ter wordt artikel 3.

7. Artikel 4, lid 1, wordt vervangen door:

„1. Voor de beoordeling en controle van de organoleptische kenmerken door de nationale autoriteiten of hun vertegenwoordiger kunnen de lidstaten panels van proevers erkennen.

De erkenningsvoorwaarden worden door de lidstaten vastgesteld en wel zodanig dat:

— aan de voorwaarden van punt 4 van bijlage XII wordt voldaan;

— de voorzitter van het panel wordt opgeleid door een daartoe door de lidstaat erkende instelling en onder door de lidstaat goedgekeurde voorwaarden;

— de geldigheid van de erkenning afhankelijk wordt gemaakt van de resultaten van een jaarlijkse controle door de lidstaat.

Elke lidstaat stelt de Commissie in kennis van de lijst van erkende panels en van de overeenkomstig dit lid genomen maatregelen.”.

8. Artikel 5 wordt geschrapt.

9. De bijlagen worden gewijzigd overeenkomstig de bijlage bij deze verordening.

Artikel 2

Aanvullende aantekening 2 op hoofdstuk 15 van de gecombineerde nomenclatuur in bijlage I bij Verordening (EEG) nr. 2658/87 wordt als volgt gewijzigd:

1. Punt B I, onder a), wordt vervangen door:

„a) gehalte aan was, ten hoogste 300 mg/kg;”.

2. Punt B I, onder g), punt 4, wordt vervangen door:

„4. organoleptische kenmerken waarbij overeenkomstig bijlage XII bij Verordening (EEG) nr. 2568/91 een mediaan voor de gebreken waarneembaar wordt die hoger is dan 6.”.

3. Punt B II, onder g), wordt vervangen door:

„g) organoleptische kenmerken waarbij overeenkomstig bijlage XII bij Verordening (EEG) nr. 2568/91 een mediaan voor de gebreken waarneembaar wordt die niet hoger is dan 6.”.

4. Punt D, onder b), wordt vervangen door:

„b) gehalte aan erytrodiol plus uvaol, hoger dan 4,5 %;”.

Artikel 3

Deze verordening treedt in werking op de zevende dag volgende op die van haar bekendmaking in het *Publicatieblad van de Europese Gemeenschappen*.

Voor olie uit afvallen uit olijven die voor de kleinhandel is verpakt, is zij van toepassing met ingang van 1 september 2002.

Deze verordening is verbindend in al haar onderdelen en is rechtstreeks toepasselijk in elke lidstaat.

Gedaan te Brussel, 6 mei 2002.

Voor de Commissie
Franz FISCHLER
Lid van de Commissie

BIJLAGE

1. In de inhoudsopgave van de bijlagen bij Verordening (EEG) nr. 2568/91 wordt:
 - a) bijlage XIV „Aanvullende aantekeningen 2, 3 en 4 bij hoofdstuk 15 van de gecombineerde nomenclatuur” geschrapt;
 - b) de volgende titel toegevoegd: „Bijlage XIX: Methode voor de bepaling van het gehalte aan alifatische alcoholen”.
2. Bijlage I wordt vervangen door de onderstaande tabellen en tekst:

KENMERKEN VAN OLIJFOLIE

Categorie	Zuurgraad (%) (*)	Peroxide getal mEq O ₂ /kg (*)	Gehalogeneerde oplosmiddelen mg/kg (*) (1)	Was mg/kg (**)	Verzadigde vetzuren in 2-positie-triglyceriden (%)	Stigmastadiënen mg/kg (2)	Verskil tussen HPLC en theoretische berekening van ECN42	K ₂₃₂ (*)	K ₂₇₀ (*)	K ₂₇₀ met aluminiumoxide (2)	Delta-K (*)	Organoleptische beoordeling Mediaan voor de gebreken (Md) (*)	Organoleptische beoordeling Mediaan „fruitig” (Mf) (*)
1. Extra olijfolie verkregen bij de eerste persing	≤ 1,0	≤ 20	≤ 0,20	≤ 250	≤ 1,3	≤ 0,15	≤ 0,2	≤ 2,50	≤ 0,20	≤ 0,10	≤ 0,01	Md = 0	Mf > 0
2. Olijfolie verkregen bij de eerste persing	≤ 2,0	≤ 20	≤ 0,20	≤ 250	≤ 1,3	≤ 0,15	≤ 0,2	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,10	≤ 0,01	Md ≤ 2,5	Mf > 0
3. Courante olijfolie verkregen bij de eerste persing	≤ 3,3	≤ 20	≤ 0,20	≤ 250	≤ 1,3	≤ 0,15	≤ 0,2	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,10	≤ 0,01	Md ≤ 6,0 (*)	—
4. Olijfolie verkregen bij de eerste persing, voor verlichting	> 3,3	> 20	> 0,20	≤ 300 (5)	≤ 1,3	≤ 0,50	≤ 0,3	≤ 3,70	> 0,25	≤ 0,11	—	Md > 6	—
5. Geraffineerde olijfolie	≤ 0,5	≤ 5	≤ 0,20	≤ 350	≤ 1,5	—	≤ 0,3	≤ 3,40	≤ 1,20	—	≤ 0,16	—	—
6. Olijfolie	≤ 1,5	≤ 15	≤ 0,20	≤ 350	≤ 1,5	—	≤ 0,3	≤ 3,30	≤ 1,00	—	≤ 0,13	—	—
7. Ruwe olie uit afvallen van olijven	> 0,5 (**)	—	—	> 350 (6)	≤ 1,8	—	≤ 0,6	—	—	—	—	—	—
8. Geraffineerde olie uit afvallen van olijven	≤ 0,5	≤ 5	≤ 0,20	> 350	≤ 2,0	—	≤ 0,5	≤ 5,50	≤ 2,50	—	≤ 0,25	—	—
9. Olie uit afvallen van olijven	≤ 1,5	≤ 15	≤ 0,20	> 350	≤ 2,0	—	≤ 0,5	≤ 5,30	≤ 2,00	—	≤ 0,20	—	—

(1) Maximumgehalte voor totale gehalogeneerde bestanddelen die zijn aangetoond met een elektronenvangstdetector. Voor individueel aangetoonde bestanddelen is het toegestane maximum 0,10 mg/kg.

(2) Totaal van de isomeren dat (al dan niet) kan worden gescheiden over een capillaire kolom.

(3) Om na te gaan of geraffineerde olie aanwezig is, moet als K₂₇₀ hoger is dan de voor de betrokken categorie vastgestelde limiet K₂₇₀ worden bepaald over een kolom aluminiumoxide.

(4) Als de mediaan „fruitig” gelijk is aan 0, mag de mediaan van het gebrek niet hoger zijn dan 2,5.

(5) Olie met een wasgehalte van 300 mg/kg tot 350 mg/kg wordt als olijfolie voor verlichting aangemerkt, wanneer het totaalgehalte aan alifatische alcoholen niet hoger is dan 350 mg/kg of wanneer het gehalte aan erytrodiol en uvaol niet meer bedraagt dan 3,5 %.

(6) Olie met een wasgehalte van 300 mg/kg tot 350 mg/kg wordt als ruwe olie uit afvallen van olijven aangemerkt, wanneer het totaalgehalte aan alifatische alcoholen niet hoger is dan 350 mg/kg en wanneer het gehalte aan erytrodiol en uvaol niet meer bedraagt dan 3,5 %.

Categorie	Zuurgraad						Totaal transolie-zuurisomeren (%)	Totaal translinol-zuur- en translinoleenzuurisomeren (%)	Cholesterol (%)	Brassicasterol (%)	Campesterol (%)	Stigmasterol (%)	Bêtasitosterol (%) ⁽¹⁾	Delta-7-Stigmasterol (%)	Totaal sterolen (mg/kg)	Erythrodiol plus uvaol (%) ^(**)
	Myristinezuur (%)	Linoleenzuur (%)	Arachidezuur (%)	Eicosaan-zuur (%)	Beheenzuur (%)	Lignocerinezuur (%)										
1. Extra olijfolie verkregen bij de eerste persing	≤ 0,05	≤ 0,9	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
2. Olijfolie verkregen bij de eerste persing	≤ 0,05	≤ 0,9	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
3. Courante olijfolie verkregen bij de eerste persing	≤ 0,05	≤ 0,9	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
4. Olijfolie verkregen bij de eerste persing, voor verlichting	≤ 0,05	≤ 0,9	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,10	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5 ⁽²⁾
5. Geraffineerde olijfolie	≤ 0,05	≤ 0,9	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
6. Olijfolie	≤ 0,05	≤ 0,9	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
7. Ruwe olie uit afval van olijven	≤ 0,05	≤ 0,9	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,20	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 2 500	> 4,5 ⁽³⁾
8. Geraffineerde olie uit afval van olijven	≤ 0,05	≤ 0,9	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 800	> 4,5
9. olie uit afval van olijven	≤ 0,05	≤ 0,9	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 600	> 4,5

⁽¹⁾ Totaal van Delta-5,23 stigmastadiëenol + chlosterol + bêtasitosterol + sitostanol + delta-5-avenasterol + delta-5,24-sigmastadiëenol.

⁽²⁾ Olie met een wasgehalte van 300 mg/kg tot 350 mg/kg wordt als olijfolie voor verlichting aangemerkt, wanneer het totaalgehalte aan alifatische alcoholen niet hoger is dan 350 mg/kg of wanneer het gehalte van erythrodiol en uvaol niet meer bedraagt dan 3,5 %.

⁽³⁾ Olie met een wasgehalte van 300 mg/kg tot 350 mg/kg wordt als ruwe olie uit afval van olijven aangemerkt, wanneer het totaalgehalte aan alifatische alcoholen niet hoger is dan 350 mg/kg en wanneer het gehalte aan erythrodiol en uvaol meer bedraagt dan 3,5 %.

Opmerkingen

- a) De resultaten van de analyses moeten worden opgegeven met hetzelfde aantal decimale cijfers als in de normen voor elk kenmerk.
De laatste significante decimaal wordt naar boven afgerond als de volgende decimaal hoger is dan 4.
- b) Om olie in een andere categorie in te delen of qua zuiverheid onvoldoende te verklaren, volstaat het dat een van de kenmerken niet aan de vastgestelde normen beantwoordt.
- c) Aangezien de kenmerken met een asterisk (*) betrekking hebben op de kwaliteit van de olie, heeft dit als consequentie dat:
— voor bij de eerste persing verkregen olijfolie voor verlichting niet gelijktijdig aan alle normen (afgezien van K_{13}) hoeft te worden voldaan;
— andere bij de eerste persing verkregen olijfolie die niet aan één van deze normen voldoet, wel wordt ingedeeld in een andere categorie, maar binnen de categorieën olijfolie verkregen bij de eerste persing blijft.
- d) De kenmerken met een dubbele asterisk (**) houden in dat voor alle betrokken olie uit afval van olijven niet gelijktijdig aan alle normen hoeft te worden voldaan."

3. Bijlage X.B wordt vervangen door de onderstaande bijlage:

„BIJLAGE X.B

BEREIDING VAN METHYLESTERS VAN VETZUREN VAN OLIJFOLIE EN OLIE UIT AFVALLEN VAN OLIJVEN

Beide onderstaande methoden worden aanbevolen voor de bereiding van methylesters van vetzuren van olijfolie en olie uit afval van olijven.

Methode A: Koude omestering door middel van een methanoloplossing van kaliumhydroxide.

Methode B: Warme methylering door middel van een methanoloplossing van natriummethylaas, gevolgd door een verestering in een zuur milieu.

De keuze van de methode hangt af van de te bepalen analytische parameter en de categorie van de olie, zoals hieronder vermeld:

a) Bepaling van het verschil tussen het werkelijke en het theoretische gehalte aan triglyceriden volgens ECN42 (Δ ECN42):

— Methode A wordt toegepast op monsters van alle categorieën olie, nadat de olie is gezuiverd via een kolom van silicagel.

b) Bepaling van de vetzuursamenstelling:

— Methode A wordt direct toegepast op monsters van de hieronder volgende categorieën olie:

— Olijfoliën van de eerste persing met een gehalte aan vrije vetzuren van minder dan 3,3 %.

— Geraffineerde olijfolie.

— Olijfolie (mengsel van olijfoliën van de eerste persing en geraffineerde olijfolie).

— Geraffineerde olie uit afval van olijven.

— Olie uit afval van olijven (mengsel van olijfoliën van de eerste persing en geraffineerde olie uit afval van olijven).

— Methode B wordt direct toegepast op monsters van de hieronder volgende categorieën olie:

— Olijfolie van de eerste persing met een gehalte aan vrije vetzuren van meer dan 3,3 %.

— Ruwe olie uit afval van olijven.

c) Bepaling van de vetzuren van de trans-isomeren:

— Methode A wordt direct toegepast op monsters van de hieronder volgende categorieën olie:

— Olijfoliën van de eerste persing met een gehalte aan vrije vetzuren van minder dan 3,3 %.

— Geraffineerde olijfolie.

— Olijfolie (mengsel van olijfoliën van de eerste persing en geraffineerde olijfolie).

— Geraffineerde olie uit afval van olijven.

— Olie uit afval van olijven (mengsel van olijfoliën van de eerste persing en geraffineerde olie uit afval van olijven).

— Methode A wordt toegepast op monsters van de volgende categorieën olie, nadat de olie is gezuiverd via een kolom van silicagel:

— Olijfolie van de eerste persing met een gehalte aan vrije vetzuren van meer dan 3,3 %.

— Ruwe olie uit afval van olijven.

ZUIVERING VAN OLIEMONSTERS

Indien nodig worden de monsters gezuiverd door deze door een kolom silicagel te voeren; als oplosmiddel voor elutie wordt hexaan/diethyloxyde (87:13 v/v) gebruikt, zoals beschreven in de IUPAC 2.507-methode.

Het is ook mogelijk als alternatief extractie in de vaste fase toe te passen, onder gebruikmaking van patronen silicagel. Plaats een patroon silicagel (1 g, 6 ml) in een apparaat voor elutie onder vacuüm en was met 6 ml hexaan. Hef het vacuüm op om te voorkomen dat de kolom uitdroogt. Breng vervolgens in de kolom een oplossing van olie (ongeveer 0,12 g) in 0,5 ml hexaan en pas het vacuüm weer toe, opdat de oplossing in het silicium binnendringt; elueer vervolgens met 10 ml hexaan/diethyloxyde (87:12 v/v) onder vacuüm. Homogeniseer het totaal van de eluaten en verdeel deze in twee gelijke volumes. Laat een van de volumes tot uitdroging verdampen in een draaibaar verdampstelsel onder verminderde druk en bij omgevingstemperatuur. Los het residu op in 1 ml heptaan. De verkregen oplossing is klaar voor de analyses van vetzuren door CPG. Laat het tweede volume verdampen en los het residu op in 1 ml aceton voor de analyse van de triglyceriden door HPLC, indien nodig.

METHODEN VOOR DE BEREIDING VAN DE METHYLESTERS VAN VETZUREN

1. **Methode A: Koude omestering door middel van een methanoloplossing van kaliumhydroxide**

1.1. **Toepassing**

Deze snelle methode wordt toegepast op olijfolie en olie uit afval van olijven met een gehalte aan vrije vetzuren van minder dan 3,3 %. De vrije vetzuren worden niet veresterd door het kaliumhydroxide. De ethylesters van vetzuren transverteren langzamer dan de glyceride-esters en het is mogelijk dat zij slechts gedeeltelijk methyleren.

1.2. Principe

De methylesters worden gevormd door omestering in een methanoloplossing van kaliumhydroxide, als tussenfase voor de verzeping (punt 5 van de methode in ISO 5509:2000, punt 5 van de IUPAC 2.301-methode).

1.3. Reagentia

Methanol met hoogstens 0,5 % (m/m) water.

Heptaan voor chromatografie.

Kaliumhydroxide, methanoloplossing van ca. 2 N: los 11,2 kaliumhydroxide op in 100 ml methanol.

1.4. Materiaal

Reageerbuisjes met schroefsluiting (capaciteit 5 ml), met een dop die voorzien is van een PTFE-dichting.

Pipetten, met schaalverdeling of automatische, van 2 ml en 0,2 ml.

1.5. Werkwijze

Weeg ca. 0,1 g van het oliemonster af in een reageerbuisje van 5 ml met schroefsluiting. Voeg 2 ml heptaan toe en schud. Voeg 0,2 ml van de methanoloplossing van 2 N kaliumhydroxide toe, sluit met behulp van de dop die van een PTFE-dichting is voorzien, sluit goed af en schud krachtig gedurende 30 seconden. Laat rusten totdat het bovenste deel van de oplossing helder wordt. Schenk de bovenste laag af; dat is de laag waarin zich de methylesters bevinden. De heptaanoplossing is gereed om in de chromatograaf ingebracht te worden. Het verdient aanbeveling om de oplossing in de koelkast te laten tot het ogenblik van de chromatografische analyse. Het is af te raden de oplossing langer dan twaalf uur te bewaren.

2. Methode B: Warme methylering met behulp van een methanoloplossing van natriummethylaat, gevolgd door een verestering in een zuur milieu**2.1. Toepassing**

Deze methode is van toepassing op olijfolie en olie uit afval van olijven met een gehalte aan vrije vetzuren van meer dan 3,3 %.

2.2. Principe

Neutralisering van de vrije vetzuren en alkalische methanolisering van glyceriden, gevolgd door verestering van de vetzuren in een zuur milieu (punt 4.2 van de IUPAC 2.301-methode).

2.3. Reagentia

— Heptaan voor chromatografie.

— Methanol met hoogstens 0,05 % water (m/m).

— Natriummethylaat, 0,2 N methanoloplossing: los 5 g natrium op in 1 000 ml methanol (kan worden bereid met behulp van handelsoplossingen).

— Fenoltaleïne, 0,2 methanoloplossing.

— Zwavelzuur in de 1 N methanoloplossing: voeg 3 ml zwavelzuur van 96 % toe aan 100 ml methanol.

— Verzadigde oplossing van natriumchloride in het water.

2.4. Materiaal

— Volumetrische kolf met een capaciteit van 50 ml, met platte bodem en lange, nauwe geslepen hals.

— Terugstroomkoeler. Luchtkoeler (1 m lang) voorzien van een geslepen dichting.

— Kookregelaar.

— Glazen trechter.

2.5. Werkwijze

Schenk ongeveer 0,25 g oliemonster in een volumetrische kolf van 50 ml met een geslepen hals. Voeg met behulp van de trechter 10 ml van de 0,2 N methanoloplossing van natriummethylaat en de kookregelaar toe. Bevestig de terugstroomkoeler, schud en breng aan de kook. De oplossing moet na ongeveer tien minuten helder worden. Na 15 minuten is de reactie praktisch voltooid. Neem de kolf van de warmtebron, wacht het einde van de terugstroom af, verwijder de koeler en voeg twee druppels van de fenoltaleïneoplossing toe. Voeg enkele ml 1 N zwavelzuur toe aan de methanoloplossing totdat deze kleurloos wordt; voeg er daarna nog eens 1 ml aan toe. Sluit de koeler aan en breng opnieuw aan de kook gedurende ongeveer 20 minuten. Neem de kolf van de warmtebron en laat afkoelen onder een luchtstroom. Verwijder de koeler, voeg 20 ml van de verzadigde natriumchlorideoplossing toe en schud. Voeg 5 ml heptaan toe, sluit de kolf en schud krachtig gedurende 15 seconden.

Laat bezinken tot de volledige scheiding van de twee fasen. Voeg opnieuw 20 ml van de verzadigde natriumchlorideoplossing toe, totdat de waterige fase het onderste deel van de hals van de kolf bereikt. De bovenste laag die zich in de hals van de kolf bevindt, is de laag die de methylesters bevat. De verkregen oplossing is gereed om in de chromatograaf te worden ingebracht.

Voorzorgsmaatregel: De methylering volgens methode B moet in een geventileerde zuurkast worden uitgevoerd.

2.6. Alternatieven voor de methylering volgens methode B

2.6.1. Methode C

2.6.1.1. Principe

De te analyseren vetstof wordt, bij 100 °C, behandeld met een methanoloplossing van zoutzuur in een gesloten flesje.

2.6.1.2. Materiaal

- Flesje van dik glas met een inhoud van ca. 5 ml (hoogte 40 x 45 mm, diameter 14 à 16 mm).
- Pipetten, met schaalverdeling, van 1 en 2 ml.

2.6.1.3. Reagentia

Oplossing van zoutzuur in 2 % methanol, bereid uit gasvormig zoutzuur en watervrij methanol (opmerking 1).

Hexaan voor chromatografie

Opmerking 1: Het is mogelijk handelsoplossingen van zoutzuur in methanol te gebruiken. In het laboratorium kunnen gemakkelijk kleine hoeveelheden gasvormig zoutzuur worden bereid en wel door de handelsoplossing ($p = 1,18$) te wijzigen, door de toevoeging van enkele druppels geconcentreerd zwavelzuur. Aangezien methanol zeer gemakkelijk zoutzuur opneemt, is het goed bij de oplossing alle mogelijke voorzorgsmaatregelen te treffen (bijvoorbeeld het gas inbrengen met behulp van een kleine omgekeerde trechter, die juist reikt tot het niveau van het methanol). Het is mogelijk vooraf grote hoeveelheden methanoloplossingen van zoutzuur te bereiden, die in het donker, in flessen met een glazen stop, uitstekend bewaard kunnen worden. Dit reagens kan eveneens worden bereid door acetylchloride op te lossen in het waterrijke methanol.

2.6.1.4. Werkwijze

- Schenk in het glazen flesje 0,2 g van de vetstof die vooraf is gedroogd aan natriumsulfaat en gefiltreerd en daarna 2 ml van de methanoloplossing van zoutzuur. Sluit het flesje.
- Dompel het flesje gedurende 40 minuten onder bij 100 °C.
- Laat het flesje onder een luchtstroom afkoelen, open het en voeg 2 ml gedestilleerd water en 1 ml hexaan toe.
- Centrifugeer en extraheer de hexaanfase, gereed voor gebruik.

2.6.2. Methode D

2.6.2.1. Principe

De geanalyseerde vetstof wordt onder terugstroming verhit met methanol, hexaan en zwavelzuur. De verkregen methylesters worden geëxtraheerd met petroleumether.

2.6.2.2. Materiaal

- Proefbuis met een capaciteit van ca. 20 ml met een terugstroomkoeler (met behulp van lucht) van ca. 1 m lang, voorzien van een geslepen dichting.
- Pipet, met schaalverdeling, van 5 ml.
- Afschenktrechter van 50 ml.
- Reageerbuisjes van 10 ml en 25 ml.
- Proefbuis, met konische bodem, van 15 ml.

2.6.2.3. Reagentia

- Reagens voor methylering: watervrij methanol, hexaan en geconcentreerd zwavelzuur ($p = 1,84$ in de verhouding 75:25:1 (V/V/V)).

- Petroleumether 40-60 °C.
- Watervrij natriumsulfaat.

2.6.2.4. Werkwijze

Schenk 0,1 g olie in de buis van 20 ml en voeg 5 ml van het methyleringsreagens toe.

Bevestig de terugstroomkoeler en verwarm gedurende 30 minuten tot kookpunt in een waterbad (opmerking 2).

Breng het mengsel kwantitatief over naar een afschenktrechter van 50 ml met 10 ml gedestilleerd water en 10 ml petroleumether. Schud krachtig en wacht totdat de scheiding van de fasen plaats heeft gevonden. Scheid de waterachtige fase en was de geëtherde laag tweemaal met 20 ml gedestilleerd water. Voeg in de trechter een kleine hoeveelheid watervrij natriumsulfaat toe, schud, laat enkele minuten rusten en filtreer, waarbij het filtraat in een buis van 15 ml met konische bodem wordt opgevangen.

Laat het oplosmiddel verdampen in een waterbad onder een stikstofstroom.

Opmerking 2: Breng, om kookvertraging te voorkomen, een glazen staafje in de buis en laat de temperatuur van het waterbad niet boven 90 °C stijgen.

3. **Precisieparameters**

De statistische evaluatie van de nauwkeurigheid van de methoden A en B is gepubliceerd door de Internationale Olijfolieraad in zijn methode COI/T.20/CO. nr. 24.

AANBEVELINGEN VOOR DE GASCHROMATOGRAFISCHE ANALYSE IN DE GASFASE VAN DE ESTERS VAN VETZUREN VAN OLIJFOLIE EN OLIE UIT AFVALLEN VAN OLIJVEN

1. **Werkwijze**

De gaschromatografische analyse in de gasfase van oplossingen van vetesters in hexaan wordt uitgevoerd overeenkomstig de norm ISO 5508, met behulp van een capillaire kolom (50 m lang x 0,25 of 0,32 mm binnenwerkse diameter), bedekt met cyanopropylsilicon, zoals aangegeven voor de bepaling van vetzuren en trans-isomeren (COI/T.20/Doc. nr. 17).

Figuur 1 laat het typerende chromatografische profiel zien van een olie uit afval van olijven die methyl- en ethylesters bevat van vetzuren en trans-isomeren van methylesters.

2. **Berekeningen**

- 2.1. Om de vetzuursamenstelling en ΔECN_{42} te berekenen, moet met de volgende vetzuren rekening worden gehouden:

Myristinezuur (C14:0).

Palmitinezuur (C16:0). Som van de oppervlakken van de pieken die overeenkomen met de methyl- en de ethylesters.

Palmitoleïnezuur (C16:1). Som van de oppervlakken van de pieken die overeenkomen met de isomeren ω_9 en ω_7 van het methylester, het ethylester en de trans-isomeren van het methylester.

Heptadekaanzuur (C17:0).

Heptadecenzuur (C17:1).

Stearinezuur (C18:0).

Oleïnezuur (C18:1). Som van de oppervlakken van de pieken die overeenkomen met de isomeren ω_9 en ω_7 van het methylester, het ethylester en de trans-isomeren van het methylester.

Linolzuur (C18:2). Som van de oppervlakken van de pieken die overeenkomen met de methyl- en ethylesters en de trans-isomeren van het methylester.

Arachidonzuur (C20:0).

Linoleenzuur (C18:3). Som van de oppervlakken van het methylester en de trans-isomeren van het methylester.

Eiscoseneenzuur (C20:1)

Beheenzuur (C22:0)

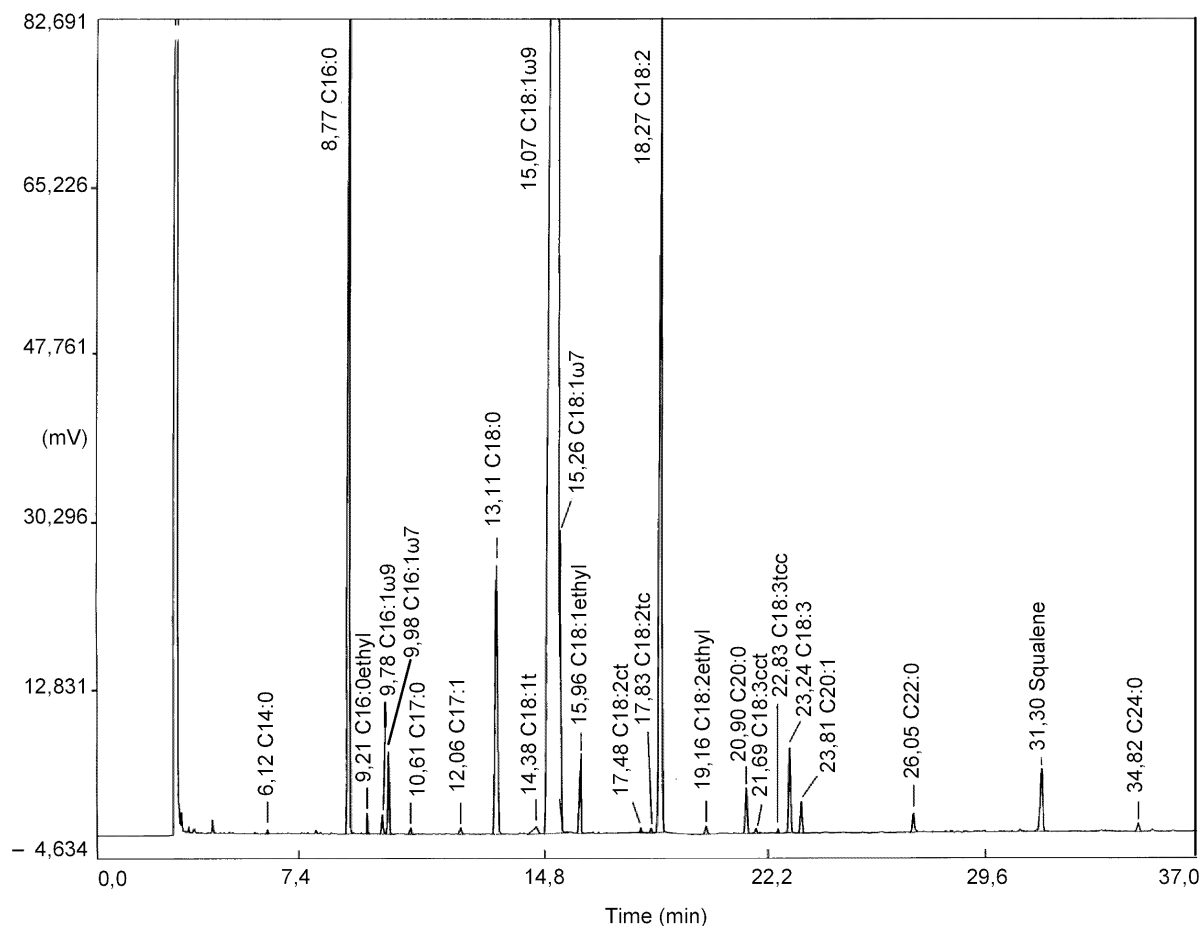
Lignocereenzuur (C24:0).

Voor de berekening van het totale oppervlak heeft met squaleen geen rekening te worden gehouden.

- 2.2. Voor de berekening van het percentage trans-C18:1 wordt de piek gebruikt die met de methylesters van dit vetzuur overeenkomt. Voor de som (trans-C18:2 + trans-C18:3) worden alle pieken die overeenkomen met de trans-isomeren van deze twee vetzuren, bij elkaar opgeteld. Om het totale oppervlak te berekenen, wordt met alle pieken die in punt 2.1 worden genoemd (zie COI/T.20/Doc. nr. 17) rekening gehouden.

Voor het berekenen van het percentage van elk vetzuur wordt onderstaande formule toegepast:

$$\% X = (\text{oppervlak } X \times 100) / (\text{totale oppervlak})$$



Figuur 1: Met behulp van de methode van koude methylering verkregen chromatografisch profiel van een olie uit afval van olijven. De chromatografische pieken komen, tenzij anders aangegeven, overeen met de methylesters."

4. Bijlage XII wordt vervangen door de onderstaande bijlage:

„BIJLAGE XII

ORGANOLEPTISCHE BEOORDELING VAN OLIJFOLIE VAN EERSTE PERSING

1. **DOEL EN TOEPASSINGSGBIED**

Hierbij worden de criteria vastgesteld voor de beoordeling van de organoleptische kenmerken van bij de eerste persing verkregen olijfolie in de zin van punt 1 van de bijlage bij Verordening nr. 136/66/EEG, en wordt de methode voor de desbetreffende indeling van deze olie aangegeven.

Deze methode geldt slechts voor de indeling van olijfolie van eerste persing uit een oogpunt van fruitigheid en van intensiteit van de gebreken, bepaald door een overeenkomstig punt 4 samengesteld panel van geselecteerde en getrainde proevers.

2. **ALGEMEEN**

Ten aanzien van de algemene basisterminologie, het proeflokaal, de algemene methodiek en het proefglas is het aan te bevelen de voorschriften van de Internationale Olijfolieraad te volgen.

3. **SPECIFIEKE TERMINOLOGIE**

3.1. **Positieve kenmerken**

Fruitig: het geheel van rechtstreeks of retronasaal waargenomen reukgevaarwordingen, afhankelijk van de olijvensoort en kenmerkend voor de van verse en gezonde, rijpe of onrijpe, vruchten vervaardigde olie.

Bitter: kenmerkende smaak van olijfolie die uit onrijpe of rijpende olijven is verkregen.

Scherp: prikkelend gevoel in de mond, kenmerkend voor aan het begin van het seizoen en hoofdzakelijk uit nog onrijpe olijven verkregen olie.

3.2. **Negatieve kenmerken**

Olijvengisting: flavour die kenmerkend is voor olie uit in hopen opgeslagen olijven waarvan de anaerobe gisting ver gevorderd is.

Schimmel — *vochtigheid*: flavour die kenmerkend is voor olie uit olijven waarop schimmels zijn gegroeid doordat de vruchten enkele dagen bij vochtige omstandigheden zijn opgeslagen.

Droesem: flavour die kenmerkend is voor olie die in contact is gebleven met het bezinksel in de tanks en bakken.

Wijnachtig — *azijn*: flavour die kenmerkend is voor sommige oliën die doen denken aan wijn of azijn. Deze gewaarwording is hoofdzakelijk te wijten aan de gisting van de olijven waardoor azijnzuur, ethylacetaat en ethanol ontstaan.

Metaal: flavour die doet denken aan metaal. Zij is kenmerkend voor olie die tijdens het malen, het mengen, het persen of de opslag lang in contact is geweest met metalen oppervlakken.

Ranzig: flavour van oliën die oxidatie hebben ondergaan.

Gekookt of verbrand: flavour die kenmerkend is voor olie die wordt veroorzaakt door te sterke en/of te lange verhitting tijdens de productie en met name bij het mengen van de massa olijvenvruchtvlies met ondeugdelijke verhitting.

Hooi — *hout*: flavour die kenmerkend is voor oliën uit droge olijven.

Robuust: gewaarwording die kenmerkend is voor sommige oliën die bij het proeven in de mond een gevoel van dichtheid en kleverigheid veroorzaken.

Smeermiddelen: flavour van olijfolie, die doet denken aan stookolie, vet of minerale olie.

Vruchtwater: flavour die te wijten is aan langdurig contact met vruchtwater.

Pekel: flavour van olie uit olijven die zijn bewaard in pekels.

Esparto: flavour die kenmerkend is voor olie die is verkregen uit olijven die zijn geperst in nieuwe persmanden van esparto. De gewaarwording kan verschillen naargelang de persmanden van ongedroogd of gedroogd esparto zijn gemaakt.

Grond: flavour van olie uit olijven waaraan grond of modder zat en die niet zijn gewassen.

Wormstekig: flavour van olie uit olijven die zijn aangetast door larven van de olijfvlieg (*Bactrocera oleae*).

Komkommer: flavour van olie die kenmerkend is voor te lange hermetische bewaring, met name in blikken, en die wordt toegeschreven aan het ontstaan van 2-6 nonadiënal.

4. **PANEL**

Het panel wordt door de lidstaat aangewezen en bestaat uit een voorzitter en acht tot twaalf proevers. Voor het verkoopseizoen 2001/2002 mag het panel echter minder dan acht proevers tellen.

De voorzitter van het panel moet degelijk zijn opgeleid en een ervaren expert voor de verschillende soorten olijfolie zijn. Hij is verantwoordelijk voor het panel, voor de organisatie en het functioneren ervan en hij is belast met de voorbereidingen, de codering van de monsters en de aanbidding ervan aan de proevers, alsmede met het verzamelen en de statistische verwerking van de gegevens.

De voorzitter van het panel selecteert de proevers en zorgt voor hun training en de controle van hun werk zodat zij een hoog bekwaamheidsniveau kunnen aanhouden.

De panelleden bij organoleptische tests van olijfolie moeten geselecteerd en getraind zijn op grond van hun vermogen om soortgelijke monsters van elkaar te onderscheiden, overeenkomstig de handleiding van de Internationale Olijfolieraad voor de selectie, de opleiding en de controle van gekwalificeerde proevers van olijfolie van de eerste persing.

De panelen moeten zich ertoe verbinden deel te nemen aan organoleptische beoordelingen op nationaal, communautair of internationaal niveau voor de periodieke controle en de harmonisering van de perceptiecriteria. Voorts moeten zij de betrokken lidstaat jaarlijks in kennis stellen van alle gegevens over de samenstelling van het panel en het aantal beoordelingen die zij als erkend panel hebben uitgevoerd.

5. **PROCEDURE VOOR DE ORGANOLEPTISCHE BEOORDELING EN DE INDELING**

5.1. **Gebruik van het beoordelingsformulier door het panellid**

Het door het panellid te gebruiken beoordelingsformulier is opgenomen in aanhangsel A.

Elke proever die deel uitmaakt van het panel, moet aan de in een proefglas aangeboden olie ruiken en die vervolgens proeven ⁽¹⁾ om de reuk, de smaak, het mondgevoel en de kinesthetische kenmerken te analyseren. Vervolgens moet hij op het beoordelingsformulier de intensiteit vermelden waarmee hij de negatieve en positieve kenmerken gewaarwordt.

Wanneer negatieve kenmerken worden waargenomen die niet op het formulier voorkomen, moeten die worden aangegeven in de rubriek „Andere” met de in punt 3.2 van deze bijlage omschreven termen die de gewaarwording het best weergeven.

5.2. Verwerking van de gegevens door de voorzitter van het panel

De voorzitter van het panel moet de door de panelleden ingevulde beoordelingsformulieren inzamelen; hij moet de voor elk kenmerk vermelde intensiteit controleren. Wanneer hij een anomalie constateert, vraagt hij het betrokken panellid zijn beoordelingsformulier te herzien en eventueel de test over te doen.

De voorzitter van het panel kan de door elk panellid vermelde gegevens verwerken in een programma dat gebruikmaakt van de in aanhangsel B beschreven methode voor de berekening van de statistische mediaan. De gegevens van een monster moeten worden ingevoerd aan de hand van een rooster met tien kolommen voor de tien kenmerken en met zoveel regels als er panelleden zijn.

Wanneer in de rubriek „Andere” door minstens de helft van de panelleden een negatief kenmerk is vermeld, moet de voorzitter van het panel voor dit kenmerk de mediaan berekenen en de olie in de corresponderende categorie indelen.

Wanneer tests worden verricht om na te gaan of de normen in acht zijn genomen of in het kader van tegenexpertises, moet de voorzitter van het panel driemaal een organoleptische beoordeling van de olie laten uitvoeren met een tussenpoos van ten minste één dag na elke test; de mediaan van de kenmerken wordt dan berekend op basis van de gegevens in de beoordelingsformulieren van de drie tests.

5.3. Indeling van de oliën

De olie wordt ingedeeld bij één van de onderstaande categorieën naar gelang van de mediaan voor de gebreken en de mediaan voor het kenmerk fruitig. Onder mediaan voor de gebreken wordt verstaan de mediaan voor het negatieve kenmerk dat is waargenomen met de grootste intensiteit. De robuuste variatie-coëfficiënt voor dat gebrek mag niet hoger zijn dan 20 %.

- a) *Extra olijfolie van de eerste persing*: de mediaan voor de gebreken is gelijk aan 0 en de mediaan voor de fruitigheid is hoger dan 0.
- b) *Olijfolie van de eerste persing*: de mediaan voor de gebreken is hoger dan 0, maar niet hoger dan 2,5 en de mediaan voor de fruitigheid is hoger dan 0.
- c) *Courante olijfolie van de eerste persing*: de mediaan voor de gebreken is hoger dan 2,5, maar niet hoger dan 6,0; of de mediaan voor de gebreken is niet hoger dan 2,5 en de mediaan voor fruitigheid is gelijk aan 0.
- d) *Olijfolie van de eerste persing voor verlichting*: de mediaan voor de gebreken is hoger dan 6,0.

Met ingang van 1 november 2003 worden de categorieën c) en d) echter vervangen door de categorie:

- c) *Olijfolie voor verlichting*: de mediaan voor de gebreken is hoger dan 2,5; of de mediaan voor de gebreken is niet hoger dan 2,5 en de mediaan voor fruitigheid is gelijk aan 0.

5.4. Bijzondere gevallen

Wanneer de mediaan voor een ander positief kenmerk dan „fruitig” hoger is dan 5,0, moet de voorzitter van het panel dit op het beoordelingsformulier vermelden.

⁽¹⁾ Het panellid hoeft niet te proeven wanneer een uiterst onaangenaam kenmerk wordt waargenomen; hij moet deze uitzonderlijke situatie in het beoordelingsformulier vermelden.

AANHANGSEL A

Beoordelingsformulier

(voor het panellid)

GEWAARWORDING VAN DE
GEBREKEN

INTENSITEIT

Olijvengisting	----->
Schimmel — Vochtigheid	----->
Wijnachtig — azijn	----->
Droemsem	----->
Metaal	----->
Ranzig	----->
Andere (omschrijven)	----->

GEWAARWORDING VAN DE POSITIEVE KENMERKEN

Fruutig	----->
Bitter	----->
Scherp	----->

Naam van het panellidCode van het monsterDatum

AANHANGSEL B

METHODE VOOR DE BEREKENING VAN DE MEDIAAN EN DE BETROUWBAARHEIDSINTERVALLEN

Mediaan

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

De mediaan is het reële getal X_m gekenmerkt door het feit dat de kans (P) dat de waarden van de verdeling (X) lager liggen dan dat getal (X_m), kleiner is dan of gelijk is aan 0,5 en dat tegelijkertijd de kans (P) dat de waarden van de verdeling (X) kleiner zijn dan of gelijk zijn aan X_m , groter is dan of gelijk is aan 0,5. Volgens een andere definitie is de mediaan het 50e percentiel van een naar opklimmende grootte gerangschikte reeks getallen. De mediaan is met andere woorden de middelste waarde van een gerangschikte reeks oneven getallen of het gemiddelde van de twee middelste waarden van een gerangschikte reeks even getallen.

Robuuste standaardafwijking

$$S = \frac{1,25 \text{ IQR}}{1,35 \sqrt{N}}$$

Om de variabiliteit rond de mediaan op betrouwbare wijze te kunnen schatten, moet de robuuste standaardafwijking volgens het model van Stuart en Kendall worden geschat. De asymptotische standaardafwijking S wordt bepaald door N en IQR. N is het aantal waarnemingen en IQR de interkwartielafstand, d.w.z. de robuuste schatting van de variabiliteit van de betrokken gegevens (de interkwartielafstand omvat precies 50 % van de gevallen van ongeacht welke waarschijnlijkheidsverdeling). De intervalafstand wordt berekend op basis van de afstand tussen het 75e en 25e percentiel.

$$\text{IQR} = 75^{\text{e}} \text{ percentiel} - 25^{\text{e}} \text{ percentiel}$$

Het percentiel is de waarde X_{pc} gekenmerkt door het feit dat de kans (P) dat de waarden van de verdeling lager liggen dan X_{pc} , kleiner is dan of gelijk is aan een bepaald honderdste en dat tegelijkertijd de kans (P) dat de waarden van de verdeling kleiner zijn dan of gelijk zijn aan X_{pc} , groter is dan of gelijk is aan het genoemde honderdste. Het honderdste geeft het in aanmerking genomen gedeelte van de verdeling weer. In het geval van de mediaan betreft het 50/100.

$$\text{Percentiel} = [P(X < X_{pc}) \leq \frac{n}{100} \wedge P(X \leq X_{pc}) \geq \frac{n}{100}]$$

Het percentiel is met andere woorden de verdelingswaarde die overeenstemt met een bepaald oppervlak dat wordt begrensd door de verdelings- of dichtheidskromme. Zo is het 25e percentiel de verdelingswaarde die overeenstemt met een oppervlak van 0,25 of 25/100.

Robuuste variatiecoëfficiënt

$$\text{RVC} = \frac{S}{Me} 100$$

RVC is een natuurlijk getal, d.w.z. zonder exponent, dat het percentage weergeeft van de variabiliteit van de onderzochte getallenreeks ten opzichte van de waarde Me van de mediaan; daarom is deze coëfficiënt zeer nuttig bij het beoordelen van de betrouwbaarheid van de panelleden.

Betrouwbaarheidsinterval van 95 % voor de mediaan

Het betrouwbaarheidsinterval (B.I.) van 95 % (foutenmarge van de eerste soort gelijk aan 0,05 of 5 %) is de marge waarbinnen de mediaan zou kunnen variëren wanneer de test een oneindig aantal keren zou worden herhaald. In de praktijk geeft dat interval de variabiliteit van de test aan in de vastgestelde omstandigheden wanneer de test een oneindig aantal keren zou worden herhaald. Het interval draagt, evenals de RVC, bij tot de beoordeling van de betrouwbaarheid van de test.

$$\text{B.I. S sup.} = Me + (c.S)$$

$$\text{B.I. S inf.} = Me - (c.S)$$

waarbij c, in het geval van het betrouwbaarheidsinterval 0,95, 1,96 bedraagt.

De oliën worden ingedeeld door de waarden van de mediaan te vergelijken met de in punt 5.3 van de bijlage vastgestelde referentieintervallen. Met de programmatuur kan de indeling visueel worden voorgesteld in de vorm van een tabel met statistische gegevens of in de vorm van een grafiek."

5. Bijlage XIV wordt geschrapt.
6. De onderstaande bijlage XIX wordt toegevoegd:

„BIJLAGE XIX

BEPALING VAN HET GEHALTE AAN ALIFATISCHE ALCOHOLEN MET BEHULP VAN CAPILLAIRE GASCHROMATOGRAFIE

1. DOEL

In deze methode wordt een werkwijze beschreven om op eenvoudige wijze het totale gehalte aan alifatische alcoholen in vetten te bepalen.

2. PRINCIPE VAN DE METHODE

De vetten, waaraan 1-icosanol als interne standaard is toegevoegd, worden verzeept met behulp van een oplossing van kaliumhydroxide in ethanol. Vervolgens worden de onverzeepbare bestanddelen geëxtraheerd met ethylether. De alcoholfractie wordt van het onverzeepbare extract gescheiden door middel van dunnelaagchromatografie met een basische silicagel als stationaire fase. De alcoholen in de silicagel worden omgezet in trimethylsilylethers en geanalyseerd door middel van gaschromatografie in een capillaire kolom.

3. APPARATUUR

- 3.1. Erlenmeyer van 250 ml met een refluxkoeler met geslepen uiteinde.
- 3.2. Scheitrechter van 500 ml.
- 3.3. Erlenmeyers van 250 ml.
- 3.4. Volledige uitrusting voor dunnelaagchromatografie, met glasplaten van 20 × 20 cm.
- 3.5. Ultraviolette lamp, met een golflengte van 366 of 254 nm.
- 3.6. Micropipetten van 100 en 500 µl.
- 3.7. Filterkroes G 3 (porositeit 15 tot 40 µm) met een diameter van ongeveer 2 cm en een hoogte van 5 cm, geschikt om onder vacuüm te filtreren en voorzien van een slijpstuk 12/21.
- 3.8. Afzuigkolf van 50 ml voorzien van een slijpstuk 12/21 waarmee deze op de filterkroes kan worden aangesloten (3.7).
- 3.9. Konisch afgeronde centrifugebuis van 10 ml, afsluitbaar.
- 3.10. Gaschromatograaf, geschikt voor het werken met een capillaire kolom, voorzien van een splitsysteem, bestaande uit:
 - 3.10.1. Een gethermostatiseerde ruimte waarmee de kolommen op de gewenste temperatuur kunnen worden gehouden met een nauwkeurigheid van ± 1 °C.
 - 3.10.2. Een temperatuurregelbare injector met een gepersilaniseerd glazen verdampingselement.
 - 3.10.3. Een vlamionisatiedetector en een versterker-/verzwakkereenheid.
 - 3.10.4. Een integrerende recorder, geschikt voor gebruik met de versterker-/verzwakkereenheid (3.10.3), met een responstijd van niet meer dan één seconde en met een variabele papersnelheid.
- 3.11. Een glazen of fused-silica capillaire kolom met een lengte van 20-30 m, inwendige diameter 0,25-0,32 mm, inwendig gecoat met SE-52- of SE-54-vloeistof of equivalent in een uniforme dikte tussen 0,10 en 0,30 µm.
- 3.12. Gaschromatografische injectiespuit van 10 µl met een geharde naald.
- 3.13. Precisiebalans met een gevoeligheid van 1 mg (af te lezen tot op 0,1 mg).

4. REAGENTIA

- 4.1. Kaliumhydroxideoplossing, ongeveer 2 N in ethanol. Los 130 g kaliumhydroxide (minimumgehalte 85 %) onder koeling op in 200 ml gedistilleerd water en vul aan tot 1 l met ethanol. Bewaar de oplossing in goed afgesloten flessen van donker glas.
- 4.2. Diëthylether, p.a.
- 4.3. Natriumsulfaat, p.a., watervrij.

- 4.4. Glazen dunnelaagplaten gecoat met kiezelgel, zonder fluorescentie-indicator, met een dikte van 0,25 mm (deze zijn gebruiksklaar in de handel te verkrijgen).
- 4.5. Kaliumhydroxideoplossing, ongeveer 0,2 N in ethanol. Los 13 g kaliumhydroxide op in 20 ml gedistilleerd water en vul met methanol aan tot 1 l.
- 4.6. Benzeen, voor chromatografische doeleinden (5.2.2).
- 4.7. Aceton, voor chromatografische doeleinden (5.2.2).
- 4.8. Hexaan, voor chromatografische doeleinden (5.2.2).
- 4.9. Ethylether, voor chromatografische doeleinden (5.2.2).
- 4.10. Chloroform, p.a.
- 4.11. Dunnelaagchromatografische referentieoplossing. Een 5 %-oplossing van een mengsel van C20-C28-alcoholen in chloroform.
- 4.12. 2,7-dichloorfluoresceïne, 0,2 % oplossing in ethanol. Deze oplossing moet licht basisch worden gemaakt door toevoeging van enkele druppels 2 N alcoholische kaliumhydroxideoplossing.
- 4.13. Pyridine, watervrij, voor chromatografische doeleinden.
- 4.14. Hexamethyldisilazaan.
- 4.15. Trimethylchloorsilaan.
- 4.16. Standaardoplossingen van de trimethylsilylethers van de C20-C28 alifatische alcoholen. Direct vóór gebruik te bereiden uit een mengsel van de zuivere alcoholen.
- 4.17. 1-eicosanol, 0,1 % (m/v) oplossing in chloroform (interne standaard).
- 4.18. Draaggas: waterstof of helium, gaschromatografisch zuiver.
- 4.19. Hulpstoffen: stikstof, gaschromatografisch zuiver.

5. WERKWIJZE

5.1. Bereiding van het onverzeepbare residu

- 5.1.1. Breng in de kolf van 250 ml met behulp van de injectiespuit van 500 µl een hoeveelheid 0,1 % 1-eicosanol-oplossing in chloroform (4.17) die overeenkomt met ongeveer 10 % van het gehalte aan alifatische alcoholen in het in bewerking te nemen monster. Bijvoorbeeld: voeg voor 5 g monster 250 µl 0,1 % 1-eicosanoloplossing toe indien het gaat om olijfolie en 1 500 µl indien het gaat om olie uit afvallen van olijven.

Damp het chloroform in een stikstofstroom in tot droog en weeg in dezelfde kolf nauwkeurig ongeveer 5 g af van het gedroogde gefiltreerde monster.

- 5.1.2. Voeg 50 ml 2 N ethanolische kaliumhydroxideoplossing toe, bevestig de refluxkoeler en verhit tot zachtjes koken op een waterbad onder voortdurend krachtig schudden totdat de verzeeping heeft plaatsgevonden (de oplossing wordt helder). Verhit verder gedurende 20 minuten, voeg dan 50 ml gedistilleerd water toe via de bovenkant van de koeler, verwijder de koeler en laat de kolf afkoelen tot ongeveer 30 °C.
- 5.1.3. Breng de inhoud van de kolf kwantitatief over in een 500 ml scheitrechter, waarbij de kolf meerdere keren wordt gespoeld met gedistilleerd water tot in totaal ongeveer 50 ml. Voeg ongeveer 80 ml diëthylether toe, schud krachtig gedurende ongeveer 30 seconden en laat uitzakken (zie opmerking 1).

Tap de waterige onderlaag af in een tweede scheitrechter. Herhaal de extractie van de waterlaag twee keer op dezelfde manier en gebruik hierbij telkens 60-70 ml ethylether.

Opmerking 1: Eventuele emulsies kunnen worden vernietigd door met een pipet kleine hoeveelheden ethylalcohol of methylalcohol toe te voegen.

- 5.1.4. Verzamel de etherextracten in een scheitrechter en was met telkens 50 ml gedistilleerd water totdat het waswater neutraal reageert.

Verwijder het waswater, droog met watervrij natriumsulfaat en filtreer over watervrij natriumsulfaat in een van tevoren gewogen 250 ml kolf, was de trechter en het filter na met kleine hoeveelheden diëthylether. Er mag ook gebruik worden gemaakt van 1-eneicosanol.

- 5.1.5. Distilleer de ether tot op enkele ml af, droog door toepassing van een kleine onderdruk of in een stikstofstroom, voltooi het droogproces in een oven bij 100 °C gedurende ongeveer een kwartier, laat afkoelen in een exsiccator en weeg.

5.2. Scheiding van de alcoholfractie

- 5.2.1. Bereiding van de basische platen: dompel de kiezelgelplaten (4.4) gedurende 10 seconden volledig in de 0,2 N ethanolische kaliumhydroxideoplossing (4.5), laat de platen gedurende twee uur in een zuurkast drogen en plaats ze ten slotte gedurende één uur in een stoof bij 100 °C.

Verwijder de platen uit de stoof en bewaar ze tot het moment van gebruik in een met calciumchloride gevulde exsiccator (de op deze manier bereide platen moeten binnen twee weken worden gebruikt).

Opmerking 2: Bij gebruik van basischekiezelgelplaten voor de scheiding van de alcoholfractie is de behandeling van het onverzeepbare residu met aluminiumoxide niet nodig. Met deze werkwijze worden alle zure stoffen (vetzuren en andere) vastgehouden op de startlijn en is de band van de alifatische- en terpeenalcoholen duidelijk van de sterolband gescheiden.

- 5.2.2. Breng in de ontwikkeltank een mengsel van hexaan/ethylether, 65:35 (v/v), tot een hoogte van ongeveer 1 cm (*).

Sluit de tank af met een geschikt deksel en laat hem gedurende ongeveer een half uur staan zodat een vloeistof/dampevenwicht kan worden bereikt. Stroken filterpapier, hangend in de loopvloeistof, kunnen tegen de binnenkant van de tank worden bevestigd. Dit bekort de benodigde ontwikkeltijd met ongeveer een derde en zorgt tevens voor een meer uniforme en regelmatige elutie van de componenten.

Opmerking 3: Bij elke bepaling dient de loopvloeistof te worden verversd om volkomen reproduceerbare elutiecondities te verwezenlijken.

- 5.2.3. Bereid een ongeveer 5 %-oplossing van het onverzeepbare residu (5.1.5) in chloroform en breng hiervan met behulp van de 100 µl injectiespuit 0,3 ml aan op 2 cm van de zijkant van de chromatografische plaat (5.2.1) in een vloeiende lijn, die zo dun en uniform mogelijk moet zijn. Breng aan één eind van de plaat op dezelfde hoogte tevens 2-3 µl aan van de alcoholreferentieoplossing (4.11) zodat de alcoholband na de ontwikkeling kan worden geïdentificeerd.

- 5.2.4. Plaats de plaat in de volgens punt 5.2.2 voorbehandelde ontwikkeltank. De omgevingstemperatuur dient te liggen tussen 15 °C en 20 °C. Sluit de tank onmiddellijk af met het deksel en laat elueren totdat het vloeistoffront tot ongeveer 1 cm van de bovenkant van de plaat is gekomen.

Verwijder de plaat uit de tank en laat de loopvloeistof in een heteluchtstroom of door de plaat gedurende korte tijd in een zuurkast te drogen, verdampen.

- 5.2.5. Besproei de plaat licht en uniform met de 2,7-dichloorfluoresceïneoplossing. De alifatische alcoholenband kan door bekijken onder ultraviolet licht worden geïdentificeerd aangezien deze op dezelfde hoogte ligt als de vlek van de referentieoplossing. Markeer de grenzen van deze band en van de band direct hierboven, die correspondeert met de triterpeenalcoholen, aan de zijkanten van de fluorescentie met een zwart potlood.

Opmerking 4: Het voorschrift om zowel de alifatische alcoholenband als de triterpeenalcoholband samen verder te verwerken, houdt verband met het feit dat aanzienlijke hoeveelheden alifatische alcoholen bij deze methode in de triterpeenalcoholband terechtkomen.

- 5.2.6. Schraap met een metalen spatel de kiezelgel in het gemarkeerde gebied af. Breng het afgeschraapte, fijngemaakte materiaal over in de filterkroes (3.7). Voeg 10 ml hete chloroform toe, meng zorgvuldig met de metalen spatel en filtreer onder vacuüm. Verzamel het filtraat in de afzuigkolf (3.8), verbonden aan de filterkroes.

Was het residu in de filterkroes driemaal met ethylether (telkens ongeveer 10 ml), vang het filtraat op in dezelfde kolf. Damp het filtraat in tot een volume van 4-5 ml, breng de resterende oplossing over in de van tevoren gewogen 10 ml centrifugebuis (3.9), damp droog door voorzichtige verwarming in een zachte stikstofstroom, voeg enkele druppels aceton toe, damp weer droog, plaats de buis gedurende ongeveer tien minuten in een oven bij 105 °C, laat afkoelen in een exsiccator en weeg.

Het in de centrifugebuis aanwezige materiaal is de alcoholfractie.

5.3. Bereiding van de trimethylsilylethers

- 5.3.1. Voeg aan de in de centrifugebuis aanwezige alcoholfractie een hoeveelheid silyleringsreagens toe, bestaande uit een mengsel van pyridine/hexamethyldisilazaan/trimethylchloorsilaan 9:3:1 (v/v/v) (zie opmerking 5), waarbij voor elke mg alcohol 50 µl wordt toegevoegd. Vermijd hierbij bevochtiging (zie opmerking 6).

Opmerking 5: Deze oplossing is kant en klaar in de handel verkrijgbaar. Andere silyleringsreagentia zijn ook bruikbaar, zoals bijvoorbeeld bistrimethylsilyltrifluoroacetamide + 1 % trimethylchloorsilaan, hetgeen moet worden verdund met een gelijk volume watervrije pyridine.

Opmerking 6: De lichte opaalachtige weerschijs die kan worden gevormd, is normaal en veroorzaakt geen storing. De vorming van witte vlokken of de verschijning van een roze kleur zijn aanwijzingen voor de aanwezigheid van vocht of van veroudering van het reagens. In deze gevallen moet opnieuw worden begonnen.

- 5.3.2. Sluit de centrifugebuis, schud voorzichtig (zonder de buis om te draaien) totdat de alcoholfractie volledig is opgelost. Laat ten minste 15 minuten staan bij kamertemperatuur en centrifugeer enkele minuten. De heldere oplossing is gereed voor de gaschromatografische analyse.

(*) In het bijzonder in deze gevallen dient een eluentmengsel benzeen/aceton 95:5 (v/v) te worden gebruikt om een goede scheiding in banden te verkrijgen.

5.4. Gaschromatografische analyse

5.4.1. Voorbereidende werkzaamheden, conditionering van de kolom

5.4.1.1. Bevestig de kolom in de gaschromatograaf, waarbij het inlaatstuk wordt aangesloten aan het splitsysteem met injector en het uiteinde aan de detector. Voer de gebruikelijke controle uit van het gaschromatografische systeem (lekken in de gasvoorziening, detectorefficiëntie, efficiëntie van het splitsysteem en van het recorder-systeem, enz.).

5.4.1.2. Indien de kolom voor de eerste keer wordt gebruikt, dient hij geconditioneerd te worden. Laat een kleine gasstroom door de kolom gaan, zet de gaschromatografische eenheid aan en verwarm geleidelijk tot een temperatuur van ten minste 20 °C boven de bij de analyse gebruikelijke temperatuur (zie opmerking 7). Houd deze temperatuur aan gedurende ten minste twee uur, stel vervolgens de hele apparatuur in gebruik (regeling van de gassnelheid en het splitsysteem, onsteking van de vlam, aansluiting van de elektronische recorder, temperatuurregeling van de kolomruimte, de detector en de injector, enz.) en registreer het signaal met een gevoeligheid die ten minste twee keer groter is dan gebruikelijk bij de analyse. De basislijn moet lineair zijn, zonder enige piek en mag niet verlopen. Een rechtlijnig negatief verloop vormt een indicatie voor lekkage bij de kolomverbindingen; een positief verloop wijst op een onvoldoende uitgevoerde conditionering van de kolom.

Opmerking 7: De temperatuur van het conditioneren moet altijd ten minste 20 °C lager zijn dan de maximumtemperatuur die voor de gebruikte stationaire fase is aangegeven.

5.4.2. Keuze van de werkomstandigheden

5.4.2.1. Als richtlijn voor de werkomstandigheden kunnen de volgende waarden dienen:

- kolomtemperatuur: acht minuten isotherm op 180 °C, opwarmen met 5 °C per minuut tot 260 °C, gedurende vijf minuten handhaven, afkoelen tot 160 °C en deze temperatuur vijf minuten handhaven;
- injectietemperatuur: 280 °C;
- detectortemperatuur: 290 °C;
- lineaire snelheid van het draaggas: helium 20-35 cm/s, waterstof 30-50 cm/s;
- splitverhouding: van 1:50 tot 1:100;
- gevoeligheid: vier tot 16 keer de minimumverzwakking;
- gevoeligheid van de recorder: 1-2 mV volle schaaluitslag;
- papiersnelheid: 30-60 cm/uur;
- injectiehoeveelheid: 0,5-1 µl TMSE-oplossing.

Deze richtlijnen dienen afhankelijk van de karakteristieken van de kolom en de gaschromatograaf zodanig te worden gekozen dat chromatogrammen worden verkregen die aan de volgende eisen voldoen:

- de retentietijd van de C₂₆-alcohol moet ongeveer 18 ± vijf minuten zijn;
- de piek van de C₂₂-alcohol moet de volgende grootte hebben: voor olijfolie 80 ± 20 % volle schaaluitslag en voor zaadoliën 40 ± 0 % volle schaaluitslag.

5.4.2.2. Voer, om de hierboven genoemde vereisten te controleren, een aantal injecties uit van oplossingen van TMSE-alcoholen en pas de omstandigheden zodanig aan dat de beste resultaten worden verkregen.

5.4.2.3. De piek-integratieparameters moeten zodanig worden gekozen dat een juiste waarde van de piekoppervlakten wordt verkregen.

5.4.3. Bepaling

5.4.3.1. Zuig in de 10 µl-injectiespuit 1 µl hexaan, 0,5 µl lucht en ten slotte 0,5-1,0 µl monsteroplossing. Trek de pluiner van de spuit zover uit dat de naald leeg is. Penetreeer met de naald het membraan van de injectie-eenheid en injecteer snel na één tot twee seconden, verwijder daarna voorzichtig na ongeveer vijf seconden de naald.

5.4.3.2. Neem het chromatogram op totdat alle aanwezige TMSE-alcoholen volledig zijn geëluëerd. De basislijn moet blijven voldoen aan de vereiste specificaties (5.4.1.2).

5.4.4. Identificatie van de pieken

Identificeer de individuele pieken op basis van de retentietijden en door vergelijking met mengsels van TMSE-alcoholen die onder dezelfde omstandigheden zijn geanalyseerd.

In figuur 1 wordt een chromatogram getoond van de alcoholfractie van een eerste persing olijfolie.

5.4.5. Berekening

5.4.5.1. Bereken met de integrator de piekoppervlakten van 1-ecosanol en de C₂₂-C₂₈ alifatische alcoholen.

5.4.5.2. Bereken het gehalte aan elke individuele alifatische alcohol in mg/1 000 g vethoudend materiaal als volgt:

$$\text{alcohol } x = \frac{A_x \cdot m_s \cdot 1\,000}{A_s \cdot m}$$

waarbij:

A_x = piekoppervlak van alcohol x;

A_s = piekoppervlak van 1-ecosanol;

m_s = gewicht van het toegevoegde 1-ecosanol, in mg;

m = gewicht van het monster voor de bepaling, in g.

6. WEERGAVE VAN DE RESULTATEN

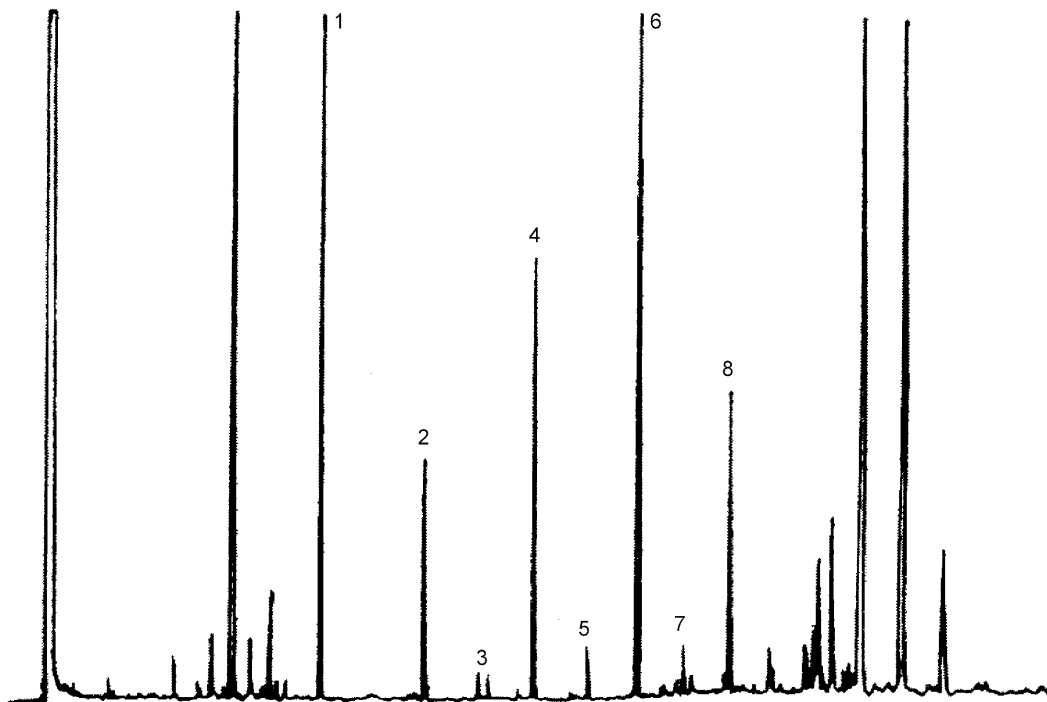
Geef de gehalten van de individuele alifatische alcoholen op in mg/1 000 g vethoudend materiaal en hun som als „totaal alifatische alcoholen”.

AANHANGSEL

Bepaling van de lineaire snelheid van het draaggas

Injecteer 1-3 µl methaan (of propaan) in de onder normale omstandigheden werkende gaschromatograaf en meet de tijd die deze stof nodig heeft om door de kolom te gaan vanaf het moment van injectie tot het verschijnen van de piek (tM).

De lineaire snelheid van het draaggas in cm/s wordt gegeven door L/t_M , waarbij L de lengte is van de kolom in centimeters en tM de gemeten tijd in seconden.



Grafiek 1 — Chromatogram van de alcoholfractie van olie van de eerste persing

1 = eicosanol	5 = pentacosanol
2 = decosanol	6 = hexacosanol
3 = tricosanol	7 = heptacosanol
4 = tetracosanol	8 = octacosanol"