

2022

Živočišné a rostlinné tuky a oleje – Stanovení chlorpropandiolů vázaných ČSN
na mastné kyseliny (MCPD) a glycidolu metodou GC/MS – EN ISO 18363-4

Část 4: Metoda využívající rychlé alkalické transesterifikace a měření 2-
MCPD, 3-MCPD a glycidolu metodou GC-MS/MS

58 8725

idt ISO 18363-4:2021

Animal and vegetable fats and oils – Determination of fatty-acid-bound chloropropanediols (MCPDs)
and glycidol by GC/MS –

Part 4: Method using fast alkaline transesterification and measurement for 2-MCPD, 3-MCPD and
glycidol by GC-MS/MS

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 4: Méthode par transestérification alcaline rapide et mesure pour le 2-MCPD, le 3-MCPD et le
glycidol par CPG-SM/SM

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

Tato norma je českou verzí evropské normy EN ISO 18363-4:2021. Překlad byl zajištěn Českou
agenturou pro stan-
dardizaci. Má stejný status jako oficiální verze.

This standard is the Czech version of the European Standard EN ISO 18363-4:2021. It was translated
by the Czech Standardization Agency. It has the same status as the official version.

Národní předmluva

Informace o citovaných dokumentech

ISO 3696 zavedena v ČSN ISO 3696 (68 4051) Jakost vody pro analytické účely. Specifikace a zkušební
metody

Souvisící ČSN

ČSN EN ISO 5555 (58 8752) Živočišné a rostlinné tuky a oleje – Odběr vzorků

ČSN ISO 5725-5 (01 0251) Přesnost (pravdivost a preciznost) metod a výsledků měření – Část 5:
Alternativní metody pro stanovení preciznosti normalizované metody měření

ČSN EN ISO 18363 (soubor) Živočišné a rostlinné tuky a oleje – Stanovení chlorpropandiolů vázaných na mastné kyseliny (MCPD) a glycidolu metodou GC/MS

Vypracování normy

Zpracovatel: Kateřina Šléglová, IČO 76130509

Technická normalizační komise: TNK 151 Potravin

Pracovník České agentury pro standardizaci: Ing. Radmila Foretová

Česká agentura pro standardizaci je státní příspěvková organizace zřízená Úřadem pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví na základě ustanovení § 5 odst. 2 zákona č. 22/1997 Sb., o technických požadavcích na výrobky a o změně a doplnění některých zákonů, ve znění pozdějších předpisů.

EVROPSKÁ NORMA
EUROPEAN STANDARD
NORME EUROPÉENNE
EUROPÄISCHE NORM

EN ISO 18363-4

Srpen 2021

ICS
67.200.10

Živočišné a rostlinné tuky a oleje – Stanovení chlorpropandiolů vázaných na mastné kyseliny (MCPD) a glycidolu metodou GC/MS –

Část 4: Metoda využívající rychlé alkalické transesterifikace a měření 2-MCPD, 3-MCPD a glycidolu metodou GC-MS/MS
(ISO 18363-4:2021)

Animal and vegetable fats and oils – Determination of fatty-acid-bound chloropropanediols (MCPDs) and glycidol by GC/MS –

Part 4: Method using fast alkaline transesterification and measurement for 2-MCPD, 3-MCPD and glycidol by GC-MS/MS
(ISO 18363-4:2021)

Corps gras d'origines animale et végétale –
Détermination des esters de chloropropanediols
(MCPD) et d'acides gras et des esters de glycidol
et d'acides gras par CPG/SM –
Partie 4: Méthode par transestérification
alcaline rapide et mesure pour le 2-MCPD, le 3-
MCPD et le glycidol par CPG-SM/SM
(ISO 18363-4:2021)

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
(ISO 18363-4:2021)

Tato evropská norma byla schválena CEN dne 2021-07-26.

Členové CEN jsou povinni splnit vnitřní předpisy CEN/CENELEC, v nichž jsou stanoveny podmínky, za kterých se této evropské normě bez jakýchkoliv modifikací uděluje status národní normy.

Aktualizované seznamy a biblio-

grafické citace týkající se těchto národních norem lze obdržet na vyžádání v Řídicím centru CEN CENELEC nebo u kteréhokoliv člena CEN.

Tato evropská norma existuje ve třech oficiálních verzích (anglické, francouzské, německé). Verze v každém jiném jazyce přeložená členem CEN do jeho vlastního jazyka, za kterou zodpovídá a kterou notifikuje Řídícímu centru CEN-CENELEC, má stejný status jako oficiální verze.

Členy CEN jsou národní normalizační orgány Belgie, Bulharska, České republiky, Dánska, Estonska, Finska, Francie, Chorvatska, Irska, Islandu, Itálie, Kypru, Litvy, Lotyšska, Lucemburska, Maďarska, Maltu, Německa,

Nizozemska, Norska, Polska, Portugalska, Rakouska, Republiky Severní Makedonie, Rumunska, Řecka, Slovenska, Slovinska, Spojeného království, Srbska, Španělska, Švédsko, Švýcarsko a Turecko.



Evropský výbor pro normalizaci

European Committee for Standardization

Comité Européen de Normalisation

Europäisches Komitee für Normung

Řídící centrum CEN-CENELEC: Rue de la Science 23, B-1040 Brusel

© 2021 CEN Veškerá práva pro využití v jakékoliv formě a jakýmikoliv prostředky

Ref.

č. EN ISO 18363-4:2021 E

jsou celosvětově vyhrazena národním členům CEN.

Evropská předmluva

Tento dokument (EN ISO 18363-4:2021) vypracovala technická komise ISO/TC 34 *Potravinářské výrobky*

ve spolupráci s technickou komisí CEN/TC 307 *Olejnata semena, rostlinné a živočišné tuky a oleje a jejich vedlejší produkty – Metody odběru vzorků a analýzy*, jejíž sekretariát zajišťuje AFNOR.

Této evropské normě je nutno nejpozději do února 2022 udělit status národní normy, a to buď vydáním identického textu, nebo schválením k přímému používání, a národní normy, které jsou s ní v rozporu, je nutno zrušit nejpozději do února 2022.

Upozorňuje se na možnost, že některé prvky tohoto dokumentu mohou být předmětem patentových práv. CEN nelze činit odpovědným za identifikaci jakéhokoliv nebo všech patentových práv.

Jakákoli zpětná vazba a otázky týkající se tohoto dokumentu mají být adresovány národnímu normalizačnímu orgánu uživatele. Úplný seznam těchto orgánů lze nalézt na webových stránkách CEN.

Podle vnitřních předpisů CEN-CENELEC jsou tuto evropskou normu povinny zavést národní normalizační orga-

nizace následujících zemí: Belgie, Bulharska, České republiky, Dánska, Estonska, Finska, Francie, Chorvatska, Irska, Islandu, Itálie, Kypru, Litvy, Lotyšska, Lucemburska, Maďarska, Malty, Německa, Nizozemska, Norska, Polska, Portugalska, Rakouska, Republiky Severní Makedonie, Rumunska, Řecka, Slovenska, Slovinska, Spojeného království, Srbska, Španělska, Švédsko, Švýcarsko a Turecko.

Oznámení o schválení

Text ISO 18363-4:2021 byl schválen CEN jako CEN ISO 18363-4:2021 bez jakýchkoliv modifikací.

Obsah

Strana

Předmluva.....	6
Úvod.....	7
1..... Předmět normy.....	9
2..... Citované dokumenty.....	9
3..... Termíny a definice.....	

..... 9

4.....

Princip.....
..... 9

5.....

Činidla.....
..... 10

5.1.....

Obecně.....
..... 10

5.2..... Standardní a referenční

sloučeniny..... 10

5.3..... Standardní

roztoky.....
..... 10

5.3.1...

Obecně.....
..... 10

5.3.2... Zásobní

roztoky.....
..... 10

5.3.3... Pracovní

roztoky.....
..... 11

5.4..... Další

činidla.....
..... 11

5.5..... Roztoky

činidel.....
..... 12

6.....

Přístroje.....
..... 12

7..... Vzorkování

a skladování.....
..... 12

7.1.....

Vzorkování.....
..... 12

7.2..... Příprava zkušebního vzorku.....	
. 12	
7.3..... Podmínky skladování.....	
..... 13	
8.....	
Postup.....	
..... 13	
8.1..... Příprava zkušebního vzorku.....	
. 13	
8.2..... Příprava kalibrační křivky.....	
.... 13	
8.3..... Nastavení plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie.....	14
9..... Vyjadřování výsledků.....	
..... 15	
9.1.....	
Obecně.....	
..... 15	
9.2..... Kvantifikace esterů 2-MCPD- a 3-MCPD.....	15
9.3..... Kvantifikace esterů glycidylu.....	
.... 16	
9.4..... Kontrola kvality.....	
..... 18	
10.....	
Poznámky.....	
..... 18	
11.....	
Preciznost.....	
..... 19	
11.1....	
Obecně.....	
..... 19	

11.2....

Opakovatelnost.....	
.....	19

11.3.... Mezidenní

reprodukovatelnost.....	
.....	19

Příloha A (normativní) Pomocné

tabulky.....	20
--------------	----

Příloha B (informativní) Statistické výsledky společné studie

ISO.....	22
----------	----

Příloha C (informativní)

Chromatogramy.....	
.....	26

Bibliografie.....	
.....	28

Předmluva

ISO (Mezinárodní organizace pro normalizaci) je celosvětová federace národních normalizačních orgánů (členů ISO). Mezinárodní normy obvykle vypracovávají technické komise ISO. Každý člen ISO, který se zajímá o předmět, pro který byla vytvořena technická komise, má právo být v této technické komisi zastoupen. Práce se zúčastňují také vládní i nevládní mezinárodní organizace, s nimiž ISO navázala pracovní styk. ISO úzce spolupracuje s Mezinárodní elektrotechnickou komisí (IEC) ve všech záležitostech normalizace v elektrotechnice.

Postupy použité při tvorbě tohoto dokumentu a postupy určené pro jeho další udržování jsou popsány ve směrnících ISO/IEC, část 1. Zejména se má věnovat pozornost rozdílným schvalovacím kritériím potřebným pro různé druhy dokumentů ISO. Tento dokument byl vypracován v souladu s redakčními pravidly uvedenými ve směrnících ISO/IEC, část 2 (viz www.iso.org/directives).

Upozorňuje se na možnost, že některé prvky tohoto dokumentu mohou být předmětem patentových práv. ISO nelze činit odpovědnou za identifikaci jakéhokoliv nebo všech patentových práv. Podrobnosti o jakýchkoliv patentových právech identifikovaných během přípravy tohoto dokumentu budou uvedeny v úvodu a/nebo v seznamu patentových prohlášení obdržených ISO (viz www.iso.org/patents).

Jakýkoliv obchodní název použitý v tomto dokumentu se uvádí jako informace pro usnadnění práce uživatelů a neznamena schválení.

Vysvětlení nezávazného charakteru technických norem, významu specifických termínů a výrazů ISO, které se vztahují k posuzování shody, jakož i informace o tom, jak ISO dodržuje principy Světové obchodní organizace (WTO) týkající se technických překážek obchodu (TBT), jsou uvedeny na tomto odkazu: URL: www.iso.org/iso/foreword.html.

Tento dokument vypracovala technická komise ISO/TC 34 *Potravinářské výrobky*, subkomise SC 11 *Živočišné a rostlinné tuky a oleje* ve spolupráci s technickou komisí Evropského výboru pro normalizaci (CEN) CEN/TC 307 *Olejnatá semena, rostlinné a živočišné tuky a oleje a jejich vedlejší produkty. Metody odběru vzorků a analýzy* na základě Dohody o technické spolupráci mezi ISO a CEN (Vídeňská dohoda).

Seznam všech částí souboru ISO 18363 lze nalézt na webových stránkách ISO.

Jakákoli zpětná vazba nebo otázky týkající se tohoto dokumentu mají být adresovány národnímu normalizačnímu orgánu uživatele. Úplný seznam těchto orgánů lze nalézt na adrese www.iso.org/members.html.

Úvod

Soubor ISO 18363 je skupina mezinárodních norem, které mohou být využity pro stanovení esterově vázaných MCPD a glycidolu. Tento úvod popisuje metody specifikované v jednotlivých částech, aby se analytik mohl rozhodnout, které metody jsou vhodné k použití. Detailní aplikace každé z metod je uvedena v předmětu jednotlivé metody.

ISO 18363-1 je diferenční metoda ekvivalentní standardu DGF C-VI 18 (10)^[9] a identická s oficiální metodou AOCS Cd 29c-13^[6]. Ve stručnosti lze říct, že je založena na rychlém alkalicky katalyzovaném uvolnění 3-MCPD a glycidolu z esterových derivátů. Glycidol je následně konvertován na indukovaný 3-MCPD. Norma má dvě části. První část (A) umožňuje stanovení sumy esterově vázaných 3-MCPD a esterově vázaného glycidolu, zatímco druhá část (B) stanovuje pouze esterově vázaný 3-MCPD. Obě stanovení jsou založena na uvolnění cílových analytů 3-MCPD a glycidolu z esterově vázaných forem alkalicky katalyzovanou alkoholózou prováděnou za laboratorní teploty. V části A se používá okyselený roztok chloridu sodného pro zastavení reakce a následně konverzi glycidolu na indukovaný 3-MCPD. Tak se 3-MCPD a glycidol stanou v části A neodlišitelné. V části B se zastavení reakce docílí pomocí dodání okyseleného roztoku soli prosté chloridů, který také zabrání konverzi glycidolu na indukovaný MCPD. Následně část B umožní stanovení skutečného obsahu 3-MCPD. Konečně je obsah glycidolu ve vzorku úměrný rozdílu mezi oběma stanoveními (A - B) a může být vypočítán po určení transformačního poměru z glycidolu na 3-MCPD. ISO 18363-1 je využitelná pro rychlé stanovení esterově vázaných 3-MCPD a glycidolu v rafinovaných a nerafinovaných rostlinných olejích a tucích. ISO 18363-1 lze také použít pro živočišné tuky a použité oleje a tuky na smažení, ale před analýzou těchto matric musí proběhnout validační studie. Do výsledků by byly zahrnuty jakékoli volné analyty ve vzorku, ale dokument neumožňuje rozlišení mezi volnými a vázanými analyty. V době zveřejnění tohoto dokumentu však výzkum neprokázal žádný důkaz obsahu volného analytu tak vysokého, jako je obsah esterifikovaného analytu v rafinovaných rostlinných olejích a tucích. V principu lze ISO 18363-1 také modifikovat tak, že je stanovení 2-MCPD možné, ale opět je před provedením stanovení tohoto analytu nutná validační studie.

ISO 18363-2 představuje oficiální metodu AOCS Cd 29b-13^[5]. Ve stručnosti lze říct, že je založena na pomalém alkalickém uvolnění MCPD a glycidolu z esterových derivátů. Glycidol je následně konvertován na 3-MCPD. ISO 18363-2 obsahuje dva způsoby přípravy vzorků, jež se liší použitými interními standardy. Obě přípravy se používají pro stanovení esterově vázaných 2-MCPD a 3-MCPD. V části A se stanoví předběžné výsledky pro esterově vázaný glycidol. Protože 3-MCPD přítomný ve vzorku je při přípravě vzorku do určité menší míry konvertován na indukovaný glycidol, část B slouží pro stanovení tohoto množství indukovaného glycidolu, který je následně odečten z předběžného výsledku pro glycidol z části A. Použitím izotopově značených volných izomerů MCPD ve stanovení A a izotopově značených esterově vázaných 2-MCPD a 3-MCPD v části B lze monitorovat účinnost štěpení. Obě stanovení, A a B, jsou založeny na uvolnění cílových analytů 2-MCPD, 3-MCPD a glycidolu z esterově vázaných forem pomalou alkalicky katalyzovanou alkoholózou za studena. U obou příprav vzorků se reakce zastaví přidáním okyseleného koncentrovaného roztoku bromidu sodného pro konverzi nestabilního a těkavého glycidolu na 3-MCPD, který vykazuje srovnatelné vlastnosti jako 3-MCPD s ohledem na jeho stabilitu a chromatografické výsledky. Navíc značný přebytek iontů bromidu brání nežádoucí tvorbě 3-MCPD z glycidolu u vzorků, které obsahují přirozeně se vyskytující množství chloridů. ISO 18363-2 je využitelná pro stanovení esterově vázaných 3-MCPD, 2-MCPD a glycidolu v rafinovaných a nerafinovaných rostlinných olejích a tucích. Je také použitelná pro živočišné tuky a použité oleje a tuky na smažení, ale před analýzou těchto matric musí proběhnout validační studie. Jakékoli volné

analyty ve vzorku jsou obsaženy ve výsledku, ale dokument neumožňuje rozlišení mezi volnými a vázanými analyty. V době zveřejnění tohoto dokumentu však výzkum neprokázal žádný důkaz obsahu volného analytu tak vysokého, jako je obsah esterifikovaného analytu v rostlinných olejích a tucích.

ISO 18363-3 představuje oficiální metodu AOCS Cd 29a-13^[4]. Ve stručnosti lze říct, že je založena na konverzi esterů glycidylu na estery 3-MBPD a pomalém kysele katalyzovaném uvolnění MCPD a MBPD z esterových derivátů. ISO 18363-3 je založena na jedné přípravě vzorku, při které jsou estery glycidylu konvertovány na monoestery MBPD a následně jsou volné analyty 2-MCPD, 3-MCPD a 3-MBPD uvolněny pomalou kysele katalyzovanou alkoholýzou. 3-MBPD představuje skutečný obsah vázaného glycidolu. ISO 18363-3 je využitelná pro stanovení esterově vázaných 2-MCPD, 3-MCPD a glycidolu v rafinovaných a nerafinovaných rostlinných olejích a tucích. Je také použitelná pro živočišné tuky a použité oleje a tuky na smažení, ale před analýzou těchto matric musí proběhnout validační studie. Metoda je vhodná pro analýzu vázaných (esterifikovaných) analytů, ale je-li to vyžadováno, může být také provedena bez úvodní konverze esterů glycidylu. Při takovém uspořádání jsou ve výsledcích zahrnuty jak volné, tak vázané formy 2-MCPD a 3-MCPD a množství volných analytů lze vypočítat jako rozdíl mezi dvěmi stanoveními provedenými za obou uspořádání. V době zveřejnění tohoto dokumentu však výzkum neprokázal žádný důkaz obsahu volného analytu tak vysokého, jako je obsah esterifikovaného analytu v rostlinných olejích a tucích.

Tento dokument specifikuje rychlý postup založený na rychlém alkalickém rozštěpení esterů MCPD a glycidolu. Uvolněný glycidol je následně konvertován na 3-MBPD. Úroveň pH rychlého alkalického štěpení obecně způsobuje, že uvolněný MCPD při štěpení esterů částečně konvertuje na glycidol, což vede k nadhodnocení obsahu glycidylesteru glycidolu ve vzorku. Přidáním dvou odlišitelných izotopově značených interních standardů esterově vázaných 3-MCPD a glycidolu je možné kvantifikovat množství značeného glycidolu uvolněného z degradace interního standardu. Tato informace může být použita pro korekci nadhodnocení glycidolu uvolněného z esteru glycidylu, které bylo způsobeno glycidolem pocházejícím z 3-MCPD. Stejně dva interní standardy se používají pro kvantifikaci vázaného MCPD a glycidolu, což vyžaduje jednu přípravu vzorku pro kvantifikaci vázaných esterů 2-MCPD, 3-MCPD- a glycidolu. Analogicky s ISO 18363-1, ISO 18363-2 a ISO 18363-3 jsou uvolněné MCPD a 3-MBPD před GC-MS/MS analýzou derivatizovány pomocí fenylboronové kyseliny. Na rozdíl od dalších částí souboru ISO 18363 tento dokument vyžaduje instrumentaci GC-MS/MS pro jednoznačnou detekci každého (izotopicky značeného) MBPD požadovaného pro správnou kvantifikaci glycidolu pocházejícího z esteru glycidylu. Tento dokument je využitelný pro stanovení esterově vázaných 3-MCPD, 2-MCPD a glycidolu v rafinovaných a nerafinovaných rostlinných olejích a tucích. Je také použitelný pro živočišné tuky a použité oleje a tuky na smažení, ale před analýzou těchto matric musí proběhnout validační studie. Jakékoli volné analyty ve vzorku jsou obsaženy ve výsledcích, ale dokument nebude umožňovat rozlišení mezi volnými a vázanými analyty. V době zveřejnění tohoto dokumentu však výzkum neprokázal žádný důkaz obsahu volného analytu tak vysoký, jako je obsah esterifikovaného analytu v rostlinných olejích a tucích.

1 Předmět normy

Tento dokument specifikuje rychlý postup pro simultánní stanovení esterů 2-MCPD (vázaný 2-MCPD), esterů 3-MCPD (vázaný 3-MCPD) a esterů glycidylu (vázaný glycidol) v jednom stanovení, založeném na alkalicky

katalyzovaném štěpení esterů a derivatizaci rozštěpených (volných) analytů pomocí kyseliny fenyloboronové (PBA) před analýzou pomocí GC-MS/MS. Nadhodnocení obsahu esteru glycidylu je korigováno přidáním izotopově značeného esterově vázaného 3-MCPD, které umožní kvantifikaci glycidolu indukovaného 3-MCPD v průběhu postupu.

Tato metoda je využitelná pro tuhé a kapalné tuky a oleje. Tento dokument lze také využít pro živočišné tuky a použité oleje a tuky na smažení, ale tyto matrice nebyly zahrnuty ve validaci. Pro všechny tři analyty je mez stanovitelnosti (LOQ) 0,1 mg/kg a mez detekce (LOD) je 0,03 mg/kg.

Z předmětu této metody jsou vyloučeny mléko a mléčné výrobky (nebo tuk pocházející z mléka a mléčných výrobků), kojenecká mléka, emulgátory, volné mastné kyseliny a další matrice odvozené z tuků a olejů.

Konec náhledu - text dále pokračuje v placené verzi ČSN.