

	Kaffee-Extrakt Bestimmung der freien und Gesamt-Kohlenhydrate Verfahren mit Hochleistungs-Anionenaustausch-Chromatographie	DIN 10780
ICS 67.140.20 Instant coffee — Determination of free and total carbohydrate contents — Method using high-performance anion-exchange chromatography Café soluble — Détermination des teneurs en hydrates de carbone libres et totaux — Méthode par chromatographie d'échange d'anions à haute performance Fortsetzung Seite 2 bis 16 Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN Deutsches Institut für Normung e. V.		

Inhalt

	Seite
Vorwort.....	3
1 Anwendungsbereich.....	3
2 Normative Verweisungen	3
3 Begriffe.....	3
4 Kurzbeschreibung.....	4
4.1 Verfahren A.....	4
4.2 Verfahren B.....	4
5 Bezeichnung.....	4
6 Chemikalien	4
7 Geräte	5
8 Probenahme	6
9 Durchführung	6
9.1 Trockenmassebestimmung	6
9.2 Vorbereitung der Probe für die Analyse – Verfahren A.....	6
9.3 Vorbereitung der Probe für die Analyse – Verfahren B	6
9.4 Chromatographische Analyse	6
10 Berechnung	7
11 Präzision	8
11.1 Ringversuch	8
11.2 Wiederholpräzision	8
11.3 Vergleichpräzision	9
12 Untersuchungsbericht.....	9
Anhang A (informativ) Ergebnisse des Ringversuchs	10
Literaturhinweise	16

Vorwort

Diese Norm wurde vom Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte, Arbeitsausschuss „Kaffee“, erarbeitet und entspricht sachlich der Internationalen Norm ISO 11292:1997 „Instant coffee – Determination of free and total carbohydrate contents – Method using high-performance anion-exchange chromatography“, die vom Unterkomitee SC 15 „Coffee“ (Sekretariat: Brasilien), des Technischen Komitees ISO/TC 34 (Sekretariat: Ungarn), erarbeitet wurde. Die Norm beinhaltet jedoch neue Präzisionsdaten, die in einem internationalen Ringversuch nach dem Erscheinen der ersten Ausgabe von ISO 11292 ermittelt wurden. Außerdem wurden die Normativen Verweisungen so weit wie möglich auf Deutsche Normen umgestellt.

1 Anwendungsbereich

Diese Norm legt ein Verfahren zur Bestimmung des Gehaltes an freien und Gesamt-Kohlenhydraten in Kaffee-Extrakt durch Hochleistungs-Anionenaustausch-Chromatographie fest. Dabei geht es insbesondere um einzelne Monosaccharide und Mannit.

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 10764-2, *Untersuchung von Kaffee und Kaffee-Erzeugnissen — Bestimmung des Feuchtegehaltes von Kaffee-Extrakt — Vakuumschrank-Verfahren.*

DIN 12680-1, *Laborgeräte aus Glas — Messzylinder mit Stricheinteilung.*

DIN EN ISO 1042, *Laborgeräte aus Glas — Messkolben (ISO 1042:1998); Deutsche Fassung EN ISO 1042:1999.*

ISO 3509, *Coffee and its products — Vocabulary.*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieser Norm gelten die in ISO 3509 angegebenen und die folgenden Begriffe.

3.1

Gehalt an freien Kohlenhydraten

jeder einzelne Gehalt an Monosacchariden (Arabinose, Fructose, Galactose, Glucose, Mannose) und an Mannit, der mit dem beschriebenen Verfahren (Verfahren A) bestimmt wurde

ANMERKUNG Der Gehalt an freien Kohlenhydraten wird als Massenanteil in Prozent, bezogen auf die Trockenmasse, angegeben.

3.2

Gesamt-Kohlenhydratgehalt

jeder einzelne Gehalt an Monosacchariden (Arabinose, Galactose, Glucose, Mannose, Xylose), der mit dem beschriebenen Verfahren, das einen entscheidenden Hydrolyseschritt einschließt (Verfahren B), bestimmt wurde

ANMERKUNG Der Gesamt-Kohlenhydratgehalt wird als Massenanteil in Prozent, bezogen auf die Trockenmasse, angegeben.

4 Kurzbeschreibung

4.1 Verfahren A

Lösen einer Prüfmenge in Wasser. Auftrennen der im filtrierten Extrakt enthaltenen Kohlenhydrate durch Ionenchromatographie an einer Hochleistungs-Anionenaustausch-Säule (HPAEC), wobei reines Wasser als Elutionsmittel verwendet wird. Elektrochemische Ermittlung der gelösten Verbindungen durch einen gepulsten amperometrischen Detektor (PAD) und Quantifizierung durch Vergleich mit den Peakflächen von Standardlösungen.

4.2 Verfahren B

Hydrolyse einer Prüfmenge mit wässriger Salzsäure. Analyse der in der filtrierten hydrolysierten Lösung enthaltenen Kohlenhydrate wie in Verfahren A beschrieben.

5 Bezeichnung

Bezeichnung des Verfahrens A nach dieser Norm zur Bestimmung der freien Kohlenhydrate in Kaffee-Extrakt durch Hochleistungs-Anionenaustausch-Chromatographie:

Verfahren DIN 10780-A

Bezeichnung des Verfahrens B nach dieser Norm zur Bestimmung der Gesamt-Kohlenhydrate in Kaffee-Extrakt durch Hochleistungs-Anionenaustausch-Chromatographie:

Verfahren DIN 10780-B

6 Chemikalien

6.1 Allgemeines

Es dürfen nur analysenreine Chemikalien sowie destilliertes oder entmineralisiertes Wasser verwendet werden.

6.2 Natriumhydroxid (NaOH), 50 % Massenanteil, wässrige Lösung.

Das Reagenz sollte Natriumcarbonat und Quecksilber nur in geringst möglicher Menge (so wenig wie irgend erreichbar) enthalten. Die Lösung darf vor Gebrauch nicht geschüttelt oder umgerührt werden.

6.3 Salzsäure-Maßlösung, $c(\text{HCl}) = 1,00 \text{ mol/l}$.

6.4 Eluent 1 (S1), entmineralisiertes Wasser ($18 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$).

Das entmineralisierte Wasser wird durch ein Membranfilter (7.7) filtriert. Es wird durch Begasen mit Helium für 20 min bis 30 min entgast.

6.5 Eluent 2 (S2), Natriumhydroxid-Lösung, $c(\text{NaOH}) = 300 \text{ mmol/l}$.

Zu 985 ml entgastem Wasser (6.4) werden mit einer Pipette 15,6 ml der Natriumhydroxid-Lösung (6.2) gegeben.

ACHTUNG: Es ist von entscheidender Bedeutung, dass gelöstes Kohlenstoffdioxid vor der Verwendung aus den Eluenten entfernt wird. Carbonat wirkt stark beschleunigend auf die Säule, was zu einer drastischen Verringerung der Auflösung und der Wirksamkeit führt. Deshalb ist die Lösung einen Tag vor der Analyse zuzubereiten. Der Eluent 2 (S2) dient in der chromatographischen Analyse sowohl zur Säulenspülung im Reinigungsschritt als auch als Nachsäulenzusatz zum Analyten (siehe Tabellen 1 und 2).

6.6 Kohlenhydrat-Standardlösungen

Frische Lösungen aus Arabinose, Fructose, Galactose, Glucose, Mannose, Xylose und Mannit werden hergestellt.

Etwa 100 mg der Lösung der jeweiligen Substanz werden auf 0,1 mg in einen 100-ml-Rundmesskolben (7.2) eingewogen und bis zur Marke mit Wasser aufgefüllt. Diese Standardlösungen von 1 000 mg/l werden auf Vorrat gehalten.

Gemischte Standardlösungen können auch aus verschiedenen Vorratslösungen zubereitet werden, sofern die Retentionszeit eines jeden Kohlenhydrats unter den jeweiligen Chromatographiebedingungen bekannt ist.

Die Standardlösungen werden so weit verdünnt, bis die gleiche Kohlenhydratkonzentration wie in den nicht hydrolysierten Kaffee-Extrakt-Probenlösungen erreicht wird.

Die Trennung von Rhamnose und Arabinose ist schwierig zu erreichen. Werden ihre Peaks im Chromatographen nicht aufgelöst, dann darf zu einer gemischten Standardlösung keine Rhamnose gegeben werden.

7 Geräte

Es werden die üblichen Laboratoriumsgeräte und im Besonderen die folgenden verwendet.

7.1 Analysenwaage, mit Fehlergrenzen von 0,1 mg.

7.2 Messkolben, Nennvolumen 100 ml, Klasse A nach DIN EN ISO 1042.

7.3 Messzylinder, Nennvolumen 1 000 ml und 50 ml, hohe Form, z. B. nach DIN 12680-1.

7.4 Vakuumfilter.

7.5 Faltenfilter, mittelfest, gute Qualität.

7.6 Einweg-C18-Filterkartuschen¹⁾, zu verwenden nach den Herstellerangaben.

7.7 Einweg-Membranfilter, Porenweite 0,2 µm.

7.8 Wasserbad, einstellbar auf $(100 \pm 5) ^\circ\text{C}$

7.9 Metallfreier Flüssigkeitschromatograph¹⁾, mit einer Hochleistungs-Anionenaustauschsäule¹⁾, die mit einem pellikularen Polystyrol-Divinylbenzol-Anionenaustauscherharz gefüllt ist, Vorsäule (Guard-Säule)¹⁾ sowie Nachsäulen-Derivatisierungssystem.

7.10 Gepulster amperometrischer Detektor (PAD) mit Goldelektrode¹⁾.

7.11 Integrator, chromatographische Datenstation¹⁾.

7.12 Silberbeladene Einwegkartuschen¹⁾ zur Abscheidung von Chlorid, zu verwenden nach den Angaben des Herstellers.

¹⁾ Auskünfte über geeignete Bezugsquellen erteilt der Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN Deutsches Institut für Normung e. V., 10772 Berlin (Hausanschrift: Burggrafenstraße 6, 10787 Berlin).