

Untersuchung von Gewürzen und würzenden Zutaten
**Bestimmung des Capsaicinoidgehaltes in Paprikapulvern,
Paprikaoleoresinen, Chilipulvern und Chilioleoresinen**
Verfahren mit Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC)

DIN
10234

ICS 67.220.10

Analysis of spices and condiments —

Determination of capsaicinoid content of powdered paprika, paprika oleoresins,
powdered chillies and chillie oleoresins —

Method using high performance liquid chromatography (HPLC)

Epices des aromates et des herbes —

Détermination de la teneur en capsaïcinoïde en poivron pulvérisé, oléorésines de poivron,
piments pulvérisés et oléorésines de piment —

Méthode par chromatographie en phase liquide à haute performance

Vorwort

Diese Norm wurde vom Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL), Arbeitsausschuss „Gewürze und würzende Zutaten“, erarbeitet.

Das in dieser Norm angegebene Untersuchungsverfahren ist aus einem an der Bergischen Universität Gesamthochschule Wuppertal entwickelten Verfahren hervorgegangen. Die Ergebnisse des im Arbeitsausschuss „Gewürze und würzende Zutaten“ durchgeführten Ringversuchs haben bestätigt, dass die Methodik als solche geeignet ist.

Fortsetzung Seite 2 bis 11

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)
im DIN Deutsches Institut für Normung e. V.

1 Anwendungsbereich

Diese Norm legt ein Routine-Verfahren zur hochleistungsflüssigchromatographischen Bestimmung von Capsaicinoiden (Scharfstoffen) in Paprikapulvern und Paprikaoleoresinen fest. Das Verfahren ist geeignet für die Bestimmung von Capsaicinoidgehalten größer als 10 mg/kg. Es ist bei entsprechender Verdünnung der Probenextrakte auch für die Untersuchung von Chilipulvern und Chiliöleoresinen anwendbar.

2 Normative Verweisungen

Diese Norm enthält durch datierte oder undatierte Verweisungen Festlegungen aus anderen Publikationen. Diese normativen Verweisungen sind an den jeweiligen Stellen im Text zitiert, und die Publikationen sind nachstehend aufgeführt. Bei datierten Verweisungen gehören spätere Änderungen oder Überarbeitungen dieser Publikationen nur zu dieser Norm, falls sie durch Änderung oder Überarbeitung eingearbeitet sind. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe der in Bezug genommenen Publikation (einschließlich Änderungen).

DIN 10230, *Gewürze und würzende Zutaten — Herstellung einer gemahlenen Untersuchungsprobe.*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieser Norm gilt der folgende Begriff.

3.1

Capsaicinoidgehalt

die Summe, der nach dem in dieser Norm beschriebenen Verfahren ermittelten Gehalte an Capsaicin (C), Dihydrocapsaicin (DC) und Nordihydrocapsaicin (NDC), angegeben als Massenanteil in Milligramm je Kilogramm Probe

4 Kurzbeschreibung

Die Untersuchungsprobe wird mit einer Acetonitril-Wasser-Mischung unter Rückfluss extrahiert. Von der Extraktionslösung wird ein Aliquot mittels Hochleistungsflüssigchromatographie mit Fluoreszenzdetektion analysiert.

5 Chemikalien

5.1 Allgemeines

Soweit nicht anders angegeben sind analysenreine Chemikalien zu verwenden. Das verwendete Wasser muss destilliert oder von entsprechender Reinheit sein.

5.2 Standardsubstanz

N-Nonansäurevanillylamid (Pelargonsäurevanillylamid, PSVA), molare Masse: 293,4 g/mol, Reinheit: > 97 % Massenanteil (HPLC).

WARNUNG — Dieses Produkt sollte vorsichtig gehandhabt werden, weil es stark reizend wirkt.

5.3 Vergleichssubstanz

Natürliches Capsaicinoidgemisch (C, DC, NDC) zur Unterstützung der Peakzuordnung.

5.4 Lösungsmittel

5.4.1 Acetonitril

5.4.2 Wasser

5.4.3 Essigsäure, 99 % bis 100 % Massenanteil

5.5 Elutionsmittel

50 Volumenteile Acetonitril (5.4.1), 50 Volumenteile Wasser (5.4.2) und 0,5 Volumenteile Essigsäure (5.4.3) werden gemischt und anschließend entgast.

5.6 Lösungsmittelgemisch für Standardlösungen und Probenextraktion

50 Volumenteile Acetonitril (5.4.1) und 50 Volumenteile Wasser (5.4.2) werden gemischt.

5.7 Herstellung von Standardlösungen

Für die Herstellung der Standardlösungen wird das Lösungsmittelgemisch (5.6) verwendet.

5.7.1 Herstellung der Stammlösung

(70 ± 0,1) mg PSVA (5.2) werden in 100 ml des Lösungsmittelgemisches (5.6) gelöst.

5.7.2 Herstellung der Standardlösung I

5 ml der Stammlösung (5.7.1) werden auf 250 ml verdünnt.

5.7.3 Herstellung einer Verdünnungsreihe

Aus der Standardlösung I werden geeignete Verdünnungen hergestellt und zur Kalibrierung (7.1) verwendet. Das Pipettierschema in Tabelle 1 zeigt beispielhaft geeignete Verdünnungsschritte. Der lineare Kalibrierbereich sollte mindestens fünf Verdünnungsstufen umfassen.

Tabelle 1 — Pipettierschema

Verdünnung	Konzentration µg/ml
5 ml Standardlösung I auf 20 ml	3,5
5 ml Standardlösung I auf 50 ml	1,4
5 ml Standardlösung I auf 100 ml	0,7
5 ml Standardlösung I auf 250 ml	0,28
5 ml Standardlösung I auf 500 ml	0,14

5.8 Siedehilfsmittel, Siedesteinchen oder Siedeperlen

5.9 Faltenfilter, aus Cellulose, Durchmesser: 18,5 cm, Gewicht etwa 75 g/m², Dicke etwa 0,20 mm

6 Geräte

Die übliche Laboratoriumsausrüstung und besonders Folgende:

6.1 Vollpipetten mit 5 ml Nennvolumen sowie eine größervolumige Pipette zur Gewinnung des Probenextrakts bei der Aufarbeitung von Oleoresinen nach 7.3.2

6.2 Messkolben mit 20 ml, 50 ml, 100 ml, 250 ml und 500 ml Nennvolumen

6.3 Trennsystem

6.3.1 Chromatograph für Hochleistungsflüssigchromatographie

6.3.2 Fluoreszenzdetektor

Anregungswellenlänge: 280 nm;

Emissionswellenlänge: 320 nm.

6.3.3 Entgasungssystem für Lösungsmittel

6.4 Säulen

6.4.1 Analytische Säule

Stationäre Phase: octadecylsilanmodifiziertes Kieselgel (RP-18, endcapped), Länge 250 mm, Innendurchmesser 4 mm bis 4,6 mm, Teilchengröße 5 µm;

Anforderung: Basislinientrennung von NDC und C.

6.4.2 Vorsäule

Passend zur analytischen Säule (6.4.1), Länge 4 mm, Innendurchmesser 4 mm bis 4,6 mm, stationäre Phase wie 6.4.1.

6.5 Durchfluss 1 ml/min

6.6 Schreiber oder Integrator

6.7 Injektionssystem

Injektionsventil mit 20 µl Probenschleife oder jedes andere System, das die gleiche Injektionsgenauigkeit ergibt.

7 Durchführung

7.1 Kalibrierung

Von den nach 5.7.3 hergestellten Verdünnungslösungen des PSVA Standards (5.2) werden je 20 µl im selben Zeitintervall injiziert, in dem auch die Probenlösungen analysiert werden.

Die Peakflächen werden gemessen. Durch Auftragen der Konzentration von PSVA in der Standardlösung [µg/ml] gegen die Peakfläche wird eine Kalibriergerade durch Zeichnung und Berechnung erstellt.

7.2 Probenvorbereitung

Unvermahlene Proben sind vor der Untersuchung nach DIN 10230 vorzubereiten. Auf gute Homogenität des Probenmaterials ist zu achten. Insbesondere Oleoresine müssen vor der Einwaage gründlich homogenisiert werden.