



Application Note AN-P-086

Qualitätssicherung von Instantkaffee

Bestimmung der freien und gesamten Kohlenhydrate mit IC-PAD gemäß AOAC 996.04 und ISO 11292

Kaffee ist ein äußerst beliebtes Getränk und spielt eine bedeutende wirtschaftliche Rolle. Daher ist die Qualitätssicherung, einschließlich der Identifizierung von Verfälschungen im Kaffee, ein etablierter Prozess und ein Anliegen der Verbraucher.

Kohlenhydrate, die bis zu 50 % der rohen Kaffeebohnen ausmachen, fungieren als Geschmacks-, Viskositäts- und Aromastoffe [1]. Sie dienen auch als Echtheitsmerkmal, da echter löslicher Kaffee ausschließlich aus reinem Röstkaffee hergestellt wird [2,3]. Es gibt klare Spezifikationskriterien für die Qualitätsbewertung nach ISO 24114 und AFCASOLE (z.B. ein Grenzwert von <2,46% Gesamtglukose und

<0,45% Gesamtxylose, ausgedrückt als Massenanteil der Gesamtkohlenhydraten) [3]. AOAC 996.04 und ISO 11292 enthalten analytische Anforderungen für die Qualitätsprüfung von Instantkaffee im Hinblick auf die Analyse der freien und gesamten Kohlenhydrate. Die Ionenchromatographie (IC) ermöglicht die präzise Quantifizierung der erforderlichen Analyten Arabinose, Fructose, Galactose, Glucose, Mannose, Saccharose, Mannit und Xylose gemäß AOAC und ISO. Die vorgestellte IC-Methode ist äußerst empfindlich und verhindert eine mögliche Coelution von Analyten, wie z. B. mit Rhamnose.

PROBE UND PROBENVORBEREITUNG

Instantkaffeepulver (≈ 300 mg pro 100 ml) von zwei Instantkaffeeemarken (Jacobs Kaffee GOLD und eine Kundenprobe) wurden wie in AOAC und ISO beschrieben zubereitet, um die Menge an freien Kohlenhydraten (Arabinose, Fruktose, Galaktose, Glukose, Mannose, Saccharose und Mannitol) und Gesamtkohlenhydraten (Arabinose, Galaktose, Glukose, Mannose, Xylose und Mannitol) nach der Säurehydrolyse zu bestimmen.

Für die Bestimmung der freien Kohlenhydrate wurde

das Kaffeepulver in 100 ml Reinstwasser (UPW) aufgelöst und anschließend filtriert ($0,25\ \mu\text{m}$). Für die Gesamtkohlenhydratanalyse wurden die Kaffeepulver in HCl ($0,1\ \text{mol/L}$) bei $100\ ^\circ\text{C}$ (150 Minuten) hydrolysiert. Anschließend wurden die Proben mit Reinstwasser auf 100 mL verdünnt und durch eine Kombination aus Ag^+ - und H^+ -Kartuschen filtriert. Es wird eine 10- bis 50-fache Endverdünnung mit Reinstwasser empfohlen.

VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Die oben genannten Kohlenhydrate für die Analyse der gelösten (freien) und gesamten Kohlenhydrate wurden auf einer Metrosep Carb 2-Säule mit einem binären Hochdruckgradienten in Kombination mit einem Flussgradienten (940 Professional IC Vario

ONE/HPG-Konfiguration) basisliniengetrennt (**Abbildung 1**). Die amperometrische Detektion erfolgte nach einer Nachsäulenderivatisierung (PCR) mit $300\ \text{mmol/L NaOH}$, um die Nachweisempfindlichkeit der Methode zu verbessern.

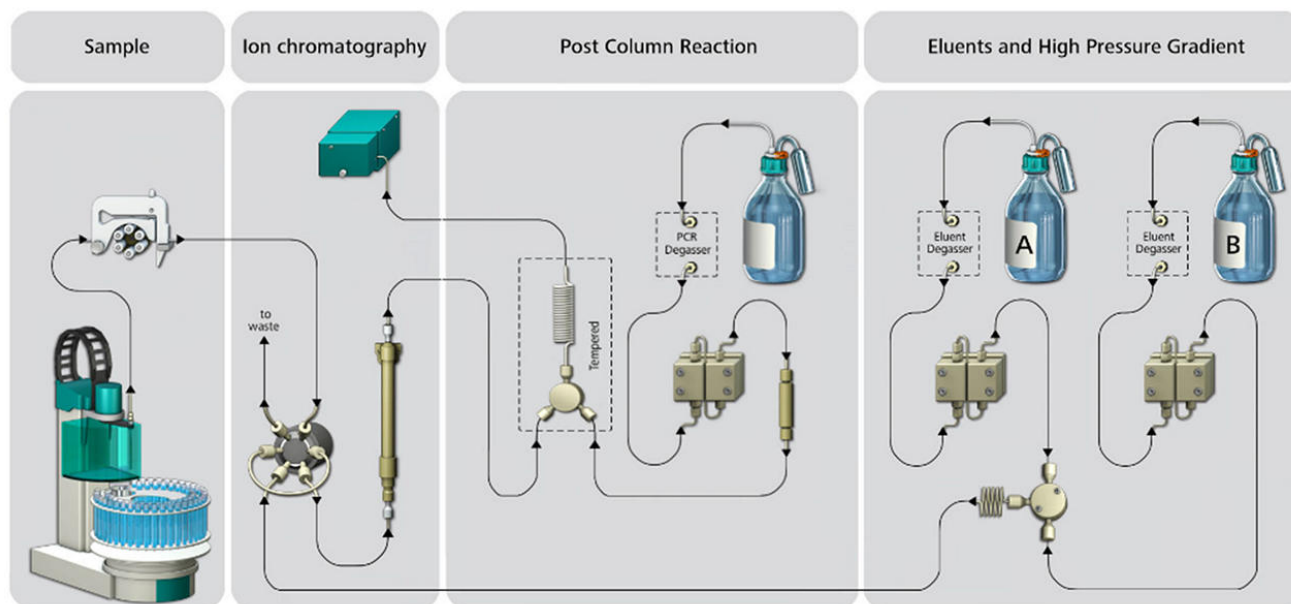


Abbildung 1. Schematische Darstellung des Probenflusses von der Probenaufnahme mit dem 858 Professional Sample Processor zum 940 Professional IC mit Säule (Metrosep Carb 2 - 250/4.0), amperometrischem Detektor (Wall-Jet-Zelle mit Au- und Pd-Elektroden) und den Hochdruckgradientenpumpen für Eluent A (Reinstwasser) und B ($200\ \text{mmol/L NaOH}$ und $1\ \text{mmol/L NaAc}$). Um die Empfindlichkeit zu erhöhen, wird $300\ \text{mmol/L NaOH}$ als PCR-Lösung (Post Column Reaction) eingesetzt. Die Chromatographie für Anionen wird oft als HPAEC (High Performance Anion Exchange Chromatography) bezeichnet, hier jedoch vereinfacht als IC bezeichnet.

Bei den beiden untersuchten Instantkaffeeproben lag der Gehalt an freien Kohlenhydraten (Ergebnisse nicht gezeigt) nach dem Auflösen in Reinstwasser zwischen 0,2 und 27 g/kg. Die Massenverteilung in beiden Proben zeigte deutliche Muster auf. Im Kaffee von Jacobs bildeten Arabinose und Mannose die maßgeblichen Bestandteile ($\approx 35\%$), während bei der vom Kunden bereitgestellten Instantkaffeemarke Glucose ($\approx 20\%$) und Fructose (nahezu 40%) die größten Anteile ausmachten. Der Gesamtkohlenhydratgehalt nach der Säurehydrolyse ist besonders wichtig für die Qualitätskontrolle und die Reinheitsbewertung (Tabelle 1). Die Grenzwerte für den Gesamtgehalt an Glucose und Xylose liegen

gemäß der Norm ISO 24114 bei von 2,32 bzw. 0,42 %. Der Gesamtkohlenhydratgehalt der beiden untersuchten Proben weist eine deutliche Verteilung auf (Tabelle 1 und Abbildung 2). Beide Marken enthalten ähnliche Anteile an Galaktose und Arabinose. Die Gehalte an Glucose, Mannose und Xylose variieren jedoch stärker. Eine genaue Betrachtung der Qualitätskriterien zeigt, dass Jacobs Kaffee GOLD als authentisches Produkt eingestuft werden kann. Im Gegensatz dazu weist die vom Kunden bereitgestellte Marke Anzeichen einer Verfälschung auf und würde eine entsprechende Kontrolle nicht bestehen.

Tabelle 1. Kohlenhydratkonzentrationen (g/kg), bestimmt mittels IC-PCR- PAD nach saurer Hydrolyse in zwei Instantkaffeeproben (Jacobs Kaffee GOLD und eine Kundenprobe). Der Gesamtkohlenhydratgehalt wird als die einzelnen Massenanteile (M%) von Mannitol, Arabinose, Galaktose, Glukose, Mannose und Xylose angegeben (ISO 11292). Zusätzlich ist die Quantifizierung von Rhamnose, Fructose, Ribose und Saccharose möglich (Abbildung 2). Reinheitsindikatoren sind die Grenzwerte für Gesamtglukose ($\leq 2,32\%$) und Gesamtxylose ($\leq 0,42\%$) (ISO 24114:2011).

	Jacobs (g/kg) [M%]	Kunde (g/kg) [M%]
Mannitol	ND	9 [2,6%]
Arabinose	28,3 [6,5%]	36 [10,2%]
Galaktose	190,0 [43,9%]	197,8 [56,2%]
Glucose	6,3 [1,5%]	34,2 [9,7%]
Mannose	207,1 [47,8%]	68,5 [19,4%]
Xylose	1,2 [0,3%]	6,7 [1,9%]
Gesamtkohlenhydratgehalt	436,9 [100%]	352,2 [100%]

ERGEBNISSE

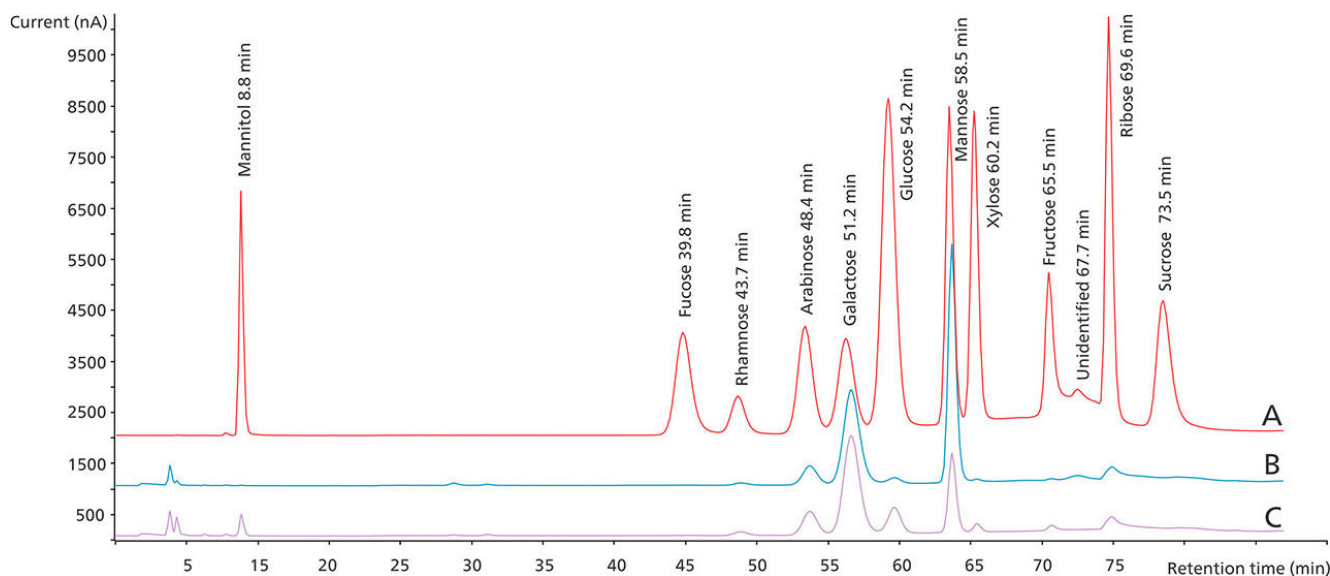


Abbildung 2. Chromatogrammüberlagerung von (A) einem gemischten Kohlenhydratstandard von 5 mg/kg und den verdünnten (1:10) Proben von (B) Jacobs-Kaffee und (C) Kunden-Instantkaffee nach saurer Hydrolyse. Die Trennung und der Nachweis erfolgten gemäß dem in Abbildung 1 dargestellten Aufbau. Um eine bessere Leistung zu erzielen, sollte die Quantifizierung von Fructose und Ribose anhand der Peakhöhe erfolgen.

FAZIT

Die vorgestellte Methode erfüllt die Anforderungen der **AOAC 996.04** und der **ISO 11292** zur Bestimmung von gelösten und Gesamtkohlenhydraten in Instantkaffee. Durch die Kombination eines binären Hochdruckgradienten und eines Flussgradienten auf einer Metrosep Carb 2-Säule kann eine sehr gute Trennung der gewünschten Kohlenhydrate erreicht werden. Ein zusätzlicher Vorteil dieser Methode ist, dass eine Peaküberlappung von Rhamnose und Arabinose, ein häufiges Problem bei der ISO-Methode, vermieden wird. Insgesamt ermöglicht die

Methode eine präzise Quantifizierung aller benötigten Kohlenhydrate sowie von Fucose und Ribose. Die Automatisierung und Inline-Probenvorbereitung sind weitere Optimierungen, die den Probendurchsatz erhöhen und sowohl Zeit als auch Kosten für das Labor einsparen. Die IC mit amperometrischer Detektion ist eine robuste, hochspezifische und präzise Methode, die eine wertvolle Bereicherung für analytische Labore, die Kohlenhydratanalysen durchführen, darstellt.

REFERENZEN

1. Araya and Rao (2007), Crit Rev Food Sci Nutr. 47(1), 51–67.
2. Girard et al. (2006), J AOAC Int. 89(4), 99–1003.
3. AFCASOLE (Association of European producers of soluble coffee) statement on the authenticity of soluble coffees of 6 July 1995; as confirmed by the ECF (European Coffee Federation, legal successor of AFCASOLE) in January 2007.

CONTACT

Metrohm Inula
Shuttleworthstraße 25
1210 Wien

office@metrohm.at

GERÄTEKONFIGURATION

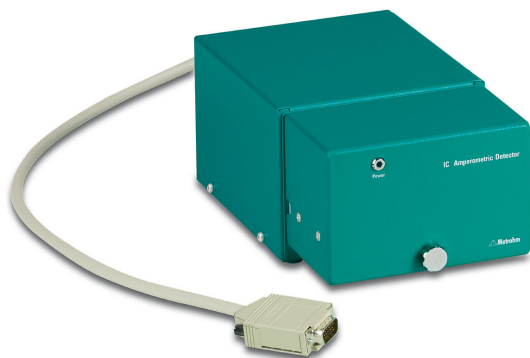


940 Professional IC Vario ONE/HPG

Der 940 Professional IC Vario ONE/HPG ist das intelligente IC-Gerät **ohne Suppression** mit **binärem Hochdruckgradient**. Es kann mit 942 Extension Modulen bis zu einem quaternären Gradientensystem ausgebaut werden. Das Gerät kann mit beliebigen Trenn- und Detektionsmethoden eingesetzt werden.

Typische Anwendungsgebiete:

- Kohlenhydratanalytik mit gepulster amperometrischer Detektion (PAD) nach Gradientenelution
- Gradientenanwendungen mit UV/VIS-Detektion mit oder ohne Nachsäulenderivatisierung



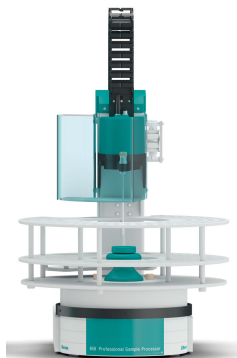
IC Amperometric Detector

Kompakter und intelligenter amperometrischer Detektor zu den intelligenten IC Geräten. Hervorragende Selektivität durch die vier Messmodi: DC, PAD, flexIPAD und CV, sowie das exzellente Signal/Rausch-Verhältnis und die sehr schnelle Messbereitschaft garantieren höchste Präzision der Messung.



Metrosep Carb 2 - 250/4.0

Die IC-Säule Metrosep Carb 2 - 250/4.0 eignet sich speziell für die Bestimmung von Kohlenhydraten unter Verwendung alkalischer Eluenten und der gepulsten amperometrischen Detektion. Die hochkapazitive Anionenaustauschsäule basiert auf einem Styrol/Divinylbenzol-Copolymer. Sie ist im Bereich von pH = 0–14 stabil und trennt Mono- und Disaccharide. Darüber hinaus ist sie auch für die Analyse von Zuckeralkoholen, Anhydrozucker, Aminozucker usw. geeignet. Die 250-mm-Variante der Metrosep Carb 2 Trennsäule ist für komplexe Trennungen optimiert.



858 Professional Sample Processor – Pump

Der 858 Professional Sample Processor – Pump verarbeitet Proben von 500 µL bis 500 mL. Der Probentransfer erfolgt entweder mit der eingebauten bidirektionalen Zweikanal-Peristaltikpumpe oder mittels eines 800 Dosino.



942 Extension Module Vario HPG

Das 942 Extension Module Vario HPG ist ein Erweiterungsmodul für die Gerätefamilie Professional-IC-Vario. Es erlaubt die Zuführung eines weiteren Eluenten in einem Professional-IC-Vario-Hochdruckgradientensystem.

Typische Anwendungen

- Hochdruckgradientensysteme mit bis zu vier Eluenten



IC-Ausrüstung Wall-Jet-Zelle: Carb (Au, Pd)

Ausrüstung bestehend aus Wall-Jet-Zelle mit zusätzlichem Zubehör. Für Kohlenhydratanalytik mit einer Goldarbeits- und einer Pd-Referenzelektrode.