

II

(Rechtsakte ohne Gesetzescharakter)

VERORDNUNGEN

VERORDNUNG (EU) Nr. 61/2011 DER KOMMISSION

vom 24. Januar 2011

zur Änderung der Verordnung (EWG) Nr. 2568/91 über die Merkmale von Olivenölen und Oliventresterölen sowie die Verfahren zu ihrer Bestimmung

DIE EUROPÄISCHE KOMMISSION —

gestützt auf den Vertrag über die Arbeitsweise der Europäischen Union,

gestützt auf die Verordnung (EG) Nr. 1234/2007 des Rates vom 22. Oktober 2007 über eine gemeinsame Organisation der Agrarmärkte und mit Sondervorschriften für bestimmte landwirtschaftliche Erzeugnisse (Verordnung über die einheitliche GMO) ⁽¹⁾, insbesondere auf Artikel 113 Absatz 1 Buchstabe a und Artikel 121 Buchstabe h in Verbindung mit Artikel 4,

in Erwägung nachstehender Gründe:

- (1) In der Verordnung (EG) Nr. 2568/91 der Kommission ⁽²⁾ sind die physikalischen und chemischen Merkmale von Olivenölen und Oliventresterölen sowie die Verfahren zur Bestimmung dieser Merkmale festgelegt. Diese Verfahren sowie die Grenzwerte für die Merkmale von Olivenölen müssen unter Berücksichtigung des Gutachtens von Chemie-Sachverständigen und im Einklang mit den Arbeiten im Rahmen des Internationalen Olivenölrats aktualisiert werden.
- (2) Da die Chemie-Sachverständigen der Auffassung sind, dass der Gehalt an Fettsäureethylestern (FAEE) und Fettsäuremethylestern (FAME) ein geeigneter Parameter für die Qualität von nativem Olivenöl extra ist, empfiehlt es sich, Grenzwerte für diese Ester sowie ein Verfahren für die Bestimmung ihres Gehalts festzulegen.
- (3) Im Interesse des reibungslosen Übergangs zur neuen Regelung und bis alle für die Anwendung der Regelung erforderlichen Mittel bereitstehen, sollten, auch um den Handel nicht zu beeinträchtigen, die mit dieser Verordnung eingeführten Änderungen erst ab 1. April 2011 gelten. Aus denselben Gründen ist vorzusehen, dass Olivenöle und Oliventresteröle, die vor dem genannten Zeitpunkt rechtmäßig in der Union hergestellt und etikettiert oder rechtmäßig in die Union eingeführt und in den freien Verkehr übergeführt werden, in Verkehr gebracht werden dürfen, bis die Lagerbestände verbraucht sind.

- (4) Die Verordnung (EWG) Nr. 2568/91 sollte daher entsprechend geändert werden.
- (5) Die in dieser Verordnung vorgesehenen Maßnahmen entsprechen der Stellungnahme des Verwaltungsausschusses für die gemeinsame Organisation der Agrarmärkte —

HAT FOLGENDE VERORDNUNG ERLASSEN:

Artikel 1

Die Verordnung (EWG) Nr. 2568/91 wird wie folgt geändert:

- 1) Dem Artikel 2 Absatz 1 wird folgender Gedankenstrich angefügt:
„— Gehalt an Wachsen, Fettsäuremethylestern und Fettsäureethylestern durch Kapillargaschromatographie nach dem Verfahren des Anhangs XX.“
- 2) Dem Inhaltsverzeichnis der Anhänge wird Folgendes angefügt:
„Anhang XX: Verfahren für die Bestimmung des Gehalts an Wachsen, Fettsäuremethylestern und Fettsäureethylestern durch Kapillargaschromatographie“
- 3) Anhang I erhält die Fassung des Anhangs I der vorliegenden Verordnung.
- 4) Anhang XX wird gemäß Anhang II der vorliegenden Verordnung angefügt.

Artikel 2

Erzeugnisse, die vor dem 1. April 2011 rechtmäßig in der Union hergestellt und etikettiert oder in die Union eingeführt und in den freien Verkehr übergeführt werden, dürfen in Verkehr gebracht werden, bis die Lagerbestände verbraucht sind.

⁽¹⁾ ABl. L 299 vom 16.11.2007, S. 1.

⁽²⁾ ABl. L 248 vom 5.9.1991, S. 1.

Artikel 3

Diese Verordnung tritt am dritten Tag nach ihrer Veröffentlichung im *Amtsblatt der Europäischen Union* in Kraft.

Sie gilt ab dem 1. April 2011.

Diese Verordnung ist in allen ihren Teilen verbindlich und gilt unmittelbar in jedem Mitgliedstaat.

Brüssel, den 24. Januar 2011

Für die Kommission

Der Präsident

José Manuel BARROSO

MERKMALE VON OLIVENÖLEN

Kategorie	Fettsäuremethylester (FAME) und Fettsäureethylester (FAEE)	Säuregehalt (%) (*)	Peroxidzahl meq O ₂ /kg (*)	Wachse mg/kg (**)	2 Glycerinmonopalmitat (%)	Stigmastadien mg/kg (1)	ECN42-Differenz zwischen HPLC-Messwert und theoretischer Berechnung	K ₂₃₂ (*)	K ₂₇₀ (*)	Delta-K (*)	Sensorische Prüfung Fehlermedian (Md) (*)	Sensorische Prüfung Fruchtigkeitsmedian (Mf) (*)
1. Natives Olivenöl extra	Σ FAME + FAEE \leq 75 mg/kg oder 75 mg/kg $<$ Σ FAME + FAEE \leq 150 mg/kg und (FAEE/FAME) \leq 1,5	\leq 0,8	\leq 20	\leq 250	\leq 0,9 wenn Gesamtgehalt an Palmitinsäure \leq 14 % \leq 1,0 wenn Gesamtgehalt an Palmitinsäure $>$ 14 %	\leq 0,10	\leq 0,2	\leq 2,50	\leq 0,22	\leq 0,01	Md = 0	Mf $>$ 0
2. Natives Olivenöl	—	\leq 2,0	\leq 20	\leq 250	\leq 0,9 wenn Gesamtgehalt an Palmitinsäure \leq 14 % \leq 1,0 wenn Gesamtgehalt an Palmitinsäure $>$ 14 %	\leq 0,10	\leq 0,2	\leq 2,60	\leq 0,25	\leq 0,01	Md \leq 3,5	Mf $>$ 0
3. Lampantöl	—	$>$ 2,0	—	\leq 300 - (3)	\leq 0,9 wenn Gesamtgehalt an Palmitinsäure \leq 14 % \leq 1,1 wenn Gesamtgehalt an Palmitinsäure $>$ 14 %	\leq 0,50	\leq 0,3	—	—	—	Md $>$ 3,5 (2)	—
4. Raffiniertes Olivenöl	—	\leq 0,3	\leq 5	\leq 350	\leq 0,9 wenn Gesamtgehalt an Palmitinsäure \leq 14 % \leq 1,1 wenn Gesamtgehalt an Palmitinsäure $>$ 14 %	—	\leq 0,3	—	\leq 1,10	\leq 0,16	—	—
5. Olivenöl - bestehend aus raffinierten und nativen Olivenölen	—	\leq 1,0	\leq 15	\leq 350	\leq 0,9 wenn Gesamtgehalt an Palmitinsäure \leq 14 % \leq 1,0 wenn Gesamtgehalt an Palmitinsäure $>$ 14 %	—	\leq 0,3	—	\leq 0,90	\leq 0,15	—	—
6. Rohes Oliventresteröl	—	—	—	$>$ 350 - (4)	\leq 1,4	—	\leq 0,6	—	—	—	—	—
7. Raffiniertes Oliventresteröl	—	\leq 0,3	\leq 5	$>$ 350	\leq 1,4	—	\leq 0,5	—	\leq 2,00	\leq 0,20	—	—
8. Oliventresteröl	—	\leq 1,0	\leq 15	$>$ 350	\leq 1,2	—	\leq 0,5	—	\leq 1,70	\leq 0,18	—	—

(1) Summe der mittels Kapillarsäure (nicht) abtrennbaren Isomere.

(2) Oder wenn der Fehlermedian höchstens 3,5 beträgt oder der Fruchtigkeitsmedian gleich 0 ist.

(3) Öl mit einem Wachsegehalt zwischen 300 mg/kg und 350 mg/kg wird als Lampantöl eingestuft, wenn der Gesamtgehalt an aliphatischen Alkoholen höchstens 350 mg/kg oder der Gehalt an Erythrodiol und Uvaol höchstens 3,5 % beträgt.

(4) Öl mit einem Wachsegehalt zwischen 300 mg/kg und 350 mg/kg wird als rohes Oliventresteröl eingestuft, wenn der Gesamtgehalt an aliphatischen Alkoholen höchstens 350 mg/kg oder der Gehalt an Erythrodiol und Uvaol über 3,5 % beträgt.

Kategorie	Gehalt an Fettsäuren ⁽¹⁾						Summe trans-Isomere Ölsäure (%)	Summe trans-Isomere Linol- und Linolensäure (%)	Zusammensetzung der Sterine						Sterine insgesamt (mg/kg)	Erythrodiol und Uvaol (%) (**)
	Myristinsäure (%)	Linolensäure (%)	Arachninsäure (%)	Eicosensäure (%)	Behensäure (%)	Lignocerinensäure (%)			Cholesterin (%)	Brassicasterin (%)	Campesterin (%)	Stigmasterin (%)	Beta-Sitosterin (%) ⁽²⁾	Delta-7-Stigmasterin (%)		
1. Natives Olivenöl extra	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
2. Natives Olivenöl	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
3. Lampantöl	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,10	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5 ⁽³⁾
4. Raffiniertes Olivenöl	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
5. Olivenöl - bestehend aus raffinierten und nativen Olivenölen	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
6. Rohes Oliventresteröl	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,20	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 2 500	> 4,5 ⁽⁴⁾
7. Raffiniertes Oliventresteröl	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 800	> 4,5
8. Oliventresteröl	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 600	> 4,5

⁽¹⁾ Gehalt an anderen Fettsäuren (%): Palmitinsäure: 7,5 - 20,0; Palmitoleinsäure: 0,3 - 3,5; Heptadecansäure: ≤ 0,3; Heptadecensäure: ≤ 0,3; Stearinsäure: 0,5 - 5,0; Ölsäure: 55,0 - 83,0; Linolsäure: 3,5 - 21,0

⁽²⁾ Summe aus Delta-5,23-Stigmastadienol+Clerosterin+Beta-Sitosterin+Sitostanol+Delta-5-Avenasterin+Delta-5,24-Stigmastadienol.

⁽³⁾ Öl mit einem Wachsgehalt zwischen 300 mg/kg und 350 mg/kg wird als Lampantöl eingestuft, wenn der Gesamtgehalt an aliphatischen Alkoholen höchstens 350 mg/kg oder der Gehalt an Erythrodiol und Uvaol höchstens 3,5 % beträgt.

⁽⁴⁾ Öl mit einem Wachsgehalt zwischen 300 mg/kg und 350 mg/kg wird als rohes Oliventresteröl eingestuft, wenn der Gesamtgehalt an aliphatischen Alkoholen über 350 mg/kg oder der Gehalt an Erythrodiol und Uvaol über 3,5 % beträgt.

Anmerkungen:

- a) Die Analyseergebnisse müssen bis auf die gleiche Anzahl Dezimalstellen angegeben werden wie die für jedes Merkmal vorgesehenen Werte.
Beträgt die nächstfolgende Dezimalstelle über 4, so ist die angegebene letzte Stelle hinter dem Komma aufzurunden.
- b) Auch wenn nur ein einziges Merkmal nicht mit dem vorgesehenen Grenzwert übereinstimmt, muss das Öl einer anderen Kategorie zugeordnet werden oder als nicht seinen Reinheitskriterien entsprechend erklärt werden.
- c) Die mit einem Sternchen (*) gekennzeichneten Ölqualitätsmerkmale bedeuten:
— im Falle von Lampantöl, dass die betreffenden Grenzwerte nicht alle gleichzeitig erfüllt werden müssen;
— im Falle nativer Olivenöle, dass die Nichterfüllung des Grenzwerts auch nur eines einzigen Merkmals eine Umstufung innerhalb der Kategorie der nativen Olivenöle zur Folge hat.
- d) Die mit zwei Sternchen (**) gekennzeichneten Ölqualitätsmerkmale bedeuten im Fall der betreffenden Oliventresteröle, dass die jeweiligen Grenzwerte nicht alle gleichzeitig erfüllt werden müssen.“

ANHANG II

„ANHANG XX

Verfahren für die Bestimmung des Gehalts an Wachsen, Fettsäuremethylestern und Fettsäureethylestern durch Kapillargaschromatographie

1. ZWECK

Dieses Verfahren dient der Bestimmung des Gehalts an Wachsen, Fettsäuremethylestern und Fettsäureethylestern in Olivenölen. Die einzelnen Wachse und Alkylester werden nach der Zahl der Kohlenstoffatome getrennt. Das Verfahren wird empfohlen als Instrument für die Unterscheidung zwischen Olivenöl und Oliventresteröl sowie als Qualitätsparameter für native Olivenöle extra, indem es die Feststellung von betrügerischen Mischungen aus nativen Olivenölen extra und Ölen minderwertiger Qualität ermöglicht, unabhängig davon, ob es sich dabei um native Öle, Lampantöle oder desodorierte Öle handelt.

2. PRINZIP

Das Öl wird mit einem geeigneten internen Standard versetzt und chromatographisch über eine Kieselgelsäule fraktioniert. Die unter Versuchsbedingungen eluierte Fraktion (mit schwächerer Polarität als Triacylglycerine) wird rückgeführt und sofort kapillargaschromatographisch analysiert.

3. GERÄTE

3.1. **Erlenmeyerkolben, 25 ml**

3.2. **Glassäule** für Flüssigchromatographie, Innendurchmesser 15 mm, Länge 30-40 cm, mit geeignetem Absperrhahn.

3.3. **Gaschromatograph**, geeignet für die Verwendung von Kapillarsäulen, mit Direkteinspritzung, bestehend aus:

3.3.1. **Thermostatregelbarer Ofen mit Temperaturprogrammierung**

3.3.2. **Kalteinspritzsystem** zur Direktaufgabe der Probe auf die Säule

3.3.3. **Flammenionisations-Detektor mit Verstärker**

3.3.4. **Integrator mit Schreiber** (Anmerkung 1) zur Verwendung mit dem Verstärker (3.3.3), Ansprechzeit max. 1 Sekunde, variabler Papiervorschub

Anmerkung 1: Es können auch Informatiksysteme verwendet werden, bei denen die GC-Daten mittels PC erfasst werden.

3.3.5. **Kapillarsäule, Quarzglas (für die Analyse der Wachse sowie der Methyl- und Ethylester)**, Länge 8-12 m, Innendurchmesser 0,25-0,32 mm, Innenwand belegt mit Trennflüssigkeit (Anmerkung 2), gleichmäßige Schichtdicke zwischen 0,10 und 0,30 µm.

Anmerkung 2: Geeignete Trennflüssigkeiten vom Typ SE52, SE54 usw. sind im Handel erhältlich.

3.4. **Mikroliterspritze**, 10 µl, zur Direkteinspritzung in die Säule, mit gehärteter Nadel

3.5. **Elektorrührwerk**3.6. **Rotationsverdampfer**3.7. **Muffelofen**

3.8. **Analysenwaage** mit einer Messgenauigkeit von ± 0,1 mg

3.9. Übliche Laborgeräte

4. REAGENZIEN

4.1. **Kieselgel**, 60-200 µm mesh. Das Kieselgel im Muffelofen mindestens vier Stunden lang auf eine Temperatur von 500 °C erhitzen und nach dem Abkühlen mit 2 % Wasser, bezogen auf die verwendete Menge Kieselgel, versetzen. Durch gründliches Schütteln homogenisieren. Vor Gebrauch mindestens 12 Stunden im Exsikkator aufbewahren.

4.2. **n-Hexan**, für die Chromatographie oder Rückstandsanalyse (die Reinheit muss überprüft werden).

ACHTUNG - Die Dämpfe können sich entzünden. Von Wärmequellen, Funken oder offenem Feuer fernhalten. Die Flaschen müssen immer fest verschlossen sein. Bei der Verwendung ist für ausreichende Belüftung zu sorgen. Entstehung von Dämpfen verhindern und alle möglichen Geräte, von denen ein Brandrisiko ausgehen kann, z. B. nicht aus nicht entflammaren Werkstoffen hergestellte Heizgeräte oder elektrische Geräte, entfernen. Schädlich beim Einatmen, da Nervenzellen geschädigt werden können. Dämpfe nicht einatmen. Erforderlichenfalls ein geeignetes Atemschutzgerät benutzen. Berührung mit den Augen und der Haut vermeiden.

4.3. Ethylether, für die Chromatographie

ACHTUNG - Leichtentzündlich und mäßig toxisch. Reizt die Haut. Schädlich beim Einatmen. Kann die Augen schädigen. Die Wirkungen können mit Verzögerung eintreten. Der Stoff kann explosionsfähige Peroxide bilden. Die Dämpfe können sich entzünden. Von Wärmequellen, Funken oder offenem Feuer fernhalten. Die Flaschen müssen immer fest verschlossen sein. Bei der Verwendung ist für ausreichende Belüftung zu sorgen. Entstehung von Dämpfen verhindern und alle möglichen Geräte, von denen ein Brandrisiko ausgehen kann, z. B. nicht aus nicht entflammaren Werkstoffen hergestellte Heizgeräte oder elektrische Geräte, entfernen. Nicht bis zur Trockne oder fast bis zur Trockne eindampfen. Die Peroxidbildung kann durch Zugabe von Wasser oder eines geeigneten Reduktionsmittels verringert werden. Nicht trinken. Dämpfe nicht einatmen. Längere oder wiederholte Berührung mit der Haut vermeiden.

4.4. n-Heptan, für die Chromatographie, oder Iso-Octan

ACHTUNG - Entzündlich. Schädlich beim Einatmen. Von Wärmequellen, Funken oder offenem Feuer fernhalten. Die Flaschen müssen immer fest verschlossen sein. Bei der Verwendung ist für ausreichende Belüftung zu sorgen. Dämpfe nicht einatmen. Längere oder wiederholte Berührung mit der Haut vermeiden.

4.5. Standardlösung aus Laurylarachidat (Anmerkung 3) 0,05 % (m/v) in Heptan (interner Standard für Wachse)

Anmerkung 3: Es kann auch Palmitylpalmitat, Myristylstearat oder Arachidyllaureat verwendet werden.

4.6. Standardlösung aus Methylheptadecanoat, 0,02 % (m/v) in Heptan (interner Standard für Methyl- und Ethylester)

4.7. Sudan 1 (1-Phenylazo-2-naphthol)

4.8. Trägergas: Wasserstoff oder Helium, rein, für die Gaschromatographie

ACHTUNG

Wasserstoff: Leichtentzündlich, unter Druck. Von Wärmequellen, Funken, offenem Feuer oder elektrischen Geräten, die nicht aus nicht entflammaren Werkstoffen hergestellt sind, fernhalten. Flaschenventil immer geschlossen halten, wenn das Gas nicht verwendet wird. Immer mit einem Druckregler verwenden. Vor dem Öffnen des Flaschenventils die Einstellfeder lockern. Beim Öffnen des Ventils nicht vor der Austrittsöffnung der Flasche stehen. Bei der Verwendung ist für ausreichende Belüftung zu sorgen. Wasserstoff nicht von einer Flasche in eine andere umfüllen. Gas nicht in der Flasche mischen. Die Flaschen gegen Umfallen sichern. Von Sonneneinstrahlung und Wärmequellen fernhalten. In korrosionsfreier Umgebung lagern. Keine beschädigten oder unetikettierten Flaschen verwenden.

Helium: Verdichtetes Gas unter hohem Druck. Es verringert die zum Atmen zur Verfügung stehende Menge Sauerstoff. Flasche geschlossen halten. Bei der Verwendung ist für ausreichende Belüftung zu sorgen. Lagerbereiche nur betreten, wenn sie ordnungsgemäß belüftet werden. Immer mit einem Druckregler verwenden. Vor dem Öffnen des Flaschenventils die Einstellfeder lockern. Gas nicht von einer Flasche in eine andere umfüllen. Die Flaschen gegen Umfallen sichern. Beim Öffnen des Ventils nicht vor der Austrittsöffnung der Flasche stehen. Von Sonneneinstrahlung und Wärmequellen fernhalten. In korrosionsfreier Umgebung lagern. Keine beschädigten oder unetikettierten Flaschen verwenden. Nicht einatmen. Nur für technische Zwecke verwenden.

4.9. **Hilfsgase:**

- Wasserstoff, rein, für die Gaschromatographie
- Luft, rein, für die Gaschromatographie

ACHTUNG

Luft: Verdichtetes Gas unter hohem Druck. In Gegenwart von brennbaren Stoffen vorsichtig verwenden, da bei den meisten organischen Verbindungen die Selbstentzündungstemperatur an der Luft unter hohem Druck erheblich niedriger ist. Flaschenventil immer geschlossen halten, wenn das Gas nicht verwendet wird. Immer einen Druckregler verwenden. Vor dem Öffnen des Flaschenventils die Einstellfeder lockern. Beim Öffnen des Ventils nicht vor der Austrittsöffnung der Flasche stehen. Gas nicht von einer Flasche in eine andere umfüllen. Gas nicht in der Flasche mischen. Die Flaschen gegen Umfallen sichern. Von Sonneneinstrahlung und Wärmequellen fernhalten. In korrosionsfreier Umgebung lagern. Keine beschädigten oder unetikettierten Flaschen verwenden. Für technische Zwecke bestimmte Luft darf nicht eingeatmet oder für Atemschutzgeräte verwendet werden.

5. VERFAHREN

5.1. **Vorbereiten der Chromatographiesäule**

15 g Kieselgel (4.1) in n-Hexan (4.2) suspendieren und in die Säule (3.2) aufgeben. Nach der Spontansedimentation mit einem Elektrorührwerk nachbehandeln, um eine möglichst homogene Chromatographieschicht zu erzielen, und zur Entfernung etwa enthaltener Verunreinigungen mit 30 ml n-Hexan spülen. Mit Hilfe der Analysenwaage (3.8) genau 500 g der Probe in den 25-ml-Erlenmeyerkolben (3.1) einwiegen und entsprechend dem vermuteten Wachsgehalt mit der geeigneten Menge interner Standardlösung (4.5) versetzen. So werden bei Olivenöl 0,1 mg Laurylarachidat, bei Oliventresteröl 0,25 bis 0,50 mg und für Olivenöle 0,05 mg Methylheptadecanoat (4.6) zugesetzt.

Die derart gewonnene Probe unter Verwendung von je zwei Teilen 2 ml n-Hexan (4.2) in die gemäß Chromatographiesäule überführen.

Das Lösungsmittel bis zu einem Stand von 1 mm über der oberen Absorbensgrenzfläche ablaufen lassen. Weiter mit n-Hexan/Ethylether (99:1) spülen und 220 ml bei einem Durchsatz von etwa 15 Tropfen/10 Sekunden auffangen. (**Diese Fraktion enthält die Methyl- und Ethylester sowie die Wachse**). (Anmerkung 4) (Anmerkung 5).

Anmerkung 4: Das n-Hexan/Ethylethergemisch (99:1) sollte jeden Tag frisch zubereitet werden.

Anmerkung 5: Für eine visuelle Kontrolle der Elution der Wachse können der gelösten Probe 100 µl Sudan I (1 % im Elutionsmittel) zugesetzt werden.

Die Retentionszeit des Farbstoffs liegt zwischen der der Wachse und der der Triacylglycerine. Wenn der Farbstoff das Ende der Säule erreicht, sind daher alle Wachse eluiert und die Elution kann beendet werden.

Die derart gewonnenen Fraktionen im Rotationsverdampfer so lange trocknen, bis das Lösungsmittel nahezu restlos verdampft ist, wobei die letzten 2 ml im schwachen Stickstoffstrom abgeblasen werden. Die Fraktion, die die Methyl- und Ethylester enthält, wird mithilfe von 2-4 ml n-Heptan oder Iso-Octan als Verdünnungslösungsmittel aufgefangen.

5.2. **Gaschromatographische Analyse**

5.2.1. *Vorarbeiten*

Die Säule in den Gaschromatographen (3.3) einsetzen, wobei der Säulenanfang an das On-column-System und das Säulenende an den Detektor angeschlossen wird. Den Gaschromatographen auf Dichtigkeit der Gasleitungen, Betriebsbereitschaft des Detektors und des Schreibers usw. überprüfen.

Wird die Säule zum ersten Mal verwendet, wird empfohlen, sie einzufahren. Einen schwachen Gasstrom durch die Säule leiten, den Gaschromatographen einschalten und allmählich über einen Zeitraum von etwa 4 Stunden auf eine Temperatur von 350 °C aufheizen.

Die Temperatur ist mindestens 2 Stunden konstant zu halten; dann die Analysebedingungen einstellen (Gasstrom, Zünden der Flamme, Anschluss an den elektronischen Schreiber (3.3.4), Säulenofentemperatur, Detektor usw.). Das Signal mit einer Empfindlichkeit aufzeichnen, die mindestens doppelt so groß ist wie bei Durchführung der Analyse. Die Grundlinie muss linear verlaufen, ohne Peaks oder Drift.

Eine negative geradlinige Drift ist ein Indiz für einen fehlerhaften Anschluss der Säule, eine positive Drift deutet auf ein mangelhaftes Einfahren der Säule hin.

5.2.2. Wahl der Arbeitsbedingungen für Wachse sowie Methyl- und Ethylester (Anmerkung 6)

Anhaltspunkte für die Arbeitsbedingungen:

— Säulentemperatur:

20 °C/min 5 °C/min

80 °C Ausgangstemperatur (1') ——— 140 °C ——— 335 °C (20)

— Detektortemperatur: 350 °C.

— Einspritzvolumen: 1 µl der n-Heptanlösung (2-4 ml)

— Trägergas: Helium oder Wasserstoff mit der für das gewählte Gas optimalen linearen Strömungsgeschwindigkeit (vgl. Anlage A)

— Geräteempfindlichkeit, die den genannten Bedingungen genügt.

Anmerkung 6: Wegen der hohen Endtemperatur ist eine positive Drift von höchstens 10 % der Skala zulässig.

Diese Bedingungen können je nach Beschaffenheit der Säule und des Gaschromatographen abgewandelt werden, damit eine Trennung aller Wachse und Fettsäuremethylester und -ethylester sowie eine ausreichende Auflösung der Peaks (siehe Abbildungen 2, 3 und 4) erzielt werden. Die Retentionszeit des internen Standards Laurylarachidat muss 18 ± 3 Minuten betragen, der größte Wachspeak muss mindestens 60 % des Vollausschlags erreichen und der interne Standard Methylheptadecanoat für die Methyl- und Ethylester muss den Vollausschlag erreichen.

Die Parameter für die Peakintegration sind so zu wählen, dass die in Betracht kommenden Peakflächen korrekt bewertet werden.

5.3. Durchführung der Analyse

Mit der 10-µl-Mikroliterspritze 10 µl Probelösung aufziehen und dabei den Kolben der Spritze so weit einziehen, bis die Nadel leer ist. Die Nadel in das Einspritzsystem einführen, nach 1-2 Sekunden schnell einspritzen, dann nach etwa 5 Sekunden die Nadel langsam herausziehen.

Das Chromatogramm aufzeichnen, bis je nach analysierter Fraktion alle Wachse oder Stigmastadiene eluiert sind.

Die Grundlinie muss stets den vorgeschriebenen Anforderungen genügen.

5.4. Identifizierung der Peaks

Die Peakflächen anhand der Retentionszeiten durch Vergleich mit Wachsgemischen identifizieren, deren Retentionszeiten bekannt sind und die unter denselben Bedingungen analysiert wurden. Die Alkylester werden anhand von Mischungen von Methyl- und Ethylestern der wichtigsten Fettsäuren in Olivenölen (Palmitinsäure und Ölsäure) identifiziert.

Abbildung 1 zeigt ein Chromatogramm der Wachse in einem nativen Olivenöl. Die Abbildungen 2 und 3 zeigen Chromatogramme von zwei nativen Olivenölen extra aus dem Einzelhandel, eines mit Methyl- und Ethylestern, das andere ohne. Abbildung 4 zeigt die Chromatogramme eines nativen Olivenöls extra höchster Qualität und des gleichen Öls, das mit 20 % desodoriertem Öl versetzt ist.

5.5. Quantitative Analyse der Wachse

Die Peakflächen des internen Standards Laurylarachidat und der aliphatischen C₄₀- bis C₄₆-Ester werden mit Hilfe eines Integrators ermittelt.

Der Gesamtwachsgehalt wird durch Addition jedes einzelnen Wachses, in mg/kg Fett, wie folgt bestimmt:

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

Dabei ist:

A_x = Peakfläche jedes einzelnen Esters in Computer Counts

A_s = Peakfläche des internen Standards Laurylarachidat in Computer Counts

m_s = Masse des zugegebenen internen Standards Laurylarachidat in mg;

m = Masse der für die Bestimmung entnommenen Probe in g.

5.5.1. Quantitative Analyse der Methyl- und Ethylester

Die Peakflächen des internen Standards Methylheptadecanoat, der Methylester der C₁₆- und C₁₈-Fettsäuren und der Ethylester der C₁₆- und C₁₈-Fettsäuren werden mithilfe eines Integrators bestimmt.

Der Gehalt jedes Alkylesters in mg/kg Fett wird wie folgt bestimmt:

$$\text{Ester, mg/kg} = \frac{A_x \cdot m_s \cdot 1\,000}{A_s \cdot m}$$

Dabei ist:

A_x = Peakfläche der einzelnen C₁₆- und C₁₈-Ester in Computer Counts

A_s = Peakfläche des internen Standards Methylheptadecanoat in Computer Counts

m_s = Masse des zugegebenen internen Standards Methylheptadecanoat in mg;

m = Masse der für die Bestimmung entnommenen Probe in g.

6. DARSTELLUNG DER ERGEBNISSE

Die Summe der Gehalte an den einzelnen Wachsen von C₄₀ bis C₄₆ (*Anmerkung 7*) wird in mg/kg Fett angegeben.

Die Summe der Gehalte der Methyl- und der Ethylester von C₁₆ bis C₁₈ sowie die Summe der beiden angeben.

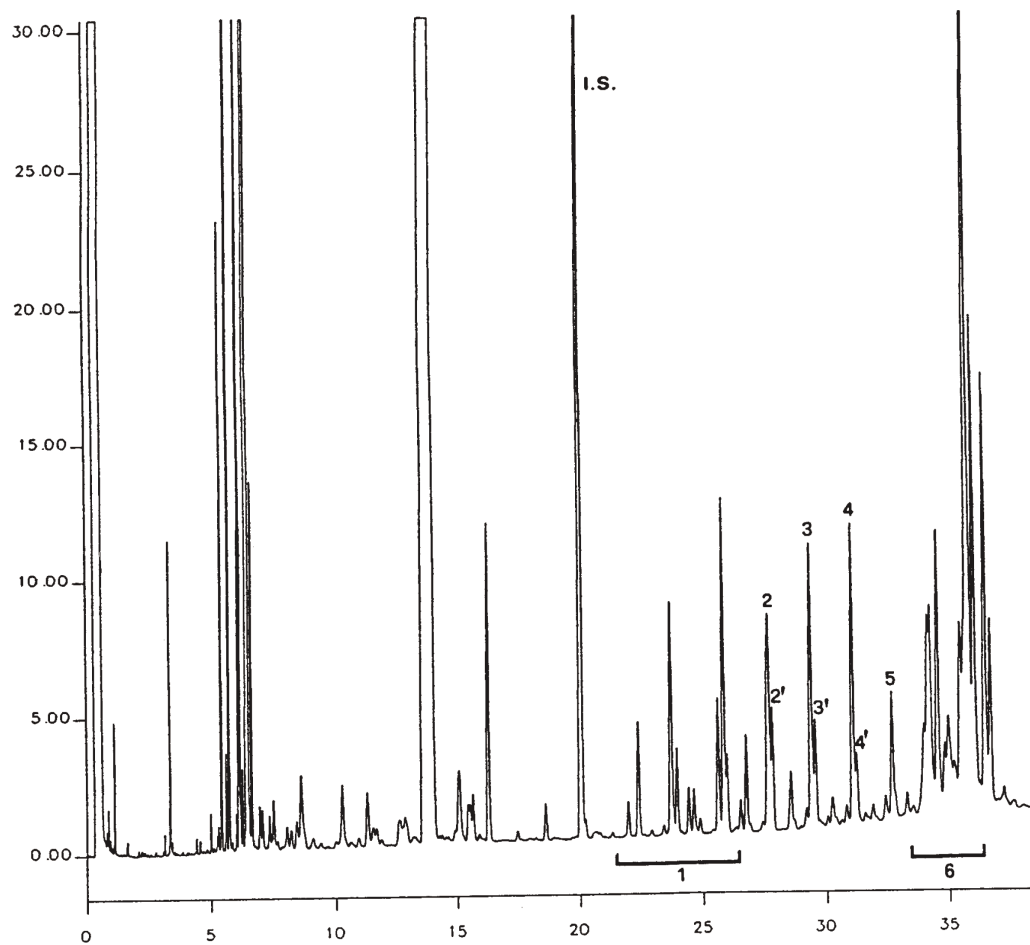
Die Ergebnisse sind auf das nächste mg/kg zu runden.

Anmerkung 7: Die mengenmäßig zu bestimmenden Bestandteile sind an den Peaks der Ester mit gerader Kohlenstoffzahl von C₄₀ bis C₄₆ abzulesen, wie als Beispiel im nachstehenden Chromatogramm der Wachse von Olivenöl dargestellt. Wenn der C₄₆-Ester doppelt erscheint, ist zur Identifizierung die Wachsfraktion eines Oliventrestereöls zu analysieren, bei dem der C₄₆-Peak deutlich überwiegt und daher leicht zu erkennen ist.

Das Verhältnis zwischen Ethylestern und Methylestern angeben.

Abbildung 1

Beispiel eines Gaschromatogramms der Wachsfraktion eines Olivenöls (*)



Peaks mit einer Retentionszeit der Fettsäuremethyl- und -ethylester von 5-8 Minuten.

Erläuterung:

I.S. = Laurylarachidat

1 = Diterpenester

2+2' = C₄₀-Ester

3+3' = C₄₂-Ester

4+4' = C₄₄-Ester

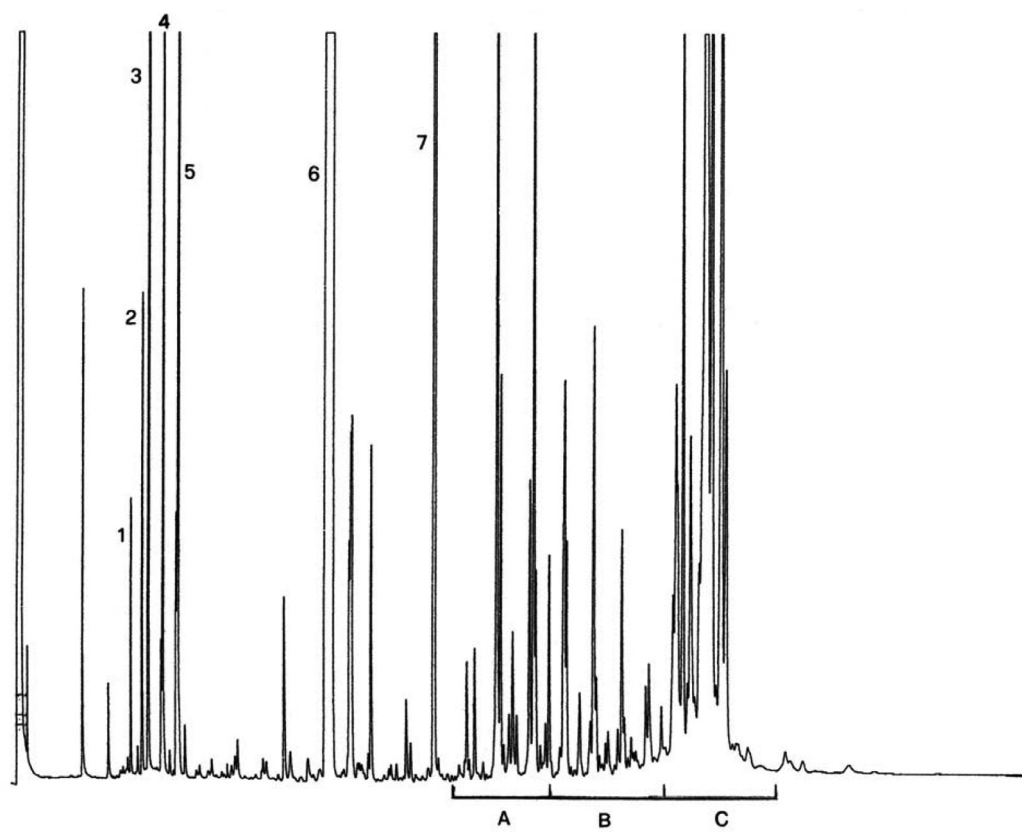
5 = C₄₆-Ester

6 = Sterolester und Triterpenalkohole

(*) Nach der Elution der Sterolester darf das Chromatogramm keine signifikanten Peaks aufweisen (Triacylglycerine).

Abbildung 2

Methylester, Ethylester und Wachse in einem nativen Olivenöl

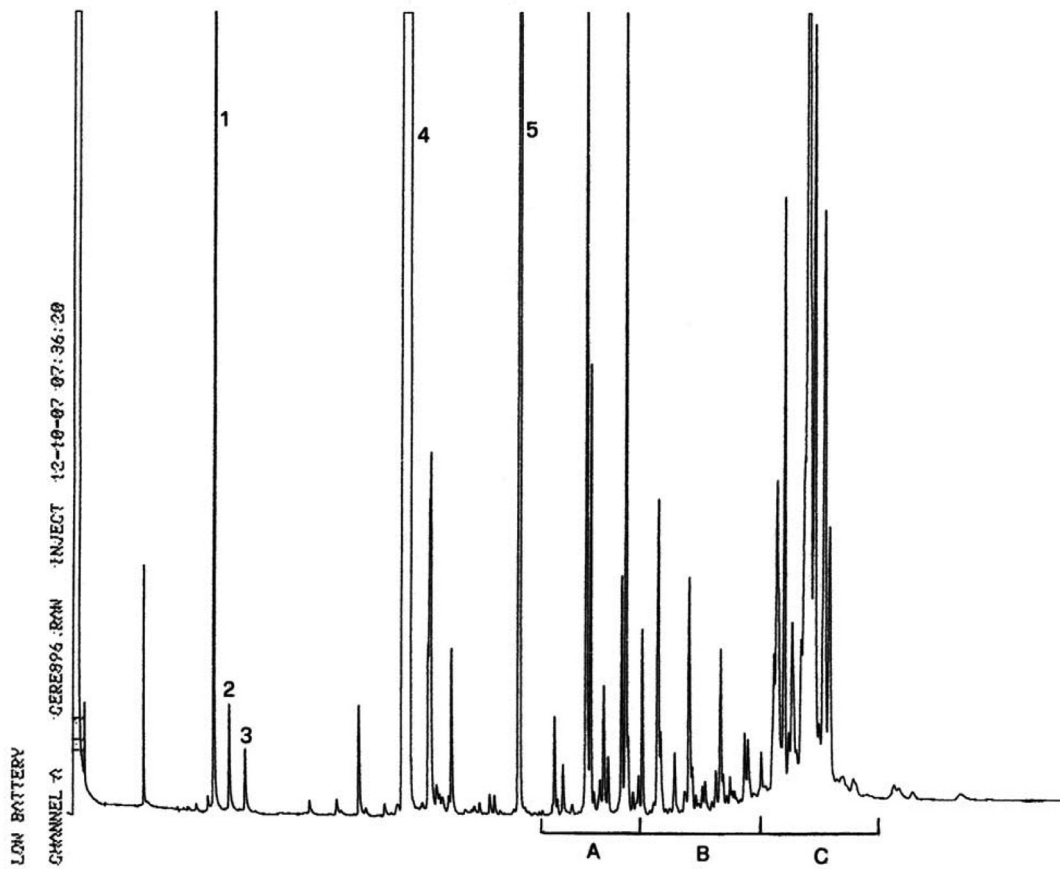


Erläuterung:

- 1 – Methyl C₁₆
- 2 – Ethyl C₁₆
- 3 – Methylheptadecanoat I.S.
- 4 – Methyl C₁₈
- 5 – Ethyl C₁₈
- 6 – Squalen
- 7 – Laurylarachidat I.S.
- A – Diterpenester
- B – Wachse
- C – Sterolester und Triterpenester

Abbildung 3

Methylester, Ethylester und Wachse in einem nativen Olivenöl extra

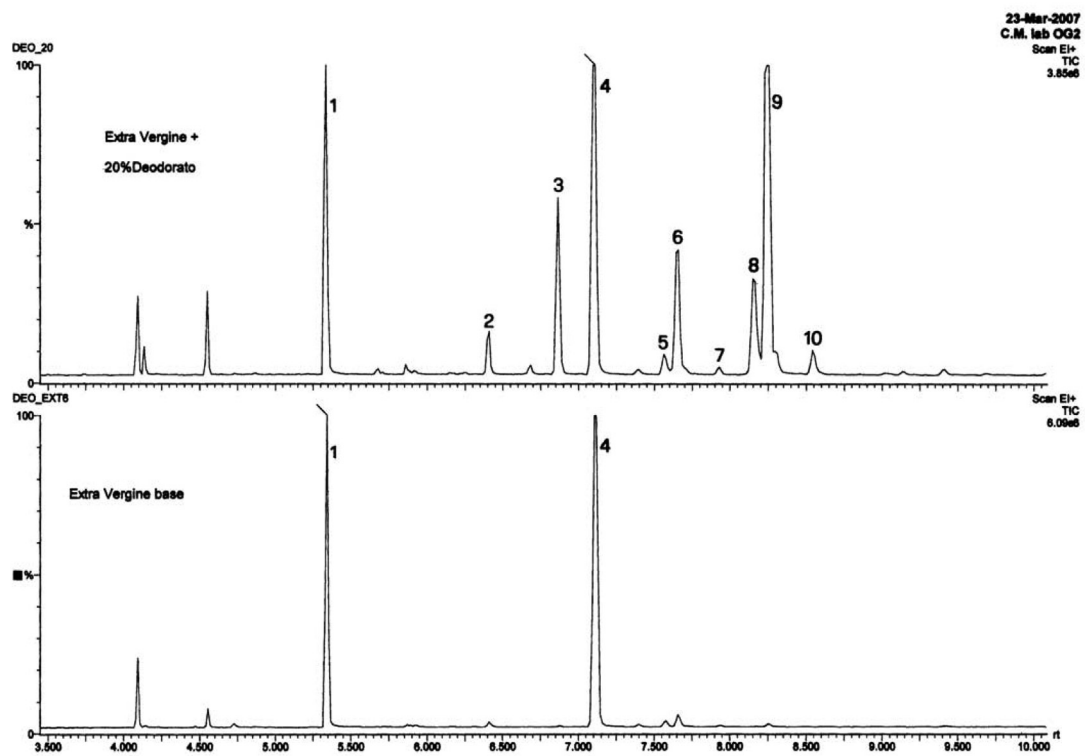


Erläuterung:

- 1 – Methylheptadecanoat I.S.
- 2 – Methyl C₁₈
- 3 – Ethyl C₁₈
- 4 – Squalen
- 5 – Laurylarachidat I.S.
- A – Diterpenester
- B – Wachse
- C – Sterolester und Triterpenester

Abbildung 4

Teil eines Chromatogramms eines nativen Olivenöls extra und des gleichen Öls, das mit desodoriertem Öl versetzt ist



Erläuterung:

- 1 – Methylmyristat I.S.
- 2 – Methylpalmitat
- 3 – Ethylpalmitat
- 4 – Methylheptadecanoat I.S.
- 5 – Methyllinoleat
- 6 – Methyloleat
- 7 – Methylstearat
- 8 – Ethyllinoleat
- 9 – Ethyloleat
- 10 – Ethylstearat

*Anlage A***Bestimmung der linearen Strömungsgeschwindigkeit des Gases**

In den auf Normalbedingungen eingestellten Gaschromatographen 1-3 μl Methan (oder Propan) einspritzen und die Säulendurchlaufzeit des Gases vom Zeitpunkt des Einspritzens bis zum Peak-Austritt (t_M) messen.

Die lineare Strömungsgeschwindigkeit in cm/s ist durch die Beziehung L/t_M definiert; dabei ist L die Länge der Säule in cm und t_M die gemessene Zeit in Sekunden.“
