

NORME INTERNATIONALE

ISO
10095

Première édition
1992-01-15

Café — Détermination de la teneur en caféine — Méthode par chromatographie liquide à haute performance

iTeh STANDARD PREVIEW

*Coffee — Determination of caffeine content — Method using
high-performance liquid chromatography*

ISO 10095:1992

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3B9c35d-1441-4d60-8e65-e707384bfc36/iso-10095-1992>



Numéro de référence
ISO 10095:1992(F)

Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

La Norme internationale ISO 10095 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, sous-comité SC 15, *Café*.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3B9c35d-1441-4d60-8e65-e707384bfc36/iso-10095-1992>

L'annexe A de la présente Norme internationale est donnée uniquement à titre d'information.

© ISO 1992

Droits de reproduction réservés. Aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie et les microfilms, sans l'accord écrit de l'éditeur.

Organisation internationale de normalisation
Case Postale 56 • CH-1211 Genève 20 • Suisse

Imprimé en Suisse

Café — Détermination de la teneur en caféine — Méthode par chromatographie liquide à haute performance

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale prescrit une méthode de détermination de la teneur en caféine par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) dans les cafés verts, le café torréfié et les extraits de café en poudre, que ces produits soient décaféinés ou non.

NOTE 1 La méthode de référence pour la détermination de la teneur en caféine, utilisant la spectrométrie d'absorption dans les ultraviolets, fait l'objet de l'ISO 4052:1983, *Cafés — Détermination de la teneur en caféine — Méthode de référence*.

2 Références normatives

Les normes suivantes contiennent des dispositions qui, par suite de la référence qui en est faite, constituent des dispositions valables pour la présente Norme internationale. Au moment de la publication, les éditions indiquées étaient en vigueur. Toute norme est sujette à révision et les parties prenantes des accords fondés sur la présente Norme internationale sont invitées à rechercher la possibilité d'appliquer les éditions les plus récentes des normes indiquées ci-après. Les membres de la CEI et de l'ISO possèdent le registre des Normes internationales en vigueur à un moment donné.

ISO 1447:1978, *Café vert — Détermination de la teneur en eau (Méthode de routine)*.

ISO 3726:1983, *Café soluble — Détermination de la perte de masse à 70 °C sous pression réduite*.

ISO 6673:1983, *Café vert — Détermination de la perte de masse à 105 °C*.

3 Principe

Extraction de la caféine d'une prise d'essai avec de l'eau à 90 °C en présence d'oxyde de magnésium. Filtration, puis purification d'une partie aliquote sur une micro-colonne de silice greffée d'un groupement phényle.

Dosage de la caféine par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) avec détection aux ultraviolets.

4 Réactifs

Sauf indication différente, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique. L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou déminéralisée ou de l'eau de pureté au moins équivalente.

4.1 **Méthanol**, qualité CLHP.

4.2 **Hydroxyde d'ammonium** (à 0,3 mol/l)/**méthanol**, mélange 90 + 10 en volume.

4.3 **Solvant d'éluion**, pour purification de la colonne méthanol/eau/acide acétique, mélange 75 + 25 + 1 en volume.

4.4 **Phase mobile**, méthanol/eau : mélange 30 + 70 en volume.

Introduire 600 ml de méthanol (4.1) dans une fiole jaugée à un trait de 2 l et compléter au trait repère avec de l'eau. Homogénéiser et filtrer le mélange sur un filtre de 0,45 µm d'ouverture de pores (5.7).

NOTE 2 En ajustant la concentration du méthanol, le temps de rétention de la caféine peut être modifié de façon à optimiser la séparation par CLHP.

4.5 Ethanol/eau, solution 1 + 4 en volume.

4.6 Oxyde de magnésium¹⁾.

4.7 Caféine, solution mère, correspondant à 0,5 g de caféine par litre.

Préparer la solution mère en pesant, à 0,000 1 g près, 0,125 g de caféine dans une fiole jaugée de 250 ml en verre inactinique. Ajouter suffisamment de mélange éthanol/eau (4.5) pour remplir la fiole jusqu'à la moitié. Dissoudre la caféine, puis compléter au trait repère avec le même mélange éthanol/eau.

Cette solution peut être conservée pendant 1 mois au réfrigérateur.

4.8 Caféine, solutions étalons.

4.8.1 Solution étalon A, correspondant à 0,010 g de caféine par litre (pour les cafés décaféinés).

Laisser la solution mère (4.7) se réchauffer à la température du laboratoire. Introduire à la pipette (5.12) 2 ml de cette solution dans une fiole jaugée à un trait de 100 ml. Compléter au trait repère avec de l'eau et mélanger.

Préparer cette solution le jour de son utilisation.

4.8.2 Solution étalon B, correspondant à 0,05 g de caféine par litre (pour les cafés courants).

Laisser la solution mère (4.6) se réchauffer à la température du laboratoire. Introduire à la pipette 5 ml de cette solution dans une fiole jaugée à un trait de 50 ml. Compléter au trait repère avec de l'eau et mélanger.

5 Appareillage

Matériel courant de laboratoire, et notamment

5.1 Chromatographe liquide à haute performance, équipé d'un détecteur à ultraviolets permettant les mesures entre 254 nm et 280 nm et d'un enregistreur graphique. Une longueur d'onde proche de 280 nm est préférable, car le maximum d'absorption de la caféine se situe à 272 nm.

5.2 Colonne de chromatographie pour CLHP, de type C₁₈ avec, de préférence, des particules sphériques et ayant une efficacité d'au moins 5 000 plateaux théoriques.²⁾

Le nombre *N* de plateaux théoriques d'une colonne peut être calculé comme suit, à partir du pic obtenu en injectant une solution étalon (4.8) de caféine pure:

$$N = 5,54 \left(\frac{t}{w_{0,5}} \right)^2$$

où

t est le temps de rétention du pic;

*w*_{0,5} est la largeur du pic à mi-hauteur.

5.3 Colonne de purification, pour chromatographie en phase inverse de 3 ml de capacité, remplie de silice greffée d'un groupement au phényle, dont les particules ont un diamètre moyen de 40 μm.³⁾

5.4 Moulin à café, approprié, pour grains de café torréfiés.

1) Merck 5867 est un exemple de produit approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

2) Spherisorb 5 ODS, Spherisorb 10 ODS, Nucleosil 5 C₁₈, Nucleosil 7 C₁₈, Nucleosil 10 C₁₈, Zorbax BP C₁₈, Hypersil ODS, CP-Spher C₁₈, Bondapak C₁₈, Supelcosil L C₁₈, Partisphere C₁₈ sont des exemples de produits appropriés disponibles sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif des produits ainsi désignés.

Dans la présente Norme internationale les conditions chromatographiques et la composition de la phase mobile (4.4) ont été établies sur la base d'une colonne Cartridge de Partisphere C₁₈ de dimensions 110 mm × 4,6 mm, ajustée à un système Cartridge de CLHP Whatman. L'utilisation d'un autre type de colonne peut demander des modifications de la phase mobile et des conditions chromatographiques.

3) La colonne Baker SPE, de 3 ml, greffée d'un groupement phényle en phase inverse, est un exemple de produit approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

5.5 Broyeur à roues dentées, avec manchon de refroidissement, ou **broyeur analytique**, à ailettes et manchon de refroidissement, ou tout broyeur semblable approprié pour café vert en grains.

5.6 Tamis, en tissu métallique de 630 μm d'ouverture de mailles.

5.7 Filtres, de 0,45 μm d'ouverture de pores.

5.8 Bain d'eau, réglable à $90\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ sous agitation continue.

5.9 Balance analytique, précise à 0,000 1 g près.

5.10 Fiole conique, de 250 ml de capacité, munie d'un bouchon à vis.

5.11 Fiole jaugée à un trait, de 10 ml, 50 ml, 100 ml, 250 ml et 2 l de capacité.

5.12 Pipettes, de 2,0 ml, 5,0 ml et 10 ml de capacité.

6 Échantillonnage

Pour l'échantillonnage du café vert en sacs, voir l'ISO 4072.

Pour l'échantillonnage du café soluble en caisses doublées, voir l'ISO 6670.

7 Préparation de l'échantillon pour essai

Si nécessaire, broyer l'échantillon au moyen de l'appareil spécifié en 5.4 ou 5.5, selon le cas, jusqu'à ce qu'il passe au travers du tamis (5.6).

8 Mode opératoire

8.1 Détermination de la teneur en matière sèche

Calculer la teneur en matière sèche à partir de la teneur en eau déterminée sur une partie de l'échantillon pour essai (article 7) conformément à

- l'ISO 1447 ou à l'ISO 6673 pour le café vert,
- l'ISO 3726 pour le café soluble, ou à
- la future Norme internationale correspondante pour d'autres types de café et produits dérivés.

8.2 Prise d'essai

8.2.1 Cafés verts et cafés torréfiés en grains, décaféinés ou non

Peser, à 0,000 1 g près, 1 g d'échantillon pour essai (article 7).

8.2.2 Cafés solubles en poudre, décaféinés ou non

Peser, à 0,000 1 g près, 0,5 g de l'échantillon pour essai (article 7).

8.3 Extraction de la caféine

8.3.1 Transférer la prise d'essai (8.2.1 ou 8.2.2) dans une fiole conique de 250 ml (5.10). Ajouter $4\text{ g} \pm 0,5\text{ g}$ d'oxyde de magnésium (4.5) et 100 g d'eau. Peser 0,1 g près la fiole et son contenu.

8.3.2 Boucher la fiole conique et homogénéiser. La placer dans le bain d'eau à $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ (5.8) et chauffer à $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ sous agitation continue pendant 20 min.

Refroidir la fiole conique et la peser à nouveau à 0,1 g près. La masse obtenue doit être identique à celle déterminée en 8.3.1.

8.3.3 Si ce n'est pas le cas, effectuer une nouvelle extraction (8.3.1 et 8.3.2) à partir d'une nouvelle prise d'essai.

8.3.4 Laisser reposer le contenu. Prélever une partie de la solution et la filtrer sur un filtre (5.7).

8.4 Purification de l'échantillon

Avant toute opération, activer la colonne de purification (5.3).

8.4.1 Préparation de la colonne de purification

Disposer la colonne de purification comme indiqué en figure 1.

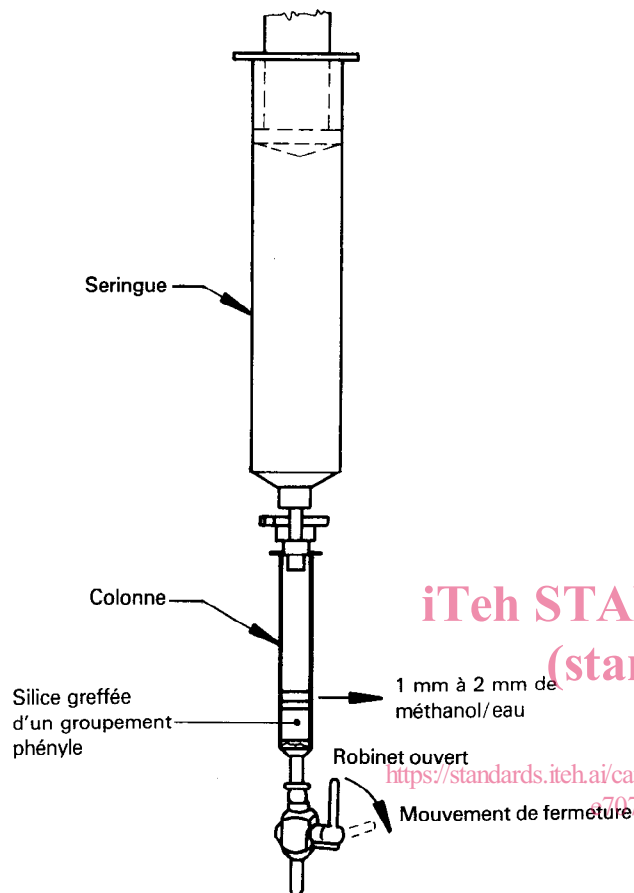


Figure 1 — Préparation de la colonne de purification

Ouvrir le robinet et rincer la colonne avec 5 ml de méthanol (4.1) en laissant le méthanol s'écouler goutte à goutte. Lorsqu'il reste 1 mm à 2 mm de méthanol au-dessus de la surface de la silice, fermer le robinet. Ajouter 5 ml d'eau, ouvrir le robinet et le fermer dès qu'il reste 1 mm à 2 mm d'eau au-dessus de la surface de la silice.

Ne pas laisser la colonne s'assécher; sinon, la préparation doit être répétée.

8.4.2 Absorption de la caféine

A l'aide d'une pipette, introduire dans la colonne, soit

- a) 2 ml de la solution filtrée obtenue en 8.3.4 pour les cafés non décaféinés ou extraits de cafés, soit

- b) 10 ml de la solution filtrée obtenue en 8.3.4 pour les cafés décaféinés ou extraits de cafés décaféinés.

Ouvrir le robinet et laisser la solution s'écouler goutte à goutte. Fermer le robinet dès que celle-ci est passée dans la silice.

8.4.3 Élimination des composés indésirables

Ouvrir le robinet et ajouter 2,5 ml du mélange hydroxyde d'ammonium/méthanol (4.2). Fermer le robinet dès que ce mélange est passé dans la silice. Ajouter à nouveau 2,5 ml du mélange hydroxyde d'ammonium/méthanol (4.2) et le laisser s'écouler totalement. Insuffler environ 20 ml d'air à travers la colonne de façon à éliminer le mélange (4.2) le plus complètement possible.

NOTE 3 La colonne peut s'assécher à cette étape du mode opératoire.

8.4.4 Élution de la caféine

Placer une fiole jaugée de 10 ml (5.11) sous la colonne. Ouvrir le robinet et ajouter 7,5 ml du solvant d'élution (4.3). Le laisser s'écouler goutte à goutte en totalité dans la fiole jaugée. Compléter au trait repère avec de l'eau et homogénéiser.

NOTE 4 La colonne de purification peut être régénérée avec du méthanol comme indiqué en 8.4.1. Elle peut être utilisée au maximum dix fois pour la purification.

8.5 Analyse CLHP

8.5.1 Réglage de l'appareil

Régler le chromatographe (5.1) et l'ajuster comme suit:

- débit de la phase mobile (4.4): 0,5 ml/min à 1,5 ml/min, selon la colonne utilisée (voir 5.2)
- température de la colonne (5.2): 40 °C.

NOTE 5 La séparation peut aussi être améliorée en augmentant la température de la colonne, mais sans dépasser 60 °C.

8.5.2 Analyse

Une fois la phase mobile (4.4) ajustée aux propriétés de la colonne et l'équilibre atteint, injecter dans la colonne 10 µl de la solution d'essai obtenue en 8.4.4 puis un volume identique de la solution étalon de caféine (4.8.1 ou 4.8.2).

NOTE 6 Dans les modes opératoires normaux, la loi de Beer est suivie pour des concentrations en caféine jusqu'à 0,025 0 g/l. Cette valeur est plus élevée que les concentrations en caféine utilisées dans la présente mé-

thode. Si ce n'était toutefois pas le cas, en raison des écarts dus à l'appareillage, il y aurait lieu d'établir une courbe d'étalonnage pour la concentration en caféine à l'extinction.

9 Expression des résultats

La teneur en caféine de l'échantillon, exprimée en grammes pour 100 g de matière sèche, est égale à

9.1 Pour les cafés verts, cafés torréfiés et cafés solubles:

$$\frac{A_x}{A_c} \times c_1 \times \frac{10 \times 100}{2 \times m_0 \times 1\,000} \times \frac{100}{RS} \times 100$$

où

- A_x est l'aire du pic de la caféine obtenu avec la solution d'essai;
- A_c est l'aire du pic de la caféine obtenu avec la solution étalon de caféine;
- c_1 est la concentration de la solution étalon de caféine (4.8.2), en grammes par litre;
- m_0 est la masse, en grammes, de la prise d'essai;
- RS est la teneur en matière sèche, exprimée en pourcentage en masse, de l'échantillon (voir 8.1).

9.2 Pour les cafés verts, cafés torréfiés et cafés solubles décaféinés:

$$\frac{A_x}{A_c} \times C_2 \times \frac{10 \times 100}{10 \times m_0 \times 1\,000} \times \frac{100}{RS} \times 100$$

où

- c_2 est la concentration de la solution de caféine, (4.8.1), en grammes par litre.

10 Fidélité

10.1 Résultats des essais interlaboratoires

Un essai interlaboratoire a été effectué en 1987 sur le plan international par l'ISO/TC 34/SC 15, *Café*, avec la participation de 18 laboratoires. Les valeurs de répétabilité et de reproductibilité indiquées dans le tableau 1 ont été obtenues.

Le plan d'échantillonnage et les méthodes utilisées lors de cet essai interlaboratoire ont été choisis selon le niveau de fractionnement, comme indiqué dans l'ISO 5725.

10.2 Répétabilité

La différence entre deux résultats d'essai individuels, obtenus à l'aide de la même méthode sur un matériau identique soumis à l'essai dans le même laboratoire et par le même opérateur utilisant le même appareillage et dans un court intervalle de temps, ne doit pas être supérieure à la valeur indiquée dans le tableau 1.

10.3 Reproductibilité

La différence entre deux résultats d'essai individuels, obtenus à l'aide de la même méthode sur un matériau identique soumis à l'essai dans des laboratoires différents par des opérateurs différents utilisant des appareillages différents, ne doit pas être supérieure à la valeur indiquée dans le tableau 1.

11 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit indiquer la méthode utilisée et le(s) résultat(s) obtenu(s). Il doit, en outre, mentionner tous les détails opératoires non prévus dans la présente Norme internationale ou facultatifs, ainsi que les incidents éventuels susceptibles d'avoir agi sur le(s) résultat(s).

Le rapport d'essai doit donner tous les renseignements nécessaires à l'identification complète de l'échantillon.

Tableau 1 — Répétabilité et reproductibilité

Echantillon	Teneur en caféine g/100 g de café	Répétabilité g caféine/100 g de café	Reproductibilité g caféine/100 g de café
Café torréfié en grains	≈ 2	0,07	0,34
	≈ 1	0,04	0,12
Café torréfié en grains décaféiné	< 0,1	0,01	0,02
Café soluble	≈ 4	0,09	0,36
Café soluble décaféiné	< 0,3	0,02	0,03

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 10095:1992

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3B9c35d-1441-4d60-8e65-e707384bfc36/iso-10095-1992>

Annexe A
(informative)

Bibliographie

- [1] ISO 4072:1982, *Café vert en sacs — Échantillonnage.*
- [2] ISO 5725:1986, *Fidélité des méthodes d'essai — Détermination de la répétabilité et de la reproductibilité d'une méthode d'essai normalisée par essais interlaboratoires.*
- [3] ISO 6670:1983, *Café soluble en caisses doublées — Échantillonnage.*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 10095:1992

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3B9c35d-1441-4d60-8e65-e707384bfc36/iso-10095-1992>