



Application Note AN-P-086

Analisi della qualità del caffè istantaneo

Determinazione dei carboidrati liberi e totali con IC-PAD secondo
le norme AOAC 996.04 e ISO 11292

Il caffè è una bevanda estremamente popolare e di notevole importanza economica. La garanzia della qualità, compresa la tracciabilità degli adulteranti nel caffè, è quindi un processo consolidato e un requisito per i consumatori.

I carboidrati che costituiscono fino al 50% dei chicchi di caffè crudo funzionano come agenti di sapore, viscosità e aroma [1]. Servono anche come traccianti di autenticità, perché il caffè solubile non adulterato è prodotto esclusivamente da puro caffè tostato [2,3]. Esistono chiari criteri di specificazione per la valutazione della qualità da parte di ISO 24114 e AFCASOLE (ad esempio, un limite di <2,46% di

glucosio totale e <0,45% di xilosio totale espresso come frazioni di massa dei carboidrati totali) [3]. Le norme AOAC 996.04 e ISO 11292 forniscono requisiti analitici per i test di qualità del caffè istantaneo per quanto riguarda l'analisi dei carboidrati liberi e totali. La cromatografia ionica (IC) permette di quantificare con precisione gli analiti obbligatori arabinosio, fruttosio, galattosio, glucosio, mannosio, saccarosio, mannitolo e xilosio secondo le norme AOAC e ISO. Il metodo IC presentato è estremamente sensibile e permette di superare un problema molto comune, ovvero la possibile coeluzione dell'analita, ad esempio con il ramnosio.

Le polveri di caffè istantaneo (≈ 300 mg per 100 ml) di due marche di caffè istantaneo (Jacobs coffee GOLD e un campione del cliente) sono state preparate come descritto in AOAC e ISO per determinare la quantità di carboidrati liberi (arabinosio, fruttosio, galattosio, glucosio, mannosio, saccarosio e mannitolo) e carboidrati totali (arabinosio, galattosio, glucosio, mannosio, xilosio e mannitolo) dopo idrolisi acida.

Per la determinazione dei carboidrati liberi, le polveri di caffè sono state sciolte in 100 ml di acqua ultrapura (UPW) e poi filtrate ($0,25 \mu\text{m}$). Per l'analisi dei carboidrati totali, le polveri di caffè sono state idrolizzate in HCl ($0,1 \text{ mol/L}$) a 100°C (150 minuti), diluite a 100 ml con UPW e filtrate con un $\text{Ag}^+ - \text{H}^+$ -combinazione di cartucce. Si consiglia una diluizione finale (da 10 a 50 volte) con UPW.

ANALISI

I carboidrati specificati sopra per l'analisi dei carboidrati disciolti (liberi) e totali sono stati separati al basale su una colonna Metrosep Carb 2 con un gradiente binario ad alta pressione combinato con un gradiente di flusso (configurazione 940 Professional IC

Vario ONE/HPG) (Figura 1). Il rilevamento amperometrico è stato eseguito dopo PCR con 300 mmol/L NaOH per migliorare la sensibilità di rilevamento del metodo.

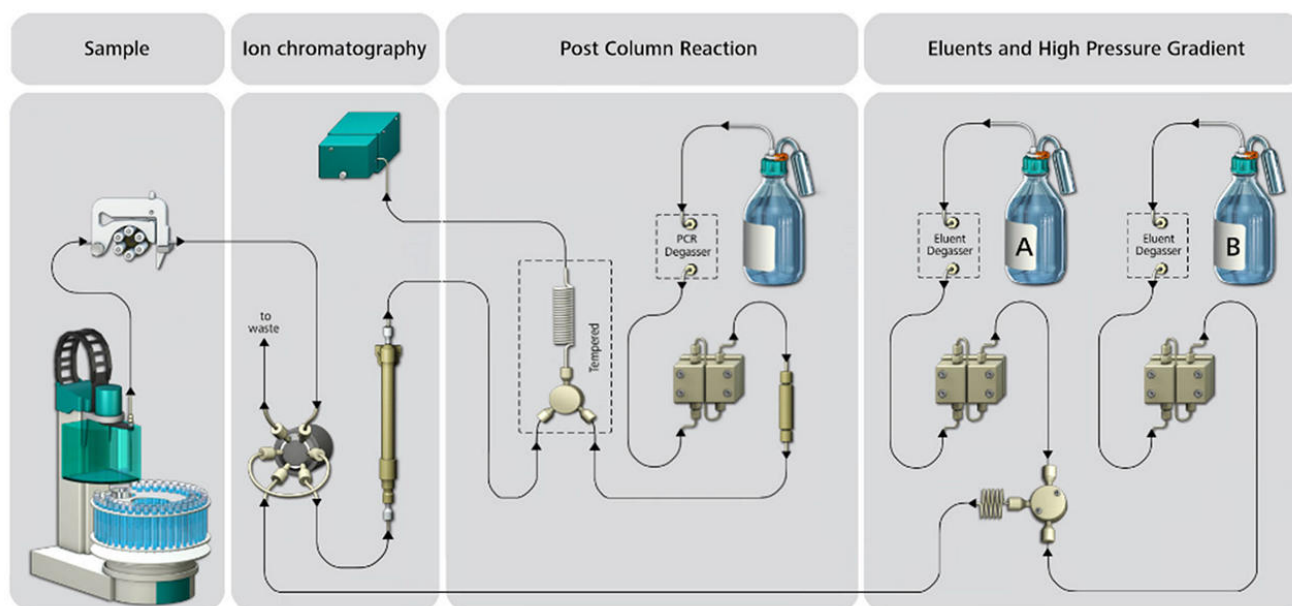


Figure 1. Schema che mostra il percorso del flusso del campione dall'introduzione del campione con un 858 Professional Sample Processor, al 940 Professional IC con colonna (Metrosep Carb 2 - 250/4.0), rivelatore amperometrico (cella Wall-Jet con elettrodi Au e Pd) e l'alto pompe a gradiente di pressione per l'eluente A (UPW) e B (200 mmol/L NaOH e 1 mmol/L NaAc). Per aumentare la sensibilità, si aggiungono 300 mmol/L di NaOH come soluzione di PCR (Post Column Reaction). La cromatografia per anioni è spesso indicata come HPAEC (cromatografia a scambio anionico ad alte prestazioni), ma qui è semplificata con il termine generico di IC.

RISULTATI

Per i due campioni di caffè istantaneo analizzati, il contenuto di carboidrati liberi (risultati non mostrati) dopo la dissoluzione in UPW variava da 0,2 a 27 g/kg. Le frazioni di massa mostrano modelli unici per entrambi i campioni. Nel marchio Jacobs dominano arabinosio e mannosio (≈ 35 in massa%), mentre i picchi maggiori per il marchio di caffè istantaneo fornito dai clienti corrispondevano a glucosio (≈ 20 in massa%) e fruttosio (quasi 40 in massa%). Il contenuto totale di carboidrati dopo l'idrolisi acida è particolarmente cruciale per il controllo di qualità e la valutazione della purezza (Tabella 1). La norma ISO 24114 stabilisce limiti per il glucosio totale e lo xilosio

rispettivamente del 2,32 e dello 0,42%. Il contenuto totale di carboidrati di entrambi i campioni testati mostra una distribuzione distinta (Tabella 1 e figura 2). Entrambi i marchi contengono frazioni simili di galattosio e arabinosio. I contenuti di glucosio, mannosio e xilosio differiscono in un intervallo più ampio.

Osservando più da vicino i criteri di qualità, la purezza del caffè Jacobs GOLD può essere approvata come prodotto non adulterato. Il marchio fornito dal cliente indica adulterazione e fallirebbe un rispettivo controllo.

Tabella 1. Concentrazioni di carboidrati (g/kg) determinate mediante IC-PCR-PAD dopo idrolisi acida in due campioni di caffè istantaneo (Jacobs coffee GOLD e un campione del cliente). Il contenuto totale di carboidrati è espresso come le singole frazioni di massa (M%) di mannitolo, arabinosio, galattosio, glucosio, mannosio e xilosio (ISO 11292). Inoltre, è possibile quantificare ramnosio, fruttosio, ribosio e saccarosio (figura 2). Gli indicatori di purezza sono dati dai limiti per il glucosio totale (<2,32%) e lo xilosio totale (<0,42%) (ISO 24114:2011).

	Jacobs (g/kg) [M%]	Cliente (g/kg) [M%]
Mannitolo	ND	9 [2,6%]
Arabinosio	28,3 [6,5%]	36 [10,2%]
Galattosio	190,0 [43,9%]	197,8 [56,2%]
Glucosio	6,3 [1,5%]	34,2 [9,7%]
Mannosio	207,1 [47,8%]	68,5 [19,4%]
Xilosio	1,2 [0,3%]	6,7 [1,9%]
Totale carboidrato contenuto	436,9 [100%]	352,2 [100%]

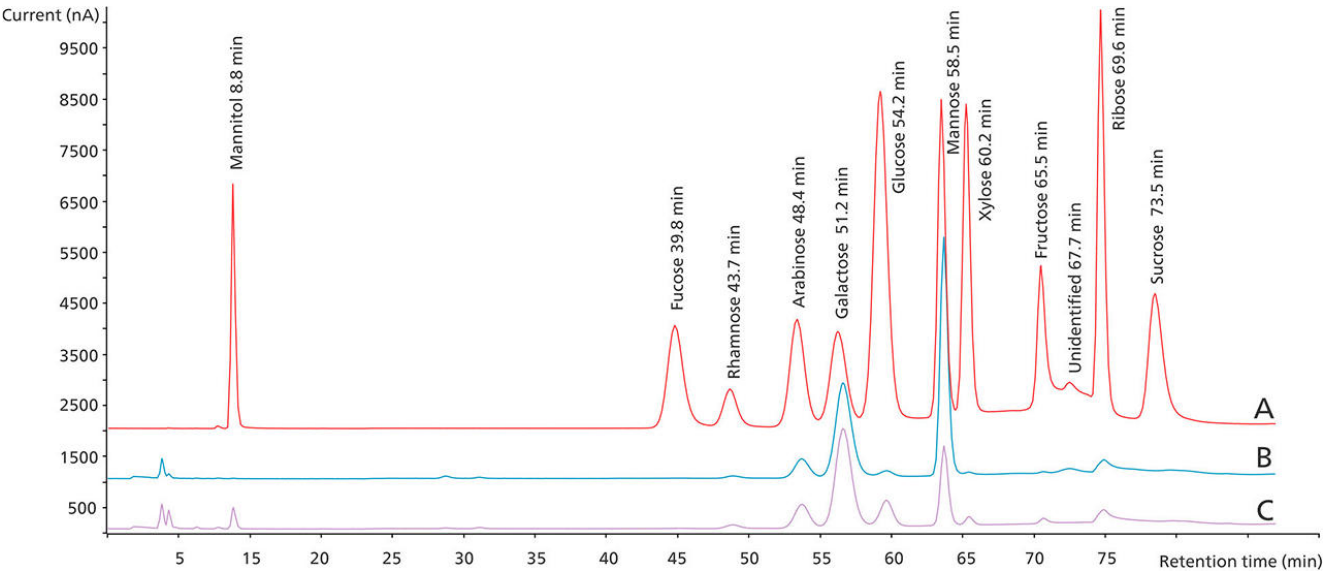


Figure 2. Sovrapposizione del cromatogramma di (A) uno standard di carboidrati misti da 5 mg/kg e i campioni diluiti (1:10) di (B) caffè Jacobs e (C) caffè istantaneo del cliente dopo l'idrolisi acida. La separazione e il rilevamento sono stati eseguiti secondo la configurazione elencata nella Figura 1. Per prestazioni migliori, la quantificazione del fruttosio e del ribosio deve essere eseguita utilizzando l'altezza del picco.

CONCLUSIONE

Con il metodo presentato i requisiti di **AAAC 996.04** e **ISO 11292** per la determinazione dei carboidrati disciolti e totali nel caffè solubile sono soddisfatti. Un'eccellente separazione dei carboidrati richiesti può essere ottenuta combinando un gradiente binario ad alta pressione e un gradiente di flusso su una colonna Metrosep Carb 2. Un ulteriore vantaggio di questo metodo è che elimina la sovrapposizione dei picchi tra ramnosio e arabinosio, un vincolo generale del metodo ISO. Nel complesso, è possibile eseguire la

quantificazione precisa di tutti i carboidrati necessari più fucosio e ribosio.

L'automazione e la preparazione del campione in linea sono ulteriori miglioramenti per aumentare la produttività del campione e risparmiare tempo e denaro in laboratorio.

L'IC con rilevamento amperometrico è un'aggiunta preziosa robusta, altamente specifica e precisa per i laboratori analitici che eseguono analisi dei carboidrati.

RIFERIMENTI

1. Araya e Rao (2007), Crit Rev Food Sci Nutr. 47(1), 51–67.
2. Girard et al. (2006), J AOAC Int. 89(4), 99–1003.
3. Dichiarazione AFCASOLE (Associazione dei produttori europei di caffè solubili) sulla genuinità dei caffè solubili del 6 luglio 1995; come confermato dalla ECF (European Coffee Federation, successore legale di AFCASOLE) nel gennaio 2007.

CONTACT

Metrohm Italiana Srl
Via G. Di Vittorio, 5
21040 Origgio (VA)

info@metrohm.it

CONFIGURAZIONE

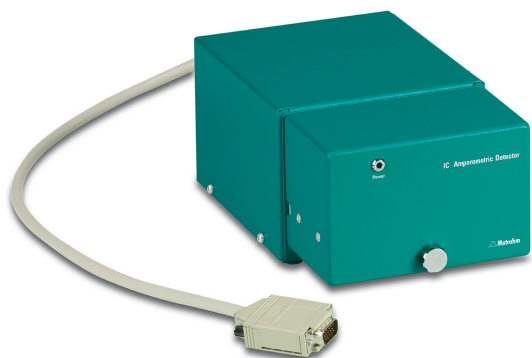


940 Professional IC Vario ONE/HPG

Il 940 Compact IC Vario ONE/HPG è l'intelligente strumento IC **senza soppressione** con **gradiente binario di alta pressione**. Con i 942 Extension Module può essere espanso fino a un sistema gradiente quaternario. Lo strumento può essere impiegato con qualsiasi metodo di separazione e di rilevamento.

Campi d'impiego tipici:

- Analisi dei carboidrati con rilevamento amperometrico pulsato (PAD) dopo l'eluizione del gradiente
- Applicazioni di gradienti con rilevazione UV/VIS con o senza derivatizzazione post-colonna



IC Amperometric Detector

Rilevatore amperometrico compatto e intelligente per gli strumenti IC intelligenti. La straordinaria selettività grazie alle quattro modalità di misurazione: DC, PAD, flexIPAD e CV, nonché l'eccellente rapporto segnale/rumore e la rapidissima disponibilità per la misurazione garantiscono la massima precisione della misurazione.



Metrosep Carb 2 - 250/4,0

La colonna IC Metrosep Carb 2 - 250/4,0 è particolarmente adatta per la determinazione di carboidrati utilizzando eluenti alcalini e rivelazione amperometrica pulsata. La colonna di scambio anionico altamente capacitiva è basata su un copolimero di stirene/divinilbenzene. È stabile nell'intervallo di pH da 0 a 14 e separa monosaccaridi e disaccaridi. Inoltre, è adatta anche per l'analisi di alcoli degli zuccheri, anidrozuccheri, amminozuccheri ecc. La variante 250 mm della colonna di separazione Metrosep Carb 2 è ottimizzata per le separazioni complesse.



858 Professional Sample Processor – Pump

L'858 Professional Sample Processor – Pump per il trattamento di campioni con volumi compresi tra 500 µL e 500 mL. Il trasferimento del campione avviene o attraverso la pompa peristaltica bidirezionale a doppio canale integrata o tramite un 800 Dosino.



942 Extension Module Vario HPG

Il 942 Extension Module Vario HPG è un modulo di estensione per la famiglia di strumenti Professional IC Vario. Consente l'alimentazione di un ulteriore eluente in un **sistema per gradienti ad alta pressione** Professional IC Vario.

Applicazioni tipiche

- Sistemi con gradiente di alta pressione con fino a quattro eluenti



Equipaggiamento IC cella Wall-Jet: Carb (Au, Pd)

Equipaggiamento composto da cella Wall-Jet con accessori supplementari. Per l'analisi dei carboidrati con un elettrodo da lavoro in oro e uno di riferimento Pd.