VERORDNUNG (EWG) Nr. 618/72 DER KOMMISSION

vom 29. März 1972

über die Merkmale von Olivenöl und bestimmten, Olivenöl enthaltenden Erzeugnissen

DIE KOMMISSION DER EUROPÄISCHEN GEMEINSCHAFTEN —

gestützt auf den Vertrag zur Gründung der Europäischen Wirtschaftsgemeinschaft,

gestützt auf die Verordnung Nr. 136/66/EWG des Rates vom 22. September 1966 über die Errichtung einer gemeinsamen Marktorganisation für Fette (1), zuletzt geändert durch die Verordnung (EWG) Nr. 2727/71 (2), insbesondere auf Artikel 18 Absatz 3,

gestützt auf die Verordnung (EWG) Nr. 443/72 des Rates vom 29. Februar 1972 über die Abschöpfungen für raffiniertes Olivenöl sowie für bestimmte Olivenöl enthaltende Erzeugnisse (3), insbesondere auf Artikel 8,

gestützt auf die Verordnung Nr. 162/66/EWG des Rates vom 27. Oktober 1966 über den Handel mit Fetten zwischen der Gemeinschaft und Griechenland (4), insbesondere auf Artikel 4 Absatz 2, Artikel 5 Absatz 3 und Artikel 9,

in Erwägung nachstehender Gründe:

Die Erstattungen bei der Ausfuhr von Olivenöl können je nach Art des Öls in verschiedener Höhe festgesetzt werden. Hierzu muß das Olivenöl nach seinen chemischen Merkmalen unterschieden werden.

In der Verordnung (EWG) Nr. 443/72 sind unterschiedliche Abschöpfungen für Olivenöl, das durch Raffinieren von Jungfernöl gewonnen wird, und für raffiniertes Olivenöl festgesetzt. Diese Öle sind nach ihren chemischen Merkmalen zu unterscheiden.

Das Zolltarifschema dieser Verordnung ist im Gemeinsamen Zolltarif wiedergegeben.

Die in dieser Verordnung vorgesehenen Maßnahmen entsprechen der Stellungnahme des Verwaltungsausschusses für Fette —

HAT FOLGENDE VERORDNUNG ERLASSEN:

Artikel 1

(1) Als Olivenöl im Sinne der Tarifstelle 15.07 A des Gemeinsamen Zolltarifs gilt nur das ausschließlich aus der Verarbeitung von Oliven gewonnene Öl, nicht jedoch wiederverestertes Olivenöl und Mischungen von Olivenöl mit anderen Ölen.

(2) Zu den Tarifstellen 15.07 A I a) und 15.07 A I b) des Gemeinsamen Zolltarifs gehören die Öle, die die im Anhang I beschriebenen Merkmale aufweisen.

(3) Zu der Tarifstelle 15.17 A des Gemeinsamen Zolltarifs gehören die Erzeugnisse der Tarifnummer 15.17, soweit sie nicht nach Anhang II von dieser Tarifstelle ausgenommen sind.

(4) Im Rahmen der Gewährung der Erstattung bei der Ausfuhr gehören zu den in Artikel 2 der Verordnung (EWG) Nr. 616/72 (5) genannten Tarifstellen 15.07 A II (a) und 15.07 A II (b) die Öle, die die in Anhang I beschriebenen Merkmale aufweisen.

Artikel 2

Im Gemeinsamen Zolltarif wird die zusätzliche Vorschrift zu Kapitel 15 durch den Text in Anhang III ersetzt.

---

(1) ABl. Nr. 172 vom 30. 9. 1966, S. 3025/66.
(2) ABl. Nr. L 282 vom 23. 12. 1971, S 8.
(3) ABl. Nr. L 54 vom 3. 3. 1972, S. 3.
(4) ABl. Nr. 197 vom 29. 10. 1966, S. 3393/66.

(5) Siehe Seite 1 dieses Amtsblatts.

Artikel 3

Diese Verordnung tritt am 1. April 1972 in Kraft.

Die Verordnung Nr. 177/66/EWG der Kommission vom 7. November 1966 zur Unterscheidung der verschiedenen raffinierten Olivenöle (1) wird aufgehoben.

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

Brüssel, den 29. März 1972

Für die Kommission
Der Präsident
S. L. MANSHOLT

(1) ABl. Nr. 203 vom 8. 11. 1966, S. 3491/66.

ANHANG I

Merkmale von Olivenölen der Tarifstellen 15.07 A I a), 15.07 A I b), 15.07 A II (a) und (b)

1. Zu Tarifstelle 15.07 A I a) gehört Olivenöl mit folgenden Merkmalen:

   a) Gehalt an freien Fettsäuren, berechnet als Ölsäure, höchstens 3 %;

   b) Extinktionskoeffizient K_{270} (Extinktion einer auf 100 ml aufgefüllten Lösung von 1 g Öl in Isooktan (2,2,4-Trimethylpentan) bei einer Schichtdicke von 1 cm und im Wellenlängenbereich von 270 nm) größer als 0,25, höchstens jedoch 1,10 und nach Behandlung der Ölprobe mit aktiviertem Aluminiumoxid größer als 0,11;

   c) Schwankung des Extinktionskoeffizienten im Wellenlängenbereich von 270 nm größer als 0,01, jedoch höchstens 0,16.

      Diese Schwankung ist definiert durch den Ausdruck:

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

      Dabei bezeichnet K_m den Extinktionskoeffizienten für die im Bereich von 270 nm liegende Wellenlänge, die im Maximum der Absorptionskurve liegt.

      K_{m-4} und K_{m+4} bezeichnen die Extinktionskoeffizienten für eine um 4 nm niedriger bzw. höher liegende Wellenlänge als K_m;

   d) keine positive Reaktion auf Tresteröl.

2. Zu Tarifstelle 15.07 A I b) gehört Olivenöl, das entweder:

   a) die unter Ziffer 1 Buchstaben a) bis c) aufgeführten Merkmale und eine positive Reaktion auf Tresteröl aufweist oder

   b) das unter Ziffer 1 Buchstabe a) beschriebene Merkmal und einen Extinktionskoeffizienten K_{270} von mehr als 1,10, höchstens jedoch 2,00, besitzt, sowie eine Schwankung des Extinktionskoeffizienten im Bereich von 270 nm von höchstens 0,20 aufweist.

3. Zu Tarifstelle 15.07 A II (a) gehört Olivenöl mit folgenden Merkmalen:

   a) Extinktionskoeffizient K_{270} nach Behandlung der Ölprobe mit aktiviertem Aluminiumoxid höchstens 0,11.

      In Ausnahmefällen können gewisse Öle mit hohem Gehalt an freien Fettsäuren nach Behandlung mit aktiviertem Aluminiumoxid einen Extinktionskoeffizienten K_{270} von mehr als 0,11 aufweisen. In diesem Fall müssen sie nach Neutralisieren und Bleichen im Laboratorium die unter Punkt 1 aufgeführten Merkmale aufweisen;

   b) Schwankung des Extinktionskoeffizienten im Bereich von 270 nm höchstens 0,01;

   c) keine positive Reaktion auf Tresteröl.

4. Zu Tarifstelle 15.07 A II (b) gehört Olivenöl mit folgenden Merkmalen:

   a) Gehalt an freien Fettsäuren, berechnet als Ölsäure, mehr als 3 %, sowie

   b) positive Reaktion auf Tresteröl oder nach Neutralisieren und Bleichen im Laboratorium die gleichen Merkmale wie unter Ziffer 2 Buchstabe b).

ANALYSENMETHODE

I. BEHANDLUNG DER ÖLPROBE MIT AKTIVIERTEM ALUMINIUMOXID

1. Man gibt 30 g basisches Aluminiumoxid, das nach dem unter Absatz 2 genannten Verfahren hergestellt wurde, in eine chromatische Säule mit einem Durchmesser von 35 mm, einer Länge von 450 mm und einem Abflußrohr von etwa 10 mm Durchmesser.

Das Aluminiumoxid wird durch mehrmaliges leichtes Aufstoßen der Säule auf einer Holzunterlage festgestampft, wobei die Säule vertikal gehalten wird. In die so vorbereitete Säule gibt man 100 ml einer Lösung von 10 % Öl in Hexan. Das Eluat wird gesammelt und das Lösungsmittel im Vakuum bei einer Temperatur unterhalb 25 °C verdampft.

Von dem so gewonnenen Öl wird unverzüglich der Extinktionskoeffizient bei 270 nm bestimmt.

2. Man erhält basisches Aluminiumoxid mit einer Brockmannschen Aktivitätsstufe I (0 % Wasser), indem man basisches Aluminiumoxid (für die Chromatographie) mit einer Körnung zwischen 30 µm und 130 µm (Mittelwert 80 µm) 3 Stunden bei 380-400 °C erhitzt. Zu 100 g dieses Produkts gibt man 5 ml destilliertes Wasser, rührt kräftig um und läßt es über Nacht in einem gut verschlossenen Gefäß stehen. Man erhält damit basisches Aluminiumoxid mit einer Brockmannschen Aktivitätsstufe zwischen II und III.

Prüfung der Aktivität des Aluminiumoxids:

Man gibt 30 g basisches Aluminiumoxid (hergestellt nach dem vorstehend beschriebenen Verfahren) in eine chromatographische Säule von etwa 35 mm Durchmesser und 450 mm Länge; durch diese Säule läßt man unter den im Verfahren angegebenen Bedingungen eine Mischung von 95 % Jungfernöl und 5 % Erdnußöl laufen. Das Jungfernöl soll einen Extinktionskoeffizienten K_{270} von weniger als 0,18, das bei der Raffination mit Bleicherde behandelte Erdnußöl einen Extinktionskoeffizienten K_{270} von 4 oder mehr aufweisen. Ergibt diese Mischung einen Extinktionskoeffizienten von mehr als 0,11, so ist das Aluminiumoxid verwendbar. Erfolgt mit diesem Aluminiumoxid keine Elution der konjugierten Triene, so muß stärker hydratisiertes Aluminiumoxid verwendet werden, nachdem überprüft worden ist, ob es die Anforderungen des obengenannten Tests erfüllt.

II. NACHWEIS VON TRESTERÖL

1. **Geräte:**

— 100-ml-Rundkolben mit Rückflußkühler,

— 5-ml-Meßpipette mit 0,1 ml Graduierung,

— Heizvorrichtung, die ein Erwärmen des Kolbens auf ca. 80 °C ermöglicht,

— Thermometer von 15 bis 60 °C.

2. **Reagenzien:**

— wäßrig-alkoholische Kalilauge (42,5 g KOH in 72 ml destilliertem Wasser auflösen und mit 95 vol. %igem Äthylalkohol auf 500 ml auffüllen),

— 70 vol. %iger Äthylalkohol,

— wäßrige Lösung von Essigsäure 1 + 2 (Volumenteile); 1,5 ml müssen genau 5 ml der wäßrig-alkoholischen Kalilauge unter Verwendung von Phenolphthalein als Indikator neutralisieren.

3. **Vorbereitung der Probe:**

Das Öl wird durch Dekantieren und Filtrieren durch ein Papierfilter vom Wasser befreit, und zwar bei einer Temperatur, die leicht über dem Schmelzpunkt bestimmter Bestandteile liegt, die sich möglicherweise aus dem flüssigen Öl abgesetzt haben.

4. **Verfahren:**

In den Kolben etwa 1 ml des nach Absatz 3 vorbereiteten Olivenöls geben. 5 ml wäßrig-alkoholische Kalilauge hinzufügen. Den Rückflußkühler anschließen und 10 Minuten unter gelegentlichem Schütteln kochen. Auf Raumtemperatur abkühlen lassen. 1,5 ml der wäßrigen Essigsäurelösung und 50 ml des zuvor auf 50 °C erwärmten Äthylalkohols zugeben. Durch Umrühren mischen, das Thermometer einführen und abkühlen lassen, wobei das Aussehen der Lösung beobachtet wird, sobald sie die Temperatur 45 °C erreicht hat. Bildet sich oberhalb 40 °C ein flockiger Niederschlag, so ist die Reaktion positiv. Bildet sich kein flockiger Niederschlag, so wird die Lösung bei Raumtemperatur, d.h. zwischen 20 und 22 °C mindestens 24 Stunden, erforderlichenfalls 48 Stunden, stehengelassen und erneut beobachtet; bildet sich ein in der Mitte der Lösung suspendierter flockiger Niederschlag, so ist die Reaktion ebenfalls positiv.

III. NEUTRALISIEREN UND BLEICHEN DES OLIVENÖLS IM LABORATORIUM

A. Neutralisieren des Öls

1. **Geräte:**

   — hohes 300-ml-Becherglas,
   — Laborzentrifuge mit 100-ml-Gläsern;
   — 250-ml-Becherglas,
   — 100-ml-Rundkolben,
   — 1-Liter-Scheidetrichter.

2. **Reagenzien:**

   — 12 %ige wäßrige Natriumhydroxidlösung,
   — 1 %ige Lösung von Phenolphthalein in Äthylalkohol,
   — Hexan, analysenrein,
   — Isopropylalkohol, analysenrein.

3. **Verfahren:**

   a) Öle mit einem Gehalt an freien Fettsäuren, berechnet als Ölsäure, von weniger als 30 %.

   Man gibt 50 g rohes Öl in ein hohes 300-ml-Becherglas und erwärmt im Wasserbad auf 65 °C. Unter langsamem Rühren gibt man — mit einem Überschuß von 5 % — so viel 12 %ige Natriumhydroxidlösung hinzu, wie dem Gehalt des Öls an freien Fettsäuren entspricht. Unter Aufrechterhaltung der Temperatur von 65 °C wird 5 Minuten weitergerührt.

   Das Ganze wird in 100-ml-Zentrifugengläser überführt und die Seifenmasse durch Zentrifugieren abgetrennt. Das dekantierte Öl wird in ein 250-ml-Becherglas gegeben und mit 50 bis 60 ml kochendem destilliertem Wasser gewaschen. Die wäßrige Phase wird mit Hilfe eines Saughebers entfernt. Die Waschungen werden wiederholt, bis auch Spuren von Seifenresten entfernt sind (Verschwinden der Rosafärbung des Phenolphthaleins).

   Zur Entfernung der geringen Restwassermengen wird das Öl zentrifugiert.

   b) Öle mit einem Gehalt an freien Fettsäuren, berechnet als Ölsäure, von mehr als 30 %.

   In einen 1-Liter-Scheidetrichter gibt man 50 g rohes Öl, 200 ml Hexan, 100 ml Isopropylalkohol und — mit einem Überschuß von 0,3 % — soviel 12 %ige Natriumhydroxidlösung, wie dem Gehalt des Öls an freien Fettsäuren entspricht.

   Eine Minute lang kräftig rühren. 100 ml destilliertes Wasser hinzugeben, erneut rühren und stehen lassen. Nach der Phasentrennung wird die untere seifenhaltige Schicht abgelassen. In vielen Fällen bildet sich zwischen den beiden Phasen (ölhaltige obere und seifenhaltige untere Schicht) eine Zwischenschicht, die Schleimstoffe und unlösliche Substanzen enthält und die ebenfalls entfernt werden müssen.

   Anschließend wird die Hexanlösung des neutralen Öls mit Portionen von jeweils 50 bis 60 ml einer Lösung aus Isopropylalkohol und destilliertem Wasser im Verhältnis 1:1 (Volumenteile), bis zum Verschwinden der Rosafärbung des Phenolphthaleins gewaschen. Darauf wird das Hexan durch Abdestillieren im Vakuum (z.B. mit Hilfe eines Rotationsverdampfers) vollständig entfernt.

B. Bleichen des neutralisierten Öls

1. **Geräte:**

   — 250-ml-Dreihalskolben mit Schliffansätzen für:
      a) Thermometer mit Unterteilung in 1 °C für Messungen bis 90 °C,
      b) mechanisches Rührwerk, 250 bis 300 Umdrehungen/min., geeignet zum Betrieb im Vakuum,
      c) Anschluß für die Vakuumpumpe;

   — Vakuumpumpe für 15 bis 30 Millibar Endvakuum, mit Manometer.

2. **Verfahren:**

In den Dreihalskolben werden 100 g neutralisiertes Öl eingewogen. Thermometer und Rohrwerk einführen; Vakuumpumpe anschließen und auf 90 °C unter Umrühren erwärmen; die Temperatur wird unter ständigem Rühren solange aufrechterhalten, bis das zu untersuchende Öl vollständig vom Wasser befreit ist (etwa 30 Minuten).

Danach wird das Vakuum unterbrochen und 2 bis 3 g aktivierte Bleicherde zugegeben.

Dann wird das Vakuum mit einem Druck von 15 bis 30 Millibar hergestellt, wobei über eine Zeit von 30 Minuten auf 90 °C und die Drehzahl des Rührwerks bei etwa 250 Umdrehungen/min. gehalten wird. Danach wird in einem thermostatisch regulierten Trockenschrank warm filtriert (50 — 60 °C).

ANHANG II

Waren der Tarifnummer 15.17 A

Nicht zu Tarifnummer 15.17 A gehören:

a) Rückstände aus der Verarbeitung von Fettstoffen, die Öl enthalten, dessen Jodzahl nach der Methode von Wijs ohne Katalysator kleiner als 70 oder größer als 100 ist;

b) Rückstände aus der Verarbeitung von Fettstoffen, die Öl enthalten, dessen Jodzahl zwischen 70 und 100 liegt, bei dem jedoch die Fläche des Peaks, der dem Retentionsvolumen des Beta-Sitosterins entspricht und der gemäß nachstehender Vorschrift bestimmt worden ist, weniger als 93 % der Gesamtfläche der Sterinpeaks ausmacht.

ANALYSE DER STERINFRAKTIONEN DER FETTSTOFFE

Gaschromatographische Bestimmung der aus dem Unverseifbaren durch Dünnschicht-Chromatographie abgetrennten Sterine. Das Unverseifbare darf nur vorsichtig auf dem Wasserbad getrocknet werden.

Geräte:

1. Apparatur für die Dünnschicht-Chromatographie mit vier Glasplatten 20 × 20 × 0,4 cm, zwei Platten 20 × 5 × 0,4 cm und einer Mikrospritze von 0,1 ml;
2. 50-ml-Becherglas;
3. Glasfiltertiegel, Durchlässigkeit 3, Durchmesser 15 mm;
4. 100-ml-Rundkolben;
5. 10-ml-Zentrifugenglas mit konischem Boden und Schliffstopfen;
6. 1-ml-Meßpipette mit Graduierung;
7. Gaschromatograph, ausgestattet mit einem Flammenionisationsdetektor, einem Silber- oder Gaseinspritzsystem oder einem System zur direkten Einspritzung auf die Säule und einem Schreiber;
8. Säule für die Gaschromatographie aus Glas oder nichtrostendem Stahl, U- oder spiralförmig, Länge 1-2 m, Innendurchmesser 3-4 mm. Die Säulenfüllung enthält als stationäre Phase Methylsilicongummi, das bis 300 °C beständig ist. Damit wird kalzinierte, mit Säure gewaschene und silanisierte Diatomeenerde zu 2-4 % imprägniert; Korngröße 80/100 oder 100/120 mesh.

   Anmerkung: Da einige Säulentypen aus rostfreiem Stahl infolge Zersetzung von Sterinen zu fehlerhaften Ergebnissen führen können, wird Glas empfohlen;
9. Mikrospritze für Mengen von 5 oder 10 µl.

Reagenzien:

1. Chloroform für Chromatographie;
2. Benzen für Chromatographie;
3. Kieselgel (z.B. Kieselgel G);
4. Bezugslösung für Plattenchromatographie, 5 %ige Cholesterin-Lösung in Chloroform;
5. Aceton für Chromatographie;
6. 0,1 %ige Lösung des Natriumsalzes des 2'-, 7'-Dichlorfluoresceins in absolutem Äthylalkohol;
7. Lösung für den Empfindlichkeitstest: 1 mg Cholesterin in 1 ml n-Pentan;
8. Lösung zur Prüfung der Peakauflösung: 0,9 mg Rüböl-Phytosterin und 0,1 mg Cholesterin in 1 ml n-Pentan. Die Sterine müssen nach dem unter Punkt A des Kapitels „Arbeitsvorschrift" beschriebenen Verfahren frisch zubereitet werden.
9. Lösung für den Referenztest: 1 mg Sonnenblumenöl-Phytosterin in 1 ml n-Pentan, frisch zubereitet wie unter Punkt A des Kapitels „Arbeitsvorschrift" beschrieben.

Herstellung der Platten für die Dünnschicht-Chromatographie:

Auf das Beschichtungsgerät werden der Reihe nach eine Platte von 20 × 5 × 0,4 cm, 4 Platten von 20 × 20 × 0,4 cm und eine Platte von 20 × 5 × 0,4 cm gelegt.

In einen 500-ml-Weithalskolben gibt man 40 g Kieselgel und etwa 80 ml Wasser. Mit einem Glasstab bzw. mit einem mechanischen Glasrührwerk wird umgerührt, bis eine homogene Suspension entsteht.

Etwa eingeschlossene Gase werden durch mindestens einminütiges Evakuieren mit einer Wasserstrahlpumpe entfernt. Danach wird die Suspension auf das Beschichtungsgerät gegeben, eine Schichtdicke von 0,5 mm eingestellt und die Platten gleichmäßig beschichtet.

Die Platten werden ca. 15 Minuten an der Luft und anschließend 2 Stunden im Trockenschrank bei 105 °C getrocknet. Die so hergestellten Platten werden im Exsiccator unter Vakuum aufbewahrt.

ARBEITSVORSCHRIFT

A. Abtrennung der Sterinfraktion durch Dünnschicht-Chromatographie

Man gibt in die Entwicklungskammer bis zu einer Höhe von ca. 1 cm eine Mischung von Benzol/Aceton 95:5 (v/v); die Kammer wird mit dem Deckel verschlossen und mindestens 3 Stunden stehengelassen, damit sich ein Gleichgewicht Flüssigkeit/Dampf einstellt. Es wird ferner empfohlen, an der Innenwand der Kammer Filterpapierstreifen zu befestigen, die in das Fließmittel tauchen. Diese Vorsichtsmaßnahme hat den Vorzug, die Laufzeit des Fließmittels um etwa ein Drittel zu verkürzen und die Komponenten gleichmäßiger zu eluieren.

In der Zwischenzeit wird eine 5 %ige Chloroform-Lösung des mit Petroläther extrahierten Unverseifbaren hergestellt. Man entnimmt ca. 0,3 ml dieser Lösung und trägt sie mit der 0,1-ml-Mikrospritze in einem gleichmäßigen kontinuierlichen Streifen auf die Dünnschichtplatte in etwa 1,5 cm Abstand vom unteren Plattenrand auf, und zwar so, daß man am Start einen möglichst schmalen Streifen erhält.

Am Rande der Platte werden nach dem üblichen Verfahren einige µl der cholesterinhaltigen Bezugslösung aufgetragen, um den Rf-Wert der Sterinfraktion zu bestimmen.

Die Platte wird in die nach obiger Vorschrift vorbereitete Entwicklungskammer gestellt. Die Temperatur der Umgebung muß etwa 20 °C betragen.

Man schließt den Deckel und entwickelt, bis die Lösungsmittelfront einen Abstand von etwa 1 cm vom oberen Rand der Platte erreicht hat. Man nimmt die Platte aus der Entwicklungskammer und verdampft das Lösungsmittel im Warmluftstrom.

Die Zonen werden sichtbar gemacht, indem man die Platte gleichmäßig und vorsichtig mit der alkoholischen Lösung des Natriumsalzes des 2',7'-Dichlorofluorescein besprüht. Man betrachtet die Platte im ultravioletten Licht und bestimmt die Lage der Sterine mit Hilfe des Cholesterinfleckens der Bezugslösung.

Die Sterinzone wird mit Hilfe eines Metallspachtels abgekratzt.

Das abgetrennte Kieselgel wird in ein 50 ml Becherglas mit 15 ml warmem Chloroform gegeben, gerührt, vollständig auf den Glasfiltertiegel gegeben und filtriert. Das Filter wird dreimal mit je 15 ml warmem Chloroform gewaschen und das Filtrat in einem 100 ml-Kolben gesammelt.

Die Chloroformlösung wird auf 4—5 ml eingeengt und in ein gewogenes Zentrifugenglas mit Schliffstopfen gegeben. Durch vorsichtiges Erwärmen im Stickstoffstrom wird das Lösungsmittel bis zur Trockne eingedampft, die so gewonnene Sterinfraktion gewogen und in 2 ml Chloroform gelöst.

B. Gaschromatographische Analyse der Sterine

1. *Arbeitsbedingungen für die gaschromatische Analyse*

Säulentemperatur: 220—250 °C

Temperatur des Einspritzsystems, wenn es gesondert beheizt werden kann: 20—40 °C über der Säulentemperatur.

Stickstoffstrom: 30—60 ml pro Minute. Den Detektoranschluß lösen und neue Säulen unter den vorgenannten Bedingungen in 16—24 Stunden zur Einstellung eines Gleichgewichtes bringen. Detektor anschließen, Flamme entzünden und Wasserstoff- und Sauer-

stoff- oder Luftstrom so einregulieren, daß eine geeignete Flammenhöhe und Empfindlichkeit erreicht werden. Den Schreiber einschalten und einen geeigneten Papiervorschub einstellen; Null-Punkt und Meßbereich einjustieren. Ist die Grundlinie stabil, so ist das Gerät einsatzbereit.

2. *Empfindlichkeitstest*

3—5 µl der Lösung für den Empfindlichkeitstest (7) werden eingespritzt. Auf dem Chromatogramm darf nur ein Cholesterin-Peak erscheinen. Der Meßbereich ist so einzuregulieren, daß fast die gesamte Breite des Schreibers ausgenutzt wird.

3. *Prüfung der Peakauflösung*

3—5 µl der Testlösung zur Prüfung der Peakauflösung (8) werden eingespritzt. Es müssen die Peaks von Cholesterin, Brassicasterin, Campesterin und ß-Sitosterin auf dem Chromatogramm erscheinen. Bestimmt werden die Retentionen der Peaks (Abstand vom Einspritzpunkt bis zum Maximum der Peaks), d_{CH} für Cholesterin, d_B für Brassicasterin, d_C für Campesterin und d_S für ß-Sitosterin sowie die Breite an der Peak-Basis (Abstand zwischen den Schnittpunkten der Wendetangenten an der Vorder- und Rückseite der Peaks mit der Grundlinie) w_{CH} für Cholesterin und w_B für Brassicasterin.

Die Peakauflösung, ausgedrückt durch die Formel

$$PR = 2(d_B - d_{CH}) / (w_B + w_{CH})$$

muß mindestens gleich 1 sein.

Es werden dann die relativen Retentionszeiten (Cholesterin = 1,00) für Brassicasterin, Campesterin und ß-Sitosterin berechnet.

4. *Referenztest*

Man spritzt 3—5 µl der Lösung für den Referenztest (9) ein.

Es müssen auf dem Chromatogramm die Peaks des Campesterins, Stigmasterins, ß-Sitosterins und Δ 7-Stigmasterins erscheinen. Es werden die Retentionen der Peaks gemessen — d_C für Campesterin, d_{ST} für Stigmasterin, d_S für ß-Sitosterin und d_{ST-7} für Δ 7-Stigmasterin.

Die relativen Retentionszeiten werden berechnet; sie betragen etwa für:

Cholesterin	1,00 (ungefähr 15 Minuten)
Brassicasterin	1,13—1,15
Campesterin	1,32—1,34
Stigmasterin	1,44—1,46
ß-Sitosterin	1,66—1,68
Δ 7-Stigmasterin	1,88—1,92

5. *Analyse*

Es werden 3—5 µl der zu analysierenden Lösung eingespritzt und das Chromatogramm registriert.

C. Ergebnisse

Bei der Ermittlung der Zusammensetzung der analysierten Sterin-Fraktion brauchen Peaks, deren Retentionszeiten von der experimentell ermittelten Zeit der sechs obengenannten Sterine abweichen, nicht berücksichtigt zu werden.

Der prozentuale Gehalt an ß-Sitosterin wird mit Hilfe folgender Formel ermittelt:

$$\frac{\text{Fläche des ß-Sitosterinpeaks}}{\text{Summe der Flächen der sechs Sterinpeaks}} \times 100$$

ANHANG III

ZUSÄTZLICHE VORSCHRIFTEN

1. Für die Anwendung der Tarifnummer 15.07 gilt folgendes:

   A. Durch Pressung gewonnene fette pflanzliche Öle, flüssig oder fest, gelten als „roh", wenn sie keine andere Behandlung erfahren haben als

      — Absetzenlassen in allgemein üblichen Zeiträumen;

      — Abschleudern (Zentrifugieren) oder auch Filtrieren, bei dem zur Trennung des Öls von festen Bestandteilen nur „mechanische" Kräfte, wie Schwerkraft, Druck- oder Fliehkraft, jedoch keinerlei absorptiv wirkende Filterhilfsmittel oder andere physikalische oder chemische Verfahren benutzt worden sind.

   B. Durch Extraktion gewonnene fette pflanzliche Öle, flüssig oder fest, gelten als „roh", wenn sich ihre Beschaffenheit weder nach Farbe, Geruch und Geschmack noch durch besondere anerkannte analytische Daten von den entsprechenden durch Pressung gewonnenen fetten pflanzlichen Ölen unterscheidet.

   C. Entschleimtes Sojaöl und von Gossypol befreites Baumwollsaatöl gelten ebenfalls als „rohe" Öle.

2. A. Als Olivenöl im Sinne der Tarifstelle 15.07 A gilt nur das ausschließlich aus Oliven hergestellte Öl, nicht jedoch wiederverestertes Olivenöl oder Mischungen von Olivenöl mit anderen Ölen.

   B. Zu Tarifstelle 15.07 A I a) gehört Olivenöl mit folgenden Merkmalen:

      a) Gehalt an freien Fettsäuren, berechnet als Ölsäure, höchstens 3 %;

      b) Extinktionskoeffizient K_{270} (optische Dichte einer auf 100 ml aufgefüllten Lösung von 1 g Öl in Isooktan (2,2,4-Trimethylpentan) bei einer Schichtdicke von 1cm und im Wellenlängenbereich von 270 nm) größer als 0,25, höchstens jedoch 1,10 und nach Behandlung der Ölprobe mit aktiviertem Aluminiumoxid größer als 0,11.

      c) Schwankung des Extinktionskoeffizienten im Wellenlängenbereich von 270 nm größer als 0,01, jedoch höchstens 0,16.

         Diese Schwankung ist definiert durch den Ausdruck:

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

         Dabei bezeichnet K_m den Extinktionskoeffizienten für die im Bereich von 270 nm liegende Wellenlänge, die im Maximum der Absorptionskurve liegt.

         K_{m-4} und K_{m+4} bezeichnen die Extinktionskoeffizienten für eine um 4 nm niedriger bzw. höher liegende Wellenlänge als K_m;

      d) keine positive Reaktion auf Tresteröl.

   C. Zu Tarifstelle 15.07 A I b) gehört Olivenöl, das entweder:

      a) die in der Zusätzlichen Vorschrift 2 B Buchstaben a) bis c) aufgeführten Merkmale und eine positive Reaktion auf Tresteröl aufweist oder

      b) das in der Zusätzlichen Vorschrift 2 B Buchstabe a) beschriebene Merkmal und einen Extinktionskoeffizienten K_{270} von mehr als 1,10, höchstens jedoch 2,00 besitzt, sowie eine Schwankung des Extinktionskoeffizienten im Bereich von 270 nm von höchstens 0,20 aufweist.

   D. Als „Jungfernöl" gilt natürliches Olivenöl, das nur durch mechanische Verfahren, einschließlich Pressung, gewonnen ist, ausgenommen jede Mischung mit Olivenöl, das auf andere Weise gewonnen ist.

3. Nicht zu Tarifstelle 15.17 A gehören:

   a) Rückstände aus der Verarbeitung von Fettstoffen, die Öl enthalten, dessen Jodzahl nach der Methode von Wijs ohne Katalysator kleiner als 70 oder größer als 100 ist;

   b) Rückstände aus der Verarbeitung von Fettstoffen, die Öl enthalten, dessen Jodzahl zwischen 70 und 100 liegt, bei dem jedoch die Fläche des Peaks, der dem Retentionsvolumen des Beta-Sitosterins entspricht und der gemäß Anhang II der in der nachstehenden Zusätzlichen Vorschrift 4 genannten Verordnung bestimmt worden ist, weniger als 93% der Gesamtfläche der Sterinpeaks ausmacht.

4. Für die Bestimmung der Merkmale der obengenannten Waren sind die in den Anhängen I und II der Verordnung (EWG) Nr. 618/72 beschriebenen Analysemethoden anzuwenden.