



NORMA MEXICANA

NMX-F-180-SCFI-2010

**CAFÉ - DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE CAFEÍNA -
MÉTODO DE PRUEBA.**

**COFFEE - DETERMINATION OF CAFFEINE CONTENT - TEST
METHOD**



PREFACIO

En la elaboración de la presente norma mexicana participaron las siguientes empresas e instituciones:

- AGROINDUSTRIAS UNIDAS DE MÉXICO, S.A DE C. V.
- ASOCIACIÓN MEXICANA DE LA CADENA PRODUCTIVA DEL CAFÉ, A.C. (AMECAFÉ).
- ASOCIACIÓN MEXICANA DE EXPORTADORES DE CAFÉ, A. C.
- ASOCIACIÓN NACIONAL DE LA INDUSTRIA DEL CAFÉ, A.C.
- CAFINCO, S.A, DE C. V.
- CAFIVER, S.A DE C. V.
- COMITÉ TÉCNICO DE NORMALIZACIÓN NACIONAL PARA CAFÉ Y SUS PRODUCTOS
- DESCAFEINADORES MEXICANOS, S. A. DE C. V.
- NESTLÉ MÉXICO, S.A. DE C.V.
- INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES, AGRÍCOLAS Y PECUARIAS (INIFAP).
- SABORMEX, S. A DE C. V.
- SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERIA, DESARROLLO RURAL, PESCA Y ALIMENTACIÓN (SAGARPA).
Subsecretaría de Agricultura. Dirección General de Fomento a la Agricultura.
- SECRETARÍA DE ECONOMÍA.
Dirección General de Normas.
- UNIÓN NACIONAL CAMPESINA Y POPULAR (UNCP)



INDICE DEL CONTENIDO

Número del Capítulo		Página
0	INTRODUCCIÓN	1
1	OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN	1
2	REFERENCIAS	2
3	PRINCIPIO	2
4	REACTIVOS	2
5	EQUIPO	3
6	MUESTREO	5
7	PROCEDIMIENTO	5
8	EXPRESIÓN DE RESULTADOS	11
9	BIBLIOGRAFÍA	13
10	CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES	14



NORMA MEXICANA

NMX-F-180-SCFI-2010

CAFÉ - DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE CAFEÍNA - MÉTODO DE PRUEBA.

COFFEE - DETERMINATION OF CAFFEINE CONTENT - TEST METHOD

0 INTRODUCCIÓN

El método descrito en esta norma mexicana ha sido seleccionado teniendo en cuenta varios métodos, un estudio comparativo de los cuales fue tomado, debido a sus aplicaciones en general, su reproducibilidad, su especificidad, su confiabilidad de aplicación y su rapidez. Como sea, el método es particularmente sensitivo a las variaciones en su aplicación y por lo cual es esencial seguir las instrucciones en cada detalle.

1 OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

La presente norma mexicana especifica el método de prueba para la determinación de la cafeína contenida en el café y es aplicable para el café verde, café verde descafeinado, café tostado, café tostado descafeinado, extractos de café y extractos descafeinados, ya sean secos o líquidos. El límite más bajo de detección es 0.02%, cafeína en base seca.

La Dirección General de Normas de la Secretaría de Economía aprobó la presente norma, cuya declaratoria de vigencia fue publicada en el Diario Oficial de la Federación el:



2 REFERENCIAS

Para la correcta aplicación de la presente norma mexicana se deben consultar las siguientes normas mexicanas vigentes o las que las sustituyan:

- | | |
|---------------------|---|
| NMX-F-107-SCFI-2008 | Café verde en sacos – Muestreo. Declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de la Federación el 1 de julio de 2008. |
| NMX-F-176-SCFI-2008 | Café verde – Determinación de la pérdida de masa a 105°C – Método de prueba. Declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de la Federación el 2 de septiembre de 2008. |

3 PRINCIPIO

Extracción de la cafeína desde una porción de prueba, en un medio amoniacal y la sucesiva purificación con dietil-éter en dos columnas cromatográficas, la primera en un medio alcalino, la segunda en un medio ácido, seguido por el arrastre de cafeína por el cloroformo y la medición espectrométrica de la muestra en una longitud de onda de máxima absorbancia (en la región ultravioleta).

4 REACTIVOS

Todos los reactivos deben ser de reconocida calidad analítica. El agua usada debe ser agua destilada o agua de una pureza equivalente.

- 4.1 Ácido sulfúrico, 200 g/L [solución C (H_2SO_4) = 2 mol/L].
- 4.2 Hidróxido de sodio, 80 g/ 1 [solución C (NaOH) = 2 mol/L].
- 4.3 Tierra diatomácea

El producto usado debe asegurar al menos el 98% de recuperación de cafeína de la porción de prueba.



- 4.4** Hidróxido de amonio, 70 g/L solución (1 volumen de solución de hidróxido de amonio, $f_{20} = 0.9\text{g/ml}$ + 2 volúmenes de agua.
- 4.5** dietil-eter, puro o repurificado (véase 7.5) por cromatografía como sigue, y saturado con agua.

Pasar 800 mL de eter- dietil a través de una columna conteniendo 100 g de óxido de aluminio básico de actividad grado 1. El eter-dietil repurificado debe ser mantenido en botellas oscuras hasta que sea utilizado.

(Alternativamente el eter-dietil, destilado recientemente y libre de óxidos, puede ser utilizado en lugar del eter-dietil repurificado por cromatografía).

- 4.6** Cafeína [1, 3,7- Trimetil-2, 6-Dioxopurine ($\text{C}_8 \text{H}_{10} \text{N}_4\text{O}_2$)] pura anhidra.
- 4.7** Cloroformo, puro o repurificado (véase 7.5) por cromatografía como se describe en 4.5, y saturado con agua.

5 EQUIPO

- 5.1** Columnas cromatográficas (véase figura 1), 250 mm de longitud, 21 mm en el diámetro interno (columna I) y 17 mm en el diámetro interior (columna II), con válvulas preferentemente de teflón.
- 5.2** Espectrómetro ultravioleta, exactitud dentro de 0.004 unidades de absorbencia dentro del rango utilizado.
- 5.3** Celdas de cuarzo, de longitud de paso de 10 mm.
- 5.4** Equipo usual de laboratorio, incluyendo:
- 5.4.1** Vasos de precipitado con capacidad de 100 mL.

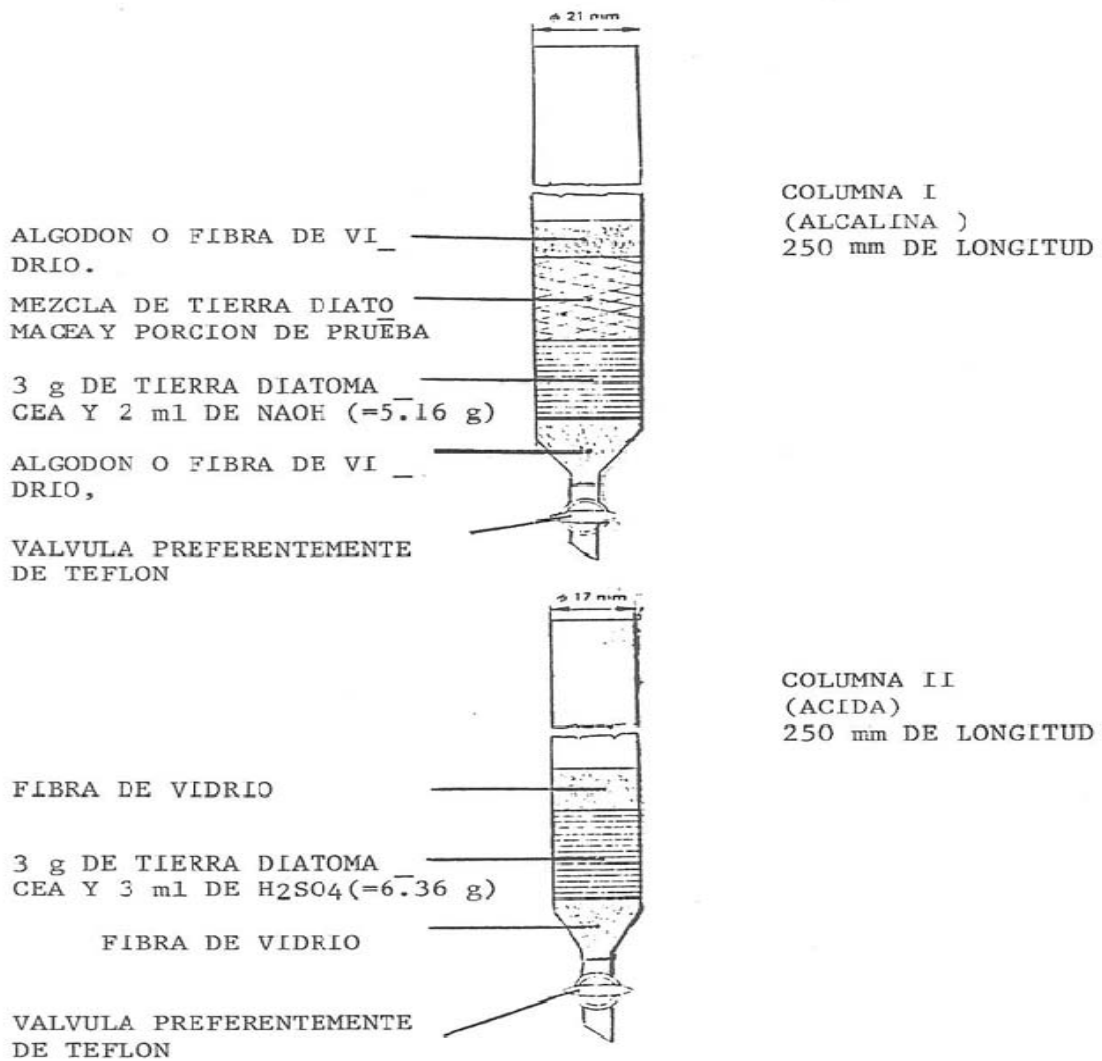


FIGURA 1.- Columnas Cromatográficas



- 5.4.2 Recipiente para hervir el agua.
- 5.4.3 Matraces volumétricos aforados, con capacidades de 50, 100 y 1000 mL.
- 5.4.4 Pipetas aforadas, con capacidad de 2 y 5 mL.
- 5.4.5 Balanza analítica.
- 5.5 Molino de café, conveniente para granos de café tostado.
- 5.6 Molino de disco dentado, con chaqueta de enfriamiento, o molino de tipo analítico, con doble cortador y chaqueta de enfriamiento, o un horno similar adecuado para granos de café verde.
- 5.7 Un tamiz, de tela de alambre entretejido, tamaño de apertura nominal de 600 ppm o 630 pmm.

6 MUESTREO

La muestra se toma de acuerdo a lo establecido en el inciso 9.7 de la norma mexicana NMX-F-107-SCFI-2008 (véase 2 Referencias).

7 PROCEDIMIENTO

7.1 Preparación de muestra de prueba

Si es necesario, moler la muestra usando el equipo especificado en 5.5 y 5.6 como sea apropiado, hasta que pase el tamiz (5.7).

7.2 Determinación del contenido de materia seca

Calcule el contenido de materia seca después de determinar el contenido de humedad de la muestra de prueba (7.1) de acuerdo con el método especificado en la Nota 1.



NOTA 1: Para el muestreo de café verde en sacos, utilizar la NMX-F-107-SCFI-2008 (véase 2 Referencias); para el muestreo de café instantáneo en cajas con marcas, puede consultarse el método de prueba indicado en el inciso 9.4 (véase 9 Bibliografía). Los métodos para otros tipos de café no han sido aun elaborados.

NOTA 2: Para la determinación de pérdida en masa a 105°C del café verde, utilizar la NMX-F-176-SCFI-2008 (véase 2, Referencias); para la determinación de la pérdida de masa a 70°C bajo presión reducida de café instantáneo, puede consultarse el método de prueba indicado en 9.4 (véase 9 Bibliografía).

7.3 Porción de prueba

7.3.1 Café verde y café tostado

Pesar cerca del 0.1 mg, de 1 g de la muestra de prueba (7.1). Transferir la muestra a un vaso de precipitado de 100 mL (5.4.1), agregar 5 mL de la solución de amonía (4.4) y calentar por 2 min en el recipiente para hervir agua (5.4.2), dejar enfriar; transferir a un matraz volumétrico de 100 mL (5.4.3), diluir hasta la marca con agua y mezclar, dejar que la solución turbia se asiente, y entonces, utilizar una pipeta (5.4.4). Transferir 5.0 mL de la solución dentro del vaso de precipitado de 100mL (5.4.1), agregar 6 g de tierra diatomácea (4.3) y mezclar cuidadosamente.

7.3.2 Extracto de café seco

Proceda de acuerdo con 7.3.1, pero usando una porción de prueba entre 1 g y 2,5 g correspondiente a aproximadamente 0.5 g de solución de café, y una porción de la solución turbia de 2 mL y 3 g de la tierra diatomácea.

7.3.3 Extracto de café líquido

Proceda de acuerdo con 7.3.1 pero usando una porción de prueba entre 1 g y 2,5 g correspondiente aproximadamente a 0.5 g de sólidos de café, y una porción de la solución turbia de 2 mL y 3 g de la tierra diatomácea.



7.3.4 Café verde descafeinado y Café tostado descafeinado

Pesar 0.1mg, a partir de 1 g de la muestra de prueba (7. 1) y transferir a un vaso de precipitado (5.4.1), agregue 5 mL de solución de amonía (4.4) y caliente por 2 min en el recipiente para hervir agua (5.4.2). Agregue 68 g de tierra diatomácea (4.3) y mezcle cuidadosamente.

7.3.5 Extracto de café seco descafeinado

Proceda de acuerdo con 7.3.4, pero utilizando una porción de prueba de 0.5 g.

7.3.6 Extracto de café líquido descafeinado

Proceda de acuerdo con 7.3.4, pero utilizando una porción de prueba entre 1 g y 2.5 g correspondiente a aproximadamente entre 0.5 g de sólidos de café, y de 7 g a 8 g de la tierra diatomácea.

7.4 Determinación

7.4.1 Llenado de las columnas

7.4.1.1 Columna 1 (columna básica)

7.4.1.1.1 Separación A

Mezcle cuidadosamente, por amasado con una espátula flexible, 3 g de la tierra diatomácea (4.3) y 2 mL de hidróxido de sodio (4.2), hasta que esta sea homogénea (véase nota 3), un polvo ligeramente húmedo es detenido. Transferir este polvo, en porciones de aproximadamente 2 g, dentro de una columna cromatográfica de 21 mm de diámetro (5.1), la cual en su parte inferior esta taponeada con una bola de algodón o lana de vidrio. Deberá ser colocada en la parte superior de la separación A.

7.4.1.1.2 Separación B

Transfiera la mezcla de la tierra diatomácea y la porción de prueba (7.3) dentro de la columna en la parte superior de la división A, seque el vaso de precipitado doblemente con porciones de casi 1 g de tierra diatomácea (4.3), transfiriendo ésta dentro de la columna. Taponee hasta obtener una separación homogénea y coloque una bola de algodón o lana de vidrio en la parte superior de la separación B.



7.4.1.2 Columna II (Columna Acida)

Coloque la columna cromatográfica de 17 mm de diámetro (5.1). Taponee la parte inferior con una bola de algodón o lana de vidrio, 3 g de tierra diatomácea (4.3) y 3 mL de una solución de ácido sulfúrico (4.1), cuidadosamente mezcle y tápese dentro de la columna como se describió la separación A de la columna I en 7.4.1.1, coloque una tapa de lana de vidrio en la parte superior de esta separación.

NOTA 3: El material de empaque de la columna puede ser preparado en gran cantidad con anticipación y guardarse en recipientes cerrados. Una masa de 6.36 g se requiere para cada columna acida.

7.4.2 Cromatografía

Coloque las columnas una sobre otra de modo que el efluente de la columna I pueda caer directamente sobre la columna II. Pase 150 mL de éter-dietil (4.5) a través de las dos columnas. Ajuste la llave de la columna II de modo que la cantidad de líquido se quede sobre la separación. Remover la columna I, pasar 50 mL de éter-dietil (4.5) a través de la columna II, utilizando la porción inicial para enjuagar a la columna I y pasando esta porción también dentro de la columna II. Desechar el efluente de la columna II.

NOTA 4: El éter-dietil usado puede ser recuperado por sacudimiento con el sulfato de hierro (II). Pasar una corriente de aire desde la parte superior hacia la parte inferior de la columna II (por ejemplo utilizando un soplador de goma), hasta que gotee más éter-dietil de la columna y el aire circulado por las llaves lleve solo un ligero olor a Éter (véase nota 5).

Limpie la columna II con 45 a 50 mL de cloroformo (4.7). Recoléctelo utilizado en un matraz volumétrico de 50 mL (5.4.3), diluya hasta la marca con el cloroformo (4.7) y mezcle con cuidado. El rango del flujo del éter-dietil y el cloroformo bajo las condiciones de flujo normal deber ser entre los 1.5 mL/min y 3 mL/min. Si este rango es excedido la determinación deberá volverse a realizar.



NOTA 5: Advertencia.- Las adiciones de eter-dietil y cloroformo deberán llevarse a cabo en un tablero bien ventilado con chimenea al exterior para prevenir la inhalación de solvente y la posibilidad de una explosión.

7.4.3 Medición espectrométrica (véase figura 2)

7.4.3.1 Medición de la solución de prueba

Evitar error por la evaporación de cloroformo, medir la absorbencia de la solución de cafeína en cloroformo (7.4.2) usando las celdas de cuarzo (5.3), contra el cloroformo (4.7) a una longitud de onda de máxima absorbencia obtenida en el espectrómetro usado (cerca de 276 nm y con longitudes de onda 30 nm, arriba y abajo de esta longitud de onda con el objeto de verificar la pureza de la cafeína obtenida.

Si la absorbencia máxima excede el límite de exactitud del instrumento usado, repita la medición en una porción diluida de la solución de cafeína en cloroformo (7.4.2). En este caso, tome la dilución dentro de la cuenta del cálculo; los factores apropiados de las fórmulas en 8.1.1, 8.1.2 y 8.1.3 tendrán que ser ajustados acordemente. Si su absorbencia máxima medida esta por debajo de 0.2 repítase la determinación usando una porción de prueba de mayor masa.

7.4.3.2 Preparación y medición de la solución de referencia

Preparar una solución de referencia de cafeína de la manera siguiente:

Pesar hasta casi 0.1 mg, $100 \text{ mg} \pm 20 \text{ mg}$ de cafeína anhidra pura (4.6). Ponerla en un matraz volumétrico de 1 000 mL (5.4.3), disuelva en cloroformo y diluya hasta la marca. Usando una pipeta (5.4.4) transfiera 5.0 mL de esta solución dentro de un matraz volumétrico de 50 mL (5.4.3) y diluya hasta la harca en cloroformo.

Mida la absorbencia de esta solución como se describe en 7.4.3.1 la absorbencia corregida de la solución de referencia (véase 8.1.1 y figura 2) deberá ser en la región de 0.4



7.4.4 Numero de determinaciones

Llevar a cabo dos determinaciones en porciones separadas de prueba, tomadas de la misma muestra.

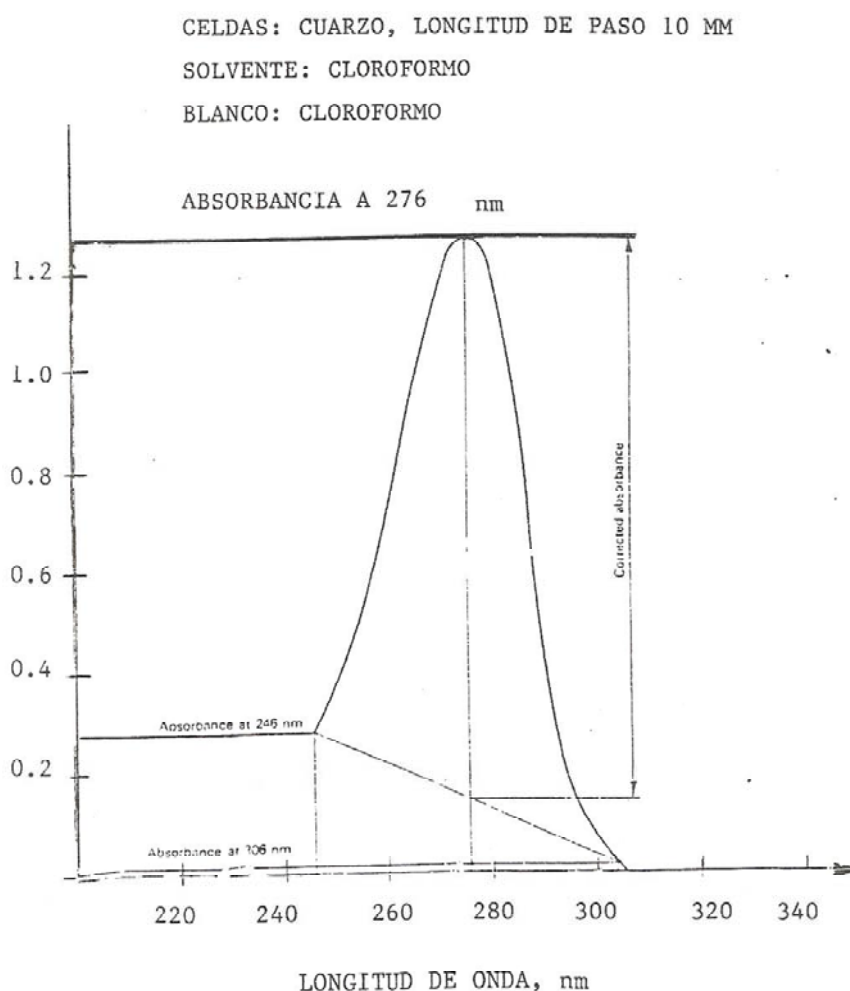


FIGURA 2.- Ejemplo de Medición Espectrométrica



7.5 Prueba en blanco

Llevar a cabo una prueba en blanco con los reactivos, usando el procedimiento descrito, pero omitiendo la porción de prueba, antes de usar reactivos repurificados (véase 4.5 y 4.7). Repita la prueba en blanco para verificar su pureza.

8 EXPRESIÓN DE RESULTADOS

8.1 Método de cálculos y fórmulas.

8.1.1 Café verde y café tostado.

El contenido de cafeína, expresado en gramos por 100 g de materia seca es igual a:

$$\frac{(10^7)(C)(A_1)}{(A_2)(M)(P)}$$

donde:

C es la concentración en gramos por milímetro, de cafeína en la solución de referencia (7.4.3.2), y

A₁ es la absorbancia corregida del extracto purificado (7.4.2) obtenido en 7.4.3.1;

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

Donde el prefijo λ se refiere a la longitud de onda de máxima absorbancia (cerca de 276 nm);



A_2 es la absorbencia corregida de la solución de referencia de cafeína (7.3.2).

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

M es la masa en gramos de la porción de prueba, y

P es la materia seca contenida expresada como un porcentaje por masa, de la muestra (véase 7.2).

8.1.2 Extracto de café seco y extracto de café líquido

El contenido de cafeína de la muestra expresado en gramos por 100 g de materia seca es igual a:

$$\frac{(25) (10^6) (C) (A_1)}{(A_2) (M) (P)}$$

TABLA 1.- Repetibilidad y reproducibilidad

Muestra	Cantidad de cafeína g/100 g café	Repetibilidad g cafeína/100g café	Reproducibilidad g cafeína/100g café
Granos de café verde	Cerca de 2	0.12	0.38
	Cerca de 1	0.08	0.31
	Descafeinado < 0.1	<0.01	0.01
Granos de café tostado	Cerca de 2	0,10	0.32
	Cerca de 1	0,04	0.19
	Descafeinado < 0.1	<0,01	0.01
Café soluble	Cerca de 4	0.17	0.39
	Cerca de 2	0.12	0.20
	Descafeinado < 0.3	0.01	0.01



NOTA 6: Los valores de repetibilidad y reproducibilidad son diferencias críticas en el 95 % del nivel de probabilidad.

9 BIBLIOGRAFÍA

- 9.1** NOM-008-SCFI-2002 Sistema General de Unidades de Medida, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 27 de noviembre de 2002.
- 9.2** NMX-Z-013/1-1977 Guía para la Redacción, Estructuración y Presentación de las Normas Mexicanas. Declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de la Federación el 31 de octubre de 1977.
- 9.3** ISO 1447: 1978 Green coffee - Determination of moisture content - Routine method. Withdrawn standard. Organización Internacional de Normalización, Ginebra, Suiza.
- 9.4** ISO 3726:1983 Instant coffee - Determination of loss in mass at 70 degrees C under reduced pressure. Organización Internacional de Normalización, Ginebra, Suiza.
- 9.5** ISO 4052:1983 Coffee - Determination of caffeine content (Reference method). Organización Internacional de Normalización, Ginebra, Suiza.
- 9.6** ISO 4072:1982 Green coffee in bags – Sampling. Organización Internacional de Normalización, Ginebra, Suiza.
- 9.7** ISO 6670:2002 Instant coffee - Sampling method for bulk units with liners. Organización Internacional de Normalización, Ginebra, Suiza.



- 9.8** ISO 6673:2003 Green coffee - Determination of loss in mass at 105° degrees. Organización Internacional de Normalización, Ginebra, Suiza.

10 CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES

Esta norma mexicana coincide totalmente con la norma internacional ISO 4052:1983 Coffee - Determination of caffeine content (Reference method). Organización Internacional de Normalización, Ginebra, Suiza.

MÉXICO, D. F. A

**CHRISTIAN TURÉGANO ROLDÁN
DIRECTOR GENERAL DE NORMAS**