

DIN EN ISO 18363-3



ICS 67.200.10

**Tierische und pflanzliche Fette und Öle –
Bestimmung von fettsäuregebundenem Chlorpropandiol (MCPD) und
Glycidol mittels GC/MS –
Teil 3: Verfahren mittels Säureumesterung und Messung für 2-MCPD,
3-MCPD und Glycidol (ISO 18363-3:2017);
Deutsche Fassung EN ISO 18363-3:2021**

Animal and vegetable fats and oils –
Determination of fatty-acid-bound chloropropanediols (MCPDs) and glycidol by GC/MS –
Part 3: Method using acid transesterification and measurement for 2-MCPD, 3-MCPD and
glycidol (ISO 18363-3:2017);
German version EN ISO 18363-3:2021

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 3: Méthode par transestérification acide et mesure du 2-MCPD, du 3-MCPD et du
glycidol (ISO 18363-3:2017);
Version allemande EN ISO 18363-3:2021

Gesamtumfang 26 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Der Text von ISO 18363-3:2017 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und als EN ISO 18363-3:2021 durch das Technische Komitee CEN/TC 307 „Ölsaaten, tierische und pflanzliche Fette und Öle und deren Nebenprodukte — Probenahme- und Untersuchungsverfahren“ übernommen, dessen Sekretariat von AFNOR (Frankreich) gehalten wird.

Das zuständige nationale Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 057-05-05 AA „Gemeinschaftsausschuss von DIN und DGF für die Analytik von Fetten, Ölen, Fettprodukten, verwandten Stoffen und Rohstoffen (GA Fett)“ im DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL).

Für die in diesem Dokument zitierten Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 3696	siehe	DIN ISO 3696
ISO 5555	siehe	DIN EN ISO 5555
ISO 5725-1	siehe	DIN ISO 5725-1
ISO 5725-2	siehe	DIN ISO 5725-2
ISO 18363-1	siehe	DIN EN ISO 18363-1

Aktuelle Informationen zu diesem Dokument können über die Internetseiten von DIN (www.din.de) durch eine Suche nach der Dokumentennummer aufgerufen werden.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 5555, *Tierische und pflanzliche Fette und Öle — Probenahme*

DIN EN ISO 18363-1, *Tierische und pflanzliche Fette und Öle — Bestimmung von fettsäuregebundenem Chlorpropandiol (MCPD) und Glycidol mittels GC/MS — Teil 1: Verfahren mittels schneller alkalischer Umesterung und Messung für 3-MCPD und Differenzmessung für Glycidol*

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

DIN ISO 5725-1, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Meßverfahren und Meßergebnissen — Teil 1: Allgemeine Grundlagen und Begriffe*

DIN ISO 5725-2, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 2: Grundlegende Methode für die Ermittlung der Wiederhol- und Vergleichpräzision eines vereinheitlichten Messverfahrens*

Deutsche Fassung

**Tierische und pflanzliche Fette und Öle —
Bestimmung von fettsäuregebundenem Chlorpropandiol
(MCPD) und Glycidol mittels GC/MS —
Teil 3: Verfahren mittels Säuremesterung und Messung für
2-MCPD, 3-MCPD und Glycidol (ISO 18363 3:2017)**

Animal and vegetable fats and oils —
Determination of fatty-acid-bound chloropropanediols
(MCPDs) and glycidol by GC/MS —
Part 3: Method using acid transesterification and
measurement for 2-MCPD, 3-MCPD and glycidol
(ISO 18363-3:2017)

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 3: Méthode par transestérification acide et
mesure pour du 2-MCPD, du 3-MCPD et du glycidol
(ISO 18363-3:2017)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 05. Dezember 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 CEN-CENELEC-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 Standard- und Referenzverbindungen	8
5.2 Standardlösungen	9
5.2.1 Allgemeines	9
5.2.2 Stammlösungen (1 mg/ml)	9
5.2.3 Arbeitslösungen	9
5.3 Andere Reagenzien	10
5.4 Reagenzlösungen	10
6 Geräte	11
7 Probe	11
7.1 Probenahme	11
7.2 Vorbereitung der Untersuchungsprobe	11
8 Verfahren	12
8.1 Vorbereitung der Untersuchungsprobe	12
8.2 Erstellung der Kalibrierkurve	13
8.3 Gaschromatographie/Massenspektrometrie-Referenzen	13
9 Angabe der Ergebnisse	14
9.1 Quantifizierung von 3-MCPD-Estern	14
9.2 Quantifizierung von 2-MCPD-Estern	15
9.3 Quantifizierung von Glycidylestern	15
10 Präzision	16
10.1 Allgemeines	16
10.2 Wiederholpräzision	16
10.3 Vergleichpräzision von einem Tag zu einem anderen	17
11 Prüfbericht	17
Anhang A (informativ) Erstellung der Kalibrierkurven	18
Anhang B (informativ) Ergebnisse des Ringversuchs	22
Literaturhinweise	24

Europäisches Vorwort

Der Text von ISO 18363-3:2017 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und als EN ISO 18363-3:2021 durch das Technische Komitee CEN/TC 307 „Ölsaaten, tierische und pflanzliche Fette und Öle und deren Nebenprodukte — Probenahme- und Untersuchungsverfahren“ übernommen, 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 Juni 2022, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Juni 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 18363-3:2017 wurde von CEN als EN ISO 18363-3:2021 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsorganisationen (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 dient nur zur Unterrichtung der Anwender und bedeutet keine Anerkennung.

Eine Erläuterung zum freiwilligen Charakter von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT) berücksichtigt, enthält der folgende Link: 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* erarbeitet.

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

Einleitung

Die Normenreihe ISO 18363 ist eine Familie von Internationalen Normen, die zur Bestimmung von estergebundenem MCPD und Glycidol angewendet werden können. In dieser Einleitung werden die in den drei kürzlich veröffentlichten oder vorgeschlagenen Dokumenten festgelegten Verfahren beschrieben, damit der Analytiker entscheiden kann, welche Verfahren für die Anwendung geeignet sind. Die ausführliche Anwendung jedes Verfahrens ist im Anwendungsbereich des einzelnen Verfahrens enthalten.

ISO 18363-1 ist ein Differenzverfahren, das mit der DGF-Methode C-VI 18 (10) vergleichbar und mit der AOCS Official Method Cd 29c-13 identisch ist. In Kürze dargestellt, basiert das Verfahren auf der schnellen alkalisch katalysierten Freisetzung von 3-MCPD und Glycidol aus den Esterderivaten. Glycidol wird anschließend in induziertes 3-MCPD umgewandelt. Das Verfahren besteht aus zwei Teilen. Der erste Teil (A) ermöglicht die Bestimmung der Summe des estergebundenen 3-MCPD und estergebundenen Glycidols, während der zweite Teil (B) nur estergebundenes 3-MCPD bestimmt. Beide Assays basieren auf der Freisetzung der Ziel-Analyten 3-MCPD und Glycidol aus der estergebundenen Form durch alkalisch katalysierte Alkoholyse bei Raumtemperatur. In Teil A wird eine angesäuerte Natriumchloridlösung verwendet, um die Reaktion zu stoppen 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 die Hinzugabe einer angesäuerten chloridfreien Salzlösung erreicht; dies verhindert auch die Umwandlung von Glycidol in induziertes MCPD. Teil B ermöglicht somit die Bestimmung des tatsächlichen 3-MCPD-Gehalts. Darüber hinaus ist der Glycidolgehalt der Probe proportional zur Differenz zwischen beiden Assays (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 für tierische Fette und gebrauchte Frittieröle und -fette gelten, hierzu muss jedoch vor der Analyse dieser Matrices eine Validierungsstudie erfolgen. Alle freien Analyten in der Probe wären in den Ergebnissen enthalten, aber dieses Dokument erlaubt keine Unterscheidung zwischen freien und gebundenen Analyten. Zum Zeitpunkt seiner Veröffentlichung haben jedoch keine Forschungen irgendeinen Nachweis eines Gehaltes an freien Analyten in raffinierten Pflanzenölen und -fetten in gleicher Höhe wie der Gehalt an veresterten Analyten erbracht. Grundsätzlich kann ISO 18363-1 auch so modifiziert werden, dass die Bestimmung von 2-MCPD möglich wird, jedoch erfordert auch dies wieder eine Validierungsstudie vor der Analyse dieses Analyten.

ISO 18363-2 (vorgeschlagen) repräsentiert die AOCS Official Method Cd 29b-13. In Kürze dargestellt, basiert dieses Verfahren auf der langsamen alkalischen Freisetzung von MCPD und Glycidol aus den Esterderivaten. Glycidol wird anschließend in 3-MCPD umgewandelt. ISO 18363-2 wird aus zwei Probenvorbereitungen bestehen, die sich in der Anwendung 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, die Menge des induzierten Glycidols zu bestimmen, die anschließend von dem vorläufigen Glycidolergebnis aus Teil A abgezogen wird. Durch die Verwendung von isopenmarkierten freien MCPD-Isomeren in Assay A und isopenmarkiertem estergebundenem 2-MCPD und 3-MCPD in Teil B kann die Effizienz der Esterspaltung überwacht werden. Sowohl Assay A als auch Assay B basieren auf der Freisetzung der Zielanalyten 2-MCPD, 3-MCPD und Glycidol aus der estergebundenen Form durch eine langsame alkalisch katalysierte Alkoholyse in der Kälte. In beiden Probenvorbereitungen wird die Reaktion durch die Hinzugabe einer angesäuerten konzentrierten Natriumbromidlösung gestoppt, um das instabile und flüchtige Glycidol in 3-MCPD 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 wird für die Bestimmung von estergebundenem 3-MCPD, 2-MCPD und Glycidol in raffinierten und nicht raffinierten pflanzlichen Ölen und Fetten anwendbar sein. Sie wird auch für tierische Fette und gebrauchte Frittieröle und -fette gelten, hierzu muss jedoch vor der Analyse dieser Matrices eine Validierungsstudie erfolgen. Alle freien Analyten in der Probe wären in den Ergebnissen enthalten, aber dieses Dokument wird keine Unterscheidung zwischen freien und gebundenen Analyten erlauben. Zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieses Dokuments haben jedoch keine Forschungen

irgendeinen Nachweis eines Gehaltes an freien Analyten in Pflanzenölen und -fetten in gleicher Höhe wie der Gehalt an veresterten Analyten erbracht.

Dieses Dokument repräsentiert die AOCS Official Method Cd 29a-13. In Kürze dargestellt, basiert dieses Verfahren auf der Umwandlung von Glycidylestern in 3-MBPD-Ester und einer langsamen säurekatalysierten Freisetzung von MCPD und MBPD aus den Esterderivaten. Dieses Dokument basiert auf einer einzigen Probenvorbereitung, bei der Glycidylester in MBPD-Monoester umgewandelt und anschließend die freien Analyten 2-MCPD, 3-MCPD und 3-MBPD durch eine langsame säurekatalysierte Alkoholyse freigesetzt werden. Das 3-MBPD repräsentiert den tatsächlichen Gehalt an gebundenem Glycidol. Dieses Dokument kann für die Bestimmung von estergebundenem 2-MCPD, 3-MCPD und Glycidol in raffinierten und nicht raffinierten pflanzlichen Ölen und Fetten angewendet werden. Es kann auch für tierische Fette und gebrauchte Frittieröle und -fette gelten, hierzu muss jedoch vor der Analyse dieser Matrices eine Validierungsstudie erfolgen. Das Verfahren eignet sich für die Analyse von gebundenen (veresterten) Analyten, aber bei Bedarf kann dieses Dokument auch ohne die ursprüngliche Umwandlung von Glycidylestern angewendet werden. In dieser Konfiguration wären 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 den beiden in zwei Konfigurationen vorgenommenen Bestimmungen berechnet werden. Zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieses Dokuments haben jedoch keine Forschungen irgendeinen Nachweis eines Gehaltes an freien Analyten in Pflanzenölen und -fetten in gleicher Höhe wie der Gehalt an veresterten Analyten erbracht.