

NORME
INTERNATIONALE

ISO
10727

Première édition
1995-01-15

**Thé et thé soluble sous forme solide —
Détermination de la teneur en caféine —
Méthode par chromatographie liquide à
haute performance**
iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

*Tea and instant tea in solid form — Determination of caffeine content —
Method using high-performance liquid chromatography*
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9b78ab86-45c6-4103-9403-9c17e0ff1fe3/iso-10727-1995>



Numéro de référence
ISO 10727:1995(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 10727 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, sous-comité SC 8, *Thé*.

Les annexes A et B de la présente Norme internationale sont données uniquement à titre d'information.

© ISO 1995

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, 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

Thé et thé soluble sous forme solide — 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 thés et thés solubles dont la teneur en caféine est supérieure à 0,3 % (m/m).

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 1572:1980, *Thé — Préparation d'un échantillon broyé de teneur en matière sèche connue.*

ISO 3696:1987, *Eau pour laboratoire à usage analytique — Spécification et méthodes d'essai.*

ISO 7513:1990, *Thé soluble sous forme solide — Détermination de la teneur en eau (perte de masse à 103 °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 détermination de la teneur en caféine

par chromatographie liquide à haute performance avec détection aux ultraviolets.

4 Réactifs

Sauf indication différente, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue, et de l'eau de qualité 1, conformément à l'ISO 3696.

4.1 Méthanol, qualité CLHP.

4.2 Phase mobile, méthanol/eau.

Introduire 600 ml de méthanol (4.1) dans une fiole jaugée à un trait de 2 litres 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 (5.3).

NOTE 1 En ajustant la concentration du méthanol, le temps de rétention de la caféine peut être modifié de façon à optimiser la séparation par CLHP. Ceci peut également être obtenu en augmentant la température de la colonne, mais sans dépasser 60 °C.

4.3 Mélange éthanol/eau, 1/4 (V/V).

4.4 Oxyde de magnésium (également désigné «oxyde de magnésium dense»).

4.5 Caféine, solution mère, correspondant à 0,500 g de caféine par litre.

Peser à 0,001 g près, 0,125 g de caféine dans une fiole jaugée de 250 ml en verre inactinique (5.6). Ajouter suffisamment de mélange éthanol/eau (4.3) pour remplir la fiole jusqu'à la moitié. Dissoudre la caféine en remuant, puis compléter au trait repère avec le même mélange éthanol/eau.

Cette solution peut être conservée pendant 1 mois au réfrigérateur.

4.6 Caféine, solutions étalons

Les solutions étalon A et B doivent être préparées le jour de leur utilisation.

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

Laisser la solution mère (4.5) se réchauffer à la température du laboratoire. Introduire à la pipette 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.

4.6.2 Solution étalon B, correspondant à 0,050 g de caféine par litre (pour les produits courants).

Suivre le même mode opératoire qu'en 4.6.1, mais en prélevant à la pipette 10,0 ml de la solution mère (4.5).

5 Appareillage

Matériel 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.

NOTES

2 Une longueur d'onde proche de 280 nm est préférable, car le maximum d'absorption de la caféine se situe à 272 nm.

3 Si les variations de température diurnes sont importantes, il convient de s'assurer du maintien de la colonne à température constante, par exemple à l'aide d'un four à colonne ou d'une chemise d'eau.

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.¹⁾

1) 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 (4.2) 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.

Le nombre N de plateaux théoriques d'une colonne peut être calculé comme suit, à partir du pic obtenu en injectant une solution étalon (4.6) de caféine, comme suit:

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

où

t est le temps de rétention du pic;

$W_{0,5}$ est la largeur du pic à mi-hauteur.

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

5.4 Bain d'eau, réglable à 90 °C ± 1 °C sous agitation continue.

5.5 Flacon, de 500 ml de capacité, muni d'un bouchon à vis.

5.6 Balance analytique, précise à ± 0,001 g.

6 Échantillonnage

Il est important que le laboratoire reçoive un échantillon réellement représentatif, non endommagé ou modifié lors du transport et de l'entreposage.

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale. Des méthodes d'échantillonnage recommandées sont données dans:

- l'ISO 1839 pour le thé vert et le thé noir courants,
- l'ISO 7516 pour le thé soluble.

7 Préparation de l'échantillon pour essai

Broyer l'échantillon de thé vert ou thé noir conformément à l'ISO 1572.

NOTE 4 Il n'est pas nécessaire de broyer les échantillons de thé soluble.

8 Mode opératoire

NOTE 5 S'il y a lieu de vérifier si l'exigence de répétabilité est satisfaite, effectuer deux déterminations séparées conformément à 8.1 à 8.5 dans les conditions de répétabilité.

8.1 Détermination de la teneur en matière sèche

Calculer la teneur en matière sèche à partir de la teneur en eau (perte de masse à 103 °C) déterminée sur une partie de l'échantillon pour essai (article 7) conformément à

- l'ISO 1572 pour le thé et le thé noir,
- l'ISO 7513 pour le thé soluble.

8.2 Prise d'essai

8.2.1 Thé vert et thé noir

Peser, à 0,001 g près, 1,0 g d'échantillon pour essai (article 7), dans le flacon (5.5).

8.2.2 Thé soluble

Peser, à 0,001 g près, 0,5 g de l'échantillon pour essai (article 7), dans le flacon (5.5).

8.3 Extraction de la caféine

8.3.1 Ajouter au thé placé dans le flacon, 4,5 g ± 0,5 g d'oxyde de magnésium (4.4) et 300 ml d'eau. Placer le bouchon à vis et peser le flacon bouché et son contenu à 0,1 g près.

8.3.2 Remuer pour mélanger le contenu du flacon. Le placer dans le bain d'eau (5.4) réglée à 90 °C, sous agitation continue pendant 20 min.

Ôter le flacon du bain d'eau, le refroidir, le sécher, puis le peser à 0,1 g près. La masse du flacon refroidi 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 le flacon et son contenu reposer. Ôter le bouchon et filtrer une partie de la solution sur un filtre (5.3).

8.4 Dilution (uniquement pour le thé vert, le thé noir et le thé soluble courants)

Placer 1,0 ml du filtrat obtenu en 8.3.4 dans une fiole jaugée de 10 ml. Compléter au trait repère avec de l'eau et homogénéiser.

NOTE 6 Il n'est pas nécessaire de diluer les produits décaféinés.

8.5 Détermination

8.5.1 Réglage de l'appareil

Régler le chromatographe (5.1), selon les recommandations du constructeur, et l'ajuster comme suit:

- débit de la phase mobile (4.2): 0,5 ml/min à 1,5 ml/min, selon la colonne utilisée (voir 5.2);
- température de la colonne (5.2): de préférence 40 °C.

8.5.2 Analyse CLHP

Une fois la phase mobile (4.2) ajustée aux propriétés de la colonne et l'équilibre atteint, injecter dans la colonne 10 µl de la solution d'essai obtenue en 8.3.4 (et 8.4 dans le cas du thé courant en feuilles ou du thé soluble courant) puis un volume identique de la solution étalon de caféine appropriée (4.6.1 ou 4.6.2).

9 Calcul

9.1 Pour le thé vert et noir courants, et le thé soluble courant

La teneur en caféine, exprimée en pourcentage en masse, est donnée par la formule

$$\frac{A_x}{A_c} \times c_B \times \frac{10 \times 300}{1 \times m_0 \times 1\,000} \times \frac{100}{w} \times 100$$

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_B est la concentration de la solution étalon B de caféine (4.6.2), en grammes par litre;
- m_0 est la masse, en grammes, de la prise d'essai;

w est la teneur en matière sèche, exprimée en pourcentage en masse, de l'échantillon, déterminée conformément à 8.1.

9.2 Pour le thé vert et noir décaféinés et le thé soluble décaféiné

La teneur en caféine, exprimée en pourcentage en masse, est donnée par la formule

$$\frac{A_x}{A_c} \times c_A \times \frac{300}{m_0 \times 1\,000} \times \frac{100}{w} \times 100$$

où

A_x , A_c , m_0 et w ont les mêmes significations qu'en 9.1;

c_A est la concentration de la solution étalon A de caféine, en grammes par litre.

10 Fidélité

Les détails de l'essai interlaboratoire réalisé pour déterminer la fidélité de la méthode sont donnés en annexe A.

10.1 Répétabilité

La différence entre deux résultats d'essai individuels indépendants, 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 A.1.

10.2 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 A.1.

11 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit indiquer

- la méthode selon laquelle l'échantillonnage a été effectué (si elle est connue);
- la méthode utilisée;
- le(s) résultat(s) d'essai obtenu(s); et
- si la répétabilité a été vérifiée, le résultat final cité qui a été obtenu.

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.

Annexe A (informative)

Résultats des essais interlaboratoires

Un essai interlaboratoire a été effectué en 1989 sous les auspices de l'Organisation Internationale de Normalisation. Les valeurs de répétabilité et de reproductibilité (évaluées conformément à l'ISO 5725) indiquées dans le tableau A.1 ont été obtenues.

Tableau A.1 — Valeurs de répétabilité et reproductibilité

Échantillon	Teneur en caféine, %	Répétabilité, <i>r</i>	Reproductibilité, <i>R</i>
Thé noir courant	2,9	0,192	0,358
Thé vert courant	1,8	0,126	0,167
Thé soluble courant	6,5	0,167	0,381
Thé noir décaféiné	0,3	0,028	0,043
Thé soluble décaféiné	0,1	0,027	0,029

(standards.itech.ai)

[ISO 10727:1995](https://standards.itech.ai/catalog/standards/sist/9b78ab86-45c6-4103-9403-9c17e0ff1fe3/iso-10727-1995)

<https://standards.itech.ai/catalog/standards/sist/9b78ab86-45c6-4103-9403-9c17e0ff1fe3/iso-10727-1995>

Annexe B (informative)

Bibliographie

- [1] ISO 1839:1980, *Thé — 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 7516:1984, *Thé soluble sous forme solide — Échantillonnage*.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 10727:1995](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9b78ab86-45c6-4103-9403-9c17e0ff1fe3/iso-10727-1995)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9b78ab86-45c6-4103-9403-9c17e0ff1fe3/iso-10727-1995>

Page blanche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 10727:1995

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9b78ab86-45c6-4103-9403-9c17e0ff1fe3/iso-10727-1995>