Norme internationale 4052

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION•МЕЖДУНАРОДНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ•ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION

Cafés — Détermination de la teneur en caféine — Méthode de référence

Coffee — Determination of caffeine content (Reference method)

Première édition — 1983-06-01

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 4052:1983
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9ecf6202-8431-48ff-98a5-012be779facd/iso-4052-1983

CDU 633.73 : 543.422.6 : 547.854.7 **Réf. nº : ISO 4052-1983 (F)**

Descripteurs : produit agricole, café, caféine, essai, dosage.

Prix basé sur 6 pages

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 confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique correspondant. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO, participent également aux travaux.

Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour approbation, avant leur acceptation comme Normes internationales par le Conseil de l'ISO.

iTeh STANDARD PREVIEW

La Norme internationale ISO 4052 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, et a été soumise aux comités membres en mai 1982.

(standards.iteh.ai)

Les comités membres des pays suivants l'ont approuvée : ISO 4052:1983
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9ecf6202-8431-48ff-98a5-012be779...4052-1983

Afrique du Sud, Rép. d'	Iran	Tanzanie
Allemagne, R. F.	Israël	Tchécoslovaquie
Autriche	Jamaïque	Thaïlande
Brésil	Nouvelle-Zélande	Turquie
Canada	Pays-Bas	URSS
Corée, Rép. de	Philippines	USA
Égypte, Rép. arabe d'	Pologne	Venezuela
Éthiopie	Portugal	Yougoslavie
France	Roumanie	
Hongrie	Royaume-Uni	

Le comité membre du pays suivant l'a désapprouvée pour des raisons techniques :

Malaisie

© Organisation internationale de normalisation, 1983 ●

Imprimé en Suisse

Cafés — Détermination de la teneur en caféine — Méthode de référence

0 Introduction

La méthode décrite dans la présente Norme internationale a été choisie parmi de nombreuses méthodes, pour lesquelles des études comparatives ont été effectuées, pour son caractère de généralité, sa reproductibilité, sa spécificité, sa facilité d'application et sa rapidité.

Cependant, la méthode est particulièrement sensible aux variations intervenant dans son application. Il est donc essentiel de suivre les instructions dans tous leurs détails.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

1 Objet et domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie la méthode de référence pour la détermination de la teneur en caféine dans les cafés.

ISO 4052:1983
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9ecf6202-8431-48ff-98a5-012be779facd/iso-4052-1983

La présente méthode est applicable au café vert, au café vert décaféiné, au café torréfié, au café décaféiné torréfié, aux extraits de café séché ou liquide et aux extraits de café décaféiné séché ou liquide.

La limite inférieure de détection est 0,02 % de caféine par rapport à la matière sèche.

2 Références

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

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

ISO 4072, *Café vert en sacs — Échantillonnage.*

ISO 6670, *Café soluble en caisses doublées — Échantillonnage.*[1)]

ISO 6673, *Café vert — Détermination de la perte de masse à 105 °C.*[1)]

3 Principe

Extraction de la caféine d'une prise d'essai, en milieu ammoniacal. Purifications successives avec de l'oxyde diéthylique, sur deux colonnes pour chromatographie, la première en phase alcaline, la seconde en phase acide, puis élution de la caféine par du chloroforme.

Mesurage de l'éluat par spectrométrie à la longueur d'onde de l'absorbance maximale (dans la région de l'ultraviolet).

4 Réactifs

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique reconnue. L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou de l'eau de pureté au moins équivalente.

4.1 Acide sulfurique, solution à 200 g/l [$c(H_2SO_4) \approx 2$ mol/l].

4.2 Hydroxyde de sodium, solution à 80 g/l [$c(NaOH) \approx 2$ mol/l].

4.3 Terre de diatomées

Le produit utilisé doit permettre la récupération, sur une prise d'essai, de 98 % au moins de la caféine.

NOTE — La célite 545 convient.

4.4 Ammoniaque, solution à 70 g/l (1 volume de solution d'ammoniaque concentrée, $\varrho_{20} \approx 0{,}9$ g/ml + 2 volumes d'eau).

4.5 Oxyde diéthylique, pur ou repurifié (voir 7.5) par chromatographie comme suit, et saturé d'eau.

Faire passer 800 ml d'oxyde diéthylique dans une colonne contenant 100 g d'oxyde d'aluminium basique, de degré d'activité 1. L'oxyde diéthylique ainsi repurifié doit être conservé dans des flacons en verre sombre jusqu'à son utilisation.

(On peut également utiliser, au lieu de l'oxyde diéthylique repurifié par chromatographie, de l'oxyde diéthylique récemment distillé et exempt de peroxydes.)

1) Actuellement au stade de projet.

4.6 Caféine [triméthyl-1,3,7 dioxy-2,6 purine ($C_8H_{10}N_4O_2$)], pure, anhydre.

4.7 Chloroforme, pur ou repurifié (voir 7.5) par chromatographie comme décrit en 4.5, et saturé d'eau.

5 Appareillage

5.1 Colonnes pour chromatographie (voir figure 1), de longueur 250 mm, de diamètre intérieur 21 mm (colonne I) et de diamètre intérieur 17 mm (colonne II), munies de robinets d'arrêt, de préférence en PTFE.

5.2 Spectromètre d'absorption dans l'ultraviolet, ayant une précision de 0,004 unité d'absorbance dans la gamme utilisée.

5.3 Cuves en silice, de 10 mm de parcours optique.

5.4 Matériel courant de laboratoire, et notamment :

5.4.1 Béchers. de capacité 100 ml.

5.4.2 Bain d'eau bouillante.

5.4.3 Fioles jaugées à un trait, de capacités 50, 100 et 1 000 ml.

5.4.4 Pipettes à un trait, de capacités 2 et 5 ml.

5.4.5 Balance analytique.

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

5.6 Moulin à roues dentées, avec manchon de refroidissement, ou **moulin analytique,** à ailettes et manchon de refroidissement, ou moulin semblable approprié pour café vert en grains.

5.7 Tamis, en toile métallique, d'ouverture nominale de maille 600 µm ou 630 µm, conforme aux spécifications de l'ISO 3310/1.

6 Échantillonnage

Effectuer l'échantillonnage selon la méthode spécifiée dans la Norme internationale correspondante.[1)]

7 Mode opératoire

7.1 Préparation de l'échantillon pour essai

Si nécessaire, broyer l'échantillon au moyen de l'appareil spécifié en 5.5 ou 5.6, selon le cas, jusqu'à passage au travers du tamis (5.7).

7.2 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 (7.1) conformément à la méthode spécifiée dans la Norme internationale correspondante.[2)]

7.3 Prise d'essai

7.3.1 Cafés verts et cafés torréfiés

Peser, à 0,1 mg près, 1 g environ de l'échantillon pour essai (7.1). Le transférer dans un bécher de 100 ml (5.4.1), ajouter 5 ml de la solution d'ammoniaque (4.4) et chauffer durant 2 min au bain d'eau bouillante (5.4.2). Laisser refroidir, puis transvaser dans une fiole jaugée de 100 ml (5.4.3), compléter au trait repère avec de l'eau et mélanger. Laisser reposer cette solution trouble, puis en prélever 5,0 ml à l'aide d'une pipette (5.4.4), les introduire dans un bécher de 100 ml (5.4.1), ajouter 6 g de terre de diatomées (4.3) et mélanger soigneusement.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 4052:1983
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/...-012be779facd/iso-4052-1983

7.3.2 Extrait de café séché

Procéder comme en 7.3.1, mais avec une prise d'essai de 0,5 g, une partie aliquote de la solution trouble de 2 ml, et une addition de 3 g de terre de diatomées.

7.3.3 Extrait de café liquide

Procéder comme en 7.3.1, mais avec une prise d'essai de 1 à 2,5 g correspondant approximativement à 0,5 g d'extrait de café séché, une partie aliquote de la solution trouble de 2 ml, et une addition de 3 g de terre de diatomées.

7.3.4 Cafés verts décaféinés et cafés décaféinés torréfiés

Peser, à 0,1 mg près, 1 g environ de l'échantillon pour essai (7.1). Le transférer dans un bécher de 100 ml (5.4.1), ajouter 5 ml de la solution d'ammoniaque (4.4) et chauffer durant 2 min au bain d'eau bouillante (5.4.2). Ajouter 6 g de terre de diatomées (4.3) et mélanger soigneusement.

---

1) Pour l'échantillonnage du café vert en sacs, voir ISO 4072; pour l'échantillonnage du café soluble en caisses doublées, voir ISO 6670. Des méthodes pour les autres types de cafés et produits dérivés n'ont pas encore été élaborées.

2) Pour la détermination de la teneur en eau du café vert, voir ISO 1447; pour la perte de masse à 105 °C du café vert, voir ISO 6673; pour la perte de masse à 70 °C sous pression réduite du café soluble, voir ISO 3726. Des méthodes pour les autres types de cafés et produits dérivés n'ont pas encore été élaborées.

7.3.5 Extrait de café séché décaféiné

Procéder comme en 7.3.4, mais avec une prise d'essai de 0,5 g.

7.3.6 Extrait de café liquide décaféiné

Procéder comme en 7.3.4, mais avec une prise d'essai de 1 à 2,5 g correspondant approximativement à 0,5 g d'extrait de café séché, et une addition de 7 à 8 g de terre de diatomées.

7.4 Détermination

7.4.1 Remplissage des colonnes

7.4.1.1 Colonne I (colonne à phase alcaline)

7.4.1.1.1 Phase A

Mélanger soigneusement, en pétrissant avec la lame d'une spatule flexible, 3 g de terre de diatomées (4.3) et 2 ml de la solution d'hydroxyde de sodium (4.2), jusqu'à homogénéité parfaite (voir la note ci-après). On obtient alors une poudre légèrement humide. Transférer cette poudre, par fractions de 2 g environ, dans une colonne pour chromatographie de 21 mm de diamètre (5.1), la partie inférieure de celle-ci étant garnie d'un petit tampon de coton ou de laine de verre. Après chaque addition, tasser le mélange sans exagération avec un agitateur en verre, dont l'extrémité est aplatie au diamètre de la colonne, jusqu'à l'obtention d'une phase homogène parfaitement compacte. Un petit tampon de coton ou de laine de verre peut être placé au sommet de la phase A.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 4052:1983
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9ecf6202-8431-48ff-98a5-012be779fead/iso-4052-1983

NOTE — Le produit de remplissage de la colonne peut être préparé à l'avance en quantité importante et conservé dans des récipients clos. Chaque colonne alcaline nécessite une quantité de 5,16 g de ce produit.

7.4.1.1.2 Phase B

Transférer le mélange de la prise d'essai (7.3) avec la terre de diatomées dans la colonne au sommet de la phase A. Sécher le bécher avec des quantités de terre de diatomées (4.3) de 1 g environ, en opérant en deux fois et en la transférant ensuite dans la colonne. Tasser pour obtenir une phase homogène et placer un tampon de coton ou de laine de verre au sommet de la phase B.

7.4.1.2 Colonne II (colonne à phase acide)

Placer dans la colonne pour chromatographie de 17 mm de diamètre (5.1), la partie inférieure de celle-ci étant garnie d'un petit tampon de laine de verre, 3 g de terre de diatomées (4.3) et 3 ml de la solution d'acide sulfurique (4.1), soigneusement mélangés dans les mêmes conditions que pour la phase A de la colonne I en 7.4.1.1. Placer un tampon de laine de verre au sommet de cette phase.

NOTE — Le produit de remplissage de la colonne peut être préparé à l'avance en quantité importante et conservé dans des récipients clos. Chaque colonne acide nécessite 6,36 g de ce produit.

7.4.2 Chromatographie

Monter les colonnes l'une sur l'autre de façon que l'écoulement de la colonne I puisse tomber, goutte à goutte, directement dans la colonne II. Faire passer 150 ml d'oxyde diéthylique (4.5) à travers les deux colonnes. Régler le robinet de la colonne II de façon qu'une certaine quantité du liquide surnage la phase. Retirer la colonne I. Faire passer 50 ml d'oxyde diéthylique (4.5) à travers la colonne II, en utilisant une portion initiale pour laver l'extrémité de la colonne I, et faire passer également cette portion à travers la colonne II. Rejeter les effluents provenant de la colonne II.

NOTE — L'oxyde diéthylique utilisé peut être récupéré par agitation avec du sulfate de fer(II).

Faire passer un courant d'air, du sommet à la partie inférieure de la colonne II (en utilisant, par exemple, un ballon de caoutchouc gonflé), jusqu'à ce qu'il n'y ait plus d'oxyde diéthylique s'écoulant de la colonne et que l'air s'échappant du robinet ne présente plus qu'une très faible odeur d'oxyde diéthylique (voir l'avertissement ci-après). Éluer la colonne II avec 45 à 50 ml de chloroforme (4.7). Recueillir l'éluat dans une fiole jaugée de 50 ml (5.4.3), compléter au trait repère avec du chloroforme (4.7) et homogénéiser.

Le débit d'oxyde diéthylique et de chloroforme dans les conditions normales d'écoulement doit être de 1,5 à 3 ml/min. Si le débit est plus rapide, on peut supposer qu'il y a des fissures et un écoulement préférentiel et la détermination doit être recommencée.

AVERTISSEMENT — L'addition d'oxyde diéthylique et de chloroforme doit être effectuée sous une hotte convenablement ventilée pour éviter de respirer des vapeurs de solvant et pour prévenir les risques d'explosion.

7.4.3 Mesure spectrométrique (voir figure 2)

7.4.3.1 Mesurage de la solution d'essai

En évitant les erreurs dues à l'évaporation du chloroforme, mesurer l'absorbance de la solution chloroformique de caféine (7.4.2) dans une cuve en silice (5.3) par rapport au chloroforme (4.7) à la longueur d'onde du maximum d'absorbance obtenu au spectromètre utilisé (environ 276 nm) et à des longueurs d'onde supérieure et inférieure de 30 nm à cette longueur d'onde, afin de vérifier la pureté de la caféine obtenue.

Si l'absorbance maximale dépasse les limites de précision de l'appareil utilisé, refaire le mesurage avec une partie aliquote diluée de la solution chloroformique de caféine (7.4.2). Dans ce cas, tenir compte, dans le calcul, du facteur de dilution; les facteurs des formules en 8.1.1, 8.1.2 et 8.1.3 doivent être modifiés en conséquence. Si l'absorbance maximale est inférieure à 0,2, recommencer la détermination en utilisant une prise d'essai plus importante.

7.4.3.2 Préparation et mesurage de la solution de référence

Préparer une solution de référence de caféine de la façon suivante.

Peser, à 0,1 mg près, 100 ± 20 mg de caféine pure anhydre (4.6). Les placer dans une fiole jaugée de 1 000 ml (5.4.3), dissoudre dans du chloroforme et compléter au trait repère. Prélever, avec une pipette (5.4.4), 5 ml de cette solution dans une fiole jaugée de 50 ml (5.4.3) et compléter au trait repère avec du chloroforme.

Mesurer l'absorbance de cette solution comme en 7.4.3.1. L'absorbance corrigée de la solution de référence (voir 8.1.1 et figure 2) doit être de l'ordre de 0,4.

7.4.4 Nombre de déterminations

Effectuer deux déterminations avec deux prises d'essai séparées et prélevées sur le même échantillon pour essai.

7.5 Essai à blanc

Effectuer un essai à blanc en suivant le mode opératoire décrit, mais sans la prise d'essai.

Avant d'utiliser des réactifs repurifiés (voir 4.5 et 4.7), refaire un essai à blanc pour vérifier s'ils sont purs.

8 Expression des résultats

8.1 Mode de calcul et formules

8.1.1 Cafés verts et cafés torréfiés

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

$$\frac{10^7 \times c \times A_1}{A_2 \times m \times P}$$

où

c est la concentration, en grammes par millilitre, en caféine de la solution de référence (7.4.3.2);

A_1 est l'absorbance corrigée de l'extrait purifié (7.4.2) obtenu en 7.4.3.1, soit :

$$(A_1)_\lambda - \frac{(A_1)_{\lambda\ -30\ nm} + (A_1)_{\lambda\ +30\ nm}}{2}$$

où λ se rapporte à la longueur d'onde du maximum d'absorbance (environ 276 nm);

A_2 est l'absorbance corrigée de la solution de référence de caféine (7.4.3.2), soit :

$$(A_2)_\lambda - \frac{(A_2)_{\lambda\ -30\ nm} + (A_2)_{\lambda\ +30\ nm}}{2}$$

m est la masse, en grammes, de la prise d'essai;

P est la teneur en matière sèche, exprimée en pourcentage en masse, de l'échantillon (voir 7.2).

8.1.2 Extrait de café séché et extrait de café liquide

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

$$\frac{25 \times 10^6 \times c \times A_1}{A_2 \times m \times P}$$

où les symboles ont la même signification qu'en 8.1.1.

8.1.3 Cafés verts décaféinés, cafés décaféinés torréfiés, extrait de café séché décaféiné et extrait de café liquide décaféiné

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

$$\frac{5 \times 10^5 \times c \times A_1}{A_2 \times m \times P}$$

où les symboles ont la même signification qu'en 8.1.1.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

8.1.4 Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des valeurs obtenues, si les conditions de répétabilité (voir 8.2) sont remplies.

ISO 4052:1983
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9ecf6202-8431-48ff-98a5-012be779facd/iso-4052-1983

8.2 Répétabilité

La différence entre les valeurs obtenues pour deux déterminations, effectuées simultanément ou rapidement à la suite l'une de l'autre, sur le même échantillon dans un même laboratoire et par le même analyste, ne doit pas dépasser la valeur indiquée dans le tableau.

8.3 Reproductibilité

La différence entre les résultats de deux déterminations effectuées dans deux laboratoires différents sur le même échantillon, ne doit pas dépasser la valeur indiquée dans le tableau.

9 Procès-verbal d'essai

Le procès-verbal d'essai doit indiquer la méthode utilisée et le résultat 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 les résultats.

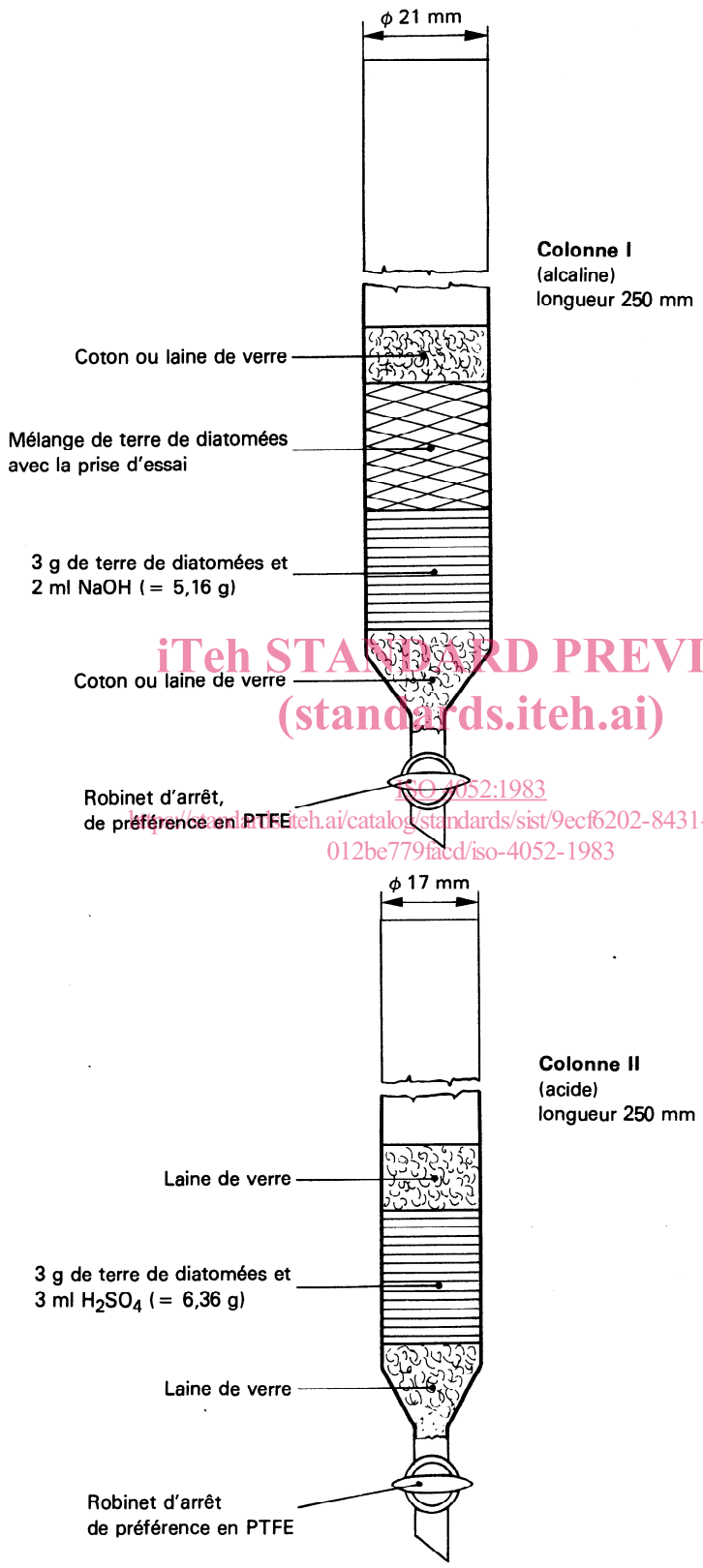
Le procès-verbal d'essai doit donner tous les renseignements nécessaires à l'identification complète de l'échantillon.

Tableau — Répétabilité et reproductibilité

Échantillon	Teneur en caféine g/100 g de café	Répétabilité* g caféine/ 100 g de café	Reproductibilité* g caféine/ 100 g de café
Café vert en grains	environ 2	0,12	0,38
	environ 1	0,08	0,31
	décaféiné < 0,1	< 0,01	0,01
Café torréfié en grains	environ 2	0,10	0,32
	environ 1	0,04	0,19
	décaféiné < 0,1	< 0,01	0,01
Café soluble	environ 4	0,17	0,39
	environ 2	0,12	0,20
	décaféiné < 0,3	0,01	0,01

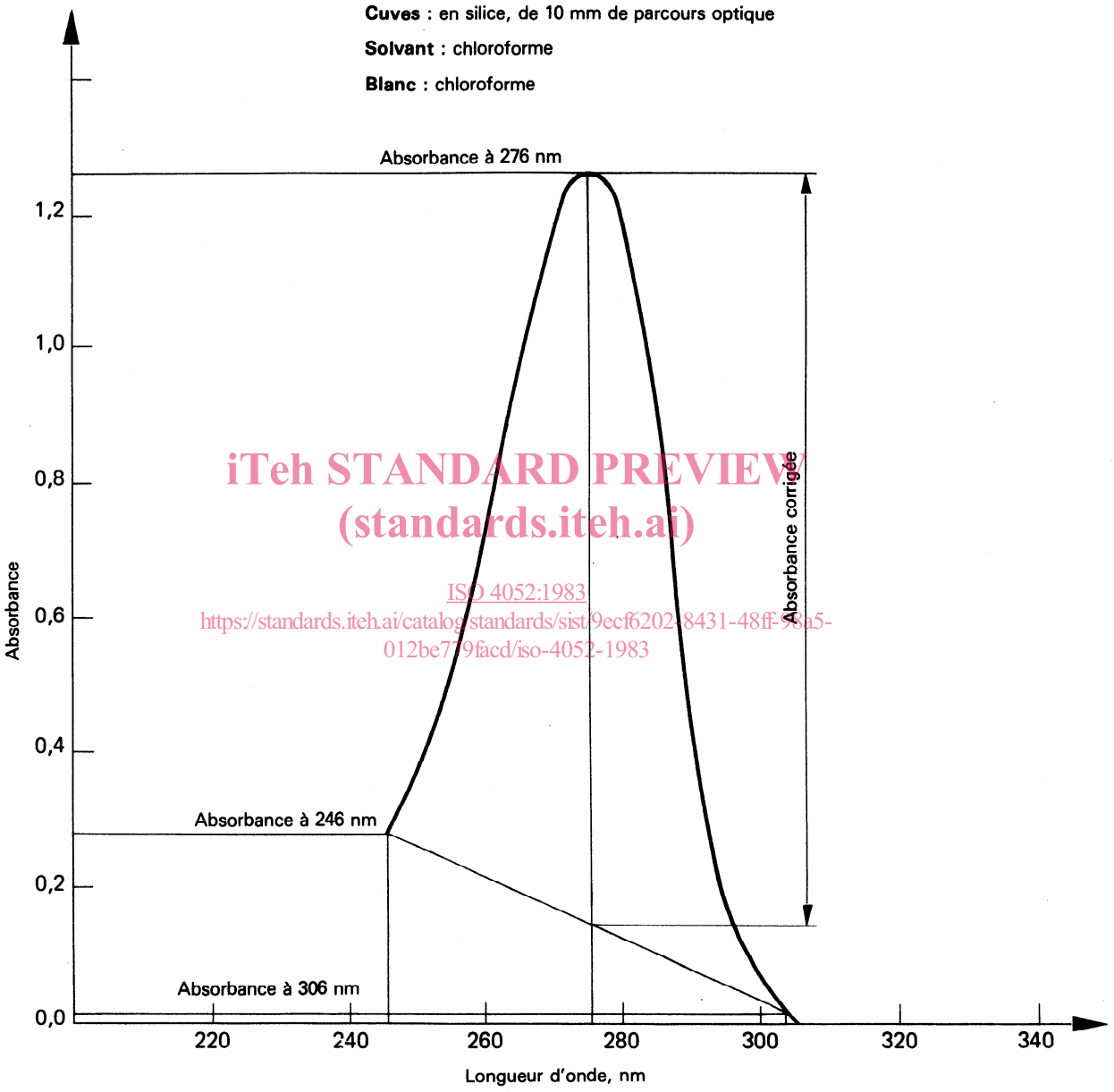
* Les valeurs de la répétabilité et de la reproductibilité sont les différences critiques au niveau de probabilité 95 %.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 4052:1983
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9ecf6202-8431-48ff-98a5-012be779facd/iso-4052-1983



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 4052:1983
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9ecf6202-8431-48ff-98a5-012be779facd/iso-4052-1983

Figure 1 — Colonnes pour chromatographie



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 4052:1983
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9ecf6202-8431-48ff-98a5-012be779facd/iso-4052-1983

Figure 2 — Exemple de mesure spectrométrique