

DIN EN ISO 12966-4

ICS 67.200.10

Mit DIN EN ISO
12966-1:2015-10
Ersatz für
DIN EN ISO 5508:1995-07,
DIN EN ISO 15304:2002-07 und
DIN EN ISO 15304
Berichtigung 1:2006-09

**Tierische und pflanzliche Fette und Öle –
Gaschromatographie von Fettsäuremethylestern –
Teil 4: Bestimmung mittels Kapillargaschromatographie
(ISO 12966-4:2015);
Deutsche Fassung EN ISO 12966-4:2015**

Animal and vegetable fats and oils –
Gas chromatography of fatty acid methyl esters –
Part 4: Determination by capillary gas chromatography (ISO 12966-4:2015);
German version EN ISO 12966-4:2015

Corps gras d'origines animale et végétale –
Chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras –
Partie 4: Détermination par chromatographie capillaire en phase gazeuse
(ISO 12966-4:2015);
Version allemande EN ISO 12966-4:2015

Gesamtumfang 29 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 12966-4:2015) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ (Sekretariat: AFNOR, Frankreich) 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 von AFNOR (Frankreich) gehalten wird. Auf Grund des Beschlusses des CEN/TC 307 wurde die Bearbeitung im parallelen Abstimmungsverfahren unter Federführung des ISO/TC 34/SC 11 durchgeführt.

Das zuständige deutsche Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss 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 DIN-Normenausschusses Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL).

Dieses Dokument ist Teil der Normenreihe ISO 12966 zur gaschromatographischen Untersuchung von Fettsäuremethylestern. ISO 12966, *Animal and vegetable fats and oils — Gas chromatography of fatty acid methyl esters* besteht aus:

- *Part 1: Guidelines on modern gas chromatography of fatty acid methyl esters*
- *Part 2: Preparation of methyl esters of fatty acids*
- *Part 3: Preparation of methyl esters using trimethylsulfonium hydroxide (TMSH)*
- *Part 4: Determination by capillary 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 3696	siehe DIN ISO 3696
ISO 12966-2	siehe DIN EN ISO 12966-2
ISO 12966-3	siehe DIN EN ISO 12966-3

Änderungen

Gegenüber DIN EN ISO 5508:1995-07, DIN EN ISO 15304:2002-07 und DIN EN ISO 15304 Berichtigung 1:2006-09 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) DIN EN ISO 5508:1995-07 wurde auf Grundlage der internationalen Normen ISO 12966-1:2015 und ISO 12966-4:2015 redaktionell und technisch neu erarbeitet;
- b) DIN EN ISO 15304:2002-07 und DIN EN ISO 15304 Berichtigung 1:2006-09 wurden auf Grundlage der internationalen Norm ISO 12966-4:2015 redaktionell und technisch neu erarbeitet;
- c) die Normen und die Berichtigung legen unter der neuen Bezeichnung DIN EN ISO 12966-4 ein Verfahren zur Bestimmung von Fettsäuremethylestern (FAME), die durch Umesterung oder Veresterung von Fetten, Ölen und Fettsäuren gewonnen wurden, mittels Kapillargaschromatographie (GLC) fest.

Frühere Ausgaben

DIN EN ISO 5508: 1995-07
DIN EN ISO 15304: 2002-07
DIN EN ISO 15304 Berichtigung 1: 2006-09

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

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

DIN EN ISO 12966-2, *Tierische und pflanzliche Fette und Öle — Gaschromatographie von Fettsäuremethylestern — Teil 2: Herstellung von Fettsäuremethylestern*

DIN EN ISO 12966-3, *Tierische und pflanzliche Fette und Öle — Gaschromatographie von Fettsäuremethylestern — Teil 3: Herstellung von Methylestern mittels Trimethylsulfoniumhydroxid (TMSH)*

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

— Leerseite —

Deutsche Fassung

Tierische und pflanzliche Fette und Öle —
Gaschromatographie von Fettsäuremethylestern —
Teil 4: Bestimmung mittels Kapillargaschromatographie
(ISO 12966-4:2015)

Animal and vegetable fats and oils —
Gas chromatography of fatty acid methyl esters —
Part 4: Determination by capillary gas chromatography
(ISO 12966-4:2015)

Corps gras d'origines animale et végétale —
Chromatographie en phase gazeuse des esters
méthyliques d'acides gras —
Partie 4: Détermination par chromatographie
capillaire en phase gazeuse
(ISO 12966-4:2015)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 16. April 2015 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, der ehemaligen jugoslawischen Republik Mazedonien, 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, der Türkei, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.



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

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

Inhalt

	Seite
Vorwort	3
1 Anwendungsbereich	4
2 Normative Verweisungen	4
3 Kurzbeschreibung	4
4 Reagenzien und Materialien	4
4.1 Referenz-Fettsäuremethylester (FAME)	5
4.2 Interne Standards	5
5 Geräte	6
6 Probenahme	7
7 Vorbereitung der Untersuchungsprobe	7
8 Herstellung der Methylester aus Fetten, Ölen und Fettsäuren	7
9 Durchführung	7
9.1 Allgemeines	7
9.2 GC-Bedingungen	8
9.3 Überprüfung der Leistung	8
10 Berechnungen	8
10.1 Qualitative Analyse und Peak-Identifizierung	8
10.2 Quantitative Analyse	9
11 Präzision	11
11.1 Ergebnisse des Ringversuchs	11
11.2 Wiederholpräzision	11
11.3 Vergleichpräzision	11
12 Untersuchungsbericht	11
Anhang A (informativ) Theoretischer Korrekturfaktor für den Flammenionisationsdetektor (TCF) für Fettsäuremethylester (FAME)	12
Anhang B (informativ) Beispiele von Chromatogrammen	13
Anhang C (informativ) Vergleich der FAME-Zusammensetzung durch Anwendung von zwei verschiedenen GC-Säulen	15
Anhang D (informativ) Ergebnisse eines Ringversuches	17
Literaturhinweise	24

Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 12966-4:2015) 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 Dezember 2015, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Dezember 2015 zurückgezogen werden.

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

Dieses Dokument ersetzt EN ISO 5508:1995, EN ISO 15304:2002.

Entsprechend der CEN-CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien, 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, Türkei, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 12966-4:2015 wurde vom CEN als EN ISO 12966-4:2015 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

1 Anwendungsbereich

Dieser Teil der ISO 12966 legt ein Verfahren zur Bestimmung von Fettsäuremethylestern (FAME), die durch Umesterung oder Veresterung von Fetten, Ölen und Fettsäuren gewonnen wurden, mittels Kapillargaschromatographie (GLC) fest. Durch die Anwendung dieses Teiles von ISO 12966 können Fettsäuremethylester von C8 bis C24, einschließlich gesättigte Fettsäuremethylester, einfach ungesättigte *cis*- und *trans*-Fettsäuremethylester sowie mehrfach ungesättigte *cis*- und *trans*-Fettsäuremethylester abgetrennt werden.

Das Verfahren ist geeignet für rohe, raffinierte, teilweise oder vollständig hydrierte Fette, Öle und Fettsäuren, die aus tierischen und pflanzlichen Quellen gewonnen wurden.

Dieses Verfahren ist nicht geeignet für die Untersuchung von Milch, Fetten und Ölen von Wiederkäuern, oder Produkten ergänzt mit konjugierter Linolsäure (CLA). Milch und Milcherzeugnisse (oder Fett aus Milch und Milcherzeugnissen) sind vom Anwendungsbereich dieses Teiles der ISO 12966 ausgeschlossen.

Dieser Teil der ISO 12966 ist nicht geeignet für di-, tri-, polymerisierte und oxidierte Fettsäuren und Fette und Öle.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente, die in diesem Dokument teilweise oder als Ganzes zitiert werden, sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

ISO 661, *Animal and vegetable fats and oils — Preparation of test sample*

ISO 3696, *Water for analytical laboratory use — Specifications and test methods*

ISO 6353, *Reagents for chemical analysis*

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

ISO 12966-3, *Animal and vegetable fats and oils — Gas chromatography of fatty acid methyl esters — Part 3: Preparation of methyl esters using trimethylsulfonium hydroxide (TMSH)*

3 Kurzbeschreibung

FAME werden mittels der Kapillargaschromatographie auf einer hochpolaren stationären Phase in Abhängigkeit von ihrer Kettenlänge, dem Sättigungsgrad (ge- oder ungesättigt) und der Geometrie und der Position der Doppelbindungen getrennt.

4 Reagenzien und Materialien

Falls nicht anders festgelegt, sind nur in ISO 6353-2 und ISO 6353-3 festgelegte Reagenzien zu verwenden (sofern sie in diesen Dokumenten aufgelistet sind). Falls nicht, sind Reagenzien von anerkannter Analysenreinheit und Wasser des Reinheitsgrades 3 nach ISO 3696 zu verwenden.

WARNUNG — Auf bestehende Vorschriften zur Handhabung von Gefahrstoffen wird hingewiesen. Maßnahmen hinsichtlich der technischen, organisatorischen und persönlichen Sicherheit sind einzuhalten.

4.1 Referenz-Fettsäuremethylester (FAME)

4.1.1 Referenzgemische von reinen FAME und/oder Ölen mit bekannter Fettsäurezusammensetzung sollten für die Identifizierung der Fettsäuren verwendet werden, die unter den Untersuchungsbedingungen des vorliegenden Verfahrens analysiert wurden.

4.1.2 Fette und Öle mit zertifizierter Fettsäurezusammensetzung, z. B. zertifiziertes Referenzmaterial BCR 162.

4.1.3 Referenz-Fettsäuremethylester (FAME) — Methylester von reinen Fettsäuren, insbesondere *cis*- und *trans*-Isomere von Octadecensäure (Ölsäure), *trans*-Isomere von Octadecadiensäure (Linolsäure) und Octadecatriensäure (α -Linolensäure). Eine große Auswahl von *cis*- und *trans*-Isomeren von Octadecensäure-Methylestern ist auf dem Markt verfügbar. Geometrische *trans*-Isomere von Linolsäuren und α -Linolensäuren können im Labor mit Hilfe von p-Toluolsulfonsäure hergestellt werden. Außer den reinen Verbindungen sind geeignete Gemische von FAME auch im Handel erhältlich.

4.2 Interne Standards

Zur Mengenbestimmung von Fettsäuren, in Gramm je 100 g, ist die Verwendung eines FAMEs als ein interner Standard (IS) notwendig. Eine externe Kalibrierung mit Gemischen von unterschiedlichen Fettsäuren ist ebenfalls möglich.

ANMERKUNG Falls es notwendig ist, die Wiederfindung und die Effektivität des Derivatisierungsverfahrens zu prüfen, dann sollte/n einer oder beide, ein TAG- und ein FAME-internaler Standard verwendet werden. Während der TAG-IS vor der FAME-Herstellung zu der Probe gegeben wird, erfolgt das beim FAME-IS vor oder nach der FAME-Herstellung. Der FAME-IS wird verwendet, um die Wiederfindung des FAME von dem TAG-IS zu berechnen und folglich die Effizienz des Derivatisierungsverfahrens. In diesem Fall ist eine andere Kettenlänge der Standards erforderlich.

Abhängig von der Art des Fettes können verschiedene interne Standards (C11:0 FAME, C17:0 FAME, C19:0 FAME, C21:0 FAME, C23:0 FAME usw.) verwendet werden. Eine externe Kalibrierung mit Gemischen von unterschiedlichen Fettsäuren ist ebenfalls möglich. Es wird empfohlen, weitere Analysen der Probe ohne die Zugabe des internen Standards durchzuführen, um den natürlichen Gehalt an der Fettsäure zu überprüfen, die als interner Standard verwendet wird. Der Gehalt muss bei der Berechnung berücksichtigt werden.

WICHTIG — Falls der TAG-IS (4.2.2) im kalten Methylierungsverfahren schwer löslich ist, muss ein heißes Methylierungsverfahren, wie in ISO 12966-2:2011, 4.3, 4.4, und 4.5 festgelegt, angewendet werden.

Die internen Standard-Lösungen sind stabil, wenn Vorsichtsmaßnahmen getroffen werden, um den Verlust des Lösemittels und somit eine Änderung der Konzentration des IS auszuschließen. Beispielsweise ist die Lösung, wenn sie nicht verwendet wird, im Kühlschrank in einer fest verschlossenen dunklen Flasche aufzubewahren. Reine Standards sind auf dem Markt verfügbar. Die Reinheit des IS muss mit einer Analyse mittels Dünnschichtchromatographie, Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie, Gaschromatographie oder mit anderen geeigneten Verfahren bestätigt werden.

Nachstehend sind Beispiele für geeignete Standards (als FAME und TAG) angegeben.

4.2.1 Fettsäuremethylester (FAME) als interne Standard-(IS-)Lösung:

C21:0 FAME — Heneicosan-Fettsäuremethylester (Reinheit > 99 %), Massenkonzentration 5,0 mg/ml in Isooctan oder Methyl-tert-butylether (MTBE) sollte als der interne Standard verwendet werden.

4.2.2 Triacylglycerin (TAG) als interne Standard-(IS-)Lösung:

C21:0 TAG — Triheneicosanoin (Reinheit > 99 %), Massenkonzentration 5,0 mg/ml in Chloroform (Trichlormethan). Die TAG-IS-Lösung ist stabil, wenn Vorsichtsmaßnahmen getroffen werden, um den Verlust des Lösemittels und somit eine Änderung der Konzentration des IS auszuschließen. Beispielsweise ist die Lösung, wenn sie nicht verwendet wird, im Kühlschrank in einer fest verschlossenen dunklen Flasche aufzubewahren. Reines Triheneicosanoin ist auf dem Markt verfügbar. Die Reinheit des IS muss mit einer Analyse mittels Dünnschichtchromatographie, Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie, Gaschromatographie oder mit anderen geeigneten Verfahren bestätigt werden.