

1197

AANBEVELING

**van het Comité van Ministers van de Benelux Economische Unie
inzake de toepassing van de Benelux-Referentie-Methoden
van onderzoek, behorende bij de Aanbeveling M (68) 19
inzake de harmonisatie der wetgevingen betreffende
thee, thee-extract, maté en theesurrogaten**

M (69) 29

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
29 januari 1968 inzake de harmonisatie der wetgevingen betref-
fende thee, thee-extract, maté en theesurrogaten, M (68) 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 voedingsmiddelentoezicht 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 thee, thee-extract, maté en thee-
surrogaten vóór 1 maart 1970 in hun wetgeving op te nemen als
enig geldige referentiemethoden.

Gedaan te Brussel, op 23 december 1969.

De Voorzitter van het Comité van Ministers,

H. FAYAT

ANALYSEMETHODE
behorende bij Aanbeveling M (68) 19 inzake
thee, thee-extract, maté en theesurrogaten
M (69) 29, Bijlage

1. VOCHT

1.1. Weeg nauwkeurig 5-10 gram van de tot poeder gebrachte waar af in een weegdoosje met platte bodem en goed sluitend deksel.

1.2. Droog bij 102-105° C tot het gewichtsverlies tussen twee wegingen, verricht met een tussenpoos van 45 minuten, minder dan 5 mg bedraagt.

1.3. Het gewichtsverlies berekend op 100 g is het watergehalte.

2. AS

Reagentia

— Zwavelzuur 94-96 gew. % ; s.g. 1,837-1,840

— Ammoniumcarbonaat, vast.

2.1. Weeg in een getarreerde kroes, nauwkeurig 5-10 gram van de tot poeder gebrachte waar af.

2.2. Meng met water aan tot een papje ; voeg 1 ml zwavelzuur toe en meng opnieuw.

2.3. Verhit voorzichtig ter verwijdering van het water en de overmaat zwavelzuur en gloei. Laat afkoelen. Voeg aan de as enkele druppels zwavelzuur toe en gloei opnieuw.

2.4. Voeg gedurende het gloeien enig ammoniumcarbonaat toe. Laat afkoelen en weeg.

2.5. Bereken het asgehalte door de gevonden sulfaat uitgedrukt per 100 g waar te vermenigvuldigen met 8/9.

3. IN ZOUTZUUR ONOPLOSBAAR AS

Reagentia

— Zoutzuur 4 n.

3.1. Trek de volgens 2 verkregen as uit met warm zoutzuur door 10 minuten te koken. Filtreer door een asvrij filter en was uit tot zuurvrij. Veras het filter en gloei.

3.2. Laat afkoelen in een exsiccator en weeg. Herhaal gloeien en afkoelen totdat het verschil tussen twee opeenvolgende wegingen minder dan 1 mg bedraagt.

3.3. Druk het resultaat uit in gewichtsprocent van de waar.

4. IN WATER ONOPLOSBAAR AS

Trek de volgens 2. verkregen as uit met warm water.

Filtreer het in water onoplosbare deel door een asvrij filter. Veras het filter met inhoud, gloei en weeg. Druk het resultaat uit in gewichtsprocent van de waar.

5. EXTRACT EN DROGE STOF

5.1. Voor waren die uit bladeren bestaan

5.1.1. Weeg nauwkeurig 5 g van de waar af in een bekerglas en voeg 750 ml water toe.
Kook vervolgens 15 minuten.

5.1.2. Decanteer warm door een vooraf gedroogd en gewogen filter.

5.1.3. Kook de in het bekerglas achtergebleven rest opnieuw gedurende 15 minuten met 750 ml water en decanteer weer warm.
Herhaal deze bewerking in totaal viermaal.
Verzamel bij de laatste filtratie de bladeren op het filter.

5.1.4. Droog het filter met inhoud bij 102-105°C tot constant gewicht.

5.1.5. Het gewichtsverlies der waar, vermenigvuldigd met 20 en verminderd met het vochtgehalte der waar geeft het extract in percenten aan.

5.2. Voor droge extracten

5.2.1. Bereken het gehalte aan droge stof door 100 te verminderen met het percentage water, bepaald volgens 1.

6. VUILPROEF (FILTH-TEST)

Reagentia

- Zoutzuur, 4 n.
- Ethanol, 96 vol. %.

- Petroleumether, kooktraject 40-60° C.
- Vloeibare paraffine.

Instrumenten

- Scheitrechter, eindigend in een cylindervormig 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.
- Kieselgurfilter, Delta nr. 325, of gelijkwaardig, diameter 4 cm.
- Filter, SS nr 1575 of gelijkwaardig, diameter 5 cm.
- Doorzichtig plakband.

6.1. Breng 25 g thee in een konische kolf van 1 liter. 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.

6.2. 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.

6.3. Vul het cylindervormige 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.

6.4. 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.

6.5. Laat het water uit de scheitrechter wegglopen er voor zorgdragend, dat het cylindervormige gedeelte met water gevuld blijft. Giet vervolgens de paraffinelaag uit de kolf en een deel van de waterige oplossing in de scheitrechter.

6.6. Herhaal de bewerkingen 6.4. en 6.5. nog tweemaal.

6.7. Laat wederom het grootste deel van het water uit de scheitrechter wegglopen 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.

6.8. 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.

6.9. Leg in een Buchnertrechter van 4 cm diameter een kieselgur-filter en daarop het filter SS nr 1575. Laat de rand hiervan tegen de wand van de Buchnertrechter aansluiten.

6.10. Breng de vloeistof uit de scheitrechter bij gedeelten op het filter en zuig af. Bedek de Buchnertrechter hierbij met een horloge-glas. Was de scheitrechter met water geheel schoon en breng het waswater op het filter.

Was tenslotte viermaal met 20 ml ethanol.

6.11. Breng het filter over in een Petrischaal en droog het hierin, afgedekt, bij 60° C. Bevochtig het filter met enige druppels paraffine en laat deze zich over het gehele oppervlak uitbreiden.

6.12. 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.

6.13. Tel onder zwakke vergroting het aantal insecten, mijten en de fragmenten hiervan alsmede het aantal haren van knaagdieren voorkomend op het gehele filter.

6.14. Geef de uitkomst op per 25 g onderzocht materiaal.

7. CAFFEINE

Reagentia

— IJsazijn.

— Aangezuurde waterstofperoxyde-oplossing: voeg aan 100 ml waterstofperoxyde 3 % 1 ml ijsazijn toe.

— Kaliumpermanganaatoplossing 1 %.

— Chloroform.

— Paraffine, vast.

— Tetrachloorkoolstof.

7.1. In thee

7.1.1. Weeg in een bekglas nauwkeurig 15 g gemalen thee af. Meng met ongeveer 7,5 ml water.

7.1.2. Breng na ongeveer 1 à 2 uur het mengsel over in een extractiehuls en extraheer met tetrachloorkoolstof.

7.1.3. Voeg aan het extract 1 gram vaste paraffine toe en destilleer de tetrachloorkoolstof af.

7.1.4. Kook het residu met 50 ml water gedurende ongeveer een halve minuut op een asbestplaat. Filtreer het extract na afkoelen, door een vochtig filter.

7.1.5. Herhaal deze bewerking driemaal, telkens met 25 ml water. Was het filter na met 75 ml kokend water.

7.1.6. Voeg bij het afgekoelde filtraat 30 ml kaliumpermanganaat-oplossing. Laat $\frac{1}{4}$ uur staan.

7.1.7. Voeg druppelsgewijze aangezuurde waterstofperoxide-oplossing toe totdat de overmaat kaliumpermanganaat als MnO_2 is neergeslagen. Verwarm de vloeistof een kwartier op een kokend waterbad en filtreer warm. Was het filter en neerslag uit met 75 ml warm water.

7.1.8. Damp het filtraat in een glazen schaal op een waterbad in tot droog. Droog nog een kwartier bij $100^\circ C$. Het residu wordt daarna onmiddellijk uitgetrokken met warme chloroform.

7.1.9. Filtreer het chloroformextract in een getareerde kolf en destilleer de chloroform af. Droog het residu gedurende een half uur bij $102-105^\circ C$ en weeg.

7.2. In extracten

7.2.1. Extraheer met tetrachloorkoolstof 50 ml extract (droge extracten worden met water in een geschikte oplossing gebracht) in een perforator.

Destilleer de tetrachloorkoolstof af.

7.2.2. Vervolg de bepaling als aangegeven in 7.1.4. en volgende.

8. IN WATER OPLOSBAAR KOOLHYDRAAT (in thee-extract-poeder met koolhydraten)

Reagentia

- Zoutzuur, 30 %
- Natriumhydroxide-oplossing, 4 n
- Kaliumjodide
- Zwavelzuur, 25 gew. %
- Natriumthiosulfaat, 0,1 n
- Zelmeel-oplossing, 1 %

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

- a. 25 g kopersulfaat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) in 100 ml water;
- b. 388 g natriumcarbonaat ($\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) in 300 à 400 ml water;

c. 50 g citroenzuur ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 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. Weeg nauwkeurig 3-4 g van de waar af in een konische kolf van 200 ml. Los op in 50 ml water en voeg toe 5 ml zoutzuur. Plaats een terugvloeikoeler op de kolf en kook gedurende 1 uur onder terugvloeikoeling.

8.2. Laat afkoelen en neutraliseer met natriumhydroxide-oplossing. Breng de oplossing over in een maatkolf van 100 ml, vul met gedestilleerd water aan tot de maatstreep en meng. Filtreer de oplossing eventueel door een vouwfilter.

8.3. Pipetteer 25 ml van het reagens volgens Luff-Schoorl en een aangepaste hoeveelheid van de onder 8.2. verkregen oplossing in een konische kolf van 300 ml. Voeg zoveel water toe, dat het totale volume 50 ml bedraagt. 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 bevat).

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 zetmeeloplossing toe.

8.5. Voer op dezelfde wijze een blancotitratie uit, waarbij de suikeroplossing vervangen is door 25 ml water.

8.6. Bereken op de volgende wijze het gehalte aan in water oplosbaar koolhydraat. Verminder het aantal ml 0,1 n natriumthiosulfaat, verbruikt bij de blancotitratie met het aantal ml 0,1 n natriumthiosulfaat, verbruikt bij de bepaling.

Bepaal met behulp van de tabel volgens Luff-Schoorl de hoeveelheid glucose, die overeenkomt met dit verschil (= m mg).

Stel n = ml van de in 8.3. gebruikte suikeroplossing

p = gewicht in g van de afgewogen waar.

Het gehalte aan in water oplosbaar koolhydraat, uitgedrukt in gewichtsprocenten, glucose is

$$\frac{10 \text{ m}}{n.p}$$

8.7. Tabel volgens Luff-Schoorl: zie blz. 1205 - 1207.

9. MICROBIOLOGISCH ONDERZOEK

Bij macroscopisch onderzoek mogen op het oppervlak van de thee geen schimmelen zichtbaar zijn.

8.7. Tabel volgens Luff-Schoorl

Suikerbepaling volgens Luff-Schoorl

Glucose - Fructose - Invertsuiker

8.7. Table selon Luff-Schoorl

Recherche du sucre selon Luff-Schoorl

Glucose - Fructose - Sucre interverti

A nl	Tiende ml thio/Dixième de ml thio									B
thio	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	240	264	288	312	336	360	384	408	432	456
2	480	504	528	552	576	600	624	648	672	696
3	720	745	770	795	820	845	870	895	920	945
4	970	995	1020	1045	1070	1095	1120	1145	1170	1195
5	1220	1245	1270	1295	1320	1345	1370	1395	1420	1445
6	1470	1495	1520	1545	1570	1595	1620	1645	1670	1695
7	1720	1746	1772	1798	1824	1850	1876	1902	1928	1954
8	1980	2006	2032	2058	2084	2110	2136	2162	2188	2214
9	2240	2266	2292	2318	2344	2370	2396	2422	2448	2474
10	2500	2526	2552	2578	2604	2630	2656	2682	2708	2734
11	2760	2787	2814	2841	2868	2895	2922	2949	2976	3003
12	3030	3057	3084	3111	3138	3165	3192	3219	3246	3273
13	3300	3327	3354	3381	3408	3435	3468	3489	3516	3543
14	3570	3598	3626	3654	3682	3710	3738	3766	3794	3822
15	3850	3878	3906	3934	3962	3990	4018	4046	4074	4102
16	4130	4159	4188	4217	4246	4275	4304	4333	4362	4391
17	4420	4449	4478	4507	4536	4565	4594	4623	4652	4681
18	4710	4739	4768	4797	4826	4855	4884	4913	4942	4971
19	5000	5030	5060	5090	5120	5150	5180	5210	5240	5270
20	5300	5330	5360	5390	5420	5450	5480	5510	5540	5570
21	5600	5631	5662	5693	5724	5755	5786	5817	5848	5879
22	5910	5941	5972	6003	6034	6065	6096	6127	6158	6189
23	6220	6251	6282	6313	6344	6375	6406	6437	6468	6499
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9

Honderdste ml thio/Centièmes de ml thio

C

1	2	3	4	5	6	7	8	9
2	5	7	10	12	14	17	19	22
2	5	7	10	12	14	17	19	22
3	5	8	10	13	15	18	20	23
3	5	8	10	13	15	18	20	23
3	5	8	10	13	15	18	20	23
3	5	8	10	13	15	18	20	23
3	5	8	10	13	16	18	21	23
3	5	8	10	13	16	18	21	23
3	5	8	10	13	16	18	21	23
3	5	8	10	13	16	18	21	23
3	5	8	11	14	16	19	22	24
3	5	8	11	14	16	19	22	24
3	5	8	11	14	16	19	22	24
3	6	8	11	14	17	20	22	25
3	6	8	11	14	17	20	22	25
3	6	9	12	15	17	20	23	26
3	6	9	12	15	17	20	23	26
3	6	9	12	15	17	20	23	26
3	6	9	12	15	18	21	24	27
3	6	9	12	15	18	21	24	27
3	6	9	12	16	19	22	25	28
3	6	9	12	16	19	22	25	28
3	6	9	12	16	19	22	25	28
1	2	3	4	5	6	7	8	9

Voor gebruiksaanwijzing :
zie blz. 1207.

Pour le mode d'emploi :
voir page 1207.

Gebruiksaanwijzing

Zoek in de kolom links het aantal hele ml thio 1/10 N dat bij de titratie gevonden wordt, en onder het hoofd « tiende ml thio » het aantal tiende ml.

Lees de waarde die zich op het snijpunt van de corresponderende banen bevindt af. Zoek vervolgens rechts boven het aantal honderste ml thio dat getitreerd werd en lees de corresponderende hoeveelheid suiker af op het snijpunt met de baan die het gehele aantal ml aangaf. Tel de beide aldus verkregen waarden op en deel door honderd. De uitkomst geeft de gevraagde hoeveelheid suiker in milligrammen.

Voorbeeld : titratiecijfer : 5,23 ml

$$\text{Hoeveel suiker : } \frac{1270 + 8}{100} = 12,78 \text{ mg}$$

Mode d'emploi

Repérer, dans la colonne A, le nombre entier de ml de thio 1/10 N trouvé lors de la titration et, sous B le nombre de dixièmes de ml.

Noter la valeur figurant à l'intersection des séries horizontale et verticale de chiffres. Repérer ensuite, sous C, le nombre de centièmes de ml de thio titrés ; noter la quantité de sucre figurant à l'intersection de la colonne des centièmes et de la ligne horizontale des ml entiers. Additionner les deux valeurs trouvées et diviser par cent. Le résultat donne, en milligrammes, la quantité de sucre recherchée.

Exemple : chiffre de titration : 5,23 ml

$$\text{Quantité de sucre : } \frac{1270 + 8}{100} = 12,78 \text{ mg}$$