

DIN EN 14105

ICS 67.200.10

Entwurf

Einsprüche bis 2020-01-08
Vorgesehen als Ersatz für
DIN EN 14105:2011-07

**Erzeugnisse aus pflanzlichen und tierischen Fetten und Ölen –
Fettsäure-Methylester (FAME) –
Bestimmung des Gehaltes an freiem und Gesamtglycerin und Mono-, Di-
und Triglyceriden;
Deutsche und Englische Fassung prEN 14105:2019**

Fat and oil derivatives –
Fatty Acid Methyl Esters (FAME) –
Determination of free and total glycerol and mono-, di-, triglyceride contents;
German and English version prEN 14105:2019

Produits dérivés des corps gras –
Esters méthyliques d'acides gras (EMAG) –
Détermination de la teneur en glycérols libre et total et en mono-, di- et triglycérides;
Version allemande et anglaise prEN 14105:2019

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2019-11-08 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an stellungnahme@fam-hamburg.de in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/stellungnahme oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe abgerufen werden;
- oder in Papierform an den Fachausschuss Mineralöl- und Brennstoffnormung (FAM) des NMP, 22205 Hamburg, Postfach 60 05 49, Überseering 40, 22297 Hamburg.

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 59 Seiten

DIN-Normenausschuss Materialprüfung (NMP)
Fachausschuss Mineralöl- und Brennstoffnormung (FAM) des NMP
DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN 14105:2019) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 307 „Ölsaaten, tierische und pflanzliche Fette und Öle und deren Nebenprodukte — Probenahme- und Untersuchungsverfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat von AFNOR (Frankreich) gehalten wird.

Das zuständige nationale Normungsgremium ist der Unterausschuss NA 062-06-32-01 UA „Prüfung von FAME“ im DIN-Normenausschuss Materialprüfung (NMP).

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

Änderungen

Gegenüber DIN EN 14105:2011-07 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Dokument wurde redaktionell überarbeitet;
- b) Bilder wurden qualitativ verbessert;
- c) zur Verdeutlichung wurden in Anhang A Bilder ergänzt.

Erzeugnisse aus pflanzlichen und tierischen Fetten und Ölen — Fettsäure-Methylester (FAME) — Bestimmung des Gehaltes an freiem und Gesamtglycerin und Mono-, Di- und Triglyceriden

Produits dérivés des corps gras — Esters méthyliques d'acides gras (EMAG) — Détermination de la teneur en glycérols libre et total et en mono-, di- et triglycérides

Fat and oil derivatives — Fatty Acid Methyl Esters (FAME) — Determination of free and total glycerol and mono-, di-, triglyceride contents

ICS:

Deskriptoren

Dokument-Typ: Europäische Norm
Dokument-Untertyp:
Dokument-Stage: CEN-Umfrage
Dokument-Sprache: D

STD Version 2.9p

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	3
1 Anwendungsbereich	4
2 Normative Verweisungen	4
3 Begriffe	4
4 Kurzbeschreibung	4
5 Chemikalien	5
6 Prüfgerät	6
7 Vorbereitung der Lösungen	6
7.1 Stammlösung mit 1,2,4-Butantriol, 1 mg/ml	6
7.2 Stammlösung mit Glycerin, 0,5 mg/ml	6
7.3 Stammlösungen für die Referenzglyceride, 2,5 mg/ml	7
7.4 Kommerziell erhältliche Monoglyceride	7
7.5 Kalibrierlösungen	7
8 Probenahme	7
9 Verfahren	7
9.1 Geräteeinstellungen	7
9.2 Analyse der Kalibrierlösungen	8
9.3 Analyse der kommerziell erhältlichen Monoglyceridmischung	8
9.4 Herstellung und Untersuchung der Probenteile	8
9.5 Identifizierung	9
9.6 Kalibrierung	9
9.7 Überprüfung der Säulenleistung	9
10 Berechnung der Ergebnisse	9
10.1 Signalintegration	9
10.2 Kalibrierfunktion für Glycerin	10
10.3 Freies Glycerin	10
10.4 Glyceride	10
10.5 Gesamtglycerin	11
11 Angabe der Ergebnisse	11
12 Präzision	11
12.1 Ringversuch (ILS)	11
12.2 Wiederholbarkeit, r	11
12.3 Vergleichbarkeit, R	12
13 Prüfbericht	12
Anhang A (informativ) Beispiel eines Chromatogramms	13
Anhang B (informativ) Berechnung der Kalibrierfunktion	21
Anhang C (informativ) Arbeitsbeispiel	23
Anhang D (informativ) Ringversuchsergebnisse	25
Literaturhinweise	28

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN 14105:2019) wurde vom 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.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird EN 14105:2011 ersetzen.

Die technischen Änderungen im Vergleich zur Vorgängerausgabe sind folgende:

- a) redaktionelle Überarbeitung des Dokuments;
- b) verbesserte Qualität der Bilder;
- c) Hinzufügung von Bildern in Anhang A aus Gründen der Verdeutlichung.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein Verfahren fest, um freies Glycerin und Reste an Mono-, Di- und Triglyceriden in Fettsäure-Methylester (FAME) zu bestimmen. Der Gesamtglyceringehalt wird anschließend aus den erhaltenen Messwerten berechnet.

Die Bestimmungsgrenzen sind für die festgelegten analytischen Bedingungen 0,001 % (m/m) für freies Glycerin und 0,10 % (m/m) für alle Glyceride (Mono, Di- und Tri-). Das Verfahren ist einsetzbar für FAME aus Rapsöl, Sonnenblumenöl und Sojaöl, Palmöl, für tierische Fette und Öle und für deren Mischungen. Es kann nicht eingesetzt werden für FAME aus Kokosnuss- und Palmkernölen, da hier überlappende Peaks auftreten.

ANMERKUNG 1 Für die Zwecke dieser Europäischen Norm wird zur Angabe des Massenanteils einer Substanz der Ausdruck „% (m/m)“ verwendet.

ANMERKUNG 2 Unter den allgemeinen GC-Bedingungen nach EN 14105 kann Squalen mit Alpha-Glycerin-Monostearat koeluiieren. Falls ein Vorhandensein von Squalen vermutet wird, kann EN 17057 zur Unterscheidung zwischen Squalen und Glycerin-Monostearat angewendet werden.

WARNUNG — Die Anwendung dieser Norm kann die Anwendung gefährlicher Stoffe, Arbeitsgänge und Geräte mit sich bringen. Diese Norm beansprucht nicht, alle damit verbundenen Sicherheitsprobleme zu behandeln. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders dieser Norm, vor ihrer Anwendung geeignete Maßnahmen für die Sicherheit und den Gesundheitsschutz des Personals zu ergreifen, und dafür Sorge zu tragen, dass behördliche und gesetzliche Maßnahmen eingehalten werden.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. 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).

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

EN ISO 3170, *Flüssige Mineralölerzeugnisse — Manuelle Probenahme*

3 Begriffe

Es werden keine Begriffe in diesem Dokument angegeben.

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

- IEC Electropedia: verfügbar unter <http://www.electropedia.org/>
- ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter <http://www.iso.org/obp>

4 Kurzbeschreibung

Das Glycerin sowie die Mono-, Diglyceride werden in die besser flüchtigen silylierten Derivate durch Zugabe von N-Methyl-N-Trimethylsilyltrifluoracetamid (MSTFA) in Gegenwart von Pyridin umgesetzt.

Die Probe wird nach der Silylierung mittels Gaschromatographie auf kurzen Dünnschicht-Kapillarsäulen nach direkter Injektion in ein On-column-Injektionssystem oder vergleichbares Aufgabesystem mit einem Flammenionisationsdetektor analysiert.

Nach der Kalibration des Verfahrens erfolgt die Bestimmung von Glycerin mit Hilfe des internen Standards 1,2,4-Butantriol.

Die Bestimmung der Mono-, Di- und Triglyceride erfolgt für jede Glyceridgruppe direkt mit Hilfe je eines internen Standards:

- Glyceryl-Mononadecanoat (Mono C19) für Monoglyceride;
- Glyceryl-Dinonadecanoat (Di C38) für Diglyceride;
- Glyceryl-Trinonadecanoat (Tri C57) für Triglyceride.

5 Chemikalien

Sofern nicht anders festgelegt, sind ausschließlich Chemikalien anerkannter analytischer Reinheit zu verwenden.

5.1 N-Methyl-N-Trimethylsilyltrifluoracetamid (MSTFA).

5.2 Pyridin, mit höchstens 0,1 % Wasser, über Molekularsieb aufbewahrt.

Pyridin (Silylierungsqualität) (5.10) kann ebenfalls verwendet werden.

5.3 Tetrahydrofuran (THF).

5.4 n-Heptan.

5.5 Glycerin.

5.6 1,2,4-Butantriol.

5.7 1-Glyceryl-Mononadecanoat (Mono C19)¹.

5.8 1,3-Glyceryl-Dinonadecanoat (Di C38)².

5.9 Glyceryl-Trinonadecanoat (Tri C57)³.

5.10 Pyridin, Silylierungsqualität.

¹ Mononadecanoat kann bezogen werden von Larodan, Ref. 31-1900-11 (www.larodan.com).

² 1,3-Glyceryl-Dinonadecanoat kann bezogen werden von Larodan, Ref. 32-1903-8 (www.larodan.com).

³ Trinonadecanoat kann bezogen werden von Larodan, Ref. 33-1900-13 (www.larodan.com), oder von Sigma, Ref. T4632-1G (www.sigmaaldrich.com)

6 Prüfgerät

Übliche Laborgeräte und insbesondere folgende Geräte.

6.1 Gaschromatograph, der mit einem on-column-Injektor oder einem gleichwertigen Injektor ausgerüstet ist, ein temperierbarer Ofen und ein Flammenionisationsdetektor (FID).

6.2 Kapillarsäule, die für Temperaturen bis 400 °C geeignet ist („Hochtemperatursäule“) mit den nachfolgend empfohlenen Eigenschaften:

- stationäre Phase: 100 % Dimethylpolysiloxan oder 95 % Dimethyl- 5 % Diphenylpolysiloxan;
- Länge 15 m;
- Innendurchmesser: 0,32 mm;
- Filmdicke: 0,1 µm.

6.3 Messkolben, 50 ml Fassungsvermögen, Qualität A.

6.4 Messkolben, 20 ml Fassungsvermögen, Qualität A.

6.5 Messkolben, 10 ml Fassungsvermögen, Qualität A.

6.6 Probengläschen, mit Schraubverschluss und polytetrafluorethylen-beschichteten Septen, 10 ml Fassungsvermögen.

6.7 Präzisionspipette, 1 ml Fassungsvermögen.

6.8 Präzisionspipette oder Spritze, 100 µl Fassungsvermögen.

6.9 Präzisionspipette oder Spritze, 500 µl Fassungsvermögen.

6.10 Messzylinder, Fassungsvermögen 10 ml.

6.11 Analysenwaage, mit einer Wägegenauigkeit von ± 1 mg oder besser und einer Ablesbarkeit von $\pm 0,1$ mg oder besser.

6.12 Trägergas, Wasserstoff oder Helium.

6.13 Hilfsgase, wie Luft, Wasserstoff und Stickstoff.

7 Vorbereitung der Lösungen

7.1 Stammlösung mit 1,2,4-Butantriol, 1 mg/ml

Es werden $(50,0 \pm 0,1)$ mg 1,2,4-Butantriol (5.6) in einen 50-ml-Messkolben (6.3) eingewogen; anschließend wird mit Pyridin (5.2 oder 5.10) bis zur Marke aufgefüllt.

7.2 Stammlösung mit Glycerin, 0,5 mg/ml

Es werden $(50,0 \pm 0,1)$ mg Glycerin (5.5) in einen 10-ml-Messkolben (6.5) eingewogen; anschließend wird mit Pyridin (5.2 oder 5.10) bis zur Marke aufgefüllt. Es werden 1 ml dieser Lösung in einen 10-ml-Messkolben (6.5) mit einer Pipette (6.7) überführt und bis zur Markierung mit Pyridin (5.2 oder 5.10) aufgefüllt.

7.3 Stammlösungen für die Referenzglyceride, 2,5 mg/ml

Für jedes der Referenzglyceride, Monononadecanoat (5.7), Dinonadecanoat (5.8) und Trinonadecanoat (5.9) werden $(50,0 \pm 0,1)$ mg in einen 20-ml-Messkolben (6.4) eingewogen; anschließend wird mit Tetrahydrofuran (5.3) bis zur Marke aufgefüllt.

Die Stammlösung muss bei Umgebungstemperatur vollkommen transparent sein. Nach Lagerung bei 4 °C in einem Kühlschrank kann ein Niederschlag sichtbar sein, der sich jedoch spontan und ohne externe Erwärmung bei Umgebungstemperatur wieder auflösen muss.

ANMERKUNG Bei Lagerung bei 4 °C sind diese Lösungen für fast 3 Monate stabil.

7.4 Kommerziell erhältliche Monoglyceride

Es liegt eine kommerziell erhältliche Lösung mit jeweils gleichen Massenanteilen der Inhaltsstoffe Mono-Palmitoyl-Glycerin (Monopalmitin), Mono-Stearoylglycerin (Monostearin) und Mono-Oleoylglycerin (Monoolein) vor.

Es werden ungefähr 100 mg dieser Mischung in einen 10-ml-Messkolben (6.5) eingewogen; anschließend wird mit Pyridin (5.10) bis zur Marke aufgefüllt.

Die so hergestellte Lösung darf eingesetzt werden, um die relevanten Signale im GC-Chromatogramm zu identifizieren.

7.5 Kalibrierlösungen

Es werden vier Kalibrierlösungen vorbereitet, indem die in Tabelle 1 angegebenen Volumen der Glycerin-Stammlösungen (7.2) und des 1,2,4-Butantriol (7.1) in eine Reihe von Probengläschen (6.6) mit einer 100- μ l-Präzisionspipette (6.8) überführt werden. Falls eine Spritze verwendet wird, muss sichergestellt werden, dass Spritzennadel und -körper frei von Luftblasen sind.

Tabelle 1 — Vorbereitung der Kalibrierlösungen

Stammlösung	1 μ l	2 μ l	3 μ l	4 μ l	Spritze μ l
Glycerinlösung (7.2)	10	40	70	100	100
Butantriol-Lösung (5.1)	80	80	80	80	100

8 Probenahme

Die Probenahme muss in Übereinstimmung mit EN ISO 5555 oder EN ISO 3170 erfolgen.

9 Verfahren

9.1 Geräteeinstellungen

Bei den Einstellungen für die chromatographische Analyse sind die Säulencharakteristik und das Trägergas (Wasserstoff oder Helium) zu berücksichtigen. Es wird allerdings empfohlen, eine Analysenzeit von 30 min bis 35 min einzuhalten, damit die Elution der Triglyceride sicher gestellt ist.

BEISPIEL Die Einstellungen beschreiben eine typische Analyse, in Tabelle 2:

Tabelle 2 — Beispiel für Analysebedingungen

Säulentemperatur:	1 min halten bei 50 °C, programmiertes Aufheizen auf 180 °C mit 15 °C/min, programmiertes Aufheizen auf 230 °C mit 7 °C/min, programmiertes Aufheizen auf 370 °C mit 10 °C/min, 15 min Halten der Endtemperatur
Detektortemperatur:	380 °C
Trärgasdruck (Wasserstoff):	80 kPa oder konstanter Durchfluss (etwa 2 ml/min)
Injektionsvolumen:	1 µl

9.2 Analyse der Kalibrierlösungen

150 µl MSTFA (5.1) werden mit einer Präzisionspipette (6.9) zu jeder der vier Kalibrierlösungen (7.5) zugegeben und nach festem Verschließen der Probengläschen kräftig geschüttelt. Nach einer Wartezeit von 15 min bei Umgebungstemperatur werden mit Hilfe eines Messzylinders (6.10) 8 ml n-Heptan (5.4) zu den Reaktionsmischungen zugegeben.

Anschließend werden 1 µl jeder Reaktionsmischung mit den chromatographischen Einstellungen nach 9.1 analysiert, wobei lediglich der erste Teil des Temperaturprogrammes benötigt wird; die Analyse kann demzufolge beim Erreichen einer Temperatur von 230 °C unterbrochen werden. Die Proben sind nach dem Derivatisierungsschritt lediglich für einige Stunden haltbar.

ANMERKUNG Die silylierten Stammlösungen sind nur einen Tag haltbar.

9.3 Analyse der kommerziell erhältlichen Monoglyceridmischung

200 µl der kommerziell erhältlichen Monoglyceridmischung werden mit Hilfe einer Präzisionspipette (6.9) in Pyridin (5.10) in einem 10-ml-Probengläschen (6.6) gelöst; anschließend werden 150 µl MSTFA (5.1) zugegeben. Dabei ist der Kontakt mit Feuchtigkeit zu vermeiden.

Das Probengläschen wird nach festem Verschließen kräftig geschüttelt.

Nach 15 min stehenlassen bei Umgebungstemperatur werden 8 ml n-Heptan (5.4) zugegeben.

Anschließend wird 1 µl der Reaktionsmischung mit den chromatographischen Einstellungen nach 9.1 analysiert.

9.4 Herstellung und Untersuchung der Probenteile

Von der homogenisierten Probe werden $(100,0 \pm 0,1)$ mg in ein 10 ml-Probengläschen (6.6) eingewogen.

Mit Hilfe der Präzisionspipetten oder Spritzen (6.8 und 6.9) werden 80 µl der 1,2,4-Butantriol-Stammlösung (7.1), 200 µl Glycerid-Stammlösung (7.3), 200 µl Pyridin (5.10) und 200 µl MSTFA (5.1) zugegeben. Dabei ist der Kontakt mit Feuchtigkeit zu vermeiden.

Das Probengläschen wird nach festem Verschließen kräftig geschüttelt. Nach 15 min stehenlassen bei Umgebungstemperatur werden 8 ml n-Heptan (5.4) zugegeben. Anschließend wird 1 µl der Reaktionsmischung mit den chromatographischen Einstellungen nach 9.1 analysiert.

9.5 Identifizierung

Kalibrierlösungen und Probenlösungen sind unter identischen Bedingungen zu analysieren, damit eine sichere Signalidentifizierung anhand der Retentionszeiten erfolgen kann. Da es vorkommen kann, dass sich die Elutionsbereiche der Methylester und der Monoglyceride überlappen, wird empfohlen, zur Identifizierung der Monoglyceridsignale eine kommerziell erhältliche Monoglyceridlösung (7.4), bestehend aus Monopalmitin, Monostearin und Monoolein wie die Proben zu derivatisieren und ebenfalls zu analysieren.

In Anhang A sind Chromatogramme einer Rapsöl- und einer Palmöl-Methylester-Probe enthalten, die unter Betriebsbedingungen und nach einer in 9.1 beschriebenen Vorbereitung erstellt wurden. Zusätzlich wird eine zweite Palmöl-Methylester-Probe, die Fettsäure-Methylester-Dimere enthält, dargestellt. Nach der Silylderivatisierung dürfen interne Glycerid-Standards unter den vorstehend erwähnten chromatographischen Bedingungen analysiert werden.

9.6 Kalibrierung

Lediglich für Glycerin erlaubt die Veränderung des Gewichts/Signalflächenverhältnisses die Feststellung der Linearität und damit die Aufstellung einer Kalibrierfunktion.

Für Mono-, Di- und Tri-Glyceride wird angenommen, dass die Detektorcharakteristik für den betrachteten Konzentrationsbereich als linear betrachtet werden kann.

9.7 Überprüfung der Säulenleistung

Für jede Analyse ist anhand Gleichung (1) der relative Responsefaktor (*RRF*) für Glyceryl-Dinonadecanoat (Di C38) gegen Glyceryl-Trinonadecanoat (Tri C57) zu ermitteln.

$$RRF = (A_{\text{Di C38}}/M_{\text{Di C38}})/(A_{\text{Tri C57}}/M_{\text{Tri C57}}) \quad (1)$$

Dabei ist

- $A_{\text{Di C38}}$ die Signalfläche für den internen Standard Di C38;
- $M_{\text{Di C38}}$ die eingewogene Menge des internen Standards Di C38, in mg;
- $A_{\text{Tri C57}}$ die Signalfläche für den internen Standard Tri C57;
- $M_{\text{Tri C57}}$ die eingewogene Menge an internem Standard Tri C57, in mg.

Der dabei ermittelte Wert für den relativen Responsefaktor, *RRF*, muss kleiner sein als 1,8. Ist das Ergebnis höher, dann ist das GC-System für die Analyse nicht einsetzbar und muss mit dem Ziel einer Verbesserung für die Triglycerid-Bestimmung neu validiert werden.

10 Berechnung der Ergebnisse

10.1 Signalintegration

In jeder der drei Glyceridfamilien gibt es kleine Signale (siehe Anhang A) die mitintegriert werden müssen. Dieses Prüfverfahren berechnet also die prozentualen Anteile an Mono-, Di- und Tri-Glyceriden (10.4), indem zunächst für jede Familie die zugehörigen Signalflächen aufsummiert werden. Für die beiden manchmal schlecht aufgelösten Signale der Diglyceride mit 36 Kohlenstoffatomen, die in der Diglyceridfamilie zwei Hauptkomponenten darstellen, wird dringend eine gemeinsame Integration empfohlen, damit Bestimmungsfehler vermieden werden, welche bei separater Integration entstehen könnten. Beim Auftreten eines Doppelsignals im Bereich der Retentionszeit für Glycerin ist auf Vollständigkeit des Silylierungsschrittes zu prüfen, der dann wahrscheinlich nicht vollständig abgelaufen ist (meist verursacht durch Wasser in der Probe).

10.2 Kalibrierfunktion für Glycerin

Die Kalibrierfunktion ist in Gleichung (2) angegeben; sie wird nach den Vorgaben in Anhang B aus den experimentellen Daten mit Hilfe der linearen Regression berechnet.

$$M_g/M_{ei} = a_g(A_g/A_{ei}) + b_g \quad (2)$$

Dabei ist

- M_g die eingewogene Menge Glycerin, in mg;
- M_{ei} die eingewogene Menge des internen Standards 1,2,4-Butantriol, in mg;
- A_g die Signalfläche für Glycerin;
- A_{ei} die Signalfläche für den internen Standard 1,2,4-Butantriol;
- a_g, b_g die Regressionskoeffizienten der Kalibrierfunktion für Glycerin.

Die so ermittelte Kalibrierfunktion ist nur dann als gültig anzusehen, wenn der zugehörige Korrelationskoeffizient, ermittelt nach Anhang B, gleich oder größer ist als 0,9 (siehe Berechnungsbeispiel in Anhang C).

10.3 Freies Glycerin

Der Gehalt an freiem Glycerin in der Probe (G) wird nach Gleichung (3) berechnet und in % (m/m) angegeben:

$$G = [a_g(A_g/A_{ei}) + b_g] \cdot (M_{ei}/m) \cdot 100 \quad (3)$$

Dabei ist

- A_{ei} die Signalfläche für den internen Standard 1,2,4-Butantriol;
- M_{ei} die eingewogene Menge des internen Standards 1,2,4-Butantriol, in mg;
- m die eingewogene Probemenge, in mg.

10.4 Glyceride

Die Gehalte für die Mono-, Di- und Tri-Glyceride in % (m/m) werden mit den Gleichungen (4), (5) und (6) berechnet:

$$M = (A_{\text{Mono}}/A_{\text{MonoC19}}) \cdot (M_{\text{MonoC19}}/m) \cdot 100 \quad (4)$$

$$D = (A_{\text{Di}}/A_{\text{DiC38}}) \cdot (M_{\text{DiC38}}/m) \cdot 100 \quad (5)$$

$$T = (A_{\text{Tri}}/A_{\text{TriC57}}) \cdot (M_{\text{TriC57}}/m) \cdot 100 \quad (6)$$

Dabei ist

- M, D, T die gesuchten Gehalte an Mono-, Di- und Triglyceriden in der Probe, in % (m/m);
- $A_{\text{Mono}}, A_{\text{Di}}, A_{\text{Tri}}$ die für Mono-, Di- und Tri-Glyceride aufsummierten Signalflächen;
- A_{MonoC19} die Signalfläche für den internen Standard Mono C19;

M_{MonoC19}	die eingewogene Menge an internem Standard Mono C19, in mg;
A_{DiC38}	die Signalfäche für den internen Standard Di C38;
M_{DiC38}	die eingewogene Menge des internen Standards Di C38, in mg;
A_{TriC57}	die Signalfäche für den internen Standard Tri C57;
M_{TriC57}	die eingewogene Menge an internem Standard Tri C57, in mg;
m	die eingewogene Probemenge, in mg.

10.5 Gesamtglycerin

Der Gesamtgehalt an Glycerin, GT , in der Probe wird in % (m/m) nach Gleichung (7) berechnet.

$$GT = G + 0,255M + 0,146D + 0,103T \quad (7)$$

11 Angabe der Ergebnisse

Der Gehalt an freiem Glycerin und der Gesamtglyceringehalt sind auf 0,001 % (m/m) gerundet anzugeben.

Die Glyceridgehalte werden jeweils auf 0,01 % (m/m) gerundet angegeben.

12 Präzision

12.1 Ringversuch (ILS)

Ein europäischer Ringversuch (durchgeführt in 2008) unter Teilnahme von 16 Laboratorien ergab bei jeweils doppelter Ausführung der Bestimmung die in Anhang D angegebenen statistischen Daten.

Die Präzision, die durch statistische Untersuchungen nach EN ISO 4259:2006 bestimmt wurde, ist in 12.2 und 12.3 angegeben.

12.2 Wiederholbarkeit, r

Die Differenz zwischen zwei unabhängigen Ergebnissen, die bei üblicher und korrekter Durchführung desselben Prüfverfahrens an als identisch angesehenem Prüfmateri al in kurzen Zeitintervallen unter den gleichen Prüfbedingungen erhalten wurden und für die erwartet wird, dass sie aufgrund von zufälligen Schwankungen mit einer Wahrscheinlichkeit von 5 % überschritten wird, lässt sich mit den Funktionen nach Tabelle 3 berechnen:

Tabelle 3 — Wiederholbarkeit

für freies Glycerin	$0,161\,5\,X + 0,000\,3$
für Monoglyceride	$0,078\,7\,X + 0,005\,9$
für Diglyceride	$0,098\,9\,X + 0,004\,2$
für Triglyceride	$0,046\,9\,X + 0,012\,8$
für Gesamtglycerin	$0,109\,2\,X - 0,003\,4$
X der Mittelwert aus den beiden zu vergleichenden Ergebnissen.	

12.3 Vergleichbarkeit, R

Die Differenz zwischen zwei unabhängigen Ergebnissen, die bei üblicher und korrekter Durchführung desselben Prüfverfahrens an als identisch angesehenem Prüfmateriale unter unterschiedlichen Prüfbedingungen erhalten wurden und für die erwartet wird, dass sie aufgrund von zufälligen Schwankungen mit einer Wahrscheinlichkeit von 5 % überschritten wird, lässt sich mit den Funktionen nach Tabelle 4 berechnen:

Tabelle 4 — Vergleichbarkeit

für freies Glycerin	$0,183\,3\,X + 0,006\,1$
für Monoglyceride	$0,186\,7\,X + 0,065\,4$
für Diglyceride	$0,188\,5\,X + 0,028\,9$
für Triglyceride	$0,318\,0\,X + 0,052\,0$
für Gesamtglycerin	$0,190\,2\,X + 0,011\,5$
X der Mittelwert aus den beiden zu vergleichenden Ergebnissen.	

13 Prüfbericht

Der Prüfbericht muss mindestens die folgenden Angaben enthalten:

- a) eine Verweisung auf diese Europäische Norm;
- b) die Art und die genaue Kennzeichnung des geprüften Produktes;
- c) das Verfahren der Probenahme (siehe Abschnitt 8);
- d) das Prüfergebnis (siehe Abschnitt 11);
- e) jede Abweichung, vereinbart oder nicht, von dem festgelegten Verfahren;
- g) das Datum der Prüfung.

Anhang A (informativ)

Beispiel eines Chromatogramms

Bild A.1 zeigt ein Beispiel für ein Chromatogramm für die Bestimmung der Mono-, Di- und Tri-Glyceride und von freiem Glycerin in einer Rapsöl-Methylester-(RME-)Probe.

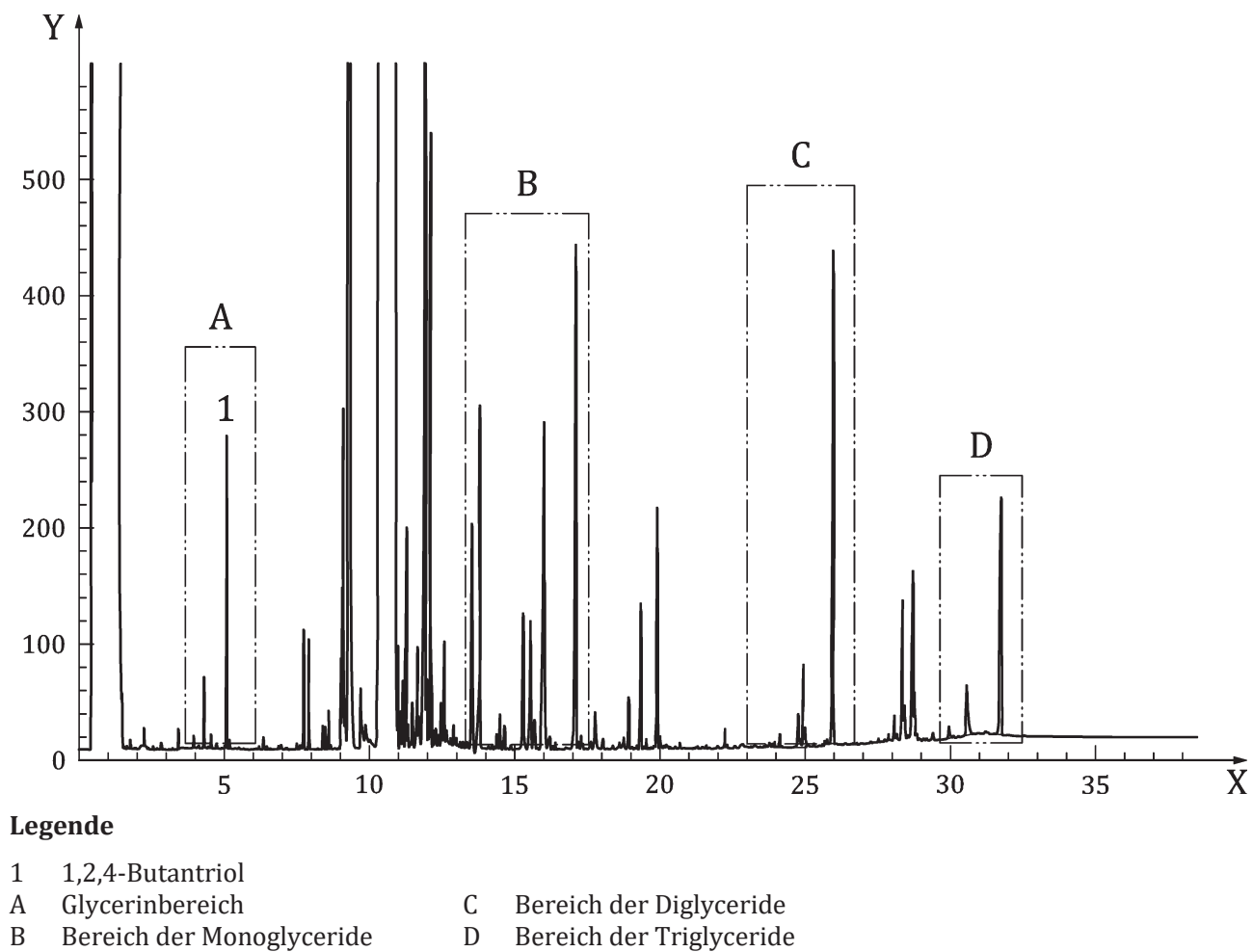
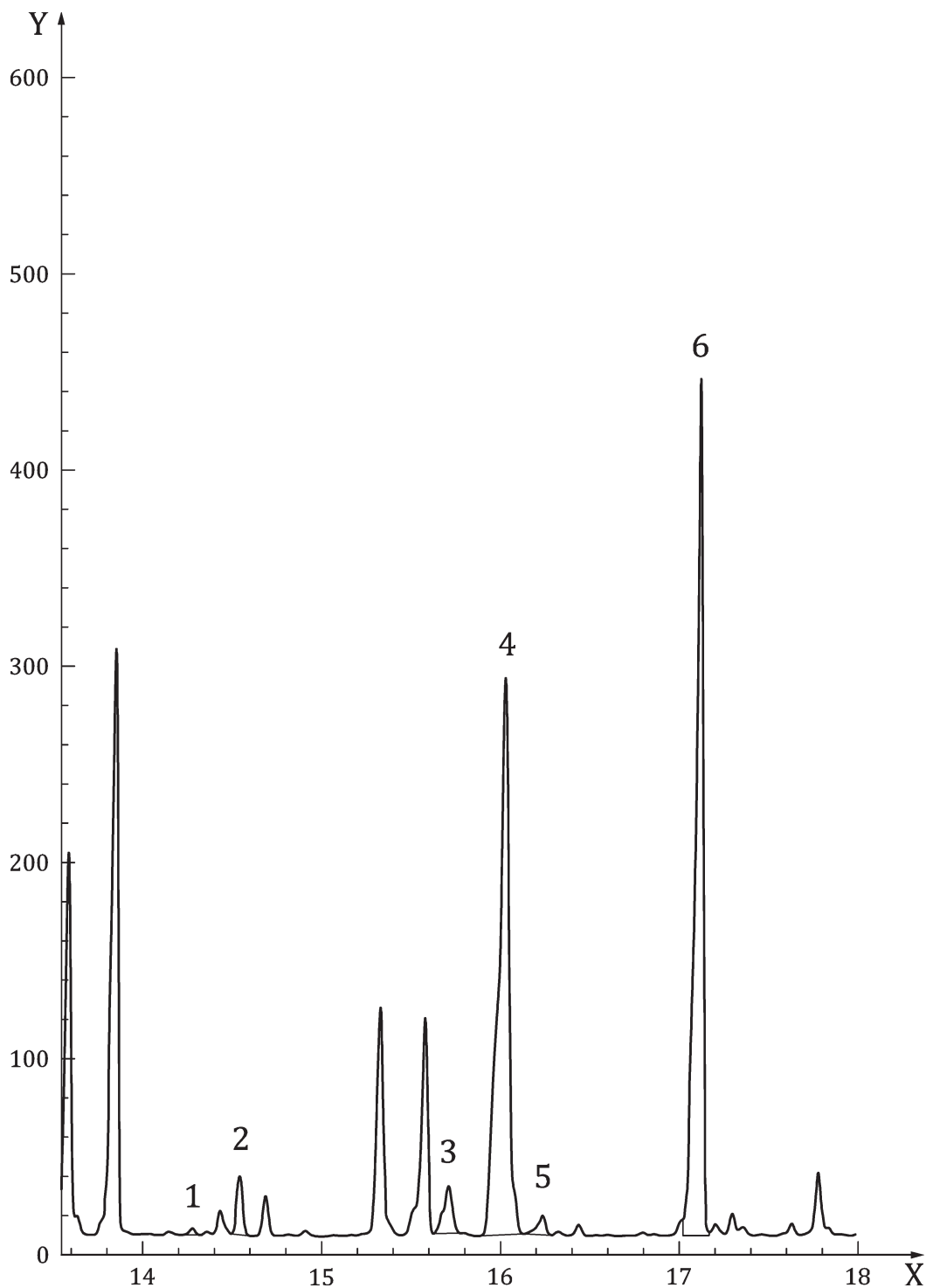


Bild A.1 — Beispielchromatogramm für eine RME-Probe

Bild A.2 zeigt Peaks von Monoglyceridbestimmungen.

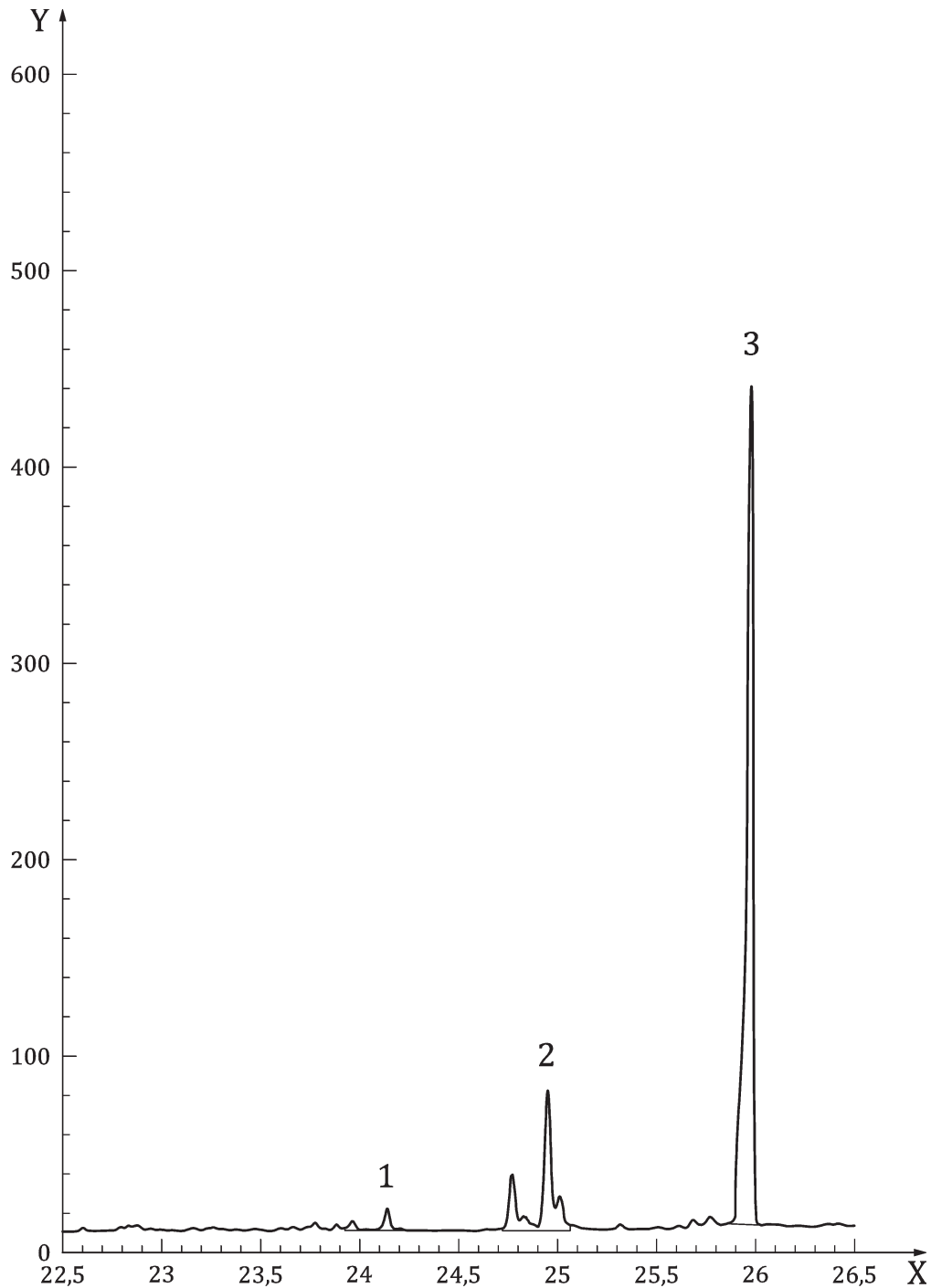


Legende

- | | | | |
|---|------------------|---|---|
| 1 | 2-Mono-C16:0 | 4 | 1-Mono-C18:1,2,3 |
| 2 | 1-Mono-C16:0 | 5 | 1-Mono-C18:0 |
| 3 | 2-Mono-C18:1,2,3 | 6 | 1-Mono-C19 - Glycerol-Monononadecanoat (IS) |

Bild A.2 — Peaks von Monoglyceriden einer RME-Probe

Bild A.3 zeigt Peaks von Diglyceridbestimmungen.



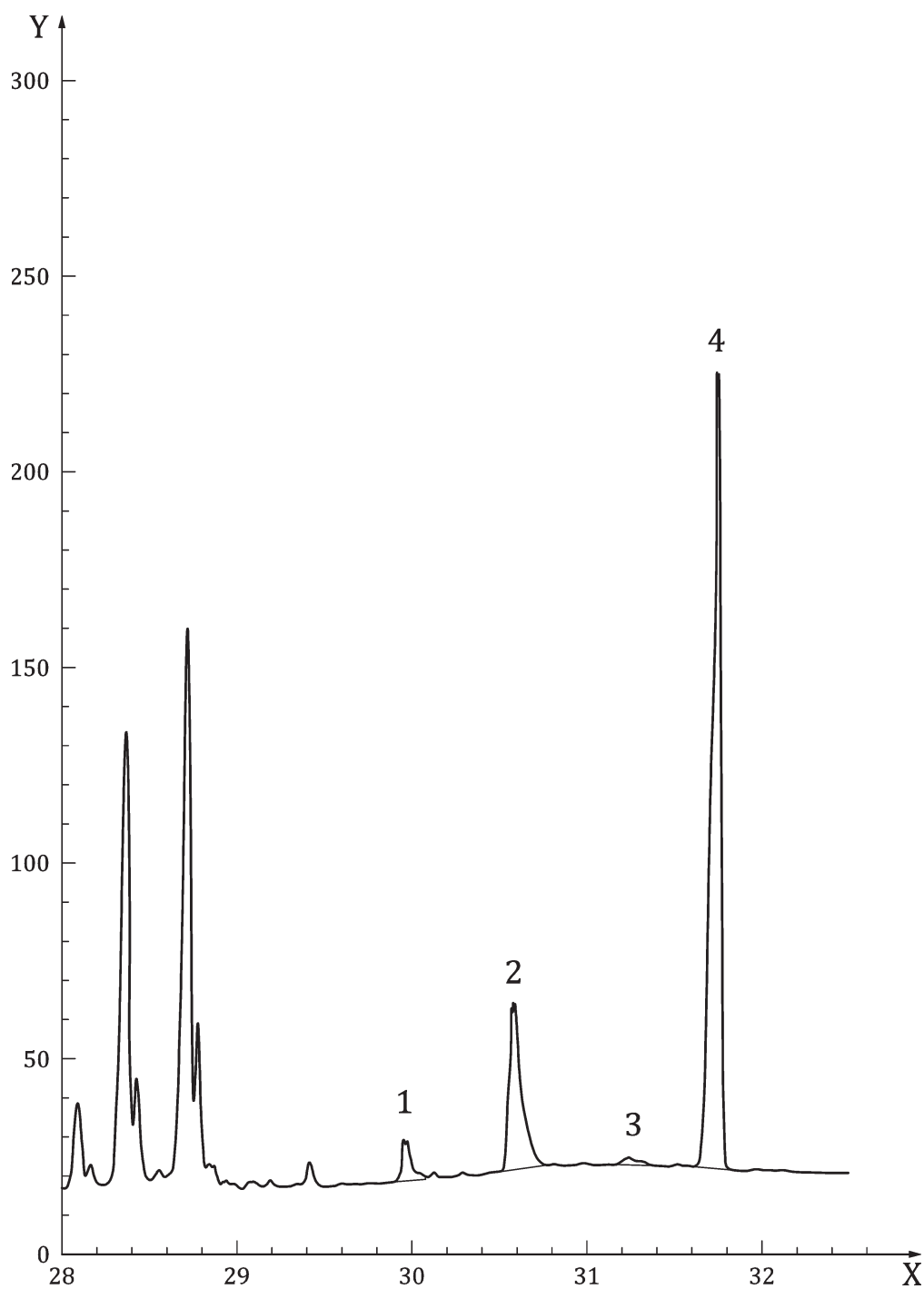
Legende

- 1 Diglyceride mit C34
- 2 Diglyceride mit C36
- 3 Di-C38 – Glyceryl-Dinonadecanoat (IS)

Bild A.3 — Peaks von Diglyceriden einer RME-Probe

ACHTUNG — Nur wenn eine signifikante Menge an C16-Monoglyceriden vorhanden ist, kann die Probe C32-Diglyceride enthalten, was berücksichtigt werden muss. Siehe Bild A.6 (PME)

Bild A.4 zeigt Peaks von Triglyceridbestimmungen.



Legende

- | | | | |
|---|---------|---|---|
| 1 | Tri-C52 | 3 | Tri-C56 |
| 2 | Tri-C54 | 4 | Tri-C57 – Glycerol-Trinonadecanoat (IS) |

Bild A.4 — Peaks von Triglyceriden einer RME-Probe