

DIN EN 14105



ICS 67.200.10

Einsprüche bis 2023-05-24
Vorgesehen als Ersatz für
DIN EN 14105:2021-03

Entwurf

**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 14105:2023**

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 14105:2023

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 14105:2023

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2023-03-24 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 möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den Fachausschuss Mineralöl- und Brennstoffnormung (FAM) des NMP, Große Elbstr. 131, 22767 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 58 Seiten

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

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN 14105:2023) 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.

Das zuständige deutsche Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 062-06-14 AA „Chromatographische Analyse“ im Fachausschuss Mineralöl- und Brennstoffnormung (FAM) des 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.

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

Änderungen

Gegenüber DIN EN 14105:2021-03 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Konkretisierung der Angabe der Wägegenauigkeit.

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

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

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

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
1 Anwendungsbereich	5
2 Normative Verweisungen	5
3 Begriffe	5
4 Kurzbeschreibung	5
5 Chemikalien	6
6 Prüfeinrichtung	6
7 Vorbereitung der Lösungen	7
7.1 Stammlösung mit 1,2,4-Butantriol, 1 mg/ml	7
7.2 Stammlösung mit Glycerin, 0,5 mg/ml	7
7.3 Standard-Glycerid-Stammlösung, 2,5 mg/ml	7
7.4 Handelsübliche Mischung von Monoglyceriden	7
7.5 Kalibrierlösungen	8
8 Probenahme	8
9 Verfahren	8
9.1 Betriebsbedingungen	8
9.2 Analyse der Kalibrierlösungen	8
9.3 Analyse der handelsüblichen Monoglyceridmischung	9
9.4 Herstellung und Analyse der Proben	9
9.5 Identifizierung	9
9.6 Kalibrierung	9
9.7 Überprüfung der Säulenleistung	9
10 Berechnung der Ergebnisse	10
10.1 Integration der Peaks	10
10.2 Kalibrierfunktion für Glycerin	10
10.3 Freies Glycerin	11
10.4 Glyceride	11
10.5 Gesamtglycerin	11
11 Angabe der Ergebnisse	11
12 Präzision	12
12.1 Ringversuch (ILS, en: interlaboratory study)	12
12.2 Wiederholbarkeit, r	12
12.3 Vergleichbarkeit, R	12
13 Prüfbericht	12
Anhang A (informativ) Probenchromatogramm	14
Anhang B (informativ) Berechnung der Kalibrierfunktion	22
Anhang C (informativ) Praktisches Beispiel für die Berechnung der Kalibrierfunktion	24
Anhang D (informativ) Ringversuchsergebnisse	26
Literaturhinweise	28

Bilder

Bild A.1 — RME-Probenchromatogramm	14
Bild A.2 — Peaks der Monoglyceride einer RME-Probe	15
Bild A.3 — Peaks der Diglyceride einer RME-Probe	16
Bild A.4 — Peaks der Triglyceride einer RME-Probe	17
Bild A.5 — PME-Probenchromatogramm	18
Bild A.6 — Peaks der Diglyceride einer PME-Probe	19
Bild A.7 — Peaks der Diglyceride einer PME-Probe, die Fettsäure-Methylester-Dimere enthält	20

Bild A.8 — Peaks der Triglyceride einer PME-Probe	21
---	----

Tabellen

Tabelle 1 — Vorbereitung der Kalibrierlösungen	8
Tabelle 2 — Beispiel für Analysebedingungen	8
Tabelle 3 — Wiederholbarkeit	12
Tabelle 4 — Vergleichbarkeit	12
Tabelle B.1 — Experimentelle Daten	22
Tabelle B.2 — Daten der Regressionsfunktion	22
Tabelle C.1 — Experimentelle Daten	24
Tabelle C.2 — Regressionsdaten	24
Tabelle D.1 — Monoglyceride	26
Tabelle D.2 — Diglyceride	26
Tabelle D.3 — Triglyceride	26
Tabelle D.4 — Freies Glycerin	27
Tabelle D.5 — Gesamtglycerin	27

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN 14105:2023) 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 14105:2020 ersetzen.

Im Vergleich zur Vorgängerausgabe wurden die folgenden technischen Änderungen vorgenommen:

— die Wägegenauigkeit (Fehlergrenze der Waage) wird festgelegt.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein Verfahren fest, um den Gehalt an freiem Glycerin und restlichen Mono-, Di- und Triglyceriden in Fettsäure-Methylestern (FAME) zu bestimmen. Der Gesamtglyceringehalt wird anschließend aus den erhaltenen Ergebnissen berechnet.

Die Bestimmungsgrenzen sind unter den beschriebenen Bedingungen 0,001 % (*m/m*) für freies Glycerin und 0,10 % (*m/m*) für alle Glyceride (Mono-, Di- und Tri-). Das Verfahren ist geeignet für FAME aus Rapsöl, Sonnenblumenöl, Sojaöl, Palmöl, tierischen Ölen und Fetten und für deren Mischungen. Es ist nicht geeignet für FAME aus oder mit Kokosnuss- und Palmkernölderivaten, da hier verschiedene überlappende Glyceridpeaks auftreten.

ANMERKUNG 1 Für die Zwecke dieses Dokuments 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 die Anwesenheit von Squalen vermutet wird, kann EN 17057 zur Unterscheidung zwischen Squalen und Glycerin-Monostearat angewendet werden.

WARNUNG — Die Anwendung dieses Dokuments kann die Anwendung gefährlicher Stoffe, Arbeitsgänge und Geräte mit sich bringen. Dieses Dokument beansprucht nicht, alle damit verbundenen Sicherheitsprobleme zu behandeln. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders dieses Dokuments, vor der 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 (ISO 5555)*

EN ISO 3170, *Flüssige Mineralölerzeugnisse — Manuelle Probenahme (ISO 3170)*

3 Begriffe

In diesem Dokument werden keine Begriffe aufgeführt.

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

— ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter <https://www.iso.org/obp>

— IEC Electropedia: verfügbar unter <http://www.electropedia.org/>

4 Kurzbeschreibung

Glycerin sowie die Mono- und Diglyceride werden in Gegenwart von Pyridin und N-Methyl-N-Trimethylsilyl-trifluoracetamid (MSTFA) in die flüchtigeren und stabileren silylierten Derivate umgesetzt.

Die Probe wird nach der Silylierung mittels Gaschromatographie auf einer kurzen Dünnschicht-Kapillarsäule mit einem On-Column-Injektor oder einer gleichwertigen Vorrichtung und mittels Flammenionisationsdetektion analysiert.

Nach einem Kalibriervorgang erfolgt die Quantifizierung von Glycerin in Gegenwart des internen Standards 1,2,4-Butantriol.

Die Bestimmung der Mono-, Di- und Triglyceride erfolgt direkt in Gegenwart eines internen Standards für jede Glyceridgruppe:

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

5 Chemikalien

Sofern nicht anders festgelegt, werden nur Chemikalien anerkannter analytischer Qualität verwendet.

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).

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

5.9 Glyceryl-Trinonadecanoat (Tri C57).

5.10 Pyridin, Silylierungsqualität.

6 Prüfeinrichtung

Übliche Laborgeräte und insbesondere folgende Geräte.

6.1 Gaschromatograph (GC), der mit einem On-Column-Injektor oder einer gleichwertigen Vorrichtung, einem temperierbaren Ofen und einem Flammenionisationsdetektor ausgerüstet ist.

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

- stationäre Phase: 100 % Dimethylpolysiloxan oder 95 % Dimethyl- und 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 mit Polytetrafluorethylen (PTFE) 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 Fehlergrenze 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 z. B. Luft, Wasserstoff und Stickstoff.

7 Vorbereitung der Lösungen

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

40 mg bis 60 mg 1,2,4-Butantriol (5.6) werden auf 0,1 mg in einen 50-ml-Messkolben (6.3) eingewogen und mit Pyridin (5.2 oder 5.10) bis zur Marke aufgefüllt.

7.2 Stammlösung mit Glycerin, 0,5 mg/ml

40 mg bis 60 mg Glycerin (5.5) werden auf 0,1 mg in einen 10-ml-Messkolben (6.5) eingewogen und mit Pyridin (5.2 oder 5.10) bis zur Marke aufgefüllt. 1 ml dieser Lösung wird mit einer Pipette (6.7) in einen 10-ml-Messkolben (6.5) überführt und mit Pyridin (5.2 oder 5.10) bis zur Marke aufgefüllt.

7.3 Standard-Glycerid-Stammlösung, 2,5 mg/ml

Für jedes der Referenzglyceride, Monononadecanoat (5.7), Dinonadecanoat (5.8) und Trinonadecanoat (5.9) werden 40 mg bis 60 mg auf 0,1 mg in einen einzelnen 20-ml-Messkolben (6.4) eingewogen und mit Tetrahydrofuran (5.3) bis zur Marke aufgefüllt.

Die Lösung 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 ist die Lösung für fast 3 Monate stabil.

7.4 Handelsübliche Mischung von Monoglyceriden

Besteht aus Mono-Palmitoylglycerin (Monopalmitin), Mono-Stearoylglycerin (Monostearin) und Mono-Oleoylglycerin (Monoolein), die in jeweils gleichen Massenanteilen vorliegen.

Aus dieser Mischung wird eine Stammlösung hergestellt, indem etwa 100 mg in einen 10-ml-Messkolben (6.5) eingewogen und mit Pyridin (5.2 oder 5.10) bis zur Marke aufgefüllt werden.

Diese Lösung darf eingesetzt werden, um die relevanten Peaks im GC-Chromatogramm zu identifizieren.

7.5 Kalibrierlösungen

Es werden vier Kalibrierlösungen vorbereitet, indem die in Tabelle 1 angegebenen Volumina der Glycerin-Stammlösungen (7.2) und des 1,2,4-Butantriol (7.1) mit einer 100- μ l-Präzisionspipette (6.8) in eine Reihe von Probengläschen (6.6) 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
Interne Butantriol-Lösung (7.1)	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 Betriebsbedingungen

Die Bedingungen für die chromatographische Analyse müssen unter Berücksichtigung der Charakteristik der genutzten Säule und der Art des Trägergases (Wasserstoff oder Helium) gewählt werden. Es wird allerdings empfohlen, eine Analysenzeit von 30 min bis 35 min einzuhalten, damit die Elution der Triglyceride sichergestellt ist.

BEISPIEL Als Anhaltspunkt wird in Tabelle 2 ein Beispiel für Analysebedingungen beschrieben:

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
Trägergasdruck (Wasserstoff):	80 kPa oder konstanter Durchfluss (etwa 2 ml/min)
Injektionsvolumen:	1 μ l

9.2 Analyse der Kalibrierlösungen

150 μ l MSTFA (5.1) werden mit einer Präzisionspipette (6.9) zu jeder der vier Kalibrierlösungen (7.5) zugegeben und nach hermetischem Verschließen der Probengläschen kräftig geschüttelt. Die Lösung wird 15 min bei Raumtemperatur gelagert. Dann wird das Probengläschen geöffnet und 8 ml n-Heptan (5.4) werden mit Hilfe eines Messzylinders (6.10) hinzugegeben. Das Probengläschen wird wieder hermetisch verschlossen.

Anschließend wird 1 μ l jeder Reaktionsmischung mithilfe der Gaschromatographie, z. B. unter den Bedingungen nach 9.1, analysiert, wobei lediglich der erste Teil des Temperaturprogrammes genutzt wird; die Analyse wird beim Erreichen einer Temperatur von 230 °C unterbrochen. Die Proben sind nach der Derivatisierung für einige Stunden haltbar.

ANMERKUNG Die silylierten Standardlösungen sind nur einen Tag haltbar.

9.3 Analyse der handelsüblichen Monoglyceridmischung

200 µl der handelsüblichen Monoglyceridmischung, gelöst in Pyridin (5.10), und 150 µl MSTFA (5.1) werden mit Hilfe einer Präzisionspipette (6.9) in ein 10-ml-Probengläschen (6.6) überführt. Dabei wird der Kontakt mit Luftfeuchte vermieden.

Das Probengläschen wird hermetisch verschlossen und kräftig geschüttelt.

Die Lösung wird 15 min bei Raumtemperatur gelagert. Dann wird das Probengläschen geöffnet und 8 ml n-Heptan (5.4) werden mit Hilfe eines Messzylinders (6.10) hinzugegeben. Das Probengläschen wird wieder hermetisch verschlossen.

Anschließend wird 1 µl der Reaktionsmischung mithilfe der Gaschromatographie z. B. nach den in 9.1 angegebenen Bedingungen analysiert.

9.4 Herstellung und Analyse der Proben

80 mg bis 125 mg homogenisierte Probe werden auf 0,1 mg in ein 10-ml-Probengläschen (6.6) eingewogen.

Mit Hilfe der Präzisionspipetten oder der Spritzen (6.8 und 6.9) werden 80 µl der 1,2,4-Butantriol-Stammlösung (7.1), 200 µl Standard-Glycerid-Stammlösung (7.3), 200 µl Pyridin (5.10) und 200 µl MSTFA (5.1) hinzugegeben. Dabei wird der Kontakt mit Luftfeuchte vermieden.

Das Probengläschen wird hermetisch verschlossen und kräftig geschüttelt. Die Lösung wird 15 min bei Raumtemperatur gelagert. Dann wird das Probengläschen geöffnet und 8 ml n-Heptan (5.4) werden mit Hilfe eines Messzylinders (6.10) hinzugegeben. Das Probengläschen wird wieder hermetisch verschlossen. Anschließend wird 1 µl der Reaktionsmischung mithilfe der Gaschromatographie z. B. nach den in 9.1 angegebenen Bedingungen analysiert.

9.5 Identifizierung

Die Analyse der Kalibrierlösungen unter den gleichen Betriebsbedingungen, wie sie für die Analyse der Probe verwendet werden, ermöglicht die Identifizierung der Peaks durch Vergleich der Retentionszeiten. Aufgrund der Überlappung der Elutionsbereiche der Methylester und der Monoglyceride wird empfohlen, zur Identifizierung der Monoglyceridpeaks die handelsübliche Mischung, bestehend aus Monopalmitin, Monostearin und Monoolein (7.4), zu injizieren, wobei letzteres zuvor der Derivatisierungsreaktion unterzogen wurde.

In Anhang A sind Chromatogramme einer Rapsöl- und einer Palmöl-Methylester-Probe enthalten, die unter den in 9.1 angegebenen Betriebsbedingungen erhalten wurden. Zusätzlich wird das Chromatogramm einer zweiten 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

Nur für Glycerin ist es möglich, durch die Untersuchung der Veränderung des Verhältnisses von Masse und Signalfäche die Linearität der Response zu verifizieren und eine Kalibrierfunktion aufzustellen.

Für Mono-, Di- und Triglyceride wird angenommen, dass die Detektorresponse für den betrachteten Konzentrationsbereich als linear betrachtet wird.

9.7 Überprüfung der Säulenleistung

Für jede Analyse wird anhand Gleichung (1) der relative Responsefaktor (RF) für Glyceryl-Dinonadecanoat (Di C38) gegen Glyceryl-Trinonadecanoat (Tri C57) ermittelt:

$$RF = (A_{\text{DiC38}}/M_{\text{DiC38}}) / (A_{\text{TriC57}}/M_{\text{TriC57}}) \quad (1)$$

Dabei ist

A_{DiC38} die Peakfläche für den internen Standard Di C38;

M_{DiC38} die Masse des internen Standards Di C38, in mg;

A_{TriC57} die Peakfläche für den internen Standard Tri C57;

— M_{TriC57} die Masse des internen Standards Tri C57, in mg.

Die dabei ermittelten Ergebnisse für den relativen Responsefaktor, RF, müssen kleiner sein als 1,8. Bei höheren Werten ist das GC-System für die Analyse nicht geeignet und muss mit dem Ziel einer Verbesserung für die Triglycerid-Bestimmung verifiziert werden.

ANMERKUNG Ein Responsefaktor von mehr als 1,8 kann auf die Adsorption von Triglyceriden auf der GC-Säule zurückzuführen sein, die die Empfindlichkeit der Bestimmung von Triglyceridspuren verringert.

10 Berechnung der Ergebnisse

10.1 Integration der Peaks

In jeder Glyceridfamilien gibt es kleine Peaks (siehe Anhang A), die mit integriert werden müssen. Dieses Verfahren berechnet also die prozentualen Anteile an Mono-, Di- und Triglyceriden (10.4), indem zunächst für jede Familie die zugehörigen Peakflächen aufsummiert werden. Es wird empfohlen, die beiden Diglycerid-Peaks, die 36 Kohlenstoffatome enthalten und zu den wichtigsten Verbindungen dieser Familie gehören, gemeinsam zu integrieren, da eine unzureichende Auflösung zu Quantifizierungsfehlern führen kann, wenn die beiden Peaks getrennt integriert werden. Beim Auftreten eines Doppelpeaks im Bereich der Retentionszeit für Glycerin muss auf Vollständigkeit des Silylierungsschrittes geprüft werden, der dann wahrscheinlich nicht vollständig abgelaufen ist (durch Wasser in den Proben).

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 des linearen Regressionsverfahrens berechnet.

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

Dabei ist

M_g die Masse von Glycerin, in mg;

M_{ei} die Masse des internen Standards 1,2,4-Butantriol, in mg;

A_g die Peakfläche für Glycerin;

A_{ei} die Peakfläche für den internen Standard 1,2,4-Butantriol;

a_g, b_g die Regressionskoeffizienten der Kalibrierfunktion für Glycerin.

Die Kalibrierfunktion darf nur dann als korrekt angesehen werden, wenn der nach Anhang B berechnete Korrelationskoeffizient gleich oder größer als 0,9 ist (siehe Anhang C für ein praktisches Beispiel).

10.3 Freies Glycerin

Der prozentuale Massenanteil an freiem Glycerin in der Probe (G) in % (m/m) wird nach Gleichung (3) berechnet:

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

Dabei ist

A_{ei} die Peakfläche für den internen Standard 1,2,4-Butantriol;

M_{ei} die Masse des internen Standards 1,2,4-Butantriol, in mg;

m die Masse der Probe, in mg.

10.4 Glyceride

Die prozentualen Massenanteile für die Mono-, Di- und Triglyceride in % (m/m) werden mit den Gleichung (4), Gleichung (5) und Gleichung (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 Mono-, Di- bzw. Triglyceridkonzentration in der Probe;

$A_{\text{Mono}}, A_{\text{Di}}, A_{\text{Tri}}$ die für Mono-, Di- bzw. Triglyceride aufsummierten Peakflächen;

A_{MonoC19} die Peakfläche für den internen Standard Mono C19;

M_{MonoC19} die Masse des internen Standards Mono C19, in mg;

A_{DiC38} die Peakfläche für den internen Standard Di C38;

M_{DiC38} die Masse des internen Standards Di C38, in mg;

A_{TriC57} die Peakfläche für den internen Standard Tri C57;

M_{TriC57} die Masse des internen Standards Tri C57, in mg;

m die Masse der Probe, in mg.

10.5 Gesamtglycerin

Der prozentuale Anteil an Gesamtglycerin (G_{total}) in der Probe in % (m/m) wird nach Gleichung (7) berechnet:

$$G_{\text{total}} = G + 0,255 M + 0,146 D + 0,103 T \quad (7)$$

11 Angabe der Ergebnisse

Der Gehalt an freiem Glycerin und der Gesamtglyceringehalt werden auf 0,001 % (m/m) angegeben.

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

12 Präzision

12.1 Ringversuch (ILS, en: interlaboratory study)

Ein 2008 auf europäischer Ebene organisierter ILS unter Teilnahme von 16 Laboratorien, die jeweils zwei Bestimmungen an jeder Probe durchführten, ergab die in Anhang D angegebenen statistischen Ergebnisse.

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, welche unter Anwendung dieses Verfahrens an als identisch angesehenem Prüfmaterial in demselben Labor durch denselben Bearbeiter unter Verwendung derselben Ausrüstung innerhalb kurzer Zeitintervalle bei üblicher und korrekter Durchführung des Verfahrens erhalten werden und für die erwartet wird, dass sie aufgrund zufälliger Schwankungen mit einer Wahrscheinlichkeit von 5 % überschritten wird, lässt sich mit den folgenden 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	$0,109\,2\,X - 0,003\,4$
ANMERKUNG X ist der Mittelwert aus den beiden zu vergleichenden Prüfergebnissen.	

12.3 Vergleichbarkeit, R

Die Differenz zwischen zwei unabhängigen Ergebnissen, welche unter Anwendung dieses Verfahrens an als identisch angesehenem Prüfmaterial in unterschiedlichen Laboren bei üblicher und korrekter Durchführung des Verfahrens erhalten werden (unterschiedliche Labore bedeutet dabei unterschiedliche Bearbeiter, unterschiedliche Ausrüstung, unterschiedliche geographische Lage sowie unterschiedliche Überwachungssteuerung), für die erwartet wird, dass sie aufgrund zufälliger Schwankungen mit einer Wahrscheinlichkeit von 5 % überschritten wird, lässt sich mit den folgenden 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	$0,190\,2\,X + 0,011\,5$
ANMERKUNG X ist der Mittelwert aus den beiden zu vergleichenden Prüfergebnissen.	

13 Prüfbericht

Der Prüfbericht muss mindestens die folgenden Angaben enthalten:

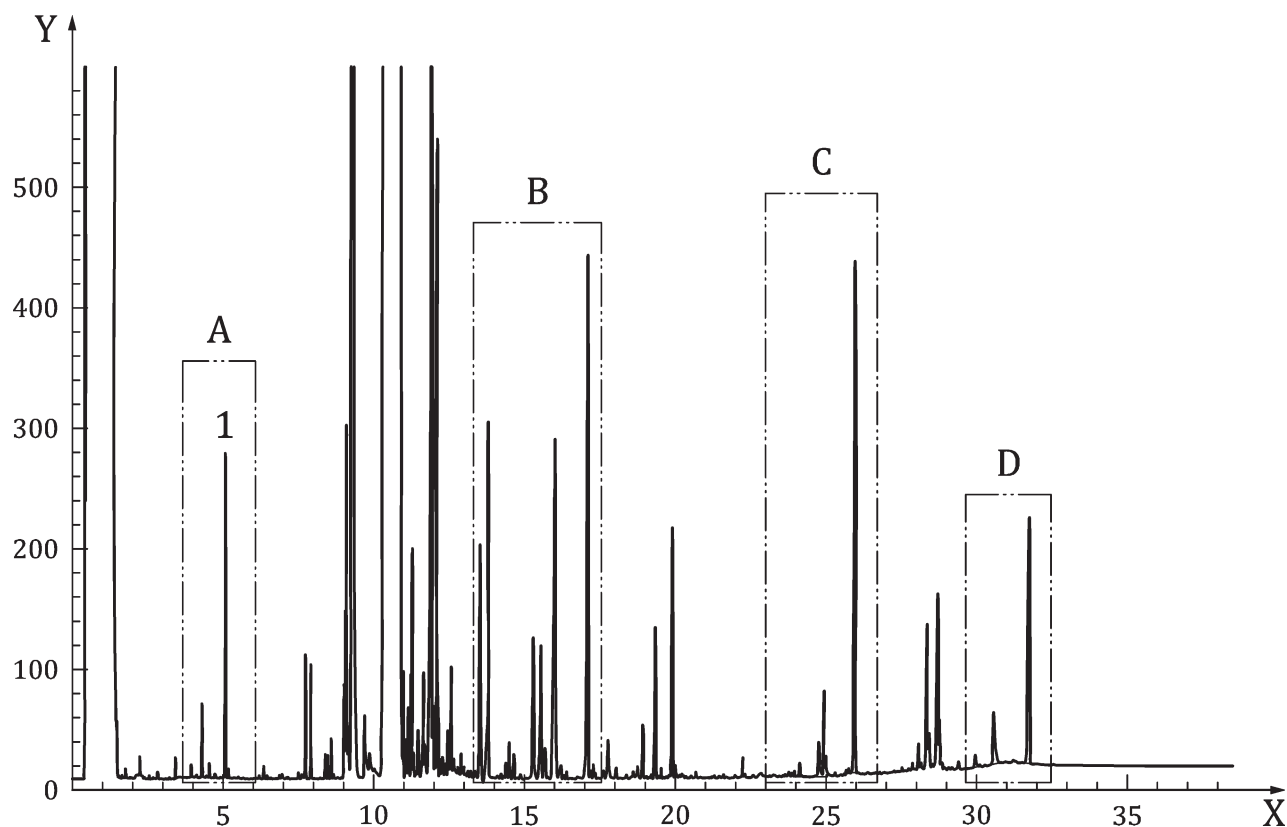
- a) eine Verweisung auf dieses Dokument (d. h. prEN 14105:2023);

- b) die Art und die genaue Kennzeichnung des geprüften Produktes;
- c) das angewandte Probenahmeverfahren (siehe Abschnitt 8);
- d) das Prüfergebnis (siehe Abschnitt 11);
- e) jede Abweichung, vereinbart oder nicht, von dem festgelegten Verfahren;
- f) das Prüfdatum.

Anhang A (informativ)

Probenchromatogramm

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

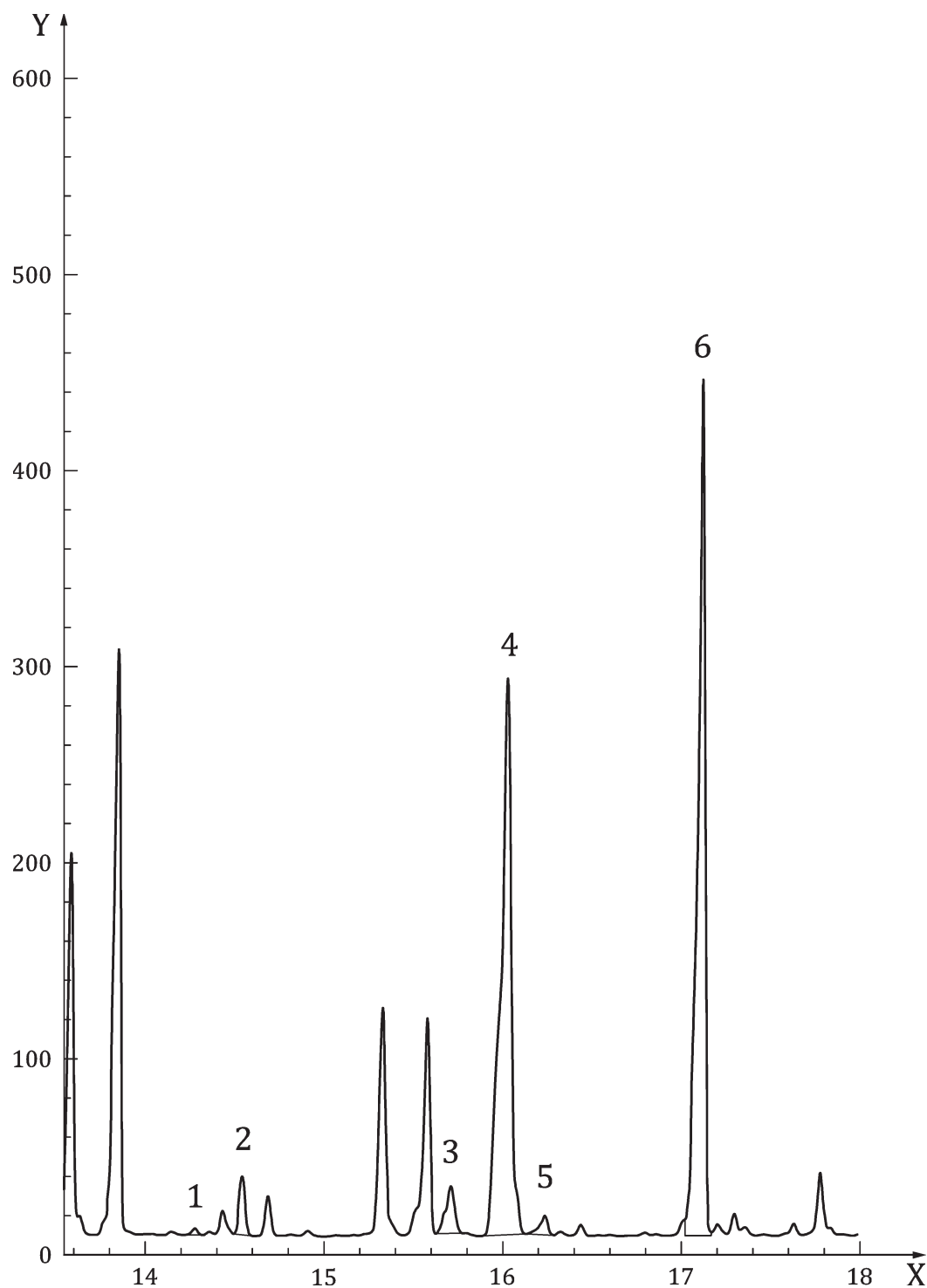


Legende

- 1 1,2,4-Butantriol
- A Glycerinbereich
- B Bereich der Monoglyceride
- C Bereich der Diglyceride
- D Bereich der Triglyceride

Bild A.1 —RME-Probenchromatogramm

Bild A.2 zeigt die spezifischen Peaks, die Monoglyceride bestimmen.

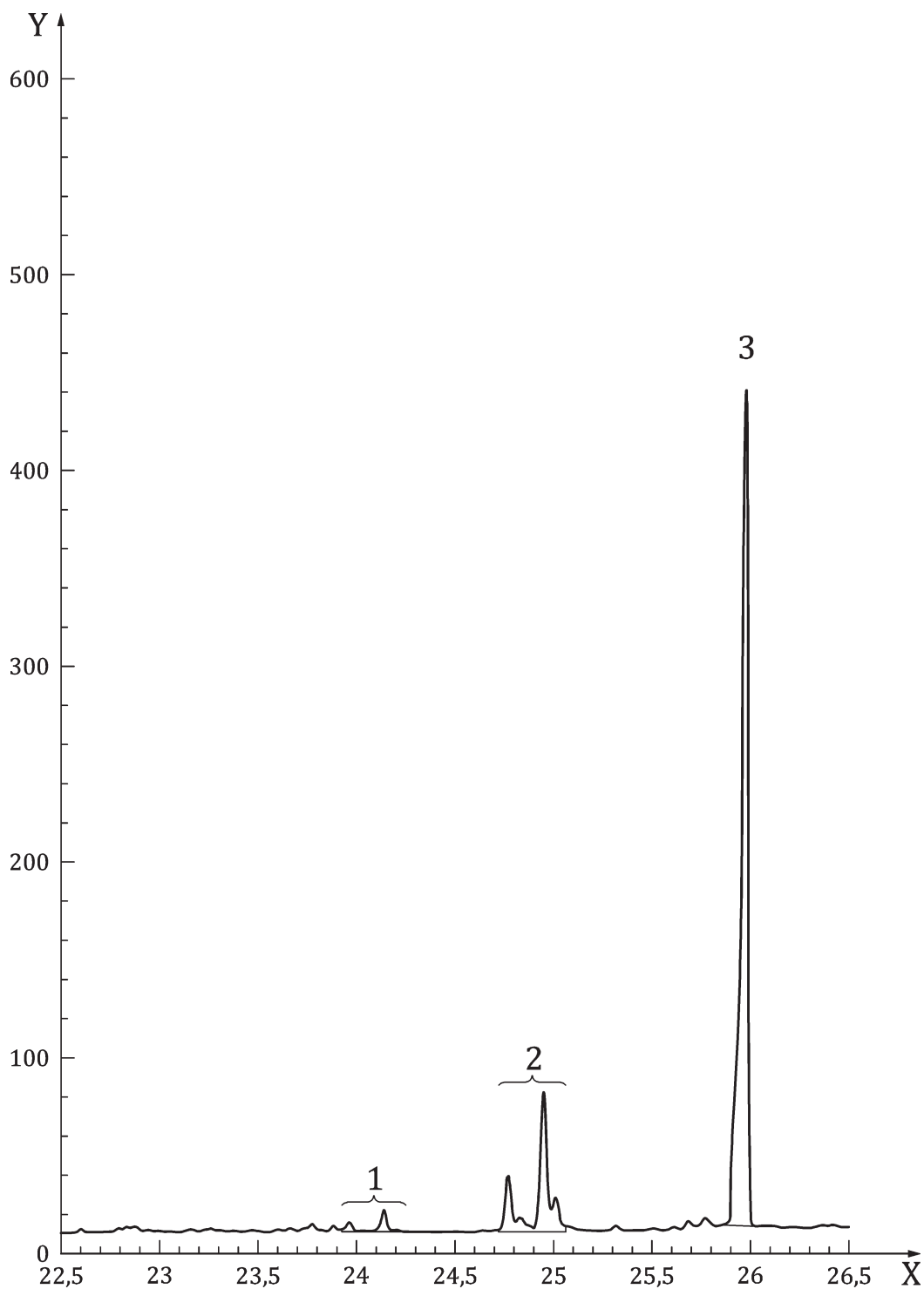


Legende

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

Bild A.2 — Peaks der Monoglyceride einer RME-Probe

Bild A.3 zeigt die spezifischen Peaks, die Diglyceride bestimmen.



Legende

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

Bild A.3 — Peaks der Diglyceride einer RME-Probe