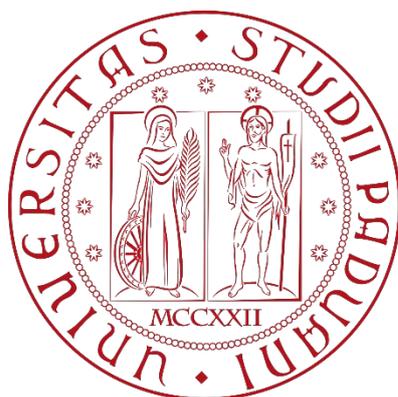


UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
DIPARTIMENTO DI AGRARIA E MEDICINA
VETERINARIA



Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Alimentari

ADULTERAZIONI DEL CAFFÈ

E TECNICHE DI ANALISI

Relatore: Prof. Vincenzi Simone

Laureando: Forte Giacomo

Matricola n.1172690

A.A 2022-2023

Introduzione

Capitolo 1. Fondamenti teorici: Il caffè

1.1 Il caffè, una bevanda “ricca come l’oro”

1.2 Cenni storici

1.3 Cafficoltura

1.4 Botanica

1.5 Chimica

Capitolo 2. Il commercio del caffè

2.1 ICO-Organizzazione internazionale del caffè

2.2 Esportazioni

2.3 Fondamenti dell’adulterazione nel caffè

2.4 Normativa e leggi esistenti per contrastare e prevenire l’adulterazione

Capitolo 3. L’adulterazione

3.1 Focus sulla frode, tecniche di analisi utili

3.2 NIR

3.3 NMR

3.4 Spettroscopia UV-Vis

3.5 Spettroscopia LIBS

3.6 Cromatografia

3.7 Spettroscopia FTIR

3.8 Adulterazione della miscela arabica con robusta

Capitolo 4. L’utilizzo della biologia molecolare

4.1 Analisi genetica, uno sguardo al futuro

Conclusione

Bibliografia e Sitografia

Riassunto

Il presente elaborato vede come protagonista una delle bevande più amate e consumate al mondo, con una storia ricca ed una vasta varietà di aromi e profumi: il caffè.

L'aumento della domanda ed il valore economico associato al caffè hanno portato a una crescente preoccupazione riguardo alla sua autenticità e integrità, infatti l'adulterazione, ovvero l'aggiunta o la sostituzione di componenti di minor valore o di qualità inferiore nella miscela, rappresenta una minaccia significativa per l'industria e per i consumatori.

La rilevazione accurata e tempestiva dell'adulterazione nel caffè è diventata cruciale per garantire qualità, sicurezza e autenticità del prodotto finale. A tal fine, negli ultimi anni, molte tecniche analitiche sono state sviluppate e applicate per identificare le frodi, tra queste, le tecniche di analisi molecolare stanno emergendo come strumenti promettenti per la determinazione dell'origine del caffè e l'individuazione delle specie e delle varietà presenti.

La biologia molecolare offre un approccio innovativo per la tracciabilità e l'identificazione delle adulterazioni nel caffè, infatti attraverso l'analisi del DNA, è possibile rilevare la presenza di specie diverse, come l'arabica e la robusta, nonché identificare eventuali miscele o sostituzioni indesiderate. Le tecniche di analisi molecolare, come la PCR e il sequenziamento del DNA, consentono di ottenere informazioni precise sul profilo genetico delle varietà di caffè e di confrontarle con campioni sospetti.

Oltre alla genetica, esistono anche altre tecniche analitiche avanzate che vengono impiegate per rilevare l'adulterazione del caffè. Tra queste, la spettroscopia, la spettrometria di massa e la cromatografia giocano un ruolo significativo nel fornire informazioni dettagliate sulla composizione chimica del caffè e sull'eventuale presenza di componenti non desiderati.

Questa tesi si propone di esplorare in dettaglio le diverse tecniche di analisi con l'obiettivo principale di fornire una panoramica completa delle metodologie disponibili, dei loro vantaggi e delle sfide associate, nonché di valutare la loro efficacia nell'identificazione delle adulterazioni nel caffè.

Abstract

This paper focuses on one of the most appreciated and consumed beverages in the world, with a rich history and a wide variety of aromas and flavours: coffee.

The increase in its demand and the economic value associated with coffee has led to growing concern about its authenticity and integrity, as adulteration, i.e., the addition or substitution with less valuable or inferior components in the blend, poses a significant threat to the industry and consumers.

The accurate and timely detection of adulteration in coffee has become crucial to ensure quality, safety and authenticity of the final product. To this end, in recent years, many analytical techniques have been developed and applied to identify fraud. Among these, molecular analysis techniques are emerging as promising tools for determining the origin of coffee and identifying the species and varieties present.

Molecular biology offers an innovative approach for the traceability and identification of adulteration in coffee. Indeed, through DNA analysis, it is possible to detect the presence of different species, such as *arabica* and *robusta*, as well as to identify any undesirable blends or substitutions. Molecular analysis techniques, such as PCR and DNA sequencing, allow precise information on the genetic profile of coffee varieties to be obtained and compared with suspect samples.

Besides genetics, there are also other advanced analytical techniques that are used to detect coffee adulteration. Among these, spectroscopy, mass spectrometry and chromatography play a significant role in providing detailed information on the chemical composition of coffee and on the possible presence of undesirable components.

This thesis aims to explore the different analysis techniques in detail with the main objective of providing a comprehensive overview of the available methodologies, their advantages and associated challenges, as well as to assess their effectiveness in identifying adulterations in coffee.

CAPITOLO I
FONDAMENTI TEORICI
IL CAFFÈ

1.1 Una bevanda “ricca come l’oro”

Il caffè è una bevanda ottenuta dalla macinazione dei semi di alcune specie di alberi tropicali appartenenti al genere *Coffea*, parte della famiglia Botanica delle Rubiacee, un gruppo di Angiosperme che comprende oltre 600 generi e 13 500 specie¹. Ogni specie differisce dall’altra per gusto, contenuto di caffeina e adattabilità a climi e terreni diversi da quelli d’origine. Commercialmente le varietà di caffè più diffuse sono *Coffea arabica* e la *Coffea canephora* definita anche *robusta*.

La varietà arabica è originaria dell’Etiopia, precisamente dalla regione del Kaffa (Yemen) dove il caffè viene denominato “Buna” e la sua coltivazione si diffuse molto velocemente in tutta la penisola araba riscontrando molto successo, dovuto anche al fatto che per la religione Musulmana il consumo di bevande alcoliche è vietato e di conseguenza il caffè venne considerato un valido sostituto da degustare durante momenti conviviali. La varietà robusta o “*canephora*” invece è originaria della zona tropicale del continente africano, più precisamente tra Uganda e Guinea e la sua coltivazione è iniziata più tardi rispetto all’arabica, intorno agli inizi dell’Ottocento.

Al giorno d’oggi il caffè è il secondo prodotto maggiormente commercializzato a livello globale dopo il petrolio, e, con un volume di mercato pari a circa 15 bilioni di dollari, genera una rilevante impronta economica che costituisce una fonte di reddito per più di venti milioni di coltivatori nel mondo.

Purtroppo, a fronte di questi dati e di questo enorme valore economico, il caffè è spesso vittima di operazioni fraudolente e adulterazioni da parte di alcuni soggetti al fine di ridurre i costi ed incrementare il profitto.

¹ <https://it.wikipedia.org/wiki/Caff%C3%A8>

1.2 Cenni storici

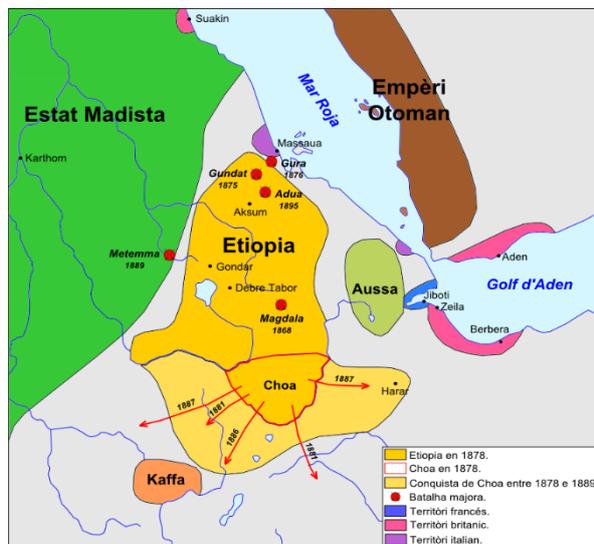


Figura 1. Zona di origine di *Coffea Arabica* (Kaffa)

La classificazione botanica della pianta del caffè risale al XVIII secolo e prima di allora non è stato possibile distinguere tra varietà arabica e robusta. La varietà *arabica* si è originata e cresce tuttora spontaneamente sull'altopiano etiope (altipiano di Kaffa), nelle province di Sidamo e Harar, mentre la varietà robusta è nativa dei bassopiani delle foreste nella Liberia orientale, del sud Kenya ed il bacino del Congo.

Uno dei principali centri di diffusione del caffè come bevanda fu la città del Cairo in Egitto. Mercanti e pellegrini lo esportavano ovunque ed il suo successo in questo paese fu dovuto in parte al divieto di consumare alcolici per motivo etnico-religiosi². Nel continente europeo invece il caffè fece la sua comparsa intorno ai primi anni del '700 grazie al contributo della Repubblica di Venezia, nota per il suo commercio con il Medio Oriente che portò in seguito alla nascita dei primi locali Europei in cui fu possibile degustarlo (nella regione dello Yemen erano già presenti le caffetterie).

Il primo luogo dove degustare il caffè a Venezia era denominato "Bottega del Caffè", fu aperto nel 1645 da un commerciante armeno di nome Pascal che divenne noto come il primo "caffettiere" di Venezia³. La bottega si trovava nel Sestiere di San Marco, nel cuore

² <https://www.focus.it/cultura/storia/il-vino-darabia>

³ <https://venetosecrets.com/arte-stile/caffe-a-venezias-dal-primo-bar-in-europa-all-ultima-torrefazione-artigianale/>

della città; ben presto, altri luoghi simili cominciarono a sorgere a Venezia, diventando punti di ritrovo per i cittadini di tutte le classi sociali.

Con il tempo le caffetterie divennero vere e proprie istituzioni sociali, luoghi in cui venivano organizzati spettacoli musicali, recitazioni poetiche e dibattiti filosofici, questi locali si distinguevano per il loro arredamento sontuoso, l'atmosfera vibrante e l'offerta della gustosa bevanda considerata di moda per le signorie del tempo e nelle corti reali.

Con il passare degli anni la rarità del caffè lo rese molto costoso fino a che se ne sviluppò la coltivazione anche in possedimenti francesi e olandesi d'oltre mare, a cui seguirono grandi produttori odierni come Brasile, Cuba e Venezuela. Ad oggi in Italia i consumi di caffè si attestano a meno della metà rispetto al Nord Europa, ma il caffè è quasi da sempre un simbolo nazionale. Fin dal '700 a Napoli si affermò una variante al caffè turco (o alla turca): invece di cuocere la polvere dei chicchi macinati, come si fa ancora oggi in Turchia e Nord Africa, stemperandola in acqua in un bricco di rame poggiato su braci o sabbia calda, si diffuse la cottura napoletana⁴. Il nuovo metodo prevedeva il filtraggio dell'acqua bollente, fatta colare dall'alto attraverso la polvere di caffè: è il principio che fa funzionare la "cuccumella", tipica caffettiera napoletana. A Milano invece nei primi anni del '900 nacque l'espresso, una macchina che sfrutta le alte pressioni del vapore per filtrare il macinato, e, poco più tardi invece Alfonso Bialetti creò la Moka in cui l'acqua portata ad ebollizione sale dal basso.



Figura 2. Esplosione di Moka Bialetti

⁴ https://www.wikiwand.com/it/Storia_del_caff%C3%A8.

1.3 Cafficoltura

La coltivazione del caffè al giorno d'oggi coinvolge in maggior maniera i seguenti paesi: Brasile, Vietnam, Colombia, Indonesia e alcune regioni dell'Africa centrale.

Le specie di queste zone differiscono per gusto, quantità di caffeina, adattabilità ai climi e terreni diversi tra loro.

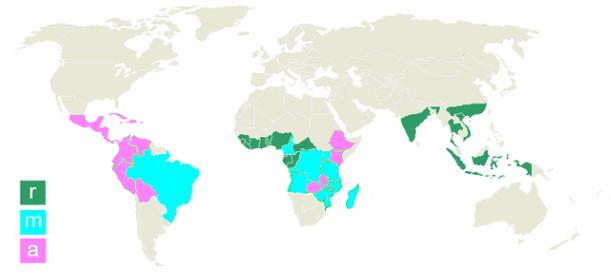


Figura 3. In foto le differenti coltivazioni geografiche di robusta e arabica (<https://www.attibassi.it/storia-del-caffe/coltivazione-raccolta/>)

L'uniformità del clima è molto importante per il fiore della pianta, infatti, la coltivazione nei paesi tropicali fa sì che sia sempre verde e fruttifichi a ciclo continuo, la fioritura infatti non dipende dalla presenza delle prime stagioni caldi e dall'arrivo della primavera come in Europa ma dalla presenza di abbondanti piogge che determineranno una resa migliore delle fioriture.

La pianta prospera molto bene in un clima caldo umido con temperature comprese tra i diciotto e ventidue gradi anche se l'ideale sarebbe non superare i venti gradi; nelle zone subtropicali le piante vengono coltivate in campo aperto mentre in quelle tropicali le piante necessitano di ombra e hanno bisogno di essere protette dalle correnti, vengono infatti piantate accanto a piante più alte e più grandi come banani e ricini per assicurare loro molta ombra. Durante la semina vengono selezionate le migliori drupe di caffè (ogni drupa contiene di norma due chicchi), i primi germogli spuntano dopo circa 10 settimane, una volta raggiunta l'altezza di 5-10 cm le piantine possono essere trapiantate⁵.

⁵ <https://www.attibassi.it/storia-del-caffe/coltivazione-raccolta/>

Le prime fioriture avvengono intorno al terzo anno di vita della pianta ed il raccolto in prossimità quarto anno anche se in dosi assolutamente non sufficienti per il commercio, infatti, per un buon raccolto bisognerà aspettare tra il quinto ed il settimo anno di vita. I fiori della varietà arabica sono autogami il che significa che sono in grado di impollinarsi da soli mentre quelli della varietà robusta necessitano di impollinazione da parte degli insetti che vengono attirati dal profumo intenso emesso da questa specie, il fiore produrrà in seguito la drupa.

Per quanto riguarda il periodo di raccolta, è dipendente dalla zona geografica di coltivazione ed il fatto che la pianta produce i frutti in modo proporzionale alla quantità di piogge cadute influisce molto sul metodo di raccolta delle drupe mature che possono essere raccolte meccanicamente o per *picking*, una pratica più costosa in quanto prevede una raccolta manuale da parte dell'operatore ed una selezione attenta del prodotto direttamente sulla pianta. I frutti vengono fatti essiccare ed in seguito i chicchi, i quali saranno pronti per il processo di tostatura, vengono estratti grazie ad appositi setacci.

Per evitare perdite non desiderate le drupe quando vengono raccolte devono essere lavorate il prima possibile e vi possono essere due diversi metodi:

- 1) **Il metodo a secco**, nonostante sia il più antico è ancora molto utilizzato nei paesi in cui c'è poca presenza di fonti idriche, viene infatti anche denominato come “non lavato” e “naturale”; in pratica le drupe vengono lasciate su grandi superfici al sole e rigrate e spianate regolarmente. A seconda del clima l'intero processo può richiedere diverse settimane per ciascun lotto di caffè fino ad arrivare ad un'umidità interna della drupa intorno all'11%.
- 2) **Il metodo umido** ha come finalità quella di “spolpare” le drupe di caffè dopo la raccolta; al termine, il chicco viene asciugato lasciando il pergamino sulla superficie. In pratica le drupe vengono inserite in una macchina spolpatrice che provvede a separare la pelle e la polpa dal chicco e questi ultimi vengono poi classificati per peso e taglia all'interno di canalette d'acqua e tamburi rotanti. In seguito, avviene il processo fermentativo che consente di eliminare residui di mucillagine fino ad arrivare infine all'essiccazione.

Prima di essere messi in commercio però i chicchi verranno sottoposti ai seguenti processi di lavorazione:

- Sbucciatura (viene rimosso lo strato di pergamino)
- Levigatura (vengono eliminate eventuali patine)
- Classificazione (in base a dimensioni e peso)

Al termine di queste fasi i grani levigati prendono il nome di chicchi di “caffè verde”, vengono quindi confezionati per il mercato all’ingrosso e riposti in sacchi di iuta o sisal caratterizzati dalla grande resistenza e ottima traspirabilità.

Una volta arrivati all’acquirente quest’ultimo si occupa solitamente del processo di torrefazione e macinazione, quindi i chicchi di caffè verde vengono riscaldati e mantenuti in movimento durante tutto il procedimento per evitare che brucino e quando la temperatura interna raggiunge i 200 gradi celsius iniziano a diventare marroni e il caffè (un olio essenziale che durante la torrefazione si trasforma in caffèone) sprigiona l’aroma caratteristico; questa reazione viene definita pirolisi e fornisce il caratteristico aroma alla bevanda⁶.

1.4 Botanica

C. arabica è un albero sempreverde che può raggiungere i 3-7 metri di altezza. Ha foglie molto grandi di color verde intenso, di forma lanceolata e con margini ondulati. I fiori prosperano su rami secondari all’attaccatura delle foglie, sono bianchi ed in genere simili a quelli del gelsomino. Sono costituiti da 5 petali, 5 stami e 1 stilo bifido, anche se a volte si possono trovare fiori di 6 petali⁷. Sono caratterizzati dall’essere autogami e di breve durata e dopo l’autoimpollinazione sfioriscono per dare origine al frutto. *C. arabica* vive nelle zone comprese tra i tropici, ad un’altitudine di 600-2000 metri e ad una temperatura compresa tra i 15 e i 24° C. Cresce bene in terreni ricchi di minerali, leggermente acidi (pH 5.5-6.0) e, per permettere la fioritura, necessita di una certa alternanza fra periodi secchi ed umidi.

I principali paesi produttori sono: Columbia, Venezuela, Ecuador, Peru, Bolivia, Paraguay, Guyana, Suriname, Guaina Francese, Mexico, Guatemala, El Salvador, Honduras, Nicaragua, Costa Rica, Panama, Cuba, Haiti, Repubblica Dominicana, Puerto

⁶ <https://www.lavazza.it/it/blend-for-better/la-produzione-del-caffe-dal-chicco-alla-tazzina>

⁷ <https://antropocene.it/2020/10/08/coffee-arabica/>

Rico, Jamaica, Hawaii, Yemen, Ethiopia, Kenya, Tanzania, Mozambico, Zimbabwe, Zambia e Papua New Guinea.

Coffea robusta può assumere la forma di arbusto o albero, che può raggiungere anche un'altezza di 10 metri e con un sistema radicale poco profondo. Le foglie sono larghe e di colore verde pallido, mentre i fiori sono bianchi, profumati e organizzati in gruppi più numerosi per nodo rispetto ad arabica. I frutti sono rotondi e la maturazione completa richiede undici mesi, contengono semi di forma ovale, più piccoli e sono pronti per il raccolto circa due mesi più tardi rispetto a quelli di *C. arabica*. *C. canephora*, diversamente, vegeta ad altitudini inferiori comprese tra 0 e 800 m slm e a temperature nettamente superiori, comprese tra i 24 e i 30 °C, dove le piogge sono più abbondanti⁸. Questa specie viene coltivata in: Nigeria, Camerun, Gabon, Repubblica Democratica del Congo, Uganda, Angola, Madagascar, Sri Lanka, Sumatra, Java, Bali, Timor, Borneo, Vietnam, Celebes.



Figura 4 Pianta di *Coffea arabica*

1.5 Chimica

La composizione chimica del caffè verde dipende dalla varietà, dall'origine, dal tipo di processo di lavorazione e dalle condizioni climatiche della regione in cui viene coltivato. In particolare, differenze sia qualitative che quantitative esistono in maniera consistente tra le varietà robusta e arabica, naturalmente all'interno delle varietà stesse, e tra il caffè verde e tostato. I costituenti più significativi sono l'acqua, i lipidi, la caffeina, la trigonellina, proteine, amminoacidi, carboidrati, acidi carbossilici, acidi

⁸ D. Teketay, 1999, *History, Botany and ecological requirements of coffee*, pp. 28-50.

clorogenici(acido caffeico) e melanoidine. Per certi costituenti, come acidi clorogenici, amminoacidi e carboidrati, le trasformazioni che si realizzano durante la tostatura sono significative, mentre per altre classi, ad esempio la caffeina, sono trascurabili.

La Caffeina

La caffeina è una sostanza appartenente alla famiglia degli alcaloidi ed il suo nome chimico è 1,3,7-trimetilxantina⁹, una molecola liposolubile presente naturalmente in numerosi alimenti (caffè, tè, cioccolato, matè, noce di cola) e viene aggiunta a molti energy drink e “sport food”. Viene definita psicoattiva in quanto viene riconosciuta come sostanza stimolante del sistema nervoso e della performance fisica in generale e per queste prerogative in passato (fino al 2004) veniva bandita dalle competizioni sportive in quanto considerata come sostanza dopante. Il contenuto medio di

quest’ultima nella varietà arabica è del 1.2 %, e in robusta del 2.2%, con marcate differenze interspecifiche e intra-varietà¹⁰. È probabile che nei chicchi di caffè verde questa molecola sia presente sotto forma di complesso con il clorogenato di potassio; infatti, la prima purificazione della caffeina da chicchi verdi avvenne sotto forma di complesso cristallino proprio con il clorogenato di potassio¹¹. La scarsa solubilità di tale complesso impedisce la diffusione della caffeina all’interno dei tessuti vegetali.

Se viene assunta per via orale la caffeina viene assorbita molto rapidamente e completamente dall’organismo, gli effetti stimolanti possono insorgere appena dopo pochi minuti e rimangono per alcune ore. La caffeina viene metabolizzata principalmente a livello epatico dove subisce demetilazione e ossidazione. Il 90% del metabolismo della

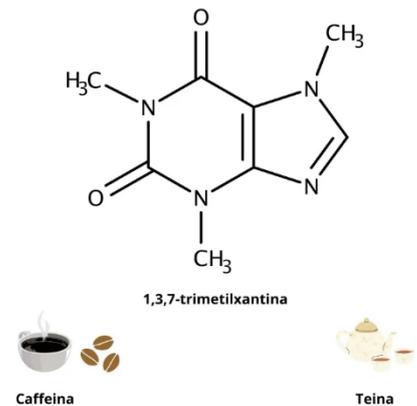


Figura 5. La molecola della Caffeina

⁹ <https://it.wikipedia.org/wiki/Caffeina>

¹⁰ Caracostea, L.- M., Rodica Sirbu - Florica Busuricu. (2021). Determination of Caffeine Content in Arabica and Robusta Green Coffee of Indian Origin. *European Journal of Natural Sciences and Medicine*, 4(1), pp. 69–79.

¹¹ N. Stefanello, R.M.Spanevello, S.Passamonti, L.Porciúncula, C.D. Bonan, A. Augustine Olabiyi, J.Rocha, C.Assmann, V.M.Morsch, M.R.C.Schetinger. Coffee, caffeine, chlorogenic acid, and the purinergic system. *Food and Chemical Toxicology*, Volume 123, 2019, Pages 298-313

caffaina nel fegato è operato dalla isoforma CYP1A2 del citocromo P450¹² che converte la caffeina in paraxantina (84%), teobromina (12%) e teofillina (4%)¹³. Dalla formula chimica si riesce a vedere una certa somiglianza con la molecola dell'adenosina¹⁴, infatti, la caffeina si lega al recettore di quest'ultima; tuttavia, non rallenta l'attività delle cellule in quanto l'adenosina non verrà più riconosciuta. Inoltre, la caffeina può provocare un restringimento dei vasi sanguigni del cervello facilitando il rilascio di adrenalina lasciando in uno stato di breve eccitazione il corpo, i suoi effetti sulla pressione sanguigna vengono così descritti: "Il cambiamento dei parametri pressori è legato all'azione diretta della caffeina sull'aumento della contrattilità e conducibilità miocardica, sull'aumento delle resistenze periferiche per vasocostrizione, sull'aumento del rilascio di adrenalina e noradrenalina. La riduzione della frequenza cardiaca è, invece legata a un riflesso d'inibizione barocettivo che s'innescia in risposta all'aumento della pressione arteriosa".

Acido caffeico

L'acido caffeico è un composto fenolico presente naturalmente nel caffè e in diverse altre piante, viene considerato uno dei principali composti bioattivi responsabili degli effetti benefici per la salute associati al consumo di caffè. L'acido caffeico ha dimostrato diverse proprietà biologiche¹⁵, tra cui attività antiossidante, antinfiammatoria e antitumorale aiutando a neutralizzare i radicali liberi nel corpo e a proteggere le cellule dai danni ossidativi, inoltre l'acido caffeico è stato associato a potenziali benefici per la salute cardiaca poiché può contribuire a ridurre il rischio di malattie cardiovascolari come l'ipertensione e l'aterosclerosi. Dal punto di vista sensoriale, l'acido caffeico contribuisce all'aroma e al sapore caratteristici del caffè e la sua presenza influenza le note gustative, conferendo al caffè un gusto leggermente amaro.

¹² Arnaud MJ. (2011) *Pharmacokinetics and metabolism of natural methylxanthines in animal and man*, in *Methylxanthines. Handbook of Experimental Pharmacology*, vol 200, pp 33–91, Springer, Heidelberg.

¹³ Gu L., Gonzalez FJ., Kalow W., Tang BK. (1992) *Biotransformation of caffeine, paraxanthine, theobromine and theophylline by cDNA expressed human CYP1A2 and CYP2E1*. *Pharmacogenetics* 2: pp. 73–77.

¹⁴ Fredholm BB., Astra Award Lecture. *Adenosine, adenosine receptors and the actions of caffeine*. *Pharmacol Toxicol*. 1995

¹⁵ <https://www.my-personaltrainer.it/integratori/acido-caffeico.html>

Melanoidine

Sono composti chimici che si formano durante la tostatura dei chicchi di caffè grazie alle reazioni di Maillard che avvengono tra aminoacidi e zuccheri presenti nel caffè verde; queste sostanze sono responsabili del caratteristico marrone scuro dei chicchi di caffè tostati e della stessa bevanda. Le melanoidine contribuiscono anche alla complessità dell'aroma e del sapore del caffè in quanto durante la torrefazione si sviluppano una vasta gamma di composti aromatici che conferiscono profondità e ricchezza di gusto, in particolare con note di caramello, cioccolato e tostato. Come per gli altri composti chimici visti in precedenza anche queste hanno capacità¹⁶ antiossidanti ed è interessante notare che la quantità ed il profilo delle melanoidine possono variare in base al grado di tostatura del caffè, ad esempio i caffè più leggeri possono contenerne un minor numero rispetto a quelli più forti, sottoposti ad un processo di torrefazione più prolungato.

Trigonellina

È una sostanza chimica naturale appartenente alla classe degli alcaloidi che viene sintetizzata nella pianta del caffè a partire dalla niacina (vitamina B3), contribuisce all'aroma ed al gusto caratteristici della bevanda grazie alla presenza dell'acido metilnicotinico ottenuto dalla reazione di decarbossilazione della sostanza stessa durante il processo di tostatura¹⁷. Oltre alle sue proprietà sensoriali la trigonellina presenta anche alcuni effetti fisiologici come l'azione antiossidante, la capacità di migliorare la sensibilità all'insulina e di agire come agente protettivo per il fegato.

¹⁶ Daglia M., Papetti A., Aceti C., Spini V., Sordelli B., Gregotti C., Gazzani G., *Attività protettiva delle melanoidine del caffè nei confronti della perossidazione lipidica*, VII Congresso nazionale di Chimica degli Alimenti, Perugia, 23-26 Giugno 2008.

¹⁷ <https://www.chimicamo.org/chimica-organica/trigonellina/>

Acido clorogenico

È un polifenolo molto diffuso nel regno vegetale ed in particolare nel caffè verde dove esercita un importante ruolo biologico all'interno di una catena di processi ossidoriduttivi. All'acido clorogenico vengono attribuite numerose proprietà benefiche¹⁸ in quanto può essere in grado di ridurre i valori della pressione sanguigna e allo stesso tempo modulare il rilascio di glucosio nel sangue dopo aver mangiato, riducendo l'assorbimento dello zucchero a livello intestinale. Nonostante ciò, non sono ancora presenti *Claims* autorizzati dall'EFSA (Autorità europea per la sicurezza alimentare) per prodotti a base di acido clorogenico in quanto non sono ancora presenti prove scientifiche sufficienti a sostenere la tesi precedente.

¹⁸ Tajik, N., Tajik, M., Mack, I. *et al*, *The potential effects of chlorogenic acid, the main phenolic components in coffee, on health: a comprehensive review of the literature*. Eur J Nutr 56, 2215–2244 (2017).

parte dei coltivatori opera su piccoli appezzamenti di terreno e vende i frutti del raccolto a esportatori locali con l'intermediazione di cooperative.

Tabella 1 : I paesi produttori per tipologie di caffè

Arabica			Robusta
Colombian Milds	Other Milds	Brazilian Naturals	
Colombia	Burundi	Bolivia	Angola
Kenya	Costa Rica	Brasile	Rep. Dem del Congo
Tanzania	Rep. Dominicana	Etiopia	Ghana
	Ecuador	Paraguay	Guinea
	El Salvador		Indonesia
	Guatemala		Liberia
	Haiti		Nigeria
	Honduras		Oamcaf
	India		Benin
	Giamaica		Cameroon
	Malati		Rep. Cen. Africana
	Messico		Congo
	Nicaragua		Guinea Equatoriale
	Panama		Gabon
	Papua N. Guinea		Costa d'Avorio
	Perù		Madagascar
	Ruanda		Togo
	Venezuela		Filippine
	Zambia		Sierra Leone
	Zimbawe		Sri Lanka
			Tailandia
			Trinidad e Tobago
			Uganda
			Vietnam

Fonte: European Coffee Federation

Figura 5. I paesi produttori per tipologie di caffè

Occorre sottolineare che l'offerta della varietà arabica (maggiore di robusta) si sta progressivamente riducendo; infatti, i costi di produzione di robusta sono solitamente inferiori e la resa della pianta è molto più elevata rispetto alla prima, di conseguenza è in questo notevole margine che possono insediarsi frodi commerciali con l'adulterazione del prodotto sostituendo miscele di arabica con miscele di robusta.

Una delle principali caratteristiche tipiche della produzione del caffè è la forte ciclicità legata ai prezzi che dipende principalmente da fenomeni di carattere strutturale.

- In primo luogo, domanda e offerta sono fortemente inelastiche nel breve periodo e dunque necessitano di una notevole volatilità dei prezzi per assorbire eccessi di domanda o offerta.²⁰
- In secondo luogo, le tempistiche di produzione del caffè sono abbastanza lunghe (5-7 anni per il raccolto più importante) e di conseguenza picchi nei prezzi danno origine ad investimenti in capacità produttiva che generano un output futuro dando origine a fenomeni appunto ciclici²¹.

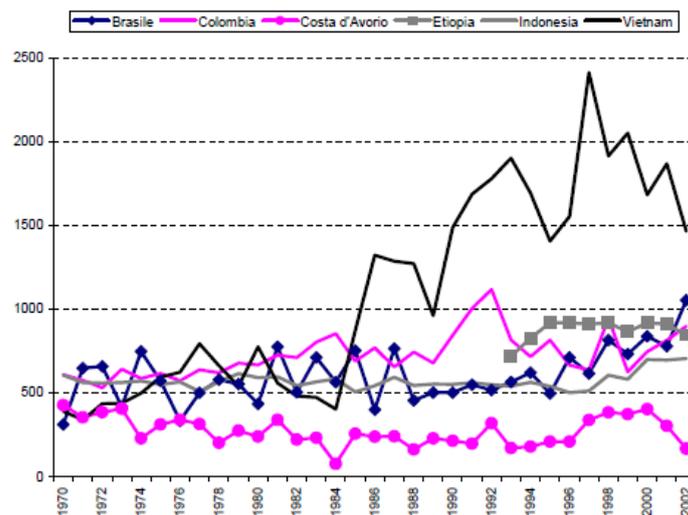


Figura 6. Andamento della produttività (KG per ettaro). Fonte Faostat.

Figura 7. Andamento della produttività (KG per ettaro) Fonte Faostat.

²⁰ <https://agriregionieuropa.univpm.it/it/content/article/31/15/dinamiche-del-mercato-internazionale-del-caffe>

²¹ Colombo E., Tirelli P. (2006), *Il mercato del caffè e il commercio equo e solidale. Ricerca su "Il commercio equo e solidale. Analisi e valutazione di un nuovo modello di sviluppo"*, Università degli Studi di Milano – Bicocca, Centro di ricerche sulla cooperazione.

2.2 Esportazioni

È noto che dal punto di vista economico molti paesi in via di sviluppo sono concentrati nella produzione di *commodity*. Tra queste il caffè occupa spesso la posizione centrale soprattutto nel caso dei paesi africani con percentuali che superano di molto il 60%, economie fondate sul concetto della “monocoltura” simile a quella del Brasile per il Sudamerica colui che è stato ed è ancora al giorno d’oggi il maggiore produttore mondiale di caffè. In media nei vari paesi gli export riguardano principalmente il caffè verde (95%) mentre una piccola minoranza riesce a venderlo già torrefatto o sottoforma di caffè solubile.

La maggior parte del caffè viene oggi consumata in pochi paesi occidentali mentre una frazione limitata del caffè verde viene destinata al consumo negli stessi paesi produttori. Il primato tra gli importatori di caffè appartiene agli Stati Uniti, seguono Giappone, Germania, Francia e Italia ed il Brasile si conferma il principale fornitore di quest’ultima. Tutte le fasi della *supply chain* sono caratterizzate da una forte specializzazione che permette di realizzare consistenti economie di scala e che ha portato alla concentrazione nei diversi settori. Anche nelle fasi di commercio e trasporto si è assistito ad un fenomeno analogo.

I primi trasporti vengono effettuati da agenti o società locali e i porti principali corrispondono essenzialmente a *delivery point* accreditati dal Liffé di Londra per la qualità robusta e dal Nybot di New York per la qualità arabica. In particolare, per il Liffé sono Trieste, Anversa, Amsterdam, Barcellona, Brema, Amburgo, Le Havre, Londra, Marsiglia, Rotterdam, New Orleans e Genova. Per il Nybot, i porti accreditati sono New York, New Orleans, Miami, Houston, e a livello europeo i soli Anversa, Amburgo, Brema²².

Le attività di *import-export* vengono solitamente svolte prevalentemente da grandi *traders* internazionali, queste società, trattando grandi volumi di caffè lungo diversi anelli della catena di produzione, riescono ad offrire agli acquirenti una ampia gamma di servizi. D’altro canto, l’elevato potere di mercato che deriva dalla loro dimensione risulta dannoso per i produttori locali, inoltre, talune di queste imprese svolgono fondamentali servizi

²² <https://www.fercam.com/it-it/blog/la-supply-chain-dello-ro-verde--2-1963.html>

integrati dalle piantagioni agli impianti di torrefazione; oltre al trading si occupano pertanto di lavorazione all'origine, di stoccaggio, di macinatura e, attraverso impianti tecnologicamente avanzati, di complessi interventi chimici sulla qualità del prodotto.

2.3 Fondamenti dell'adulterazione nel caffè

Le preferenze del consumatore possono variare per molti motivi: origine geografica, motivazioni etnico-religiose, motivazioni economiche e sostenibilità. Vengono quindi a crearsi delle preferenze per alimenti di una data regione, marca o tipo ma, in ogni caso la tendenza generale del consumatore rimane fissata su alimenti sicuri e genuini ricercando sempre il prodotto migliore al prezzo migliore, per questo è importante parlare del concetto di tracciabilità.

La tracciabilità lungo la filiera del caffè è molto importante per diversi motivi:

- Qualità del caffè: la tracciabilità²³ consente di identificare l'origine del caffè verde, inclusa la regione, la piantagione e la cooperativa tramite cui è stato commercializzato; Infatti, i diversi metodi di coltivazione e varietà di caffè possono influenzare il sapore, l'aroma e le caratteristiche organolettiche della nota bevanda.
- Sostenibilità: altro punto di fondamentale importanza nel mondo odierno infatti l'attenzione del consumatore si è spostata sulla ricerca di un prodotto il più possibile *green* e tramite una serie di programmi normati ad esempio dalla certificazione Fairtrade® è possibile monitorare le pratiche agricole, l'utilizzo responsabile delle risorse a disposizione e la possibilità di riuscire a tracciare il percorso del caffè dalla piantagione al consumatore finale favorendo e promuovendo pratiche sostenibili lungo tutto il processo di filiera. In particolare, Fairtrade®, noto anche come "Commercio Equo e Solidale" garantisce un prezzo minimo di vendita in modo da coprire i costi sostenibili di produzione e garantire un reddito adeguato ai produttori con la consegna di un premio a chi decide di investire in progetti comunitari. Partecipare a questo programma nella filiera del

²³ <https://www.ilsole24ore.com/art/da-lavazza-certificazione-e-tracciabilita-caffe-AE1m5U2B>

caffè richiede l'adesione da parte dei produttori e degli acquirenti del caffè, che devono rispettare degli standard e pagare il prezzo e premio stabilito.

- **Responsabilità sociale:** La tracciabilità del caffè consente di valutare e garantire il rispetto dei diritti dei lavoratori nelle piantagioni di caffè, ad esempio è possibile monitorare le condizioni di lavoro degli operatori, garantire salari equi e rispettare i diritti umani dove possibile. Le aziende che operano nella filiera del caffè hanno la responsabilità di interagire in modo positivo e costruttivo con le comunità locali con il coinvolgimento di quest'ultime nel prendere il più possibile decisioni comuni su nuovi investimenti, costruzione di infrastrutture sociali ed economiche nelle regioni di produzione.
- **Sicurezza alimentare:** In caso di emergenza sanitaria, intossicazioni o più semplici problemi qualitativi del caffè verde la tracciabilità permette di individuare rapidamente la fonte del problema e prendere le relative misure appropriate per arginarlo.
- **Creazione del valore:** semplicemente il servizio in etichetta di offrire al consumatore la possibilità di conoscere l'origine del prodotto garantisce un valore aggiunto allo stesso e gli consente di stabilire un legame con un produttore lontano anche migliaia di km, questo porterà il prodotto sugli scaffali ad essere più ricercato.

La chimica degli alimenti si propone in primo luogo di verificare da quali principi alimentari i cibi risultino costituiti ed in quali proporzioni siano in essi contenuti. Dall'esame della composizione chimica si può dedurre il valore alimentare di ciascun alimento ed è possibile controllare quali adulterazioni abbiano subito. Recentemente, alcune tecniche basate sul DNA, che possono essere indicate nel loro complesso come *food forensics* ovvero Genetica Forense, si stanno diffondendo nei campi analitici con molto successo. L'errata descrizione fraudolenta dei contenuti degli alimenti sulle etichette dei prodotti è un problema diffuso, in particolare con i prodotti ad alto valore aggiunto che richiedono un prezzo elevato, proprio come il caffè e, poter dimostrare in modo definitivo che si è verificata una frode richiede l'individuazione e la quantificazione dei componenti alimentari.

2.4 Normativa e leggi esistenti per contrastare e prevenire l'adulterazione

Il consumatore viene tutelato a livello normativo tramite una serie di certificazioni che identificano l'autenticità di un prodotto alimentare e ne consentono la tracciabilità lungo l'intera filiera. Tra queste, il marchio "CE" denomina un insieme di pratiche obbligatorie per tutti i prodotti che circolano all'interno dell'Unione Europea e per i quali esiste una specifica direttiva comunitaria, tramite questa marcatura il produttore dichiara per mezzo della dichiarazione di conformità o di prestazione per i soli prodotti da costruzione, che il prodotto è conforme ai requisiti di sicurezza e salute previsti dalle direttive o regolamenti comunitari pertinenti.

I prodotti agroalimentari devono rispettare delle norme per quanto riguarda l'etichettatura, la presentazione e la pubblicità, devono rispettare delle indicazioni obbligatorie che comprendono la denominazione di vendita, l'elenco degli ingredienti e la relativa quantità presente, la quantità netta del prodotto, il termine minimo di conservazione, le condizioni di conservazione, l'indirizzo del produttore e la tracciabilità della filiera, il luogo di origine e le istruzioni per l'uso. La tracciabilità sancisce la differenza tra caffè prodotti con metodo, con consapevolezza e con attenzione e caffè destinati ad un mercato senza identità ed è la chiave fondamentale per la crescita dell'intero comparto produttivo del caffè in quanto promuove una visione di insieme dell'intera filiera. Proprio nel caffè nel corso degli anni è mancato il concetto di tracciabilità in quanto i coltivatori, abbastanza distanti geograficamente dai principali paesi consumatori, non potevano promuovere il loro prodotto per le caratteristiche organolettiche e proprietà nutrizionali.

Lo scopo della tracciabilità degli alimenti è quella di fornire ai consumatori informazioni accurate sui prodotti affinché possano effettuare scelte consapevoli ma, soprattutto, garantire la circolazione di alimenti sani e sicuri grazie alla possibilità di ricostruire l'intero percorso dei prodotti per poter tempestivamente risalire ai fattori di rischio.

La tracciabilità alimentare è diventata obbligatoria nell'Unione Europea dal 1° gennaio 2005, in applicazione degli articoli 17, 18, 19 del Regolamento Europeo 178/2002²⁴, norma importante del Pacchetto Igiene in materia di sicurezza alimentare. Tale

²⁴ <https://www.trackyfood.com/tracciabilita-alimentare-cose-come-funziona-e-quali-sono-le-norme/>

regolamento impone che tutte le aziende alimentari e mangimistiche che operano sul territorio europeo dispongano di un sistema di rintracciabilità di alimenti e mangimi.

In caso di problemi legati alla sicurezza e qualità di determinati lotti di produzione grazie alla rintracciabilità e tracciabilità è possibile risalire alla causa e ritirarli dal mercato.

L'obbligo di riportare in etichetta il luogo di origine delle materie prime permette di garantire l'identità territoriale di un prodotto e tutelare il consumatore da eventuali frodi o contraffazioni.

In materia di sanzioni la disciplina prevede sanzioni più o meno gravi a seconda dell'accaduto tramite il Decreto legislativo n.190 del 5 aprile 2006 "Disciplina sanzionatoria per le violazioni del regolamento (CE) n. 178/2002²⁵ che stabilisce i principi e i requisiti generali della legislazione alimentare, istituisce l'Autorità europea per la sicurezza alimentare e fissa procedure nel settore della sicurezza alimentare"

Molto più accentuate invece sono le misure nei confronti delle aziende che commettono frodi alimentari, quali l'adulterazione del prodotto in cui secondo Art.440 del Codice penale "Chiunque, corrompe o adultera acque o sostanze destinate all'alimentazione, prima che siano attinte o distribuite per il consumo, rendendole pericolose alla salute pubblica, è punito con la reclusione da tre a dieci anni. La stessa pena si applica a chi opera contraffazioni di sostanze alimentari destinate al commercio. La pena è aumentata se sono adulterate sostanze medicinali"²⁶

Sono presenti anche norme specifiche per prevenire la pubblicità ingannevole e l'etichettatura fuorviante dei prodotti alimentari, compreso il caffè. Questo significa che le affermazioni o le rappresentazioni che possono trarre in inganno i consumatori riguardo alle caratteristiche del caffè, come la sua origine, la qualità o le proprietà salutari, sono vietate.

Per quanto riguarda le certificazioni che ruotano attorno a tutta la filiera del caffè è possibile citare:

²⁵ <https://www.parlamento.it/parlam/leggi/deleghe/06190dl.htm>

²⁶ <https://www.brocardi.it/codice-penale/libro-secondo/titolo-vi/capo-ii/art440.html>

- 1) REGOLAMENTO 834/07 E 889/08 in materia di biologico, risponde alla normativa europea e vieta l'uso di prodotti chimici e OGM inoltre incentiva la coltivazione dei terreni agricoli dove non sono stati usati pesticidi per almeno 3-5 anni. Richiede la registrazione delle quantità prodotte e vendute per assicurare la tracciabilità. Determina lo stoccaggio separato dei prodotti biologici da quelli non certificati; dunque, nel caffè biologico questi regolamenti stabiliscono le norme che gli operatori devono seguire per ottenere e mantenere lo status di "caffè biologico" nell'UE, questo include metodi di coltivazione biologica senza l'uso di prodotti chimici sintetici, l'uso di semi biologici, la gestione sostenibile del suolo e delle risorse idriche.
- 2) FAIRTRADE®: è un movimento globale che mira a migliorare le condizioni dei produttori e dei lavoratori dei paesi in via di sviluppo attraverso il commercio equo. Nel settore del caffè, il Fairtrade® lavora per garantire una remunerazione equa e condizioni di lavoro dignitose per i coltivatori di caffè, stabilisce un prezzo minimo garantito per il caffè che copre i costi di produzione sostenibili ed agisce come un'ancora di stabilità per i coltivatori di caffè proteggendoli dalle fluttuazioni di mercato e fornendo loro un reddito sostenibile.
- 3) RAINFOREST ALLIANCE®: è un'organizzazione non governativa internazionale che lavora per la conservazione della biodiversità e la promozione della sostenibilità ambientale e sociale. L'obiettivo principale della Rainforest Alliance® è quello di proteggere gli ecosistemi forestali, promuovere pratiche agricole sostenibili e migliorare le condizioni di vita delle comunità rurali, inoltre, ha sviluppato un sistema di certificazione noto come "Rainforest Alliance Certified" ampiamente utilizzato nell'industria del caffè ed in altri settori agricoli e tratta temi di sostenibilità ambientale, condizioni di lavoro e diritti umani e standard di qualità.
- 4) 4C COMMON CODE FOR COFFEE COMMUNITY: è un'organizzazione che si occupa di promuovere la sostenibilità nel settore del caffè attraverso un approccio collaborativo. L'obiettivo principale del 4C è quello di migliorare le condizioni sociali, ambientali ed economiche dei produttori di caffè e delle comunità coinvolte nella sua produzione e differisce dalle precedenti Fairtrade®

e Rainforest alliance® in quanto non è un sistema di certificazione ma l'associazione lavora a stretto contatto con i protagonisti del settore.

- 5) ORGANIC COFFEE: forma i coltivatori in merito a pratiche agricole biologiche promuovendo l'uso di fertilizzanti naturali anziché dei costosi preparati chimici di sintesi. Un esempio è il diserbo naturale con falci e trebbiatrici, il che dà lavoro e non intacca la salubrità del prodotto abbassando il prezzo della materia prima a favore di margini superiori.

Al giorno d'oggi il caffè ha grande risalto nel commercio internazionale ed in merito a ciò le sue qualità vengono certificate tramite il "Global Quality Program (GQP)" sviluppato da agenzie specializzate nella filiera del caffè, nello specifico nasce grazie alla Specialty Coffee Association (SCA) per promuovere e migliorare la qualità del caffè lungo tutta la filiera produttiva.

Ecco alcuni aspetti chiave:

- **Formazione e Certificazione:** il GQP offre una serie di programmi di formazione e certificazione per i professionisti del settore del caffè, inclusi agronomi, produttori, torrefattori e baristi. Questi programmi forniscono competenze specializzate nella gestione della qualità del caffè, dalla produzione alla preparazione.
- **Protocolli di valutazione sensoriale:** il GQP definisce protocolli standardizzati per la valutazione sensoriale del caffè, inclusa la metodologia di assaggio e valutazione degli attributi organolettici. Ciò aiuta a garantire una valutazione oggettiva della qualità del caffè e facilita la comunicazione tra gli attori della filiera.
- **Miglioramento delle pratiche agronomiche:** il GQP si impegna a promuovere pratiche agronomiche sostenibili che influenzano positivamente la qualità del caffè. Ciò include l'adozione di metodi di coltivazione appropriati, la gestione delle malattie e delle infestazioni di parassiti, nonché l'implementazione di pratiche di raccolta e lavorazione corrette.
- **Standard di qualità:** il GQP definisce criteri di qualità del caffè basati su parametri specifici come l'aspetto, il sapore, l'aroma, l'acidità e il corpo. Questi standard

aiutano a stabilire un punto di riferimento per valutare la qualità del caffè e promuovere la consapevolezza sulle caratteristiche desiderabili del caffè di alta qualità.

- Collaborazione e ricerca: il GQP promuove la collaborazione tra i membri della comunità del caffè, tra cui produttori, commercianti, torrefattori, baristi e ricercatori. Attraverso la condivisione di conoscenze, la ricerca e l'innovazione, l'associazione mira a migliorare continuamente le pratiche e la qualità del caffè in tutto il mondo.

CAPITOLO 3

ADULTERAZIONE

3.1 Focus sulla frode, tecniche di analisi utili

Il processo di torrefazione e macinazione, che modifica pesantemente il prodotto originale, rende la miscela finale di caffè vulnerabile ad eventuali processi di adulterazione. È infatti possibile aggiungere al caffè macinato altri prodotti opportunamente tostati e macinati, senza che siano facilmente riconoscibili: però solo alcuni sostituti del caffè sono permessi e vanno dichiarati in etichetta come la cicoria mentre sono vietati altri vegetali quali orzo, bucce di caffè, mais, avena e altri sottoprodotti di lavorazione.

Nonostante questo regolamento però tali sottoprodotti vengono continuamente identificati nel caffè commerciale come parte dell'adulterazione ed i casi sono in aumento soprattutto per la loro somiglianza chimica e sensoriale con lo stesso caffè tostato e macinato. Tuttavia, la presenza di impurità nella miscela di caffè interferisce notevolmente con la qualità della bevanda, che oltre al gusto e all'aroma gradevole è noto per contenere anche importanti micronutrienti con proprietà salutistiche, come antiossidanti e composti fenolici.

In sintesi, però l'utilizzo di sottoprodotti vegetali per adulterare una miscela di caffè può essere motivato da diversi fattori:

- Riduzione dei costi: l'aggiunta di sottoprodotti vegetali meno costosi alla miscela di caffè può ridurre i costi di produzione. Ad esempio, l'aggiunta di sostanze come la crusca di cereali o il mais può aumentare la quantità complessiva del prodotto finale senza dover utilizzare una quantità proporzionalmente maggiore di caffè.
- Aumento del volume: l'aggiunta di sottoprodotti vegetali può aumentare il volume totale della miscela di caffè, consentendo di ottenere una maggiore quantità di prodotto finale con una quantità inferiore di caffè effettivo. Questo può essere particolarmente vantaggioso per le aziende che desiderano aumentare la quantità di prodotto senza dover investire in ulteriori quantità di caffè.

- Mascheramento di difetti o imperfezioni: alcuni sottoprodotti vegetali possono essere utilizzati per mascherare difetti o imperfezioni nel caffè. Ad esempio, l'aggiunta di cereali o altri ingredienti può coprire sapori o aromi indesiderati presenti nel caffè di bassa qualità.
- Miglioramento della crema o della consistenza: alcuni sottoprodotti vegetali possono essere utilizzati per migliorare la crema o la consistenza della bevanda di caffè. Ad esempio, l'aggiunta di amido di mais può conferire alla bevanda una consistenza più densa o una crema più persistente.
- Inganno o frode: l'aggiunta di sottoprodotti vegetali alla miscela di caffè può essere fatta con l'intenzione di ingannare i consumatori o di vendere un prodotto di qualità inferiore come se fosse autentico e questo può comportare un guadagno finanziario per i truffatori a spese dei consumatori che si fidano di acquistare un caffè di qualità superiore.

Tralasciando il guadagno economico ottenuto dalla frode intenzionale, questo fatto può anche rappresentare un rischio per la sicurezza alimentare dovuto al fatto che l'assenza di informazioni nutrizionali accurate riportate in etichetta potrebbe esporre il consumatore ad eventuali allergeni alimentari, di conseguenza si è resa necessaria la disponibilità di metodi analitici più specifici e sensibili per analizzare la qualità del caffè tostato e macinato al fine di non compromettere la salute dello stesso.

In Brasile, paese di riferimento per il commercio del caffè verde, gli adulteranti più frequentemente aggiunti alla miscela di caffè arabica tostato e macinato sono sottoprodotti della varietà di caffè robusta, bucce, bastoncini di caffè, mais, orzo, zucchero di canna, triticale e soia. Per far fronte a ciò è stata adottata una metodologia analitica AOAC, ovvero un metodo ufficiale che comprende microscopia ed analisi visiva stabilita dal Consiglio di Amministrazione Collegiale (RDC) governativo²⁷.

L'Associazione Brasiliana dell'Industria del Caffè (ABIC) che rappresenta industrie di macinazione e torrefazione del caffè di tutto il paese, ha potenziato all'interno del programma di controllo permanente della purezza del caffè l'analisi cieca dei campioni

²⁷ Amorim, H. V., Guercio, M. A., Cortez, J. G., & Malavolta, E. (1973). Métodos de análise orgânica do café. I. Comparação entre métodos de determinação do ácido clorogênico. *Anais Da Escola Superior De Agricultura Luiz De Queiroz*, 30, pp. 281-291.

secondo il metodo microscopico stabilito dall'istituto Adolfo Lutz, un ente accreditato con il governo che si occupa della ricerca nell'area medica, ricerca scientifica e promozione della salute pubblica. Questa tecnica consiste nella rilevazione di impurità e corpi estranei nel caffè effettuata mediante analisi visiva del caffè tostato e macinato su vetrini microscopici con ausilio di un microscopio stereoscopico, ma, tutto ciò presenta il limite di essere dispendiosa in termini di tempo e denaro, oltre al fatto che necessita dell'uso di agenti chimici tossici quali il cloroformio.

La legislazione brasiliana sul caffè inoltre definisce *Caffè Gourmet* quello composto interamente da chicchi macinati tostati 100% arabica, *Caffè Premium* invece deve contenere una quantità di robusta non superiore al 15% mentre per le miscele classiche normalmente presenti nel mercato europeo e italiano non deve essere superiore al 20%²⁸.

Diversi metodi e strategie sono stati studiati nel corso degli anni per identificare e verificare l'autenticità e qualità della miscela di caffè, le analisi che ne derivano possono essere classificate come soggettive (sensoriali) e oggettive (fisiche, chimiche, fisico chimiche, biologiche). Durante il controllo qualità del prodotto la sola analisi visiva purtroppo non è sempre sufficiente a identificare l'eventuale frode commessa dunque sono state applicate nel tempo diverse tecnologie basate su genetica (PCR), cromatografia HPLC, elettroforesi, immagini digitali e spettroscopia. Tra le metodologie elencate la più attendibile è l'utilizzo della genetica ma richiede personale altamente qualificato e attrezzature dispendiose. Solitamente il metodo convenzionale utilizzato per identificare e quantificare le sofisticazioni nei caffè tostati macinati si basa sull'analisi ottica o al microscopio elettronico delle polveri di caffè pretrattate con il cloroformio, ma, tali analisi sono abbastanza lente e soggettive con il rischio che possano essere generati risultati contraddittori.

Gli adulteranti che possono essere presenti nella miscela del caffè possono variare notevolmente, seguono alcuni tra questi:

²⁸ <https://agriregionieuropa.univpm.it/it/content/article/31/15/dinamiche-del-mercato-internazionale-del-caffe>

- Caffè di qualità inferiore rispetto a ciò che viene dichiarato in etichetta: per ridurre i costi alcune aziende potrebbero mescolare il caffè di qualità inferiore, come chicchi di caffè robusta, con il caffè di qualità superiore arabica.
- Cereali: in alcuni casi, cereali come orzo, mais o segale possono essere utilizzati per diluire la miscela del caffè. Questo può ridurre il costo della produzione, ma influisce sul sapore e sulla concentrazione di caffeina nel prodotto finale.
- Semi tostati o arrostiti: alcuni produttori possono mescolare semi di mais tostati o semi di cicoria con i chicchi di caffè per aumentare il volume della miscela.
- Carbone: l'aggiunta di carbone vegetale macinato può emulare la presenza dei chicchi di caffè
- Zuccheri: in alcuni casi possono essere aggiunti zuccheri come saccarosio o glucosio per migliorare gusto o dolcezza del caffè.

I sottoprodotti vegetali aggiunti alla miscela di caffè durante l'adulterazione possono presentare somiglianze chimiche con il caffè verde e renderne difficile la rilevazione visiva e superare alcuni test di controllo qualità più basilari. Sia il caffè verde che altre sostanze vegetali come mais, cicoria e bucce di caffè contengono composti come carboidrati, lipidi, proteine e altre molecole organiche presenti in diverse proporzioni e combinazioni. Esistono diverse analisi chimiche utili per rilevare le adulterazioni nel caffè ed alcuni dei metodi più comuni includono:

- Analisi del contenuto di caffeina: essendo l'elemento chimico più importante contenuto nel caffè viene preso in analisi in termini di quantità poiché può fornire indizi utili sulla purezza e sull'eventuale presenza di adulteranti. L'analisi può essere eseguita utilizzando tecniche come la Cromatografia liquida ad alte prestazioni (HPLC) o la spettrometria di massa (MS)
- Analisi del contenuto di umidità: è un parametro molto importante nel caffè e livelli anomali possono suggerire la presenza di materiali estranei come cereali o chicchi di qualità inferiore. L'umidità è presente naturalmente nel caffè verde e durante il processo di torrefazione il chicco perde una quantità significativa di acqua per consentire al meglio la conservabilità del prodotto e l'integrità delle sue caratteristiche organolettiche. L'analisi del contenuto di umidità può essere

eseguita utilizzando tecniche di laboratorio come la termogravimetria o l'analisi termica differenziale le quali consentono di misurare il peso del campione di caffè durante un processo di riscaldamento controllato in cui l'acqua presente viene rilasciata e la variazione di peso può essere misurata e utilizzata per determinarne il contenuto di umidità.

- **Analisi dei componenti chimici:** il caffè contiene una varietà di componenti chimici, come acidi organici, zuccheri, oli volatili e composti fenolici. L'analisi di questi componenti può essere utilizzata per identificare eventuali discrepanze rispetto al profilo chimico tipico della miscela di caffè non soggetta a adulterazione. Le tecniche utilizzate possono includere la cromatografia liquida ad alte prestazioni (HPLC), la spettrometria di massa (MS) o la spettroscopia infrarossa (IR).
- **Analisi delle tracce di metalli pesanti:** la presenza di metalli pesanti, come piombo, cadmio o mercurio, può essere indicativa di contaminazione o adulterazione nella miscela. Alcuni dei metalli pesanti comunemente analizzati nel caffè includono piombo (Pb), cadmio (Cd), mercurio (Hg) e arsenico (As) e la loro rilevazione può essere effettuata tramite Spettrometria di massa (MS) o spettrometria di emissione atomica (ICP-AES)
- **Analisi delle impurità:** le impurità possono essere presenti a causa di contaminazioni avvenute durante il processo di trasformazione del caffè verde oppure tramite aggiunta intenzionale di materiale estranei alla miscela.

La maggior parte di queste tecniche solitamente richiede esperienza e coinvolge la “*wet chemistry*” ovvero l'analisi chimica per via umida per l'identificazione e quantificazione di elementi cercati in un campione liquido, è abbastanza laboriosa e dispendiosa in termini di tempo ed implica la preparazione di soluzioni chimiche, l'utilizzo di reagenti specifici e l'esecuzione di una serie di reazioni chimiche per ottenere informazioni sui composti presenti nel campione in esame. Queste analisi possono coinvolgere la misurazione di pH, titolazione, precipitazione, ossidazione o riduzione, formazione di complessi, reazioni di ossidazione, riduzione, e molte altre.

Un flusso di lavoro tipico prevede l'estrazione del campione mediante una grande varietà di tecniche diverse (ad esempio, estrazione liquido-liquido, estrazione in fase solida,

micro-estrazione in fase solida), seguita da un rilevamento delle specie chimiche di interesse utilizzando strumenti analitici come cromatografia, spettroscopia, spettrometria di massa, sensori elettronici).

Di seguito possono ritrovarsi in elenco le diverse tecniche di analisi chimiche per rilevare l'adulterazione nella miscela di caffè:

- Cromatografia (HPLC, GC): la cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC) e la cromatografia in fase gassosa (GC) sono tecniche ampiamente utilizzate per l'analisi chimica del caffè. Consentono la separazione e l'identificazione dei componenti chimici presenti nella miscela del caffè, come la caffeina, gli acidi organici, gli zuccheri e altri composti. Tuttavia, possono richiedere un'elaborazione del campione e la preparazione di standard di riferimento per la quantificazione.
- Spettrometria di massa (MS): la spettrometria di massa è una tecnica di analisi chimica che può essere utilizzata per identificare e quantificare i composti presenti nella miscela del caffè. La combinazione di cromatografia (HPLC o GC) con la spettrometria di massa consente una separazione accurata dei componenti seguita dall'identificazione dei picchi spettrali corrispondenti ai composti di interesse.
- Spettroscopia FTIR: la spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FTIR) può essere utilizzata per identificare i componenti chimici nella miscela del caffè misurando l'assorbimento di radiazione infrarossa da parte dei legami chimici presenti nel campione. Può rilevare diverse classi di composti, come zuccheri, lipidi, proteine e altre sostanze, ma potrebbe non essere altamente sensibile per alcune adulterazioni specifiche.
- Spettroscopia NMR: la spettroscopia di risonanza magnetica nucleare (NMR) può essere utilizzata per identificare e caratterizzare la struttura chimica dei componenti presenti nella miscela del caffè ed è una tecnica molto potente per l'identificazione di composti specifici, può rilevare la presenza di adulteranti come zucchero, amido di mais o altri composti simili. Tuttavia, richiede strumentazione specializzata e competenze specifiche per l'interpretazione dei dati.

- Spettroscopia NIR: nella spettroscopia NIR, un fascio di luce infrarosso viene inviato attraverso il campione di caffè e la luce riflessa o trasmessa viene rilevata. Ogni sostanza assorbe luce in modo specifico a seconda della sua composizione chimica ed attraverso l'analisi degli spettri NIR del caffè, è possibile ottenere informazioni sulle molecole presenti nel campione e quindi identificare eventuali adulterazioni o variazioni nella composizione
- Spettroscopia UV-Vis: la spettroscopia UV-Vis viene utilizzata per misurare l'assorbimento della radiazione ultravioletta e visibile da parte dei composti presenti nella miscela del caffè. Può fornire informazioni sulla presenza di composti specifici, come polifenoli e altre sostanze, ma potrebbe non essere altamente specifica per alcune adulterazioni specifiche.

3.2 Spettroscopia NIR

La spettroscopia NIR (*Near-Infrared Spectroscopy*) è una tecnica analitica che può essere utilizzata per rilevare le adulterazioni nel caffè attraverso l'assorbimento di luce nel range dell'omonimo spettro, che va approssimativamente da 700 nm a 2500nm.

La tecnica si basa sull'assorbimento di radiazione infrarossa da parte delle molecole presenti nella sostanza in esame ed ogni composto chimico ne assorbe la radiazione in maniera specifica generando uno spettro unico che può essere utilizzato per identificare e quantificare i componenti chimici della sostanza, in pratica un fascio di luce NIR viene inviato attraverso il campione di caffè e la luce riflessa o trasmessa viene rilevata da un rilevatore quindi, l'energia della luce a diverse lunghezze d'onda viene misurata e utilizzata per creare uno spettro NIR caratteristico del campione. L'individuazione dell'adulterazione può basarsi sull'approccio di "impronta digitale" (non mirata ma correlata alla determinazione del maggior numero possibile di metaboliti senza identificare specificamente gli stessi) o approcci di "profilazione" chimica (mirati, ovvero metaboliti correlati identificati e quantificati). Il primo risulta utile per una rapida classificazione e screening dei campioni,



Figura 8 Esempio di NIR (FOSS®)

mentre il secondo fornisce informazioni funzionali dirette utili per confermare l'identità degli adulteranti.

Nell'autenticazione del caffè, entrambi sfruttano l'uso di tecniche analitiche basate su principi chimici (composti marcatori organici, metaboliti, minerali...), biomolecolari (DNA, proteine) o isotopici (H, C, O, N). Uno dei vantaggi principali della spettroscopia NIR è la sua "non distruttività", infatti, la tecnica non richiede la distruzione del campione di caffè, consentendo analisi ripetute senza compromettere la quantità disponibile dello stesso, inoltre è rapida e diretta fornendo risultati quasi in tempo reale consentendo di utilizzarla per monitorare la qualità del caffè durante la produzione o per analizzare rapidamente le materie prime. Esistono tuttavia delle limitazioni associate alla spettroscopia NIR, la calibrazione è un aspetto cruciale per ottenere risultati accurati ed è necessario creare calibri specifici per ogni parametro di interesse nel caffè, utilizzando campioni di riferimento ben caratterizzati inoltre la presenza di altre sostanze nel caffè possono influenzare gli spettri NIR, rendendo necessaria un'attenta interpretazione dei risultati.

3.3 Spettroscopia NMR

La spettroscopia NMR (Risonanza Magnetica Nucleare) è una tecnica analitica che sfrutta l'interazione tra i nuclei atomici e un campo magnetico per ottenere informazioni sulla struttura molecolare di una sostanza, consente un monitoraggio veloce e simultaneo di un'ampia gamma di composti chimici senza richiedere alcuna fase di purificazione iniziale, nel caso della miscela di caffè può fornire informazioni dettagliate basate sul principio dei nuclei atomici come l'idrogeno (protoni) ed il carbonio-13 i quali presentano diverse frequenze di risonanza magnetica in base all'ambiente chimico in cui si trovano.

Queste frequenze di risonanza possono essere registrate e analizzate per identificare specifici composti chimici presenti nel caffè correlate alla presenza di sostanze estranee o di bassa qualità, ad esempio se vengono aggiunti chicchi di caffè di scarto o sostanze come cereali o noci le relative frequenze di risonanza saranno differenti rispetto a quelle del caffè puro; questa tecnica però richiede un elevato livello di competenza tecnica ed è

relativamente costosa, inoltre, non è proprio adatta ad un massiccio screening per il rilevamento di adulterazioni su larga scala.

La spettroscopia NMR può essere utilizzata per identificare la presenza di adulteranti come zucchero, amido di mais, crusca di cereali o altri composti che potrebbero essere stati aggiunti alla miscela, questa tecnica può distinguere tra i diversi composti presenti nel campione fornendo un'indicazione chiara sulla presenza o assenza di adulterazione.

In merito all'utilizzo della tecnologia NMR sono stati elaborati diversi studi, tra cui uno in particolare²⁹ riferito all'autenticazione dei campioni di caffè torrefatto tramite spettroscopia NMR affiancata dall'uso di tecnologia chemiometrica che consente l'utilizzo di approcci statistici. La chemiometria, infatti, è stata utilizzata con successo insieme all'NMR per l'analisi degli alimenti, ad esempio nella discriminazione delle birre, nella determinazione del contenuto di grassi nel latte e nel rilevamento dell'adulterazione dell'olio di arachidi, dimostrando i benefici che si possono ottenere combinando questi strumenti.

Con l'ausilio del trattamento chemiometrico, è possibile analizzare grandi quantità di dati analitici in breve tempo. Lo studio descritto nell'articolo citato è stato intrapreso per sviluppare una metodologia basata su NMR combinata con strumenti chemiometrici per consentire l'identificazione di campioni adulterati e la quantificazione di sei diversi adulteranti del caffè, essi hanno facilitato l'analisi di grandi insiemi di dati relativamente complessi, consentendo l'estrazione di informazioni chimiche da dati chimici multivariati. L'analisi non target, come la PCA (analisi delle componenti principali), consente la visualizzazione di un modello nei campioni analizzati che qui in questa ricerca ha consentito la separazione dei campioni adulterati e non adulterati. Gli strumenti di classificazione, come SIMCA (Soft independent Models of Class Analogy), classificano invece un campione in una classe predeterminata, in questo caso “adulterato” o “non adulterato”, mediante set di calibrazione e predizione.

²⁹ Maria Izabel Milani, Eduardo Luiz Rossini, Tiago Augusto Catelani, Leonardo Pezza, Aline Theodoro Toci, Helena Redigolo Pezza, *Authentication of roasted and ground coffee samples containing multiple adulterants using NMR and a chemometric approach*, Food Control, Volume 112, 2020, 107104.

3.4 Spettroscopia UV-VIS

La spettroscopia UV-VIS (*Ultraviolet-Visible*) è una tecnica di analisi che sfrutta l'interazione della luce con la materia per studiare le proprietà ottiche dei composti chimici. Nel contesto dell'analisi del caffè, la spettroscopia UV-VIS può essere utilizzata per identificare e quantificare alcuni componenti chiave presenti nella miscela ed è una delle tecniche più comuni ed economiche per le analisi di routine. Questa tecnica si basa sull'assorbimento della luce ultravioletta (UV) o visibile (VIS) da parte dei composti presenti nel caffè e consente di ottenere uno spettro di assorbimento che mostra come la quantità di luce assorbita varia in funzione della lunghezza d'onda. Questo spettro può fornire informazioni sulla presenza e sulla concentrazione di alcuni composti nel caffè, come gli acidi clorogenici, che sono responsabili dell'aroma e delle proprietà antiossidanti del caffè.

Come detto in precedenza il principale vantaggio di questa metodologia di analisi è che è una tecnica rapida, semplice e relativamente economica, non richiede una preparazione complessa del campione e può fornire informazioni qualitative e quantitative in modo rapido. Tuttavia, presenta alcune limitazioni in quanto fornisce informazioni sulle proprietà ottiche dei composti, ma non offre dettagli sulla struttura chimica specifica, inoltre, può essere limitata nella sua capacità di distinguere tra diversi composti che presentano spettri di assorbimento simili. Pertanto, per una caratterizzazione più dettagliata e specifica dei componenti chimici nel caffè, potrebbero essere necessarie tecniche analitiche complementari.

Attraverso un recente studio³⁰ è stato possibile avvicinarsi ad una semplice alternativa a tecniche di analisi più complesse tramite l'utilizzo della spettroscopia ultravioletta-visibile (UV-Vis). Questo lavoro mira all'identificazione di sofisticazioni nei caffè tostati e macinati (dovute alla presenza di bucce e bastoncini) in associazione a tecniche di analisi chemiometriche PCA.

³⁰ M. Ferreira, H. Dantas, A. de Pontes. *Identification of adulteration in ground roasted coffees using UV-Vis spectroscopy and SPA-LDA*. 2015. Food Science and Technology 63:1037 – 1041.

Il set di dati ottenuto è stato suddiviso in set di addestramento applicando un campionamento uniforme ed in seguito ad analisi sono usciti gli spettri di assorbanza relativi agli estratti acquosi del caffè in differenti intervalli.

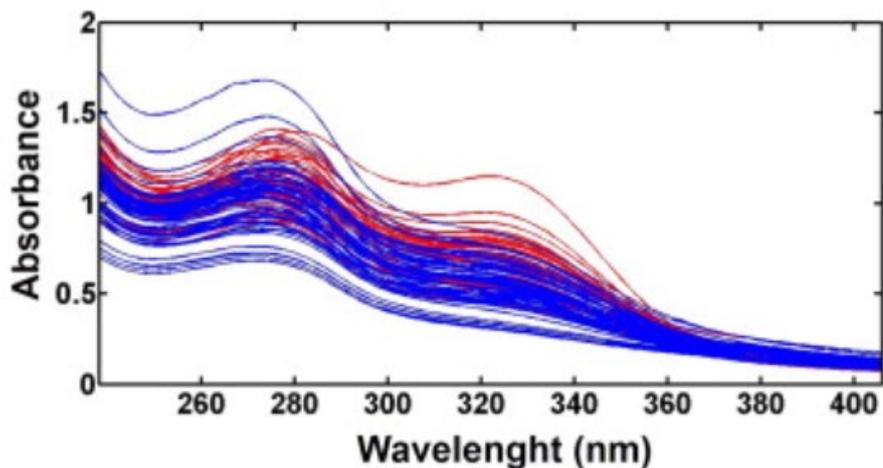


Figura 9 Spettri UV-Vis dei 102 campioni di caffè torrefatto studiati: campioni di caffè non adulterati in rosso e adulterati in blu

Al fine di valutare la capacità discriminante degli spettri UV-Vis degli estratti acquosi di caffè sia non adulterati che adulterati, è stata eseguita un'analisi delle componenti principali PCA. La qualità dei chicchi di caffè è influenzata da diversi fattori derivanti dalle fasi di raccolta, lavorazione e conservazione; Infatti, la qualità della polvere di caffè tostato macinato influisce direttamente sui suoi estratti acquosi in termini di sapore e aroma.

In questo senso, il contributo principale è dato dai cambiamenti che avvengono durante il processo di tostatura tramite reazioni fisico-chimiche (quali la reazione di Maillard, la degradazione di Strecker, la caramellizzazione degli zuccheri, la degradazione degli acidi clorogenici, la degradazione delle proteine e dei polisaccaridi) dovute alle interazioni tra i vari composti presenti nei chicchi di caffè (proteine, carboidrati, acidi clorogenici, caffeina, trigonellina, lipidi ecc.) quando sottoposti a calore .Queste caratteristiche differenziali degli estratti acquosi di caffè tostati macinati si riflettono quindi nei rispettivi spettri di assorbimento molecolare nella regione UV-Vis.

Questo approccio presenta vantaggi intrinseci perché fornisce un'analisi semplice e veloce degli estratti di caffè tostati macinati preparati in sola acqua calda, che rappresentano il prodotto finale ingerito dai consumatori. Inoltre, può anche offrire sicurezza ai consumatori di caffè e alle agenzie di regolamentazione, prevenendo l'etichettatura fraudolenta.

3.5 Spettroscopia LIBS

La spettroscopia di rottura indotta da laser LIBS (*Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*) è stata presentata come una tecnica rapida e pratica per un'analisi multi-elementale in quanto fornisce tutti i dati elementari di un campione in una singola misurazione, è basata sul funzionamento di un laser e viene utilizzata per rilevare segnali di emissione atomica e molecolare di elementi, nello specifico il laser viene utilizzato per vaporizzare il campione e generare un plasma da cui è possibile ottenere informazioni spettrali sulle componenti chimiche presenti nel campione.

Il LIBS può essere utilizzato in misurazioni qualitative e quantitative della composizione elementare di matrici differenti quali liquida, solida e gassosa ed è stato sfruttato in diversi studi ma solo di recente per distinguere il caffè arabica dagli adulteranti quali grano, mais, ceci. Consente di ottenere informazioni sulla presenza e sulla quantità di elementi specifici nel caffè, che possono indicare la presenza di adulteranti come metalli pesanti, zucchero o altre sostanze indesiderate.

La tecnica è rapida, non distruttiva e non richiede una preparazione complessa del campione, rendendola adatta per l'analisi in situ o in tempo reale. Tuttavia, è importante sottolineare che l'analisi mediante spettroscopia LIBS può richiedere una calibrazione accurata per garantire risultati affidabili e precisi, inoltre può rivelarsi limitata nella distinzione tra diversi composti organici simili o nella determinazione di concentrazioni molto basse di alcuni elementi.

Pertanto, potrebbe essere necessario combinare la spettroscopia LIBS con altre tecniche analitiche per ottenere una valutazione completa dell'adulterazione nella miscela del

caffè, infatti, alcuni studi³¹ hanno dimostrato che l'utilizzo combinato della tecnica di analisi in questione con approcci chemiometrici ha il potenziale di diventare una metodologia di rilevamento dell'adulterazione nel caffè tostato macinato e di conferma della sua autenticità, utilizzabile in modo routinario.

3.6 Cromatografia

Le tecniche cromatografiche sono ampiamente utilizzate nell'analisi del caffè per separare e identificare i componenti chimici presenti nella miscela e tra queste due delle tecniche più comuni impiegate per l'analisi del caffè sono la cromatografia liquida ad alte prestazioni (HPLC, acronimo di *High-Performance Liquid Chromatography*) e la cromatografia in fase gassosa (GC, acronimo di *Gas Chromatography*).

La cromatografia liquida ad alte prestazioni (HPLC) utilizza una fase stazionaria solida e una fase mobile liquida per separare i componenti del campione. Nel caso del caffè, questa tecnica può essere utilizzata per analizzare i composti chimici come caffeina, acidi clorogenici, lipidi, zuccheri e altre sostanze presenti nella miscela. La HPLC offre elevata sensibilità, precisione e selettività nella separazione dei componenti, consentendo una caratterizzazione dettagliata del profilo chimico del caffè.

La cromatografia in fase gassosa (GC) è una tecnica che impiega una fase stazionaria solida e una fase mobile gassosa per separare i componenti volatili del caffè. Questa tecnica è particolarmente utile per l'analisi di composti aromatici, come gli oli volatili responsabili dell'aroma del caffè; offre una separazione efficiente e una buona risoluzione dei componenti volatili, consentendo di valutare l'aroma e l'autenticità del caffè.

Entrambe le tecniche cromatografiche possono essere accoppiate a rilevatori specifici, come rilevatori a massa (MS) o rilevatori a spettrometria di massa (MS/MS), per aumentare la sensibilità e l'identificazione dei componenti chimici nel caffè. Questi

³¹ M. Markiewicz-Keszycka, R. Cama-Moncunill, M.P. Gavalda, C. Sullivan, P. Cullen, *Laser-induced breakdown spectroscopy for food authentication*, Current Opinion in Food Science, Volume 28, 2019, pp. 96-103.

strumenti permettono di ottenere spettri di massa dei componenti separati, che possono essere confrontati con database di riferimento per l'identificazione precisa dei composti.

Le tecniche cromatografiche offrono vantaggi come l'elevata selettività, la capacità di separare componenti complessi e la possibilità di quantificazione accurata dei composti. Tuttavia, richiedono attrezzature specializzate, tempo di analisi relativamente lungo e competenze tecniche per l'interpretazione dei risultati.

In conclusione, sono strumenti fondamentali nell'analisi del caffè per la separazione, l'identificazione e la quantificazione dei componenti chimici presenti nella miscela ma è necessario avere una conoscenza preliminare dei componenti chimici di interesse per selezionare le condizioni di separazione adeguate.

Le tecniche cromatografiche, associate a diversi sistemi di rilevamento, consentono sia l'identificazione di marcatori di adulterazione chimica sia un approccio rapido nell'autenticazione degli alimenti ma il principale svantaggio dato da questi è che i reagenti chimici utilizzati distruggono il campione e sono dannosi nei confronti dell'ambiente.

3.7 Spettroscopia FTIR

La spettroscopia FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) è una tecnica analitica che sfrutta la capacità delle molecole di assorbire specifiche frequenze di radiazione infrarossa identificando e caratterizzando i differenti composti presenti nel caffè. Per rilevare le adulterazioni nel caffè mediante spettroscopia FTIR è necessario ottenere uno spettro infrarosso del campione di caffè puro e confrontarlo con uno spettro di caffè adulterato o con spettri di riferimento di sostanze comuni utilizzate per l'adulterazione del caffè come zucchero, farina di cereali, orzo, cicoria o altri componenti meno costosi.

Attraverso l'analisi degli spettri infrarossi, è possibile identificare i picchi di assorbanza corrispondenti alle diverse componenti chimiche presenti nel caffè. Se lo spettro di un campione di caffè adulterato mostra picchi di assorbanza corrispondenti a sostanze che non sono presenti nel caffè puro, può essere un indicatore di adulterazione ma non è possibile rilevare la quantità degli adulteranti presenti.

Uno dei vantaggi principali della spettroscopia FTIR è la sua rapidità nell'acquisizione dei dati, infatti, gli spettri infrarossi possono essere ottenuti in tempi relativamente brevi consentendo di analizzare un gran numero di campioni in un breve periodo di tempo, tuttavia, sono presenti anche degli svantaggi in quanto alcuni componenti del caffè possono mascherare o sovrapporsi alle caratteristiche spettrali degli adulteranti, rendendo difficile la loro identificazione.

3.8 Adulterazione della miscela arabica con robusta

Sulla base del rilevamento di singole classi di composti chimici sono state sviluppate una serie di analisi cromatografiche e spettroscopiche dedicate al caffè verde e tostato per la differenziazione delle specie e per il rilevamento di adulterazioni di arabica con robusta.

La misurazione delle molecole distintive di robusta, come il composto 16-O-Metilcafestolo³², consente di rilevare l'adulterazione del caffè in quanto presente esclusivamente in questa specie ed è un eccellente sostanza marcatrice infatti quando è presente nel caffè il 16-OMC si presenta in forma esterificata e presenta una specifica risonanza allo spettro H-NMR (risonanza magnetica nucleare coadiuvata ad analisi chemiometriche), tuttavia, le analisi chimiche sono ostacolate dalla significativa variabilità nella composizione chimica del seme che si verifica naturalmente all'interno di ogni specie e dipende dalle condizioni ambientali di crescita.

Questa diversità intraspecifica è stata approfondita per diversi composti biochimici correlati alla qualità della miscela (arabica/robusta) come caffeina, trigonellina, acido clorogenico e saccarosio e l'analisi simultanea di più componenti chimici è nata come strategia alternativa per aumentare l'affidabilità della valutazione della qualità degli alimenti.

Secondo un recente studio³³ dell'*AOAC International* è stata valutata la fattibilità dell'utilizzo della spettroscopia H-NMR per determinare la composizione di robusta nella

³² D. S. Domingues, E. D. Pauli, J. E.M. de Abreu, F. W. Massura, C. Valderi, M. J. Santos, S. L. Nixdorf, *Detection of roasted and ground coffee adulteration by HPLC by amperometric and by post-column derivatization UV-Vis detection*, Food Chemistry, Volume 146, 2014, pp. 353-362.

³³ X. Wang *et alii*, *Review of Analytical Methods to Detect Adulteration in Coffee*, Journal of AOAC INTERNATIONAL, Volume 103, Issue 2, March-April 2020, pp. 295-305.

Per rilevare l'adulterazione della miscela di arabica con robusta si possono usare entrambe le tecniche cromatografiche; nel caso della HPLC si utilizza una colonna di separazione ad alta precisione che separa i componenti della miscela di caffè in base alle loro proprietà chimiche, come la polarità.

I campioni di caffè vengono preparati e iniettati nella HPLC, e i componenti si separano mentre passano attraverso la colonna. Un rivelatore rileva i singoli componenti e genera un grafico chiamato cromatogramma.

Comparando i picchi del cromatogramma ottenuto da una miscela di arabica e robusta adulterata con quelli di una miscela non adulterata, è possibile rilevare la presenza di robusta.

La cromatografia in fase gassosa (GC) è un'altra tecnica comune utilizzata per l'analisi del caffè. In questo caso, i composti volatili del caffè vengono separati utilizzando una colonna di separazione all'interno di un forno riscaldato ed i componenti vengono vaporizzati e poi separati in base alle loro proprietà volatili, dunque, un rivelatore rileva le componenti separate e produce un cromatogramma.

Un aiuto molto importante per queste analisi deriva dall'uso dei carboidrati non solo come "traccianti" per la valutazione dell'autenticità del caffè, la cromatografia a scambio anionico ad alta prestazione con rilevamento amperometrico pulsato è la tecnica più comunemente utilizzata³⁴ per studiare la composizione dei carboidrati nel caffè, viene sfruttata la debole natura acida dei carboidrati per ottenere separazioni selettive a pH elevato utilizzando una fase stazionaria a scambio anionico forte con rilevazione elettrochimica senza la necessità di una derivatizzazione.

³⁴ T. Cataldi, C. Campa, G. Kline. *Carbohydrate analysis by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection: The potential is still growing*. December 2000. Fresenius Journal of Analytical Chemistry 368(8): pp. 739-58

CAPITOLO 4

UTILIZZO DELLA BIOLOGIA MOLECOLARE

4.1 Analisi genetica, uno sguardo al futuro

Oltre l'approccio chemiometrico i metodi di biologia molecolare basati sulla rilevazione del DNA svolgono un ruolo molto importante nel controllo e nell'autenticazione di eventuali frodi nel campo della sicurezza alimentare in quanto consentono di discriminare non solo a livello di specie del caffè ma anche a livello di *cultivar* permettendo inoltre la quantificazione degli adulteranti.

Nel settore del caffè questo tipo di analisi si riferisce alla tecnica della PCR e all'analisi HRM³⁵ (*High resolution melting*), quest'ultima in particolare consente la genotipizzazione ed il “*fingerprinting*” discriminando le varianti della sequenza del DNA, come i polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) e piccole inserzioni e delezioni, in base al profilo di fusione (TM) dei prodotti della Real Time-PCR.

L'analisi HRM viene eseguita direttamente dopo l'amplificazione PCR di piccole sequenze di DNA bersaglio che trasportano un SNP e non richiede un alto livello di competenza, dunque, al fine di fornire ai professionisti del settore un metodo economico e ad alto rendimento per rilevare e quantificare l'adulterazione tramite robusta nella miscela di arabica, gli sforzi sono stati diretti allo sviluppo di un nuovo metodo basato sul DNA.

Quest'analisi³⁶ si basa sulla differenza nella temperatura di fusione (Tm) dei prodotti amplificati della PCR a causa delle variazioni nelle sequenze di DNA, la Tm rappresenta la temperatura a cui il DNA si “srotola” formando filamenti separati tra loro, la presenza quindi di varianti o varietà di caffè differenti determinerà una diversa temperatura di

³⁵ B. Druml, M. Cichna-Markl, *High resolution melting (HRM) analysis of DNA--its role and potential in food analysis*. Food Chem. 2014 Sep 1; 158.

³⁶ MC. Combes, T. Joët, P. Lashermes, *Development of a rapid and efficient DNA-based method to detect and quantify adulterations in coffee (Arabica versus Robusta)*, Food Control, Volume 88, 2018, pp. 198-206.

fusione, vengono dunque progettati primer specifici per riconoscere e amplificare il DNA delle varietà di interesse.

Un grande vantaggio di questa tecnica è che è un metodo rapido e semplice da eseguire, non richiede l'utilizzo di reagenti costosi o marcatori fluorescenti ed è altamente sensibile in quanto può rilevare anche piccole quantità di adulteranti ma, è importante sottolineare che richiede una preparazione adeguata del campione, una scelta appropriata dei primer e l'ottimizzazione delle condizioni di reazione.

Una volta che il metodo di estrazione del DNA è ottimizzato e automatizzato avviene l'analisi HRM, considerata un metodo rapido e ad alto rendimento, più economico dell'NMR e più semplice di altri metodi basati sul DNA che richiedono l'elaborazione post-PCR.

In base alle coppie primer selezionate mirate agli SNP (Polimorfismi a singolo nucleotide) del genoma dei cloroplasti l'analisi HRM si è dimostrata altamente efficiente qualunque sia l'origine del caffè verde, infatti, l'utilizzo in PCR di coppie di primer dovrebbe rafforzare l'affidabilità del controllo di autenticità. In poche ore può essere estratto il DNA dai campioni e ottenere le loro rispettive curve HRM ed in caso di adulterazione questo metodo potrebbe essere combinato con altre tecniche chemiometriche per confermare le irregolarità.

Nel futuro dell'utilizzo della genetica nell'analisi del caffè si prevedono sviluppi interessanti e innovativi; uno dei possibili sviluppi riguarda l'adozione di metodi di sequenziamento del DNA ad alta velocità che potrebbero rendere l'analisi più rapida ed accessibile, un altro aspetto chiave è rappresentato dai database genetici, infatti attualmente i database di riferimento contengono i profili genetici delle varietà di caffè autentiche ma nel futuro potrebbero essere espansi e migliorati; L'aggiunta di più varietà di caffè e una maggiore conoscenza genetica consentirebbero di identificare con maggiore precisione le potenziali adulterazioni.

E' possibile inoltre che la genetica possa essere utilizzata per individuare adulterazioni più complesse nel caffè, infatti oltre alla semplice identificazione della presenza di robusta in miscela di arabica, potrebbero essere sviluppate metodologie per rilevare

componenti provenienti da piante geneticamente modificate; Infine, ci si aspetta che le tecnologie di rilevamento del DNA diventino sempre più “smart” e alla portata di tutti e questo consentirebbe di effettuare test rapidi direttamente sul campo, come in fabbriche di caffè o nei punti vendita, migliorando il controllo della qualità e riducendo i tempi di analisi.

Conclusioni

L'identificazione e la rilevazione delle adulterazioni nel caffè richiedono l'applicazione di diverse tecniche di analisi. L'analisi sensoriale rappresenta un metodo immediato ed economico per valutare le caratteristiche organolettiche del caffè, ma è soggettiva e limitata all'individuazione di adulterazioni superficiali mentre l'analisi chimica offre elevata sensibilità e specificità, consentendo l'identificazione e la quantificazione di componenti nel caffè, tuttavia, richiede strumentazione costosa e competenze specifiche per l'interpretazione dei risultati. Allo stesso modo, l'analisi molecolare fornisce risoluzione e accuratezza elevate, ma richiede strumentazione avanzata e una preparazione accurata dei campioni mentre l'analisi Spettroscopica (NMR e LIBS) offre metodi rapidi e non distruttivi per l'identificazione e quantificazione di componenti nel caffè, inoltre, un aspetto molto importante è che può essere utilizzata per controllare anche l'origine geografica del caffè. Le analisi genetiche invece possono rilevare contaminazioni e diluizioni indesiderate nel caffè, aiutando a identificare la presenza di altre specie di piante o sottoprodotti vegetali, queste tecniche sono basate sull'analisi del DNA, che permette di individuare sequenze genetiche specifiche che distinguono le diverse specie di caffè e, sicuramente i suoi punti di forza sono un'elevata specificità e sensibilità nella rilevazione delle adulterazioni, la possibilità di identificare anche piccole quantità di materiale genetico estraneo e l'obiettività dei risultati, tuttavia, richiedono attrezzature molto costose e competenze specifiche, ma nonostante queste limitazioni rappresentano uno strumento molto prezioso per il futuro dell'analisi garantendo qualità ed autenticità dei prodotti con l'integrazione di analisi chimiche per fornire un quadro completo. È importante sottolineare che ogni tecnica ha i suoi punti di forza e di debolezza, la scelta delle tecniche di analisi dipende dai requisiti specifici della ricerca, dalle risorse disponibili e dagli obiettivi prefissati; non è presente, dunque, una tecnica considerata migliore, ma un utilizzo di tecniche combinate può fornire risultati più completi ed affidabili.

BIBLIOGRAFIA

- Amorim, H. V., Guercio, M. A., Cortez, J. G., & Malavolta, E. (1973). Métodos de análise orgânica do café. I. Comparação entre métodos de determinação do ácido clorogênico. *Anais Da Escola Superior De Agricultura Luiz De Queiroz*, 30, pp. 281-291.
- Arnaud MJ (2011) Pharmacokinetics and metabolism of natural methylxanthines in animal and man, in Methylxanthines. Handbook of Experimental Pharmacology, vol 200, pp 33–91, Springer, Heidelberg
- B. Druml, M. Cichna-Markl, *High resolution melting (HRM) analysis of DNA--its role and potential in food analysis*. Food Chem. 2014 Sep 1; 158.
- Caracostea, L.- M., Rodica SÎRBU - Florica BUȘURICU. (2021). Determination of Caffeine Content in Arabica and Robusta Green Coffee of Indian Origin. *European Journal of Natural Sciences and Medicine*, 4(1), pp. 69–79.
- Colombo E., Tirelli P. (2006), *Il mercato del caffè e il commercio equo e solidale. Ricerca su “Il commercio equo e solidale. Analisi e valutazione di un nuovo modello di sviluppo”*, Università degli Studi di Milano – Bicocca, Centro di ricerche sulla cooperazione.
- Daglia M., Papetti A., Aceti C., Spini V., Sordelli B., Gregotti C., Gazzani G., *Attività protettiva delle melanoidine del caffè nei confronti della perossidazione lipidica*, VII Congresso nazionale di Chimica degli Alimenti, Perugia, 23-26 giugno 2008.
- De Carvalho Couto *et alii*, *Near-Infrared Spectroscopy Applied to the Detection of Multiple Adulterants in Roasted and Ground Arabica Coffee Foods*, 11: 61 (2022).
- Diego S. Domingues, Elis D. Pauli, Julia E.M. de Abreu, Francys W. Massura, Valderi Cristiano, Maria J. Santos, Suzana L. Nixdorf, *Detection of roasted and ground coffee adulteration by HPLC by amperometric and by post-column derivatization UV-Vis detection*, Food Chemistry, Volume 146, 2014, pp. 353-362.
- Fredholm BB., Astra Award Lecture. *Adenosine, adenosine receptors and the actions of caffeine*. Pharmacol Toxicol. 1995.

- Gu L., Gonzalez FJ., Kalow W., Tang BK. (1992) *Biotransformation of caffeine, paraxanthine, theobromine and theophylline by cDNA expressed human CYP1A2 and CYP2E1*. *Pharmacogenetics* 2: pp. 73–77.
- M. Ferreira, H. Dantas, A. de Pontes. *Identification of adulteration in ground roasted coffees using UV-Vis spectroscopy and SPA-LDA*. 2015. *Food Science and Technology* 63: pp. 1037 – 1041.
- Maria Izabel Milani, Eduardo Luiz Rossini, Tiago Augusto Catelani, Leonardo Pezza, Aline Theodoro Toci, Helena Redigolo Pezza, *Authentication of roasted and ground coffee samples containing multiple adulterants using NMR and a chemometric approach*, *Food Control*, Volume 112, 2020, 107104.
- Maria Markiewicz-Keszycka, Raquel Cama-Moncunill, Maria Pietat Casado-Gavalda, Carl Sullivan, Patrick J Cullen, *Laser-induced breakdown spectroscopy for food authentication*, *Current Opinion in Food Science*, Volume 28, 2019, pp. 96-103.
- Marie-Christine Combes, Thierry Joët, Philippe Lashermes, *Development of a rapid and efficient DNA-based method to detect and quantify adulterations in coffee (Arabica versus Robusta)*, *Food Control*, Volume 88, 2018, pp. 198-206.
- N. Stefanello, R.M. Spanevello, S. Passamonti, L. Porciúncula, C.D Bonan, A.A Olabiyi, J.B.T da Rocha, C.E Assmann, V.M Morsch, M.R.C Schetinger, *Coffee, caffeine, chlorogenic acid, and the purinergic system*, *Food and Chemical Toxicology*, Volume 123, 2019, Pages 298-313
- T. Cataldi, C. Campa, G. Kline. *Carbohydrate analysis by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection: The potential is still growing*. December 2000. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 368(8): pp. 739-58
- Tajik, N., Tajik, M., Mack, I. *et alii*, *The potential effects of chlorogenic acid, the main phenolic components in coffee, on health: a comprehensive review of the literature*. *Eur J Nutr* 56, pp. 2215–2244 (2017).
- Teketay, Demel (1999). *History, botany and ecological requirements of coffee*. *Walia*. 20, pp. 28-50.
- Urijatan Teixeira de Carvalho Polari Souto, Mayara Ferreira Barbosa, Hebertty Vieira Dantas, Aline Santos de Pontes, Wellington da Silva Lyra, Paulo Henrique

Gonçalves Dias Diniz, Mário César Ugulino de Araújo, Edvan Cirino da Silva, *Identification of adulteration in ground roasted coffees using UV–Vis spectroscopy and SPA-LDA*, LWT - Food Science and Technology, Volume 63, Issue 2, 2015, pp. 1037-1041.

- Xiuju Wang *et alii*, *Review of Analytical Methods to Detect Adulteration in Coffee*, Journal of AOAC INTERNATIONAL, Volume 103, Issue 2, March-April 2020, pp. 295–305.

SITOGRAFIA

- <https://venetosecrets.com/arte-stile/caffè-a-venezia-dal-primò-bar-in-europa-all-ultima-torrefazione-artigianale/> Consultato il 7 Giugno 2023.
- <https://www.chimicamo.org/chimica-organica/trigonellina/> Consultato il 14 Giugno 2023.
- <https://www.focus.it/cultura/storia/il-vino-darabia> Consultato il 7 Giugno 2023.
- <https://www.lavazza.it/it/blend-for-better/la-produzione-del-caffè-dal-chicco-alla-tazzina> Consultato il 19 Giugno 2023.
- <https://www.my-personaltrainer.it/integratori/acido-caffèico.html> Consultato il 14 Giugno 2023.
- https://www.wikiwand.com/it/Storia_del_caffè Consultato il 18 Giugno 2023.
- <https://www.attibassi.it/storia-del-caffè/coltivazione-raccolta/> Consultato il 19 Giugno 2023.
- <http://www.italcoffee.biz/english/la-produzione-del-caffè-nel-mondo/> Consultato il 14 Giugno 2023.
- <https://agrireregionieuropa.univpm.it/it/content/article/31/15/dinamiche-del-mercato-internazionale-del-caffè> Consultato il 14 Giugno 2023.
- <https://www.fercam.com/it-it/blog/la-supply-chain-dell'oro-verde--2-1963.html> Consultato il 19 Giugno 2023.

- <https://www.ilsole24ore.com/art/da-lavazza-certificazione-e-tracciabilita-caffe-AE1m5U2B> Consultato il 9 giugno 2023.
- <https://www.trackyfood.com/tracciabilita-alimentare-cose-come-funziona-e-quali-sono-le-norme/> Consultato il 2 giugno 2023.
- <https://www.parlamento.it/parlam/leggi/deleghe/06190dl.htm> Consultato il 19 maggio 2023.
- <https://www.brocardi.it/codice-penale/libro-secondo/titolo-vi/capoi/art440.html> Consultato il 20 febbraio 2023.
- <https://www.caffeletterari.it/2019/11/28/le-rotte-infinite-del-caffe-da-dove-viene-come-si-trasforma-quanto-vale/> Consultato il 20 febbraio 2023.
- <https://it.wikipedia.org/wiki/Caffeina> Consultato il 20 febbraio 2023.
- <https://antropocene.it/2020/10/08/coffea-arabica/> Consultato il 6 marzo 2023.
- <https://pilloledichimica.it/2021/01/24/la-chimica-del-caffe-%E2%98%95%F0%9F%A7%89/> Consultato il 19 Giugno 2023.
- <https://it.wikipedia.org/wiki/Caff%C3%A8> Consultato il 18 Giugno 2023.