

---

---

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

Часть 2.

**Определение количества эквивалентов  
масла какао**

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

*Part 2: Quantification of cocoa butter equivalents*

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/002b6093-fe3b-430b-b10b-76a543e4601b/iso-23275-2-2006>

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



Ссылочный номер  
ISO 23275-2:2006(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 23275-2:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/002b6093-fe3b-430b-b10b-76a543e4601b/iso-23275-2-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/002b6093-fe3b-430b-b10b-76a543e4601b/iso-23275-2-2006>



**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 запрашивающей стороны.

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](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://www.iso.org)

Опубликовано в Швейцарии

## Содержание

Страница

Предисловие .....	iv
Введение .....	v
1 Область применения .....	1
2 Термины и определения .....	1
3 Принцип .....	2
4 Реагенты и материалы .....	2
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 .....	4
8.3 Идентификация .....	4
9 Вычисление .....	5
9.1 Определение коэффициентов чувствительности .....	5
9.2 Вычисление процентного содержания триацилглицеринов .....	5
9.3 Вычисление содержания СВЕ в масле какао .....	5
9.4 Вычисление содержания СВЕ в шоколаде .....	6
10 Процедурные требования .....	6
10.1 Общие вопросы .....	6
10.2 Пригодность системы .....	6
11 Прецизионность .....	7
11.1 Межлабораторное испытание .....	7
11.2 Повторяемость .....	7
11.3 Воспроизводимость .....	7
12 Протокол испытания .....	7
Приложение А (информативное) Результаты межлабораторного испытания .....	8
Библиография .....	13

## 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 23275-2 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-олеилглицерин, 1-пальмитоил-2-олеил-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 <sup>[1]</sup>:

- 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*).

ISO 23275-2:2006

ISO 23275-1 устанавливает процедуру для обнаружения этих жиров (ограничения сделаны только для образцов чистого жира ореха бассия) в масле какао и обыкновенном шоколаде. Эта часть ISO 23275 устанавливает процедуру для достоверного количественного определения этих жиров при концентрации 5 % в соответствии с установленным пределом в Директиве 2000/36/EC <sup>[1]</sup> Европарламента 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.



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

## Часть 2.

## Определение количества эквивалентов масла какао

### 1 Область применения

Эта часть ISO 23275 устанавливает процедуру для количественного определения эквивалентов масла какао (CBEs) в масле какао (CB) и обыкновенном шоколаде методом высокоразрешающей капиллярной газожидкостной хроматографии (HR-GC) триацилглицеринов и последующей оценки данных посредством регрессионного анализа с частичным применением метода наименьших квадратов.

**ПРИМЕЧАНИЕ** Наличие CBEs в CB и обыкновенном шоколаде ниже уровня 0,6 % (предполагаемое содержание жира в шоколаде 30 %) можно определить, используя процедуру, описанную в ISO 23275-1. Различия в процедуре двух методов состоят в количестве отдельных триацилглицеринов, применяемых для обработки данных, и в принципе математической оценки данных. Наличие CBEs определяют методом линейной регрессии, применяемой к относительным пропорциям трех основных триацилглицериновых фракций анализируемого жира. Количество примеси CBE оценивают регрессионным анализом с частичным методом наименьших квадратов, применяемым к относительным пропорциям пяти основных триацилглицеринов.

### 2 Термины и определения

Применительно к этому документу используются следующие термины и определения.

#### 2.1

**эквиваленты масла какао**  
**cocoa butter equivalents**  
**CBEs**

жиры, обнаруживаемые в масле какао и обыкновенном шоколаде

#### 2.2

**содержание CBE в масле какао**  
**CBE content of cocoa butter**

массовая доля веществ в масле какао, определенная, методом, установленным в этой части ISO 23275

**ПРИМЕЧАНИЕ** Оно выражается в граммах на 100 г масла какао.

#### 2.3

**содержание CBE в шоколаде**  
**CBE content of chocolate**

Массовая доля веществ в шоколаде, определенная методом, установленным в этой части ISO 23275

**ПРИМЕЧАНИЕ** Оно выражается в граммах на 100 г шоколада.

### 3 Принцип

Масло какао, или жир, полученный из обыкновенного шоколада, разделяют методом HR-GC на триацилглицериновые фракции согласно их молекулярной массе и степени ненасыщенности. Добавленное количество СВЕs оценивают посредством регрессионного анализа с частичным методом наименьших квадратов, применяемого к отдельным триацилглицериновым фракциям анализируемого образца.

### 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**, хлорированные растворители (например, диэтиловый эфир, *n*-гептан, изооктан).

**4.3 Соляная кислота**,  $c = 8$  моль/л.

**4.4 Гофрированная фильтровальная бумага**<sup>1)</sup>, 15 см.

### 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 образцов<sup>2)</sup>.

**5.4 Мерные колбы**, емкостью 20 мл.

**5.5 Пипетки**, емкостью 1 мл.

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

**5.7 Газовый хроматограф (GC)**, оснащенный встроенной в колонку холодной инъекционной системой и пламенно-ионизационным детектором (FID).

Можно использовать альтернативные инъекционные 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.

---

1) Гофрированная фильтровальная бумага средних сортов S&S 589 является примером подходящего продукта, имеющегося в продаже.

2) 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.



Разделение и количественное определение будут удовлетворительными, если соблюдаются следующие экспериментальные условия:

- GC колонка: длина 25 м - 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.

## 5.8 Хроматографическая система данных.

**5.9 Экстрактор Сокслета**, стандартные соединения с конусной нарезкой, емкость сифона приблизительно 100 мл (экстракционный наконечник 33 мм × 88 мм), колба Эрленмейера емкостью 250 мл и кожух регулируемого нагрева.

## 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

**8.1.1** Выделяют жир и определяют содержание жира в образце шоколада (приготовленного, как описано в 7.2) экстракцией Сокслета [3] следующим образом. Отвешивают 4 г - 5 г шоколада в колбу емкостью 300 мл - 500 мл. Медленно добавляют, помешивая, 45 мл кипящей воды, чтобы получить однородную суспензию. Добавляют 55 мл HCl (4.3) и немного обезжиренной кипящей стружки или другого средства против бурления и перемешивают. Закрывают часовым стеклом, медленно доводят раствор до кипения и медленно кипятят в течение 15 мин. Промывают часовое стекло в 100 мл воды. Фильтруют вываренный раствор через гофрированную фильтровальную бумагу средних сортов (4.4),

или аналогичную, промывая колбу три раза водой. Продолжают промывку до тех пор, пока в последней порции фильтрата не будет хлора. Переносят фильтр с образцом в обезжиренный экстракционный наконечник и сушат 2 ч в небольшой колбе при 100 °С. Помещают тампон из стекловаты над фильтровальной бумагой.

Добавляют немного обезжиренной стружки против бурления в колбу Эрленмейера емкостью 250 мл и сушат в течение 1 ч при 100 °С. Охлаждают колбу до комнатной температуры в эксикаторе, затем взвешивают. Помещают наконечник, содержащий высушенный образец, в аппарат Сокслета (5.9), поддерживающий его спиралью или стеклянными бусами. Промывают выварную колбу, сушильную колбу и часовое стекло тремя порциями петролейного эфира по 50 мл, и добавляют остаток промывки в наконечник. Орошают вываренный образец в течение 4 ч, регулируя тепло, так чтобы сифоны экстрактора переливались >30 раз. Удаляют колбу и выпаривают растворитель. Сушат колбу при 102 °С до постоянной массы (1,5 ч). Охлаждают в эксикаторе до комнатной температуры, затем взвешивают. Постоянная масса достигается, когда последовательные периоды сушки по 1 ч показывают дополнительную потерю жира < 0,05 %. Дублированные определения должны соответствовать в пределах 0,1 % жира.

Полное содержание жира,  $c_{fat}$  в шоколаде, в граммах на 100 г, вычисляют по следующему уравнению:

$$c_{fat} = \frac{m_{fat} \times 100}{m}$$

где

$m_{fat}$  полный жир, полученный экстракцией, в граммах;

$m$  масса испытуемого образца (шоколад), в граммах.

Можно использовать альтернативные процедуры экстракции (например, ускоренная экстракция растворителем, сверхкритический диоксид углерода или микроволны), при условии что будут получены такие же результаты.

Записывают содержание жира до двух десятичных знаков.

## 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 °С 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 ( $\rho_{fat} = 0,5 \text{ mg/ml}$ ) в HR-GC систему, используя холодную встроенную инъекционную систему.

Можно использовать альтернативные размеры образцов и инжекторы, при условии что применяемая система инжектирования 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 инжестирования раствора CRM масла какао в экспериментальных условиях, идентичных условиям, применяемым для образцов. Вычисляют процентное содержание каждой из пяти триацилглицериновых фракций по следующим уравнениям:

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

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

где

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

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

$\sum A_{\text{ref},i}$  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;

$w_{\text{ref},i}$  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

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

где

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

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

$F_i$  коэффициент чувствительности, определенный в 9.1.

Результаты представляют до двух десятичных знаков.

### 9.3 Вычисление содержания СВЕ в масле какао

Содержание СВЕ в масле какао,  $c_{\text{СВЕ,СВ}}$ , выраженное в граммах СВЕ на 100 г масла какао, вычисляют, используя регрессионный анализ с частичным методом наименьших квадратов [Уравнение (4)] для относительных пропорций пяти основных триацилглицеринов; т.е. %POP + %POS + %POO + %SOS + %SOO = 100 % по Уравнению (3):