

DIN 10767**DIN**

ICS 67.140.20

Einsprüche bis 2014-10-13
Vorgesehen als Ersatz für
DIN 10767:1992-05**Entwurf****Untersuchung von Kaffee und Kaffee-Erzeugnissen –
Bestimmung des Gehaltes an Chlorogensäuren in Röstkaffee und
Extrakt-Kaffee –
HPLC-Verfahren**

Analysis of coffee and coffee products –
Determination of chlorogenic acids content in roasted coffee and extracted coffee –
HPLC method

Analyse du café et des dérivés –
Détermination de la teneur en acides chlorogéniques dans le café torréfié et l'extrait de
café –
Méthode de CLHP

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2014-06-13 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und
Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses
Entwurfes besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal des DIN unter www.entwuerfe.din.de 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/stellungnahme oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN, 10772 Berlin (Hausanschrift: Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin).

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten
Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 18 Seiten

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN

Inhalt

	Seite
Vorwort	3
1 Anwendungsbereich	4
2 Normative Verweisungen	4
3 Begriffe	5
4 Kurzbeschreibung	5
5 Chemikalien und Lösungen	5
6 Geräte	6
7 Durchführung	6
7.1 Vorbereitung der Probe	6
7.1.1 Rohkaffee	6
7.1.2 Röstkaffee	7
7.1.3 Kaffee-Extrakt	7
7.2 Herstellen der Probelösung	7
7.2.1 Rohkaffee und Röstkaffee	7
7.2.2 Kaffee-Extrakt	7
7.3 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)	7
8 Auswertung	8
8.1 Berechnung	8
8.2 Präzision des Verfahrens	9
8.2.1 Allgemeines	9
8.2.2 Wiederholpräzision	9
8.2.3 Vergleichpräzision	9
9 Untersuchungsbericht	14
Anhang A (informativ) Analyten	15
Anhang B (informativ) Kalibrierfunktion, Chromatogramm und Spektrum (Beispiele)	16
Literaturhinweise	18

Vorwort

Dieses Dokument (E DIN 10767) wurde vom Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im Arbeitsausschuss NA 057-05-09 AA „Kaffee“ im DIN erarbeitet und in einem umfangreichen Ringversuch erprobt.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Texte dieses Dokuments Patentrechte berühren können. Das DIN [und/oder die DKE] sind nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Änderungen

Gegenüber DIN 10767:1992-05 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) der Anwendungsbereich wurde um mehrere Analyten erweitert (zwei Chlorogensäurelactone und drei Feruloylchinasäuren);
- b) das Ergebnis wird nicht mehr nur als Summe der Chlorogensäuren, sondern als individuell ermittelte, einzelne Massenanteile verschiedener Chlorogensäuren und -derivate angegeben;
- c) Norm redaktionell überarbeitet.

1 Anwendungsbereich

Diese Norm legt ein Verfahren fest zur getrennten Bestimmung:

- der drei mono-Caffeoylchinasäuren 3-, 4- und 5-CQA;
- der drei di-Caffeoylchinasäuren 3,4-, 3,5- und 4,5-diCQA;
- von drei Feruloylchinasäuren (3-, 4- und 5-FQA) und
- von zwei Chlorogensäurelactonen (3- und 4-CQL).

Beispiele für Strukturformeln, Bezeichnungen sowie die gebräuchlichen Abkürzungen für bestimmbar Analyte sind in Bild A.1 und in Tabelle A.1 enthalten.

Dieses Verfahren ist für Röstkaffee und Kaffee-Extrakte, die in flüssiger und getrockneter Form vorliegen, validiert worden, es ist jedoch auch prinzipiell für Rohkaffee geeignet.

ANMERKUNG 1 Mit diesem Verfahren werden ausschließlich die im Kaffee enthaltenen freien Chlorogensäuren und -derivate erfasst (siehe Erläuterungen). Eine Bestimmung und Berechnung der Massenanteile an weiteren Hydroxycimtsäurederivaten (z. B. Cumaroylchinasäuren, Feruloyl-Caffeoylchinasäuren und di-Feruloylchinasäuren) ist möglich.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente, die in diesem Dokument teilweise oder als Ganzes zitiert werden, sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. 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).

DIN 10764-2, *Untersuchung von Kaffee und Kaffee-Erzeugnissen — Bestimmung des Massenverlusts von Kaffee-Extrakt — Teil 2: Vakuum-Trockenschränk-Verfahren (Routineverfahren)*

DIN 10764-4, *Untersuchung von Kaffee und Kaffee-Erzeugnissen — Bestimmung des Massenverlusts von Kaffee-Extrakt — Teil 4: Trockenschränkverfahren für löslichen Kaffee und Kaffeespezialitäten bei Normaldruck (Routineverfahren)*

DIN 10766, *Untersuchung von Kaffee und Kaffee-Erzeugnissen — Bestimmung des Wassergehalts von Rohkaffee — Dioxandestillation, Karl-Fischer-Titration*

DIN 10772-1, *Untersuchung von Kaffee und Kaffee-Erzeugnissen — Bestimmung des Wassergehaltes nach Karl Fischer — Teil 1: Referenzverfahren für Röstkaffee*

DIN 10772-2, *Untersuchung von Kaffee und Kaffee-Erzeugnissen — Bestimmung des Wassergehaltes nach Karl Fischer — Teil 2: Referenzverfahren für Kaffee-Extrakt*

DIN 10781, *Gemahlener Röstkaffee — Bestimmung des Massenverlustes bei 103 °C (Routineverfahren zur Ermittlung des Wassergehaltes)*

DIN ISO 565, *Analysensiebe — Metalldrahtgewebe, Lochplatten und elektrogeformte Siebfolien — Nennöffnungsweiten*

DIN ISO 6673, *Rohkaffee — Bestimmung des Massenverlusts bei 105°C*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1

Gehalt an Chlorogensäuren

die individuellen Massenanteile der nach dieser Norm bestimmten mono- und di-CQA, FQA und CQL, angegeben als 5-CQA in g/100 g der Trockenmasse

4 Kurzbeschreibung

Die erforderlichenfalls gemahlene und gesiebte Probe wird im geheizten Ultraschallbad mit einer Methanol-Wasser-Mischung extrahiert und anschließend membranfiltriert. Die Komponenten werden mittels RP-HPLC getrennt und mit einem UV-Detektor quantifiziert. Die Identifizierung erfolgt durch Vergleich der jeweiligen Retentionszeiten mit denen der betreffenden Standardsubstanz (falls verfügbar), mittels Massenspektrometrie (HPLC-MSⁿ) [4] und UV-Spektren (Beispiel siehe B.3), falls ein HPLC-System mit Diodenarraydetektor verwendet wird. Die Quantifizierung erfolgt nach dem Verfahren der externen Standards über die Peakflächen, entweder berechnet als 5-CQA oder als die jeweils zur Verfügung stehende Vergleichssubstanz.

5 Chemikalien und Lösungen

Es werden analysenreine Chemikalien verwendet. Das Wasser muss destilliert oder mindestens von entsprechender Reinheit sein.

5.1 Acetonitril, geeignet für HPLC („gradient-grade“ oder „MS-grade“ sind geeignet).

5.2 Wasser, für die HPLC.

5.3 Methanol für die HPLC.

5.4 Essigsäure, für die HPLC.

5.5 Methanol-Wasser-Mischung

Gleiche Volumenanteile von Methanol, geeignet für HPLC (5.3), und Wasser (5.2) werden miteinander gemischt.

5.6 Fließmittel A (2% Essigsäure)

20 ml Essigsäure (HPLC-grade, 5.4) werden mit Wasser (5.2) auf 1000 ml aufgefüllt, membranfiltriert und entgast.

5.7 Fließmittel B

Acetonitril, geeignet für HPLC (5.1), filtriert und entgast.

5.8 Chlorogensäure Standardlösung (Stammlösung)

Etwa 10 mg n-Chlorogensäure (5-CQA) ($M = 354,32 \text{ g/mol}$) werden auf 0,1 mg in einen 50 ml Messkolben eingewogen und in 45 ml eines Gemisches mit einem Volumenanteil von 25 % Methanol und einem Volumenanteil von 75 % Wasser im Ultraschallbad bei 40 °C gelöst. Nach dem Abkühlen wird mit Wasser auf 50 ml aufgefüllt. Diese Lösung hat eine Massenkonzentration von etwa 200 mg/l und kann direkt nach Membranfiltration in das HPLC-System eingespritzt werden. Die Lösungen sind bei Raumtemperatur mindestens 24 h haltbar.

Aus der Stammlösung werden Verdünnungen mit Wasser, wie in Tabelle 1 festgelegt, hergestellt.

Tabelle 1 — Verdünnungen der Stammlösung mit Wasser

Stammlösung ml	Endvolumen (mit Wasser auffüllen) ml	Massenkonzentration mg/l
5	10	etwa 100
2	10	etwa 40
1	50	etwa 4
1	100	etwa 2

Ein Beispiel für eine Kalibrierfunktion findet sich in Bild B.1.

Falls weitere Standardsubstanzen vorhanden sind, werden diese in analoger Weise angesetzt.

6 Geräte

Es wird die übliche Laborausrüstung und speziell die Geräte nach 6.1 bis 6.10 verwendet.

6.1 Kaffeemühle, geeignet zum Mahlen von Röstkaffee-Bohnen.

6.2 Kaffeemühle, geeignet zum Mahlen von Rohkaffee-Bohnen.

6.3 Siebe, mit Drahtsiebböden, mit Maschenweiten von 0,8 mm, 0,63 mm und 0,25 mm, nach DIN ISO 565, R 20.

6.4 Ultraschallbad, verwendbar bis 60 °C.

6.5 Analysenwaage

6.6 Messkolben, Nennvolumen 10 ml, 50 ml und 1 000 ml.

6.7 Membranfilter, 0,45 µm.

6.8 Hochleistungs-Flüssigchromatograph, bestehend aus binärer Pumpe, Probenaufgabevorrichtung, UV Detektor (Wellenlänge 324 nm), bevorzugt Diodenarraydetektor, Auswertungssystem.

6.9 Analytische Trennsäule, z. B. Durchmesser von 2 mm bis 5 mm, Länge von 150 mm bis 250 mm, mit einer Octadecyl-Derivat-Füllung oder Phase ähnlicher Polarität (z. B. Phenyl-Hexyl), Partikelgröße 5 µm oder kleiner.

6.10 Mikroliterspritze, bei manueller Injektion.

7 Durchführung

7.1 Vorbereitung der Probe

7.1.1 Rohkaffee

Der Rohkaffee wird mit einer Mühle (6.2) gemahlen und anschließend mit dem Sieb (6.3) mit der Maschenweite 0,8 mm gesiebt. Für die Analyse ist die Kornfraktion mit Teilchengrößen von weniger als 0,8 mm zu verwenden, ebenso für die Bestimmung des Wassergehaltes, nach DIN ISO 6673 oder alternativ nach DIN 10766.