

	Pfeffer und Pfefferoleoresine Bestimmung des Piperingehaltes Verfahren mit Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)	DIN 10235
ICS 67.220.10 Pepper and pepper oleoresins – Determination of piperine content – Method using high-performance liquid chromatography (HPLC) Poivres, oléoresins de poivres – Détermination de la teneur en pipérine – Méthode par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) Vorwort Diese Norm wurde vom Normenausschuß Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte, Arbeitsausschuß "Gewürze und würzende Zutaten", auf der Grundlage der Internationalen Norm ISO 11027 : 1993 erarbeitet. Das in ISO 11027 festgelegte Untersuchungsverfahren ist inhaltlich übernommen worden, wobei für die Probenahme und die Vorbereitung der Untersuchungsprobe auf Deutsche Normen verwiesen wird. Es erfolgte außerdem eine Erweiterung der Internationalen Norm, indem die in einem Ringversuch ermittelten statistischen Daten zur Präzision des Verfahrens ergänzt wurden. Die im Anhang B angegebenen Beispiele für typische Chromatogramme wurden den für die Ringversuche erhobenen Daten entnommen (Piperin-Standard und Pfefferprobe). Der Entwurf zu dieser Norm war als E DIN ISO 11027 veröffentlicht. Fortsetzung Seite 2 bis 8 Normenausschuß Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V.		

Inhalt

	Seite
1 Anwendungsbereich	2
2 Normative Verweisungen	2
3 Prinzip	2
4 Chemikalien	3
5 Geräte	3
6 Kalibrierverfahren	4
7 Probenahme	4
8 Vorbereitung der Untersuchungsprobe	4
9 Durchführung	5
10 Auswertung	5
11 Präzision des Verfahrens	6
12 Untersuchungsbericht	6
Anhang A (normativ) Ergebnisse des Ringversuchs	7
Anhang B (informativ) Typische Chromatogramme	7

1 Anwendungsbereich

Diese Norm legt ein Verfahren zur Bestimmung des Piperingehaltes von Pfeffern (*Piper nigrum* Linnaeus), ganz oder gemahlen, und deren Extrakten (Oleoresine) durch Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) fest.

Dieses Verfahren ermöglicht gegebenenfalls die Bestimmung der übrigen Pfefferalkaloide (Isochavicin, Isopiperin und Piperitin).

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.

DIN 10220

Untersuchung von Gewürzen und würzenden Zutaten – Probenahme für die chemische, physikalische und sensorische Untersuchung

DIN 10230

Gewürze und würzende Zutaten – Herstellung einer gemahlenen Untersuchungsprobe

DIN ISO 5725-1

Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Meßverfahren und Meßergebnissen – Teil 1: Allgemeine Grundlagen und Begriffe (ISO 5725 : 1994)

E DIN ISO 5725-2

Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Meßverfahren und Meßergebnissen – Ein grundlegendes Verfahren für die Ermittlung der Wiederhol- und Vergleichpräzision von festgelegten Meßverfahren; Identisch mit ISO/DIS 5725-2 : 1990

ISO 5564 : 1982

Black pepper and white pepper, whole or ground – Determination of piperine content – Spectrophotometric method

ISO 11027 : 1993

Pepper and pepper oleoresins – Determination of piperine content – Method using high performance liquid chromatography

3 Prinzip

3.1 Gemahlener Pfeffer

Extraktion mit Ethanol unter Rückfluß, anschließende Bestimmung des Piperins durch Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) nach dem in der vorliegenden Norm beschriebenen Verfahren.

3.2 Ganzer Pfeffer

Vorbereitung durch Mahlen der Probe, dann Extraktion des gewonnenen Pulvers und anschließend Bestimmung des Piperins durch HPLC nach dem in der vorliegenden Norm beschriebenen Verfahren.

3.3 Pfefferoleoresine

Verdünnung des Oleoresins mit Ethanol, anschließend Bestimmung des Piperins durch HPLC nach dem in der vorliegenden Norm beschriebenen Verfahren.

4 Chemikalien

4.1 Allgemeines

Es dürfen nur Chemikalien von anerkannter Analysenreinheit und destilliertes oder entmineralisiertes Wasser oder Wasser von äquivalenter Reinheit verwendet werden.

4.2 Bezugssubstanz

Piperin von mindestens 98%iger (Massenanteil) Reinheit, bestimmt nach dem in ISO 5564 : 1982 beschriebenen Verfahren.

Warnhinweis: Dieses Produkt sollte vorsichtig gehandhabt werden, weil es stark reizend ist.

4.3 Lösungsmittel

4.3.1 Ethanol, 96%ig (Volumenkonzentration).

4.3.2 Acetonitril

4.3.3 Essigsäure, 1%ige (Volumenkonzentration) wässrige Lösung

4.4 Elutionsmittel

52 Volumenteile Essigsäurelösung (4.3.3) und 48 Volumenteile Acetonitril (4.3.2) werden gemischt.

5 Geräte

Die übliche Laboratoriumsausrüstung und besonders folgende:

5.1 Pipetten mit 2 ml, 5 ml und 10 ml Nennvolumen.

5.2 Meßkolben mit 25 ml, 50 ml und 100 ml Nennvolumen (hergestellt aus Lichtschutzglas (z. B. Braunglas) oder mit Aluminiumfolie umhüllt).

5.3 Filtrationsmembranen, nicht adsorbierend

5.4 Trennsystem

5.4.1 Chromatograph für HPLC

5.4.2 Pumpsystem, das eine konstante Durchflußgeschwindigkeit ermöglicht oder zur Erzielung und Beibehaltung von Hochdruck programmiert ist.

5.4.3 Entgasungssysteme für Lösungsmittel

5.4.4 Geeignetes Detektorsystem, einstellbar auf eine Wellenlänge von 343 nm.

5.5 Schreiber oder Integrator

5.6 Säule

Werkstoff: nichtrostender Stahl oder Glas

Länge: 10 cm bis 25 cm

Innendurchmesser: 0,4 cm bis 0,5 cm

Stationäre Phase: Siliciumdioxid, gepackt mit einem Derivat der funktionellen Octadecylgruppe C₁₈, Teilchengröße maximal 5 µm.

5.7 Injektionssystem

Injektionsventil mit 10-µl-Schleife oder jedes andere System, das die gleiche Injektionsgenauigkeit ergibt.

5.8 Prüfsieb mit 500 µm Maschenweite