

## II

(Niet-wetgevingshandelingen)

## VERORDENINGEN

## VERORDENING (EU) Nr. 61/2011 VAN DE COMMISSIE

van 24 januari 2011

## tot wijziging van Verordening (EEG) nr. 2568/91 inzake de kenmerken van olijfoliën en oliën uit afvallen van olijven en de desbetreffende analysemethoden

DE EUROPESE COMMISSIE,

Gezien het Verdrag betreffende de werking van de Europese Unie,

Gezien Verordening (EG) nr. 1234/2007 van de Raad van 22 oktober 2007 houdende een gemeenschappelijke ordening van de landbouwmarkten en specifieke bepalingen voor een aantal landbouwproducten („Integrale-GMO-verordening”) <sup>(1)</sup>, en met name artikel 113, lid 1, onder a), en artikel 121, onder h), juncto artikel 4,

Overwegende hetgeen volgt:

- (1) In Verordening (EEG) nr. 2568/91 van de Commissie <sup>(2)</sup> worden de fysieke en chemische kenmerken van olijfoliën en van oliën uit afvallen van olijven vastgesteld, alsmede de methoden om die kenmerken te analyseren. Deze methoden en de grenswaarden voor de bepaling van de kenmerken van de oliën moeten worden bijgewerkt op basis van het advies van chemisch deskundigen en het werk dat in de Internationale Olijfolieraad is verricht.
- (2) Aangezien de chemisch deskundigen het gehalte aan ethylesters van vetzuren en aan methylesters van vetzuren beschouwen als een nuttige parameter voor het bepalen van de kwaliteit van extra olijfoliën van eerste persing, dienen voor deze esters grenswaarden en een methode ter bepaling van het gehalte ervan te worden opgenomen.
- (3) Aangezien de aanpassing aan de nieuwe normen en de invoering van de middelen voor de toepassing ervan enige tijd zullen vergen en aangezien moet worden voorkomen dat de handelstransacties hiervan hinder ondervinden, moeten de bij deze verordening ingevoerde wijzigingen met ingang van 1 april 2011 van toepassing worden. Om dezelfde redenen moet de mogelijkheid worden geboden om olijfoliën en afvallen van olijfoliën die vóór die datum legaal in de Unie zijn geproduceerd

en geëtiketteerd of legaal in de Unie zijn ingevoerd en in het vrije verkeer zijn gebracht, af te zetten zolang de voorraad strekt.

- (4) Verordening (EEG) nr. 2568/91 moet daarom dienovereenkomstig worden gewijzigd.
- (5) De in deze verordening vervatte maatregelen zijn in overeenstemming met het advies van het Beheerscomité voor de gemeenschappelijke ordening van de landbouwmarkten,

HEEFT DE VOLGENDE VERORDENING VASTGESTELD:

*Artikel 1*

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

- 1) Aan artikel 2, lid 1, wordt het volgende streepje toegevoegd:

„— voor de bepaling van het gehalte aan wassen, methylesters van vetzuren en ethylesters van vetzuren met behulp van capillaire gaschromatografie, de in bijlage XX beschreven methode.”
- 2) In de inhoudsopgave van de bijlagen wordt de volgende vermelding toegevoegd:

„Bijlage XX: Methode voor de bepaling van het gehalte aan wassen, methylesters van vetzuren en ethylesters van vetzuren met behulp van capillaire gaschromatografie”
- 3) Bijlage I wordt vervangen door de tekst in bijlage I bij de onderhavige verordening.
- 4) Bijlage XX wordt toegevoegd overeenkomstig bijlage II bij de onderhavige verordening.

*Artikel 2*

Producten die vóór 1 april 2011 legaal in de Unie zijn geproduceerd en geëtiketteerd of legaal in de Unie zijn ingevoerd en in het vrije verkeer zijn gebracht, mogen worden afgezet zolang de voorraad strekt.

<sup>(1)</sup> PB L 299 van 16.11.2007, blz. 1.

<sup>(2)</sup> PB L 248 van 5.9.1991, blz. 1.

*Artikel 3*

Deze verordening treedt in werking op de derde dag na die van de bekendmaking ervan in het *Publicatieblad van de Europese Unie*.

Zij is van toepassing met ingang van 1 april 2011.

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

Gedaan te Brussel, 24 januari 2011.

*Voor de Commissie*  
*De voorzitter*  
José Manuel BARROSO

---

## KENMERKEN VAN OLIJFOLIE

Categorie	Methylesters van vetzuren (FAMES) en ethylesters van vetzuren (FAEEs)	Zuurgraad (%) (*)	Peroxide-getal mEq O <sub>2</sub> /kg (*)	Was mg/kg (**)	Glycerol-2-monopalmitaat (%)	Stigmastadiënen mg/kg <sup>(1)</sup>	Verschil ECN42, (HPLC) en ECN42, (theoretische berekening)	K <sub>232</sub> (*)	K <sub>270</sub> (*)	Delta-K (*)	Organoleptische beoordeling Mediaan voor de gebreken (Md) (*)	Organoleptische beoordeling Mediaan „fruitig” (Mf) (*)
1. Extra olijfolie van eerste persing	Σ FAME + FAEE ≤ 75 mg/kg of 75 mg/kg < Σ FAME + FAEE ≤ 150 mg/kg en (FAEE/FAME) ≤ 1,5	≤ 0,8	≤ 20	≤ 250	≤ 0,9 als % palmitinezuur totaal ≤ 14% ≤ 1,0 als % palmitinezuur totaal > 14%	≤ 0,10	≤ 0,2	≤ 2,50	≤ 0,22	≤ 0,01	Md = 0	Mf > 0
2. Olijfolie van eerste persing		≤ 2,0	≤ 20	≤ 250	≤ 0,9 als % palmitinezuur totaal ≤ 14% ≤ 1,0 als % palmitinezuur totaal > 14%	≤ 0,10	≤ 0,2	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,01	Md ≤ 2,5	Mf > 0
3. Olijfolie voor verlichting		> 2,0	—	≤ 300 <sup>(3)</sup>	≤ 0,9 als % palmitinezuur totaal ≤ 14% ≤ 1,1 als % palmitinezuur totaal > 14%	≤ 0,50	≤ 0,3	—	—	—	Md > 2,5 <sup>(2)</sup>	—
4. Geraffineerde olijfolie		≤ 0,3	≤ 5	≤ 350	≤ 0,9 als % palmitinezuur totaal ≤ 14% ≤ 1,1 als % palmitinezuur totaal > 14%	—	≤ 0,3	—	≤ 1,10	≤ 0,16	—	—
5. Olijfolie bestaande uit geraffineerde olijfoliën en olijfoliën van eerste persing		≤ 1,0	≤ 15	≤ 350	≤ 0,9 als % palmitinezuur totaal ≤ 14% ≤ 1,0 als % palmitinezuur totaal > 14%	—	≤ 0,3	—	≤ 0,90	≤ 0,15	—	—
6. Ruwe oliën uit afvallen van olijven		—	—	> 350 <sup>(4)</sup>	≤ 1,4	—	≤ 0,6	—	—	—	—	—
7. Geraffineerde oliën uit afvallen van olijven		≤ 0,3	≤ 5	> 350	≤ 1,4	—	≤ 0,5	—	≤ 2,00	≤ 0,20	—	—
8. Olie uit afvallen van olijven		≤ 1,0	≤ 15	> 350	≤ 1,2	—	≤ 0,5	—	≤ 1,70	≤ 0,18	—	—

<sup>(1)</sup> Totaal van de isomeren dat (al dan niet) kan worden gescheiden over een capillaire kolom.

<sup>(2)</sup> Of als de mediaan voor de gebreken niet hoger is dan 3,5 en de mediaan „fruitig” gelijk is aan 0.

<sup>(3)</sup> 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 erythrodiol en uvaol niet meer bedraagt dan 3,5 %.

<sup>(4)</sup> 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 hoger is dan 350 mg/kg en wanneer het gehalte aan erythrodiol en uvaol niet meer bedraagt dan 3,5 %.

Categorie	Vetzuurgehalten <sup>(1)</sup>						Totaal trans-oliezuur-isomeren (%)	Totaal translinolzuur en translinoleenzuurisomeren (%)	Sterolsamenstelling						Totaal sterolen (mg/kg)	Erythrodiol plus uvaol (%) (**)
	Myristinezuur (%)	Linoleenzuur (%)	Arachidezuur (%)	Eicosaanzuur (%)	Behenenzuur (%)	Lignocetrinezuur (%)			Cholesterol (%)	Brassicasterol (%)	Campesterol (%)	Stigmasterol (%)	Betasitosterol (%) <sup>(2)</sup>	Delta-7-stigmasterol (%)		
1. Extra olijfolie van eerste persing	≤ 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. Olijfolie van eerste persing	≤ 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. Olijfolie voor verlichting	≤ 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 <sup>(3)</sup>
4. Geraffineerde olijfolie	≤ 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. Olijfolie bestaande uit geraffineerde olijfoliën en olijfoliën van eerste persing	≤ 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. Ruwe olie uit afval van olijven	≤ 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 <sup>(4)</sup>
7. Geraffineerde van olijven	≤ 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. Olie uit afval van olijven	≤ 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

<sup>(1)</sup> Gehalte aan andere vetzuren (%): palmitinezuur 7,5 - 20,0; palmitoleïnezuur: 0,3 - 3,5; heptadecaanzuur: ≤ 0,3; heptadeceenzuur: ≤ 0,3; stearinezuur: 0,5 - 5,0; oliezuur: 55,0 - 83,0; linolzuur: 3,5 - 21,0.

<sup>(2)</sup> Totaal van: delta-5,23-stigmastadiënol + clerosterol + beta-sitosterol + sitostanol + delta-5-avenasterol + delta-5,24-stigmastadiënol.

<sup>(3)</sup> 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 erythrodiol uvaol niet meer bedraagt dan 3,5%.

<sup>(4)</sup> 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 hoger is dan 350 mg/kg en wanneer het gehalte aan erythrodiol en uvaol meer bedraagt dan 3,5%.

#### Opmerkingen:

- 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.
- 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.
- Bij de kenmerken met een asterisk (\*), die betrekking hebben op de kwaliteit van de olie, geldt:
  - voor olijfolie voor verlichting dat niet gelijktijdig aan alle betrokken normen hoeft te zijn voldaan;
  - voor olijfoliën van eerste persing dat het feit dat aan ten minste één van die normen niet is voldaan, leidt tot indeling in een andere van de categorieën olijfoliën van eerste persing.
- Bij de kenmerken met dubbele asterisk (\*\*), geldt voor alle oliën uit afval van olijven dat niet gelijktijdig aan alle betrokken normen hoeft te zijn voldaan."

## BIJLAGE II

## „BIJLAGE XX

**Methode voor de bepaling van het gehalte aan wassen, methylesters van vetzuren en ethylesters van vetzuren met behulp van capillaire gaschromatografie**

## 1. DOEL

Met deze methode wordt het gehalte aan wassen, methylesters van vetzuren en ethylesters van vetzuren in olijfolie bepaald. De individuele wassen en alkylesters worden gescheiden aan de hand van het aantal koolstofatomen. De methode maakt het mogelijk te constateren of extra olijfolie van eerste persing frauduleus is gemengd met olie van mindere kwaliteit (olie van eerste persing, olie voor verlichting of sommige ontgeurde oliën) en wordt derhalve aanbevolen om een onderscheid te maken tussen olijfolie en olie uit afvallen van olijven en als parameter voor het bepalen van de kwaliteit van extra olijfolie van eerste persing.

## 2. PRINCIPE

De olie, waaraan een geschikte interne standaard is toegevoegd, wordt gefractioneerd door chromatografie over een gehydrateerde silicagel-kolom. De onder de werkomstandigheden eerst geëluëerde fractie (met een lagere polariteit dan de triacylglycerolenfractie) wordt opgevangen en vervolgens direct geanalyseerd met behulp van capillaire gaschromatografie.

## 3. APPARATUUR

3.1. **Erlenmeyer, 25 ml.**

3.2. **Glazen kolom** voor vloeistofchromatografie met een inwendige diameter van 15 mm en een lengte van 30-40 cm, voorzien van een geschikte kraan.

3.3. **Gaschromatograaf**, geschikt voor het werken met een capillaire kolom, voorzien van een systeem voor directe injectie op de kolom, bestaande uit:

3.3.1. **Een oven met thermostaat met programmeerbare temperatuur**

3.3.2. **Een „cold on column” injector** om het monster direct op de kolom te brengen

3.3.3. **Een vlamionisatiedetector en een omzetter/versterker.**

3.3.4. **Een integreerbare recorder** (noot 1), geschikt voor gebruik met de omzetter/versterker (3.3.3), met een responstijd van niet meer dan één seconde en met een variabele papersnelheid.

Noot 1: Het gebruik van geautomatiseerde systemen is toegestaan wanneer de gaschromatografiegegevens via een pc worden ingevoerd.

3.3.5. **Een fused-silica capillaire kolom (voor de analyse van wassen, methyl- en ethylesters)** met een lengte van 8-12 m, een inwendige diameter van 0,25-0,32 mm, inwendig gecoat met een laagje stationaire fase (noot 2) in een uniforme dikte tussen 0,10 en 0,30 µm

Noot 2: Gebruiksklare stationaire fase van type SE52, SE54, enz. is in de handel verkrijgbaar.

3.4. **Micro-injectiespuit** van 10 µl, met een geharde naald, om het monster direct op de kolom te brengen

3.5. **Elektrisch schudapparaat.**

3.6. **Rotatieverdamper.**

3.7. **Droogstoof.**

3.8. **Analytische balans** met een nauwkeurigheid van ± 0,1 mg.

3.9. Gebruikelijk laboratoriumglaswerk.

#### 4. REAGENTIA

- 4.1. **Silicagel** met een korrelgrootte tussen 60 en 200 µm. Droog de silicagel bij 500 °C in een droogstoof gedurende ten minste 4 uur. Voeg na afkoelen een volume water toe dat overeenkomt met 2 % van het gewicht van de gebruikte silicagel. Schud krachtig om de massa te homogeniseren en bewaar de massa ten minste 12 uur in een exsiccator vóór gebruik.
- 4.2. **n-hexaan**, voor chromatografie of residuanalyse (de zuiverheid moet worden gecontroleerd).

**WAARSCHUWING** – De dampen kunnen ontvlammen. Uit de buurt van hittebronnen, vonken of open vlammen houden. Zorg ervoor dat de flessen altijd goed zijn gesloten. Zorg voor adequate ventilatie tijdens het gebruik. Voorkom de accumulatie van dampen en verwijder eventuele bronnen van brand, zoals verwarmingstoestellen of elektrische apparaten die niet met onontvlambaar materiaal zijn vervaardigd. Schadelijk bij inademing vanwege mogelijke schade aan zenuwcellen. Adem de dampen niet in. Gebruik zo nodig een geschikt ademapparaat. Vermijd contact met ogen en huid.

#### 4.3. Ethylether, voor chromatografie.

**WAARSCHUWING** – Zeer ontvlambaar en matig toxisch. Veroorzaakt huidirritatie. Schadelijk bij inademing. Kan schade aan de ogen veroorzaken. De effecten kunnen met vertraging optreden. Kan explosieve peroxiden vormen. De dampen kunnen ontvlammen. Uit de buurt van hittebronnen, vonken of open vlammen houden. Zorg ervoor dat de flessen altijd goed zijn gesloten. Zorg voor adequate ventilatie tijdens het gebruik. Voorkom de accumulatie van dampen en verwijder eventuele bronnen van brand, zoals verwarmingstoestellen of elektrische apparaten die niet met onontvlambaar materiaal zijn vervaardigd. Verdamp de stof niet tot ze droog of bijna droog is. Toevoeging van water of een geschikt reducerend agens kan de vorming van peroxiden verminderen. Niet drinkbaar. Adem de dampen niet in. Vermijd lang of herhaald contact met de huid.

#### 4.4. n-heptaan, voor chromatografie, of iso-octaan.

**WAARSCHUWING** – Ontvlambaar. Schadelijk bij inademing. Uit de buurt van hittebronnen, vonken of open vlammen houden. Zorg ervoor dat de flessen altijd goed zijn gesloten. Zorg voor adequate ventilatie tijdens het gebruik. Adem de dampen niet in. Vermijd lang of herhaald contact met de huid.

#### 4.5. Standaardoplossing van laurylarachidaat (noot 3), 0,05 %-oplossing (m/v) in heptaan (interne standaard voor wassen).

Noot 3: Ook palmitylpalmitaat, myristylstearaat en arachidyllaureaat kunnen worden gebruikt

#### 4.6. Standaardoplossing van methylheptadecanoaat, 0,02 %-oplossing (m/v) in heptaan (interne standaard voor methyl- en ethylesters).

#### 4.7. Soedanrood 1 (1-fenylazo-2-naftol).

#### 4.8. Draaggas: zuivere waterstof of helium, voor gaschromatografie.

##### WAARSCHUWING

**Waterstof.** Zeer ontvlambaar onder druk. Uit de buurt houden van hittebronnen, vonken, open vlammen en elektrische apparaten die niet met onontvlambaar materiaal zijn vervaardigd. Houd het flesventiel steeds gesloten wanneer het gas niet wordt gebruikt. Gebruik steeds samen met een drukregelaar. Verminder de druk van de drukveer alvorens het flesventiel te openen. Sta bij het openen van het ventiel niet vóór de flesopening. Zorg voor adequate ventilatie tijdens het gebruik. Breng de waterstof niet van de ene naar de andere fles over. Meng het gas niet in de fles. Zorg ervoor dat de flessen niet kunnen omvallen. Houd de flessen uit de buurt van zonlicht en hittebronnen. Bewaar ze in een corrosievrije omgeving. Gebruik geen beschadigde of niet-geëtiketteerde flessen.

**Helium.** Bij hoge druk gecompriemd gas. Vermindert de hoeveelheid zuurstof die beschikbaar is om te ademen. Houd de fles dicht. Zorg voor adequate ventilatie tijdens het gebruik. Ga de opslagplaats slechts binnen als ze adequaat geventileerd is. Gebruik steeds samen met een drukregelaar. Verminder de druk van de drukveer alvorens het flesventiel te openen. Breng het gas niet van de ene naar de andere fles over. Zorg ervoor dat de flessen niet kunnen omvallen. Sta bij het openen van het ventiel niet vóór de flesopening. Houd de flessen uit de buurt van zonlicht en hittebronnen. Bewaar ze in een corrosievrije omgeving. Gebruik geen beschadigde of niet-geëtiketteerde flessen. Adem het gas niet in. Gebruik uitsluitend voor technische doeleinden.

#### 4.9. Hulpgasen:

- zuivere waterstof, voor gaschromatografie.
- zuivere lucht, voor gaschromatografie.

#### WAARSCHUWING

*Lucht.* Bij hoge druk gecompriemd gas. Voorzichtig te gebruiken in aanwezigheid van brandbare stoffen: de zelfontbrandingstemperatuur van de meeste organische verbindingen die in lucht aanwezig zijn, ligt aanzienlijk lager bij hoge druk. Houd het flesventiel steeds gesloten wanneer het gas niet wordt gebruikt. Gebruik steeds samen met een drukregelaar. Verminder de druk van de drukveer alvorens het flesventiel te openen. Sta bij het openen van het ventiel niet vóór de flesopening. Breng het gas niet van de ene naar de andere fles over. Meng het gas niet in de fles. Zorg ervoor dat de flessen niet kunnen omvallen. Houd de flessen uit de buurt van zonlicht en hittebronnen. Bewaar ze in een corrosievrije omgeving. Gebruik geen beschadigde of niet-geëtiketteerde flessen. Voor technische doeleinden bestemde lucht mag niet worden gebruikt voor inhaleer- of ademapparatuur.

#### 5. WERKWIJZE

##### 5.1. Voorbereiding van de chromatografiekolom

Suspendeer 15 g silicagel (4.1) in n-hexaan (4.2) en breng dit in de kolom (3.2). Laat spontaan uitzakken. Vibreer de kolom met een elektrisch schudapparaat om het chromatografiebed homogener te maken. Laat 30 ml n-hexaan doorlopen om eventuele verontreinigingen te verwijderen. Weeg met de analytische balans (3.8) ongeveer 500 mg van het monster nauwkeurig af in de erlenmeyer van 25 ml (3.1), voeg een hoeveelheid interne standaard (4.5) toe die overeenkomt met het verwachte gehalte aan was. Bijvoorbeeld: voeg 0,1 mg laurylarachidaat toe indien het gaat om olijfolie, 0,25-0,50 mg indien het gaat om olie uit afvallen van olijven, en 0,05 mg methylheptadecanoaat indien het gaat om olijfoliën (4.6).

Breng het aldus voorbereide monster over in de chromatografiekolom, voeg dan 2 porties van elk 2 ml n-hexaan toe (4.2).

Laat dit door de kolom lopen tot boven het absorbens een laag vloeistof van 1 mm resteert. Laat vervolgens een mengsel n-hexaan/ethylether (99:1) doorlopen en vang 220 ml op tegen een debiet van 15 druppels per 10 seconden. **(Deze fractie bevat de methyl- en ethylesters en de wassen).** (noot 4) (noot 5).

Noot 4: Het mengsel n-hexaan/ethylether (99:1) moet elke dag vers worden bereid.

Noot 5: Aan de monsterooplossing mag 100 µl soedanrood worden toegevoegd om visueel na te gaan of de wassen goed zijn geëluëerd.

De retentietijd van de kleurstof ligt tussen die van de wassen en die van triacylglycerolen in. De elutie moet worden gestopt wanneer de kleurstof de onderkant van de chromatografiekolom bereikt, omdat de wassen dan volledig zijn geëluëerd.

Laat de resulterende fracties verdampen in een rotatieverdamer totdat het oplosmiddel bijna volledig is verwijderd. Verwijder de laatste 2 ml met een zachte stikstofstroom. Verzamel de fractie met de methyl- en ethylesters die is verdund met 2-4 ml n-heptaan of iso-octaan.

##### 5.2. Gaschromatografische analyse

###### 5.2.1. Voorbereiding

Bevestig de kolom in de gaschromatograaf (3.3), waarbij het inlaatstuk wordt aangesloten op het „on-column”-systeem en het uiteinde op de detector. Voer de gebruikelijke controle van het gaschromatografisch apparaat uit (werking van de gasleidingen, efficiëntie van de detector en de recorder, enz.).

Als de kolom voor de eerste keer wordt gebruikt, wordt conditionering aanbevolen. Laat een kleine gasstroom door de kolom gaan en zet de gaschromatografische eenheid aan. Verwarm geleidelijk totdat na ca. 4 uur een temperatuur van 350 °C wordt bereikt.

Houd deze temperatuur aan gedurende ten minste 2 uur, stel vervolgens de hele apparatuur in op de normale werkomstandigheden (regeling van de gassnelheid, ontsteking van de vlam, aansluiting aan de elektronische recorder (3.3.4), regeling van de temperatuur van de oven, regeling van de detector, enz.). Registreer het signaal met een gevoeligheid die tenminste twee keer groter is dan vereist voor de analyse. De basislijn moet lineair zijn, zonder enige piek en mag niet verlopen.

Een rechtlijnig negatief verloop wijst op verkeerde kolomverbindingen; een positief verloop wijst op een onvoldoende uitgevoerde conditionering van de kolom.

#### 5.2.2. *Bepaling van de werkomstandigheden voor wassen, methylesters en ethylesters (noot 6).*

In het algemeen dienen de volgende werkomstandigheden te worden aangehouden:

— kolomtemperatuur:

20 °C/min 5 °C/min

start op 80 °C (1') — 140 °C — 335 °C (20)

— temperatuur van de detector: 350 °C.

— injectiehoeveelheid: 1 µl van de oplossing in n-heptaan (2-4 ml).

— draaggas: helium of waterstof met de optimale lineaire snelheid voor het gekozen gas (zie aanhangsel A).

— gevoeligheid van het instrument: geschikt om aan de hierboven uiteengezette voorwaarden te voldoen.

*Noot 6:* Gezien de hoge eindtemperatuur wordt een positief verloop toegestaan dat niet groter mag zijn dan 10 % van de volle schaaluitslag.

Deze voorwaarden kunnen afhankelijk van de karakteristieken van de kolom en van de gaschromatograaf worden gewijzigd om alle wassen en methyl- en ethylesters te scheiden en om een toereikende piekscheiding (figuren 2, 3 en 4) en een retentietijd van  $18 \pm 3$  minuten voor de interne standaard laurylarachidaat te krijgen. De meest representatieve piek van de wassen moet meer dan 60 % van de volle schaaluitslag bereiken en de interne standaard methylheptadecanoaat voor de methyl- en ethylesters moet de volle schaaluitslag bereiken.

De piekintegratieparameters moeten zodanig worden gekozen dat een juiste waarde van de piekoppervlakten wordt verkregen.

#### 5.3. **Uitvoering van de analyse**

Zuig met de 10 µl micro-injectiespuit 10 µl oplossing op en trek de plunjer van de spuit zover uit dat de naald leeg is. Penetreeer met de naald het membraan van de injectie-eenheid en injecteer snel na 1-2 seconden. Verwijder de naald voorzichtig na ongeveer 5 seconden.

Neem het chromatogram op tot de wassen of de stigmastadiënen volledig zijn geëluëerd, afhankelijk van de fractie die wordt geëluëerd.

De basislijn moet steeds aan de vereiste voorwaarden voldoen.

#### 5.4. **Identificatie van de pieken**

Identificeer de verschillende pieken op basis van de retentietijden en door vergelijking met wasmengsels met een bekende retentietijd die onder dezelfde omstandigheden zijn geanalyseerd. De alkylesters worden geïdentificeerd aan de hand van mengsels van methyl- en ethylesters van de voornaamste vetzuren die in olijfolie aanwezig zijn (palmitine- en oliezuur).

Figuur 1 bevat een chromatogram van de wassen in een olijfolie van eerste persing. De figuren 2 en 3 bevatten de chromatogrammen van twee extra olijfoliën van eerste persing uit de kleinhandel, één met en één zonder methyl- en ethylesters. Figuur 4 bevat de chromatogrammen van een extra olijfolie van eerste persing van topkwaliteit en van dezelfde olie, dit keer gemengd met 20 % ontgeurde olie.



### 5.5. Kwantitatieve analyse van de wassen

Bereken met de integrator de piekoppervlakken van de interne standaard laurylarachidaat en de C<sub>40</sub>-C<sub>46</sub> alifatische esters.

Bepaal het totale gehalte aan wassen door de individuele wassen, uitgedrukt in mg/kg, als volgt bij elkaar op te tellen:

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

waarbij:

A<sub>x</sub> = piekoppervlak van de ester, in computer counts

A<sub>s</sub> = piekoppervlak van de interne standaard laurylarachidaat, in computer counts

m<sub>s</sub> = toegevoegde massa interne standaard laurylarachidaat, in mg;

m = massa van het genomen monster, in gram.

#### 5.5.1. Kwantitatieve analyse van de methyl- en ethylesters

Bereken met de integrator de piekoppervlakken van de interne standaard methylheptadecanoaat, de methylesters van de C<sub>16</sub>- en C<sub>18</sub>-vetzuren en de ethylesters van de C<sub>16</sub>- en C<sub>18</sub>-vetzuren.

Bepaal het gehalte van elke alkylester, uitgedrukt in mg/kg, als volgt:

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

waarbij:

A<sub>x</sub> = piekoppervlak van de individuele C<sub>16</sub>- en C<sub>18</sub>-ester, in computer counts

A<sub>s</sub> = piekoppervlak van de interne standaard methylheptadecanoaat, in computer counts

m<sub>s</sub> = toegevoegde massa interne standaard methylheptadecanoaat, in mg;

m = massa van het genomen monster, in gram.

### 6. WEERGAVE VAN DE RESULTATEN

Geef het gehalte van de verschillende wassen (C<sub>40</sub> tot C<sub>46</sub>) (noot 7) in mg/kg vethoudend materiaal, en tevens de som van die gehaltenes.

Geef het gehalte van de methyl- en ethylesters (C<sub>16</sub> tot C<sub>18</sub>) en tevens de som van die twee gehaltenes.

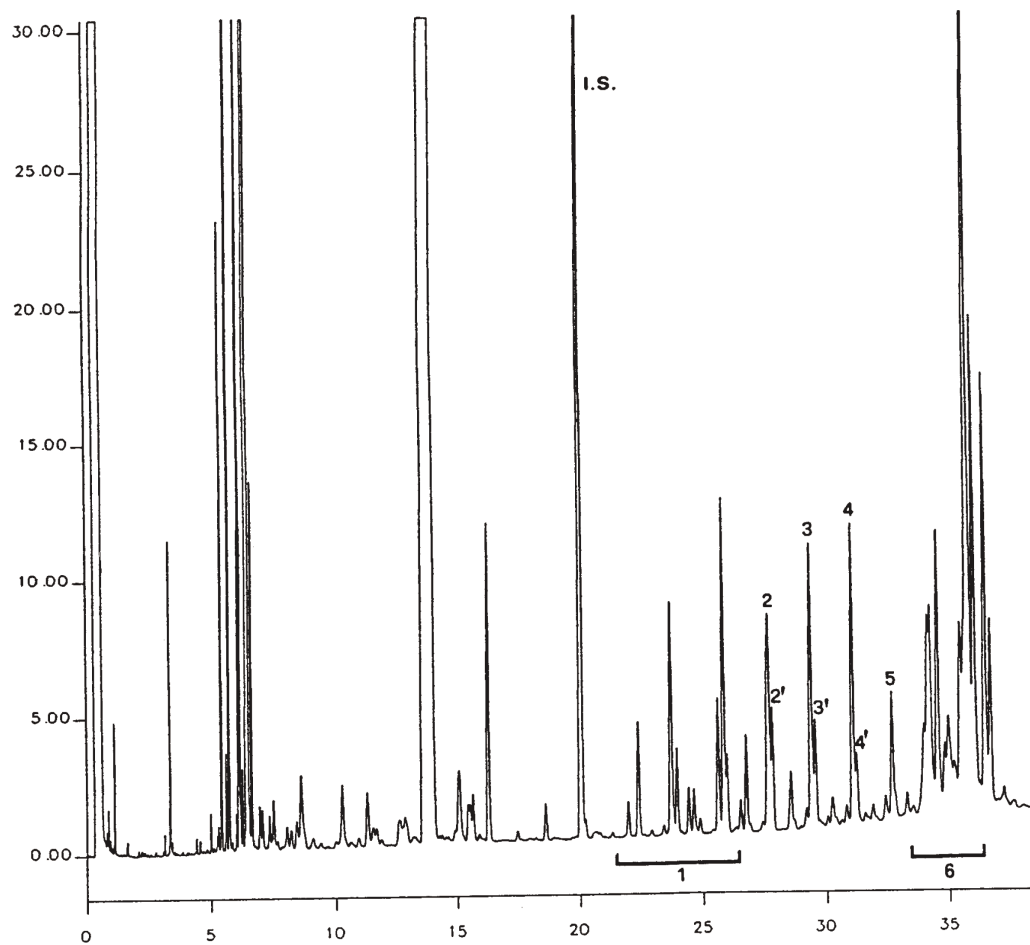
De resultaten worden afgerond op de dichtstbijzijnde mg/kg.

Noot 7: De te kwantificeren bestanddelen verwijzen naar de pieken met een even aantal koolstofatomen tussen de esters C<sub>40</sub> en C<sub>46</sub>, zoals weergegeven in het onderstaande chromatogram voor wassen in olijfolie. Indien de C<sub>46</sub>-ester gesplitst is, wordt met het oog op identificatie aanbevolen de wasfractie van een olie uit afval van olijven te analyseren omdat de C<sub>46</sub>-piek daar duidelijk overheerst en dus gemakkelijk kan worden opgemerkt.

Geef de verhouding ethylesters en methylesters op.

Figuur 1

Voorbeeld van een gaschromatogram van de wasfractie van een olijfolie (\*)



Pieken met een retentietijd van de methyl- en ethylesters van vetzuren van 5 tot 8 min

Legenda:

I.S. = Laurylarachidaat

1 = Diterpeenesters

2+2' = C<sub>40</sub>-esters

3+3' = C<sub>42</sub>-esters

4+4' = C<sub>44</sub>-esters

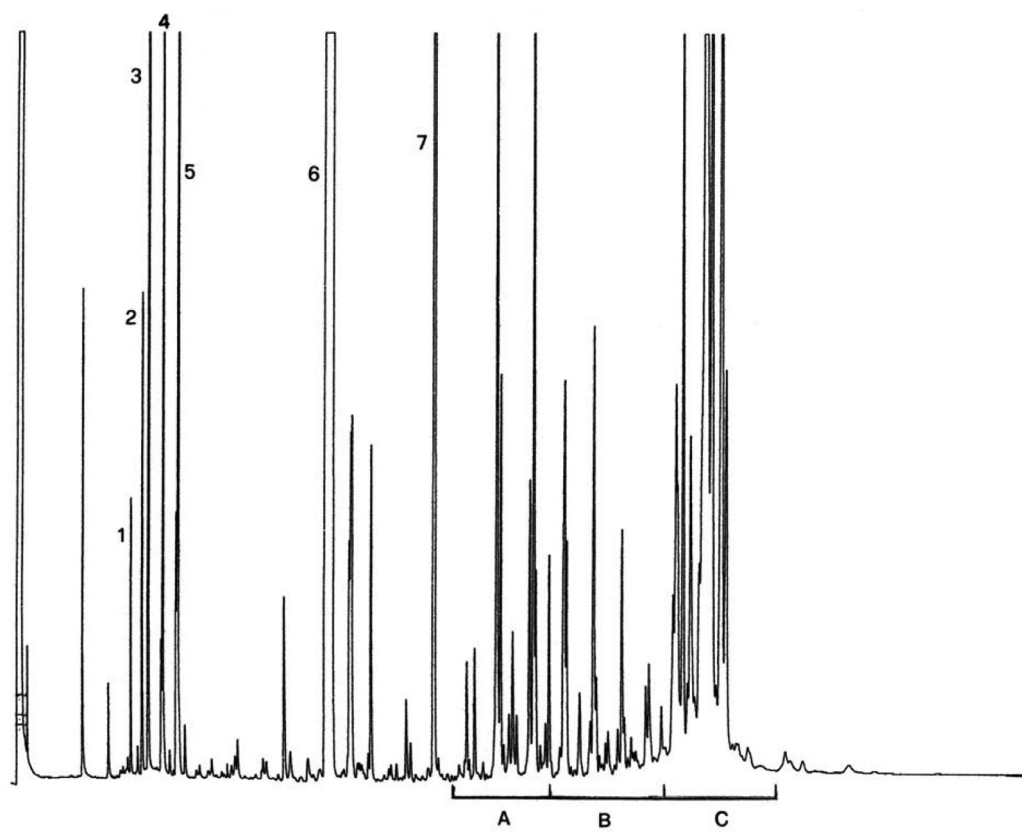
5 = C<sub>46</sub>-esters

6 = Sterolesters en triterpeenalcoholen

(\*) Na de elutie van de sterolesters mag het chromatogram geen significante pieken (triacylglycerolen) meer bevatten.

Figuur 2

## Methylesters, ethylesters en wassen in een olijfolie van eerste persing

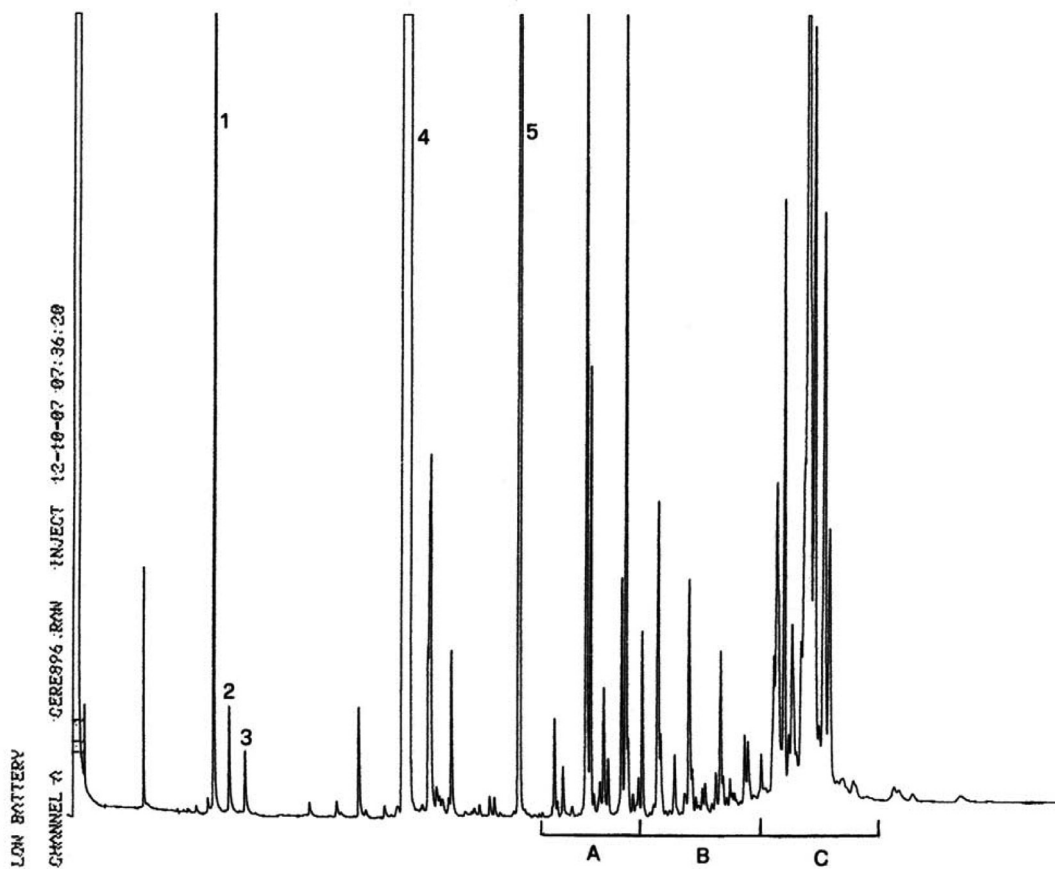


Legenda:

- 1 – Methyl C<sub>16</sub>
- 2 – Ethyl C<sub>16</sub>
- 3 – Methylheptadecanoaat I.S.
- 4 – Methyl C<sub>18</sub>
- 5 – Ethyl C<sub>18</sub>
- 6 – Squaleen
- 7 – Laurylarachidaat I.S.
- A – Diterpeenesters
- B – Wassen
- C – Sterolesters en triterpeenesters

Figuur 3

## Methylesters, ethylesters en wassen in een extra olijfolie van eerste persing

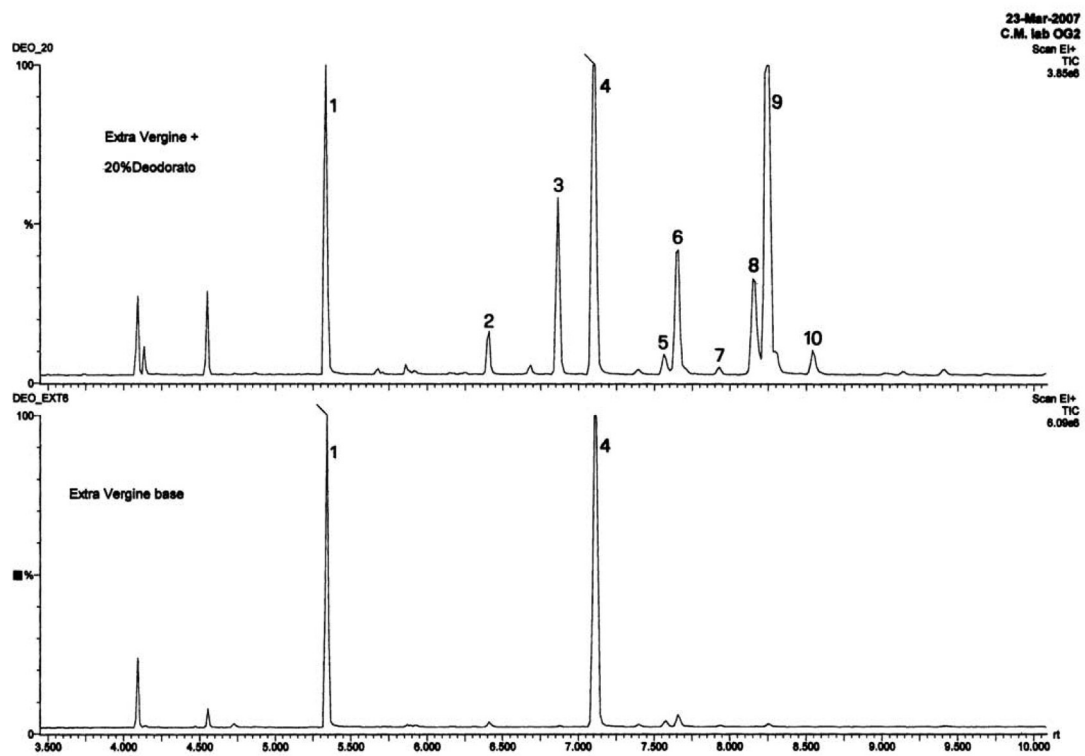


Legenda:

- 1 – Methylheptadecanoaat I.S.
- 2 – Methyl C<sub>18</sub>
- 3 – Ethyl C<sub>18</sub>
- 4 – Squaleen
- 5 – Laurylarachidaat I.S.
- A – Diterpeenesters
- B – Wassen
- C – Sterolesters en triterpeenesters

Figuur 4

Deel van een chromatogram van een extra olijfolie van eerste persing en dezelfde olie vermengd met ontgeurde olie



Legenda:

- 1 – Methylmyristaat I.S.
- 2 – Methylpalmitaat
- 3 – Ethylpalmitaat
- 4 – Methylheptadecanoaat I.S.
- 5 – Methyllinoleaat
- 6 – Methyloleaat
- 7 – Methylstearaat
- 8 – Ethyllinoleaat
- 9 – Ethyloleaat
- 10 – Ethylstearaat

*Aanhangsel A***Bepaling van de lineaire snelheid van het draaggas**

Injecteer 1:3  $\mu$ l methaan (of propaan) in de gaschromatograaf nadat deze op de normale werkomstandigheden is ingesteld. Meet de tijd die het gas nodig heeft om door de kolom te gaan vanaf het moment van injectie tot het verschijnen van de piek ( $t_M$ ).

De lineaire snelheid in cm/s wordt gegeven door  $L/t_M$ , waarbij L de lengte is van de kolom in centimeter en  $t_M$  de gemeten tijd in seconden.”

---