VERORDENING (EEG) Nr. 618/72 VAN DE COMMISSIE

van 29 maart 1972

betreffende de kenmerken van olijfolie en van sommige produkten welke olijfolie bevatten

DE COMMISSIE VAN DE EUROPESE GEMEENSCHAPPEN,

Gelet op het Verdrag tot oprichting van de Europese Economische Gemeenschap,

Gelet op Verordening nr. 136/66/EEG van de Raad van 22 september 1966 houdende een gemeenschappelijke ordening der markten in de sector oliën en vetten (1), laatstelijk gewijzigd bij Verordening (EEG) nr. 2727/71 (2), en met name op artikel 18, lid 3,

Gelet op Verordening (EEG) nr. 443/72 van de Raad van 29 februari 1972 betreffende de heffingen op olijfolie welke aan een raffinageproces onderworpen is geweest, alsmede op sommige produkten welke olijfolie bevatten (3), en met name op artikel 8,

Gelet op Verordening nr. 162/66/EEG van de Raad van 27 oktober 1966 betreffende het handelsverkeer in oliën en vetten tussen de Gemeenschap en Griekenland (4), en met name op artikel 4, lid 2, artikel 5, lid 3, en artikel 9,

Overwegende dat de restituties bij uitvoer van olijfolie naar gelang van de soorten olie op verschillende niveaus kunnen worden vastgesteld; dat deze oliën daartoe dienen te worden onderscheiden volgens hun scheikundige kenmerken;

Overwegende dat in Verordening (EEG) nr. 443/72 verschillende heffingen zijn vastgesteld voor olijfolie die is verkregen door raffinage van olijfolie verkregen bij de eerste persing en voor olie uit perskoeken en andere afvallen van olijven welke aan een raffinageproces onderworpen is geweest; dat deze oliën moeten worden onderscheiden volgens hun scheikundige kenmerken;

Overwegende dat de douanenomenclatuur zoals voortvloeiende uit de toepassing van deze verordening voorkomt in het gemeenschappelijk douanetarief;

Overwegende dat de in deze verordening vervatte maatregelen in overeenstemming zijn met het advies van het Comité van beheer voor oliën en vetten,

HEEFT DE VOLGENDE VERORDENING VASTGESTELD:

Artikel 1

1. Als olijfolie in de zin van onderverdeling A van post 15.07 A van het gemeenschappelijk douanetarief wordt enkel aangemerkt de olie uitsluitend afkomstig van de behandeling van olijven, met uitzondering van opnieuw veresterde olijfolie en van alle mengsels van olijfolie met olie van een andere soort.

2. Tot de onderverdelingen A I a) en A I b) van post 15.07 van het gemeenschappelijk douanetarief behoren de oliën die de kenmerken vertonen als omschreven in bijlage I.

3. Tot de onderverdeling A van post 15.17 van het gemeenschappelijk douanetarief behoren de produkten van post 15.17, andere dan die omschreven in bijlage II.

4. Voor de toekenning van de uitvoerrestitutie behoren tot de onderverdelingen A II (a) en A II (b) van post 15.07 bedoeld in artikel 2 van Verordening (EEG) nr. 616/72 (5), de oliën die de in bijlage I genoemde kenmerken vertonen.

Artikel 2

In het gemeenschappelijk douanetarief wordt de aanvullende aantekening bij hoofdstuk 15 vervangen door de tekst die voorkomt in bijlage III.

---

(1) PB nr. 172 van 30. 9. 1966, blz. 3025/66.
(2) PB nr. L 282 van 23. 12. 1971, blz. 8.
(3) PB nr. L 54 van 3. 3. 1972, blz. 3.
(4) PB nr. 197 van 29. 10. 1966, blz. 3393/66.

(5) Zie blz. 1 van dit Publikatieblad.

Artikel 3

Deze verordening treedt in werking op 1 april 1972.

Verordening nr. 177/66/EEG van de Commissie van 7 november 1966 met betrekking tot de onderscheiding van verschillende soorten olijfolie welke aan een raffinageproces onderworpen zijn geweest [1] wordt ingetrokken.

Deze verordening is verbindend in al haar onderdelen en is rechtstreeks toepasselijk in elke Lid-Staat.

Gedaan te Brussel, 29 maart 1972.

Voor de Commissie
De Voorzitter
S. L. MANSHOLT

---

[1] PB nr. 203 van 8. 11. 1966, blz. 3491/66.

BIJLAGE I

Kenmerken van olijfolie, behorende tot onderverdelingen A I a), A I b), A II (a) en A II (b) van post 15.07

1. Tot onderverdeling A I a) van post 15.07 behoort olijfolie met de volgende kenmerken:

   a) een gehalte aan vrije vetzuren, berekend als oliezuur, van ten hoogste 3 % ;

   b) een specifieke extinctiecoëfficiënt K_{270} (de extinctie van een oplossing van 1 gram olie in 100 ml iso-octaan (2,2,4-trimethylpentaan) door een laag van 1 cm bij een golflengte van 270 nm) hoger dan 0,25 en niet hoger dan 1,10 en, na behandeling van het monster over een kolom van geactiveerd aluminiumoxyde, hoger dan 0,11;

   c) een variatie van de specifieke extinctiecoëfficiënt in de nabijheid van 270 nm, hoger dan 0,01, en niet hoger dan 0,16.

   Deze variatie wordt gedefinieerd door de formule:

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

   waarin

   K_m de specifieke extinctiecoëfficiënt bij de golflengte van het maximum van de absorptiecurve in de nabijheid van 270 nm is en

   K_{m-4} en K_{m+4} de specifieke extinctiecoëfficiënten bij de golflengten van respectievelijk 4 nm korter en 4 nm langer dan die van K_m zijn;

   d) afwezigheid van een positieve reactie op residu-olie.

2. Tot onderverdeling A I b) van post 15.07 behoort olijfolie die:

   a) hetzij de kenmerken heeft als bedoeld onder punt 1, sub a) tot en met c), en een positieve reactie vertoont op residu-olie;

   b) hetzij de kenmerken heeft als bedoeld onder punt 1, sub a), en een specifieke extinctiecoëfficiënt K_{270} die hoger is dan 1,10 maar niet hoger dan 2,00, alsmede een variatie van de specifieke extinctiecoëfficiënt in de nabijheid van 270 nm niet groter dan 0,20.

3. Tot onderverdeling A II (a) van post 15.07 behoort olijfolie met de volgende kenmerken:

   a) een specifieke extinctiecoëfficiënt K_{270}, na behandeling van het monster over een kolom van geactiveerd aluminiumoxyde, niet hoger dan 0,11.

      Bij uitzondering kunnen sommige oliën met hoge zuurgraad na behandeling over een kolom van geactiveerd aluminiumoxyde een specifieke extinctiecoëfficiënt hebben die hoger is dan 0,11. In dat geval moeten zij na neutralisering en ontkleuring in het laboratorium de in punt 1 genoemde kenmerken vertonen;

   b) een variatie van de specifieke extinctiecoëfficiënt in de nabijheid van 270 nm niet hoger dan 0,01;

   c) afwezigheid van een positieve reactie op residu-olie,

4. Tot onderverdeling A II (b) van post 15.07 behoort olijfolie met de volgende kenmerken:

   a) een gehalte aan vrije vetzuren, berekend als oliezuur, hoger dan 3 % en

   b) een positieve reactie op residu-olie, of wel, na neutralisering en ontkleuring in het laboratorium, de in punt 2, sub b), genoemde kenmerken.

ANALYSEMETHODE

I. BEHANDELING VAN HET MONSTER OVER EEN KOLOM VAN GEACTIVEERD ALUMINIUMOXYDE

1. 30 g basisch aluminiumoxyde, verkregen volgens de in paragraaf 2 beschreven wijze, in een chromatografiekolom brengen van ongeveer 35 mm doorsnede en 450 mm lengte en die voorzien is van een afvoerbuis met een doorsnede van ongeveer 10 mm.

Het aluminiumoxyde-samendrukken door de kolom in vertikale stand herhaaldelijk en zachtjes te laten vallen op een houten oppervlak. In de aldus voorbereide kolom 100 ml van een oplossing van 10 % olie in hexaan gieten. Het eluaat opvangen en het oplosmiddel onder vacuüm verdampen bij een temperatuur beneden 25 °C. Van de aldus verkregen olie moet de specifieke extinctiecoëfficiënt bij 270 nm onmiddellijk bepaald worden.

2. Men verkrijgt basisch aluminiumoxyde met een werkzaamheid van Brockmann I (0 % water) wanneer men basisch aluminiumoxyde (voor de chromatografie) met korrelgrootte tussen 30 µm en 130 µm (gemiddeld 80 µm) gedurende 3 uur op 380–400 °C verhit.

   Ten einde basisch aluminiumoxyde met een werkzaamheid van Brockmann tussen II tot III te verkrijgen, voegt men aan 100 g hiervan 5 ml gedestilleerd water toe. Herhaaldelijk schudden en gedurende een nacht in een hermetisch gesloten vat laten staan.

Controle van de werkzaamheid van aluminiumoxyde:

30 g basisch aluminiumoxyde (verkregen op de hierboven beschreven wijze) in een chromatografiekolom brengen van ongeveer 35 mm doorsnede en 450 mm lengte; onder de in de methode genoemde voorwaarden hierdoor een mengsel laten lopen, bestaande uit 95 % olijfolie verkregen bij de eerste persing met een specifieke extinctiecoëfficiënt K_{270} lager dan 0,18 en 5 % aardnotenolie, die tijdens de raffinage is behandeld met bleekaarde, met een specifieke extinctiecoëfficiënt K_{270} van ten minste 4. Bij een specifieke extinctiecoëfficiënt van het mengsel van hoger dan 0,11 is het aluminiumoxyde bruikbaar. Indien over dit aluminiumoxyde geen elutie van geconjugeerde triënen heeft plaatsgevonden, moet een meer gehydrateerd aluminiumoxyde gebruikt worden, maar dan moet eerst worden nagegaan of dit aan de eisen van de vorige proef voldoet.

II. REACTIE OP RESIDU-OLIE

1. **Apparatuur:**

   — kolf van 100 ml, voorzien van terugvloeikoeler;

   — pipet van 5 ml met schaalverdeling in tienden;

   — verwarmingstoestel waarmede de kolf op een temperatuur van ongeveer 80 °C kan worden gebracht;

   — thermometer van 15 tot 60 °C.

2. **Reagentia:**

   — oplossing van kaliumhydroxyde in water en alcohol (42,5 g KOH opgelost in 72 ml gedestilleerd water, vervolgens aangevuld tot 500 ml met ethylalcohol van 95 %);

   — ethylalcohol 70 %;

   — oplossing van 1 volumedeel azijnzuur in 2 volumedelen water en wel zo dat 1,5 ml precies 5 ml van de oplossing van kaliumhydroxyde in water en alcohol in aanwezigheid van fenolftaleïen neutraliseren.

3. **Voorbereiding van het monster:**

   Het water wordt uit de olie verwijderd door afschenken en filtreren over filtreerpapier bij een temperatuur die iets hoger ligt dan het smeltpunt van sommige vastgeworden bestanddelen die zich eventueel uit de vloeibare olie hebben afgescheiden.

4. **Werkwijze:**

   In de kolf ongeveer 1 ml olie brengen die is behandeld als aangegeven in punt 3, en 5 ml van de oplossing van kaliumhydroxyde in water en alcohol toevoegen. De terugvloeikoeler aanbrengen en gedurende 10 minuten laten koken en bij tussenpozen schudden. Laten afkoelen tot kamertemperatuur. Toevoegen 1,5 ml van de oplossing van azijnzuur in water, alsmede 50 ml van de oplossing van ethylalcohol die vooraf is verwarmd tot 50 °C. Mengen door roeren, de thermometer inbrengen en laten afkoelen; het uiterlijk van de oplossing waarnemen zodra deze een temperatuur van 45 °C bereikt. Indien zich een vlokkig neerslag vormt bij een temperatuur boven 40 °C, is de reactie positief.

   Bij afwezigheid van een duidelijk merkbaar vlokkig neerslag, de vloeistof gedurende ten minste 24 uur en zo nodig gedurende 48 uur op kamertemperatuur houden, die moet liggen tussen 20 en 22 °C. De oplossing nogmaals controleren: de vorming van een vlokkig neerslag dat in de vloeistof zweeft toont eveneens aan dat de reactie positief is.

III. NEUTRALISERING EN ONTKLEURING VAN OLIJFOLIE IN HET LABORATORIUM

A. Neutralisering van de olijfolie

1. Apparatuur

— hoog bekerglas van 300 ml;
— laboratoriumcentrifuge met buisjes van 100 ml;
— bekerglas van 250 ml;
— kolven van 100 ml;
— scheitrechter van 1 liter.

2 Reagentia

— oplossing van 12 % natriumhydroxyde in water;
— oplossing van 1 % fenolftaleïen in ethanol;
— hexaan, p.a.
— isopropylalcohol, p.a.

3. Werkwijze

a) Oliën met een gehalte aan vrije vetzuren beneden 30 %, berekend als oliezuur.

In een hoog bekerglas van 300 ml, 50 g ruwe olie brengen en in een waterbad verwarmen tot 65 °C. Onder langzaam roeren een zodanige hoeveelheid natriumhydroxydeoplossing (12 %) toevoegen als overeenkomt met het gehalte aan vrije vetzuren van de olie, met een overmaat van 5 %. Blijven roeren gedurende 5 minuten en de temperatuur op 65 °C houden.

Alles overbrengen in centrifuge buisjes van 100 ml en de zeeppasta afcentrifugeren. De geklaarde olie afgieten in een bekerglas van 250 ml en wassen met 50—60 ml kokend gedestilleerd water, en de waterlaag verwijderen met behulp van een hevel. Het wassen herhalen tot alle overblijvende sporen van zeep zijn verdwenen (tot de fenolftaleïen niet meer rose kleurt). De olie afcentrifugeren om de kleine resten water om verwijderen.

b) Oliën met een gehalte aan vrije vetzuren boven 30 %, berekend als oliezuur

In een scheitrechter van 1 liter 50 g ruwe olie brengen, 200 ml hexaan, 100 ml isopropylalcohol en een zodanige hoeveelheid natriumhydroxydeoplossing (12 %) als overeenkomt met het gehalte aan vrije vetzuren van de olie, met een overmaat van 0,3 %. Flink roeren gedurende een minuut, 100 ml gedestilleerd water toevoegen, nogmaals roeren en laten staan. Na scheiding van de lagen de zeephoudende onderlaag laten wegvloeien. Tussen de twee lagen (olie boven en waterige laag onder) ontstaat vaak een tussenlaag, bestaande uit slijmige en niet oplosbare stoffen, die eveneens moet worden verwijderd. Vervolgens de hexaanoplossing van neutrale olie wassen met porties van 50—60 ml van een oplossing van een volumedeel isopropylalcohol in een volumedeel gedestilleerd water tot de fenolftaleïen geen rose kleuring meer geeft.

Vervolgens het hexaan volledig verwijderen door destillatie onder vacuüm (b.v. door middel van een roterende verdamper).

B. Ontkleuring van de geneutraliseerde olie

1. Apparatuur

— kolf van 250 ml met drie ingeslepen halzen voor het inbrengen van:
  a) een thermometer ingedeeld in °C en geschikt voor aflezingen tot 90 °C;
  b) een mechanische roerder met een toerental van 250—300 omw/min en voorzien van een inrichting voor bedrijf onder vacuüm;
  c) een aansluiting voor de vacuümpomp
— vacuümpomp, in staat een resterende druk te geven van 15—30 mbar, en voorzien van een manometer.

2. Werkwijze

In de driehalzige kolf ca. 100 g van de geneutraliseerde olijfolie afwegen. De thermometer en de roerder aanbrengen; aansluiten op de vacuümpomp en onder roeren ver-

warmen tot 90 °C, steeds onder roeren op deze temperatuur houden totdat de te analyseren olie volledig watervrij is (ongeveer 30 minuten).

De vacuümpomp afzetten en 2 tot 3 g geactiveerde bleekaarde toevoegen. Het vacuüm opnieuw tot stand brengen tot een resterende druk van 15—30 mbar en steeds bij een temperatuur van 90 °C gedurende 30 minuten roeren bij 250 omw/min.

Vervolgens warm filtreren in een oven met thermostaat (50—60 °C).

BIJLAGE II

Tot onderverdeling A van post 15.17 behorende produkten

Tot onderverdeling A van post 15.17 behoren niet:

a) afvallen, afkomstig van de bewerking van vetstoffen, die olie bevatten waarvan het joodgetal, bepaald volgens Wijs zonder katalysator, kleiner is dan 70 of groter dan 100,

b) afvallen, afkomstig van de bewerking van vetstoffen, die olie bevatten met een joodgetal tussen 70 en 100, maar waarbij het oppervlak van de piek die overeenkomt met het retentievolume van bêta-sitosterol, bepaald als aangegeven in het hierna volgende voorschrift, minder beslaat dan 93 % van het totale oppervlak van de sterolpieken.

ANALYSE VAN DE STEROLFRACTIE VAN DE VETSTOFFEN

Gaschromatografische analyse van de sterolen afgescheiden door middel van dunne-laagchromatografie uit het onverzeepbaar dat voorzichtig in een waterbad werd gedroogd.

Apparatuur:

1. Apparatuur voor de dunne-laagchromatografie, in het bijzonder omvattende vier glasplaten van 20 × 20 × 0,4 cm en twee van 20 × 5 × 0,4 cm en een microspuit van 0,1 ml;
2. bekerglas van 50 ml;
3. filterkroezen poreusheid 3, van 15 mm doorsnede;
4. kolf van 100 ml;
5. centrifugebuisje van 10 ml met conische bodem en ingeslepen stop;
6. pipetten van 1 ml met schaalverdeling;
7. gaschromatograaf voorzien van een vlamionisatiedetector, zilveren of glazen injectiesysteem of systeem voor directe injectie op de kolom, en een registreerapparaat;
8. gaschromatografische kolom van glas of roestvrij staal, „U" of spiraalvormig met een lengte van 1 tot 2 m en een binnendiameter van 3 tot 4 mm — 2 tot 4 % stationaire fase van siliconrubber (methyltype), stabiel tot ten minste 300 °C, op gecalcineerde met zuur gewassen en gesilaniseerde diatomeeënaarde met korrelgrootte 80/100 of 100/120 mesh;
9. microspuit waarmede hoeveelheden tot 5 of 10 µl kunnen worden geïnjecteerd.

Opmerking: Omdat sommige soorten roestvrijstaal foutieve resultaten kunnen veroorzaken door ontleding van de sterolen, wordt glas aanbevolen.

Reagentia:

1. chloroform voor de chromatografie;
2. benzeen voor de chromatografie;
3. silicagel (bijv. Kieselgel G);
4. vergelijkingsoplossing voor de dunne-laagchromatografie, bestaande uit een oplossing van 5 % cholesterol in chloroform;
5. aceten voor de chromatografie;
6. een oplossing in absolute ethylalcohol van 0,1 % natriumzout van 2', 7'-dichloorfluoresceïne;
7. oplossing voor de gevoeligheidsproef: 1 mg cholesterol in 1 ml n-pentaan;
8. oplossing voor de proef op de scheiding van de pieken:

   0,9 mg fytosterolen van raapolie en 0,1 mg cholesterol in 1 ml n-pentaan. De sterolen moeten vers bereid zijn, zoals omschreven onder „Werkwijze" sub A.
9. oplossing voor de referentieproef: 1 mg fytosterolen van zonnebloemolie in 1 ml n-pentaan, vers bereid zoals omschreven onder „Werkwijze" sub A.

Bereiding van de platen voor dunne-laagchromatografie:

In het uitstrijkapparaat achtereenvolgens een plaat van 20 × 5 × 0,4 cm, vier platen van 20 × 20 × 0,4 cm en een plaat van 20 × 5 × 0,4 cm aanbrengen.

In een rondkolf van 500 ml met wijde hals 40 g silicagel en ongeveer 80 ml water brengen. Roeren met een glazen staaf, eventueel met een mechanische roerder, tot een homogene suspensie verkregen is.

Eventuele gassen verwijderen door gedurende ten minste 1 minuut een vacuüm te trekken met behulp van een waterstraalluchtpomp. Daarna de suspensie in het uitstrijkapparaat brengen, de dikte instellen op 0,5 mm, en de platen gelijkmatig bedekken.

De platen gedurende ongeveer 15 minuten in de lucht laten drogen en vervolgens 2 uur in een droogstoof bij een temperatuur van 105 °C. De aldus bereide platen in een exsillator onder vacuüm bewaren.

WERKWIJZE

A. Scheiding van de sterolfractie met behulp van de dunne-laagchromatografie

In de ontwikkelbak een mengsel benzeen/aceton 95 : 5 (v/v) brengen tot een hoogte van ongeveer 1 cm; afdekken met de dekplaat en ten minste 3 uren laten staan om het vloeistofdamp evenwicht zich te laten instellen. Het verdient ook aanbeveling aan de binnenkant van de bak stroken filtreerpapier aan te brengen, die in de elutievloeistof hangen. Hierdoor wordt de looptijd van het front van de vloeistof met ongeveer een derde verkort en verloopt de elutie van de componenten gelijkmatiger.

Intussen een 5 %-oplossing van het met petroleumether geëxtraheerde onverzeepbaar in chloroform bereiden. Ongeveer 0,3 ml van deze oplossing met behulp van de microspuit van 0,1 ml zodanig op de chromatografieplaat op ongeveer 1,5 cm van de onderrand in ononderbroken en gelijkvormige banden opbrengen, ten einde een zo dun mogelijke startlijn te verkrijgen.

Volgens de gebruikelijke techniek aan een zijde van de plaat enkele µl van de vergelijkingsoplossing met cholesterol opbrengen ter identificering van de Rf waarde van de sterolfractie.

De plaat in de als hierboven aangegeven klaar gemaakte ontwikkelbak brengen. De temperatuur van de omgeving moet ongeveer 20° C bedragen.

Met de dekplaat afdekken en ontwikkelen tot het front van de loopvloeistof zich op ongeveer 1 cm van de bovenrand van de plaat bevindt.

De plaat uit de ontwikkelbak nemen en de loopvloeistof in een warme luchtstroom laten verdampen.

Ontwikkelen door de plaat vervolgens voorzichtig en gelijkmatig met de oplossing in alcohol van het natriumzout van 2', 7' — dichloorfluoresceïne te besproeien. De plaat in ultraviolet licht bekijken en de plaats van de sterolen bepalen aangegeven door de cholesterolvlek, afkomstig van de vergelijkingsoplossing.

De sterolband met een metalen spatel afkrabben.

Het afgescheiden silicagel in een bekerglas van 50 ml met 15 ml warm chloroform brengen, schudden en al het silicagel kwantitatief overbrengen in de filterkroes en filtreren. Vervolgens het filter driemaal wassen met porties van telkens 15 ml warme chloroform, waarbij alle filtraten in een kolf van 100 ml worden opgevangen.

De chloroformoplossing tot 4 à 5 ml indampen en overbrengen in het vooraf getareerde centrifugebuisje met ingeslepen stop. Drogen door het oplosmiddel onder zachte verwarming in een stikstofstroom af te dampen; de aldus verkregen sterolfractie wegen en oplossen in chloroform.

B. Gaschromatografische analyse van sterolen

1. *Gaschromatografische omstandigheden*

Temperatuur van de kolom: 220 tot 250 °C.

Temperatuur van het injectiesysteem indien het afzonderlijk wordt verwarmd: 20 tot 40 °C boven de temperatuur van de kolom. Stikstofstroom: 30 tot 60 ml/min. De detector uitschakelen en nieuwe kolommen onder deze omstandigheden conditioneren gedurende

16 tot 24 uren. De detector aansluiten, de vlam aansteken en de waterstof-, zuurstof- of luchtstroom zodanig regelen dat een passende vlamhoogte en gevoeligheid verkregen worden. Het registreerapparaat inschakelen en het papier met een passende snelheid laten aflopen; het nulpunt en de verzwakker instellen. Als de basislijn stabiel is, kan het apparaat worden gebruikt.

2. *Gevoeligheidsproef*

3 tot 5 µl van de gevoeligheidstest-oplossing (7) injecteren.

In het chromatogram mag alleen een cholesterolpiek verschijnen. De verzwakker zodanig afstellen dat ongeveer de hele schaal van het registreerapparaat wordt gebruikt.

3. *Proef op de scheiding van de pieken*

3 tot 5 µl van de oplossing voor de proef op de scheiding van de pieken (8) injecteren. De cholesterol-, brassicasterol-, campesterol- en β-sitosterolpieken moeten in het chromatogram verschijnen. De retentieafstanden (afstand van het injecteerpunt tot het punt dat de maximale hoogte van de piek aangeeft) van de pieken meten, d_{CH} voor cholesterol, d_B voor brassicasterol, d_C voor campesterol en d_S voor β-sitosterol. Voorts de breedten aan de basis van de pieken (afstand tussen de snijpunten met de basislijn van de raaklijnen van de buigpunten op de voorste en achterste zijden van de piek) meten, w_{CH} voor cholesterol en w_B voor brassicasterol.

De scheiding van de pieken, volgens de formule:

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

moet ten minste gelijk zijn aan 1.

De relatieve retentietijden (cholesterol = 1,00) voor brassicasterol, campesterol- en β-sitosterol berekenen.

4. *Referentieproef*

3 tot 5 µl van de referentieoplossing (9) injecteren. De pieken van campesterol, β-stigmasterol, β-sitosterol en Δ7-stigmastenol moeten in het chromatogram verschijnen. De retentieafstanden van de pieken meten, d_C voor campesterol, d_{ST} voor stigmasterol, d_S voor β-sitosterol en d_{ST-7} voor Δ7-stigmastenol.

De relatieve retentietijden berekenen; deze bedragen ongeveer:

cholesterol	1,00 (ongeveer 15 minuten)
brassicasterol	1,13—1,15
campesterol	1,32—1,34
stigmasterol	1,44—1,46
β-sitosterol	1,66—1,68
Δ 7-stigmastenol	1,88—1,92

5. *Analyse*

3 tot 5 µl van de te onderzoeken oplossing injecteren en het chromatogram opnemen.

C. **Weergave van de resultaten**

Voor een interpretatie van de samenstelling van de onderzochte sterolfractie mogen geen pieken met een andere retentietijd dan de experimenteel bepaalde voor de zes hierboven genoemde sterolen in aanmerking genomen worden.

Het gehalte in procenten β-sitosterol wordt weergegeven door de volgende formule:

$$\frac{\text{piekoppervlak voor } \beta\text{-sitosterol}}{\text{totaal oppervlak van de zes sterolpieken}} \times 100$$

BIJLAGE III

AANVULLENDE AANTEKENINGEN

1. Voor de toepassing van post 15.07:

   A. worden door persing verkregen vloeibare of vaste plantaardige oliën aangemerkt als „ruw", indien zij geen andere behandeling hebben ondergaan dan:

      — het decanteren gedurende een voor de desbetreffende oliesoort gebruikelijke tijdsduur;

      — het centrifugeren of het filtreren, voor zover het scheiden van de olie en de oorspronkelijk daarin voorkomende vaste bestanddelen alleen is geschied met behulp van een mechanische kracht, zoals met behulp van de zwaartekracht (bezinken), met behulp van de middelpuntvliedende kracht (centrifugeren) of door middel van filterpersen of andere persen, derhalve op andere wijze dan door absorptie of dan volgens een andere natuurkundige of scheikundige werkwijze;

   B. worden door extractie verkregen vloeibare of vaste plantaardige oliën aangemerkt als „ruw", indien zij niet door hun kleur, geur of smaak en evenmin door hun bij de voor de desbetreffende oliesoorten gebruikelijke analyses blijkende eigenschappen verschillen van door persing verkregen plantaardige oliën en vetten;

   C. worden eveneens aangemerkt als „ruw"; ontslijmde sojaolie en van gossypol ontdane katoenzaadolie.

2. A. Als olijfolie in de zin van onderverdeling A van post 15.07 wordt enkel aangemerkt de olie uitsluitend afkomstig van de behandeling van olijven, met uitzondering van opnieuw veresterde olijfolie en van alle mengsels van olijfolie met olie van een andere soort.

   B. Valt onder onderverdeling A I a) van post 15.07, olijfolie met de volgende kenmerken:

      a) een gehalte van vrije vetzuren, berekend als oliezuur, van ten hoogste 3 % ;

      b) een specifieke extinctiecoëfficiënt K_{270} (de extinctie van een oplossing van 1 gram olie in 100 ml iso-octaan (2,2,4-trimethylpentaan) door een laag van 1 cm bij een golflengte van 270 nm) hoger dan 0,25 en niet hoger dan 1,10 en, na behandeling van het monster over een kolom van geactiveerd aluminiumoxyde, hoger dan 0,11;

      c) een variatie van de specifieke extinctiecoëfficiënt in de nabijheid van 270 nm, hoger dan 0,01, en niet hoger dan 0,16.

         Deze variatie wordt uitgedrukt door de formule:

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

         waarin

         K_m de specifieke extinctiecoëfficiënt bij de golflengte van het maximum van de absorptiecurve in de nabijheid van 270 nm is en

         K_{m-4} en K_{m+4} de specifieke extinctiecoëfficiënten bij de golflengten van respectievelijk 4 nm korter en 4 nm langer dan die van K_m zijn,

      d) afwezigheid van een positieve reactie op residu-olie

   C. Valt onder onderverdeling A I b) van post 15.07 olijfolie die:

      a) hetzij de kenmerken heeft als bedoeld onder punt 2 B sub a) t/m c) en een positieve reactie vertoont op residu-olie

      b) hetzij de kenmerken heeft als bedoeld onder punt 2 B sub a), en een specifieke extinctiecoëfficiënt K_{270} die hoger is dan 1,10 maar niet hoger dan 2,00, alsmede een variatie van de specifieke extinctiecoëfficiënt in de nabijheid van 270 nm niet groter dan 0,20.

   D. Wordt aangemerkt als „olijfolie verkregen bij de eerste persing" natuurlijke olijfolie welke niet op andere wijze is verkregen dan langs zuiver mechanische weg (persen daaronder begrepen) met uitzondering van alle mengsels met olijfolie die op een andere wijze is verkregen.

3. Tot onderverdeling A van post 15.17 behoren niet:

   a) afvallen, afkomstig van de bewerking van vetstoffen, die olie bevatten waarvan het joodgetal, bepaald volgens Wijs zonder katalysator, kleiner is dan 70 of groter dan 100,

   b) afvallen, afkomstig van de bewerking van vetstoffen, die olie bevatten met een joodgetal tussen 70 en 100, maar waarbij het oppervlak van de piek die overeenkomt met het retentievolume van bêta-sitosterol, bepaald als aangegeven in bijlage II van de hierna onder Aanvullende Aantekening 4 genoemde verordening minder beslaat dan 93 % van de totale oppervlakten van de sterolpieken.

4. Voor de vaststelling van de kenmerken van bovengenoemde produkten worden de analysemethoden gebruikt die zijn beschreven respectievelijk in de bijlagen I en II bij Verordening (EEG) nr. 618/72.