

1064

RECOMMANDATION

**du Comité de Ministres de l'Union économique Benelux
concernant l'application de méthodes d'analyse de référence
Benelux se rapportant à la recommandation M (63) 20, relative
à l'harmonisation des législations en matière de féculs
et poudres pour pudding**

M (68) 52

Le Comité de Ministres de l'Union économique Benelux,

Vu les articles 3, 6 et 7 du Traité d'Union,

Vu l'article 9 de la Convention transitoire,

Vu la Recommandation du Comité de Ministres du 23 septembre 1963, relative à l'harmonisation des législations en matière de féculs et poudres pour pudding, M (63) 20,

Considérant qu'il y a lieu d'éviter des contestations nées de l'application de techniques d'analyse différentes ou de l'emploi de normes différentes,

Considérant qu'en particulier l'harmonisation du contrôle des denrées alimentaires exige la mise en œuvre de techniques identiques ou équivalentes et l'emploi de modes d'expression semblables et le recours à des normes identiques ou équivalentes,

Recommande :

Article unique

Les Gouvernements des trois pays du Benelux sont invités à introduire, avant le 1^{er} juillet 1969 dans leurs législations comme seules méthodes de référence valables, les méthodes d'analyse ci-annexées relatives au féculs et poudres pour pudding.

Fait à Bruxelles, le 11 décembre 1968.

Le Président du Comité de Ministres,

P. GREGOIRE

1065

Méthode d'analyse des féculs et poudres pour pudding

M (68) 52, Annexe

1. Détermination de la teneur en humidité

Appareillage

Une étuve électrique réglable entre 130 et 133° C (1) et munie d'une ventilation suffisante (2).

1.1. Introduire environ 5 g de la denrée dans un pèse-filtre (à fond plat) muni d'un couvercle bouchant bien. Déterminer le poids à 1 mg près.

1.2. Placer le pèse-filtre contenant l'échantillon à analyser, ouvert dans l'étuve. L'y maintenir pendant 2 h à partir du moment où la température a de nouveau atteint 130° C. Sortir l'échantillon de l'étuve, refroidir dans un exsiccateur et déterminer le poids du pèse-filtre avec couvercle fermé.

1.3. La perte de poids calculée sur 100 g de denrée constitue la teneur en humidité.

2. Détermination de la teneur en cendres

Réactifs :

Ethanol 96 % vol.

2.1. Dans une capsule en platine préalablement calcinée et tarée, peser exactement 5-6 g de la denrée. Humecter avec 1-2 ml d'éthanol.

2.2. Placer la capsule à l'entrée d'un four à mouffle et laisser le four ouvert. Quant le produit ne brûle plus, glisser la capsule plus loin dans le four dont la température est de 900° C. Calciner pendant 2 h sous une amenée d'air suffisante.

2.3. Sortir la capsule du four et la placer pendant 1 min. sur une plaque d'amiante. Refroidir dans un exsiccateur jusqu'à température ordinaire. Ensuite peser rapidement à 0,1 mg près (3).

(1) Température de l'air au voisinage des pèse-filtres. L'étuve doit avoir une capacité de chauffe telle qu'après un chauffage préalable à 131° C, elle puisse atteindre à nouveau cette température dans les 45 minutes après introduction du nombre maximum d'échantillons que l'on peut y dessécher en une seule opération.

(2) L'efficacité de la ventilation est contrôlée avec de la semoule de blé dur dont les grains ne dépassent pas 1 mm. La ventilation doit être telle que, lorsque l'opération de dessiccation à 130 - 133° C porte sur le maximum d'échantillon que l'étuve peut contenir, les teneurs en humidité obtenues après 2 et après 3 h ne peuvent pas varier de plus de 0,15 %.

(3) Les cendres sont hygroscopiques.

1066

2.4. La teneur en cendres exprimée en % de la denrée est de :

$$\frac{b - a}{M} \times 100$$

dans laquelle :

a = le poids en g de la capsule vide

b = le poids en g de la capsule avec le résidu de calcination

M = le poids en g de la prise d'essai.

3. Filth-test

Réactifs :

Acide chlorhydrique, 4 n.

Ethanol, 96 % vol.

Ether de pétrole, P.E. 40 - 60° C.

Paraffine liquide

Appareillage :

Ampoule à décantation, terminée par un corps cylindrique (diamètre 1 cm, longueur 8 cm) au-dessus du robinet.

Deux plaques de verre, dont une dotée d'un quadrillage à écartement de 2 mm. Les traits doivent être numérotés.

Filtre au kieselgur, Delta n° 325, ou équivalent, diamètre 4 cm.

Filtre, SS n° 1575 ou équivalent, diamètre 5 cm.

Bande adhésive transparente.

3.1. Déposer 100 g de l'échantillon dans un vase conique de 1 litre. Ajouter 350 ml d'eau et 50 ml d'acide chlorhydrique. Porter le mélange à ébullition, tout en le remuant, et maintenir l'ébullition pendant 1 heure. Veiller à ce qu'aucun composant solide n'adhère à la paroi du vase, au-dessus du liquide. Laisser refroidir quelque peu.

3.2. Ajouter 20 ml de paraffine, remuer énergiquement et ajouter de l'eau jusqu'à ce que la couche de paraffine se trouve dans le col du vase. Laisser reposer le vase pendant 15 min.

3.3. Remplir d'eau le corps cylindrique de l'ampoule à décantation, transvaser la paraffine et une partie du liquide aqueux dans l'ampoule à décantation. Compléter le volume du vase avec de l'eau et transvaser à nouveau dans l'ampoule à décantation. Répéter cette opération jusqu'à ce que toute la paraffine soit passée dans l'ampoule à décantation. Laisser reposer pendant 15 min.

3.4. Introduire à nouveau 5 ml de paraffine dans le vase et agiter convenablement tout le contenu. Ajouter de l'eau jusqu'à ce que la couche de paraffine se trouve dans le col du vase. Laisser reposer pendant 15 min.

1067

3.5. Laisser s'écouler l'eau de l'ampoule à décantation tout en veillant à ce que la partie cylindrique reste remplie d'eau. Transvaser ensuite, dans l'ampoule à décantation, la couche de paraffine du vase et une partie de la solution aqueuse.

3.6. Répéter deux fois les opérations 3.4 et 3.5.

3.7. Laisser à nouveau s'écouler la majeure partie de l'eau de l'ampoule à décantation, ajouter 300 ml d'eau. Agiter, puis, après avoir laissé reposer pendant 15 minutes, évacuer la plus grande partie de l'eau. Répéter cette opération jusqu'à ce que l'eau évacuée soit limpide.

3.8. Ajouter 100 ml d'éther de pétrole et 200 ml d'eau. Agiter et, après avoir laissé reposer pendant 15 minutes, évacuer l'eau jusqu'à ce qu'il n'en reste plus que quelques ml.

3.9. Sur un filtre Buchner de 4 cm de diamètre, placer un filtre au kieselguhr surmonté du filtre SS n° 1575. Faire adhérer ce dernier au pourtour de la paroi du Buchner.

3.10. Verser, par fractions de liquide de l'ampoule à décantation sur le filtre et aspirer, en couvrant le Buchner d'un verre de montre. Rincer complètement l'ampoule à décantation à l'eau et verser l'eau de rinçage sur le filtre. Rincer à quatre reprises avec 20 ml d'éthanol.

3.11. Déposer le filtre dans une boîte de Pétri et le sécher à 60° C. Imprégner le filtre par quelques gouttes de paraffine réparties sur la surface.

3.12. Placer le filtre entre les deux plaques de verre, de telle sorte que les traits de la plaque quadrillée soient directement en contact avec le filtre. Fixer les deux plaques de verre à l'aide de bandes transparentes.

3.13. Compter sous faible grossissement les insectes, les acariens, leurs fragments ainsi que les poils de rongeurs, présents sur toute la surface du filtre.

3.14. Exprimer le résultat pour 100 g de matière.

4. Recherche des antiseptiques

Liste des réactifs

— Ether acidifié : 98 vol. éther + 2 vol. d'acide acétique glacial

— Sulfate de sodium anhydre

— Solutions témoins : 1 % dans l'éthanol

— Plaques pour chromatographie en couche mince : mélanger 15 g de Kieselgel G et 15 g de Kieselgur G avec 60 ml d'une solution aqueuse à 0,02 % d'Ultraporphor. La solution d'Ultraporphor W.T. (B.A.S.F.) doit être de préparation récente (conserver dans un flacon brun). Étaler le mélange homogène sur des plaques pour chromatographie

1068

sous une épaisseur de 0,25 mm. Sécher les plaques à l'air, puis les activer par chauffage de 30 min. à 110° C

— Phase mobile : mélanger 100 vol. d'éther de pétrole, 40 vol. de chloroforme et 10 vol. d'acide formique.

— Cuve de chromatographie : saturée avec le solvant mobile.

Révélateurs

— Acide benzoïque :

a) 4,5 ml H_2O_2 (30 %)

4,5 ml d'eau

1 ml solution saturée de $Mn SO_4$

b) solution 0,3 % $Fe SO_4$

— Acide sorbique :

a) mélanger 5 vol. d'une solution aqueuse de $K_2Cr_2O_7$ 0,5 % + 5 vol. H_2SO_4 0,3 n

b) solution saturée d'acide thiobarbiturique dans l'eau

— Acide salicylique : solution de $FeCl_3$ 0,1 % dans l'eau

— Acide déhydroacétique : solution de $FeCl_3$ 0,1 % dans l'eau

— Acide bromacétique

a) mélanger 3 vol. de solution de rouge de phénol (24 mg rouge de phénol dans 2,4 ml NaOH 0,1 n, compléter à 100 ml avec acétone) et 1 vol. de solution acétate sodique (6 g d'acétate de sodium + 3 vol. d'acide acétique, compléter à 100 ml avec de l'eau)

b) solution de chloramine T : dissoudre 25 mg de chloramine T dans 15 ml d'un mélange d'acétone-eau 1 : 1

— Acide parahydroxybenzoïque et ses esters : réactif de Millon. Dissoudre 10 g mercure dans 10 g acide nitrique fumant. Ajouter 10 à 20 vol. d'eau. Eventuellement, filtrer le dépôt.

4.1. Isolement

4.1.1. Agiter 10 g d'échantillon avec 50 ml d'éther acidifié pendant 3 minutes.

4.1.2. Laisser déposer et décanter prudemment la couche éthérée sur filtre. Procéder de la même façon en prenant 30 puis 20 ml d'éther acidifié.

4.1.3. Réunir les extraits éthérés et sécher avec du sulfate de sodium anhydre. Filtrer. Evaporer jusqu'à 5 ml environ.

4.2. Identification

4.2.1. Sur la ligne de départ de la plaque chromatographique, déposer en traits de 1,5 cm de long 20 μ l de la solution obtenue. Déposer de façon identique sur un même trait 10 μ l de la solution d'acide benzoïque, 5 μ l de la solution d'acide déhydroacétique et 3 μ l des autres témoins.

1069

4.2.2. Développer la plaque avec la phase mobile jusqu'à ce que le front de solvant atteigne 15 cm au-dessus de la ligne de départ. Retirer la plaque, laisser sécher à l'air. Développer une deuxième fois de la même manière.

4.2.3. Examiner la plaque sous lumière U.V. (366 nm). Localiser les spots.

4.2.4. Révélation des chromatogrammes

Acide benzoïque : vaporiser avec la solution *a* ; sécher et vaporiser avec la solution *b*. L'acide benzoïque donne une tache brune sur fond blanc.

Acide sorbique : vaporiser avec le mélange $K_2Cr_2O_7 + H_2SO_4$, sécher la plaque à l'étuve, vaporiser la solution d'acide thiobarbiturique, chauffer à nouveau. L'acide sorbique donne une tache rose.

Acide salicylique : vaporiser avec la solution de chlorure ferrique. L'acide salicylique donne une coloration violette.

Acide déhydroacétique : vaporiser avec la solution de chlorure ferrique. L'acide déhydroacétique donne une coloration jaune sur fond blanc.

Acide monobromacétique : exposer la plaque 10 min. à des vapeurs d'ammoniaque ; chauffer 10 min. à 100° C pour éliminer l'excès d'ammoniaque. Vaporiser le mélange rouge de phénol, acétate sodique, puis directement la solution de chloramine T. L'acide monobromacétique donne une tache bleue sur fond jaune.

Acide p. hydroxybenzoïque et ses esters : vaporiser le réactif de Millon et chauffer à l'étuve. L'acide p. hydroxybenzoïque et ses esters donnent une tache rouge.

4.2.5. Remarques générales

1) Il est préférable de vaporiser les réactifs en très faible quantité. Si la réaction n'est pas suffisamment nette, chauffer à l'étuve à 100° C. Si nécessaire recommencer la vaporisation, suivie de chauffage une deuxième et même une troisième fois.

2) Vaporiser le réactif spécifique uniquement sur la zone du chromatogramme où peut se trouver l'antiseptique recherché ; couvrir le reste de la plaque.

3) Examiner les plaques sous U.V. longueur d'onde 366 nm.

5. Recherche des édulcorants synthétiques

Liste des réactifs et produits accessoires

- solution saturée de sulfate de sodium
- sulfate de sodium anhydre
- acétate d'éthyle
- éthanol p.a. 96 %
- éthanol-eau 1 : 1

1070

— acide sulfurique 4 n

— Solutions d'édulcorants synthétiques :

solution de cyclamate : dissoudre 100 mg de cyclamate de soude dans 100 ml du mélange éthanol-eau

solution de dulcine : dissoudre 100 mg de dulcine dans 100 ml d'éthanol

solution de saccharine : dissoudre 100 mg de saccharine dans 100 ml d'éthanol

Plaques pour chromatographie sur couche mince

Dans un mixer mélanger 9 g de cellulose acétylée à 10 % (MN 300 Ac Macherey-Nagel & Co) 6 g de poudre de polyamide pour chromatographie sur couche mince (Woelm ou équivalent) avec 60 ml d'éthanol jusqu'à suspension homogène.

Étendre une couche de 0,25 mm sur des plaques pour chromatographie. Laisser sécher à l'air puis 10 min. dans une étuve à 70° C. Refroidir les plaques dans un exsiccateur.

— Phase mobile : mélanger 45 vol. de Shell sol. A, (1) 6 vol. de n-propanol, 7 vol. d'acide acétique et 2 vol. d'acide formique. A préparer extemporanément. Garnir l'intérieur de la cuvette avec du papier filtre pour favoriser la saturation de l'atmosphère.

— Révélateur : dissoudre 200 mg de dichlorofluorescéine dans 100 ml d'éthanol.

5.1. Isolement

5.1.1. Agiter pendant 3 minutes 3 g de l'échantillon avec 50 ml d'acétate d'éthyle acidifié.

5.1.2. Laisser déposer et décanter prudemment la solution surnageante sur filtre. Procéder de la même façon avec 30 puis 20 ml d'acétate d'éthyle acidifié.

5.1.3. Réunir les extraits d'acétate d'éthyle et les sécher avec du sulfate de sodium anhydre. Filtrer et évaporer jusqu'à 4 ml.

5.2. Identification

5.2.1. Déposer 3 μ l de la solution obtenue sur la ligne de départ d'une plaque pour chromatographie sur couche mince.

5.2.2. Déposer ensuite 2 μ l des solutions de cyclamate, de dulcine et de saccharine sur la ligne de départ.

5.2.3. Eluer la plaque à l'aide de la phase mobile préparée extemporanément jusqu'à ce que la distance entre la ligne de départ et le front atteigne 10 cm.

(1) Le Shell sol. A est un mélange d'hydrocarbures commercialisé par Shell.

1071

5.2.4. Vaporiser le révélateur sur la plaque après évaporation de la phase mobile.

5.2.5. Examiner le chromatogramme ainsi obtenu à la lumière ultra-violette (254 nm).

6. Colorants

L'examen est effectué conformément à la Recommandation M (65) 4 du Comité de Ministres de l'Union économique Benelux relative à l'application d'une méthode de référence Benelux pour la recherche et l'identification des colorants synthétiques, solubles dans l'eau, présents dans les denrées alimentaires.

7. Degré d'acidité

Réactifs :

- solution de soude caustique 0,1 n
- éthanol 67 % vol.
- phénolphthaléine : solution éthanolique à 1 %.

7.1. Mélanger pendant 5 minutes 10 g de l'échantillon avec 50 ml d'alcool neutralisé au préalable par la solution NaOH 0,1 n en présence de phénolphthaléine. Filtrer ensuite sur filtre plissé de 15 cm de diamètre, l'entonnoir étant couvert. Pipeter dès que possible 25 ml du filtrat, les transférer dans un vase conique de 100 ml. Après addition de 3 gouttes de phénolphthaléine, titrer par la solution de NaOH jusqu'à coloration rose.

7.2. Le nombre de ml de la solution de NaOH 0,1 n utilisé, multiplié par 2, donne le degré d'acidité.

8. Nature de l'amidon

8.1. Déposer quelques granulés ou une petite quantité de la denrée à examiner, sur une lame porte-objet. Ajouter une goutte d'eau, mélanger avec une baguette. Recouvrir le mélange d'un couvre-objet et examiner la préparation au microscope.

9. Dosage du sulfite dans l'amidon de maïs

Réactifs :

- Méthanol
- Azote en bonbonne
- Eau oxygénée 3 % p/p (fraîchement préparée)
- Acide chlorhydrique 4n
- Bleu de bromo-phénol 0,1 % (p/v) dans 20 % (v/v) d'éthanol
- Solution d'hydroxyde de sodium 0,1000 n
- Solution de chlorure de baryum 0,01 M

1072

— Solution tampon : dissoudre 10 g du complexe magnésium EDTA dipotassique dans 200 ml d'eau et mélanger avec une solution de 70 g de chlorure d'ammonium dans 1800 ml d'ammoniaque 25 % (p/p) (EDTA = éthylène diamine N.N'-tétra acétique)

— Solution EDTA 0,0200 M ; dissoudre 7,444 g de sel disodique de EDTA dans de l'eau et compléter à 1000 ml. Soit le titre t_k .

— Solution de Noir d'Eriochrome-T : dissoudre 0,5 g de noir d'Eriochrome-T et 4,5 g de chlorhydrate d'hydroxylamine dans 100 ml d'éthanol à 96 % (v/v)

(Cette solution se conserve pendant trois semaines).

Appareillage

Appareil de distillation du SO_2 (voir figure page 1074) constitué de 5 parties.

A est un ballon de 1 litre comportant deux cols rodés B 34.

D est un récipient de 25 ml ; le gaz peut s'échapper par un bulbe perforé. La pièce de connexion E est pourvue de parties rodées B 12,5 et B 19. Toutes les pièces rodées sont rendues étanches à l'aide, de graisse de silicone et verrouillées par des ressorts.

Plaque chauffante électrique avec agitateur magnétique.

9.1. Dans le ballon, déposer un petit agitateur magnétique, quelques grains de pierre ponce et 50 ml de méthanol. Pendant 15 min., au moins, faire passer dans tout l'appareil un courant régulier d'azote d'environ 100 ml/min. A l'aide d'un cylindre gradué, introduire 10 ml d'eau oxygénée dans le récipient-collecteur (D).

9.2. Dans un bécher de 600 ml, peser, à 0,1 g près, 100 g de la denrée. Ajouter 100 ml de méthanol et remuer jusqu'à obtenir une suspension homogène. Sans interrompre le courant de gaz, introduire cette suspension dans le ballon par l'entonnoir doseur.

Laver à plusieurs reprises le bécher et l'entonnoir à l'aide de 75 ml de méthanol et de 50 ml d'eau distillée au total. Tenir la suspension en mouvement au moyen de l'agitateur magnétique.

Ajouter ensuite par l'entonnoir doseur 40 ml d'acide chlorhydrique et mettre en marche le réfrigérant.

Chauffer le ballon de telle sorte que son contenu soit fortement et régulièrement en ébullition. Poursuivre l'ébullition pendant une heure tout en introduisant constamment du gaz.

9.3. Transférer le contenu du récipient-collecteur quantitativement avec un peu d'eau distillée dans un vase conique de 300 ml. Faire bouillir le contenu du vase conique pendant 15 min.

Après refroidissement, ajouter trois gouttes de bleu de bromo-phénol et titrer à l'aide de la solution d'hydroxyde de sodium (nombre de ml utilisés = a).

1073

Après 15 min. d'ébullition et refroidissement, effectuer une titration à blanc de 10 ml d'eau oxygénée (nombre de ml utilisés = b).

9.4. Faire bouillir pendant 5 minutes la solution obtenue après la titration alcalimétrique ; à l'aide d'une pipette, ajouter 10,00 ml de la solution de chlorure de baryum au liquide bouillant. Poursuivre l'ébullition pendant une minute encore et placer le ballon pendant 1 heure au bain-marie bouillant.

Refroidir et ajouter de l'eau jusqu'à ce que le volume atteigne environ 100 ml.

9.5. Ajouter successivement 4 ml de solution tampon, 0,5 ml d'acide chlorhydrique et 7 gouttes de noir Eriochrome-T.

Titre immédiatement avec la solution EDTA à l'aide d'une micro-burette jusqu'à ce que le liquide soit d'un bleu pur. (Nombre de ml utilisés = c).

Exécuter une titration à blanc de 10 ml de chlorure de baryum. (Nombre de ml utilisés = d).

9.6. Calculer la teneur en sulfite G de la denrée, à l'aide de la titration alcalimétrique par la formule :

$$G = \frac{(a-b) \cdot t \cdot 32.1000}{g} \text{ mg SO}_2/\text{kg}$$

ou à l'aide de la titration complexo-métrique, par la formule :

$$G = \frac{(d-c) \cdot t_k \cdot 64.1000}{g} \text{ mg SO}_2/\text{kg}$$

t_1 = titre de la solution d'hydroxyde de sodium

t_k = titre de la solution EDTA

10. Examen microbiologique

10.1. Moisissures

Cette méthode fera l'objet d'un complément à la présente Recommandation.

1074

