
**Жиры и масла животные и
растительные. Эквиваленты масла
какао в масле какао и обыкновенном
шоколаде.**

Часть 1.

**Определение наличия эквивалентов
масла какао**

*Animal and vegetable fats and oils — Cocoa butter equivalents in cocoa
butter and plain chocolate —*

Part 1: Determination of the presence of cocoa butter equivalents

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

Ответственность за подготовку русской версии несёт GOST R
(Российская Федерация) в соответствии со статьёй 18.1 Устава ISO



Ссылочный номер
ISO 23275-1:2006(R)

Отказ от ответственности при работе в PDF

Настоящий файл PDF может содержать интегрированные шрифты. В соответствии с условиями лицензирования, принятыми фирмой Adobe, этот файл можно распечатать или вывести на экран, но его нельзя изменить, пока не будет получена лицензия на загрузку интегрированных шрифтов в компьютер, на котором ведется редактирование. В случае загрузки настоящего файла заинтересованные стороны принимают на себя ответственность за соблюдение лицензионных условий фирмы Adobe. Центральный секретариат ISO не несет никакой ответственности в этом отношении.

Adobe торговый знак фирмы Adobe Systems Incorporated.

Подробности, относящиеся к программным продуктам, использованным для создания настоящего файла PDF, можно найти в рубрике General info файла; параметры создания PDF были оптимизированы для печати. Были приняты во внимание все меры предосторожности с тем, чтобы обеспечить пригодность настоящего файла для использования комитетами-членами ISO. В редких случаях возникновения проблемы, связанной со сказанным выше, просьба проинформировать Центральный секретариат по адресу, приведенному ниже.

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>



ДОКУМЕНТ ЗАЩИЩЕН АВТОРСКИМ ПРАВОМ

© ISO 2006

Все права сохраняются. Если не указано иное, никакую часть настоящей публикации нельзя копировать или использовать в какой-либо форме или каким-либо электронным или механическим способом, включая фотокопии и микрофильмы, без предварительного письменного согласия ISO по соответствующему адресу, указанному ниже, или комитета-члена ISO в стране регистрации пребывания.

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

Опубликовано в Швейцарии

Содержание

Страница

Предисловие	iv
Введение	v
1 Область применения	1
2 Термины и определения	1
3 Принцип	1
4 Реагенты и материалы	1
5 Аппаратура	2
6 Отбор проб	3
7 Приготовление образца для испытания	3
7.1 Приготовление CRM масла какао для целей калибровки и проверки пригодности системы	3
7.2 Приготовление образца шоколада	3
8 Процедура	3
8.1 Экстракция жира	3
8.2 Разделение индивидуальных триацилглицеринов методом HR-GC	3
8.3 Идентификация	4
9 Вычисление	4
9.1 Определение коэффициентов чувствительности	4
9.2 Вычисление процентного содержания триацилглицеринов	4
9.3 Решение, если образец является чистым маслом какао	5
10 Процедурные требования	5
10.1 Общие вопросы	5
10.2 Пригодность системы	5
11 Прецизионность	6
11.1 Межлабораторное испытание	6
11.2 Повторяемость	6
11.3 Воспроизводимость	6
12 Протокол испытания	6
Приложение А (информативное) Результаты межлабораторного испытания	7
Библиография	12

Предисловие

Международная организация по стандартизации (ISO) является всемирной федерацией национальных организаций по стандартизации (комитетов-членов ISO). Разработка международных стандартов обычно осуществляется техническими комитетами ISO. Каждый комитет-член, заинтересованный в деятельности, для которой был создан технический комитет, имеет право быть представленным в этом комитете. Международные правительственные и неправительственные организации, имеющие связи с ISO, также принимают участие в работах. Что касается стандартизации в области электротехники, ISO работает в тесном сотрудничестве с Международной электротехнической комиссией (IEC).

Проекты международных стандартов разрабатываются по правилам, указанным в Директивах ISO/IEC, Часть 2.

Главная задача технических комитетов состоит в разработке международных стандартов. Проекты международных стандартов, принятые техническими комитетами, рассылаются комитетам-членам на голосование. Их опубликование в качестве международных стандартов требует одобрения, по меньшей мере, 75 % комитетов-членов, принимающих участие в голосовании.

Обращается внимание на возможность патентования некоторых элементов данного международного стандарта. ISO не несет ответственности за идентификацию какого-либо или всех таких патентных прав.

ISO 23275-1 был подготовлен Техническим комитетом ISO/TC 34, *Пищевые продукты*, Подкомитетом SC 5, *Молоко и молочные продукты*.

ISO 23275 состоит из следующих частей под общим названием *Жиры и масла животные и растительные. Эквиваленты масла какао в масле какао и обыкновенном шоколаде*:

- *Часть 1. Определение наличия эквивалентов масла какао*
- *Part 2. Определение количества эквивалентов масла какао*

Введение

“Эквиваленты масла какао” – это общий термин для жиров, используемых для замены масла какао в шоколаде. Они имеют очень близкое сходство по химическому составу и физическим свойствам с маслом какао, что сильно затрудняет их количественное определение и в некоторых случаях даже их обнаружение. В принципе, эквиваленты масла какао должны быть по определению жирами, содержание которых является низким в лауриновой кислоте и высоким в симметричных мононенасыщенных триацилглицеринах типа 1,3-дипальмитоил-2-олеоилглицерин, 1-пальмитоил-2-олеоил-3-стеароилглицерин и 1,3-дистеароил-2-олеилглицерин, которые смешаны с маслом какао и получают только очисткой и фракционированием.

В пределах Европейского союза следующие растительные жиры, полученные из перечисленных ниже растений, можно использовать по отдельности или в смесях согласно Директиве 2000/36/EC ^[1]:

- орех бассия, борнейское сало или тенгкванг (*Shorea spp.*),
- пальмовое масло (*Elaeis guineensis*, *Elaeis olifera*),
- сал (*Shorea robusta*),
- масляное дерево (*Butyrospermum parkii*),
- масло гарцинии индийской (*Garcinia indica*) и
- косточка манго (*Mangifera indica*).

Настоящая часть ISO 23275 устанавливает процедуру для обнаружения этих жиров (ограничения сделаны только для образцов чистого жира ореха бассия) в масле какао и обыкновенном шоколаде. ISO 23275-2 устанавливает процедуру для количественного определения этих жиров при концентрации 5 % в соответствии с установленным пределом в Директиве 2000/36/EC ^[1] Европейского Парламента и Совета.

Для помощи в использовании обеих частей ISO 23275 был создан аналитический инструментарий под названием “CoCal-1”. “CoCal-1” содержит достоверные методы для обнаружения (часть 1) и количественного определения (часть 2) CBEs в обыкновенном шоколаде, а также сертифицированный эталонный материал масла какао (IRMM-801), применяемый для калибровки аналитических приборов, и электронный оценочный бланк для Microsoft Excel®, чтобы вычислить окончательный результат. Аналитику, работающему над обнаружением CBE и их количественным определением, придется только калибровать газохроматографическую систему разделения с использованием IRMM-801, разделять триглицеридовые фракции рассматриваемого образца и использовать электронный оценочный бланк для последующей обработки данных в целях обнаружения и количественного определения CBEs.

Информация о “CoCal-1” имеется на сайте Института эталонных материалов и измерений (Institute for Reference Materials and Measurements): <http://www.irmm.jrc.be>.

Жиры и масла животные и растительные. Эквиваленты масла какао в масле какао и обыкновенном шоколаде.

Часть 1.

Определение наличия эквивалентов масла какао

1 Область применения

Эта часть ISO 23275 устанавливает процедуру для обнаружения эквивалентов масла какао (CBEs) в масле какао (CB) и обыкновенном шоколаде методом высокоразрешающей капиллярной газожидкостной хроматографии (HR-GC) триацилглицеринов и последующей оценки данных методом регрессионного анализа.

Данный метод применим для обнаружения 2 % примеси CBE в масле какао, что соответствует примерно 0,6 % CBE в шоколаде (т.е. предполагаемое содержание жира в шоколаде 30 %).

2 Термины и определения

Применительно к этому документу используются следующие термины и определения.

2.1 эквиваленты масла какао cocoa butter equivalents CBEs

жиры, обнаруженные в масле какао и обыкновенном шоколаде согласно процедуре, установленной в этой части ISO 23275

ПРИМЕЧАНИЕ Результат выражается как качественный результат, т.е. CBEs присутствуют/CBEs не присутствуют (ДА/НЕТ).

3 Принцип

Масло какао, или жир, полученный экстракцией растворителем из обыкновенного шоколада, разделяют методом HR-GC на триацилглицериновые фракции соответственно их молекулярной массе и степени ненасыщенности. Присутствие CBEs обнаруживают методом линейного регрессионного анализа, применяемого к индивидуальным триацилглицериновым фракциям анализируемого жира.

4 Реагенты и материалы

Используют только реагенты признанной аналитической чистоты, если нет других указаний.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Обращается внимание на регламент, который устанавливает правила обращения с опасными веществами. Должны соблюдаться технические, организационные и индивидуальные меры безопасности.

4.1 Сертифицированный эталонный материал масла какао (CRM) IRMM-801 [2], для целей калибровки и проверки пригодности системы.

4.2 Растворитель жира, нехлорированные растворители (например, диэтиловый эфир, *n*-гептан, изооктан).

5 Аппаратура

5.1 Аналитические весы, считываемость 0,1 мг.

5.2 Сушильный шкаф, поддерживаемый при 55 °С.

Можно использовать блок сухого подогревателя.

5.3 Пищевая терочная машина, т.е. кухонный блендер, конструкция которого характеризуется установкой двигателя над приемным контейнером для избежания расплавления образцов¹⁾.

5.4 Роторный испаритель.

Можно использовать альтернативные процедуры испарения.

5.5 Пипетки, емкостью 1 мл.

5.6 Мерные колбы, емкостью 20 мл.

5.7 Микрошприц, с максимальным объемом 10 мкл, градуированный до 0,1 мкл, или автоматический пробоотборник.

5.8 Газовый хроматограф (GC), оснащенный встроенной в колонку холодной инжекционной системой и пламенно-ионизационным детектором (FID).

Можно использовать альтернативные инжекционные системы [например, щелевой инжектор, испаритель с программируемой температурой (PTV) или инжектор с движущейся иглой], при условии что получаются такие же результаты, как указано в 10.2.

Разделение и обнаружение будут удовлетворительными, если соблюдаются следующие экспериментальные условия:

- GC колонка: длина от 25 м до 30 м, внутренний диаметр 0,25 мм, кварцевое стекло, покрытое термостойким 50-% фенилметилполисилоксаном с толщиной пленки от 0,1 мкм до 0,15 мкм.
- программирование температуры: 100 °С (начальная температура), программируемая скорость изменения 30 °С/мин до получения 340 °С (окончательная температура).
- транспортирующий газ: гелий или водород (чистота $\geq 99,999$ %).

ПРИМЕЧАНИЕ Подходящие колонки и альтернативные экспериментальные условия, применяемые в международном совместном исследовании, приведены в Приложении А. Рабочие условия можно изменять для получения оптимального разделения триацилглицеринов в масле какао.

1) Philips HR2833 является примером подходящего оборудования, имеющегося в продаже.

Эта информация дается для удобства пользователей этой части ISO 23275 и не является рекомендацией ISO для этого продукта.

5.9 Хроматографическая система данных.

6 Отбор проб

В лабораторию должна быть отправлена представительная проба. Ее следует оберегать от повреждений или изменений во время транспортировки или хранения.

Отбор проб не является частью метода, установленного в этой части ISO 23275. Рекомендованный метод отбора проб дан в ISO 5555.

7 Приготовление образца для испытания

7.1 Приготовление CRM масла какао для целей калибровки и проверки пригодности системы

Перед вскрытием и использованием CRM масла какао (4.1) ампулу следует нагревать в сушильном шкафу (5.2), пока ее содержимое не будет расплавлено. Когда получен прозрачный раствор, содержимое перемешивают, многократно переворачивая ампулу не менее чем 20 с. Затем открывают ампулу и переводят содержимое в чистую бутылочку, которую можно герметически закрыть и хранить в прохладном месте для будущего использования.

7.2 Приготовление образца шоколада

Охлаждают приблизительно 200 г шоколада до затвердения и трют до мелкозернистого состояния, используя механическое устройство (5.3). Тщательно перемешивают и хранят в закупоренной бутылке в холодном месте.

8 Процедура

8.1 Экстракция жира

Выделяют жир из 10 г - 40 г тертого шоколада (как описано в 7.2) путем экстрагирования двумя или тремя порциями растворителя жира по 100 мл (4.2). Центрифугируют и декантируют. Объединяют экстракты и выпаривают большую часть растворителя жира (5.4), затем его окончательно высушивают под струей азота.

Можно использовать альтернативные процедуры экстракции (например, экстрактор Сокслета, сверхкритический углекислый газ или микроволны), при условии что будут получены такие же результаты.

8.2 Разделение индивидуальных триацилглицеринов методом HR-GC

Испытуемые образцы [масло какао, жир, экстрагированный из шоколада, CRM масла какао (4.1)] нагревают в сушильном шкафу (5.2) до полного расплавления. Если жидкий образец содержит осадок, образец фильтруют в шкафу до получения прозрачного фильтрата. Пипетки (или аналогичные приборы), используемые для переноса образца во время операций взвешивания, должны быть доведены до температуры приблизительно 55 °C в сушильном шкафу (5.2), для того чтобы избежать частичного фракционирования жира.

Отвешивают приблизительно 0,2 г в мерную колбу емкостью 20 мл (5.6) и разбавляют до метки подходящим растворителем жира (4.2). Пипеткой (5.5) переносят 1 мл полученного раствора в другую мерную колбу емкостью 20 мл и разбавляют до метки таким же растворителем.

Инжектируют от 0,5 мкл до 1,0 мкл окончательного испытательного раствора ($\rho_{\text{fat}} = 0,5$ мг/мл) в HR-GC систему, используя холодную встроенную инъекционную систему.

Можно использовать альтернативные размеры образцов и инжекторы, при условии, что применяемая система инъецирования дает линейную ответную реакцию и критерии пригодности (10.2) удовлетворяются.

8.3 Идентификация

Идентификацию пяти крупных фракций триацилглицерина [1,3-дипальмитоил-2-олеоилглицерин (POP), 1-пальмитоил-2-олеоил-3-стеароилглицерин (POS), 1-пальмитоил-2,3-диолеилглицерин (POO), 1,3-дистеароил-2-олеоилглицерин (SOS) и 1-стеароил-2,3-диолеилглицерин (SOO)] выполняют путем сравнения времени удержания испытуемых образцов с временем удержания CRM масла какао (4.1). В общем, триацилглицерины появляются в порядке возрастания числа атомов углерода и увеличения ненасыщенности для одного и того же числа атомов углерода. Порядок элюирования триацилглицеринов для CRM масла какао показан в приведенной для примера хроматограмме (Рисунок А.1).

9 Вычисление

9.1 Определение коэффициентов чувствительности

Коэффициенты чувствительности для триацилглицеринов POP, POS, POO, SOS и SOO определяют путем инъецирования раствора CRM масла какао в экспериментальных условиях, идентичных условиям, применяемым для образцов. Вычисляют процентное содержание каждой из пяти триацилглицериновых фракций по следующим уравнениям:

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

$$F_i = \frac{w_{ref,i}}{P_{ref,i}} \quad (2)$$

где

$P_{ref,i}$ процентное содержание i в CRM масла какао (по площадям пиков);

$A_{ref,i}$ площадь пика триацилглицерина i в CRM масла какао;

$\sum A_{ref,i}$ сумма площадей пиков, относящихся к POP, POS, POO, SOS, SOO в CRM масла какао;

F_i детекторный коэффициент чувствительности для i в CRM масла какао;

$w_{ref,i}$ массовая доля, в процентах, триацилглицерина i в CRM масла какао, указанная в сертификате [2].

Результаты представляют до двух десятичных знаков.

9.2 Вычисление процентного содержания триацилглицеринов

Вычисляют процентное содержание триацилглицеринов POP, POS и SOS в испытуемом образце по уравнению

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

где

$w_{test,i}$ массовая доля, в процентах, триацилглицерина i в испытуемых образцах;

$A_{test,i}$ площадь пика, соответствующая триацилглицерину i в испытуемом образце;

F_i коэффициент чувствительности, определенный в 9.1.

Результаты представляют до двух десятичных знаков.

9.3 Решение, если образец является чистым маслом какао

Изменчивость триацилглицеринового состава в масле какао выражается Уравнением (4) с использованием нормализованных триацилглицеринов, т.е. $\%POP + \%POS + \%SOS = 100 \%$, как определено в Уравнении (3):

$$POP = 43,734 - 0,733 \times SOS \quad (4)$$

(остаточное стандартное отклонение = 0,125)

Сущность метода состоит в том, что для образцов масла какао содержание POS является практически постоянным для широких диапазонов POP и SOS, давая в результате линейную зависимость [так называемую "СВ-линию", Уравнение (4)] между POP и SOS. Все смеси СВ/СВЕ будут вызывать отклонение анализа триацилглицеринов от "СВ-линии" в той степени, в которой их значение POS отличается от значения POS в масле какао. Уравнение (4) было составлено на основе стандартизированной базы данных триацилглицеринового профиля из 74 настоящих масел какао, оцененных и прошедших внутрифирменную проверку на достоверность [3]. CRM масла какао (4.1) использовался для стандартизации аналитической методики, применяемой для определения триацилглицеринового профиля масел какао.

Для 99 % всех анализов чистое масло какао соответствует уравнению

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

Более высокое значение для POP, полученное из Уравнения (5), означает, что данный образец не является чистым маслом какао. Преимущество этого тщательно продуманного подхода состоит в том, что при использовании CRM масла какао в целях калибровки отдельные лаборатории могут применять это математическое выражение для проверки чистоты масла какао, не пытаясь решить проблему установления "СВ-линии" как предварительного условия. Калибровка посредством CRM масла какао автоматически связывает результаты, полученные в лаборатории, с базой данных триацилглицеринов в масле какао и детально разработанным правилом принятия решения [Уравнение (5)].

10 Процедурные требования

10.1 Общие вопросы

Детали хроматографической процедуры зависят, среди других факторов, от оборудования, типа, срока службы и поставщика колонки, средств введения испытательного раствора, размера образца и от детектора. Можно использовать различные торговые марки и размеры колонок, а также различные объемы инъекций, если удовлетворены требования испытания пригодности системы (10.2).

10.2 Пригодность системы

Для проверки пригодности системы разделения должен использоваться CRM масла какао (4.1).

а) Разрешение

HR-GC система разделения должна обеспечивать разделение критических пар POS/POO и SOS/SOO с хроматографическим разрешением как минимум 1,0. В случае отказа хроматографические условия (например, размер образца, температура колонки, течение транспортирующего газа) должны быть оптимизированы.

б) Определение коэффициентов чувствительности детектора

Для проверки предположения, что коэффициенты чувствительности пламенно-ионизационного детектора для триацилглицеринов не отличаются значительно от единицы, анализируют CRM