



Institut luxembourgeois de la normalisation
de l'accréditation, de la sécurité et qualité
des produits et services

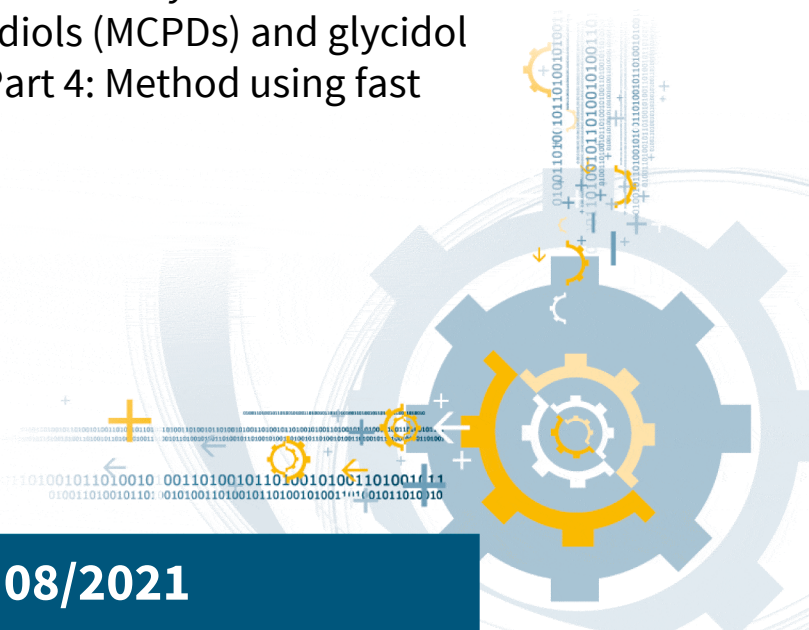
ILNAS-EN ISO 18363-4:2021

Tierische und pflanzliche Fette und Öle - Bestimmung von fettsäuregebundenem Chlorpropandiol (MCPD) und Glyceridol

Corps gras d'origines animale et végétale
- Détermination des esters de
chloropropanediols (MCPD) et d'acides
gras et des esters de glycidol et d'acides

Animal and vegetable fats and oils -
Determination of fatty-acid-bound
chloropropanediols (MCPDs) and glycidol
by GC/MS - Part 4: Method using fast

08/2021



Nationales Vorwort

Diese Europäische Norm EN ISO 18363-4:2021 wurde als luxemburgische Norm ILNAS-EN ISO 18363-4:2021 übernommen.

Alle interessierten Personen, welche Mitglied einer luxemburgischen Organisation sind, können sich kostenlos an der Entwicklung von luxemburgischen (ILNAS), europäischen (CEN, CENELEC) und internationalen (ISO, IEC) Normen beteiligen:

- Inhalt der Normen beeinflussen und mitgestalten
- Künftige Entwicklungen vorhersehen
- An Sitzungen der technischen Komitees teilnehmen

<https://portail-qualite.public.lu/fr/normes-normalisation/participer-normalisation.html>

DIESES WERK IST URHEBERRECHTLICH GESCHÜTZT

Kein Teil dieser Veröffentlichung darf ohne schriftliche Einwilligung weder vervielfältigt noch in sonstiger Weise genutzt werden - sei es elektronisch, mechanisch, durch Fotokopien oder auf andere Art!

ILNAS-EN ISO 18363-4:2021

EUROPÄISCHE NORM **EN ISO 18363-4**

EUROPEAN STANDARD

NORME EUROPÉENNE August 2021

ICS 67.200.10

Deutsche Fassung

**Tierische und pflanzliche Fette und Öle - Bestimmung von
fettsäuregebundenem Chlorpropandiol (MCPD) und Glycidol
mittels GC/MS - Teil 4: Verfahren mittels schneller alkalischer
Umesterung und Messung für 2-MCPD, 3-MCPD und Glycidol
(ISO 18363-4:2021)**

Animal and vegetable fats and oils - Determination of fatty-acid-bound chloropropanediols (MCPDs) and glycidol by GC/MS - Part 4: Method using fast alkaline transesterification and measurement for 2-MCPD, 3-MCPD and glycidol by GC-MS/MS (ISO 18363-4:2021)

Corps gras d'origines animale et végétale - Détermination des esters de chloropropanediols (MCPD) et d'acides gras et des esters de glycidol et d'acides gras par CPG/SM - Partie 4: Méthode par transestérification alcaline rapide et mesure pour le 2-MCPD, le 3-MCPD et le glycidol par CPG-SM/SM (ISO 18363-4:2021)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 26. Juli 2021 angenommen.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist. Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim CEN-CENELEC-Management-Zentrum oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

Diese Europäische Norm besteht in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch). Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, der Republik Nordmazedonien, Rumänien, Schweden, der Schweiz, Serbien, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, der Türkei, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

CEN-CENELEC Management-Zentrum: Rue de la Science 23, B-1040 Brüssel

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	3
Vorwort	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Kurzbeschreibung	8
5 Reagenzien	8
5.1 Allgemeines	8
5.2 Standard- und Referenzverbindungen	8
5.3 Standardlösungen	9
5.3.1 Allgemeines	9
5.3.2 Stammlösungen	9
5.3.3 Arbeitslösungen	10
5.4 Weitere Reagenzien	10
5.5 Reagenzlösungen	11
6 Prüfeinrichtung	11
7 Probe und Lagerung	12
7.1 Probenahme	12
7.2 Vorbereitung der Untersuchungsprobe	12
7.3 Lagerungsbedingungen	12
8 Durchführung	12
8.1 Vorbereitung der Untersuchungsprobe	12
8.2 Erstellung der Kalibrierkurve	13
8.3 Gaschromatographie und Massenspektrometrie-Einstellungen	13
9 Angabe der Ergebnisse	15
9.1 Allgemeines	15
9.2 Quantitative Bestimmung von 2-MCPD- und 3-MCPD-Estern	15
9.3 Quantitative Bestimmung von Glycidylestern	17
9.4 Qualitätskontrolle	19
10 Anmerkungen	20
11 Präzision	21
11.1 Allgemeines	21
11.2 Wiederholpräzision	21
11.3 Vergleichpräzision zwischen Tagen	21
Anhang A (normativ) Unterstützende Tabellen	22
Anhang B (informativ) Statistische Ergebnisse des Ringversuchs von ISO	24
Anhang C (informativ) Chromatogramme	27
Literaturhinweise	29

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 18363-4:2021) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 307 „Ölsaaten, tierische und pflanzliche Fette und Öle und deren Nebenprodukte — Probenahme- und Untersuchungsverfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat von AFNOR gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Februar 2022, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Februar 2022 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Liste dieser Institute ist auf den Internetseiten von CEN abrufbar.

Entsprechend der CEN-CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, die Republik Nordmazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Serbien, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Türkei, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 18363-4:2021 wurde von CEN als EN ISO 18363-4:2021 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsinstitute (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird üblicherweise von Technischen Komitees von ISO durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale staatliche und nichtstaatliche Organisationen, die in engem Kontakt mit ISO stehen, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet bei allen elektrotechnischen Normungsthemen eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC-Direktiven, Teil 1 beschrieben. Es sollten insbesondere die unterschiedlichen Annahmekriterien für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der erhaltenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname wird als Information zum Nutzen der Anwender angegeben und stellt keine Anerkennung dar.

Für eine Erläuterung des freiwilligen Charakters von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO, en: World Trade Organization) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT, en: Technical Barriers to Trade) berücksichtigt, siehe www.iso.org/iso/foreword.html.

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34, *Food products*, Unterkomitee SC 11, *Animal and vegetable fats and oils*, in Zusammenarbeit mit dem Europäischen Komitee für Normung (CEN), Technisches Komitee CEN/TC 307, *Ölsaaten, tierische und pflanzliche Fette und Öle und deren Nebenprodukte — Probenahme- und Untersuchungsverfahren*, in Übereinstimmung mit der Vereinbarung zur technischen Zusammenarbeit zwischen ISO und CEN (Wiener Vereinbarung) erarbeitet.

Eine Auflistung aller Teile der Normenreihe ISO 18363 ist auf der ISO-Internetseite abrufbar.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Auflistung dieser Institute ist unter www.iso.org/members.html zu finden.

Einleitung

Die Normenreihe ISO 18363 ist eine Familie Internationaler Normen, die zur Bestimmung von estergebundenem MCPD und Glycidol verwendet werden kann. Diese Einleitung beschreibt die in den verschiedenen Teilen festgelegten Verfahren, damit der Analytiker entscheiden kann, welche Verfahren für die Anwendung geeignet sind. Die genaue Anwendung jedes Verfahrens ist im Anwendungsbereich des einzelnen Verfahrens enthalten.

ISO 18363-1 ist ein Differenzverfahren, das der DGF-Einheitsmethode C-VI 18 (10) [9] gleichwertig und mit der AOCS Official Method Cd 29c-13 [6] identisch ist. Kurz gefasst beruht es auf einer schnellen alkalisch katalysierten Freisetzung von 3-MCPD und Glycidol aus den Ester-Derivaten. Glycidol wird anschließend in induziertes 3-MCPD umgewandelt. Es besteht aus zwei Teilen. Der erste Teil (A) ermöglicht die Bestimmung der Summe von estergebundenem 3-MCPD und estergebundenem Glycidol, während der zweite Teil (B) nur estergebundenes 3-MCPD bestimmt. Beide Prüfungen basieren auf der Freisetzung der Ziel-Analyten 3-MCPD und Glycidol aus der estergebundenen Form durch eine alkalisch katalysierte Alkoholyse, die bei Raumtemperatur erfolgt. In Teil A wird eine angesäuerte Natriumchloridlösung verwendet, um die Reaktion zu beenden und anschließend das Glycidol in induziertes 3-MCPD umzuwandeln. 3-MCPD und Glycidol werden daher in Teil A ununterscheidbar. In Teil B wird die Beendigung der Reaktion durch das Hinzufügen einer angesäuerten chloridfreien Salzlösung erreicht, die auch die Umwandlung von Glycidol in induziertes MCPD verhindert. Folglich ermöglicht Teil B die Bestimmung des tatsächlichen 3-MCPD-Gehalts. Letztendlich ist der Glycidolgehalt der Probe proportional zur Differenz zwischen beiden Prüfungen (A - B) und kann berechnet werden, sobald das Umwandlungsverhältnis von Glycidol zu 3-MCPD bestimmt worden ist. ISO 18363-1 ist anwendbar für die schnelle Bestimmung von estergebundenem 3-MCPD und Glycidol in raffinierten und nicht raffinierten pflanzlichen Ölen und Fetten. ISO 18363-1 kann auch auf tierische Fette und gebrauchte Frittieröle und -fette angewendet werden, jedoch muss vor der Analyse dieser Matrices eine Validierungsstudie durchgeführt werden. Alle freien Analyten in der Probe würden in die Ergebnisse einbezogen werden, aber das Dokument lässt keine Unterscheidung zwischen freien und gebundenen Analyten zu. Zum Zeitpunkt der Veröffentlichung hat die Forschung jedoch keinen Nachweis eines Gehaltes an freien Analyten in gleicher Höhe wie der Gehalt an veresterten Analyten in raffinierten pflanzlichen Ölen und Fetten erbracht. Grundsätzlich kann ISO 18363-1 auch so modifiziert werden, dass die Bestimmung von 2-MCPD durchführbar ist, aber auch hier muss vor der Analyse dieses Analyten eine Validierungsstudie durchgeführt werden.

ISO 18363-2 stellt die AOCS Official Method Cd 29b-13 [5] dar. Kurz gefasst, beruht sie auf einer langsamen alkalischen Freisetzung von MCPD und Glycidol aus den Ester-Derivaten. Glycidol wird anschließend in 3-MBPD umgewandelt. ISO 18363-2 besteht aus zwei Probenvorbereitungen, die sich in der Verwendung interner Standards unterscheiden. Beide Vorbereitungen werden für die Bestimmung von estergebundenem 2-MCPD und 3-MCPD verwendet. In Teil A wird ein vorläufiges Ergebnis für estergebundenes Glycidol bestimmt. Da das in der Probe vorhandene 3-MCPD zu einem geringen Grad durch die Probenvorbereitung in induziertes Glycidol umgewandelt wird, dient Teil B dazu, diese Menge des induzierten Glycidols quantitativ zu bestimmen, die anschließend von dem vorläufigen Glycidolergebnis aus Teil A subtrahiert wird. Durch die Verwendung von isotope markierten freien MCPD-Isomeren in Prüfung A und isotope markierten estergebundenem 2-MCPD und 3-MCPD in Teil B kann die Wirksamkeit der Esterspaltung überwacht werden. Beide Prüfungen, A und B, basieren auf der Freisetzung der Ziel-Analyten 2-MCPD, 3-MCPD und Glycidol aus der estergebundenen Form durch eine langsame alkalisch katalysierte Alkoholyse bei Kälte. In beiden Probenvorbereitungen wird die Reaktion durch das Hinzufügen einer angesäuerten konzentrierten Natriumbromidlösung beendet, um das instabile und flüchtige Glycidol in 3-MBPD umzuwandeln, das mit 3-MCPD vergleichbare Eigenschaften hinsichtlich seiner Stabilität und des chromatographischen Verhaltens aufweist. Darüber hinaus verhindert der erhebliche Überschuss an Bromidionen die unerwünschte Bildung von 3-MCPD aus Glycidol im Fall von Proben, die natürlich auftretende Chloridmengen enthalten. ISO 18363-2 ist anwendbar für die Bestimmung von estergebundenem 3-MCPD, 2-MCPD und Glycidol in raffinierten und nicht raffinierten pflanzlichen Ölen und

Fetten. Sie wird auch auf tierische Fette und gebrauchte Frittieröle und -fette angewendet, jedoch muss vor der Analyse dieser Matrices eine Validierungsstudie durchgeführt werden. Alle freien Analyten in der Probe werden in die Ergebnisse einbezogen, aber das Dokument lässt keine Unterscheidung zwischen freien und gebundenen Analyten zu. Zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieses Dokuments hat die Forschung jedoch keinen Nachweis eines Gehaltes an freien Analyten in gleicher Höhe wie der Gehalt an veresterten Analyten in pflanzlichen Ölen und Fetten erbracht.

ISO 18363-3 stellt die AOCS Official Method Cd 29a-13 [4] dar. Kurz gefasst, beruht sie auf der Umwandlung von Glycidylestern in 3-MBPD-Ester und einer langsamen sauer katalysierten Freisetzung von MCPD und MBPD aus den Ester-Derivaten. ISO 18363-3 beruht auf einer einzelnen Probenvorbereitung, in der Glycidylester in MBPD-Monoester umgewandelt werden; anschließend werden die freien Analyten 2-MCPD, 3-MCPD und 3-MBPD durch eine langsame säurekatalysierte Alkoholyse freigesetzt. Das 3-MBPD steht für den tatsächlichen Gehalt an gebundenem Glycidol. ISO 18363-3 ist für die Bestimmung von estergebundenem 2-MCPD, 3-MCPD und Glycidol in raffinierten und nicht raffinierten pflanzlichen Ölen und Fetten anwendbar. Sie gilt auch für tierische Fette und gebrauchte Frittieröle und -fette, jedoch muss vor der Analyse dieser Matrices eine Validierungsstudie durchgeführt werden. Das Verfahren eignet sich für die Analyse von gebundenen (veresterten) Analyten, aber bei Bedarf kann ISO 18363-3 auch ohne die ursprüngliche Umwandlung von Glycidylestern angewendet werden. Bei einer derartigen Anordnung sind sowohl freie als auch gebundene 2-MCPD- und 3-MCPD-Formen in den Ergebnissen enthalten und die Menge an freien Analyten kann als Differenz zwischen zwei Bestimmungen berechnet werden, die in beiden Anordnungen vorgenommen wurden. Zum Zeitpunkt der Veröffentlichung hat die Forschung jedoch keinen Nachweis eines Gehaltes an freien Analyten in gleicher Höhe wie der Gehalt an veresterten Analyten in pflanzlichen Ölen und Fetten erbracht.

Dieses Dokument legt ein schnelles Verfahren auf der Grundlage einer schnellen alkalischen Spaltung von MCPD und Glycidylestern fest. Das freigesetzte Glycidol wird anschließend in 3-MBPD umgewandelt. Der pH-Wert der schnellen alkalischen Spaltung führt im Allgemeinen dazu, dass sich das freigesetzte MCPD während der Spaltung der Ester teilweise in Glycidol umwandelt, was zu einer Überschätzung des Glycidylestergehalts der Probe führt. Durch Hinzufügen von zwei unterschiedlichen internen Standards von isotoopenmarkiertem estergebundenem 3-MCPD und Glycidol ist es möglich, die Menge an markiertem Glycidol quantitativ zu bestimmen, die sich aus dem Abbau des freigesetzten internen Standards ergibt. Diese Information kann verwendet werden, um eine Überschätzung des Glycidylester-induzierten Glycidols durch 3-MCPD-induziertes Glycidol zu korrigieren. Die gleichen beiden internen Standards werden für die quantitative Bestimmung des gebundenen MCPD und Glycidols verwendet, wobei eine einzige Probenvorbereitung erforderlich ist, um die gebundenen 2-MCPD-, 3-MCPD- und Glycidolester quantitativ zu bestimmen. Analog zu ISO 18636-1, ISO 18636-2 und ISO 18363-3 werden die freigesetzten MCPD und 3-MBPD vor der GC-MS/MS-Analyse mit Phenylboronsäure derivatisiert. Im Gegensatz zu den anderen Teilen der Normenreihe ISO 18363 erfordert dieses Dokument eine Geräteausstattung für GC-MS/MS, um jedes der (isotoopenmarkierten) MBPD eindeutig nachzuweisen, die für die korrekte quantitative Bestimmung des Glycidylester-induzierten Glycidols erforderlich sind. Dieses Dokument ist anwendbar für die Bestimmung von estergebundenem 3-MCPD, 2-MCPD und Glycidol in raffinierten und nicht raffinierten pflanzlichen Ölen und Fetten. Es wird auch auf tierische Fette und gebrauchte Frittieröle und -fette angewendet, jedoch muss vor der Analyse dieser Matrices eine Validierungsstudie durchgeführt werden. Alle freien Analyten in der Probe werden in die Ergebnisse einbezogen, aber das Dokument lässt keine Unterscheidung zwischen freien und gebundenen Analyten zu. Zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieses Dokuments hat die Forschung jedoch keinen Nachweis eines Gehaltes an freien Analyten in gleicher Höhe wie der Gehalt an veresterten Analyten in pflanzlichen Ölen und Fetten erbracht.