31995R0656

29.3.1995 DZIENNIK URZĘDOWY WSPÓLNOT EUROPEJSKICH L 69/1

ROZPORZĄDZENIE KOMISJI (WE) NR 656/95
z dnia 28 marca 1995 r.
zmieniające rozporządzenie (EWG) nr 2568/91 w sprawie właściwości oliwy z oliwek i oliwy z wytłoczyn oliwek oraz w sprawie odpowiednich metod analizy oraz rozporządzenie Komisji (EWG) nr 2658/87 w sprawie nomenklatury taryfowej i statystycznej oraz w sprawie Wspólnej Taryfy Celnej

KOMISJA WSPÓLNOT EUROPEJSKICH,

uwzględniając Traktat ustanawiający Wspólnotę Europejską,

uwzględniając rozporządzenie Rady nr 136/66/EWG z dnia 2 września 1966 r. w sprawie ustanowienia wspólnej organizacji rynku olejów i tłuszczów [1], ostatnio zmienione rozporządzeniem (WE) nr 3179/93 [2], w szczególności jego art. 35a,

uwzględniając rozporządzenie Rady (EWG) nr 2658/87 z dnia 23 lipca 1987 r. w sprawie nomenklatury taryfowej i statystycznej oraz w sprawie Wspólnej Taryfy Celnej [3], ostatnio zmienione rozporządzeniem Komisji (WE) nr 3330/94 [4], w szczególności jego art. 9,

a także mając na uwadze, co następuje:

rozporządzenie Komisji (EWG) nr 2568/91 [5], ostatnio zmienione rozporządzeniem (WE) nr 2632/94 [6], określa właściwości oliwy z oliwek i oliwy z wytłoczyn oliwek oraz właściwe metody analizy; rozporządzenie (EWG) nr 2568/91 zmienia także uwagi dodatkowe 2, 3 i 4 do rozdziału 15 Nomenklatury Scalonej, zawartej w zał. I do rozporządzenia (EWG) nr 2658/87;

z powodu postępu w badaniach definicje właściwości oliwy z oliwek podane w rozporządzeniu (EWG) nr 2568/91 powinny zostać zmienione w taki sposób, żeby zapewnić większą czystość produktów umieszczanych na rynku; należy też określić właściwą metodę analizy;

doświadczenie wykazało, że niezbędne są pewne dostosowania w metodzie oznaczania zawartości kwasu trilinolanowego; dodatkowo, w celu kontynuowania procesu harmonizacji międzynarodowych norm ustanowionych przez Międzynarodową Radę ds. Oliwy z Oliwek należy uregulować niektóre granice dotyczące właściwości oliwy z oliwek i oliwy z wytłoczyn oliwek;

zmiany właściwości oliwy z oliwek, określonych powyżej, wymagają zmiany uwag dodatkowych 2, 3, i 4 do rozdziału 15 Nomenklatury Scalonej;

w celu uwzględnienia okresu dostosowania do nowych norm i wprowadzenia środków potrzebnych do zastosowania ich oraz w celu uniknięcia zakłóceń w handlu, należy opóźnić wejście w życie niniejszego rozporządzenia o około dwa miesiące oraz ustanowić przepisy w odniesieniu do pakowanej oliwy przed jego wejściem w życie w określonym terminie;

dlatego należy zmienić rozporządzenia (EWG) nr 2658/87 i (EWG) nr 2568/91, zał. XIV do którego zmieniał wspomniane uwagi dodatkowe;

środki przewidziane w niniejszym rozporządzeniu są zgodne z opinią Komitetu Zarządzającego ds. Olejów i Tłuszczów,

PRZYJMUJE NINIEJSZE ROZPORZĄDZENIE:

Artykuł 1

W rozporządzeniu (EWG) nr 2568/91 wprowadza się następujące zmiany:

1. W art. 2 dodaje się myślnik w brzmieniu:

   „— metoda przedstawiona w zał. XVII do oznaczenia stigmastadienów."

2. Zmienia się załączniki zgodnie z zał. I do niniejszego rozporządzenia.

---

[1] Dz.U. 172 z 30.9.1966, str. 3025/66.
[2] Dz.U. L 285 z 20.11.1993, str. 9.
[3] Dz.U. L 256 z 7.9.1987, str. 1.
[4] Dz.U. L 350 z 31.12.1994, str. 51.
[5] Dz.U. L 248 z 5.9.1991, str. 1.
[6] Dz.U. L 280 z 29.10.1994, str. 43.

Artykuł 2

Uwagi dodatkowe 2, 3 i 4 do rozdziału 15 Nomenklatury Scalonej, zawarte w zał. I do rozporządzenia (EWG) nr 2658/87, zastępuje się tekstem określonym w zał. II do niniejszego rozporządzenia.

Artykuł 3

Niniejsze rozporządzenie wchodzi w życie w sześćdziesiątym dniu po jego opublikowaniu w *Dzienniku Urzędowym Wspólnot Europejskich*.

Przed upływem dziesiątego miesiąca od daty wejścia w życie nie stosuje się niniejszego rozporządzenia w odniesieniu do oliwy z oliwek i oliwy z wytłoczyn oliwek, pakowanego i wprowadzonego do sprzedaży przed wspomnianą datą wejścia w życie.

Niniejsze rozporządzenie wiąże w całości i jest bezpośrednio stosowane we wszystkich Państwach Członkowskich.

Sporządzono w Brukseli, dnia 28 marca 1995 r.

W imieniu Komisji

Franz FISCHLER

Członek Komisji

ZAŁĄCZNIK I

1. W streszczeniu załączników do rozporządzenia (EWG) nr 2568/91 dodaje się tytuł w brzmieniu:
„załącznik XVII: Oznaczanie stigmastadienów w olejach roślinnych ..... 84".

2. Zał. I otrzymuje brzmienie:

„ZAŁĄCZNIK I

WŁAŚCIWOŚCI OLIWY Z OLIWEK

Typ	Kwasowość %	Liczba nadtlenkowa meq O_2/kg	Chlorowcowe rozpuszczalniki mg/kg (1)	Woski mg/kg	Nasycone kwasy tłuszczowe w pozycji 2 triglicerydu %	Stigmastadieny (2) mg/kg	Erytrodiol + uvaol %	Trilinoleina %	Cholesterol %	Brassikasterol %	Kampesterol %	Stigmaterol %	Betasitosterol (3) %	Deka-7-stigmasterol %	Łącznie sterole mg/kg
1. Oliwa ekstra z oliwek pierwszego tłoczenia	M 1,0	M 20	M 0,20	M 250	M 1,3	M 0,15	M 4,5	M 0,5	M 0,5	M 0,1	M 4,0	< Kamp.	m 93,0	M 0,5	m 1000
2. Oliwa z oliwek pierwszego tłoczenia	M 2,0	M 20	M 0,20	M 250	M 1,3	M 0,15	M 4,5	M 0,5	M 0,5	M 0,1	M 4,0	< Kamp.	m 93,0	M 0,5	m 1000
3. Zwykła oliwa z oliwek pierwszego tłoczenia	M 3,3	M 20	M 0,20	M 250	M 1,3	M 0,15	M 4,5	M 0,5	M 0,5	M 0,1	M 4,0	< Kamp.	m 93,0	M 0,5	m 1000
4. Oliwa z oliwek lampante pierwszego tłoczenia	m 3,3	m 20	m 0,20	M 350	M 1,3	M 0,50	M 4,5	M 0,5	M 0,5	M 0,1	M 4,0	—	m 93,0	M 0,5	m 1000
5. Rafinowana oliwa z oliwek	M 0,5	M 5	M 0,20	M 350	M 1,5		M 4,5	M 0,5	M 0,5	M 0,1	M 4,0	< Kamp.	m 93,0	M 0,5	m 1000
6. Oliwa z oliwek	M 1,5	M 15	M 0,20	M 350	M 1,5		M 4,5	M 0,5	M 0,5	M 0,1	M 4,0	< Kamp.	m 93,0	M 0,5	m 1000
7. Surowa oliwa z wytłoczyn oliwek	m 2,0	—	—	—	M 1,8		m 12	M 0,7	M 0,5	M 0,1	M 4,0	—	m 93,0	M 0,5	m 2500
8. Rafinowana oliwa z wytłoczyn oliwek	M 0,5	M 5	M 0,20	—	M 2,0		m 12	M 0,6	M 0,5	M 0,1	M 4,0	< Kamp.	m 93,0	M 0,5	m 1800
9. Oliwa z wytłoczyn oliwek	M 1,5	M 15	M 0,20	> 350	M 2,0		> 4,5	M 0,6	M 0,5	M 0,1	M 4,0	< Kamp.	m 93,0	M 0,5	m 1600

(1) Ogólna górna granica dla związków wykrywanych przez detektor wychwytu elektronów. Dla związków wychwyconych oddzielnie górna granicą jest 0,10 mg/kg.

(2) Suma izomerów, które mogą (lub nie) być rozdzielone w kolumnie kapilarnej.

(3) Delta 5–23-stigmastadienol + klerosterol + sitosterol + sitostanol + delta-5- avenosterol + delta-5- 24 stigmastadienol.

Uwaga:

Jakakolwiek oliwa jest odrzucona, jeśli jedna z właściwości znajduje się poza ustaloną granicą.

M = maksimum, m = minimum.

Typ	Mieszanka kwasów						Suma izomerów transkwasuoleinowego	Suma izomerów trans kwasów linolowego i linolenowego %	K_{232}	K_{270}	K_{270} z tlenkiem glinowym	Delta-K	Tablica testów
	Mirystynowy %	Linolenowy %	Arachidowy %	Arachidynowy %	Behenowy %	Lignocerowy %							
1. Oliwa z oliwek ekstra pierwszego tłoczenia	M 0,05	M 0,9	M 0,6	M 0,4	M 0,2	M 0,2	M 0,05	M 0,05	M 2,50	M 0,20	M 0,10	M 0,01	m 6,5
2. Oliwa z oliwek pierwszego tłoczenia	M 0,05	M 0,9	M 0,6	M 0,4	M 0,2	M 0,2	M 0,05	M 0,05	M 2,60	M 0,25	M 0,10	M 0,01	m 5,5
3. Zwykła oliwa z oliwek pierwszego tłoczenia	M 0,05	M 0,9	M 0,6	M 0,4	M 0,2	M 0,2	M 0,05	M 0,05	M 2,60	M 0,25	M 0,10	M 0,01	m 3,5
4. Oliwa lampante z oliwek pierwszego tłoczenia	M 0,05	M 0,9	M 0,6	M 0,4	M 0,2	M 0,2	M 0,10	M 0,10	M 3,70	M 0,25	M 0,11	—	< 3,5
5. Rafinowana oliwa z oliwek	M 0,05	M 0,9	M 0,6	M 0,4	M 0,2	M 0,2	M 0,20	M 0,30	M 3,40	M 1,20	—	M 0,16	—
6. Oliwa z oliwek	M 0,05	M 0,9	M 0,6	M 0,4	M 0,2	M 0,2	M 0,20	M 0,30	M 3,30	M 1,00	—	M 0,13	—
7. Surowa oliwa z wytłoczyn oliwek	M 0,05	M 0,9	M 0,6	M 0,4	M 0,3	M 0,2	M 0,20	M 0,10	—	—	—	—	—
8. Rafinowana oliwa z wytłoczyn oliwek	M 0,05	M 0,9	M 0,6	M 0,4	M 0,3	M 0,2	M 0,42	M 0,35	M 5,50	M 2,50	—	M 0,25	—
9. Oliwa z wytłoczyn oliwek	M 0,05	M 0,9	M 0,6	M 0,4	M 0,3	M 0,2	M 0,20	M 0,35	M 5,30	M 2,00	—	M 0,20	—

Uwaga:

Oliwa jest odrzucona, jeżeli jakakolwiek właściwość leży poza ustanowioną granicą.
W celu ustalenia czystości, gdzie K_{270} przekracza granicę dla poszczególnych kategorii, powinno się oznaczyć ponownie po przejściu przez tlenek glinu.

M = maksimum, m = minimum."

3. Uwaga 5 do zał. VIII otrzymuje brzmienie:

„*Uwaga 5:*

W celu uzyskania wyraźnego oddzielenia piku trilinolanów od przylegających pików lub jakichkolwiek przeszkadzających substancji, oliwa lampante pierwszego tłoczenia lub surowa oliwa z wytłoczyn oliwek powinna zostać wpierw oczyszczona według następującej metody:

Zaabsorbować 200 µl nierozcieńczonej oliwy do kolumny krzemionkowej do ekstrakcji w układzie ciecz-ciało stałe (typ SEP PAC wypełnienie krzemionkowe Waters nr 51900).

Wymywać triglicerydy przy użyciu 20 ml bezwodnego heksanu do wysokociśnieniowej chromatografii cieczowej (HPLC) nie dłużej niż przez 20 sekund.

Wysuszyć wymyty produkt w strumieniu azotu i rozpuścić w alkoholu izopropylowym lub acetonie (5 ml). Wstrzyknąć 10 do 20 µl do wysokociśnieniowego chromatografu cieczowego. Skład kwasów tłuszczowych oliwy musi być sprawdzona w celu uzyskania pewności, że jest taki sam przed i po oczyszczeniu w zakresie dokładności przyjętej metody analizy.";

4. Dodaje się zał. XVII w brzmieniu:

„*ZAŁĄCZNIK XVII:*

METODA OZNACZANIA STIGMASTADIENÓW W OLEJACH ROŚLINNYCH

1. CEL

oznaczanie stigmastadienów w olejach roślinnych o niskim stężeniu tych węglowodorów, w szczególności w oliwie z oliwek pierwszego tłoczenia i surowej oliwie z wytłoczyn oliwek.

2. ZAKRES

norma może być stosowana do wszystkich olejów roślinnych, chociaż wyniki pomiarów są pewne tylko przy zawartości tych węglowodorów między 0.01 i 4.0 mg/kg. Metoda ta jest szczególnie przydatna do wykrywania obecności rafinowanych olejów roślinnych (z oliwek, wytłoczyn oliwek, słonecznika, palmy itd.) w oliwie z oliwek pierwszego tłoczenia, ponieważ oleje rafinowane zawierają stigmastadieny, a oliwy z pierwszego tłoczenia ich nie zawierają.

3. ZASADA

wyodrębnienie substancji niezmydlających się. Oddzielenie steroidowej frakcji węglowodorowej przez chromatografię kolumnową na żelu krzemionkowym i analiza przez kapilarną chromatografię gazową.

4. APARATURA

4.1. Kolby 250 ml nadające się do użycia z chłodnicą zwrotną.

4.2. Rozdzielacze o pojemności 200 ml.

4.3. 100 ml kolby okrągłodenne.

4.4. Wyparka obrotowa.

4.5. Szklana kolumna chromatograficzna (o średnicy wewnętrznej 1,5 do 2 cm na 50 cm długości) z teflonowym gwintownikiem oraz zatyczką z waty szklanej lub krążkiem ze spiekanego szkła na dnie. W celu przygotowania kolumny z żelu krzemionkowego wlać heksan do kolumny chromatograficznej na wysokość około 5 cm, a następnie wypełnić zawiesiną żelu krzemionkowego w heksanie (15 g w 40 ml) za pomocą heksanu podzielonego na części. Odstawić do opadnięcia i zakończyć osadzanie, stosując lekkie drgania. Dodać bezwodny siarczan sodowy do wysokości około 0,5 cm, na koniec wymyć nadmiar heksanu.

4.6. Chromatograf gazowy z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym, nastrzyk z dzieleniem strumienia lub zimny nakolumnowy wtryskiwacz i piec programowalny z dokładnością do ± 1 C.

4.7. Kolumna kapilarna ze stopionej krzemionki do chromatografii gazowej (o średnicy wewnętrznej 0,25 lub 0,32 mm na 25 cm długości pokryta 5 %-fenylometylosilikonową fazą, o grubości filmu 0,25 mm.

Uwaga 1:

Można użyć innych kolumn o podobnej lub niższej biegunowości.

4.8. Integrator-rejestrator z trybem integracji dolina-dolina.

4.9. 5-10 µl mikrostrzykawka do chromatografii gazowej z umocowaną na stałe igłą.

4.10. Elektryczny płaszcz grzejny lub gorące miejsce.

5. ODCZYNNIKI

Wszystkie odczynniki muszą być jakości analitycznej, chyba że określono inaczej. Używana woda musi być wodą destylowaną lub wodą o porównywalnym stopniu czystości.

5.1. Heksan lub mieszanina alkanów o przedziale temperatury wrzenia 65 do 70 °C, destylowana w kolumnie rektyfikacyjnej.

Uwaga 2:

Rozpuszczalnik musi być przedestylowany w celu usunięcia zanieczyszczeń.

5.2. 96 % (procent objętościowy) alkoholu etylowego.

5.3. Bezwodny siarczan sodu.

5.4. 10-procentowy alkoholowy roztwór wodorotlenku potasu. Dodać 10 ml wody do 50 g wodorotlenku potasu, wymieszać, a następnie rozpuścić mieszankę w etanolu do 500 ml.

Uwaga 3:

Alkoholowy potaż brązowieje przy przechowywaniu. Powinien być przygotowywany świeży każdego dnia i trzymany w dobrze zakorkowanych butelkach z ciemnego szkła.

5.5. Żel krzemionkowy 60 do chromatografii kolumnowej, siatka 70 do 230 (Merck, nr referencyjny 7734 lub podobny).

Uwaga 4:

Zazwyczaj można używać żelu krzemionkowego prosto z pojemnika bez żadnej obróbki. Jednakże niektóre partie żelu krzemionkowego mogą wykazywać niską aktywność, która daje w rezultacie złe wyniki oddzielania chromatograficznego. W takich okolicznościach należy postąpić w następujący sposób: Aktywować żel krzemionkowy podgrzewając go, przez co najmniej cztery godziny w temp. 550 C. Po podgrzaniu umieścić żel krzemionkowy w eksykatorze na czas stygnięcia, a potem przenieść go do zakorkowanej kolby. Dodać 2 % wody i potrząsać, dopóki wszystkie grudki nie zostaną rozbite, a proszek będzie swobodnie pływał.

Jeżeli któraś partia żelu krzemionkowego daje chromatogramy o interferujących pikach, należy z nim postąpić jak wyżej. Alternatywą może być użycie żelu krzemionkowego 60 o wyjątkowym stopniu czystości (Merck, nr 7754).

5.6. Roztwór podstawowy (200 części na milion, ang. ppm) cholesta-3,5-dienu (Sigma, czystość 99 %) w heksanie (10 mg w 50 ml).

5.7. Roztwór mianowany heksanu cholesta-3,5-dienu w stężeniu 20 części na milion (ppm), otrzymanym przez rozcieńczenie powyższego roztworu.

Uwaga 5:

Roztwory 5.6 i 5.7 są trwałe przez okres czterech miesięcy, jeżeli przechowuje się je w temperaturze niższej niż 4 ° C.

5.8. Roztwór n-nonakozanu w heksanie w stężeniu około 100 części na milion.

5.9. Gaz nośny do chromatografii: hel lub wodór o 99,9990 % czystości.

5.10. Gazy pomocnicze do detektora płomieniowo-jonizacyjnego: wodór o 99,9990 % czystości i oczyszczone powietrze.

6. PROCEDURA

6.1. **Przygotowanie substancji niezmydlającej się**

6.1.1. Odważyć 20 ± 0.1 g oliwy do 250-ml kolby (4.1), dodać 1 ml roztworu podstawowego cholesta-3,5-dienu (20 µg) i 75 ml 10-procentowego alkoholowego potażu, dopasować chłodnicę zwrotną, i podgrzewać do lekkiego wrzenia przez 30 minut. Zdjąć kolbę z próbką z ognia i odstawić, żeby nieco ostygła (nie wolno dopuścić do zupełnego ostygnięcia, ponieważ próbka zestali się). Dodać 100 ml wody i przenieść roztwór do rozdzielacza (4.2) przy pomocy 100 ml heksanu. Wstrząsać mieszaninę energicznie przez 30 sekund i odstawić do oddzielenia.

Uwaga 6:

Jeśli powstanie zawiesina, która nie zniknie w szybkim czasie, dodać małe ilości alkoholu etylowego.

6.1.2. Przenieść fazę wodną do drugiego rozdzielacza i ponownie ekstrahować za pomocą 100 ml heksanu. Jeszcze raz zlać niższą fazę i wymyć ekstrakty heksanu (połączone w kolejnym rozdzielaczu) trzy razy używając 100 ml mieszaniny etanol-woda (1:1) za każdym razem, dopóki pH nie stanie się obojętne.

6.1.3. Przepuścić roztwór heksanu przez bezwodny siarczan sodowy (50 g), wymyć 20 mililitrami heksanu i odparowywać w wyparce obrotowej w temperaturze 30 ° C pod zmniejszonym ciśnieniem aż do suchości.

6.2. **Oddzielenie sterydowej frakcji węglowodorowej**

6.2.1. Zebrać pozostałość do kolumny frakcjonującej przy pomocy dwóch 1-ml porcji heksanu, wprowadzić próbkę na kolumnę pozwalając, żeby poziom roztworu obniżył się do górnej powierzchni siarczanu sodowego i rozpocząć wymywanie chromatograficzne heksanem przy prędkości przepływu około 1 ml/min. Odrzucić pierwszych 25-30 ml eluatu, potem zebrać następnych 40 ml frakcji. Po zebraniu przenieść tę frakcję do 100-ml kolb okrągłodennych.

Uwaga 7:

Pierwsza frakcja zawiera węglowodory nasycone (rys 1a), a druga frakcja steroidowe. Dalsze wymywanie daje skwalen i pokrewne związki. W celu uzyskania dobrego oddzielenia węglowodorów nasyconych od steroidowych, niezbędna jest optymalizacja objętości frakcji. W tym celu należy dostosować objętość pierwszej frakcji tak, żeby przy analizowaniu drugiej frakcji piki reprezentujące węglowodory nasycone były niskie (patrz rys. 1c); jeżeli nie pojawiają się one, ale natężenie wzorcowego piku jest niskie, objętość powinna zostać zmniejszona. Zresztą całkowite oddzielenie komponentów pierwszej frakcji od drugiej nie jest potrzebne, ponieważ w czasie analizy przez chromatografię gazową piki nie nakładają się na siebie, jeżeli warunki chromatografii gazowej są takie, jak wskazano w ppkt 6.1.3. Optymalizacja objętości drugiej frakcji nie jest generalnie potrzebna, jako że istnieje dobra separacja z dalszymi składnikami. Niemniej jednak wystąpienie dużego piku przy około 1,5 minuty krótszym czasie retencji niż normalny jest spowodowane przez skwalen i jest oznaką złej separacji.

6.2.2. Odparować drugą frakcję w wyparce obrotowej w temperaturze 30 ° C pod zmniejszonym ciśnieniem do suchości i natychmiast rozpuścić pozostałość w 0,2 ml heksanu. Przechowywać roztwór w lodówce do czasu analizy.

Uwaga 8:

Pozostałości ppkt 6.1.3 i 6.2.2 nie powinny być przechowywane na sucho i w temperaturze pokojowej. Zaraz po otrzymaniu należy dodać rozpuszczalnik, a roztwory przechowywać w lodówce

6.3. **Chromatografia gazowa**

6.3.1. Warunki pracy podzielonej iniekcji:

— temperatura iniektora: 300 °C,

— temperatura detektora: 320 °C,

— integrator-rejestrator: parametry integracji powinny być ustalone tak, żeby oszacowanie pól było właściwe. Zalecany jest tryb integracji dolina-dolina.

— czułość: około 16 razy większa od minimalnego tłumienia,

— ilość wprowadzonego roztworu: 1 µl,

— temperatury programowania pieca: na wstępie 235 °C przez sześć minut, potem zwiększanie o 2 °C na minutę do 285 °C,

— iniektor z rozdzielaczem przepływu 1:15,

— nośnik: hel lub wodór o ciśnieniu około 120 kPa.

Warunki te muszą być dostosowane do właściwości chromatografu i kolumny, tak, żeby chromatogramy spełniały następujące wymagania: wewnętrzny pik standardowy w ciągu około pięciu minut od czasu podanego w ppkt 6.3.2., wewnętrzny pik standardowy powinien być w co najmniej 80 % pełnej skali.

Układ chromatografii gazowej musi zostać sprawdzony przez wstrzyknięcie mieszanki podstawowego roztworu cholestadienu (5.6) i roztworu n-nonakozanu (5.8). Pik cholesta-3,5-dienu musi pojawić się przed pikiem n-nonakozanu (rys. 1c); jeżeli tak się nie dzieje, można podjąć dwa działania: zmniejszyć temperaturę pieca lub użyć mniej polarnej kolumny.

6.3.2. Identyfikacja piku

Wewnętrzny standardowy pik pojawia się w około 19 minucie, a 3,5-stigmastadien we względnym czasie retencji 1,29 (patrz rys. 1b). 3,5-stigmastadien pojawia się z małymi ilościami izomeru i zazwyczaj oba wymywają się razem jako pojedynczy pik chromatograficzny. Niemniej jednak, jeżeli kolumna jest zbyt polarna lub wykazuje dużą rozdzielczość, izomer może pojawić się jako mały pik przed pikiem stygmasta-3,5-dienu (rys. 2). Aby zagwarantować, że stigmastadieny będą eluowane jako jeden pik, należałoby kolumnę zastąpić kolumną albo mniej polarną albo kolumną o większej średnicy wewnętrznej.

Uwaga 9:

Stigmastadieny odniesienia mogą być otrzymane z analizy jakiegoś rafinowanego oliwy roślinnego przez użycie mniejszej ilości próbki (1 do 2 g). Stigmastadieny dają wystający i łatwo rozpoznawalny pik.

6.3.3. Analiza ilościowa

Zawartość stigmastadienów jest określana według wzoru:

$$\text{mg/kg stigmastadienów} = \frac{A_s \times M_c}{A_c \times M_o}$$

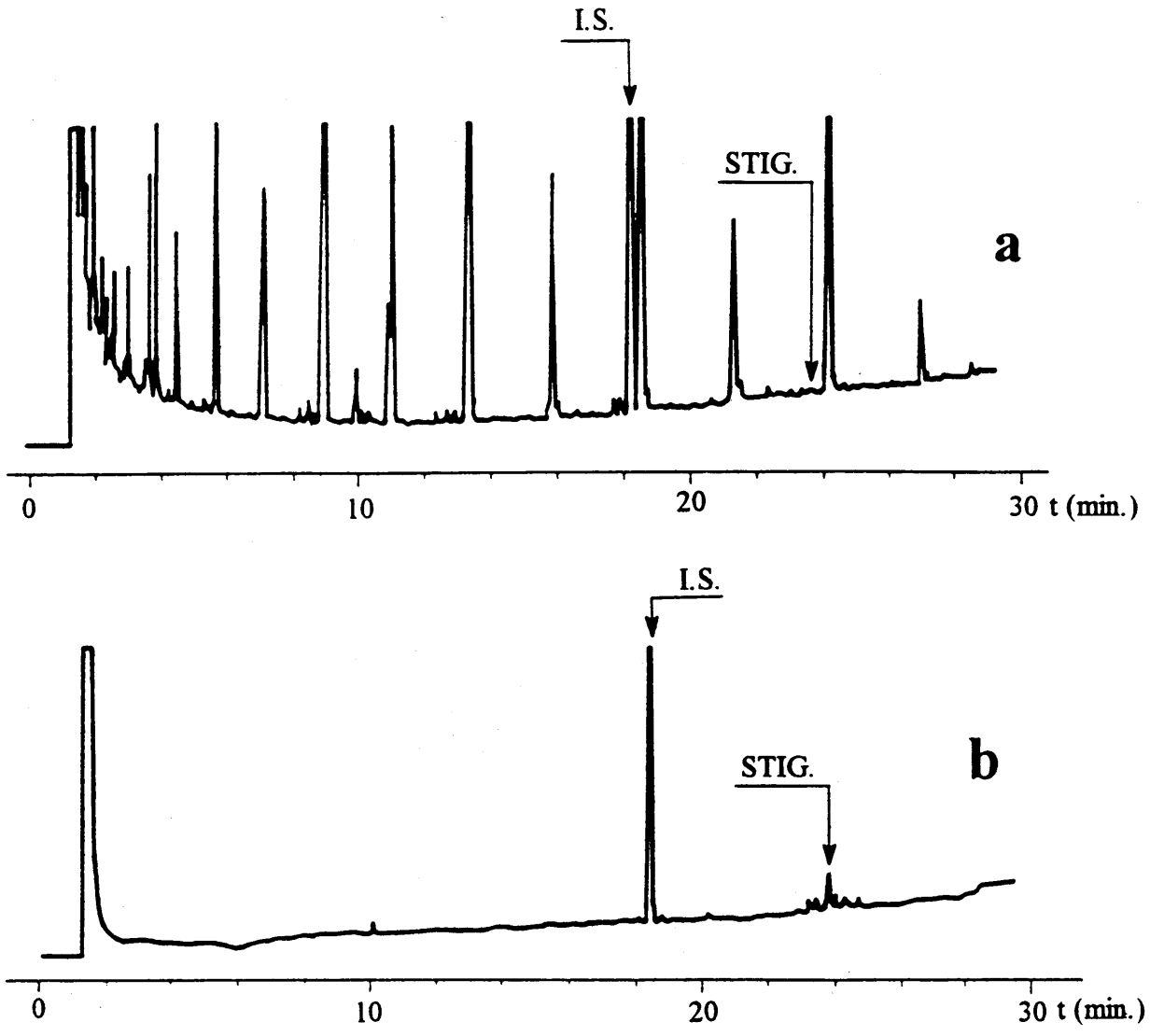
gdzie: A_s = pole piku stigmastadienów (jeżeli pik jest rozdzielony na dwa izomery, suma pól tych dwóch pików),

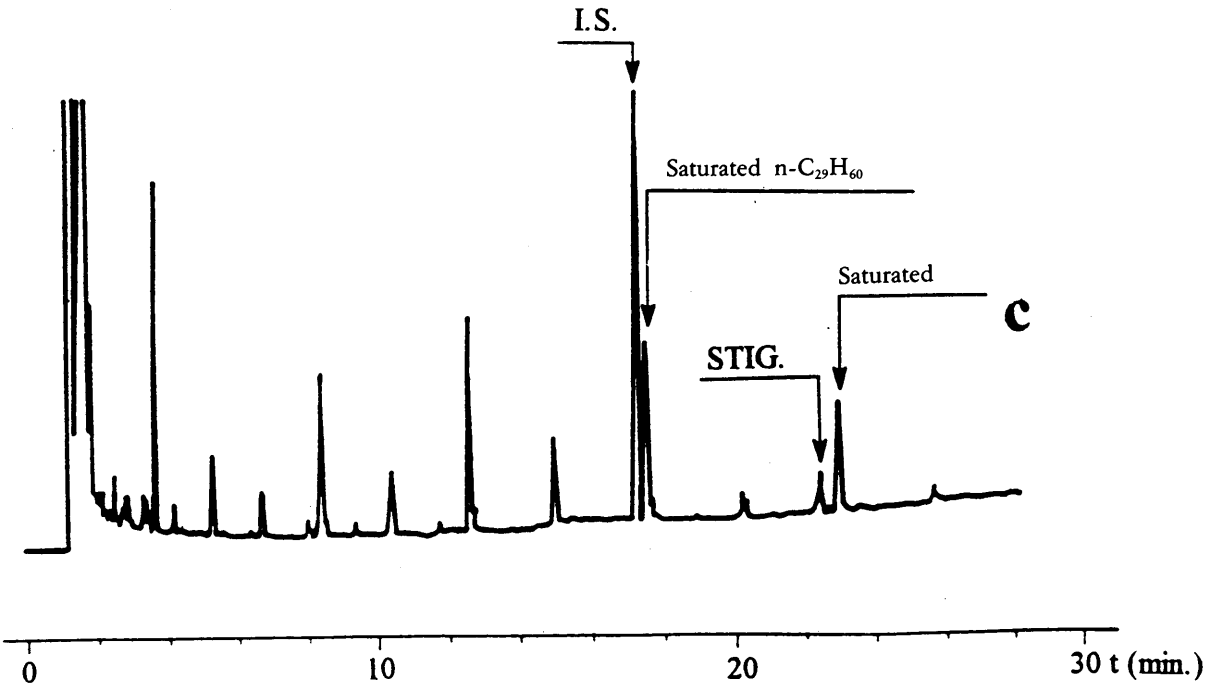
A_c = pole wewnętrznego standardu (cholestadien),

M_c = masa standardu dodanego, w mikrogramach,

M_o = masa użytej oliwy, w gramach.

Granica wykrycia: około 0,01 mg/kg."





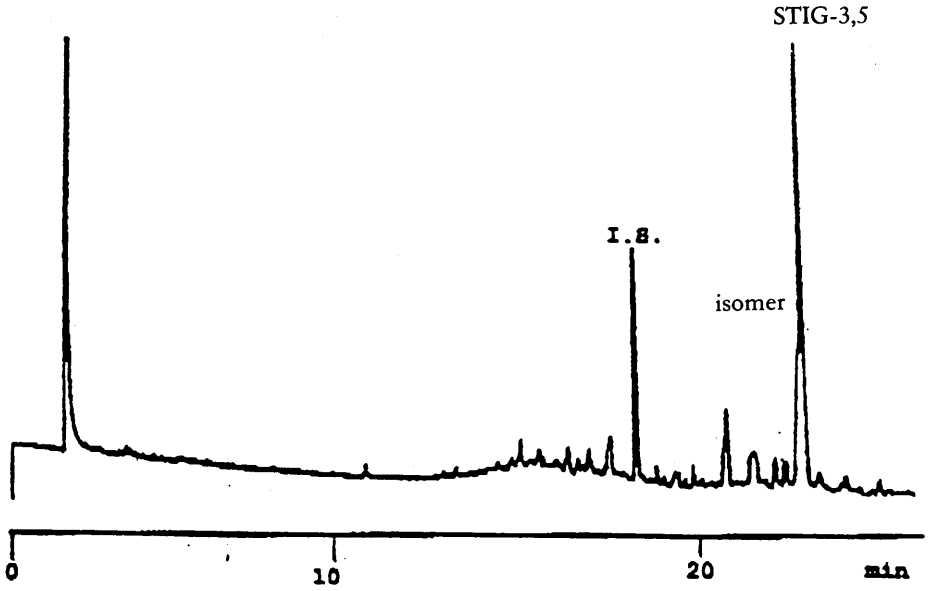
Rysunek 1

Chromatogramy gazowe otrzymane z próbek oliwy z oliwek analizowanych na kapilarnej kolumnie ze stopionej krzemionki (o średnicy wewnętrznej 0.25 mm na 25 m długości) pokrytej 5 % fenylometylosilikonem, o grubości filmu 0,25 μm.

a) Pierwsza frakcja (30 ml) z oliwy pierwszego tłoczenia, oznaczona standardem.

b) Druga frakcja (40 ml) z oliwy z oliwek zawierającej 0,10 mg/kg stigmastadienów.

c) Druga frakcja (40 ml) zawierająca małą porcję pierwszej frakcji.



Rysunek 2

Chromatogram gazowy otrzymany z próbki rafinowanej oliwy z oliwek analizowanej w kolumnie DB-5, wykazujący obecność izomeru 3,5-stigmastadienu.

ZAŁĄCZNIK II

„2. A. Pozycje 1509 i 1510 obejmują tylko rodzaje oliwy uzyskane z obróbki oliwek, właściwości kwasowego i sterolowego składu, których są następujące:

Tabela I

Skład kwasów tłuszczowych jako procentowa część całości kwasów tłuszczowych

Kwas tłuszczowy	Procent
Kwas mirystynowy	M 0,05
Kwas linolenowy	M 0,9
Kwas arachidowy	M 0,6
Kwas arachidynowy	M 0,4
Kwas behenowy (1)	M 0,3
Kwas lignocerowy	M 0,2

(1) M 0,2 dla oliw z pozycji 1509.

M = maksimum.

Tabela II

Skład steroli jako procentowa część całości steroli

Sterole	Norma procentowa
Cholesterol	M 0,5
Brassikasterol (1)	M 0,1
Kampesterol	M 4,0
Stigmasterol (2)	< Kampesterol
β-sitosterol (3)	m 93,0
Delta-7-stigmasterol	M 0,5

(1) M 0,2 do dnia 31.10.1995.

(2) Warunek nieważny w odniesieniu do oliwy lampante z oliwek pierwszego tłoczenia (podpozycja 1509 10 10) i dla oliwy z wytłoczyn oliwek (podpozycja 1510 00 10).

(3) Delta-5,23-stigmastadienol + klerosterol + Beta-sitosterol + sitostanol + Delta 5-avenasterol + Delta 5,24-stigmastadienol.

m = minimum.
M = maksimum.

Pozycje 1509 i 1510 nie obejmują chemicznie zmienionej oliwy (zwłaszcza reestryfikowanejoliwy) i mieszanek oliwy z oliwek z innymi olejami. Obecność reestryfikowanej oliwy z oliwek lub innych olejów ustala się przy użyciu metod wymienionych w załącznikach w zał. V, VI, IX A i X B do rozporządzenia (EWG) nr 2568/91.

B. Podpozycja 1509 10 obejmuje tylko rodzaje oliwy określone w sekcjach I i II, otrzymane jedynie przy użyciu mechanicznych lub innych fizycznych środków w warunkach, w szczególności warunkach cieplnych, które nie prowadzą do pogorszenia jakości oliwy; rodzaje oliwy, które nie zostały poddane żadnej innej obróbce oprócz mycia, dekantacji, odwirowania lub filtrowania. Oliwy otrzymane z oliwek przy użyciu rozpuszczalników są objęte pozycją 1510.

I. Do celów podpozycji 1509 10 10, »oliwa lampante z oliwek pierwszego tłoczenia«, niezależnie od jej kwasowości, oznacza oliwę z oliwek o:

a) zawartości wosku nieprzekraczającej 350 mg/kg,

b) zawartości erytrodiolu i uvaolu nieprzekraczającą 4,5 %,

c) zawartość kwasów tłuszczowych nasyconych w pozycji 2 w triglicerydach nieprzekraczająca 1,3 %,

d) sumie izomerów trans kwasu oleinowego nieprzekraczającej 0,10 % i sumie izomerów trans kwasów linolowego + linolenowego nieprzekraczającej 0,10 %;

oraz

e) jednej z następujących właściwości:

1. liczba nadtlenkowa nieprzekraczająca 20 meq 0_2/kg;

2. zawartość lotnych chlorowcowanych rozpuszczalników nie niższa niż 0,20 mg/kg lub nie niższa niż 0,10 % mg/kg w odniesieniu do każdego rozpuszczalnika;

3. współczynnik ekstynkcji K_{270} nie niższy niż 0,250, a po poddaniu oliwy działaniu aktywowanego tlenku glinu, nie wyższy niż 0,11. W rzeczywistości niektóre rodzaje oliwy, o zawartości większej niż 3,3 g na 100 g wolnych kwasów tłuszczowych w postaci kwasu oleinowego, mogą, po przejściu przez aktywowany tlenek glinowy, zgodnie z metodą opisaną w zał. IX do rozporządzenia (EWG) nr 2568/91, mieć współczynnik absorpcji K_{270} wyższy niż 0,10. W takim przypadku po neutralizacji i odbarwieniu w laboratorium, zgodnie z metodą opisaną w zał. XIII do wyżej wspomnianego rozporządzenia, muszą odznaczać się następującymi cechami:

— współczynnik absorpcji K_{270} nie wyższy niż 1,20,

— odmiana współczynnika ekstynkcji (ΔK) w obszarze 270 nm ponad 0,01, ale nie większa niż 0,16, tj.:

$\Delta K = K_m - 0{,}5\ (K_{m-4} + K_{m+4})$

K_m = współczynnik ekstynkcji na długości fali maksymalnej krzywej absorpcji w rejonie 270 nm, i

K_{m-4} i K_{m+4} = współczynnik ekstynkcji długości 4 nm niższy a wyższy niż długość fali K_m;

4. właściwości organoleptyczne, które obejmują wykrywalne wady przekraczające granice dopuszczalności i wynik próby, przeprowadzonej przez zespół oceniający, niższy niż 3,5, zgodnie z zał. XII do rozporządzenia (EWG) nr 2568/91;

5. zawartość stigmastadienów nieprzekraczająca 0,50 mg/kg.

II. Do celów podpozycji 1509 10 90, »oliwa pierwszego tłoczenia« oznacza oliwę z oliwek posiadającą następujące właściwości:

a) zawartość kwasów wyrażona jako zawartość kwasu oleinowego nieprzekraczająca 3,3 g na 100 g;

b) liczba nadtlenkowa nieprzekraczająca 20 meq 0_2/kg

c) zawartość wosku nieprzekraczająca 250 mg/kg;

d) zawartość lotnych fluorowcowanych rozpuszczalników nieprzekraczająca 0,20 mg/kg ogółem i nieprzekraczająca 0,10 mg/kg w przypadku każdego rozpuszczalnika;

e) współczynnik ekstynkcji K_{270} nie wyższy niż 0,250 oraz, po obróbce oliwy aktywowanym tlenkiem glinu, nie wyższy niż 0,10;

f) zmienność współczynnika ekstynkcji (ΔK) (1) w obszarze 270 nm ponad 0,01;

g) właściwości organoleptyczne, które mogą obejmować wykrywalne defekty w granicach dopuszczalności i wynik próby, przeprowadzonej przez zespół oceniający, nie niższy niż 3,5, zgodnie z zał. XII do rozporządzenia (EWG) nr 2568/91;

h) zawartość erytrodiolu i uvaolu nieprzekraczającą 4,5 %;

ij) zawartość kwasów tłuszczowych nasyconych w pozycji 2 w triglicerydach nieprzekraczająca 1,3 %;

k) suma izomerów trans kwasu oleinowego nieprzekraczająca 0,05 %, a suma izomerów trans kwasu linolowego + linolenowego nieprzekraczająca 0,05 mg/kg;

l) zawartość stigmastadienów nieprzekraczająca 0,15 mg/kg.

C. Podpozycja 1509 90 00 obejmuje oliwę z oliwek uzyskaną przez przetwarzanie oliw z oliwek ujętych w podpozycjach 1509 10 10 lub 1509 10 90, zmieszanych lub nie z oliwą z oliwek pierwszego tłoczenia, o następujących właściwościach:

a) zawartość kwasów wyrażona jako zawartość kwasu oleinowego nieprzekraczająca 1,5 g na 100 g:

b) zawartość wosku nieprzekraczająca 350 mg/kg;

c) współczynnik ekstynkcji K_{270} (100) nie wyższy niż 1,0;

d) zmienność współczynnika ekstynkcji (ΔK) (1) w obszarze 270 nm ponad 0,13;

e) erytrodiolu i uvaolu nieprzekraczającą 4,5 %;

f) zawartość kwasów tłuszczowych nasyconych w pozycji 2 w triglicerydach nieprzekraczająca 1,5 %;

g) suma izomerów trans kwasu oleinowego nieprzekraczająca 0,20 % i suma izomerów trans kwasów linolowego + linolenowego nieprzekraczająca 0,30 %.

D. Do celów podpozycji 1510 00 10, pojęcie »oleje surowe« oznacza oleje, w szczególności oliwę z wytłoczyn oliwek, o następujących właściwościach:

a) zawartość kwasów wyrażona jako zawartość kwasu oleinowego przekraczająca 2 g na 100 g;

b) zawartość erytrodiolu i uvaolu nieprzekraczającą 12 %;

c) zawartość kwasów tłuszczowych nasyconych w pozycji 2 w triglicerydach nieprzekraczająca 1,8 %;

d) suma izomerów trans kwasu oleinowego nieprzekraczająca 0,20 %, a suma izomerów trans kwasów linolowego + linolenowego nieprzekraczająca 0,10 %.

E. Podpozycja 1510 00 90 obejmuje oleje otrzymane przez obróbkę olejów objętych podtytułem 1510 00 10, niezależnie od tego, czy są zmieszane z oliwą z oliwek z pierwszego tłoczenia, oraz oleje nieposiadające właściwości olejów określone w dodatkowych uwagach 2 B, 2 C i 2 D. Oleje objęte tym podtytułem muszą mieć zawartość kwasów tłuszczowych nasyconych w pozycji 2 w triglicerydach nieprzekraczającą 2,0 %, sumę izomerów trans kwasu oleinowego niższą niż 0,4 %, a sumę izomerów trans kwasów linolowego + linolenowego niższą niż 0,35 %.

3. Podpozycje 1522 00 31 i 1522 00 39 nie obejmują:

a) pozostałości po przetworzeniu substancji tłuszczowych zawierających olej o liczbie jodowej ustalonej przy użyciu metody opisanej w zał. XVI do rozporządzenia (EWG) nr 2568/91 niższej niż 70 lub wyższej od 100;

b) pozostałości po przetworzeniu substancji tłuszczowych zawierających olej o liczbie jodowej nie niższej niż 70 lub wyższej niż 100, w przypadku którego powierzchnia pików reprezentujących objętość retencji Beta-sitosterolu [1], ustalona zgodnie z zał. V do rozporządzenia nr 2568/91 jest mniejsza niż 93,0 % powierzchni pików całkowitych steroli.

4. Metody analityczne oznaczania charakterystyki produktów, określonych powyżej, to metody ustanowione w załącznikach do rozporządzenia (EWG) nr 2568/91.

---

[1] Delta-5,23-stigmastadienol + klerosterol + Beta-sitosterol + sitostanol + Delta 5-avenasterol + Delta 5,24-stigmastadienol."