



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.

## CAMPIONE E PREPARAZIONE CAMPIONE

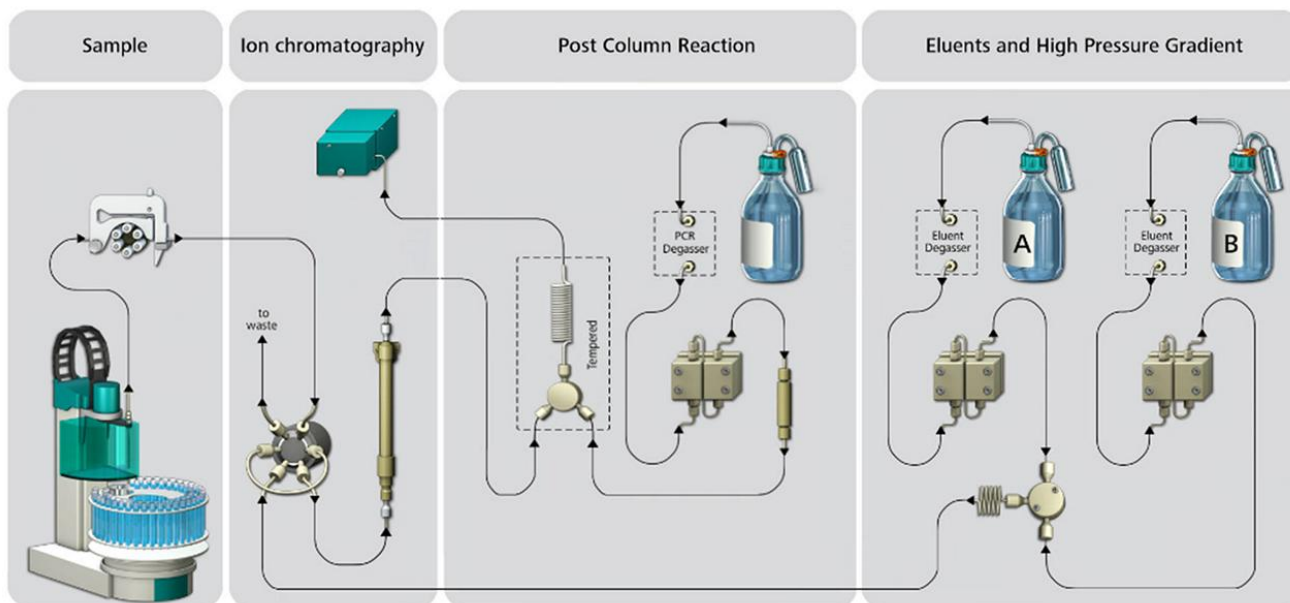
Le polveri di caffè istantaneo ( $\approx 300$  mg per 100 ml) di due marche di caffè istantaneo (Jacobs coffee GOLD e un campione del cliente) sono state preparate come descritto in AOAC e ISO per determinare la quantità di carboidrati liberi (arabinosio, fruttosio, galattosio, glucosio, mannosio, saccarosio 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  $100^\circ\text{C}$  (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  $300 \text{ mmol/L}$  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 ( $\approx 35$  in massa%), mentre i picchi maggiori per il marchio di caffè istantaneo fornito dai clienti corrispondevano a glucosio ( $\approx 20$  in massa%) e fruttosio (quasi 40 in massa%).

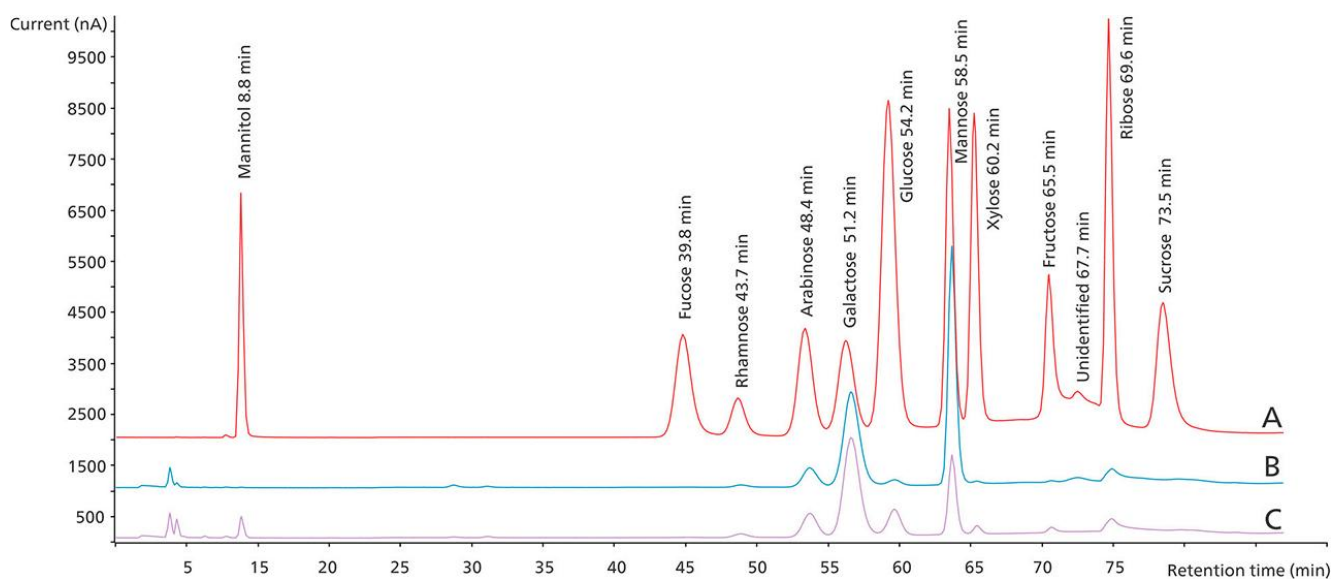
Il contenuto totale di carboidrati dopo l'idrolisi acida è particolarmente cruciale per il controllo di qualità e la valutazione della purezza (Tabella 1). La norma ISO 24114 stabilisce limiti per il glucosio totale e lo xilosio

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](mailto:info@metrohm.it)

## CONFIGURAZIONE

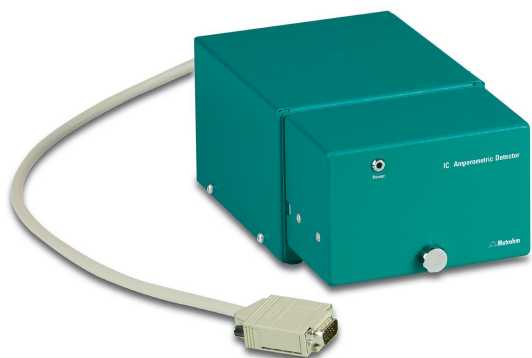


### 940 Professional IC Vario ONE/HPG

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, aminosaccaridi 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  $\mu$ L e 500 mL. Il trasferimento del campione avviene 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.



#### MagIC Net 4.0 Professional: 1 licenza

Programma PC professionale per il controllo di tutti i sistemi Professional IC intelligenti, strumenti Compact IC e periferiche, di tutti i rilevatori e dei vari autocampionatori, 800 Dosino, 771 Compact Interface ecc. Il software consente il controllo, l'acquisizione, la valutazione e il monitoraggio dei dati, nonché la creazione di documenti delle analisi ionocromatografiche.

Interfaccia utente grafica per operazioni di routine, ampi programmi di banche dati, sviluppo di metodi, configurazione e controllo manuale del sistema; amministrazione utenti molto flessibile, operazioni su banche dati potenti, ampie funzioni di esportazione dei dati, generatore di documenti configurabile individualmente, controllo e monitoraggio di tutti i componenti di sistema e dei risultati della cromatografia.

MagIC Net Professional soddisfa per intero la normativa FDA 21 CFR Part 11 nonché la Buona pratica di laboratorio.

MagIC Net è disponibile in 16 lingue di dialogo: tedesco, inglese, cinese, cinese tradizionale, francese, italiano, spagnolo, portoghese, bulgaro, ceco, ungherese, giapponese, coreano, russo, slovacco, polacco

1 licenza

L'installazione e i documenti vengono forniti su una chiave USB.