

DIN EN ISO 18363-1



ICS 67.200.10

Einsprüche bis 2021-09-30

Entwurf

**Tierische und pflanzliche Fette und Öle –
Bestimmung von fettsäuregebundenen Chlorpropandiol (MCPD) und
Glycidol mittels GC/MS –
Teil 1: Verfahren mittels schneller alkalischer Umesterung und Messung
für 3-MCPD und Differenzmessung für Glycidol (ISO 18363-1:2015);
Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 18363-1:2021**

Animal and vegetable fats and oils –
Determination of fatty-acid-bound chloropropanediols (MCPDs) and glycidol by GC/MS –
Part 1: Method using fast alkaline transesterification and measurement for 3-MCPD and
differential measurement for glycidol (ISO 18363-1:2015);
German and English version prEN ISO 18363-1:2021

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 –
Partie 1: Méthode par transestérification alcaline rapide et mesure pour le 3-MCPD et par
mesure différentielle pour le glycidol (ISO 18363-1:2015);
Version allemande et anglaise prEN ISO 18363-1:2021

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2021-07-30 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 nal@din.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 DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL), 10772 Berlin oder Saatwinkler Damm 42/43, 13627 Berlin.

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 35 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Der Text von ISO 18363-1:2015 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und als prEN ISO 18363-1:2021 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).

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.

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

ISO 661	siehe	DIN EN ISO 661
ISO 3696	siehe	DIN ISO 3696
ISO 5555	siehe	DIN EN ISO 5555
ISO 5725-2	siehe	DIN ISO 5725-2

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

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

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*

<i>Titel de:</i>	Tierische und pflanzliche Fette und Öle — Bestimmung von fettsäuregebundenen Chlorpropandiol (MCPD) und Glycidol mittels GC/MS — Teil 1: Verfahren mittels schneller alkalischer Umesterung und Messung für 3-MCPD und Differenzmessung für Glycidol (ISO 18363-1:2015)
<i>Titel en:</i>	Animal and vegetable fats and oils — Determination of fatty-acid-bound chloropropanediols (MCPDs) and glycidol by GC/MS — Part 1: Method using fast alkaline transesterification and measurement for 3-MCPD and differential measurement for glycidol (ISO 18363-1:2015)
<i>Titel fr:</i>	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 1: Méthode par transestérification alcaline rapide et mesure pour le chloro-3 propane-1,2-diol (3-MCPD) et par mesure différentielle pour le glycidol (ISO 18363-1:2015)

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort.....	3
Vorwort	4
Einleitung.....	5
1 Anwendungsbereich.....	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Kurzbeschreibung.....	8
5 Reagenzien.....	9
5.1 Allgemeines.....	9
5.2 Standard- und Referenzverbindungen.....	9
5.3 Lösemittel.....	9
5.4 Andere Reagenzien	9
6 Geräte.....	10
7 Probe	10
7.1 Probenahme	10
7.2 Vorbereitung der Untersuchungsprobe.....	10
8 Verfahren.....	11
8.1 Dotieren mit Surrogatstandard und Homogenisierung.....	11
8.2 Esterspaltung und Glycidolumwandlung.....	11
8.3 Matrixreinigung	11
8.4 Derivatisierung.....	11
8.5 Gaschromatographie/Massenspektrometrie-Referenzen	12
9 Angabe der Ergebnisse.....	12
10 Präzision	14
10.1 Ringversuch.....	14
10.2 Wiederholpräzision	14
10.3 Vergleichpräzision	14
11 Prüfbericht.....	14
Anhang A (informativ) Ergebnisse eines Ringversuchs.....	15
Literaturhinweise.....	17

Europäisches Vorwort

Der Text von ISO 18363-1:2015 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und vom Technischen Komitee CEN/TC 307 „Ölsaaten, tierische und pflanzliche Fette und Öle und deren Nebenprodukte — Probenahme- und Untersuchungsverfahren“ als prEN ISO 18363-1:2021 übernommen, dessen Sekretariat von AFNOR gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 18363-1:2015 wurde von CEN als prEN ISO 18363-1:2021 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

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.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsinstitute (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 der Bedeutung ISO-spezifischer Benennungen und Ausdrücke, die sich auf Konformitätsbewertung beziehen, sowie Informationen über die Beachtung der Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO) zu technischen Handelshemmnissen (TBT, en: Technical Barriers to Trade) durch ISO enthält der folgende Link: Foreword - Supplementary information.

Das für dieses Dokument verantwortliche Komitee ist ISO/TC 34, *Food Products*, Unterkomitee SC 11, *Animal and vegetable fats and oils*.

ISO 18363 besteht aus den folgenden Teilen unter dem allgemeinen Titel *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*

Die folgenden Teile sind in Vorbereitung:

— *Teil 2: Verfahren mittels langsamer alkalischer Umesterung und Messung für 2-MCPD, 3-MCPD und Glycidol*

— *Teil 3: Verfahren mittels Säureumesterung und Messung für 2-MCPD, 3-MCPD und Glycidol*

Einleitung

ISO 18363 ist eine Internationale Normenreihe, die zur Bestimmung von estergebundenem MCPD und Glycidol angewendet werden kann. Es gibt derzeit drei Internationale Normen, die vorgeschlagen wurden, und diese Einleitung ist eine Beschreibung dieser Verfahren, die der Analytiker anwenden kann, um zu entscheiden, welches Verfahren für seine Anwendung geeignet ist. Die genaue Anwendung jedes Verfahrens ist im Anwendungsbereich des einzelnen Verfahrens enthalten.

Dieser Teil von ISO 18363 ist ein Differenzmessverfahren, das mit der DGF-Norm 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 estergebundenen 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. Dieser Teil von ISO 18363 ist anwendbar für die schnelle Bestimmung von estergebundenem 3-MCPD und Glycidol in raffinierten und nicht raffinierten pflanzlichen Ölen und Fetten. Dieser Teil von ISO 18363 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 diese Norm erlaubt keine Unterscheidung zwischen freien und gebundenen Analyten. Zum Zeitpunkt ihrer 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 dieser Teil von ISO 18363 auch so modifiziert werden, dass die Bestimmung von 2-MCPD möglich wird, jedoch erfordert auch dies wieder eine Validierungsstudie vor der Analyse dieses Analyten.

Der zweite Teil der vorgeschlagenen Internationalen Normen für die Bestimmung von estergebundenem MCPD und Glycidol 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. Der zweite Teil der vorgeschlagenen Internationalen Normen besteht aus zwei Probenvorbereitungen, die sich in der Anwendung interner Standards unterscheiden. Beide Teile können für die Bestimmung von estergebundenem 2-MCPD und 3-MCPD verwendet werden. In Teil A wird ein vorläufiges Ergebnis für estergebundenen 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 Anwendung von isotoopenmarkierten freien MCPD-Isomeren in Assay A und isotoopenmarkiertem 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. Der zweite

Teil der vorgeschlagenen Normen ist anwendbar für die Bestimmung von estergebundenem 3-MCPD, 2-MCPD und Glycidol in raffinierten und nicht raffinierten pflanzlichen Ölen und Fetten. Der zweite Teil der vorgeschlagenen Internationalen Normen 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 diese Norm erlaubt keine Unterscheidung zwischen freien und gebundenen Analyten. Zum Zeitpunkt ihrer Veröffentlichung 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.

Der dritte Teil der vorgeschlagenen Internationalen Normen für die Bestimmung von estergebundenem MCPD und Glycidol 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. Der dritte Teil der vorgeschlagenen Internationalen Normen 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. Der dritte Teil der vorgeschlagenen Normen kann für die Bestimmung von estergebundenem 2-MCPD, 3-MCPD und Glycidol in raffinierten und nicht raffinierten pflanzlichen Ölen und Fetten angewendet werden. Der dritte Teil der vorgeschlagenen Internationalen Normen 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 der dritte Teil der vorgeschlagenen Internationalen Normen auch ohne die ursprüngliche Umwandlung von Glycidylestern angewendet werden. Bei einer derartigen Anordnung 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 pflanzlichen Ölen und Fetten in gleicher Höhe wie der Gehalt an veresterten Analyten erbracht.

1 Anwendungsbereich

Dieser Teil von ISO 18363 beschreibt ein Verfahren für die indirekte Bestimmung von 3-MCPD-Estern (gebundenes 3-MCPD) und möglichem freien 3-MCPD nach alkalisch katalysierter Esterspaltung und Derivatisierung mit Phenylboronsäure (en: phenylboronic acid, PBA). Außerdem ermöglicht dieser Teil von ISO 18363 die indirekte Bestimmung von Glycidylestern (gebundenes Glycidol) unter der Annahme, dass keine anderen Substanzen vorhanden sind, die bei Raumtemperatur mit anorganischem Chlorid zu 3-MCPD reagieren.

Dieser Teil von ISO 18363 ist auf feste und flüssige Fette und Öle anwendbar. Milch und Milcherzeugnisse (oder Fett aus Milch und Milcherzeugnissen) sind vom Anwendungsbereich dieses Teils von ISO 18363 ausgenommen.

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).

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

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

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/>

3.1

gebundenes 3-MCPD

Summe aller 3-MCPD-Derivate, die durch alkalisch katalysierte Alkoholyse (besonders Fettsäureester) nach dem Referenzverfahren gespalten werden

Anmerkung 1 zum Begriff: Der Gehalt an 3-MCPD wird als Massenanteil in Milligramm je Kilogramm (mg/kg) berechnet und angegeben.

Anmerkung 2 zum Begriff: In Fetten und Ölen ist die Menge an freiem 3-MCPD, das möglicherweise auftreten kann, im Allgemeinen vernachlässigbar gering, sie hat aber Einfluss auf das Ergebnis.

3.2

gebundenes Glycidol

Summe aller Glycidyl-derivate, die durch alkalisch katalysierte Alkoholyse (besonders Fettsäureester) nach der festgelegten Norm gespalten werden

Anmerkung 1 zum Begriff: Der Gehalt an Glycidol wird als Massenanteil in Milligramm je Kilogramm (mg/kg) berechnet und angegeben.

Anmerkung 2 zum Begriff: Dass freies Glycidol in Fetten und Ölen enthalten ist, ist aufgrund der Instabilität dieser Verbindung unwahrscheinlich.

4 Kurzbeschreibung

Für die Bestimmung der Summe aus gebundenem 3-MCPD und gebundenem Glycidol als freies 3-MCPD (Assay A) wird ein Aliquot der Probe mit dem Surrogatstandard d_5 -3-MCPD-1,2-bis-Palmitoyl-Ester dotiert und in *tertiären* Butylmethylether (tBME) gelöst. Die Hinzugabe einer verdünnten Lösung aus Natriumhydroxid oder Natriummethoxid in Methanol setzt freies 3-MCPD und freies Glycidol frei. Diese Reaktion wird durch die Hinzugabe einer überschüssigen Menge an Natriumchlorid in saurer Lösung gestoppt. Freies Glycidol reagiert unter sauren Bedingungen mit anorganischem Chlorid zu zusätzlichem 3-MCPD und einer kleinen Menge 2-MCPD. Unerwünschte nichtpolare Verbindungen in der Probe werden durch doppelte Extraktion der wässrigen Phase mit Iso-Hexan entfernt. Der Analyt wird zusammen mit dem Surrogatstandard durch mehrfache Extraktion der wässrigen Phase mit Diethylether, Ethylacetat oder einer Mischung aus beiden Lösemitteln in eine organische Phase überführt. Die Derivatisierung findet in der organischen Phase durch Reaktion mit PBA statt. Um überschüssige Mengen an PBA zu entfernen, werden die Analyten konzentriert und in ein inertes organisches Lösemittel überführt; anschließend wird der Probenextrakt über einer kleinen Menge wasserfreiem Natriumsulfat platziert und unter einem Stickstoffstrom bis zur Trockne eingedampft, bevor er schließlich erneut in Iso-Oktan für die Messung mittels GC-MS gelöst wird.

Für die Bestimmung von gebundenem 3-MCPD wird ein zweites Aliquot der Probe (Assay B) mit einem Surrogatstandard d_5 -3-MCPD-1,2-bis-Palmitoyl-Ester dotiert und in tBME gelöst. Die Hinzugabe einer verdünnten Lösung aus Natriumhydroxid oder Natriummethoxid in Methanol setzt freies 3-MCPD und freies Glycidol frei. Diese Reaktion wird durch die Hinzugabe einer überschüssigen Menge einer sauren, chloridfreien Salzlösung (z. B. Natriumsulfat, Ammoniumsulfat, Natriumbromid) gestoppt. Freies Glycidol reagiert unter chloridfreien sauren Bedingungen je nach dem verwendeten Salz zu unterschiedlichen Produkten, erzeugt aber kein zusätzliches 3-MCPD. Die weitere Probenvorbereitung und die Messung werden wie für Assay A beschrieben durchgeführt.

Für die Berechnung des gebundenen Glycidols wird die Differenz der beiden Bestimmungen (Assay A und Assay B) mit einem nicht-stöchiometrischen Faktor multipliziert, der die Umwandlung von Glycidol in 3-MCPD widerspiegelt. Dieses Verfahren basiert auf der Annahme, dass die Differenz zwischen den Bestimmungen nur durch das ausschließliche Auftreten von Glycidylestern verursacht wird.

Die Quantifizierung der Analyten erfolgt unter Verwendung von d_5 -3-MCPD-1,2-bis-Palmitoyl-Ester als Surrogatstandard. Daher ist eine Kontrolle auf Vollständigkeit der Esterspaltung nicht notwendig. Das gesamte Verfahren wird in regelmäßigen zeitlichen Abständen einer Matrixkalibrierung unterzogen, und diese dient zur Bestimmung der Linearität des Verfahrens, der relativen Rückgewinnung und im Falle von gebundenem Glycidol zur Bestimmung des Transformationsfaktors. Sofern dieses Verfahren nicht verändert wird, braucht diese Kalibrierung nicht unbedingt an jedem einzelnen Arbeitstag durchgeführt zu werden.

Proben, die ausschließlich 3-MCPD und kein Glycidol enthalten, ergeben bei der Anwendung von Verfahren B anstelle von Verfahren A niedrigere Werte (etwa 2 % bis 10 %). Der Unterschied ist auf einen Isotopeneffekt bei Verfahren B zurückzuführen. Dieser Effekt kann durch eine vor der Aufteilung in zwei aliquote Teile erfolgende Dosierung einer nicht kontaminierten Ölprobe mit gleichen Mengen an 3-MCPD-1,2-bis-Dipalmitoylester und d_5 -3-MCPD-1,2-bis-Palmitoyl-Ester bestimmt werden. Die aliquoten Teile werden dann dreimal nach Verfahren A und Verfahren B analysiert. Anhand dieser Bestimmungen kann ein Korrekturfaktor, nämlich das Verhältnis der Ergebnisse aus Verfahren A und Verfahren B ermittelt werden. Der Isotopeneffekt tritt auch in Anwesenheit von gebundenem Glycidol auf.

Da 3-MCPD in bestimmten für Nassfestharze und für andere Zwecke verwendeten Polymeren enthalten sein kann, wird empfohlen, jeden Tag eine Blindprobe zu analysieren, um auf unerwünschte Verunreinigungen zu kontrollieren. Bei dieser Blindprobe muss es sich um ein Öl handeln, das kein 3-MCPD oder Glycidol enthält, z. B. ein natives Pflanzenöl. Verunreinigungen können unter Umständen auch durch Verbrauchsmaterialien, wie z. B. Fläschchen mit Schraubverschluss oder Filter, verursacht werden. Das Ausheizen der

Laborglaswaren bei 400 °C bis 500 °C kann dieses Problem verringern. Die Anwendung nicht kontaminierter Materialien ist eine bessere Lösung.

5 Reagenzien

5.1 Allgemeines

WARNUNG — Es wird auf die Vorschriften hingewiesen, in denen der Umgang mit gefährlichen Stoffen festgelegt ist. Technische, organisatorische und persönliche Sicherheitsvorkehrungen müssen befolgt werden.

Sofern nicht anders angegeben, müssen analytisch reine Reagenzien verwendet werden; Wasser muss der Qualität 3 nach ISO 3696 entsprechen.

5.2 Standard- und Referenzverbindungen

5.2.1 Arbeitslösung-Surrogatstandard: d₅-3-MCPD-1,2-*bis*-Palmitoyl-Ester (z. B. 26,87 µg/ml in Toluol; entspricht 5,0 µg/ml freiem 3-MCPD); es dürfen auch andere repräsentative d₅-3-MCPD-1,2-*bis*-Ester verwendet werden.

5.2.2 3-MCPD-1,2-*bis*-Palmitoyl-Ester (26,6 µg/ml in Toluol; entspricht 5,0 µg/ml freiem 3-MCPD); es dürfen auch andere repräsentative 3-MCPD-1,2-*bis*-Ester verwendet werden.

5.2.3 3-MCPD, $w \geq 99,0 \%$.

5.2.4 Glycidylstearat, $w \geq 95,0$.

5.3 Lösemittel

5.3.1 Toluol.

5.3.2 *tertiärer* Butylmethylether (tBME), (2-Methoxy-2-Methylpropan).

5.3.3 Methanol.

5.3.4 *Iso*-Hexan (2-Methylpentan).

5.3.5 Ethylacetat.

5.3.6 Diethylether.

5.3.7 *Iso*-Oktan.

5.4 Andere Reagenzien

5.4.1 Natriumhydroxidlösung, $\rho = 20 \text{ g/l}$ in Methanol oder Natriummethoxidlösung, $\rho = 25 \text{ g/l}$ in Methanol.

5.4.2 Angesäuerte Natriumchloridlösung ($\rho = 200 \text{ g/l}$). 35 ml Schwefelsäure (25 %) werden zu 1 l wässriger Natriumchloridlösung (200 g/l) hinzugegeben. 600 µl dieser Lösung müssen 200 µl der Natriumhydroxid- oder Natriummethoxidlösung (5.4.1) neutralisieren, und der pH-Wert wird auf den sauren Bereich eingestellt. Die Verwendung anderer Säuren (wie z. B. Essigsäure) ist möglich, ihre Eignung muss jedoch durch Dotierversuche oder Analyse von Ringversuchsmaterial geprüft werden.