

DIN EN ISO 12966-2

ICS 67.200.10

Ersatz für
DIN EN ISO 5509:2001-01

**Tierische und pflanzliche Fette und Öle –
Gaschromatographie von Fettsäuremethylestern –
Teil: 2: Herstellung von Fettsäuremethylestern (ISO 12966-2:2011);
Deutsche Fassung EN ISO 12966-2:2011**

Animal and vegetable fats and oils –
Gas chromatography of fatty acid methyl esters –
Part 2: Preparation of methyl esters of fatty acids (ISO 12966-2:2011);
German version EN ISO 12966-2:2011

Corps gras d'origine animale et végétale –
Chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras –
Partie 2: Préparation des esters méthyliques d'acides gras (ISO 12966-2:2011);
Version allemande EN ISO 12966-2:2011

Gesamtumfang 25 Seiten

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 12966-2:2011) enthält unverändert die Internationale Norm ISO 12966-2:2011, die vom Unterkomitee SC 11 „Animal and vegetable fats and oils“ (Sekretariat: BSI, Vereinigtes Königreich) des Technischen Komitees ISO/TC 34 „Food products“ (Sekretariat: AFNOR, Frankreich) erarbeitet wurde.

Die Mitarbeit des DIN beim Europäischen Komitee für Normung (CEN) wird für den Bereich des CEN/TC 307 (Sekretariat: AFNOR, Frankreich) über den NA 057-05-05 AA „Gemeinschaftsausschuss für die Analytik von Fetten, Ölen, Fettprodukten, verwandten Stoffen und Rohstoffen“ (GA Fett) der Deutschen Gesellschaft für Fettwissenschaft (DGF) und des Normenausschusses Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) wahrgenommen.

Die ISO 12966-2 ist Teil der Normenreihe ISO 12966 zur gaschromatographischen Untersuchung von Fettsäuremethylestern. Die ISO 12966 wird unter dem allgemeinen Titel *Animal and vegetable fats and oils — Gas chromatography of fatty acid methyl esters* die folgenden Teile enthalten:

- *Part 2: Preparation of methyl esters of fatty acids*
- *Part 3: Preparation of methyl esters using trimethylsulfonium hydroxide (TMSH)*

Der folgende Teil ist in Bearbeitung

- *Part 4: Determination of cis-, trans-, saturated, mono- and polyunsaturated fatty acids in vegetable or non-ruminant oils and fats*

Der folgende Teil ist geplant

- *Part 1: Guidelines on gas chromatography*

Für die in diesem Dokument zitierten Internationalen Normen wird im Folgenden auf die entsprechenden Deutschen Normen hingewiesen:

ISO 661	siehe	DIN EN ISO 661
ISO 835	siehe	DIN EN ISO 835
ISO 1042	siehe	DIN EN ISO 1042
ISO 3696	siehe	DIN ISO 3696
ISO 4800	siehe	DIN ISO 4800
ISO 8655-2	siehe	DIN EN ISO 8655-2

Änderungen

Gegenüber DIN EN ISO 5509:2001-01 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) die Norm wurde auf Grundlage der ISO 5509:2000 redaktionell und technisch neu erarbeitet;
- b) die Norm beinhaltet unter der neuen Bezeichnung DIN EN ISO 12966-2 ausschließlich die Herstellung von Fettsäuremethylestern;
- c) um den verschiedenen Anforderungen gerecht zu werden, wurden in der neuen Norm vier verschiedene Methylierungsverfahren festgelegt.

Frühere Ausgaben

DIN EN ISO 5509: 2001-01

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 661, *Tierische und pflanzliche Fette und Öle — Vorbereitung der Untersuchungsprobe*

DIN EN ISO 835, *Laborgeräte aus Glas — Messpipetten*

DIN EN ISO 1042, *Laborgeräte aus Glas — Messkolben*

DIN EN ISO 8655-2, *Volumenmessgeräte mit Hubkolben — Teil 2: Kolbenhubpipetten*

DIN ISO 3696, *Wasser für analytische Zwecke — Anforderungen und Prüfungen*

DIN ISO 4800, *Laborgeräte aus Glas — Scheidetrichter und Tropftrichter*

— Leerseite —

Deutsche Fassung

Tierische und pflanzliche Fette und Öle —
Gaschromatographie von Fettsäuremethylestern —
Teil 2: Herstellung von Fettsäuremethylestern
(ISO 12966-2:2011)

Animal and vegetable fats and oils —
Gas chromatography of fatty acid methyl esters —
Part 2: Preparation of methyl esters of fatty acids
(ISO 12966-2:2011)

Corps gras d'origines animale et végétale —
Chromatographie en phase gazeuse des esters
méthyliques d'acides gras —
Partie 2: Préparation des esters méthyliques d'acides gras
(ISO 12966-2:2011)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 14. Februar 2011 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 Management-Zentrum des CEN-CENELEC 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, Rumänien, Schweden, der Schweiz, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.



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

Management-Zentrum: Avenue Marnix 17, B-1000 Brüssel

Inhalt

	Seite
Vorwort	3
Einleitung.....	4
1 Anwendungsbereich	7
2 Normative Verweisungen.....	7
3 Reaktionen.....	7
4 Verfahrensweise	8
4.1 Vorbereitung der Untersuchungsprobe	8
4.2 Schnellverfahren.....	8
4.3 Allgemeines Verfahren	10
4.4 Transmethylierung mit Bortriflourid-(BF ₃ -)Katalysator.....	12
4.5 Säurekatalysierte Transmethylierung der Glyceride	15
Anhang A (informativ) Dünnschichtchromatographie-Verfahren für die Prüfung der Vollständigkeit der Derivatisierung	17
Literaturhinweise	21

Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 12966-2:2011) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 307 „Ölsamen, tierische und pflanzliche Fette und Öle und deren Nebenprodukte — Probenahme- und Untersuchungsverfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom AFNOR gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis August 2011, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis August 2011 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Texte dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN [und/oder] CENELEC sind nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Dieses Dokument ersetzt EN ISO 5509:2000.

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

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 12966-2:2011 wurde vom CEN als EN ISO 12966-2:2011 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

ISO 12966 besteht unter dem allgemeinen Titel „*Animal and vegetable fats and oils — Gas chromatography of fatty acid methyl esters*“ aus folgenden Teilen:

- *Part 2: Preparation of methyl esters of fatty acids*
- *Part 3: Preparation of methyl esters using trimethylsulfonium hydroxide (TMSH)*

Der folgende Teil ist in Bearbeitung

- *Part 4: Determination of cis-, trans-, saturated, mono- and polyunsaturated fatty acids in vegetable or non-ruminant oils and fats*

Der folgende Teil ist geplant

- *Part 1: Guidelines on gas chromatography*

Einleitung

Allgemeines

Öle und Fette (d. h. flüssige und feste Lipide) bestehen überwiegend aus Fettsäureglycerinestern (Triacylglycerin, TAG) mit einer kleineren Menge Fettsäurestereylestern und langkettigen aliphatischen Alkoholen. Wegen der hohen Molekularmasse der TAG und der daraus folgenden Schwerflüchtigkeit sind sie schwer direkt durch Gaschromatographie (GC) zu analysieren, besonders wenn eine ausführliche Analyse von ungesättigten Fettsäuren notwendig ist. Fettsäuren lassen sich nicht gut chromatographieren (mit Ausnahme der kurzkettigen Fettsäuren, z. B. Buttersäure und Pentansäure). Es ist deshalb eine bessere Praxis, vor der GC Fettsäureester zu bilden, üblicherweise Fettsäuremethylester (FAME).

Die Analyse der Öle und Fette wird im Literaturhinweis [9] umfassend beschrieben.

Bei der Analyse von Fettsäuren ist die Bildung der FAME ein kritischer Arbeitsgang. Die nicht quantitative Umwandlung der Fettsäuren zu FAME, die Modifikation der Struktur der Fettsäuren (z. B. Änderungen in den vorhandenen Stellungsisomeren und geometrischen Isomeren) und die Bildung von Nicht-FAME-Artefakten können die quantitative Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung beeinflussen.

Die Umesterung ist ein Vorgang, der zum Einsatz kommt, um FAME aus Fettsäureestern in Fette (z. B. Triacylglycerin) zu bilden. Alkali- oder säurekatalysierte Umesterungsverfahren können zur Bildung der FAME in einem methanolischen Medium angewendet werden; das Verfahren kann als „Transmethylierung“ bezeichnet werden. Die Transmethylierung ist ein umkehrbares Verfahren und es ist ein großer Überschuss an Methanol erforderlich, um eine Gleichgewichtslage aufrechtzuerhalten, die die Bildung der FAME begünstigt. Wasser kann verhindern, dass die Reaktion zum Abschluss kommt, und sein Vorliegen sollte deshalb minimiert werden. Wegen der Bildung von Seifen bilden alkalikatalysierte Verfahren keine FAME.

Die Veresterung ist ein säurekatalysierter Vorgang, der zur Bildung von FAME aus Fettsäuren zum Einsatz kommen kann. Es ist möglich, dass die Fettsäuren natürlich in der Probe des zu untersuchenden Fetts vorhanden sind. Die Bildung der FAME durch diesen Vorgang wird üblicherweise als „Methylierung“ bezeichnet. Wieder sind ein Überschuss an Methanol und die Abwesenheit von Wasser Voraussetzungen für die quantitative Bildung der FAME.

Dieser Teil von ISO 12966 enthält Leitlinien für die Herstellung von Fettsäuremethylestern. In Anlehnung an diese Leitlinien sind verschiedene Verfahren zur Herstellung von Fettsäuremethylestern festgelegt. Diese beinhalten:

- a) „Schnelle“ Transmethylierung unter alkalischen Bedingungen;
- b) „Allgemeine“ Transmethylierung/Methylierung unter aufeinanderfolgenden alkalischen und sauren Bedingungen;
- c) Bortriflourid-(BF₃-)Transmethylierung/Methylierung

„Schnelles“ Transmethylierungsverfahren unter alkalikatalysierten Bedingungen

Dieses Verfahren ist für die Routineanalyse von essbaren Fetten und Ölen mit der einen internen Standard anwendenden GC geeignet, die Fettsäuren bis hin zur Buttersäure (C4:0) enthalten und/oder für die Bestimmung von Butter- oder Hexansäure (C6:0).

Alkalische Katalysatoren estern neutrale Lipide in Anwesenheit von wasserfreiem Methanol (Transmethylierung) schneller als Säurekatalysatoren um. Die Nachteile dieser alkalikatalysierten Verfahren sind, dass freie Fettsäuren nicht verestert werden, und das Vorliegen von Wasser kann verhindern, dass die Transmethylierung zum Abschluss kommt (Hydrolyse der FAME zu freien Fettsäuren). Die am häufigsten verwendeten Reagenzien sind Kalium, Natriumhydroxid und Natriummethoxid in Anwesenheit von wasserfreiem Methanol.