



Application Note AN-P-086

Garantía de calidad del café instantáneo.

Determinación de carbohidratos libres y totales con IC-PAD según AOAC 995.13 e ISO 11292

El café es una bebida extremadamente popular con una gran importancia económica. El aseguramiento de la calidad, incluido el rastreo de adulterantes en el café, es por lo tanto un proceso establecido y un requisito para los consumidores.

Los carbohidratos que constituyen hasta el 50 % de los granos de café crudos funcionan como agentes de sabor, viscosidad y aroma [1]. También sirven como trazadores de autenticidad, porque el café soluble sin adulterar se elabora exclusivamente con café tostado puro [2,3]. Existen criterios de especificación claros para la evaluación de la calidad según ISO 24114 y AFCASOLE (p. ej., un límite de <2,46 % de glucosa

total y <0,45 % de xilosa total expresados como fracciones de masa de carbohidratos totales) [3]. AOAC 995.13 e ISO 11292 brindan requisitos analíticos para las pruebas de calidad del café instantáneo con respecto al análisis de carbohidratos libres y totales. La cromatografía iónica (CI) permite la cuantificación precisa de los analitos obligatorios arabinosa, fructosa, galactosa, glucosa, manosa, sacarosa, manitol y xilosa de acuerdo con la AOAC y la ISO. El método de CI presentado es extremadamente sensible y supera un reto muy común de posibles coeluciones de analitos, como con la ramnosa.

MUESTRAS Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Se prepararon polvos de café instantáneo (≈ 300 mg por 100 mL) de dos marcas de café instantáneo (Jacobs Coffee GOLD y una muestra de un cliente) como se describe en AOAC e ISO para determinar la cantidad de carbohidratos libres (arabinosa, fructosa, galactosa, glucosa, manosa, sacarosa y manitol) y carbohidratos totales (arabinosa, galactosa, glucosa, manosa, xilosa y manitol) después de la hidrolización ácida.

Para la determinación de carbohidratos libres, los polvos de café se disolvieron en 100 mL de agua ultrapura (UPW) y luego se filtraron ($0.25 \mu\text{m}$). Para el análisis de carbohidratos totales, los polvos de café se hidrolizaron en HCl ($0,1 \text{ mol/L}$) a 100°C (150 minutos), se diluyeron a 100 mL con UPW y se filtraron con $\text{Ag}^+\text{-H}^+$ -combinación de cartuchos. Se recomienda una dilución final (10 a 50 veces) con UPW.

EXPERIMENTO

Los carbohidratos especificados anteriormente para el análisis de carbohidratos disueltos (libres) y totales se separaron en línea base en una columna Metrosep Carb 2 con un gradiente binario de alta presión combinado con un gradiente de flujo (configuración

940 Professional IC Vario ONE/HPG) (**Figura 1**). La detección amperométrica se realizó después de la PCR con 300 mmol/L de NaOH para mejorar la sensibilidad de detección del método.

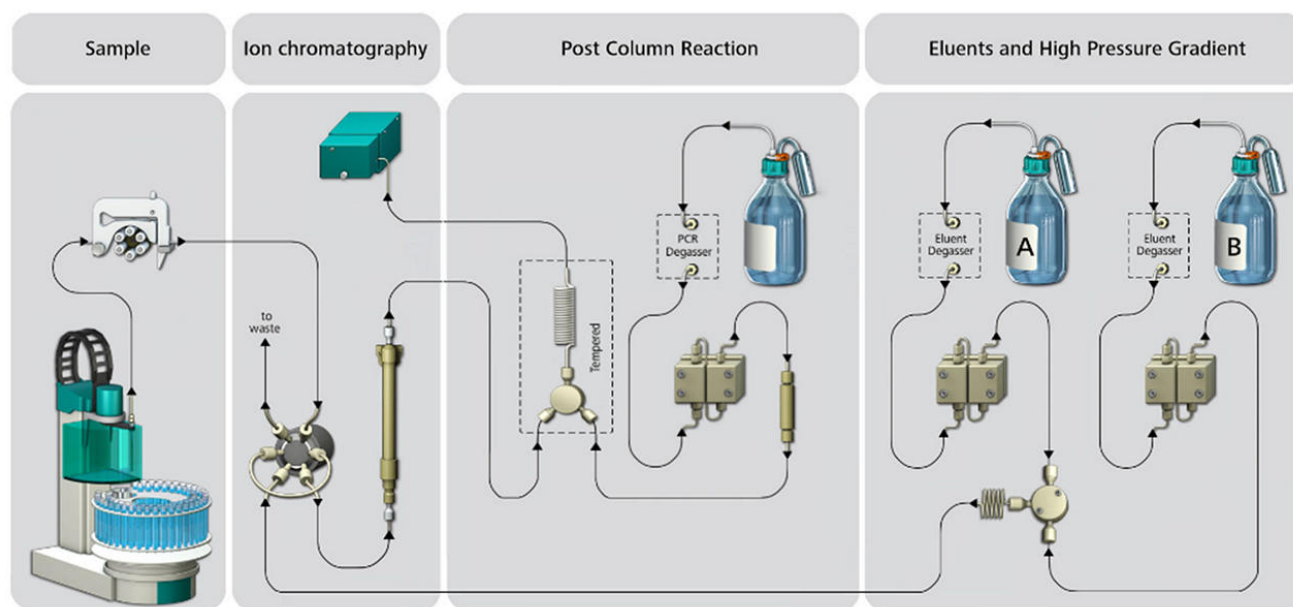


Figure 1. Esquema que muestra la ruta del flujo de la muestra desde la introducción de la muestra con un 858 Professional Sample Processor hasta el 940 Professional IC con columna (Metrosep Carb 2 - $250/4.0$), detector amperométrico (celda Wall-Jet con electrodos de Au y Pd) y el alto bombas de gradiente de presión para el eluyente A (UPW) y B (200 mmol/L NaOH y 1 mmol/L NaAc). Para aumentar la sensibilidad, se agregan 300 mmol/L de NaOH como una solución de PCR (reacción posterior a la columna). La cromatografía de aniones a menudo se denomina HPAEC (cromatografía de intercambio de aniones de alto rendimiento), pero aquí se simplifica al término genérico de IC.

Para las dos muestras de café instantáneo analizadas, el contenido de carbohidratos libres (no se muestran los resultados) después de la disolución en UPW osciló entre 0,2 y 27 g/kg. Las fracciones de masa muestran patrones únicos para ambas muestras. En la marca Jacobs dominan la arabinosa y la manosa (≈ 35% en masa), mientras que los picos más grandes para la marca de café instantáneo proporcionado por el cliente correspondieron a glucosa (≈ 20% en masa) y fructosa (casi 40% en masa). El contenido total de carbohidratos después de la hidrólisis ácida es especialmente crucial para el control de calidad y la evaluación de la pureza (tabla

1). La ISO 24114 establece límites para la glucosa total y la xilosa de 2,32 y 0,42 %, respectivamente. El contenido total de carbohidratos de ambas muestras analizadas muestra una distribución distinta (tabla 1 y Figura 2). Ambas marcas contienen fracciones similares de galactosa y arabinosa. Los contenidos de glucosa, manosa y xilosa difieren en un rango más amplio. Mirando más de cerca los criterios de calidad, la pureza del café Jacobs GOLD puede aprobarse como producto sin adulterar. La marca proporcionada por el cliente indica adulteración y fallaría un control respectivo.

Tabla 1. Concentraciones de carbohidratos (g/kg) determinadas por IC-PCR-PAD después de la hidrólisis ácida en dos muestras de café instantáneo (Jacobs Coffee GOLD y una muestra de un cliente). El contenido total de carbohidratos se expresa como fracciones de masa individuales (M%) de manitol, arabinosa, galactosa, glucosa, manosa y xilosa (ISO 11292). Además, es posible la cuantificación de ramnosa, fructosa, ribosa y sacarosa (Figura 2). Los indicadores de pureza vienen dados por los límites de glucosa total (<2,32%) y xilosa total (<0,42%) (ISO 24114:2011).

	Jacobs (g/kg) [METRO%]	Cliente (g/kg) [METRO%]
Manitol	ND	9 [2,6%]
Arabinosa	28,3 [6,5%]	36 [10,2%]
Galactosa	190,0 [43,9%]	197,8 [56,2%]
Glucosa	6,3 [1,5%]	34,2 [9,7%]
Manosa	207,1 [47,8%]	68,5 [19,4%]
Xilosa	1,2 [0,3%]	6,7 [1,9%]
Contenido total de carbohidrato	436,9 [100%]	352,2 [100%]

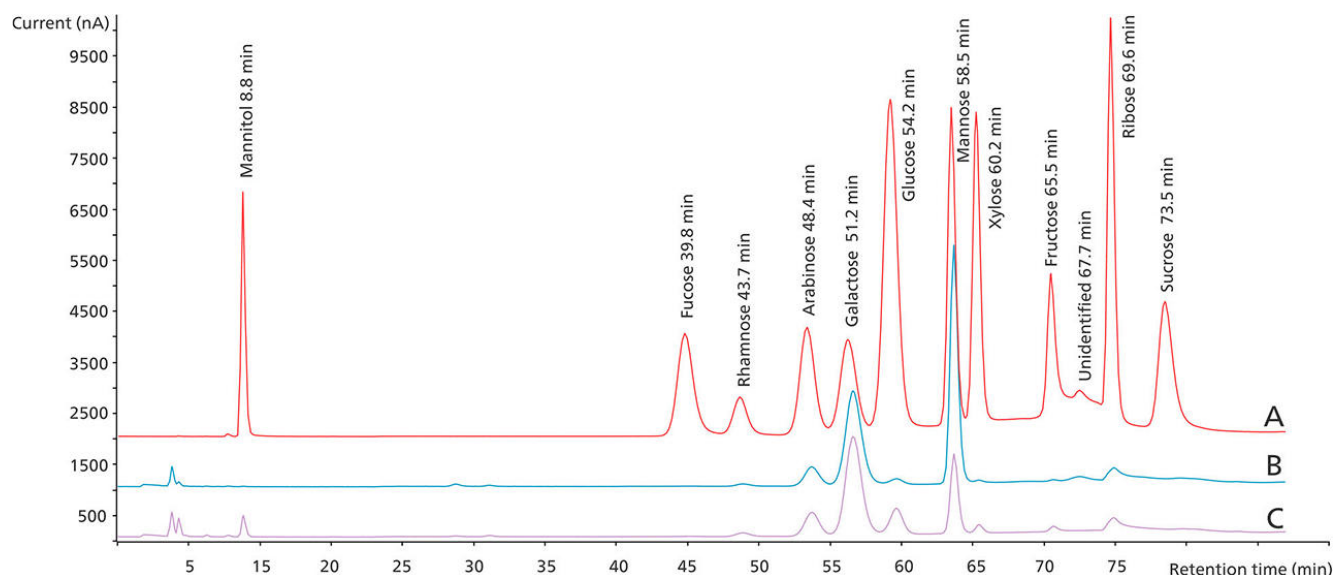


Figure 2. Superposición de cromatograma de (A) un estándar de carbohidratos mixtos de 5 mg/kg y las muestras diluidas (1:10) de (B) café Jacobs y (C) café instantáneo del cliente después de la hidrólisis ácida. La separación y la detección se realizaron de acuerdo con la configuración que se muestra en la Figura 1. Para obtener un mejor rendimiento, la cuantificación de la fructosa y la ribosa debe realizarse utilizando la altura del pico.

CONCLUSIÓN

Con el método presentado los requisitos de **AOAC 995.13** y **Norma ISO 11292** para la determinación de carbohidratos disueltos y totales en café instantáneo. Se puede lograr una separación excelente de los carbohidratos necesarios mediante la combinación de un gradiente binario de alta presión y un gradiente de flujo en una columna Metrosep Carb 2. Un beneficio adicional de este método elimina la superposición de picos entre la ramnosa y la arabinosa, una restricción general del método ISO. En general, se puede realizar

la cuantificación precisa de todos los carbohidratos requeridos más fucosa y ribosa.

La automatización y la preparación de muestras en línea son mejoras adicionales para aumentar el rendimiento de las muestras y ahorrar tiempo y dinero en el laboratorio.

La IC con detección amperométrica es una valiosa adición robusta, altamente específica y precisa para los laboratorios analíticos que realizan análisis de carbohidratos.

REFERENCIAS

1. Arya, M.; Rao, L. J. M. An Impression of Coffee Carbohydrates. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2007, 47 (1), 51–67.
<https://doi.org/10.1080/10408390600550315>.
2. Girard, P.; Stöber, P.; Blanc, M.; Prodolliet, J. Carbohydrate Specification Limits for the Authenticity Assessment of Soluble (Instant) Coffee: Statistical Approach. *J AOAC Int* 2006, 89 (4), 999–1003.
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 Hispania
Calle Aguacate 15
28044 Madrid

mh@metrohm.es

CONFIGURACIÓN

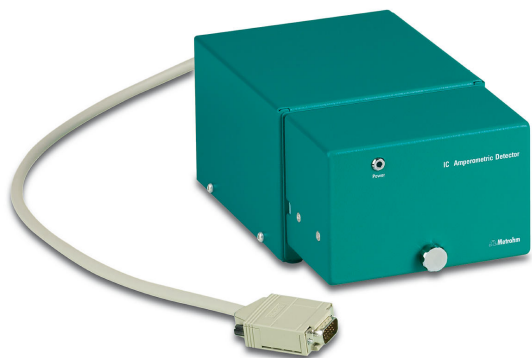


940 Professional IC Vario ONE/HPG

El 940 Professional IC Vario ONE/HPG es un aparato CI inteligente **sin supresión** con **gradiente de alta presión binario**. Con el 942 Extension Module se puede ampliar hasta un sistema de gradiente cuaternario. El aparato se puede emplear con cualquier método de separación o de detección.

Ámbitos típicos de aplicación:

- Análisis de hidratos de carbono con detección amperométrica pulsada (PAD) después de elución de gradiente
- Aplicaciones de gradiente con detección UV/VIS con o sin derivatización post-columna



IC Amperometric Detector

Detector amperométrico inteligente y compacto para los aparatos CI inteligentes. La extraordinaria selectividad mediante los cuatro modos de medida: DC, PAD, flexIPAD y CV; así como su excelente relación señal/ruido y su rápida disponibilidad para la medida, garantizan una gran precisión de la medida.



Metrosep Carb 2 - 250/4,0

La columna CI Metrosep Carb 2 - 250/4,0 es particularmente apta para la determinación de carbohidratos empleando eluyentes alcalinos y la detección amperométrica por impulsos. El material de la columna de intercambio de aniones de alta capacidad ha sido realizado a base de un copolímero de estireno-divinilbenceno. Es estable dentro de la gama de pH = 0-14 y separa monosacáridos y disacáridos. Además, también es apta para el análisis de alcoholes de azúcar, anhidroazúcares, aminoazúcares, etc. La variante de 250 mm de la columna de separación Metrosep Carb 2 está optimizada para separaciones complejas.



858 Professional Sample Processor – Pump

El 858 Professional Sample Processor – Pump procesa muestras de 500 µL a 500 mL. La transferencia de muestras se realiza por medio de la bomba peristáltica de dos canales bidireccional integrada o con un 800 Dosino.



942 Extension Module Vario HPG

El módulo 942 Extension Vario HPG es un módulo de ampliación para la familia de aparatos Professional-IC-Vario. Permite añadir otro eluyente en un sistema de gradientes de alta presión **Professional IC Vario**.

Aplicaciones típicas

- Sistemas de gradiente de alta presión con hasta cuatro eluyentes



Juego de accesorios CI de celda Wall-Jet: carb (Au, Pd)

Juego de accesorios compuesto por celda Wall-Jet con accesorios adicionales. Para el análisis de hidrato de carbono con un electrodo de trabajo de oro y un electrodo de referencia Pd.