UITVOERINGSVERORDENING (EU) Nr. 299/2013 VAN DE COMMISSIE

van 26 maart 2013

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") ([1]), en met name artikel 113, lid 1, onder a), en artikel 121, eerste alinea, onder a), juncto artikel 4,

Overwegende hetgeen volgt:

(1) In Verordening (EEG) 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 ([2]) zijn de chemische en organoleptische kenmerken van olijfolie en olie uit afvallen van olijven vastgesteld, alsmede de methoden om die kenmerken te beoordelen. Deze methoden dienen te worden bijgewerkt op basis van het advies van chemisch deskundigen en het werk dat in de Internationale Olijfolieraad (hierna „IOR" genoemd) is verricht.

(2) Uit hoofde van artikel 113, lid 3, van Verordening (EG) nr. 1234/2007 gaan de lidstaten na of olijfoliën en oliën uit afvallen van olijven voldoen aan de handelsnormen die zijn vastgesteld in Verordening (EEG) nr. 2568/91 en leggen zij indien nodig passende sancties op. In de artikelen 2 en 2 bis van Verordening (EEG) nr. 2568/91 zijn uitvoeringsbepalingen voor deze normcontroles vastgesteld. Deze bepalingen dienen te waarborgen dat olijfolie waarvoor een kwaliteitsstandaard is vastgesteld, daadwerkelijk voldoet aan deze standaard. De bepalingen dienen verder te worden uitgewerkt en dienen in een risicoanalyse te voorzien. Met het oog op deze normcontroles dient de term „in de handel gebrachte olijfolie" te worden gedefinieerd.

(3) Uit ervaring is gebleken dat bepaalde risico's op fraude de door Verordening (EEG) nr. 2568/91 geboden consumentenbescherming beknotten. Daarom dienen houders van olijfolie voor elke categorie oliën een in- en uitslagregister bij te houden. Om buitensporige administratieve lasten te vermijden zonder daarbij de doelstellingen van het olijfolieregister in het gedrang te brengen, is het passend te bepalen dat slechts informatie hoeft te worden verzameld tot de fase van het bottelen van de olijfolie.

(4) Om de follow-up te garanderen en de maatregelen van Verordening (EEG) nr. 2568/91 te evalueren, dienen de lidstaten de Commissie niet enkel in kennis te stellen van hun nationale uitvoeringsmaatregelen, maar eveneens van de resultaten van de normcontroles.

(5) Met het oog op een verdere harmonisatie met de internationale door de IOR vastgestelde standaarden dienen bepaalde in Verordening (EEG) nr. 2568/91 vastgestelde analysemethoden te worden bijgewerkt. Bijgevolg dient de in bijlage XVIII bij die verordening bedoelde analysemethode te worden vervangen door een doeltreffendere methode. Ook is het dienstig bepaalde inconsistenties en onvolmaaktheden van de in bijlage IX daarbij bedoelde analysemethoden weg te werken.

(6) Een overgangsperiode is noodzakelijk opdat de lidstaten de nieuwe bij deze verordening vastgestelde bepalingen kunnen toepassen.

(7) De Commissie heeft een informatiesysteem voor het elektronische beheer van documenten en procedures ontwikkeld in het kader van haar eigen interne werkprocedures en haar betrekkingen met de bij het gemeenschappelijk landbouwbeleid betrokken autoriteiten. Aangenomen wordt dat via dat systeem aan de in Verordening (EEG) nr. 2568/91 vastgestelde rapportageverplichtingen kan worden voldaan overeenkomstig Verordening (EG) nr. 792/2009 van de Commissie van 31 augustus 2009 tot vaststelling van de uitvoeringsbepalingen voor de kennisgeving door de lidstaten aan de Commissie van de informatie en de documenten ter uitvoering van de gemeenschappelijke marktordening, de regeling voor rechtstreekse betalingen, de afzetbevordering voor landbouwproducten en de regelingen voor de ultraperifere gebieden en de kleinere eilanden in de Egeïsche Zee ([3]).

(8) Verordening (EEG) nr. 2568/91 moet daarom dienovereenkomstig worden gewijzigd.

(9) Het Beheerscomité voor de gemeenschappelijke ordening van de landbouwmarkten heeft geen advies uitgebracht binnen de door zijn voorzitter vastgestelde termijn,

HEEFT DE VOLGENDE VERORDENING VASTGESTELD:

Artikel 1

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

1) Artikel 2 bis wordt vervangen door:

„*Artikel 2 bis*

1. In het kader van dit artikel wordt onder „in de handel gebrachte olijfolie" verstaan: de totale hoeveelheid olijfolie en olie uit afvallen van olijven van een bepaalde lidstaat die in die lidstaat wordt verbruikt of die wordt uitgevoerd uit die lidstaat.

([1]) PB L 299 van 16.11.2007, blz. 1.
([2]) PB L 248 van 5.9.1991, blz. 1.
([3]) PB L 228 van 1.9.2009, blz. 3.

2. De lidstaten zien erop toe dat op een risicoanalyse gebaseerde normcontroles zorgvuldig en voldoende frequent worden verricht om te garanderen dat de in de handel gebrachte olijfolie overeenstemt met de opgegeven categorie.

3. Als criteria voor de beoordeling van het risico kunnen de volgende gegevens in aanmerking worden genomen:

a) de categorie olie, de productieperiode, de prijs van de olie in verhouding tot andere plantaardige oliën, de meng- en verpakkingshandelingen, de opslagvoorzieningen en -omstandigheden, het land van oorsprong, het land van bestemming, de vervoermiddelen of het volume van de partij;

b) de positie van de marktdeelnemers in de afzetketen, het volume en/of de waarde van de door hen afgezette producten, de verschillende categorieën olie die zij in de handel brengen, de aard van hun werkzaamheden, zoals malen, opslag, raffinage, mengen, verpakken of kleinhandel;

c) uitkomsten van eerdere controles, waaronder het aantal en de aard van de geconstateerde afwijkingen, de gebruikelijke kwaliteit van de in de handel gebrachte olie, het prestatieniveau van de gebruikte technische uitrusting;

d) de betrouwbaarheid van de door de marktdeelnemer gebruikte kwaliteitsborgingssystemen of internecontrolesystemen met betrekking tot de naleving van de handelsnormen;

e) de plaats waar de controle wordt uitgevoerd, in het bijzonder als het gaat over de plaats waar de olie de Unie binnenkomt, waar deze de Unie verlaat of waar deze wordt geproduceerd, verpakt, geladen of verkocht aan de eindverbruiker;

f) andere gegevens die kunnen wijzen op een risico van niet-naleving.

4. De lidstaten stellen vooraf het volgende vast:

a) de criteria voor de beoordeling van het risico dat partijen niet aan de handelsnormen voldoen;

b) op basis van een risicoanalyse voor elke risicocategorie, het minimumaantal marktdeelnemers of partijen en/of hoeveelheden die aan een normcontrole zullen worden onderworpen.

Jaarlijks wordt ten minste één normcontrole verricht per duizend ton olijfolie die in de lidstaat in de handel wordt gebracht.

5. De lidstaten gaan de naleving na door:

a) de in bijlage I voorgeschreven analyses uit te voeren in om het even welke volgorde; of

b) de in bijlage I ter betreffende het beslissingsschema bepaalde volgorde te volgen totdat dit proces uitmondt in een van de in dat schema vermelde beslissingen.".

2) Artikel 3 wordt vervangen door:

„Artikel 3

Wanneer wordt geconstateerd dat een bepaalde olie verschilt van de beschrijving van de categorie waartoe deze behoort, past de betrokken lidstaat, onverminderd eventuele andere sancties, doeltreffende, evenredige en afschrikkende boeten toe, waarvan de hoogte wordt bepaald op basis van de ernst van de geconstateerde onregelmatigheid.

Wanneer bij controles significante onregelmatigheden aan het licht komen, verrichten de lidstaten frequentere controles van het handelsstadium, de categorie olie, de oorsprong of andere parameters.".

3) Het volgende artikel 7 bis wordt ingevoegd:

„Artikel 7 bis

De natuurlijke of rechtspersonen en de groepen personen die, in welke hoedanigheid dan ook, beroepshalve of voor handelsdoeleinden olijfolie en olie uit afvallen van olijven, vanaf de winning in de molen tot en met de botteling, in hun bezit hebben, zijn verplicht registers bij te houden waarin met name elke in- of uitslag van elke categorie van deze oliën wordt vermeld.

De lidstaten zien erop toe dat de in de eerste alinea bedoelde verplichting naar behoren wordt nageleefd.".

4) Artikel 8 wordt vervangen door:

„Artikel 8

1. De lidstaten stellen de Commissie in kennis van de ter uitvoering van deze verordening genomen maatregelen. Zij stellen de Commissie in kennis van latere wijzigingen.

2. Uiterlijk op 31 mei van elk jaar dienen de lidstaten bij de Commissie een verslag in over de tenuitvoerlegging van deze verordening in het voorgaande kalenderjaar. Dit verslag bevat op zijn minst de resultaten van de volgens de modellen in bijlage XXI op olijfolie verrichte normcontroles.

3. De in deze verordening bedoelde kennisgevingen worden gedaan overeenkomstig Verordening (EG) nr. 792/2009 van de Commissie (*).

(*) PB L 228 van 1.9.2009, blz. 3.".

5) Bijlage IX wordt vervangen door de tekst in bijlage I bij deze verordening.

6) Bijlage XVIII wordt vervangen door de tekst in bijlage II bij deze verordening.

7) Bijlage XXI, waarvan de tekst is weergegeven in bijlage III bij deze verordening, wordt toegevoegd.

Artikel 2

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

Zij is van toepassing met ingang van 1 januari 2014. Artikel 8, lid 2, is evenwel van toepassing met ingang van 1 januari 2015.

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

Gedaan te Brussel, 26 maart 2013.

Voor de Commissie
De voorzitter
José Manuel BARROSO

BIJLAGE I

„BIJLAGE IX

SPECTROFOTOMETRISCH ONDERZOEK IN HET ULTRAVIOLETTE GEBIED

OPMERKING VOORAF

Spectrofotometrisch onderzoek in het ultraviolette gebied kan informatie verschaffen over de kwaliteit van een vet, de toestand van bewaring en veranderingen veroorzaakt door technologische processen.

De absorptie bij de in deze methode aangegeven golflengten wordt veroorzaakt door de aanwezigheid van geconjugeerde dieen- en trieensystemen. Deze absorpties worden uitgedrukt als de specifieke extincties $E^{1\,\%}_{1\,cm}$ (de extinctie van een 1 %-oplossing van het vet in het aangegeven oplosmiddel, bij een optische weglengte van 1 cm), en worden volgens afspraak als K, ook extinctiecoëfficiënt genoemd, opgegeven.

1. DOEL

Deze methode beschrijft de werkwijze voor de uitvoering van een spectrofotometrisch onderzoek van olijfolie (als omschreven in het aanhangsel) in het ultraviolette gebied.

2. PRINCIPE VAN DE METHODE

Het te onderzoeken vet wordt opgelost in het vereiste oplosmiddel; vervolgens wordt de extinctie bepaald bij de opgegeven golflengten ten opzichte van het zuivere oplosmiddel. De specifieke extincties worden uit de aflezingen van de spectrofotometer berekend. De specifieke absorptie bij 232 nm en 268 nm in iso-octaan of bij 232 nm en 270 nm in cyclohexaan van een concentratie van 1 g per 100 ml in een 10 mm-cuvet wordt berekend.

3. APPARATUUR

3.1. Een spectrofotometer, geschikt voor metingen in het ultraviolette gebied tussen 220 en 360 nm, instelbaar tot op de nm nauwkeurig. Het verdient aanbeveling vóór het gebruik de golflengte- en de absorptieschaal van de spectrometer als volgt te controleren.

3.1.1. *Golflengteschaal:* Deze kan worden gecontroleerd met behulp van een referentiemateriaal bestaande uit een optische glasfilter met holmiumoxide, dat karakteristieke absorptiebanden vertoont. Het referentiemateriaal is bestemd voor de verificatie en ijking van de golflengteschalen van zichtbaarlicht- en ultravioletspectrofotometers met een nominale spectrale bandbreedte van 5 nm of minder. De absorptie door de holmiumglasfilter wordt gemeten ten opzichte van een blanco monster (lucht) over het golflengtebereik van 640 tot 240 nm. Voor elke spectrale bandbreedte (0,10 – 0,25 – 0,50 – 1,00 – 1,50 – 2,00 en 3,00) wordt een basislijncorrectie uitgevoerd met een lege cuvethouder. De golflengten van de spectrale bandbreedte worden vermeld in het certificaat van het referentiemateriaal in ISO 3656.

3.1.2. *Absorptieschaal:* Deze kan worden gecontroleerd met behulp van een referentiemateriaal bestaande uit vier oplossingen van kaliumdichromaat in perchloorzuur, ingesloten in vier UV-kwartscuvetten, ter bepaling van de lineariteit en de fotometrische referentienauwkeurigheid in het UV-gebied. De metingen aan de met kaliumdichromaatoplossing gevulde cuvetten (40 mg/ml, 60 mg/ml, 80 mg/ml en 100 mg/ml) worden verricht ten opzichte van een perchloorzuur-blancomonster. De netto-absorptiewaarden worden vermeld in het certificaat van het referentiemateriaal in ISO 3656.

3.2. Kwartscuvetten, met deksel, met een optische weglengte van 1 cm. Gevuld met water of een ander geschikt oplosmiddel mogen de cuvetten onderling geen verschillen vertonen groter dan 0,01 extinctie-eenheden.

3.3. Maatkolven van 25 ml.

3.4. Analytische balans, afleesbaar tot op 0,0001 g nauwkeurig.

4. REAGENTIA

Gebruik uitsluitend reagentia die p.a. zijn, tenzij anders wordt bepaald.

Oplosmiddel: iso-octaan (2,2,4-trimethylpentaan) voor metingen bij 232 nm en 268 nm of cyclohexaan voor metingen bij 232 nm en 270 nm, met een absorptie van minder dan 0,12 bij 232 nm en minder dan 0,05 bij 250 nm ten opzichte van gedistilleerd water, als gemeten in een 10 mm-cuvet.

5. WERKWIJZE

5.1. Het te onderzoeken monster dient volledig homogeen te zijn en vrij van onzuiverheden. Oliën die bij kamertemperatuur vloeibaar zijn, worden over papier gefiltreerd bij een temperatuur van ongeveer 30 °C, vetten worden gehomogeniseerd en gefiltreerd bij een temperatuur die niet meer dan 10 °C boven het smeltpunt ligt.

5.2. Weeg 0,25 g van het voorbehandelde monster (tot op 1 mg nauwkeurig) af in een maatkolf van 25 ml, vul aan tot de streep met het aangegeven oplosmiddel en homogeniseer. De verkregen oplossing moet volmaakt helder zijn. Indien opalescentie of troebeling optreedt, dient direct over papier te worden gefiltreerd.

5.3. Vul een kwartscuvet met deze oplossing en meet de extincties ten opzichte van het oplosmiddel bij geschikte golflengten tussen 232 en 276 nm.

De gemeten extinctiewaarden moeten tussen 0,1 en 0,8 liggen. Zo niet, dan moeten de metingen worden herhaald bij een aangepaste inweeg van het monster.

OPMERKING: Het is niet altijd noodzakelijk de absorptie over het hele golflengtebereik te bepalen.

6. WEERGAVE VAN DE RESULTATEN

6.1. Geef de specifieke extincties op, die bij de verschillende golflengten als volgt worden berekend:

$$K_\lambda = \left(\frac{E_\lambda}{c \cdot s} \right)$$

waarin:

K_λ = specifieke extinctie bij golflengte λ,

E_λ = extinctie, gemeten bij golflengte λ;

c = gehalte van de oplossing, in g/100 ml;

s = optische weglengte, in cm.

De resultaten dienen te worden opgegeven met twee cijfers achter de komma.

6.2. **Variatie van de specifieke extinctie (ΔK)**

Het spectrofotometrisch onderzoek van olijfolie volgens de officiële, bij de wetgeving van de Unie voorgeschreven methode behelst tevens de bepaling van de variatie van de absolute waarde van de specifieke extinctie (ΔK) volgens de formule:

$$\Delta K = |K_m - \left(\frac{K_{m-4} + K_{m+4}}{2} \right)|$$

waarin K_m de specifieke extinctie is bij golflengte m, de golflengte van het absorptiemaximum, welke afhangt van het gebruikte oplosmiddel: 270 nm voor cyclohexaan en 268 nm voor iso-octaan.

Aanhangsel

KENMERKEN VAN OLIJFOLIE

	Categorie	Methylesters van vetzuren (FAMEs) en ethylesters van vetzuren (FAEEs)	Zuurgraad (%) (*)	Peroxidegetal mEq O2/kg/ (*)	Was mg/kg (**)	Glycerol-2-monopalmitaat (%)	Stigmastadiënen mg/kg (1)	Verschil ECN42 (HPLC) en ECN42 (theoretische berekening)	K_{232} (*)	K_{270} (*) 'K 270 of K 268 (5)'	Delta-K (*) (5)	Organoleptische beoordeling Mediaan voor de gebreken (Md) (*)	Organoleptische beoordeling Mediaan 'fruitig' (Mf) (*)
1.	Extra olijfolie van eerste persing	Σ FAME + FAEE ≤75 mg/kg or 75 mg/kg <Σ FAME + FAEE ≤150 mg/kg and (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 ≤ 3,5	Mf > 0
3.	Olijfolie voor verlichting	—	> 2,0	—	≤ 300 (3)	≤ 0,9 als % palmitinezuur totaal ≤ 14 % ≤ 1,1 als % palmitinezuur totaal > 14%	≤ 0,50	≤ 0,3	—	—	—	Md > 3,5 (2)	—
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 (4)	≤ 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	—	—

(1) Totaal van de isomeren dat (al dan niet) kan worden gescheiden over een capillaire kolom.
(2) Of als de mediaan voor de gebreken niet hoger is dan 3,5 en de mediaan 'fruitig' gelijk is aan 0.
(3) 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%.
(4) 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 erytrodiol en uvaol meer bedraagt dan 3,5%.
(5) K 270 indien het oplosmiddel cyclohexaan is, K 268 indien het oplosmiddel iso-octaan is."

BIJLAGE II

„BIJLAGE XVIII

BEPALING VAN HET VERSCHIL TUSSEN HET WERKELIJKE EN HET THEORETISCHE GEHALTE AAN TRIACYLGLYCEROLEN MET ECN 42

1. DOEL

Bepaling van het absolute verschil tussen de experimentele waarde van het gehalte aan triacylglycerolen (TAG's) met equivalent koolstofgetal 42 (ECN 42_{HPLC}), verkregen door hogedrukvloeistofchromatografie van de olie, en de theoretische waarde van het gehalte aan TAG's met equivalent koolstofgetal 42 (ECN $42_{theoretisch}$) berekend op basis van de vetzuursamenstelling.

2. TOEPASSINGSGEBIED

De norm geldt voor olijfolie. De methode geldt voor het detecteren van de aanwezigheid van kleine hoeveelheden zaadolie (rijk aan linolzuur) in elke klasse olijfolie.

3. PRINCIPE

Het gehalte aan triacylglycerolen met ECN 42 bepaald door middel van HPLC-analyse en het theoretische gehalte aan triacylglycerolen met ECN 42 (berekend op basis van de GLC-bepaling van de vetzuursamenstelling) stemmen voor echte olijfoliën binnen bepaalde grenzen overeen. Een verschil groter dan de voor elk soort olie vastgestelde waarde wijst erop dat de olie zaadolie bevat.

4. METHODE

De methode voor de berekening van het theoretische gehalte aan triacylglycerolen met ECN 42 en van het verschil tussen dit gehalte en het resultaat van de HPLC-analyse bestaat in wezen uit het vergelijken van de met andere methoden verkregen analysegegevens. Er kunnen drie fasen worden onderscheiden: bepaling van de vetzuursamenstelling door capillaire gaschromatografie, berekening van de theoretische samenstelling van triacylglycerolen met ECN 42, en bepaling van het gehalte aan triacylglycerolen met ECN 42 door HPLC-analyse.

4.1. **Apparatuur**

4.1.1. Rondbodemkolven 250 en 500 ml.

4.1.2. Bekerglazen 100 ml.

4.1.3. Glazen chromatografiekolom, inwendige diameter 21 mm, lengte 450 mm, kraan, met taps slijpstuk (vrouwelijk) bovenaan.

4.1.4. Scheitrechters van 250 ml, met taps slijpstuk (mannelijk) onderaan, geschikt om boven aan de kolom te worden bevestigd.

4.1.5. Glazen staaf, lengte 600 mm.

4.1.6. Glazen trechter, diameter 80 mm.

4.1.7. Maatkolven van 50 ml.

4.1.8. Maatkolven van 20 ml.

4.1.9. Rotatieverdamper.

4.1.10. Hogedrukvloeistofchromatografie, met gethermostatiseerde kolomtemperatuur.

4.1.11. Injectietoestellen voor inspuiten van hoeveelheden van 10 µl.

4.1.12. Detector: differentiële refractometer. De gevoeligheid van de volle uitslag dient ten minste 10^{-4} eenheden van de brekingsindex te bedragen.

4.1.13. Kolom: roestvrijstalen buis, 250 mm (lengte) × 4,5 mm (inwendige diameter), gepakt met silicadeeltjes met een diameter van 5 µm en met 22 tot 23 % koolstof in de vorm van octadecylsilaan.

4.1.14. Gegevensverwerkingssoftware.

4.1.15. Flesjes met een inhoud van ongeveer 2 ml, met teflon beklede septa en schroefdoppen.

4.2. **Reagentia**

De reagentia dienen van „pro analysi"-kwaliteit te zijn. Elutievloeistoffen dienen te worden ontgast en kunnen verschillende keren worden hergebruikt zonder gevolgen voor de scheidingen.

4.2.1. Petroleumether 40-60 °C voor chromatografie of hexaan.

4.2.2. Ethylether, vrij van peroxiden, zojuist gedistilleerd.

4.2.3. Elutievloeistof voor het zuiveren van de olie door kolomchromatografie: mengsel van petroleumether/ethylether 87/13 (v/v).

4.2.4. Silicagel, korrelgrootte 70-230 mesh, type Merck 7734, op een standaardwatergehalte van 5 % gebracht (m/m).

4.2.5. Glaswol.

4.2.6. Aceton voor HPLC.

4.2.7. Acetonitril of propionitril voor HPLC.

4.2.8. HPLC-elutievloeistof: acetonitril + aceton (verhouding aan te passen om de gewenste scheiding te krijgen; begin met een 50:50 mengsel) of propionitril.

4.2.9. Oplosmiddel: aceton.

4.2.10. Referentietriglyceriden: ofwel kunnen triglyceriden van handelskwaliteit (tripalmitaat, trioleïne enz.) worden gebruikt, waarvan de retentietijden worden uitgezet volgens het equivalent koolstofgetal, ofwel kunnen referentiechromatogrammen worden verkregen uitgaande van sojaolie, een 30:70 mengsel sojaolie/olijfolie en pure olijfolie (zie opmerkingen 1 en 2 en figuren 1 tot en met 4).

4.2.11. Vastefase-extractiekolom (SPE-kolom) met silicafase 1 g, 6 ml.

4.3. **Voorbereiding van het monster**

Aangezien een aantal interfererende stoffen vals positieve resultaten kunnen veroorzaken, moet het monster altijd worden gezuiverd volgens IUPAC-methode 2.507 betreffende de bepaling van polaire stoffen in bakvetten.

4.3.1. *Bereiding van de chromatografiekolom*

Vul de kolom (4.1.3) met circa 30 ml elutievloeistof (4.2.3); breng een prop glaswol (4.2.5) in en druk deze met de glazen staaf (4.1.5) tot onder in de kolom.

Bereid in een bekerglas van 100 ml een suspensie van 25 g silicagel (4.2.4) in 80 ml van het elutiemengsel (4.2.3) en breng deze over in de kolom met behulp van een glazen trechter (4.1.6).

Om er zeker van te zijn dat het silicagel volledig in de kolom wordt overgebracht, het bekerglas met het elutiemengsel uitspoelen en de wasporties ook in de kolom overbrengen.

De kraan aan de kolom openen en het oplosmiddel eruit laten stromen tot de vloeistofspiegel van de elutievloeistof 1 cm boven het silicagel staat.

4.3.2. *Kolomchromatografie*

Weeg op 0,001 g nauwkeurig 2,5 ± 0,1 g gefiltreerde, gehomogeniseerde en, indien nodig, gedroogde olie af in een maatkolf van 50 ml (4.1.7).

Los op in ongeveer 20 ml elutievloeistof (4.2.3). Indien nodig, licht verwarmen om het oplossen te vergemakkelijken. Laat het mengsel afkoelen tot omgevingstemperatuur en vul tot de maatstreep aan met elutievloeistof.

Breng met een maatpipet 20 ml van de oplossing aan op de volgens punt 4.3.1 bereide kolom; open de kraan en laat het oplosmiddel uitstromen tot het niveau van het silicagel.

De oplossing moet vervolgens worden geëlueerd met 150 ml elutievloeistof (4.2.3), waarbij de stroomsnelheid wordt afgeregeld tot ongeveer 2 ml/min (zodat 150 ml in 60-70 minuten door de kolom stroomt).

Vang het eluaat op in een kolf van 250 ml (4.1.1) die vooraf in de oven is gekalibreerd en exact is gewogen. Verwijder het oplosmiddel bij lage druk in een rotatieverdamper (4.1.9) en weeg het residu; hiermee wordt de oplossing bereid voor HPLC-analyse en voor de bereiding van de methylesters.

Voor de categorieën extra olijfolie van eerste persing, olijfolie van eerste persing, geraffineerde olijfolie en olijfolie moet, nadat het monster door de kolom gestroomd is, daarvan minimaal 90 % worden teruggewonnen; voor olijfolie voor verlichting en olijfolie uit afvallen van olijven geldt een terugwinningspercentage van minimaal 80.

4.3.3. *Opzuivering door vastefase-extractie (SPE)*

De silica-SPE-kolom wordt geactiveerd door er onder vacuüm 6 ml hexaan (4.2.3) doorheen te laten lopen zonder dat uitdroging optreedt.

Weeg op 0,001 g nauwkeurig 0,12 g af in een 2 ml-flesje (4.1.15) en los op in 0,5 ml hexaan (4.2.3).

Breng de oplossing op de SPE-kolom en elueer vervolgens met 10 ml hexaan/diethylether (87:13 v/v) (4.2.3) onder vacuüm.

Laat de ingezamelde fractie tot uitdroging verdampen in een rotatieverdamper (4.1.9) onder verminderde druk en bij omgevingstemperatuur. Het residu wordt in 2 ml aceton (4.2.6) opgelost met het oog op de triacylglycerol-analyse (TAG-analyse).

4.4. **HPLC-analyse**

4.4.1. *Monsterbereiding voor chromatografische analyse*

Een 5 %-oplossing van het te analyseren monster wordt bereid door 0,5 ± 0,001 g van het monster in een maatkolf van 10 ml af te wegen en aan te lengen tot 10 ml met het oplosmiddel (4.2.9).

4.4.2. *Werkwijze*

Stel het chromatografiesysteem op. Pomp de elutievloeistof (4.2.8) op met een snelheid van 1,5 ml/min teneinde het volledige systeem te zuiveren. Wacht tot er een stabiele basislijn wordt verkregen.

Injecteer 10 µl van het volgens punt 4.3 bereide monster.

4.4.3. *Berekening en uitdrukking van de resultaten*

Gebruik de methode met interne standaard, dat wil zeggen ga ervan uit dat de som van de piekoppervlakken voor de TAG's met ECN 42 tot en met ECN 52 gelijk is aan 100 %.

Bereken het relatieve percentage van elk triglyceride aan de hand van de formule:

% triglyceride = piekoppervlak × 100/som van de piekoppervlakken.

Het resultaat wordt opgegeven met minstens twee cijfers achter de komma.

Zie de opmerkingen 1 tot en met 4.

4.5. **Berekening van de samenstelling van de triacylglycerolen (in mol %) uit de gegevens over de vetzuursamenstelling (oppervlak %)**

4.5.1. *Bepaling van de vetzuursamenstelling*

De vetzuursamenstelling wordt bepaald overeenkomstig ISO 5508 met behulp van een capillaire kolom. De bereiding van de methylesters wordt uitgevoerd volgens COI/T.20/Doc. nr. 24.

4.5.2. *Vetzuren gebruikt bij de berekening*

Glyceriden zijn gegroepeerd volgens hun equivalent koolstofgetal (ECN), rekening houdend met de volgende equivalenties tussen ECN en vetzuren. Er werden alleen vetzuren met 16 en 18 koolstofatomen in aanmerking genomen, aangezien alleen deze van belang zijn voor olijfolie. De totale hoeveelheid in aanmerking genomen vetzuren wordt gelijkgesteld aan 100 %.

Vetzuur (VZ)	Afkorting	Molecuulgewicht (MG)	ECN
Palmitinezuur	P	256,4	16
Palmitoleïnezuur	Po	254,4	14
Stearinezuur	S	284,5	18
Oleïnezuur	O	282,5	16
Linolzuur	L	280,4	14
Linoleenzuur	Ln	278,4	12

4.5.3. *Omrekening van oppervlak % in aantal mol voor alle vetzuren (1)*

$$\text{aantal mol P} = \frac{\text{opp. \% P}}{\text{MG P}} \qquad \text{aantal mol S} = \frac{\text{opp. \% S}}{\text{MG S}} \qquad \text{aantal mol Po} = \frac{\text{opp. \% Po}}{\text{MG Po}}$$

$$\text{aantal mol O} = \frac{\text{opp. \% O}}{\text{MG O}} \qquad \text{aantal mol L} = \frac{\text{opp. \% L}}{\text{MG L}} \qquad \text{aantal mol Ln} = \frac{\text{opp. \% Ln}}{\text{MG Ln}}$$

4.5.4. *Normalisering van vetzuren (in mol) tot 100 % (2)*

$$\text{mol \% P (1,2,3)} = \frac{\text{aantal mol P} * 100}{\text{aantal mol (P + S + Po + O + L + Ln)}}$$

$$\text{mol \% S (1,2,3)} = \frac{\text{aantal mol S} * 100}{\text{aantal mol (P + S + Po + O + L + Ln)}}$$

$$\text{mol \% Po (1,2,3)} = \frac{\text{aantal mol Po} * 100}{\text{aantal mol (P + S + Po + O + L + Ln)}}$$

$$\text{mol \% O (1,2,3)} = \frac{\text{aantal mol O} * 100}{\text{aantal mol (P + S + Po + O + L + Ln)}}$$

$$\text{mol \% L (1,2,3)} = \frac{\text{aantal mol L} * 100}{\text{aantal mol (P + S + Po + O + L + Ln)}}$$

$$\text{mol \% Ln (1,2,3)} = \frac{\text{aantal mol Ln} * 100}{\text{aantal mol (P + S + Po + O + L + Ln)}}$$

Het resultaat geeft het vetzuurpercentage in mol % in de globale (1,2,3-)positie van de TAG's.

Vervolgens wordt de som van de verzadigde vetzuren (VVZ) P en S en de onverzadigde vetzuren (OVZ) Po, O, L en Ln berekend (3):

$$\text{mol \% VVZ} = \text{mol \% P} + \text{mol \% S}$$

$$\text{mol \% OVZ} = 100 - \text{mol \% VVZ}$$

4.5.5. *Berekening van de vetzuursamenstelling in 2- en 1,3-posities van TAG's*

De vetzuren zijn als volgt over de drie groepen verdeeld: één voor de 2-positie en twee identieke voor de 1- en 3-posities, met verschillende coëfficiënten voor de verzadigde (P en S) en de onverzadigde zuren (Po, O, L en Ln).

4.5.5.1. Verzadigde vetzuren in de 2-positie [P(2) en S(2)] (4):

$$\text{mol \% P(2)} = \text{mol \% P (1,2,3)} * 0{,}06$$

$$\text{mol \% S(2)} = \text{mol \% S (1,2,3)} * 0{,}06$$

4.5.5.2. Onverzadigde vetzuren in de 2-positie [Po(2), O(2), L(2) en Ln(2)] (5):

$$\text{mol \% Po(2)} = \frac{\text{mol \% Po(1,2,3)}}{\text{mol \% OVZ}} * (100 - \text{mol \% P(2)} - \text{mol \% S(2)})$$

$$\text{mol \% O(2)} = \frac{\text{mol \% O(1,2,3)}}{\text{mol \% OVZ}} * (100 - \text{mol \% P(2)} - \text{mol \% S(2)})$$

$$\text{mol \% L(2)} = \frac{\text{mol \% L(1,2,3)}}{\text{mol \% OVZ}} * (100 - \text{mol \% P(2)} - \text{mol \% S(2)})$$

$$\text{mol \% Ln(2)} = \frac{\text{mol \% Ln(1,2,3)}}{\text{mol \% OVZ}} * (100 - \text{mol \% P(2)} - \text{mol \% S(2)})$$

4.5.5.3. Vetzuren in 1,3-posities [P(1,3), S(1,3), Po(1,3), O(1,3), L(1,3) en Ln(1,3)] (6):

$$\text{mol \% P(1,3)} = \frac{\text{mol \% P(1,2,3)} - \text{mol \% P(2)}}{2} + \text{mol \% P(1,2,3)}$$

$$\text{mol \% S(1,3)} = \frac{\text{mol \% S(1,2,3)} - \text{mol \% S(2)}}{2} + \text{mol \% S(1,2,3)}$$

$$\text{mol \% Po(1,3)} = \frac{\text{mol \% Po(1,2,3)} - \text{mol \% Po(2)}}{2} + \text{mol \% Po(1,2,3)}$$

$$\text{mol \% O(1,3)} = \frac{\text{mol \% O(1,2,3)} - \text{mol \% O(2)}}{2} + \text{mol \% O(1,2,3)}$$

$$\text{mol \% L(1,3)} = \frac{\text{mol \% L(1,2,3)} - \text{mol \% L(2)}}{2} + \text{mol \% L(1,2,3)}$$

$$\text{mol \% Ln(1,3)} = \frac{\text{mol \% Ln(1,2,3)} - \text{mol \% Ln(2)}}{2} + \text{mol \% Ln(1,2,3)}$$

4.5.6. *Berekening van triacylglycerolen*

4.5.6.1. TAG's met één vetzuur (AAA, hier LLL, PoPoPo) (7)

$$\text{mol \% AAA} = \frac{\text{mol \% A(1,3)} * \text{mol \% A(2)} * \text{mol \% A(1,3)}}{10\,000}$$

4.5.6.2. TAG's met twee vetzuren (AAB, hier PoPoL, PoLL) (8)

$$\text{mol \% AAB} = \frac{\text{mol \% A(1,3)} * \text{mol \% A(2)} * \text{mol \% B(1,3)}}{10\,000}$$

$$\text{mol \% ABA} = \frac{\text{mol \% A(1,3)} * \text{mol \% B(2)} * \text{mol \% B(1,3)}}{10\,000}$$

4.5.6.3. TAG's met drie verschillende vetzuren (ABC, hier OLLn, PLLn, PoOLn, PPoLn) (9)

$$\text{mol \% ABC} = \frac{\text{mol \% A(1,3)} * \text{mol \% B(2)} * \text{mol \% C(1,3)} * 2}{10\,000}$$

$$\text{mol \% BCA} = \frac{\text{mol \% B(1,3)} * \text{mol \% C(2)} * \text{mol \% A(1,3)} * 2}{10\,000}$$

$$\text{mol \% CAB} = \frac{\text{mol \% C(1,3)} * \text{mol \% A(2)} * \text{mol \% B(1,3)} * 2}{10\,000}$$

4.5.6.4. Triacylglycerolen met ECN 42

De triacylglycerolen met ECN 42 worden berekend volgens de vergelijkingen 7, 8 en 9 en vermeld in volgorde van verwachte elutie bij HPLC (normaal slechts drie pieken).

LLL

PoLL en de positie-isomeer LPoL

OLLn en de positie-isomeren OLnL en LnOL

PoPoL en de positie-isomeer PoLPo

PoOLn en de positie-isomeren OPoLn en OLnPo

PLLn en de positie-isomeren LLnP en LnPL

PoPoPo

SLnLn en de positie-isomeer LnSLn

PPoLn en de positie-isomeren PLnPo en PoPLn

De som van de negen triacylglycerolen, inclusief de positie-isomeren, geeft de triacylglycerolen met ECN 42. Het resultaat wordt opgegeven met minstens twee cijfers achter de komma.

5. BEOORDELING VAN HET RESULTAAT

Het berekende theoretische gehalte en het gehalte bepaald met HPLC-analyse worden vergeleken. Als de absolute waarde van het verschil tussen de HPLC-gegevens en de theoretische gegevens groter is dan de waarde die voor de betrokken categorie olie in de norm is vermeld, dan bevat het monster zaadolie.

De resultaten worden opgegeven met twee cijfers achter de komma.

6. VOORBEELD (DE NUMMERS VERWIJZEN NAAR DE SECTIES IN DE TEKST VAN DE METHODE)

— 4.5.1. *Berekening van mol % vetzuren uit GLC-gegevens (genormaliseerd oppervlak %)*

De volgende gegevens voor de vetzuursamenstelling worden verkregen door middel van GLC:

VZ	P	S	Po	O	L	Ln
MG	256,4	284,5	254,4	282,5	280,4	278,4
Opp. %	10,0	3,0	1,0	75,0	10,0	1,0

— 4.5.3. *Omrekening van oppervlak % in aantal mol voor alle vetzuren (zie formule (1))*

$$\text{aantal mol P} = \frac{10}{256,4} = 0,03900 \text{ mol P}$$

$$\text{aantal mol S} = \frac{3}{284,5} = 0,01054 \text{ mol S}$$

$$\text{aantal mol Po} = \frac{1}{254,4} = 0,00393 \text{ mol Po}$$

$$\text{aantal mol O} = \frac{75}{282,5} = 0,26549 \text{ mol O}$$

$$\text{aantal mol L} = \frac{10}{280,4} = 0,03566 \text{ mol L}$$

$$\text{aantal mol Ln} = \frac{1}{278,4} = 0,00359 \text{ mol Ln}$$

Totaal = 0,35821 mol TAG's

— 4.5.4. *Normalisering van vetzuren (in mol) tot 100 % (zie formule (2))*

$$\text{mol \% P(1,2,3)} = \frac{0,03900 \text{ mol P} * 100}{0,35821 \text{ mol}} = 10,887 \text{ \%}$$

$$\text{mol \% S(1,2,3)} = \frac{0,01054 \text{ mol S} * 100}{0,35821 \text{ mol}} = 2,942 \text{ \%}$$

$$\text{mol \% Po(1,2,3)} = \frac{0,00393 \text{ mol Po} * 100}{0,35821 \text{ mol}} = 1,097 \text{ \%}$$

$$\text{mol \% O(1,2,3)} = \frac{0,26549 \text{ mol O} * 100}{0,35821 \text{ mol}} = 74,116 \text{ \%}$$

$$\text{mol \% L(1,2,3)} = \frac{0,03566 \text{ mol L} * 100}{0,35821 \text{ mol}} = 9,955 \text{ \%}$$

$$\text{mol \% Ln(1,2,3)} = \frac{0,00359 \text{ mol Ln} * 100}{0,35821 \text{ mol}} = 1,002 \text{ \%}$$

Totaal mol % = 100 %

Som van de verzadigde en onverzadigde vetzuren in 1,2,3-posities van TAG's (zie formule (3)):

mol % VVZ = 10,887 % + 2,942 % = **13,829 %**

mol % OVZ = 100,000 % - 13,829 % = **86,171 %**

— 4.5.5. *Berekening van de vetzuursamenstelling in 2- en 1,3-posities van de TAG's*

— 4.5.5.1. Verzadigde vetzuren in de 2-positie [P(2) en S(2)] (zie formule (4))

mol % P(2) = 10,887 % * 0,06 = 0,653 mol %

mol % S(2) = 2,942 % * 0,06 = 0,177 mol %

— 4.5.5.2. Onverzadigde vetzuren in de 2-positie [Po(1,3), O(1,3), L(1,3) en Ln(1,3)] (zie formule (5))

$$\text{mol \% Po}(2) = \frac{1{,}097\ \%}{86{,}171\ \%} * (100 - 0{,}653 - 0{,}177) = 1{,}262 \text{ mol \%}$$

$$\text{mol \% O}(2) = \frac{74{,}116\ \%}{86{,}171\ \%} * (100 - 0{,}653 - 0{,}177) = 85{,}296 \text{ mol \%}$$

$$\text{mol \% L}(2) = \frac{9{,}955\ \%}{86{,}171\ \%} * (100 - 0{,}653 - 0{,}177) = 11{,}457 \text{ mol \%}$$

$$\text{mol \% Ln}(2) = \frac{1{,}002\ \%}{86{,}171\ \%} * (100 - 0{,}653 - 0{,}177) = 1{,}153 \text{ mol \%}$$

— 4.5.5.3. Vetzuren in 1,3-posities [P(1,3), S(1,3), Po(1,3), O(1,3), L(1,3) en Ln(1,3)] (zie formule (6))

$$\text{mol \% P}(1,3) = \frac{10{,}887 - 0{,}653}{2} + 10{,}887 = 16{,}004 \text{ mol \%}$$

$$\text{mol \% S}(1,3) = \frac{2{,}942 - 0{,}177}{2} + 2{,}942 = 4{,}325 \text{ mol \%}$$

$$\text{mol \% Po}(1,3) = \frac{1{,}097 - 1{,}262}{2} + 1{,}097 = 1{,}015 \text{ mol \%}$$

$$\text{mol \% O}(1,3) = \frac{74{,}116 - 85{,}296}{2} + 74{,}116 = 68{,}526 \text{ mol \%}$$

$$\text{mol \% L}(1,3) = \frac{9{,}955 - 11{,}457}{2} + 9{,}955 = 9{,}204 \text{ mol \%}$$

$$\text{mol \% Ln}(1,3) = \frac{1{,}002 - 1{,}153}{2} + 1{,}002 = 0{,}927 \text{ mol \%}$$

— 4.5.6. *Berekening van triacylglycerolen*

Uit de berekende vetzuursamenstelling in sn-2- en sn-1,3-posities:

VZ in	1,3-pos.	2-pos.
P	16,004 %	0,653 %
S	4,325 %	0,177 %
Po	1,015 %	1,262 %
O	68,526 %	85,296 %
L	9,204 %	11,457 %
Ln	0,927 %	1,153 %
Som	100,0 %	100,0 %

worden de volgende triacylglycerolen berekend:

LLL

PoPoPo

PoLL met 1 positie-isomeer

SLnLn met 1 positie-isomeer

PoPoL met 1 positie-isomeer

PPoLn met 2 positie-isomeren

OLLn met 2 positie-isomeren

PLLn met 2 positie-isomeren

PoOLn met 2 positie-isomeren

— 4.5.6.1. TAG's met één vetzuur (LLL, PoPoPo) (zie formule (7))

$$\text{mol \% LLL} = \frac{9{,}204\ \% * 11{,}457\ \% * 9{,}204\ \%}{10\ 000}, = \mathbf{0{,}09706}\quad \textbf{mol LLL}$$

$$\text{mol \% PoPoPo} = \frac{1{,}015\ \% * 1{,}262\ \% * 1{,}015\ \%}{10\ 000} = \mathbf{0{,}00013}\quad \textbf{mol PoPoPo}$$

— 4.5.6.2. TAG's met twee vetzuren (PoLL, SLnLn, PoPoL) (zie formule (8))

$$\text{mol \% PoLL + LLPo} = \frac{1{,}015\ \% * 11{,}457\ \% * 9{,}204\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}02141$$

$$\text{mol \% LPoL} = \frac{9{,}204\ \% * 1{,}262\ \% * 9{,}204\ \%}{10\ 000} = 0{,}01069$$

0,03210 mol PoLL

$$\text{mol \% SLnLn + LnLnS} = \frac{4{,}325\ \% * 1{,}153\ \% * 0{,}927\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}00092$$

$$\text{mol \% LnSLn} = \frac{0{,}927\ \% * 0{,}177\ \% * 0{,}927\ \%}{10\ 000} = 0{,}00002$$

0,00094 mol SLnLn

$$\text{mol \% PoPoL + LPoPo} = \frac{1{,}015\ \% * 1{,}262\ \% * 9{,}204\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}00236$$

$$\text{mol \% PoLPo} = \frac{1{,}015\ \% * 11{,}457\ \% * 1{,}015\ \%}{10\ 000} = 0{,}00118$$

0,00354 mol PoPoL

— 4.5.6.3. TAG's met drie verschillende vetzuren (PoPLn, OLLn, PLLn, PoOLn) (zie formule (9))

$$\text{mol \% PPoLn} = \frac{16{,}004\ \% * 1{,}262\ \% * 0{,}927\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}00374$$

$$\text{mol \% LnPPo} = \frac{0{,}927\ \% * 0{,}653\ \% * 1{,}015\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}00012$$

$$\text{mol \% PoLnP} = \frac{1{,}015\ \% * 1{,}153\ \% * 16{,}004\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}00375$$

0,00761 mol PPoLn

$$\text{mol \% OLLn} = \frac{68{,}526\ \% * 11{,}457\ \% * 0{,}927\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}14556$$

$$\text{mol \% LnOL} = \frac{0{,}927\ \% * 85{,}296\ \% * 9{,}204\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}14555$$

$$\text{mol \% LLnO} = \frac{9{,}204\ \% * 1{,}153\ \% * 68{,}526\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}14544$$

0,43655 mol OLLn

$$\text{mol \% PLLn} = \frac{16{,}004\ \% * 11{,}457\ \% * 0{,}927\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}03399$$

$$\text{mol \% LnPL} = \frac{0{,}927\ \% * 0{,}653\ \% * 9{,}204\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}00111$$

$$\text{mol \% LLnP} = \frac{9{,}204\ \% * 1{,}153\ \% * 16{,}004\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}03397$$

0,06907 mol PLLn

$$\text{mol \% PoOLn} = \frac{1{,}015\ \% * 85{,}296\ \% * 0{,}927\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}01605$$

$$\text{mol \% LnPoO} = \frac{0{,}927\ \% * 1{,}262\ \% * 68{,}526\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}01603$$

$$\text{mol \% OLnPo} = \frac{68{,}526\ \% * 1{,}153\ \% * 1{,}015\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}01604$$

0,04812 mol PoOLn

ECN 42 = 0,69512 mol TAG's

Opmerking 1: De elutievolgorde kan worden bepaald door het berekenen van de equivalente koolstofgetallen, dikwijls gedefinieerd met de vergelijking ECN = CN − 2n, waarin CN het koolstofgetal is en n het aantal dubbele bindingen; zij kan preciezer worden berekend door rekening te houden met de oorsprong van de dubbele binding. Als n_o, n_l en n_{ln} de aantallen dubbele bindingen zijn die respectievelijk worden toegeschreven aan oleïnezuur, linolzuur en linoleenzuur, kan het equivalent koolstofgetal worden berekend aan de hand van de formule:

$$EN = CN - d_o n_o - d_l n_l - d_{ln} n_{ln}$$

waarin de coëfficiënten d_o, d_l en d_{ln} kunnen worden berekend door middel van de referentietriglyceriden. Onder de in deze methode gespecificeerde voorwaarden zal de verkregen vergelijking dicht liggen bij:

$$ECN = CN - (2{,}60\ n_o) - (2{,}35\ n_l) - (2{,}17\ n_{ln})$$

Opmerking 2: Met verschillende referentietriglyceriden kan ook de resolutie ten opzichte van trioleïne berekend worden:

$$\alpha = RT^1/RT\ \text{trioleïne}$$

door gebruik van de gereduceerde retentietijd $RT^1 = RT - RT_{\text{oplosmiddel}}$.

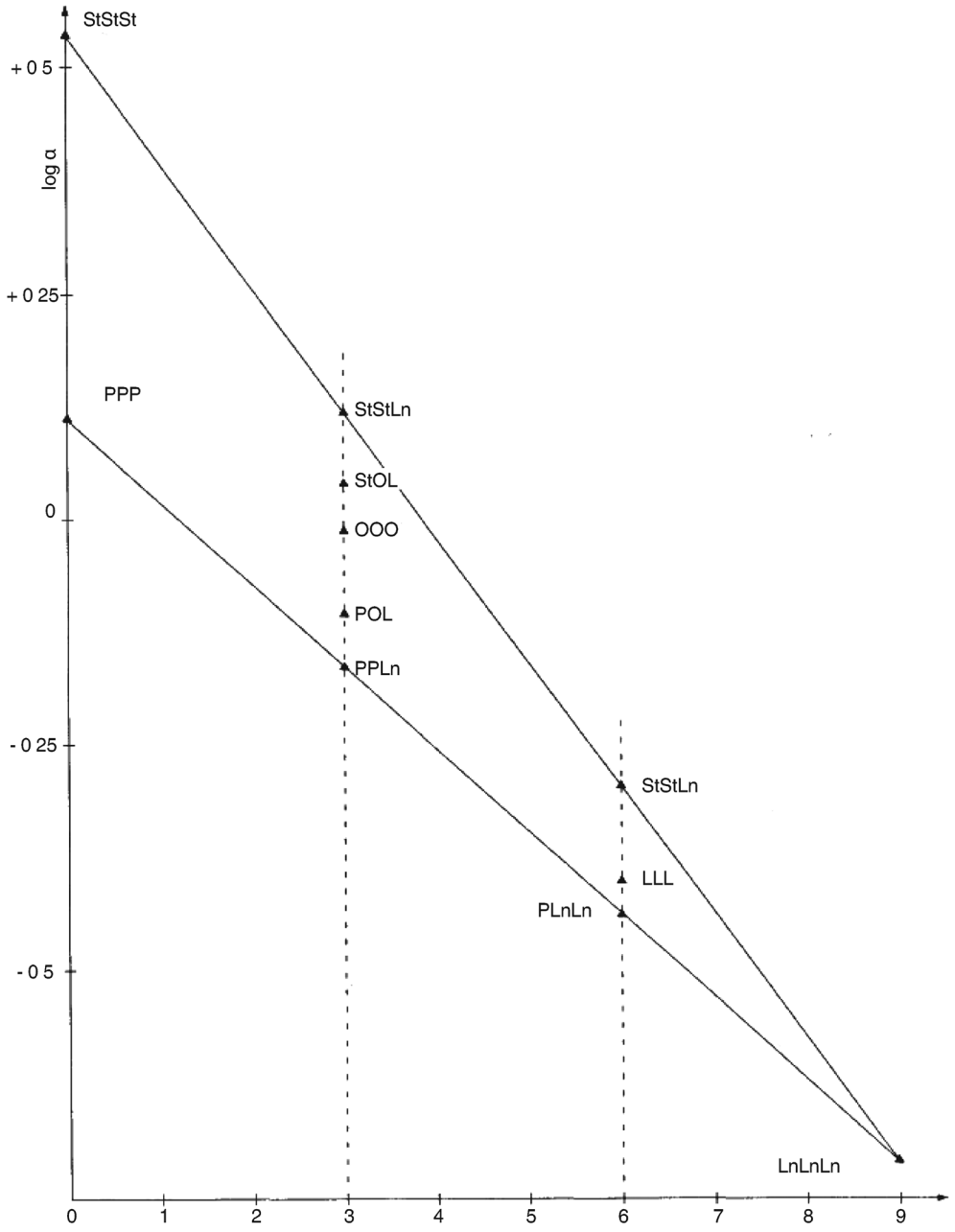
De grafiek van log α tegen f (aantal dubbele bindingen) maakt het mogelijk de retentiewaarden te bepalen voor alle triglyceriden van vetzuren in de referentietriglyceriden (zie figuur 1).

Opmerking 3: De efficiëntie van de kolom dient zodanig te zijn dat de trilinoleïnepiek duidelijk gescheiden is van de pieken van triglyceriden met een aangrenzende RT. De elutie wordt uitgevoerd tot de piek van ECN 52.

Opmerking 4: Om een chromatogram te krijgen dat een juiste meting van de oppervlakken van alle belangrijke pieken mogelijk maakt, moet de tweede piek die overeenkomt met ECN 50 een intensiteit (hoogte) hebben van 50 % van de volle uitslag.

Figuur 1

Grafiek van log α tegen f (aantal dubbele bindingen)



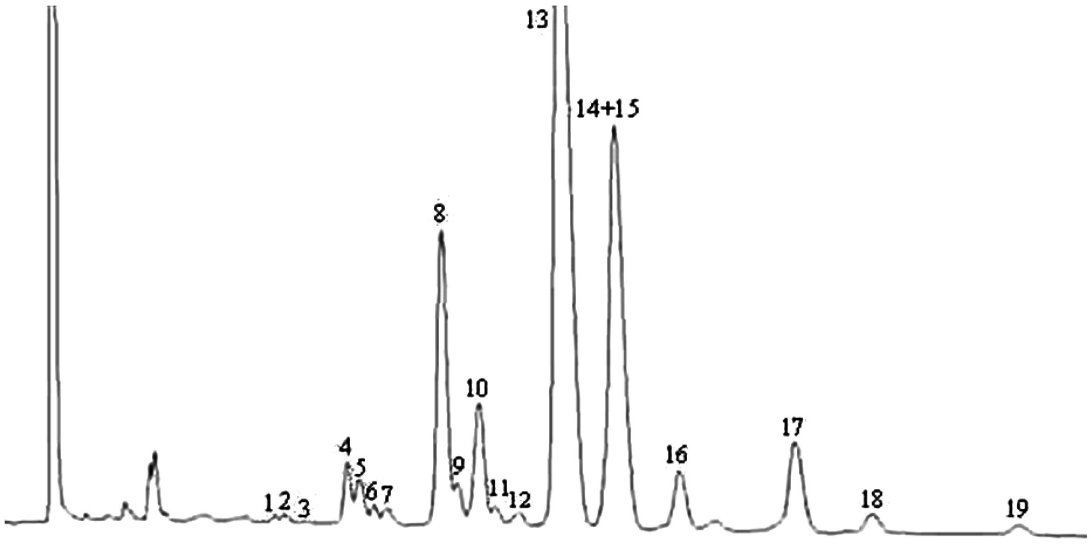
Aantal dubbele bindingen

La: laurinezuur; My: myristinezuur; P: palmitinezuur; S: stearinezuur; O: oleïnezuur; L: linolzuur; Ln: linoleenzuur

Figuur 2

Linolzuurarme olijfolie

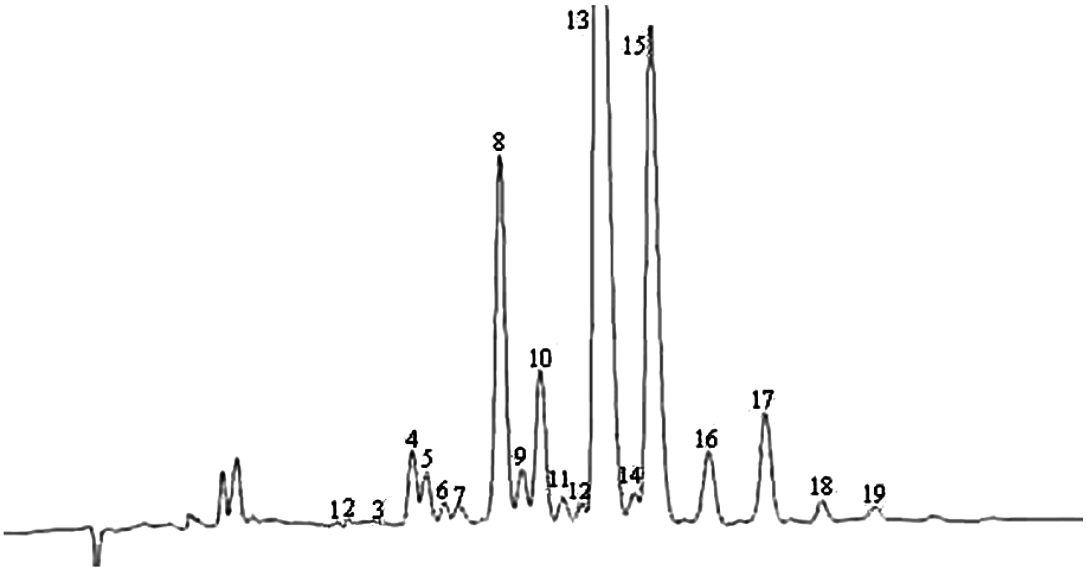
a)



Oplosmiddel: aceton/acetonitril.

Profiel a: Belangrijkste componenten van de chromatografische pieken: **ECN 42:** (1) LLL + PoLL; (2) OLLn + PoOLn; (3) PLLn; **ECN 44:** (4) OLL + PoOL; (5) OOLn + PLL; (6) POLn + PPoPo; (7) OOL + PoOO; **ECN 46:** (8) OOL + LnPP; (9) PoOO; (10) SLL + PLO; (11) PoOP + SPoL + SOLn + SPoPo; (12) PLP; **ECN 48:** (13) OOO + PoPP; (14 + 15) SOL + POO; (16) POP; **ECN 50:** (17) SOO; (18) POS + SLS.

b)



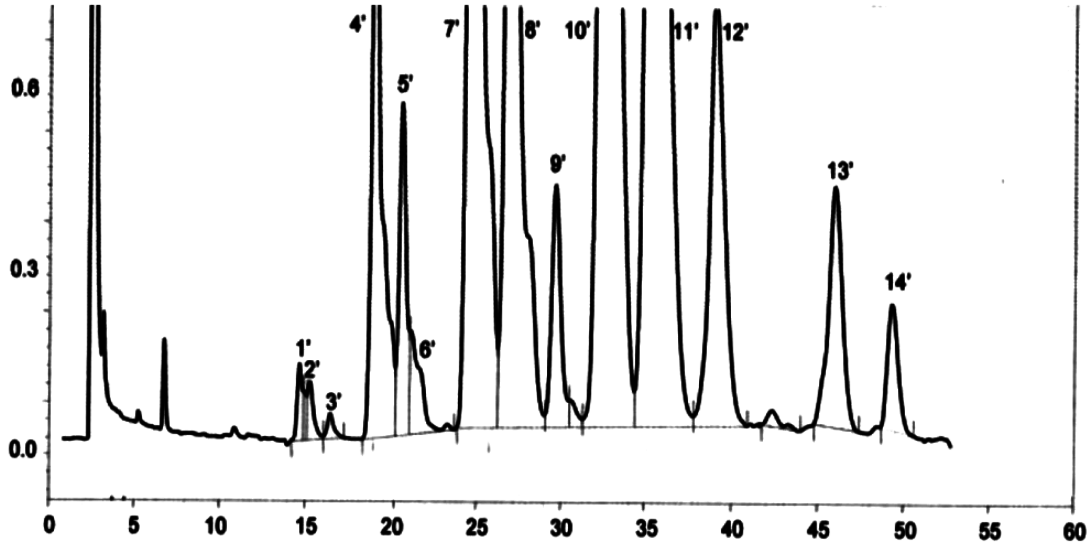
Oplosmiddel: propionitril.

Profiel b: Belangrijkste componenten van de chromatografische pieken: **ECN 42:** (1) LLL; (2) OLLn + PoLL; (3) PLLn; **ECN 44:** (4) OLL; (5) OOLn + PoOL; (6) PLL + PoPoO; (7) POLn + PPoPo + PPoL; **ECN 46:** (8) OOL + LnPP; (9) PoOO; (10) SLL + PLO; (11) PoOP + SPoL + SOLn + SPoPo; (12) PLP; **ECN 48:** (13) OOO + PoPP; (14) SOL; (15) POO; (16) POP; **ECN 50:** (17) SOO; (18) POS + SLS

Figuur 3

Linolzuurrijke olijfolie

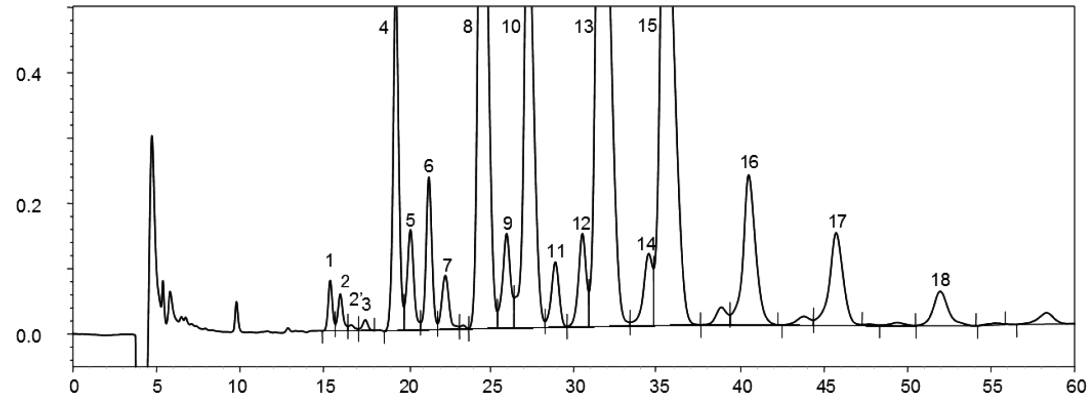
a)



Oplosmiddel: aceton/acetonitril (50:50).

Profiel a: belangrijkste componenten van de chromatografische pieken: **ECN 42:** (1') LLL + PoLL; (2') OLLn + PoOLn; (3') PLLn; **ECN 44:** (4') OLL + PoOL; (5') OOLn + PLL; (6') POLn + PPoPo; **ECN 46:** (7') OOL + PoOO; (8') PLO + SLL + PoOP; (9') PLP + PoPP; **ECN 48:** (10') OOO; (11') POO + SLL + PPoO; (12') POP + PLS; **ECN 50:** (13') SOO; (14') POS + SLS

b)



Oplosmiddel: propionitril.

Profiel b: belangrijkste componenten van de chromatografische pieken: **ECN 42:** (1) LLL; (2 + 2') OLLn + PoLL; (3) PLLn; **ECN 44:** (4) OLL; (5) OOLn + PoOL; (6) PLL + PoPoO; (7) POLn + PPoPo + PPoL; **ECN 46:** (8) OOL + LnPP; (9) PoOO; (10) SLL + PLO; (11) PoOP + SPoL + SOLn + SPoPo; **ECN 48:** (12) PLP; (13) OOO + PoPP; (14) SOL; (15) POO; (16) POP; **ECN 50:** (17) SOO; (18) POS + SLS; **ECN 52:** (19) AOO."

BIJLAGE III

„BIJLAGE XXI

Resultaten van de conformiteitscontroles van olijfoliën als bedoeld in artikel 8, lid 2

				Etikettering						Chemische parameters			Organoleptische kenmerken (4)			Slotconclusie	
Monster	Categorie	Land van oorsprong	Plaats van controle (1)	Wettelijke benaming	Oorsprongsbenaming	Bewaaromstandigheden	Foutieve informatie	Leesbaarheid	C/NC (3)	Overschrijding drempelwaarde(n)? J/N	Zo ja, geef aan voor welke parameter(s) (2)	C/NC (3)	Mediaan voor de gebreken	Mediaan „fruitig”	C/NC (3)	Vereiste maatregelen	Sanctie

(1) Interne markt (olijfoliefabriek, bottelarij, kleinhandel), uitvoer, invoer
(2) Met elk in bijlage I genoemd kenmerk van olijfolie stemt een code overeen
(3) Conform/niet conform
(4) Niet vereist in het geval van olijfolie en olie uit afvallen van olijven”