
**Corps gras d'origines animale et
végétale — Équivalents au beurre de
cacao dans le beurre de cacao et dans le
chocolat de ménage —**

Partie 1:

**Détermination de la présence
d'équivalents au beurre de cacao**

*Animal and vegetable fats and oils — Cocoa butter equivalents in cocoa
butter and plain chocolate —*
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/86cd9763-181f-4a49-82f1-70a727c00000/iso-23275-1-2006>
Part 1: Determination of the presence of cocoa butter equivalents



PDF – Exonération de responsabilité

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 23275-1:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/86ed9763-181f-4a49-82f1-7d8a72176cde/iso-23275-1-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/86ed9763-181f-4a49-82f1-7d8a72176cde/iso-23275-1-2006>

© ISO 2006

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie et les microfilms, sans l'accord écrit de l'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax. + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
Introduction	v
1 Domaine d'application	1
2 Termes et définitions	1
3 Principe	1
4 Réactifs et matériaux	1
5 Appareillage	2
6 Échantillonnage	3
7 Préparation de l'échantillon pour essai	3
7.1 Préparation du MRC beurre de cacao pour étalonnage et vérification de l'aptitude du système	3
7.2 Préparation de l'échantillon de chocolat	3
8 Mode opératoire	3
8.1 Extraction de la matière grasse	3
8.2 Séparation des triacylglycérols individuels par HR-GC	3
8.3 Identification	4
9 Calculs	4
9.1 Détermination des facteurs de réponse	4
9.2 Calcul des pourcentages des triacylglycérols	4
9.3 Décision relative à la pureté en beurre de cacao de l'échantillon	5
10 Exigences du mode opératoire	5
10.1 Considérations générales	5
10.2 Aptitude du système	5
11 Fidélité	6
11.1 Essai interlaboratoires	6
11.2 Répétabilité	6
11.3 Reproductibilité	6
12 Rapport d'essai	6
Annexe A (informative) Résultats d'un essai interlaboratoires	7
Bibliographie	13

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 en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO 23275-1 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 11, *Corps gras d'origines animale et végétale*. (standards.iteh.ai)

L'ISO 23275 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Corps gras d'origines animale et végétale* — *Équivalents au beurre de cacao dans le beurre de cacao et dans le chocolat de ménage*:

- *Partie 1: Détermination de la présence d'équivalents au beurre de cacao*
- *Partie 2: Quantification des équivalents au beurre de cacao*

Introduction

L'expression «équivalents au beurre de cacao» est l'expression générale désignant les matières grasses employées pour remplacer le beurre de cacao dans le chocolat. Leur composition chimique et leurs propriétés physiques ressemblent très fortement à celles du beurre de cacao, ce qui les rend extrêmement difficiles à quantifier et même, dans certains cas, à détecter. En principe, les équivalents au beurre de cacao doivent par définition être des matières grasses pauvres en acide laurique, riches en triacylglycérols monoinsaturés symétriques de type 1,3-dipalmitoyl-2-oléoyl-glycérol, 1-palmitoyl-2-oléoyl-3-stéaroyl-glycérol et 1,3-distéaroyl-2-oléoyl-glycérol, miscibles avec le beurre de cacao, et obtenues uniquement par raffinage et fractionnement.

Dans l'Union Européenne, les matières grasses végétales suivantes, obtenues à partir des plantes énumérées ci-dessous, peuvent être utilisées isolément ou en mélanges, conformément à la Directive 2000/36/CE [1]:

- illipé, suif de Bornéo ou tengkawang (*Shorea* spp.),
- huile de palme (*Elaeis guineensis*, *Elaeis olifera*),
- sal (*Shorea robusta*),
- karité (*Butyrospermum parkii*),
- kokum gurgi (*Garcinia indica*), et
- noyaux de mangue (*Mangifera indica*).

iTech STANDARD PREVIEW
(standards.itech.ai)

ISO 23275-1:2006

<https://standards.itech.ai/catalog/standards/sist/86ed9763-181f-4a49-82f1-7d8a72176cde/iso-23275-1-2006>

La présente partie de l'ISO 23275 spécifie un mode opératoire pour la détection de ces matières grasses (seules existent des restrictions pour les échantillons de graisse d'illipé pure) dans le beurre de cacao et dans le chocolat de ménage. L'ISO 23275-2 spécifie un mode opératoire permettant de réaliser une quantification fiable de ces matières grasses au taux de 5 %, valeur conforme à la limite statutaire fixée par la Directive 2000/36/CE [1] du Parlement européen et du Conseil.

Pour faciliter l'utilisation de ces deux parties de l'ISO 23275, une boîte à outils d'analyse, nommée «CoCal-1», a été créée. «CoCal-1» contient, en tête des méthodes validées de détection (partie 1) et de quantification (partie 2) des équivalents au beurre de cacao dans le chocolat de ménage, un matériau de référence certifié de beurre de cacao (IRMM-801) permettant d'étalonner les instruments, et une fiche d'évaluation électronique Microsoft Excel® permettant de calculer le résultat final. L'analyste chargé de la détection et de la quantification des équivalents au beurre de cacao n'a plus qu'à étalonner le système de séparation par chromatographie en phase gazeuse à l'aide du matériau de référence certifié IRMM-801, séparer les fractions de triglycéride de l'échantillon en question, et utiliser la fiche d'évaluation électronique pour le traitement des données afin de détecter et de quantifier les équivalents au beurre de cacao.

Des informations sur le «CoCal-1» peuvent être trouvées sur le site Internet de l'*Institute for Reference Materials and Measurements*: <http://www.irmm.jrc.be>.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 23275-1:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/86ed9763-181f-4a49-82f1-7d8a72176cde/iso-23275-1-2006>

Corps gras d'origines animale et végétale — Équivalents au beurre de cacao dans le beurre de cacao et dans le chocolat de ménage —

Partie 1:

Détermination de la présence d'équivalents au beurre de cacao

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 23275 spécifie un mode opératoire permettant la détection des équivalents au beurre de cacao (EBC) dans le beurre de cacao (BC) et le chocolat de ménage par analyse chromatographique en phase gazeuse/liquide capillaire haute résolution (HR-GC) des triacylglycérols, et l'évaluation ultérieure des données par analyse de régression.

La méthode s'applique à la détection de 2 % d'EBC incorporés dans du beurre de cacao, proportion correspondant à environ 0,4 % d'EBC dans le chocolat (dans l'hypothèse d'un taux de matières grasses de ce dernier égal à 30 %).

2 Termes et définitions

ISO 23275-1:2006

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/86cd9763-181f-4a49-82f1-](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/86cd9763-181f-4a49-82f1-7d8a72176cde/iso-23275-1-2006)

Pour les besoins de la présente Norme internationale, les termes et définitions suivants s'appliquent.

2.1

équivalents au beurre de cacao

EBC

matières grasses détectées dans le beurre de cacao et le chocolat de ménage conformément au mode opératoire recommandé dans la présente partie de l'ISO 23275

NOTE Le résultat est exprimé sous forme qualitative, à savoir EBC présents/EBC absents (OUI/NON).

3 Principe

Le beurre de cacao, ou la matière grasse obtenue au moyen d'une extraction par solvant à partir de chocolat de ménage, est séparé en fractions de triacylglycérols par HR-GC en fonction de la masse moléculaire et du degré d'insaturation de ceux-ci. La présence d'EBC est détectée par une analyse de régression linéaire effectuée sur les fractions de triacylglycérols individuels issus de la matière grasse analysée.

4 Réactifs et matériaux

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique reconnue, sauf indication contraire.

AVERTISSEMENT — L'attention des lecteurs est attirée sur les règles qui régissent la manipulation des produits dangereux. Les mesures de sécurité sur les plans technique, organisationnel et personnel doivent être suivies.

4.1 Matériau de Référence Certifié (MRC) beurre de cacao IRMM-801 [2], pour étalonnage et vérification de l'aptitude du système.

4.2 Solvant d'extraction, solvants non chlorés, par exemple éther diéthylique, *n*-heptane, iso-octane.

5 Appareillage

5.1 Balance d'analyse, avec une précision de lecture de 0,1 mg.

5.2 Étuve à dessiccation, maintenue à 55 °C

Il est possible d'utiliser un bloc chauffant à chaleur sèche.

5.3 Robot ménager, c'est-à-dire un appareil de cuisine dont le moteur est situé au-dessus du récipient collecteur afin d'éviter de faire fondre les échantillons¹⁾.

5.4 Évaporateur rotatif

D'autres méthodes d'évaporation peuvent être employées.

5.5 Pipettes, de 1 ml de capacité.

5.6 Fioles jaugées, de 20 ml de capacité.

5.7 Microseringue, volume maximal de 10 µl avec graduations de 0,1 µl, ou **échantillonneur automatique**.

5.8 Chromatographe en phase gazeuse (GC), équipé d'un système d'injection à froid sur colonne et d'un détecteur à ionisation de flamme (FID).

D'autres systèmes d'injection, par exemple un injecteur à débit divisé, un vaporisateur à température programmée (VTP), ou un injecteur à aiguille mobile, peuvent être employés à condition que soient obtenus les mêmes résultats que ceux indiqués en 10.2.

La séparation et la détection se sont avérées satisfaisantes en suivant les conditions expérimentales ci-dessous:

- colonne GC: 25 m à 30 m de longueur, avec un diamètre intérieur de 0,25 mm, en silice fondue revêtue de poly(phénylméthylsiloxane) 50 % thermostable, sous forme d'un film d'épaisseur 0,1 µm à 0,15 µm;
- programmation de température: 30 °C/min de 100 °C (température initiale) à 340 °C (température finale);
- gaz vecteur: hélium ou hydrogène (pureté ≥ 99,999 %).

NOTE Des types de colonnes appropriés ainsi que d'autres conditions expérimentales, utilisés lors d'une étude comparative interlaboratoires internationale, sont énumérés dans l'Annexe A. Il est possible de modifier les conditions de fonctionnement en vue d'obtenir une séparation optimale des triacylglycérols du beurre de cacao.

5.9 Système de traitement des données chromatographiques.

1) Philips HR 2833 est un exemple de produit disponible sur le marché.

Cette information est donnée par souci de commodité à l'intention des utilisateurs de la présente partie de l'ISO 23275 et ne saurait constituer un engagement de l'ISO à l'égard de ce produit

6 Échantillonnage

Il convient qu'un échantillon représentatif ait été envoyé au laboratoire et qu'il n'ait pas été endommagé ou modifié au cours du transport ou du stockage.

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode indiquée dans la présente partie de l'ISO 23275. Une méthode d'échantillonnage recommandée est indiquée dans l'ISO 5555.

7 Préparation de l'échantillon pour essai

7.1 Préparation du MRC beurre de cacao pour étalonnage et vérification de l'aptitude du système

Avant d'ouvrir et d'utiliser le MRC beurre de cacao (4.1), l'ampoule doit être chauffée dans une étuve à dessiccation (5.2) jusqu'à ce que son contenu ait fondu. À l'obtention d'une solution limpide, mélanger le contenu de l'ampoule par retournements successifs pendant au moins 20 s, l'ouvrir et en verser le contenu dans un flacon propre pouvant être hermétiquement fermé et conservé au froid en vue d'une utilisation ultérieure.

7.2 Préparation de l'échantillon de chocolat

Réfrigérer environ 200 g de chocolat jusqu'à ce qu'il soit dur, puis le réduire en fins copeaux à l'aide d'un dispositif mécanique (5.3). Bien mélanger et conserver au froid dans un flacon soigneusement fermé par un bouchon.

8 Mode opératoire

8.1 Extraction de la matière grasse

ISO 23275-1:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/86ed9763-181f-4a49-82f1-7d8a72176cde/iso-23275-1-2006>

Séparer la matière grasse à partir de 10 g à 40 g de chocolat râpé (de la façon décrite en 7.2) par extraction à l'aide de deux ou trois portions de 100 ml d'un solvant d'extraction (4.2). Centrifuger et laisser décanter. Réunir les extraits, évaporer (5.4) l'essentiel du solvant d'extraction, puis sécher le résidu sous courant d'azote.

D'autres méthodes d'extraction peuvent être employées, en utilisant par exemple un extracteur de Soxhlet, le dioxyde de carbone supercritique ou les micro-ondes, à condition que les mêmes résultats soient obtenus.

8.2 Séparation des triacylglycérols individuels par HR-GC

Les échantillons d'essai [beurre de cacao, matière grasse extraite du chocolat, MRC beurre de cacao (4.1)] doivent être chauffés dans une étuve à dessiccation (5.2) jusqu'à ce qu'ils aient complètement fondu. Si l'échantillon liquide contient des sédiments, filtrer l'échantillon à l'intérieur de l'étuve afin d'obtenir un filtrat limpide. Il convient que les pipettes (ou tout instrument du même type) servant à transférer l'échantillon lors des opérations de pesée soient amenées à une température d'environ 55 °C dans une étuve à dessiccation (5.2) afin d'éviter un fractionnement partiel des matières grasses.

Peser environ 0,2 g d'échantillon d'essai dans une fiole jaugée de 20 ml (5.6) et compléter au volume avec un solvant d'extraction approprié (4.2). Transférer à la pipette (5.5) 1 ml de la solution résultante dans une autre fiole jaugée de 20 ml et compléter au volume avec le même solvant.

Injecter 0,5 µl à 1,0 µl de la solution d'essai finale ($\rho_{\text{mg}} = 0,5 \text{ mg/ml}$) dans le système HR-GC à l'aide du dispositif d'injection à froid sur colonne.

D'autres quantités d'échantillon et injecteurs peuvent être employés à condition que le système de détection utilisé fournisse une réponse linéaire et que les critères d'aptitude du système (10.2) soient remplis.

8.3 Identification

L'identification des cinq fractions principales de triacylglycérols [le 1,3-dipalmitoyl-2-oléoylglycérol (POP), le 1-palmitoyl-2-oléoyl-3-stéaroylglycérol (POS), le 1-palmitoyl-2,3-dioléoyl-glycérol (POO), le 1,3-distéaroyl-2-oléoylglycérol (SOS), et le 1-stéaroyl-2,3-dioléoyl-glycérol (SOO)] se fait en comparant les temps de rétention des échantillons d'essai avec ceux du MRC beurre de cacao (4.1). En général, l'ordre d'apparition des triacylglycérols suit un nombre d'atomes de carbone croissant et, pour un même nombre d'atomes de carbone, un degré d'insaturation croissant. L'ordre d'éluion des triacylglycérols du MRC beurre de cacao est indiqué dans le chromatogramme servant d'exemple (Figure A.1).

9 Calculs

9.1 Détermination des facteurs de réponse

Déterminer les facteurs de réponse pour les triacylglycérols POP, POS, POO, SOS et SOO en injectant la solution du MRC beurre de cacao et en utilisant des conditions expérimentales identiques à celles utilisées pour les échantillons. Calculer le pourcentage surfacique de chacune des cinq fractions de triacylglycérols à partir des équations suivantes:

$$P_{ref,i} = \frac{A_{ref,i}}{\sum A_{ref,i}} \times 100 \% \tag{1}$$

$$F_i = \frac{w_{ref,i}}{P_{ref,i}} \tag{2}$$

où

$P_{ref,i}$ est le pourcentage surfacique du triacylglycérol i dans le MRC beurre de cacao;

$A_{ref,i}$ est la surface du pic du triacylglycérol i dans le MRC beurre de cacao;

$\sum A_{ref,i}$ est la somme des surfaces des pics attribués à POP, POS, POO, SOS, SOO dans le MRC beurre de cacao;

F_i est le facteur de réponse du détecteur pour le triacylglycérol i dans le MRC beurre de cacao;

$w_{ref,i}$ est le pourcentage massique du triacylglycérol i dans le MRC beurre de cacao tel qu'indiqué dans le certificat [2].

Noter les résultats avec une précision de deux décimales.

9.2 Calcul des pourcentages des triacylglycérols

Calculer les pourcentages des triacylglycérols POP, POS et SOS dans l'échantillon d'essai à partir de l'équation

$$w_{test,i} = \frac{F_i \times A_{test,i}}{\sum (F_i \times A_{test,i})} \times 100 \% \tag{3}$$

où

$w_{test,i}$ est le pourcentage massique du triacylglycérol i dans l'échantillon d'essai;

$A_{test,i}$ est la surface du pic correspondant au triacylglycérol i dans l'échantillon d'essai;

F_i est le facteur de réponse tel que défini en 9.1.

Noter les résultats avec une précision de deux décimales.

9.3 Décision relative à la pureté en beurre de cacao de l'échantillon

La variabilité de la composition en triacylglycérols du beurre de cacao est exprimée par l'Équation (4) en utilisant les triacylglycérols normalisés, c'est-à-dire % POP + % POS + % SOS = 100 %, tels que définis dans l'Équation (3):

$$\text{POP} = 43,734 - 0,733 \times \text{SOS} \quad (\text{écart-type résiduel} = 0,125) \quad (4)$$

Le principe de la méthode est que, pour les échantillons de beurre de cacao, la proportion de POS demeure pratiquement constante pour de grandes variations de celles de POP et SOS, ce qui se traduit par une relation linéaire [appelée «droite BC», Équation (4)] entre POP et SOS. Tous les mélanges BC/EBC donneront lieu à des résultats de l'analyse des triacylglycérols qui s'écarteront de la «droite BC», et ce d'autant plus que leur valeur POS sera éloignée de la valeur POS du beurre de cacao. L'Équation (4) a été établie en utilisant une base de données normalisée provenant du profil des triacylglycérols de 74 échantillons individuels de véritable beurre de cacao évalués et validés dans le cadre du laboratoire par les auteurs [3]. Le MRC beurre de cacao (4.1) a été utilisé pour normaliser la méthodologie d'analyse mise en œuvre pour déterminer le profil des triacylglycérols dans les échantillons de beurre de cacao.

Dans 99 % de l'ensemble des analyses, la composition du beurre de cacao pur suit la relation

$$\text{POP} < 44,025 - 0,733 \times \text{SOS} \quad (5)$$

Une valeur POP plus élevée, telle que donnée par l'Équation (5), signifie que l'échantillon n'est pas du beurre de cacao pur. L'avantage de l'approche élaborée par les auteurs est qu'en prenant le MRC beurre de cacao pour l'étalonnage, l'expression mathématique peut être utilisée par des laboratoires d'essai individuels pour vérifier la pureté du beurre de cacao, sans qu'ils se heurtent au problème de l'établissement préalable d'une «droite BC». L'étalonnage à l'aide du MRC beurre de cacao relie automatiquement les résultats obtenus dans un laboratoire à la base de données des triacylglycérols du beurre de cacao et à la règle qui a été mise au point pour permettre la prise de décision [Équation (5)].

10 Exigences du mode opératoire

10.1 Considérations générales

Les détails du mode opératoire chromatographique dépendent, entre autres facteurs, de l'équipement, du type, de l'âge, et du fournisseur de la colonne, du mode d'introduction de la solution d'essai, de la taille de l'échantillon, et du détecteur. Différentes marques et longueurs de colonne peuvent être utilisées, et les volumes injectés peuvent être modifiés, pour autant que les exigences des essais d'aptitude du système (10.2) soient satisfaites.

10.2 Aptitude du système

Il est indispensable d'utiliser le MRC beurre de cacao (4.1) pour la vérification de l'aptitude du système de séparation.

a) Résolution

Le système de séparation HR-GC doit pouvoir séparer les couples déterminants POS/POO et SOS/SOO avec une résolution chromatographique au moins égale à 1,0. Si cela n'est pas le cas, les conditions chromatographiques (par exemple taille de l'échantillon, température de la colonne, débit du gaz vecteur, etc.) doivent être optimisées.

b) Détermination des facteurs de réponse du détecteur

Afin de vérifier l'hypothèse que les facteurs de réponse du détecteur à ionisation de flamme pour les triacylglycérols ne diffèrent pas de manière significative de l'unité, le MRC beurre de cacao doit être analysé dans des conditions de GC normales. L'expérience a montré que, dans le cas d'un système chromatographique fonctionnant correctement, les facteurs de réponse pour les cinq principaux triacylglycérols (POP, POS, POO, SOS et SOO) varient dans un intervalle allant de 0,80 à 1,20.