

	DIN EN ISO 18363-2	
ICS 67.200.10	<div>Entwurf</div>	Einsprüche bis 2024-11-06 Vorgesehen als Ersatz für DIN EN ISO 18363-2:2018-12
<p>Tierische und pflanzliche Fette und Öle – Bestimmung von fettsäuregebundenem Chlorpropandiol (MCPD) und Glycidol mittels GC/MS – Teil 2: Verfahren mittels langsamer alkalischer Umesterung und Messung für 2-MCPD, 3-MCPD und Glycidol (ISO/FDIS 18363-2:2024); Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 18363-2:2024</p> <p>Animal and vegetable fats and oils – Determination of fatty-acid-bound chloropropanediols (MCPDs) and glycidol by GC/MS – Part 2: Method using slow alkaline transesterification and measurement for 2-MCPD, 3-MCPD and glycidol (ISO/FDIS 18363-2:2024); German and English version prEN ISO 18363-2:2024</p> <p>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 2: Méthode par transestérification alcaline lente et mesure pour le 2-MCPD, le 3-MCPD et le glycidol (ISO/FDIS 18363-2:2024); Version allemande et anglaise prEN ISO 18363-2:2024</p> <p>Anwendungswarnvermerk</p> <p>Dieser Entwurf mit Erscheinungsdatum 2024-09-06 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.</p> <p>Weil das beabsichtigte Dokument von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs besonders zu vereinbaren.</p> <p>Stellungnahmen werden erbeten</p> <ul style="list-style-type: none">– 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 Am DIN-Platz, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin. <p>Es wird gebeten, mit den Kommentaren zu diesem Entwurf jegliche relevanten Patentrechte, die bekannt sind, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.</p> <p>Gesamtumfang 59 Seiten</p> <p>DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)</p>		

Nationales Vorwort

Das Dokument prEN ISO 18363-2:2024 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ in Zusammenarbeit mit dem 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 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 3696	siehe	DIN ISO 3696
ISO 18363 (alle Teile)	siehe	DIN EN ISO 18363 (alle Teile)
ISO 18363-1	siehe	DIN EN ISO 18363-1
ISO 18363-3	siehe	DIN EN ISO 18363-3
ISO 18363-4	siehe	DIN EN ISO 18363-4
ISO 5555	siehe	DIN EN ISO 5555

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 ISO 18363-2:2018-12 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) der Text der Einleitung, die eine Zusammenfassung der einzelnen Teile der Normenreihe ISO 18363 enthält, soll harmonisiert werden, um mit ISO 18363-4 in Einklang zu stehen; die Einleitung von ISO 18363-3 wurde bereits überarbeitet und zur FDIS-Abstimmung eingereicht und wird nach Fertigstellung in ISO 18363-2 übernommen;
- b) redaktionelle Überarbeitung des Dokuments.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

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

DIN EN ISO 18363 (alle Teile), *Tierische und pflanzliche Fette und Öle — Bestimmung von fettsäuregebundenem Chlorpropandiol (MCPD) und Glycidol mittels GC/MS*

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 EN ISO 18363-3, *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*

DIN EN ISO 18363-4, *Tierische und pflanzliche Fette und Öle — Bestimmung von fettsäuregebundenem Chlorpropandiol (MCPD) und Glycidol mittels GC/MS — Teil 4: Verfahren mittels schneller alkalischer Umesterung und Messung für 2-MCPD, 3-MCPD und Glycidol mittels GC-MS/MS*

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

– Leerseite –

August 2024

prEN ISO 18363-2

Tierische und pflanzliche Fette und Öle – Bestimmung von fettsäuregebundenem Chlorpropandiol (MCPD) und Glycidol mittels GC/MS – Teil 2: Verfahren mittels langsamer alkalischer Umesterung und Messung für 2-MCPD, 3-MCPD und Glycidol (ISO/FDIS 18363-2:2024)

Animal and vegetable fats and oils – Determination of fatty-acid-bound chloropropanediols (MCPDs) and glycidol by GC/MS – Part 2: Method using slow alkaline transesterification and measurement for 2-MCPD, 3-MCPD and glycidol (ISO/FDIS 18363-2:2024)

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 2: Méthode par transestérification alcaline lente et mesure pour le 2-MCPD, le 3-MCPD et le glycidol (ISO/FDIS 18363-2:2024)

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Vorwort	5
Einleitung	6
1 Anwendungsbereich	8
2 Normative Verweisungen	8
3 Begriffe	8
4 Kurzbeschreibung	9
5 Reagenzien	9
5.1 Allgemeines	9
5.2 Lösemittel und Reagenzien	10
5.3 Standard- und Referenzverbindungen	10
5.4 Arbeitslösungen**	10
5.5 Andere Lösungen	11
6 Geräte	11
7 Probe	12
7.1 Probenahme	12
7.2 Probenvorbereitung	12
8 Verfahren	12
8.1 Versetzen mit Surrogatstandard und Homogenisierung	12
8.2 Esterspaltung und Glycidolumwandlung	12
8.3 Matrixentfernung	12
8.4 Derivatisierung	12
8.5 Gaschromatographie/Massenspektrometrie-Referenzen	13
9 Angabe der Ergebnisse	14
9.1 Bestimmungen des gebundenen Glycidols	14
9.2 Bestimmung des gebundenen 2-MCPD	15
9.3 Bestimmung des gebundenen 3-MCPD	15
9.4 Bestimmung des Grads der Diesterspaltung	16
9.5 Qualitätskontrolle	16
10 Anmerkungen	17
Anhang A (informativ) Beispiele für relevante Chromatogramme und Datenauswertung unter Verwendung von „MCPD-armem“ Palmöl	19
A.1 Beispiele für relevante Selected-Ion-Monitoring(SIM)-Chromatogramme	19
A.2 Beispiele für die Datenauswertung	24
A.3 Endergebnisse	25
Anhang B (informativ) Ergebnisse von Laborvergleichsuntersuchungen	26
Literaturhinweise	29

Bilder

Bild A.1 — SIM — Chromatogramm von 3-MCPD-d ₅ (5 mg/kg) in Probe A	19
Bild A.2 — SIM — Chromatogramm von 3-MCPD (0,155 mg/kg) in Probe A	20
Bild A.3 — SIM — Chromatogramm von Glycidol-d ₅ (5 mg/kg) in Probe A	20
Bild A.4 — SIM — Chromatogramm von Glycidol (0,113 mg/kg) in Probe A	21
Bild A.5 — SIM — Chromatogramm von 3-MCPD-d ₅ (5 mg/kg) in Probe B	21
Bild A.6 — SIM — Chromatogramm von 3-MCPD (0,156 mg/kg) in Probe B	22
Bild A.7 — SIM — Chromatogramm von 2-MCPD-d ₅ (2,5 mg/kg) in Probe B	22
Bild A.8 — SIM — Chromatogramm von 2-MCPD (0,036 mg/kg) in Probe B	23
Bild A.9 — SIM — Chromatogramm von Glycidol-d ₅ (zur Signalflächenbestimmung) in Probe B	23

Bild A.10 — SIM — Chromatogramm von Glycidol (zur Signalflächenbestimmung) in Probe B . . . 24

Tabellen

Tabelle 1 — Zusammenfassung der identifizierten Ionenspuren in Relation zur spezifischen Ladung (m/z) aus den Phenylboronderivaten der Analyten 13

Tabelle A.1 — Beispielvorlage für die Datenauswertung 24

Tabelle A.2 — Beispiel-Datenauswertung für eine echte Probe („3-MCPD-armes“ Palmfett) 25

Tabelle B.1 — Ergebnisse der Laborvergleichsuntersuchung 26

Tabelle B.2 — Ergebnisse der Laborvergleichsuntersuchung 26

Tabelle B.3 — Ergebnisse der Laborvergleichsuntersuchung 27

Tabelle B.4 — Ergebnisse der Laborvergleichsuntersuchung 27

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 18363-2:2024) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ in Zusammenarbeit mit dem 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 ISO 18363-2:2018 ersetzen.

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.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/FDIS 18363-2:2024 wurde von CEN als prEN ISO 18363-2:2024 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

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 Directives, 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 Directives, Teil 2, erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

ISO weist auf die Möglichkeit hin, dass die Anwendung dieses Dokuments mit der Verwendung eines oder mehrerer Patente verbunden sein kann. ISO bezieht jedoch in dieser Hinsicht keinerlei Stellung bezüglich Nachweis, Gültigkeit oder Anwendbarkeit jeglicher beanspruchten Patentrechte. Zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieses Dokuments lag ISO keine Mitteilung über ein Patent bzw. mehrere Patente vor, welche/s zur Umsetzung dieses Dokuments erforderlich sein könnte/n. Anwender werden jedoch darauf hingewiesen, dass dies möglicherweise nicht der aktuelle Informationsstand ist. Dieser kann jedoch der Patentdatenbank unter www.iso.org/patents entnommen werden. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname dient nur zur Unterrichtung der Anwender und bedeutet keine Anerkennung.

Für eine Erläuterung des freiwilligen Charakters von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO, en: World Trade Organization) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT, en: Technical Barriers to Trade) berücksichtigt, siehe 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*, in Zusammenarbeit dem Europäischen Komitee für Normung (CEN), Technisches Komitee CEN/TC 307, *Ölsaaten, pflanzliche und tierische Fette und Öle sowie deren Nebenprodukte — Probenahme- und Analyseverfahren*, in Übereinstimmung mit dem Abkommen über technische Zusammenarbeit zwischen ISO und CEN (Wiener Vereinbarung) erarbeitet.

Diese zweite Version ändert und ersetzt die erste Version (ISO 18363-2:2018) und stellt eine geringfügige Überarbeitung dar, um die Einleitung an ISO 18363-4:2021 anzupassen.

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

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Auflistung dieser Institute ist unter www.iso.org/members.html zu finden.

Einleitung

ISO 18363 ist eine internationale Normenreihe [1], die zur Bestimmung von estergebundenem MCPD und Glycidol verwendet werden kann. Diese Einleitung beschreibt die in den drei kürzlich veröffentlichten oder vorgeschlagenen Dokumenten festgelegten Verfahren, damit der Analytiker entscheiden kann, welches Verfahren für die Anwendung geeignet ist. Die genaue Anwendung jedes Verfahrens ist im Anwendungsbereich des einzelnen Verfahrens festgelegt.

ISO 18363-1 [2] ist ein Differenzmessverfahren, das mit der DGF-Norm C-VI 18 (10) [3] vergleichbar und mit der AOCS Official Method Cd 29c-13 [4] identisch ist. Insgesamt gesehen basiert das Verfahren auf der schnellen alkalisch katalysierten Freisetzung von 3-MCPD und Glycidol aus Ester-Derivaten. 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 Prüfungen 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 Prüfungen (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 das Verfahren erlaubt keine Unterscheidung zwischen freien und gebundenen Analyten. Jedoch haben keine Forschungen zum Zeitpunkt der Veröffentlichung 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 ebenfalls so modifiziert werden, dass die Bestimmung von 2-MCPD [5] möglich wird, jedoch muss auch hier wieder eine Validierungsstudie vor der Analyse dieses Analyten durchgeführt werden.

Dieses Dokument (d. h. ISO 18363-2) repräsentiert die AOCS Official Method Cd 29b-13 [6] [7]. Hinsichtlich Informationen über entsprechende Validierungsdaten, siehe Anhang B. Insgesamt gesehen basiert das Verfahren auf der langsamen alkalischen Freisetzung von MCPD und Glycidol aus Ester-Derivaten. Glycidol wird anschließend in 3-MCPD umgewandelt. Dieses Dokument besteht aus zwei Probenvorbereitungen, 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 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 Prüfung A und isotoopenmarkiertem estergebundenem 2-MCPD und 3-MCPD in Teil B kann die Effizienz der Esterspaltung überwacht werden. Beide Prüfungen A und 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. Dieses Dokument ist anwendbar für die Bestimmung von estergebundenem 3-MCPD, 2-MCPD und Glycidol in raffinierten und nicht raffinierten pflanzlichen Ölen und Fetten. Es gilt ebenfalls für tierische Fette und gebrauchte Frittieröle und -fette. Hierzu muss jedoch vor der Analyse dieser Matrices eine Validierungsstudie erfolgen. Alle freien Analyten in der Probe wären in den Ergebnissen enthalten, aber das Dokument erlaubt keine Unterscheidungen zwischen freien und gebundenen Analyten. Jedoch haben keine Forschungen zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieses Dokuments irgendeinen Nachweis eines Gehaltes an freien Analyten in Pflanzenölen und -fetten in gleicher Höhe wie der Gehalt an veresterten Analyten erbracht.

ISO 18363-3 [8] repräsentiert die AOCS Official Method Cd 29a-13 [9] [10]. Insgesamt gesehen basiert das Verfahren auf der Umwandlung von Glycidylestern in 3-MBPD-Ester und einer langsamen sauer katalysierten Freisetzung von MCPD und MBPD aus Esterderivaten. ISO 18363-3 basiert auf einer einzelnen Probenvorbereitung, in der Glycidylester in MBPD-Monoester umgewandelt werden. Anschließend werden die freien Analyten 2-MCPD, 3-MCPD und 3-MBPD durch langsame säurekatalysierte Alkoholyse freigesetzt. Das 3-MBPD repräsentiert den tatsächlichen Gehalt an gebundenem Glycidol. ISO 18363-3 kann für die Bestimmung von ester-gebundenem 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 Matrizen eine Validierungsstudie erfolgen. Das Verfahren eignet sich für die Analyse von gebundenen (veresterten) Analyten, aber bei Bedarf kann ISO 18363-3 auch ohne die ursprüngliche Umwandlung von Glycidylestern angewendet werden. In diesem Fall 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. Jedoch haben keine Forschungen zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieses Dokuments irgendeinen Nachweis eines Gehaltes an freien Analyten in pflanzlichen Ölen und Fetten in gleicher Höhe wie der Gehalt an veresterten Analyten erbracht.

ISO 18363-4 [11] legt ein schnelles Verfahren auf der Grundlage einer schnellen alkalischen Spaltung von MCPD und Glycidylestern fest. Das freigesetzte Glycidol wird anschließend in 3-MBPD umgewandelt. Der pH-Wert der schnellen alkalischen Spaltung führt im Allgemeinen dazu, dass sich das freigesetzte MCPD während der Spaltung der Ester teilweise in Glycidol umwandelt, was zu einer Überschätzung des Glycidylestergehalts der Probe führt. Durch Hinzufügen von zwei unterschiedlichen internen Standards von isotoopenmarkiertem ester-gebundenem 3-MCPD und Glycidol ist es möglich, die Menge an markiertem Glycidol quantitativ zu bestimmen, die sich aus dem Abbau des freigesetzten internen Standards ergibt. Diese Information kann verwendet werden, um eine Überschätzung des Glycidylester-induzierten Glycidols durch 3-MCPD-induziertes Glycidol zu korrigieren. Die gleichen beiden internen Standards werden für die quantitative Bestimmung des gebundenen MCPD und Glycidols verwendet, wobei eine einzige Probenvorbereitung erforderlich ist, um die gebundenen 2-MCPD-, 3-MCPD- und Glycidolester quantitativ zu bestimmen. Analog zu ISO 18363-1, diesem Dokument und ISO 18363-3 werden die freigesetzten MCPD und 3-MBPD vor der GC-MS/MS-Analyse mit Phenylboronsäure derivatisiert. Im Gegensatz zu den anderen Teilen der Normenreihe ISO 18363 erfordert ISO 18363-4 eine Geräteausstattung für GC-MS/MS, um jedes der (isotoopenmarkierten) MBPD eindeutig nachzuweisen, die für die korrekte quantitative Bestimmung des Glycidylester-induzierten Glycidols erforderlich sind. ISO 18363-4 ist anwendbar für die Bestimmung von ester-gebundenem 3-MCPD, 2-MCPD und Glycidol in raffinierten und nicht raffinierten pflanzlichen Ölen und Fetten. Es wird auch auf tierische Fette und gebrauchte Frittieröle und -fette angewendet, jedoch muss vor der Analyse dieser Matrizen eine Validierungsstudie durchgeführt werden. Alle freien Analyten in der Probe werden in die Ergebnisse einbezogen, aber ISO 18363-4 lässt keine Unterscheidung zwischen freien und gebundenen Analyten zu. Zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieses Dokuments hat die Forschung jedoch keinen Nachweis eines Gehaltes an freien Analyten in gleicher Höhe wie der Gehalt an veresterten Analyten in raffinierten pflanzlichen Ölen und Fetten erbracht.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein Verfahren für die parallele Bestimmung von Glycidol mit 2-MCPD und 3-MCPD, das in gebundener und freier Form in Ölen und Fetten vorkommt, fest. Das Verfahren basiert auf der alkalisch katalysierten Esterspaltung, der Umwandlung von freigesetztem Glycidol in Monobrompropandiol (MBPD) und der Derivatisierung der abgeleiteten freien Dirole (MCPD und MBPD) mit Phenylboronsäure (PBA). Obwohl freies MCPD und Glycidol in Fetten und Ölen nur in geringen bis vernachlässigbaren Mengen vorhanden sein sollen, würden sie, falls freie Analyten vorhanden sind, proportional zu den Ergebnissen beitragen. Die Ergebnisse sind immer die Summe der freien und gebundenen Form eines einzelnen Analyten.

Dieses Verfahren ist für feste und flüssige Fette und Öle anwendbar. Dieses Dokument kann auch für tierische Fette und gebrauchte Frittieröle und -fette gelten. Hierzu ist jedoch vor der Analyse dieser Matrizen eine Validierungsstudie vorzunehmen.

Milch- und Milcherzeugnisse (oder Fett aus Milch und Milcherzeugnissen) sind vom Anwendungsbereich dieses Dokuments 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 <https://www.electropedia.org/>

3.1

gebundenes 2-MCPD

Summe aller 2-MCPD-Derivate, die durch alkalisch katalysierte Alkoholyse gespalten werden

Anmerkung 1 zum Begriff: Der Gehalt des gebundenen 2-MCPD wird in Milligramm je Kilogramm (mg/kg) angegeben.

3.2

gebundenes 3-MCPD

Summe aller 3-MCPD-Derivate, die durch alkalisch katalysierte Alkoholyse gespalten werden

Anmerkung 1 zum Begriff: Der Gehalt des gebundenen 3-MCPD wird in Milligramm je Kilogramm (mg/kg) angegeben.

3.3

gebundenes Glycidol

Summe aller durch alkalisch katalysierte Alkoholyse gespaltenen Glycidyl-derivate

Anmerkung 1 zum Begriff: Der Gehalt des gebundenen Glycidols wird in Milligramm je Kilogramm (mg/kg) angegeben.

4 Kurzbeschreibung

Für die Bestimmung des gebundenen 2-MCPD, des gebundenen 3-MCPD und des gebundenen Glycidols als freies 2-MCPD, freies 3-MCPD und freies 3-MBPD (3-Monobrompropandiol) werden zwei Aliquote (A und B) der Probe mit Surrogatstandards (d_5 -2-MCPD, d_5 -3-MCPD, d_5 -Glycidylester in Probe A und d_5 -2-MCPD-1,3-Diester, d_5 -3-MCPD-1,2-Diester in Probe B) versetzt und in Diethylether gelöst. Beide Proben werden parallel verarbeitet. Die Hinzugabe einer verdünnten Lösung aus Natriumhydroxid oder Natriummethoxid in Methanol in der Kälte wird freies 2-MCPD, freies 3-MCPD und freies Glycidol über einen Zeitraum von 8 h bis 12 h freisetzen. Diese Reaktion wird durch die Hinzugabe eines Überschusses an Natriumbromid in saurer Lösung gestoppt. Freies Glycidol reagiert unter sauren Bedingungen mit anorganischem Bromid zu 3-MBPD und einer kleinen Menge 2-MBPD. Unerwünschte nichtpolare Bestandteile in der Probe werden durch doppelte Extraktion der wässrigen Phase mit Isohexan entfernt. Die Analyten werden zusammen mit den Surrogatstandards 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 des PBA zu entfernen, werden die Analyten konzentriert und anschließend in ein inertes organisches Lösemittel überführt. Das Probenextrakt wird anschließend über einer kleinen Menge wasserfreiem Natriumsulfat platziert und unter einem Stickstoffstrom bis zur Trockne eingedampft, bevor es schließlich erneut in *Iso*-Oktan für die Messung mittels GC/MS gelöst wird.

Die alkalisch katalysierte Umesterung in der Kälte minimiert die unerwünschte Umwandlung von 3-MCPD in Glycidol, die zu einem wesentlichen Teil stattfindet, wenn eine Reaktion bei Raumtemperatur durchgeführt wird. Nichtsdestotrotz kann im Fall großer vorhandener Mengen 3-MCPD selbst eine geringfügige Umwandlung in Glycidol die Glycidolergebnisse aus Prüfung A künstlich erhöhen. Um korrekte Glycidolergebnisse selbst bei einem hohen Gehalt an 3-MCPD zu erhalten, dient Prüfung B dazu, die unerwünschte Umwandlung von 3-MCPD zu Glycidol durch Ermittlung der Menge des d_5 -Glycidols, die durch die Probenvorbereitung aus d_5 -3-MCPD-Diesters generiert wurde, zu bestimmen. Das entsprechende Umwandlungsverhältnis wird für die Korrektur des aus Prüfung A abgeleiteten Glycidolwerts verwendet. Als weiteren Punkt ist zu berücksichtigen, dass 3-MCPD etwa 1,2-mal schneller über Glycidol in 3-MBPD umgewandelt wird als 3-MCPD- d_5 über Glycidol- d_5 in 3-MBPD- d_5 . Dementsprechend muss der Isotopenfaktor $I = 1,2$ für die quantitative Bestimmung der zufällig aus dem nicht markierten 3-MCPD durch die alkalische Behandlung in Prüfung A generierten Glycidolmenge berücksichtigt werden.

Die Quantifizierung der Analyten erfolgt durch interne Einpunkt-Kalibrierung unter Verwendung der entsprechenden d_5 -Ester als Surrogatstandards. Eine externe Kalibrierung ist daher nicht erforderlich. Gleichmaßen muss keine Analyt-Wiederfindung berücksichtigt werden. Die Spaltungsraten von MCPD-Mono- und -Diestern können sich jedoch unterscheiden und da nur d_5 -MCPD-Diester als interne Standards dienen, sollte der Grad der Esterspaltung in größerem Rahmen stattgefunden haben. Der Schwankungsgrad der Esterspaltung wird deshalb durch die Berechnung der Differenzen zwischen den 3-MCPD-Ergebnissen aus Prüfung A und B überwacht. Hinsichtlich Informationen zur Ableitung quantitativer Daten aus entsprechenden Chromatogrammen siehe Angabe der Ergebnisse [9] und Anhang A.

Da 3-MCPD in bestimmten für Nassfestharze und für andere Zwecke verwendeten Polymeren auftreten kann, ist auch ein Auftreten aus der Anwendung von Verbrauchsmaterialien, z. B. Fläschchen mit Schraubverschluss oder Filter, möglich. Das Ausheizen der Laborglaswaren bei 400 °C bis 500 °C kann dieses Problem reduzieren. Die Anwendung nicht kontaminierter Materialien ist eine bessere Lösung.

5 Reagenzien

5.1 Allgemeines

WARNUNG — Dieses Dokument erfordert den Umgang mit gefährlichen Stoffen. 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 Lösemittel und Reagenzien

5.2.1 Toluol.

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

5.2.3 Methanol.

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

5.2.5 Ethylacetat.

5.2.6 Diethylether.

5.2.7 *Iso*-Oktan.

5.2.8 Wasserfreies Natriumsulfat, granuliert.

5.3 Standard- und Referenzverbindungen

5.3.1 2-MCPD.

5.3.2 2-MCPD-d₅.

5.3.3 2-MCPD-1,3-*bis*-Stearoylester*.

5.3.4 2-MCPD-d₅-1,3-*bis*-Stearoylester*.

5.3.5 3-MCPD.

5.3.6 3-MCPD-d₅.

5.3.7 3-MCPD-1,2-*bis*-Palmitoylester*.

5.3.8 3-MCPD-d₅-1,2-*bis*-Palmitoylester*.

5.3.9 Glycidyloleat*.

5.3.10 Glycidyl-d₅-Oleat*.

*Andere handelsübliche Fettsäureester der Analyten dürfen eingesetzt werden.

5.4 Arbeitslösungen**

5.4.1 2-MCPD: 10,0 µg/ml in Methanol.

5.4.2 2-MCPD-d₅: 10,0 µg/ml in Methanol.

5.4.3 3-MCPD: 10,0 µg/ml in Methanol.

5.4.4 3-MCPD-d₅: 10,0 µg/ml in Methanol.

5.4.5 2-MCPD-1,3-*bis*-Stearoylester: 29,1 µg/ml in Toluol; entspricht 5,0 µg/ml freiem 2-MCPD.

5.4.6 2-MCPD-d₅-1,3-*bis*-Stearoylester: 29,3 µg/ml in Toluol; entspricht 5,0 µg/ml freiem 2-MCPD.

5.4.7 3-MCPD-1,2-*bis*-Palmitoylester: 26,6 µg/ml in Toluol; entspricht 5,0 µg/ml freiem 2-MCPD.

5.4.8 3-MCPD-d₅-1,2- bis-Palmitoylester: 26,8 µg/ml in Toluol; entspricht 5,0 µg/ml freiem 2-MCPD.

5.4.9 Glycidyleat: 22,8 µg/ml in Toluol; entspricht 5,0 µg/ml freiem Glycidol.

5.4.10 Glycidyl-d₅-Oleat: 23,2 µg/ml in Toluol; entspricht 5,0 µg/ml freiem Glycidol.

****Andere Konzentrationen der Arbeitslösungen dürfen ersatzweise verwendet werden.**

5.5 Andere Lösungen

5.5.1 Natriumhydroxidlösung. 0,25 g frisch gemahlenes Natriumhydroxid werden in einer 100-ml-Kunststoffflasche eingewogen. 100 ml Methanol werden hinzugegeben und die Flasche wird dicht verschlossen. Die Flasche wird gründlich geschüttelt (Vortex), bis sich das Natriumhydroxid vollständig aufgelöst hat. Die Lösung wird in einem Gefrierschrank bei –22 °C bis –25 °C (siehe 10.1) aufbewahrt.

5.5.2 Angesäuerte Natriumbromidlösung. 600 g Natriumbromid werden in einen Messkolben aus Glas mit Schraubverschluss mit einem Fassungsvermögen von 1 l eingewogen und die Flasche wird bis zur 1-Liter-Markierung mit deionisiertem Wasser aufgefüllt. Die Mischung wird mit 3 ml *Ortho*-Phosphorsäure (85 %) angesäuert. Die Flasche wird dicht verschlossen und geschüttelt (Vortex), bis die Lösung klar ist. 600 µl dieser Lösung müssen 350 µl der Natriumhydroxidlösung (5.5.1) neutralisieren. Der pH-Wert wird auf den sauren Bereich (pH 3 bis pH 1) eingestellt. Die Lösung wird in einem Gefrierschrank bei –22 °C bis –25 °C (siehe 10.1) aufbewahrt.

5.5.3 Gesättigte Lösung von Phenylboronsäure (PBA) in Diethylether. Etwa 200 mg PBA werden zu 10 ml Diethylether in einem Schraubverschlussfläschchen hinzugegeben. Das Fläschchen wird gründlich geschüttelt. Das nichtgelöste PBA darf sich absetzen und als Präzipitat verbleiben. Für Derivatisierungszwecke ist nur der klare Überstand zu verwenden.

6 Geräte

6.1 Eppendorf-Pipetten (z. B. 10 µl bis 100 µl, 10 µl bis 200 µl, 100 µl bis 1 000 µl).

6.2 Kolbenhub- und volumetrische Pipetten, in verschiedenen Größen.

6.3 Messkolben, in verschiedenen Größen.

6.4 Analysewaagen, mit Ablesegenauigkeit von 0,000 1 g und Wägegenauigkeit von 0,001 g.

6.5 Fläschchen mit Schraubverschluss (Fassungsvermögen etwa 2 ml) und Schraubverschlüsse mit Polytetrafluorethylen(PTFE)-beschichteten Septen.

6.6 Pasteur-Pipetten und Vollpipetten.

6.7 Mikroeinsätze (Fassungsvermögen etwa 200 µl) für Fläschchen mit Schraubverschluss (Fassungsvermögen etwa 2 ml).

6.8 Stickstoffabblasgerät.

6.9 GC/MS-System mit temperaturprogrammierbarem Injektor.

6.10 Quarzglas-GC-Säule, stationäre Phase 50 % Diphenyl/50 % Dimethylpolysiloxan, Länge 30 m, Innendurchmesser 0,25 mm, Filmdicke 0,25 µm, niedrigblutend für MS-Zwecke, mit Vorsäule.

Die Vorsäule, die regelmäßig ausgetauscht werden sollte, retardiert nichtflüchtige Komponenten und verlängert so die Lebensdauer der Hauptsäule.

7 Probe

7.1 Probenahme

Die Probenahme ist nicht Teil dieses Verfahrens. Ein empfohlenes Probenahmeverfahren ist in ISO 5555 [12] angegeben.

7.2 Probenvorbereitung

Flüssige Proben werden direkt aliquotiert. Feste oder halbfeste Fette werden bei etwa 80 °C in einem Trocknenofen oder Wasserbad geschmolzen. Bei Fetten mit hohem Schmelzpunkt kann die Temperatur in Schritten von je 10 °C erhöht werden, bis der Schmelzprozess einsetzt. Feste Proben, die höhere Wassermengen enthalten, werden ohne Schmelzen aliquotiert, um eine Phasentrennung zu verhindern.

8 Verfahren

ANMERKUNG Siehe 10.2.

8.1 Versetzen mit Surrogatstandard und Homogenisierung

Zwei Aliquote der Probe von $(100 \pm 0,5)$ mg werden in zwei Fläschchen mit Schraubverschluss mit einem Fassungsvermögen von etwa 2 ml eingewogen oder es werden sorgfältig etwa zwei Aliquote von 100 mg der Probe eingewogen und Maßnahmen zur Sicherstellung der richtigen Massenbilanz für die Quantifizierung getroffen. Zu Probe A werden 50 µl aller 2- und 3-MCPD- d_5 -Standardarbeitslösungen (5.4.2 und 5.4.4) hinzugegeben. Zu Probe A werden 100 µl Glycidyl- d_5 -Ester-Standardarbeitslösung (5.4.10) pipettiert. Zu Probe B werden 100 µl 2-MCPD- d_5 -bis-Ester-Standardarbeitslösung (5.4.6) und 100 µl 3-MCPD- d_5 -bis-Ester-Standardarbeitslösung (5.4.8) überführt. Zu jeder Probe werden 600 µl Diethylether hinzugegeben und die Mischungen werden geschüttelt (Vortex), bis sich alle Mischungen vollständig gelöst haben. Im Fall von Probenmaterial mit hohem Schmelzpunkt kann eine leichte Erwärmung der Reaktionsgefäße erforderlich sein.

8.2 Esterspaltung und Glycidolumwandlung

Beide Proben werden für mindestens 15 min in einen Gefrierschrank gegeben, um auf –22 °C bis –25 °C abzukühlen (eine Ausfällung des Probenmaterials ist in dieser Phase der Probenvorbereitung kein Problem). Zu jeder Probe werden 350 µl methanolische Natriumhydroxidlösung (5.5.1) hinzugegeben. Um die Esterspaltung abzuschließen, werden die Fläschchen verschlossen, kurz geschüttelt (Vortex) und für mindestens 16 h bei –22 °C bis –25 °C aufbewahrt. Die Reaktionen werden mit 600 µl angesäuerter Natriumbromidlösung (5.5.2) gestoppt, die bei –22 °C bis –25 °C gehalten wird. Die Mischungen werden kurz geschüttelt (Vortex) und unter einen leichten Stickstoffstrom gebracht, um das Volumen der organischen Phase auf etwa 100 µl zu reduzieren. Zu beiden Proben werden 600 µl *Iso*-Hexan hinzugegeben. Die Fläschchen werden verschlossen und gründlich geschüttelt (Vortex). Die Mischungen werden für etwa 5 min bis 10 min bei Raumtemperatur stengelassen, um die Umwandlung von Glycidol in MBPD abzuschließen (siehe 10.3).

ANMERKUNG Andere Temperaturbereiche für das Verfahren der Esterspaltungen können angewendet werden, wenn eine Verfahrensvalidierung stattgefunden hat. Es ist wichtig, zu berücksichtigen, dass Arbeiten bei Temperaturbereichen über –22 °C zu einer erhöhten Umwandlung von 3-MCPD in Glycidol führt. Hierdurch kann sich die Unsicherheit der Glycidolbestimmung erhöhen.

8.3 Matrixentfernung

Die organische Phase wird mit der Pasteur-Pipette entfernt. Die wässrige Phase in jeder Probe wird mit weiteren 600 µl *Iso*-Hexan gewaschen.

8.4 Derivatisierung

Mit einer neuen Pasteur-Pipette wird jede Probe dreimal mit 600 µl einer 3:2 -Mischung (Volumenanteil) aus Diethylether/Ethylacetat extrahiert. Es ist darauf zu achten, dass die Pipette die wässrige Phase nicht berührt.

Für jede Probe A und Probe B werden die organischen Extrakte in einem neuen Fläschchen mit Schraubverschluss, das eine geringe Menge wasserfreies Natriumsulfat enthält, kombiniert. Wenn das Trocknungsmittel klebrig wird, wird die Lösung in ein neues Fläschchen mit Schraubverschluss und frischem Natriumsulfat überführt. 20 µl des Derivatisierungsreagenz (5.5.3) werden beiden organischen Extrakten hinzugefügt, um die Derivatisierung zu erreichen. Wenn die Derivatisierungsreaktion zu einer kleinen Analyt-Signalreaktion führt, wird die Menge des Derivatisierungsmittels erhöht, bis das Signal-Rausch-Verhältnis in dem entsprechenden Chromatogramm sich nicht mehr erhöht. Die Höchstmenge des Derivatisierungsreagenz, das verwendet werden kann, ist durch die jeweilige Kapazität des gaschromatographischen Massenspektrometersystems beschränkt, überschüssige PBA auszuschließen. Um die Derivatisierungsreaktion abzuschließen und überschüssiges Reagenz zu entfernen, werden beide Proben in einem sanften Stickstoffstrom bis zur Trockne eingedampft. Lösliche Fraktionen werden in etwa 300 µl bis 500 µl *Iso*-Oktan erneut gelöst und die Mischung wird für einige Sekunden gründlich geschüttelt (Vortex). Für die GC/MS-Messung wird eine Portion jeder Lösung in einen 200-µl-Mikroeinsatz überführt.

8.5 Gaschromatographie/Massenspektrometrie-Referenzen

8.5.1 Gaschromatographie mit Injektionsvolumen: 1 µl bis 2 µl.

8.5.2 Trägergas: Helium 4,6 (99,996 %) oder Helium 5,0 (99,999 %), konstanter Fluss 1 ml/min bis 1,5 ml/min.

8.5.3 Temperaturprogramm des Temperatur-programmierbaren Verdampfers (PTV): z. B. 85 °C, Erhöhung der Temperatur mit 300 °C/min auf 165 °C, für 10 min isothermisch halten, erhöhen mit 300 °C/min auf 320 °C, 8 min isothermisch halten.

8.5.4 Injektor: z. B. splitlos, Spülfluss 50 ml/min nach 0,5 min bis 1 min, Septumspülung 3 ml/min.

8.5.5 GC-Ofentemperatur-Programm: z. B. 85 °C isothermisch 0,5 min, Erhöhung der Temperatur mit 6 °C/min auf 150 °C, dann mit 12 °C/min auf 180 °C, dann mit 25 °C/min auf 280 °C, für 8 min isothermisch halten.

8.5.6 Massenspektrometrie: Elektronenstoßionisation (EI), Selected Ion Monitoring (SIM).

8.5.7 Identifizierte Ionenspuren in Relation zur spezifischen Ladung (m/z) aus den Phenylboronderivaten der Analyten sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1 — Zusammenfassung der identifizierten Ionenspuren in Relation zur spezifischen Ladung (m/z) aus den Phenylboronderivaten der Analyten

	m/z	m/z	m/z	m/z
3-MCPD-d ₅	149	150	201	203
3-MCPD	146	147	196	198
2-MCPD-d ₅	201	203		
2-MCPD	196	198		
3-MBPD-d ₅ (Glycidol-d ₅ -Umwandlungsprodukt)	245	247		
3-MBPD (Glycidol-Umwandlungsprodukt)	240	242		

Die Zielionen markierter und unmarkierter Analyten sollten für Quantifizierungszwecke übereinstimmen, z. B. m/z = 150 gegenüber 147 (3-MCPD-d₅ gegenüber 3-MCPD), m/z = 201 gegenüber 196 (2-MCPD-d₅ gegenüber 2-MCPD), m/z = 245 gegenüber 240 (3-MBPD-d₅ gegenüber 3-MBPD).

8.5.8 Für die Quantifizierung wird eine geeignete Software mit automatischer Datenanalyse empfohlen.

9 Angabe der Ergebnisse

ANMERKUNG Siehe 10.4.

9.1 Bestimmungen des gebundenen Glycidols

9.1.1 Das gebundene Glycidol in Probe A wird in 9.1.2 ohne Korrektur angegeben, wenn der 3-MCPD-Gehalt im Vergleich zum Glycidolgehalt gering ist. Im Fall größerer Mengen 3-MCPD kann die Umwandlung von 3-MCPD in Glycidol unvollständig sein, was zu einer Überschätzung des Glycidol-Gehalts führt. Um dies auszugleichen, wird das Umwandlungsverhältnis von 3-MCPD-d₅-Diester in 3-MBPD-d₅ in Probe B bestimmt und es wird ein Faktor angewendet, um die potenzielle Umwandlung von 3-MCPD in 3-MBPD in Probe A zu quantifizieren. Dieses Verfahren wird in 9.1.3 bis 9.1.5 beschrieben.

9.1.2 Für die quantitative Bestimmung des gebundenen Glycidols wird der Signalbereich des Phenylboronderivats des 3-MBPD in Probe A mit dem Aufstockgrad des internen Standards Glycidol-d₅ (eingeführt als Glycidyl-d₅-Ester) in Verbindung mit seiner Konzentration in der Probe multipliziert und durch den Signalbereich des Phenylboronderivats des 3-MBPD-d₅ geteilt, wie in Gleichung (1) dargestellt:

$$w_{\text{Glycidol unkorrigiert(A)}} = \frac{SA_{3\text{-MBPD(A)}} \times w_{\text{Glycidol-d}_5\text{(A)}}}{SA_{3\text{-MBPD-d}_5\text{(A)}}} \quad (1)$$

Dabei ist

$w_{\text{Glycidol unkorrigiert(A)}}$ der unkorrigierte Massenanteil von Glycidol in Probe A, in mg/kg;

$w_{\text{Glycidol-d}_5\text{(A)}}$ der Massenanteil von Glycidol-d₅ in Probe A, in mg/kg;

$SA_{3\text{-MBPD(A)}}$ der Signalbereich des Phenylboronderivats von 3-MBPD in Probe A;

$SA_{3\text{-MBPD-d}_5\text{(A)}}$ der Signalbereich des Phenylboronderivats von 3-MBPD-d₅ in Probe A.

Wenn die Probe erhebliche Mengen 3-MCPD enthält, kann der unkorrigierte Glycidolwert wie folgt um einen Faktor angepasst werden.

9.1.3 Um die unerwünschte Umwandlung von 3-MCPD über Glycidol in 3-MBPD während der Probenvorbereitung zu bestimmen, wird das entsprechende Umwandlungsverhältnis 3-MCPD-d₅ → 3-MBPD-d₅ in Probe B durch Teilung des Signalbereichs des Phenylboronderivats von 3-MBPD-d₅ durch den Signalbereich des Phenylboronderivats von 3-MCPD-d₅ in Probe B berechnet, wie in Gleichung (2) dargestellt:

$$t_{3\text{MCPD}} = \frac{SA_{3\text{-MBPD-d}_5\text{(B)}}}{SA_{3\text{-MCPD-d}_5\text{(B)}}} \quad (2)$$

Dabei ist

$t_{3\text{-MCPD}}$ das Umwandlungsverhältnis 3-MCPD-d₅ → 3-MBPD-d₅;

$SA_{3\text{-MBPD-d}_5\text{(B)}}$ der Signalbereich des Phenylboronderivats von 3-MBPD-d₅ in Probe B;

$SA_{3\text{-MCPD-d}_5\text{(B)}}$ der Signalbereich des Phenylboronderivats von 3-MCPD-d₅ in Probe B.

9.1.4 Nach der Probenvorbereitung und der GC/MS-Analyse in Übereinstimmung mit den Verfahrens- und Geräteabschnitten korreliert das Verhältnis zwischen dem identifizierten 3-MBPD und 3-MBPD-d₅ mit dem Isotopenfaktor (siehe 10.5) wie in Gleichung (3) dargestellt:

$$I = \frac{SA_{3\text{-MBPD}}}{SA_{3\text{-MCPD-d}_5}} \quad (3)$$