

669

**Aanbeveling
van het Comité van Ministers van
de Benelux Economische Unie
inzake de toepassing van
Benelux-referentiemethoden van onderzoek,
behorende bij de Aanbeveling M (63) 19
inzake de harmonisatie der wetgevingen
betreffende cacao en chocolade,**

M (67) 7

Het Comité van Ministers van de Benelux Economische Unie,
Gelet op de artikelen 3, 6 en 7 van het Unieverdrag,

Gelet op artikel 9 van de Overgangsovereenkomst,

Gelet op de Aanbeveling van het Comité van Ministers van
23 september 1963 inzake de harmonisatie der wetgevingen
betreffende cacao en chocolade, M (63) 19,

Overwegende, dat geschillen, voortvloeiende uit het toepassen
van verschillende analysemethoden of uit het gebruik van
verschillende normen, dienen te worden vermeden,

Overwegende, dat het in het bijzonder voor de harmonisatie
van het voedingsmiddeltoezicht vereist is, dat gelijke of
gelijkwaardige methoden worden toegepast, dezelfde termen
worden gebezigd en gelijke of gelijkwaardige normen worden
aangelegd,

Beveelt aan :

Enig artikel

De Regeringen der drie Beneluxlanden worden uitgenodigd
bijgaande analysemethoden betreffende cacao en chocolade
vóór 1 juli 1967 in hun wetgeving op te nemen als enig
geldige referentiemethoden.

Gedaan te Brussel, op 12 april 1967.

De Voorzitter van het Comité van Ministers,
P. GREGOIRE.

**Benelux-referentiemethoden van onderzoek
inzake cacao en chocolade,**

M (67) 7, Bijlage

1. Voorbereiding van de monsters

1.1. *Cacaokernen*

Wrijf in een op ongeveer 50 °C verwarmde mortier tot een min of meer vloeibare, doch volkomen homogene massa verkregen is. Breng de massa in een wijdmonds vat over en koel snel af. Behandel de massa volgens 1.5.

1.2. *Cacaomassa (-pasta) en alle perskoeken van cacao*

Behandel volgens 1.5.

1.3. *Cacaopoeders (met of zonder suiker)*

Meng zorgvuldig.

1.4. *Cacaoboter*

Smelt bij ongeveer 40°C en homogeniseer.

1.5. *Chocolade, chocolade couverture, melkchocolade, melkchocolade couverture*

Rasp fijn, vermijd hierbij verwarming, meng het raspsel.

1.6. *Chocolade hagel(slag), chocolade vlokken, melkchocolade hagel(slag), melkchocolade vlokken*

Meng zorgvuldig.

1.7. *Gevulde chocolade*

Neem het buitenste chocolade omhulsel weg, verwijder zorgvuldig de laatste resten vulling, die aan de chocolade zouden kunnen zijn blijven kleven.

Rasp het omhulsel volgens 1.5.

1.8. *Chocolade met hazelnoten, melkchocolade met hazelnoten* zoals omschreven in art. 4c) en 5c) van de Aanbeveling M (63) 19

1.8.1. *Hele hazelnoten en grove stukken*

Breek een monster van bekend gewicht of verwarm het eventueel matig, zodat met een pincet de belangrijkste stukjes hazelnoot, noot of amandel afgescheiden kunnen worden. Weeg deze. Koel zo nodig af en behandel volgens 1.5. of 1.8.2.

1.8.2. *Fijn verdeelde hazelnoten*

Reagens : petroleumether, kookpunt 40-60 °C.

- 1.8.2.1. Neem een evenredig deel van een aantal repen of tabletten, zodat 50 g waar wordt verkregen. Breng deze in een beker-glas, voeg petroleumether toe en wrijf de chocolade, al roerend, stuk. (Het contact tussen nootjes en petroleum-ether mag slechts van korte duur zijn om extractie van vet uit de nootjes te voorkomen).
- 1.8.2.2. Plaats een groot model porseleinen kroes met filterbodem (Gooch's kroes, boven $\varnothing$ 5,5 cm, $\varnothing$ openingen ongeveer 0,6 mm, zonder inlegplaatje en zonder filterlaag) in een kristalliseerschaal en weeg deze tezamen.
- 1.8.2.3. Giet het mengsel van petroleumether en chocolade door de kroes die vooraf op een afzuigkolf is geplaatst (zonder afzuigen). De stukjes noot blijven hierbij in de kroes achter: de vetoplossing, het cacao-, melk-, suikerpoeder en/of dergelijke lopen door.
Was de kroes met inhoud na met petroleumether tot de aflopende vloeistof helder is.
- 1.8.2.4. Verdeel de nootjes over de bodem van de kristalliseerschaal en laat schaal en kroes 24 uren staan bij ongeveer 30 °C. Houd ze daarna nog 24 uren bij kamertemperatuur aan de lucht en weeg (het watergehalte van de nootjes is dan wederom in evenwicht met de vochtigheid van de lucht).
- 1.8.2.5. Weeg een papieren filter, bevochtig het met petroleumether en filtreer de volgens 1.8.2.3. verkregen suspensie evenals de met petroleumether verkregen wasvloeistof. Was het vet volledig uit het filter.
- 1.8.2.6. Droog en weeg het filter en bewaar de inhoud in een goed sluitend flesje voor de verdere analyse.
- 1.8.2.7. Damp de petroleumether-oplossing volledig af in een vooraf gewogen kolfje, droog en weeg. Bewaar het residu voor de verdere analyse.

2. Vocht

Reagens:

Zand : met zoutzuur gewassen en gedroogd zand.

Bepaal het tarragewicht van een weegdoosje met platte bodem en goed sluitend deksel, bevattende ongeveer 20 gram zand en een glazen staafje. Voeg 5 gram van de volgens 1. voorbereide waar toe en weeg alles tezamen. Meng vervolgens met het glazen staafje en droog het mengsel gedurende tenminste vier uur in een droogstoof bij 100-103 °C totdat het gewichtsverlies tussen twee wegingen, verricht met een tussenpoos van 45 minuten, minder dan 5 mg bedraagt.

Het gewichtsverlies, berekend op 100 gram van de waar, is het vochtgehalte.

3. Vet

Reagentia :

petroleumether kookpunt 40°-60° C

zoutzuur, 25 gew. %

zilvernitraatoplossing, 0,1 n

Meng 3 tot 10 g afhankelijk van het te verwachten vetgehalte van de volgens 1. voorbereide waar met 45 ml kokend water tot een homogene suspensie is verkregen. Voeg daarna 55 ml zoutzuur toe en kook deze suspensie zachtjes gedurende 15 min. Filtreer de nog hete suspensie door een van tevoren natgemaakt filter en was het filter met kokend water uit tot het waswater met zilvernitraatoplossing geen chloridereactie meer vertoont.

Breng het filter daarna over in een ontvette extractiehuls en droog deze gedurende ten hoogste 6 h bij 100°-103° C. Plaats de gedroogde huls in een Soxhlet — of een andere daarvoor geschikte extractie-apparatuur — en extraheer met petroleumether gedurende 4 h.

Damp de petroleumether af en droog het kolfje met residu 1 h bij 100°-103° C. Weeg het kolfje met residu en droog opnieuw gedurende 30 min. Het gewicht wordt als constant beschouwd indien het gewichtsverschil tussen twee opeenvolgende wegingen niet meer dan 5 mg bedraagt.

Het gewicht van het verkregen residu berekend op 100 g van de waar is het vetgehalte.

4. As

Breng 5 g van de volgens 1. voorbereide waar in een getaande platinaschaal. Plaats de schaal in een elektrische oven en verhoog de temperatuur geleidelijk tot 550°-600° C.

De verhitting wordt voortgezet tot de as geheel wit ziet.

Weeg, na bekoeling in een exsiccator, de schaal met de as. Bereken de uitkomst in procenten van de droge vetvrije stof.

5. Alkaliteit van de as

Reagentia :

zoutzuur 0,5 n

natronloog 0,1 n

Bufferoplossing pH = 4,5 : meng 719 ml natriumcitraatoplossing (los 21 g citroenzuur ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$) in 200 ml natronloog n op en vul tot een liter aan met versgekookt gedestilleerd water van 20°C) en 281 ml zoutzuur 0,1 n. Voeg 10 mg kwik (II) jodide toe ter conservering van de bufferoplossing.

Broomkresolgroen : 0,75 g broomkresolgroen in 100 ml ethanol 95 vol. %.

- 5.1. Voeg aan de onder 4. verkregen as een weinig kokend water toe en breng de assuspensie over in een konische kolf. Spoel de schaal nog tenminste tweemaal met heet water en breng deze wasvloeistof ook in de konische kolf.

Pipetteer 10 ml 0,5 n zoutzuur in deze konische kolf en verwarm deze gedurende 15 minuten op een kokend waterbad. Filtreer de suspensie in een konische kolf en was het neerslag op het filter tot de wasvloeistof geen zure reactie meer vertoont.

Titreer het verkregen filtraat terug met de NaOH oplossing 0,1 n in aanwezigheid van 2 druppels broomkresolgroenoplossing totdat een groene kleur verkregen is, identiek aan die van de bufferoplossing pH 4,5, waaraan eveneens 2 druppels indikator zijn toegevoegd. Stel *a* ml.

- 5.2. Titreer onder dezelfde omstandigheden met dezelfde NaOH-oplossing 0,1 n, 10 ml zoutzuur 0,5 n, verdund tot hetzelfde volume als de eigenlijke bepaling. Stel *b* ml.

- 5.3. De alkaliteit uitgedrukt in ml n natrium-hydroxideoplossing per 100 g droge en vetvrije waar is :

$$\frac{b-a}{10} \times \frac{100}{p} \times \frac{100}{100-g-h}$$

p = gewicht in g van de oorspronkelijke waar

g = percentage vet

h = percentage vocht

6. Identificatie van de suikers met behulp van papierchromatografie

Reagentia :

- Kaliumhexacyanoferraat (II) oplossing :
los 106 g $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ in gedestilleerd water op en verdun tot een liter ;
- Zinkacetaat-oplossing : los 238 g $(CH_3COO)_2Zn \cdot 3H_2O$ in gedestilleerd water op, voeg 30 g ijsazijn toe en verdun met gedestilleerd water tot een liter ;
- Loopvloeistoffen voor chromatografie :
 - a) mengsel van 6 vol. ethylacetaat, 3 vol. ijsazijn en 2 vol. water
 - b) mengsel van 5 vol. n. butanol, 3 vol. pyridine, 1 vol. benzeen en 3 vol. water ;

— Detectiemiddelen :

- a) los 1,66 g ftaalzuur en 0,93 g aniline in 100 ml water-verzadigde n butanol op. De oplossing is goed houdbaar
- b) los 4 g p-anisidine in 96 ml aceton op (oplossing A)
los 4 g difenylamine in 96 ml aceton op (oplossing B)
voeg 10 ml fosforzuur 85 % druppelsgewijs en onder roeren toe aan 50 ml van oplossing A. Voeg, indien de verkregen oplossing niet helder is, nog enige druppels fosforzuur toe tot de oplossing volkomen helder is. Voeg vervolgens onder krachtig omschudden 50 ml van oplossing B toe. Het reagens moet voor het gebruik vers bereid worden. De oplossingen A en B zijn, gescheiden bewaard, lange tijd houdbaar ;

— Suikeroplossingen : maak 1 % oplossingen van saccharose, glucose, fructose, maltose en lactose in ethanol 50 vol. % ;

— Chromatografiepapier : Whatman nr 1, of gelijksoortig.

6.1. *Het isoleren*

- 6.1.1. Breng 5 g van de volgens 1 voorbereide waar in een centrifugebuis. Voeg 15 ml gedestilleerd water van ongeveer 60 °C toe en roer krachtig.
- 6.1.2. Laat de inhoud van de buis afkoelen en voeg 1 ml kaliumhexacyanoferraat (II)-oplossing en 1 ml zinkacetaatoplossing toe, waarbij na iedere toevoeging krachtig wordt geroerd.
- 6.1.3. Centrifugeer gedurende 10 minuten met 3.000-3.500 omwentelingen per minuut en filtreer de vloeistof vervolgens door een papieren filter.

6.2. *De identificatie*

- 6.2.1. Breng op de startlijn van een vel chromatografiepapier 5 μ l van de verkregen oplossing en 5 μ l van ieder der vergelijkingsoplossingen van saccharose, glucose, fructose, maltose en lactose.
- 6.2.2. Chromatografeer dalend met behulp van één van de loopvloeistoffen gedurende tenminste 16 uren.
- 6.2.3. Droog het chromatogram aan de lucht. Bespuit volgens 6.2.4. of 6.2.5.
- 6.2.4. Bespuit het droge chromatogram met de anilineftalaatoplossing en verwarm gedurende 5 à 10 minuten op 130 °C. De reactieprodukten van de suikers zijn zichtbaar als bruine vlekken.

- 6.2.5. Haal het droge chromatogram snel eenmaal door de p-anisidine-difenylamine-oplossing en verwarm gedurende 5 minuten bij 100-105°C. De reactieproducten zijn als gekleurde vlekken zichtbaar.

7. Bepaling van saccharose

Deze methode is alleen bruikbaar bij afwezigheid van andere hydrolyseerbare optische actieve stoffen.

Reagentia :

Basisch loodacetaat : los 230 g loodacetaat ($\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) op in ca. 700 ml kokend water. Voeg hieraan gedurende het koken onder voortdurend roeren langzaam 120 g loodoxide (PbO) toe. Filtreer de oplossing warm, nadat zoveel mogelijk van het loodoxide in oplossing is gegaan, in een kolf van 1 liter. Was het residu uit met kokend water. Koel het filtraat af tot 20°C, vul met water aan tot 1 liter en schud goed door.

IJsazijn : 98-100 %

Zoutzuur 6,3 n : verdun 630 ml zoutzuur ($d = 1.16 - 1.18$) met water in een maatkolf tot 1 liter. Stel de titer van deze oplossing : pipetteer 5 ml in een maatkolf van 100 ml en vul aan met water tot de maatstreep. Titreer 10 ml van deze laatste oplossing met 0,1 n NaOH op fenolftaleïne als indicator. Het verbruik aan 0,1 n NaOH moet precies 31,5 ml zijn.

Instrumenten :

Polarimeter met natriumdampamp.

- 7.1. Weeg van het fijngeraspte monster 25,00 g nauwkeurig af in een bekerglas van 100 ml. Suspendeer in 40 ml water van 80°C. Spoel de suspensie met ongeveer 100 ml warm water over in een maatkolf van 250 ml. Koel af tot ca. 20°C en voeg 3,75 ml basisch loodacetaat toe.

Indien meer dan 20 % vetvrije cacao in het monster aanwezig is, dan moet 5 ml basisch loodacetaat toegevoegd worden. Koel de inhoud van de maatkolf tot 20°C, verdun met water van 20°C tot de maatstreep en meng de inhoud door krachtig schudden. Filtreer de homogene suspensie door een vouwfilter. Verwerp de eerste 20 ml filtraat.

- 7.2. Pipetteer 50 ml van de onder 7.1. verkregen, heldere oplossing in een droge konische kolf met ingeslepen stop. Voeg 0,2 ml ijsazijn toe en meng goed. Meet bij 20°C de draaiing van deze oplossing. Verricht tenminste 6 aflezingen. Bereken het gemiddelde van deze aflezingen (= d). De specifieke draaiing D van de oplossing is :

$$D = \frac{10,04 \times d}{L}$$

L = de lengte van de polarimeterbuis in dm.

Indien uitsluitend saccharose als optisch actieve stof aanwezig is, is het gehalte in gewichtsprocent :

$$S = \frac{15,06 \times d \times V}{L}$$

V = de volume-correctie volgens 7.4.

- 7.3. Pipetteer 40 ml van de onder 7.1. verkregen oplossing in een maatkolf van 50 ml en voeg 5 ml 6,3 n zoutzuur toe. Plaats een thermometer in de maatkolf en breng de inhoud van de maatkolf binnen 2 minuten met behulp van een waterbad op 60° C. Houd de inhoud van de maatkolf gedurende 10 minuten op deze temperatuur. Koel het kolfje dan snel af tot 20° C. Haal de thermometer uit de maatkolf, spoel deze af met water en vul de vloeistof in het maatkolfje met water aan tot de maatstreep. Meng door krachtig schudden.

Bepaal na ca. 1 uur de draaiing van deze oplossing, in dezelfde polarimeterbuis als onder 7.2. is gebruikt. Verricht tenminste 6 aflezingen. Bereken het gemiddelde van deze aflezingen (= d').

De specifieke draaiing J van de oplossing is :

$$J = \frac{12,5 \times d'}{L}$$

L = de lengte van de polarimeterbuis in dm.

- 7.4. Het ongecorrigeerde saccharose-gehalte bedraagt :

$$s = \frac{D - J}{0,8811}$$

Er moet een correctiefactor V ingevoerd worden voor het volume van het neerslag.

$$V = \frac{1000 - (1,02a + 0,8b)}{1000}$$

waarin a = het volgens 3 bepaalde vetgehalte van het monster in % ;

b = het gehalte van het monster aan vetvrije cacao-bestanddelen + melkeiwit in %. Indien het suikergehalte (saccharose + lactose) ca. 40 % bedraagt, wordt b berekend als 102 min de som van vochtgehalte + vetgehalte + ongecorrigeerd suikergehalte (saccharose + lactose). Indien het suikergehalte (saccharose + lactose) ca. 50 % of meer bedraagt, wordt b berekend als boven door 102 te vervangen door 102,5. In de meeste gevallen ligt V in de buurt van 0,95.

Het saccharose-gehalte van de waar is :

$$S = s \times V$$

8. Bepaling van lactose bij afwezigheid van andere reducerende stoffen

Reagentia :

Kaliumoxalaat-oplossing : los 10 g $K_2C_2O_4 \cdot H_2O$ op in 100 ml water.

Dinatriumwaterstoffosfaat-oplossing : los 10 g $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ op in 100 ml water.

Diatomeeënaarde : meng 50 g Celite 545 en 50 g Celite Filter Cel en gloei het mengsel bij 800° C.

Kaliumjodide

Zwavelzuur, 25 gew. %

Natriumthiosulfaat, 0,1 n

Zetmeel-oplossing, 1 %

Reagens volgens Luff-Schoorl : bereid de volgende drie oplossingen :

- a. 25 g kopersulfaat ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) in 100 ml water ;
- b. 388 g natriumcarbonaat ($Na_2CO_3 \cdot 10H_2O$) in 300 à 400 ml water ;
- c. 50 g citroenzuur ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$) in 50 ml water.

Giet oplossing c voorzichtig bij de afgekoelde oplossing b en roer tot geen koolzuur meer ontwijkt. Voeg aan dit mengsel onder roeren de oplossing a toe. Laat afkoelen, verdun tot 1 liter en filtreer na 24 uur. De aldus bereide oplossing heeft een pH van ca. 9,9.

Controleer het reagens als volgt :

- aa. Voeg aan 25 ml van het reagens 3 g kaliumjodide, opgelost in weinig water, en 25 ml 25 % zwavelzuur toe. Titreer met 0,1 n natriumthiosulfaat. Voeg tegen het einde van de titratie een weinig zetmeeloplossing toe. Het verbruik moet 25 ml 0,1 n natriumthiosulfaat bedragen.
- bb. Breng in een maatkolf van 100 ml, 10 ml van het reagens en vul aan tot de maatstreep.
Meng in een konische kolf 10 ml van dit verdunde reagens met 25 ml 0,1 n zoutzuur en verwarm gedurende 1 uur op een kokend waterbad. Laat afkoelen, breng de inhoud van het kolfje met water op het begin-volume en titreer met 0,1 n NaOH met behulp van fenolftaleïne als indicator. Het verbruik moet 5,5 tot 6,5 ml 0,1 n NaOH bedragen.
- cc. Titreer met 0,1 n zoutzuur en fenolftaleïne als indicator, 10 ml van het reagens verdund volgens bb. Het verbruik moet 6-7,5 ml 0,1 n HCL bedragen.

- 8.1. Pipetteer 50 ml van de onder 7.1. verkregen oplossing in een maatkolf van 200 ml. Voeg onder schudden 2 ml kaliumoxalaat-

oplossing toe, laat 1 minuut staan en voeg dan 2 ml dinatriumwaterstoffsosfaat-oplossing toe. Vul met water aan tot de maatstreep en meng.

- 8.2. Breng de inhoud van de kolf over in een droog bekerglas, voeg een weinig diatomeeënaarde toe, schud om en filtreer door een vouwfilter. Breng de eerste ml filtraat weer op het filter.

- 8.3. Pipetteer 25 ml van het reagens volgens Luff-Schoorl en 25 ml van de onder 8.2. verkregen oplossing in een konische kolf van 300 ml. Voeg enige kooksteentjes toe en verbind de kolf met een terugvloeikoeler. Plaats de kolf op een metalen gaasje, waarop een asbestplaatje met een ronde opening, van dezelfde diameter als de bodem van de konische kolf, ligt.

Breng de inhoud van de konische kolf binnen twee minuten tot koken en houd de inhoud gedurende precies 10 minuten juist aan de kook.

Indien de koper-oplossing geheel gereduceerd wordt, gaat men uit van minder van de onder 8.2. verkregen oplossing en voegt, na toevoeging van 25 ml van het reagens volgens Luff-Schoorl, zoveel water toe, dat het volume 50 ml bedraagt. (De bepaling geeft de beste resultaten indien de 25 ml oplossing tussen 15 en 60 mg reducerende suiker bevatten).

- 8.4. Koel snel af tot 20° C. Voeg toe 3 g kaliumjodide, opgelost in weinig water, en vervolgens onder voortdurend omzwenken voorzichtig 25 ml zwavelzuur.

Titreer de oplossing direct met 0,1 n natriumthiosulfaat onder voortdurend omzwenken. Voeg tegen het einde van de titratie 1 tot 2 ml zetmeel-oplossing toe.

- 8.5. Voer op dezelfde wijze een blanco-titratie uit, waarbij de suiker-oplossing vervangen is door 25 ml water.

- 8.6. Bereken op de volgende wijze het gehalte aan lactose-anhydride. Verminder het aantal ml 0,1 n natriumthiosulfaat, verbruikt bij de blanco titratie met het aantal ml 0,1 n natriumthiosulfaat, verbruikt bij de bepaling. Bepaal met behulp van de tabel volgens Luff-Schoorl de hoeveelheid lactose-anhydride, die overeenkomt met dit verschil (m mg).

n = ml van de in 8.3. gebruikte suikeroplossing

L' = % lactose-anhydride, ongecorrigeerd

r = 0,25 = correctiefactor wegens de aanwezigheid van saccharose en reducerende cacaobestanddelen

V = correctiefactor voor het volume van het neerslag (zie 7.4.)

Hiervoor kan 0,95 aangehouden worden.

L = % lactose-anhydride

$$L' = \frac{m.4}{n}$$

$$L = (L' - r) V \text{ of}$$

$$L = (L' - 0,25) 0,95$$

8.7. Tabel volgens Luff-Schoorl

0,1 n $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	Lactose anhydride	Vershil	Glucose, fructose of invertsuiker	Vershil
ml	mg		mg	
1	3,6	3,7	2,4	2,4
2	7,3	3,7	4,8	2,4
3	11,0	3,7	7,2	2,5
4	14,7	3,7	9,7	2,5
5	18,4	3,7	12,2	2,5
6	22,1	3,7	14,7	2,5
7	25,8	3,7	17,2	2,6
8	29,5	3,7	19,8	2,6
9	33,2	3,8	22,4	2,6
10	37,0	3,8	25,0	2,6
11	40,8	3,8	27,6	2,7
12	44,6	3,8	30,3	2,7
13	48,4	3,8	33,0	2,7
14	52,2	3,8	35,7	2,8
15	56,0	3,9	38,5	2,8
16	59,9	3,9	41,3	2,9
17	63,8	3,9	44,2	2,9
18	67,7	4,0	47,1	2,9
19	71,7	4,0	50,0	3,0
20	75,7	4,1	53,0	3,0
21	79,8	4,1	56,0	3,1
22	83,9	4,1	59,1	3,1
23	88,0		62,2	

9. **Bepaling van glucose naast saccharose** bij afwezigheid van andere reducerende stoffen

9.1. Bepaal het reducerend vermogen volgens 8. en bereken dit als glucose.

9.2. Bepaal het saccharose-gehalte volgens 7.

10. **Bepaling van invertsuiker naast saccharose** bij afwezigheid van andere reducerende stoffen

10.1. Bepaal het reducerend vermogen volgens 8. en bereken dit als invertsuiker

10.2. Bepaal het saccharose-gehalte volgens 7.

11. **Bepaling van glucose en invertsuiker naast saccharose** bij afwezigheid van andere reducerende stoffen

Reagentia :

Reagentia genoemd onder 8

Bovendien :

Natriumhydroxideoplossing 8 n.

Natriumhydroxideoplossing 4 n.

Geconcentreerde jodiumoplossing :

los 130 g jodium en 150 g kaliumjodide op in water en verdun tot een liter.

Jodiumoplossing 0,1 n.

Zwavelzuur 4 n.

Natriumsulfietoplossing, verzadigd : bereid een verzadigde oplossing van $\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ in water.

Natriumsulfietoplossing, 2 % : los 2 g $\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ op in 100 ml water. De oplossing moet steeds vers bereid worden.

Methylroodoplossing : 0,2 % in 70 vol. % ethanol.

11.1. Bepaal het saccharose-gehalte volgens 7.

11.2. Bepaal het invertsuiker-gehalte als volgt :

11.2.1. Pipetteer a ml van de onder 8.2. verkregen oplossing (ten hoogste 50 ml, overeenkomende met minimaal 120 mg en maximaal 480 mg invertsuiker) in een maatkolf van 100 ml, verdun met water tot 50 ml, voeg toe 2,5 ml 8 n natriumhydroxide-oplossing en 16 ml geconcentreerde jodiumoplossing of zoveel meer totdat blijvende bruinkleuring is verkregen. Voeg na 5-7 minuten 3 ml 4 n zwavelzuur toe. Neem de overmaat jodium weg, eerst met de verzadigde oplossing van natriumsulfiet, totdat de bruine kleur zwak wordt. Voeg een weinig zetmeeloplossing toe. De oplossing moet blauw gekleurd worden ; indien niet, voeg dan zoveel 0,1 n jodiumoplossing toe tot de oplossing blauw wordt. Ontkleur daarna nauwkeurig met 2 % natriumsulfietoplossing. Neutraliseer met 4 n natriumhydroxideoplossing tegenover methylrood en vul aan tot de maatstreep.

11.2.2. Pipetteer 25 ml van de onder 11.2.1. verkregen oplossing in een konische kolf van 300 ml en bepaal het fructose-gehalte volgens Luff-Schoorl als omschreven in 8.3., 8.4. en 8.5.

11.2.3. Bereken het invertsuiker-gehalte als volgt :

Het ongecorrigeerde fructose-gehalte is :

$$F' = \frac{16 f}{a}$$

f = mg fructose volgens de tabel van Luff-Schoorl (8.7.)

a = ml van de onder 11.2.1. gebruikte suikeroplossing.

Het gecorrigeerde fructose-gehalte is dan :

$$F = (F' - r) V$$

of

$$F = (F' - 0,25) 0,95$$

r en V zijnde de correctiefactoren volgens 8.6.

681

Het invertsuiker-gehalte I van de waar is dan

$$I = 2 F$$

N.B.

Indien a ml van de onder 8.2. verkregen oplossing niet toereikend zijn voor de bepaling, dient men bij de onder 8.2. beschreven bewerking uit te gaan van een grotere hoeveelheid van de onder 7.1. verkregen oplossing.

- 11.3. Bepaal het totaal reducerend vermogen volgens 8. en druk uit als glucose (R_1).

Het glucose-gehalte G van de waar is dan :

$$G = R_1 - I.$$

12. Semi-micro-boterzuurgetal

Reagentia

Geconcentreerde waterige KOH-oplossing : 750 g KOH per liter oplossing.

Ethanolische kaliumhydroxideoplossing 0,5 n :

Voeg aan 40 ml geconcentreerde waterige KOH-oplossing, 40 ml water toe en vul met 96 vol. %-ige ethanol aan tot een liter. Titratie van 5 ml van deze oplossing moet 25-27 ml 0.1 n HCl gebruiken.

Glycerol, s.g. 1.23 (88 gew. %)

Zwavelzuur, 25 vol %

Kaliumsulfaatoplossing : bij 20° C verzadigde waterige oplossing (10 gew. %).

Kokoszeepoplossing :

Verzeep 50 g zuiver kokosvet met 15 g kaliumhydroxide, 50 g glycerol en 20 ml water in een kolf van 500 ml boven de vrije vlam. Laat afkoelen tot beneden 100° C en verdun met water tot 500 ml.

Infuseriënaarde

Ethanolische fenoltaleïneoplossing 1%.

Apparatuur (zie tekeningen)

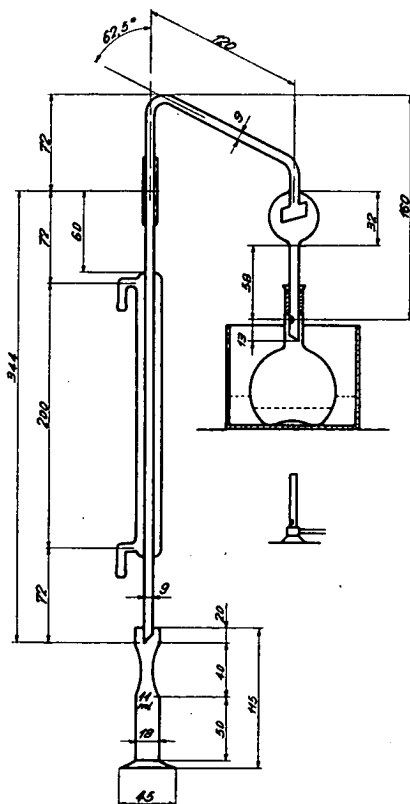


Fig. 1

682

Appareillage (voir figures)

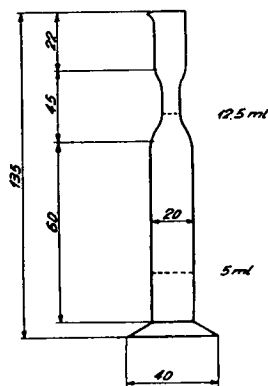


Fig. 2

- 12.1. Breng op de bodem van een kookkolfje van 50 ml met vlakke bodem achtereenvolgens 500-520 mg van het volgens 3 verkregen vet, enige korrels puimsteen en 5 ml ethanolische kaliumhydroxideoplossing 0,5 n. Plaats op het kolfje een rechtopstaande waterkoeler. Kook de vloeistof op een waterbad, totdat het vet niet meer zichtbaar is, en daarna nog 5 min.
- 12.2. Voeg vervolgens 1 ml glycerol toe en kook zonder koeler totdat de ethanol grotendeels is verdampt, d.w.z. totdat de vloeistof sterk begint te schuimen. Leg het kolfje gedurende 1 h in hellende stand in een droogstof bij 100-105° C.

- 12.3. Voeg onmiddellijk nadat het kolfje uit de droogstof is genomen 15 ml kaliumsulfaatoplossing toe, sluit het kolfje met een kurk en zwenk krachtig om totdat de zeep gelijkmatig verdeeld is.

Plaats hiertoe zonodig het kolfje nog enige tijd gesloten in de droogstoof. Laat de vloeistof tot 20° C afkoelen en plaats het kolfje gedurende 10 min in een waterbad van 20° C. Voeg daarna onder voortdurend omzwenken achtereenvolgens toe 0,5 ml 25 vol % zwavelzuur, 1 ml kokoszeepoplossing en 0,1 g infusoriënaarde. Meng en laat het kolfje gedurende ongeveer 5 min in het waterbad van 20° C staan. Schud krachtig, filtreer door een droog vouwfilter van 10 cm doorsnede en vang het filtraat op in een buisje volgens Beckel (zie tekening) totdat 12,5 ml filtraat is verkregen. Pers het neerslag op het filter uit met een reageerbuisje, indien de hoeveelheid filtraat te gering is.

- 12.4. Breng het filtraat in een kookkolf van 50 ml met vlakke bodem, spoel na met 5 ml water, voeg enige korrels puimsteen toe. Destilleer door verhitting in een oliebad van 175° C onder gebruikmaken van een destillatietoestel volgens tekening. (Olieniveau 1 cm boven vloeistofniveau in de kolf). Vang 11 ml van het destillaat op in een daarvoor geschikt buisje volgens Beckel. Giet het destillaat over in een konische kolf van 50 ml, voeg een druppel fenoltaleïneoplossing 1 % toe en titreer met 0,01 n natriumhydroxideoplossing tot de blijvende rode kleur. Spoel met de getitreerde vloeistof het Beckelbuisje uit en titreer opnieuw tot de blijvende rode kleur (totale titreercijfer = a). Verricht een blancobepaling op 500 mg standaard cacaoet (titreercijfer = b).

- 12.5. Het semi-micro-boterzuurgetal (SMB) bedraagt :

$$\text{SMB} = \frac{100 (a - b) \times 1,4 \times t \times 500}{G}$$

t = titer van de gebruikte natriumhydroxideoplossing

G = gewicht in mg gewogen vet

- 12.6. Het percentage melkvet in de waar bedraagt :

$$\frac{\text{SMB}}{20} \times \text{het percentage totaal vet in de waar.}$$

13. Beoordeling van de zuiverheid van cacaoboter met behulp van het anilinepunt

Definitie : het anilinepunt is de ontmengings-temperatuur van een oplossing van het vet in aniline, bepaald volgens de hieronder beschreven methode.

Reagentia

Aniline, vers gedestilleerd.

Breng 25 ml aniline, een spatelpunt zinkpoeder en enig puimsteen in een destilleerkolf van 100 ml. Verbind de kolf met een luchtkoeler (diameter ongeveer 1 cm, lengte ongeveer 50 cm). Verwerp het eerste destilaat en vang daarna de zuivere aniline op.

Magnesiumsulfaat watervrij.

Petroleumether : kookpunt 40 - 60° C.

- 13.1. Breng 70 g fijngemaakte waar in een fles, voeg ongeveer 150 ml petroleumether toe, sluit goed en schud een kwartier met een schudmachine. Filtreer de oplossing. Damp de petroleumether af. Droog het verkregen vet door in een droogstoof bij ongeveer 60° C over magnesiumsulfaat te filtreren.
- 13.2. Weeg nauwkeurig in een getareerde reageerbuis ongeveer 1 g van het vet of p gram. Voeg 4 p gram aniline toe en sluit de buis met een kurk, waardoor een thermometer en een aluminium-roerder zijn aangebracht. Plaats de buis in een bekerglas met warm water. Neem, wanneer het mengsel helder geworden is, de buis uit het bad en plaats haar in een luchtmantel, die zelf weer omgeven is door een bad, waarvan de temperatuur 3° lager is dan het te verwachten ontmengingspunt. Laat het mengsel langzaam, al roerende afkoelen. Neem waar wanneer het mengsel troebel wordt en noteer de temperatuur.
- 13.3. Corrigeer de temperatuur, verkregen volgens 13.2. met een waarde, die afhankelijk is van de zuurtegraad van het vet.
- Het anilinepunt AP in °C is :
- $$\text{AP} = t + 0,18 Z$$
- t = de genoteerde ontmengingstemperatuur
- Z = zuurtegraad verkregen volgens 14
- Het anilinepunt van zuivere cacaoboter is 42° C - 44° C.

14. Zuurtegraad

Definitie : de zuurtegraad is het aantal ml 1 n alkaliloog, dat nodig is om de vrije vetzuren van 100 g vet te neutraliseren.

Reagentia

Benzeen

Ethanol 96 vol %

Ether

Natriumhydroxideoplossing, 0,1 n

Fenolftaleïne, 1 % ethanolische oplossing.

- 14.1. Weeg 8 tot 10 g van het onder 13.1 verkregen vet in een konische kolf af. Los het vet op in 50 ml van een mengsel van gelijke delen ethanol en ether of benzeen, dat van te voren met 0,1 n natriumhydroxideoplossing op fenolftaleïne geneutraliseerd is.

Titreer de verkregen oplossing onder voortdurend omzwenken met 0,1 n natriumhydroxideoplossing met fenolftaleïne als indicator.

- 14.2. Bereken de zuurtegraad als volgt :

$$Z = \frac{10 \times v}{p}$$

v = verbruikte aantal ml natriumhydroxideoplossing 0,1 n

p = het gewicht van het vet in grammen

Bereken de waarde tot op één decimaal.

15. Brekingsindex

- 15.1. Bepaal van het onder 13.1. verkregen vet de brekingsindex

$n \frac{D}{40}$ in 4 decimalen.

16. Vuilproef (Filth-test)

Reagentia :

Zoutzuur, 4 n

Ethanol, 96 vol %

Petroleumether, kooktraject 40 - 60° C

Vloeibare paraffine

Instrumenten :

Scheitrecther, eindigend in een cilindervormig gedeelte (diameter 1 cm, lengte 8 cm) boven de kraan

Twee glazen platen, waarvan één voorzien van een lijnen-raster van 2 mm. De lijnen moeten genummerd zijn

Kieselguhrfilter, Delta nr. 325, of gelijkwaardig, diameter 4 cm

Filter, SS no. 1575 of gelijkwaardig, diameter 5 cm

Doorzichtig plakband

- 16.1. Breng 50 g van volgens 1. voorbereid monster in een konische kolf van 1 l. Voeg 350 ml water en 50 ml zoutzuur toe. Breng het mengsel onder goed roeren aan de kook en kook gedurende 1 uur. Zorg, dat aan de wand van de kolf boven de vloeistof geen vaste bestanddelen kleven. Laat iets afkoelen.
- 16.2. Voeg 20 ml paraffine toe, roer krachtig en vul met water aan tot de paraffinelaag in de hals van de kolf staat. Laat de kolf een kwartier rustig staan.
- 16.3. Vul het cilindervormige gedeelte van de scheitrechter met water en giet de paraffine en een deel van de waterige vloeistof in de scheitrechter. Vul de inhoud van de kolf met water aan en giet wederom af in de scheitrechter. Herhaal deze bewerking totdat alle paraffine in de scheitrechter is overgebracht. Laat een kwartier rustig staan.
- 16.4. Breng opnieuw 5 ml paraffine in de kolf en roer de gehele inhoud goed om. Vul aan met water tot de paraffinelaag in de hals van de kolf staat. Laat een kwartier rustig staan.
- 16.5. Laat het water uit de scheitrechter weglopen, er voor zorgdragend, dat het cilindervormige gedeelte met water gevuld blijft. Giet vervolgens de paraffine-laag uit de kolf en een deel van de waterige oplossing in de scheitrechter.
- 16.6. Herhaal de bewerkingen 16.4 en 16.5. nog twee maal.
- 16.7. Laat wederom het grootste deel van het water uit de scheitrechter weg lopen en voeg 300 ml water toe. Schud om en tap, na een kwartier rustig staan, het water grotendeels af. Herhaal deze bewerking tot het aflopende water helder is.
- 16.8. Voeg toe 100 ml petroleumether en 200 ml water. Schud om en laat, na een kwartier staan, zoveel water af, totdat slechts enkele ml overblijven.
- 16.9. Leg in een Buchnertrechter van 4 cm diameter een kieselguhrfilter en daarop het filter SS no 1575. Laat de rand hiervan tegen de wand van de Buchnertrechter aansluiten.
- 16.10. Breng de vloeistof uit de scheitrechter bij gedeelten op het filter en zuig af. Bedek de Buchnertrechter hierbij met een horlogeglas. Was de scheitrechter met water geheel schoon en breng het waswater op het filter. Was tenslotte viermaal met 20 ml ethanol.
- 16.11. Breng het filter over in een petrisschaal en droog het hierin, afgedekt, bij 60° C. Bevochtig het filter met enige druppels paraffine en laat deze zich over het gehele oppervlak uitbreiden.

- 16.12. Plaats het filter zodanig tussen de twee glazen platen, dat het raster van de verdeelde glasplaat direct op het filter komt te liggen. Fixeer de beide glazen platen met doorzichtige plakbanden.
- 16.13. Tel onder zwakke vergroting het aantal insecten, mijten en de fragmenten hiervan alsmede het aantal haren van knaagdieren voorkomend op het gehele filter.
- 16.14. Geef de uitkomst op per 100 g materiaal.
17. Fosfatiden ⁽¹⁾
18. Microbiologisch onderzoek ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Deze beide methodes zullen het voorwerp uitmaken van een aanvulling bij deze Aanbeveling.