
**Растительные жиры и масла.
Определение эквивалентов масла
какао в молочном шоколаде**

*Vegetable fats and oils — Determination of cocoa butter equivalents in
milk chocolate*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 11053:2009

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2b6213d7-6566-44f2-8300-aa1ea6ec8753/iso-11053-2009>

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



Ссылочный номер
ISO 11053:2009(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 11053:2009

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2b6213d7-6566-44f2-8300-aa1ea6ec8753/iso-11053-2009>



ДОКУМЕНТ ЗАЩИЩЕН АВТОРСКИМ ПРАВОМ

© ISO 2009

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 заявителя.

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
1 Область применения	1
2 Термины и определения	1
3 Сущность метода	1
4 Реактивы, растворы и эталоны	2
5 Аппаратура и оборудование	4
6 Отбор проб	5
7 Приготовление образцов	5
7.1 Приготовление IRMM-801 для калибровки и проверки пригодности системы	5
7.2 Приготовление чистого молочного жира для проверки пригодности системы	5
7.3 Приготовление образца шоколада	5
8 Процедура	7
8.1 Построение калибровочной кривой для определения содержания PSB	7
8.2 Разделение отдельных TAGs в IRMM-801 методом HR-GLC	8
8.3 Разделение отдельных TAGs чистого MF методом HR-GLC	8
8.4 Разделение отдельных TAGs шоколадного жира методом HR-GLC	8
8.5 Идентификация	9
9 Вычисление	9
9.1 Количественное определение PSB и MF в шоколадном жире и шоколаде	9
9.2 Обнаружение СВЕ в шоколадном жире	11
9.3 Количественное определение СВЕ в шоколадном жире и шоколаде	13
10 Процедурные требования	14
10.1 Общие рассуждения	14
10.2 Пригодность системы	14
11 Прецизионность	15
11.1 Межлабораторное испытание	15
11.2 Повторяемость	15
11.3 Воспроизводимость	15
12 Протокол испытания	16
Приложение А (информативное) Результаты межлабораторного испытания	17
Приложение В (информативное) Пример хроматограмм	21
Библиография	24

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. ISO осуществляет тесное сотрудничество с международной электротехнической комиссией (IEC) по всем вопросам стандартизации в области электротехники.

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 11053 подготовлен Техническим комитетом ISO/TC 34, *Пищевые продукты*, Подкомитетом SC 11, *Жиры и масла животные и растительные*.

[ISO 11053:2009](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2b6213d7-6566-44f2-8300-aa1ea6ec8753/iso-11053-2009)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2b6213d7-6566-44f2-8300-aa1ea6ec8753/iso-11053-2009>

Растительные жиры и масла. Определение эквивалентов масла какао в молочном шоколаде

1 Область применения

Настоящий международный стандарт устанавливает метод для обнаружения и количественного определения эквивалентов масла какао (CBEs) и молочного жира (MF) в молочном шоколаде посредством анализа профиля триацилглицеролов (TAG) с использованием высокоэффективной капиллярной газожидкостной хроматографии (HR-GLC) и последующей оценки данных на основе анализа регрессии простых и частных наименьших квадратов. Примеси CBE могут быть обнаружены при минимальном уровне 0,5 г CBE/100 г молочного шоколада и определены количественно при уровне 5 % массовой доли добавки CBE к молочному шоколаду с прогнозируемой погрешностью 0,7 г CBE/100 г молочного шоколада.

2 Термины и определения

Применительно к этому документу используются следующие термины и определения.

2.1

содержание молочного жира в молочном шоколаде **milk fat content of milk chocolate**

массовая доля молочного жира в молочном шоколаде, определенная методом, установленным в настоящем международном стандарте

ПРИМЕЧАНИЕ Массовая доля выражена в граммах на 100 г молочного шоколада.

2.2

эквиваленты масла какао **cocoa butter equivalents**

растительные жиры и масла не какао, обнаруживаемые в молочном шоколаде методом, описанным в этом международном стандарте

ПРИМЕЧАНИЕ Результат выражен качественно, т.е. CBEs присутствуют/CBEs не присутствуют (ДА/НЕТ).

2.3

содержание эквивалентов масла какао в молочном шоколаде **cocoa butter equivalent content of milk chocolate**

массовая доля веществ, определенная методом, установленным в этом международном стандарте

ПРИМЕЧАНИЕ Массовая доля выражена в граммах на 100 г молочного шоколада.

3 Сущность метода

Испытательные образцы, т.е. шоколадные жиры, полученные из молочного шоколада методом быстрого экстрагирования жира, разделяют посредством HR-GLC на фракции TAG в соответствии с их молекулярной массой и степенью ненасыщенности. Отдельные фракции TAG, i.e. 1-пальмитоил-2-стеароил-3-бутироил-глицерол (PSB), 1,3-дипальмитоил-2-олеоил-глицерол (POP), 1-пальмитоил-2-олеоил-3-стеароил-глицерол (POS), 1-пальмитоил-2,3-диолеоил-глицерол (POO), 1,3-дистеароил-2-олеоил-глицерол (SOS) и 1-стеароил-2,3-диолеоил-глицерол (SOO), используются, чтобы:

- a) вычислить содержание MF в шоколадном жире (граммы MF на 100 г шоколадного жира);
- b) определить присутствие/отсутствие CBEs в шоколадном жире, используя модель простой линейной регрессии на основе трех TAGs, POP, POS, и SOS, с поправкой на вклад TAG, обусловленный MF, и установить, показывает ли данный метод, что образец не является чистым маслом какао (CB);
- c) определить количество примеси CBE в шоколадном жире (граммы CBE на 100 г шоколадного жира), используя модель регрессии частных наименьших квадратов (PLS) с шестью входными переменными, т.е. с пятью TAGs, POP, POS, POO, SOS и SOO, нормированными к 100 %, и определенным содержанием MF в шоколадном жире.

Чтобы обеспечить правильное этикетирование молочного шоколада, результаты, полученные для шоколадного жира, преобразуют в граммы MF на 100 г шоколада и граммы CBE на 100 г шоколада, для чего требуется точное определение общего содержания жира в шоколаде методом экстрагирования Сокслета (на основе официального метода AOAC 963.15^[5]). Если метод обнаружения подтверждает отсутствие CBEs в шоколадном жире, то нет необходимости в количественном определении общего содержания жира.

4 Реактивы, растворы и эталоны

ПРИМЕЧАНИЕ Используются реактивы только признанного аналитического класса, если нет других указаний.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Имеется регламент для работы с опасными веществами. Должны соблюдаться меры технической, организационной и индивидуальной безопасности.

4.1 Аттестованный стандартный образец (IRMM-801)¹⁾ масла какао (см. Ссылку [6]) о калибровке и проверке пригодности системы.

4.2 Чистый молочный жир, для проверки пригодности системы.

4.3 1-Пальмитоил-2-стеароил-3-бутироил-глицерол (PSB)²⁾.

4.3.1 Общие положения

Для целей калибровки растворяют ~40 мг PSB в мерной колбе вместимостью 50 мл (5.9) с изооктаном, получая исходный раствор $\rho = 0,8$ мг/мл. Тщательно перемешивают до полного растворения.

Из исходного раствора PSB готовят серию из пяти калибровочных растворов в пределах матрицы (IRMM-801), отвешивая на аналитических весах (5.1) IRMM-801 (4.1) в мерные колбы вместимостью 25 мл (5.9) и добавляя соответствующие объемы исходного раствора PSB, как представлено в Таблице 1. Дополняют до метки изооктаном.

1) Доступно для приобретения в Институте стандартных образцов и измерений (<http://irmm.jrc.ec.europa.eu/>), Бельгия. Эта информация дается для удобства пользователей настоящего международного стандарта и не является поддержкой этого продукта со стороны ISO.

2) Доступно для приобретения в Лародане (<http://www.larodan.se/>), Швеция. Эта информация дается для удобства пользователей настоящего международного стандарта и не является поддержкой этого продукта со стороны ISO. Можно использовать аналогичные продукты, если есть данные, что они дают такие же результаты.

Таблица 1 — Массы IRMM-801 и объемы исходного раствора PSB для приготовления серии калибровочных растворов PSB в пределах матрицы

Калибровочный раствор	IRMM-801 (4.1), отвешенный в мерную колбу вместимостью 25 мл	Объем, взятый из исходного раствора PSB и добавленный в мерную колбу вместимостью 25 мл	Концентрация PSB в калибровочном растворе	Окончательная концентрация IRMM-PSB в растворе
	мг		мл	ρ_{PSB}^i мг/мл
1	~250	4	0,128	~10
2	~250	3	0,096	~10
3	~250	2	0,064	~10
4	~250	1	0,032	~10
5	~250	0,5	0,016	~10

4.3.2 Холодная инъекция на колонке (OCI)

Разбавляют каждый калибровочный раствор изооктаном, $\varphi = 1$ мл/5 мл, чтобы получить окончательную концентрацию IRMM-PSB ($\rho_{\text{IRMM-PSB}}$) ~2 мг/мл в каждом растворе и концентрации PSB (ρ_{PSB}) в диапазоне от 0,025 6 мг/мл (калибровочный раствор 1) до 0,003 2 мг/мл (калибровочный раствор 5).

4.3.3 Инъекция с делением потока (например, отношение деления 1:10)

Разбавляют каждый калибровочный раствор изооктаном, $\varphi = 1$ мл/2 мл, чтобы получить окончательную концентрацию IRMM-PSB ($\rho_{\text{IRMM-PSB}}$) ~5 мг/мл в каждом растворе и концентрации PSB (ρ_{PSB}) в диапазоне от 0,064 мг/мл (калибровочный раствор 1) до 0,008 мг/мл (калибровочный раствор 5).

ПРИМЕЧАНИЕ Окончательные концентрации PSB вычисляют, используя фактическую массу в исходном стандартном растворе.

4.4 α -Холестан³⁾, $\rho = 100$ мг/100 мл, используемый как внутренний раствор.

Растворяют ~50 мг α -холестана в 50 мл изооктана.

— Для холодной инъекции на колонке: Разбавить 1:250 ($\rho = 0,004$ мг/мл).

— Для инъекции с делением потока (например, отношение деления потока 1:10): Разбавить 1:100 ($\rho = 0,01$ мг/мл).

4.5 Растворитель жира, нехлорированные растворители (например, нефтяной эфир, *n*-гексан, *n*-гептан, изооктан).

4.6 Соляная кислота, $c(\text{HCl}) = 4$ моль/л.

3) Можно получить в Sigma-Aldrich (<http://www.sigmaaldrich.com/>), Бельгия.

5 Аппаратура и оборудование

- 5.1 **Аналитические весы**, считываемость до 0,1 мг.
- 5.2 **Сушильный шкаф**. Можно использовать сухой нагревательный блок.
- 5.3 **Фильтровальная бумага**, диаметр 15 см [например, S&S 589/1⁴].
- 5.4 **Пищевая терка**, кухонный блендер с двигателем над смесительной камерой для предотвращения расплавления образцов.
- 5.5 **Роторный испаритель**. Можно использовать альтернативные процедуры испарения.
- 5.6 **Испарительный блок**, с подачей азота.
- 5.7 **Эксикатор**, герметический сосуд, содержащий осушающие вещества, используемый для хранения гигроскопичных материалов.
- 5.8 **Экстрактор Сокслета**, со стандартными конусными соединениями, вместимостью сифона ~100 мл (экстракционная гильза 33 мм × 88 мм), колбой Эрленмейера вместимостью 250 мл и регулируемым нагревательным кожухом (или аналогичным).
- 5.9 **Мерные колбы**, вместимостью 10 мл, 25 мл, 50 мл и 100 мл (или другие вместимости, если необходимо), ISO 1042^[2] класс А.
- 5.10 **Пипетки**, вместимостью от 1 мл до 10 мл (или другие вместимости, если необходимо), ISO 648^[1] класс А или ISO 8655-2^[4].
- 5.11 **Микрошприц**, с максимальным объемом 10 мкл, градуированный до 0,1 мкл, или автоматический дозатор.
- 5.12 **Газовый хроматограф (GC)**, оснащенный системой холодной инъекции на колонке или системой инъекции с делением потока и пламенно-ионизационным детектором (FID).

ПРИМЕЧАНИЕ 1 Можно использовать альтернативные инъекционные системы [например, испаритель с программируемой температурой (PTV) или инжектор с подвижной иглой], если они обеспечивают такие же результаты, как в 10.2.

Разделение и измерение количества оказываются удовлетворительными, если соблюдаются следующие условия:

GLC колонка:	CB-TAP 25 м × 0,25 мм (внутренний диаметр), кварцевая капиллярная колонка, покрытая термоустойчивой среднеполярной фенилметилполисилоксановой неподвижной фазой с толщиной пленки 0,10 мкм
--------------	--

Программа сушильного шкафа для ОСI: поддерживается 100 °С не менее 2 мин; 30 °С/мин до 270 °С поддерживается 1 мин; 2,5 °С/мин до 340 °С поддерживается 7 мин

Программа сушильного шкафа для деления	200 °С поддерживается не менее 1 мин; 14 °С/мин до 270 °С поддерживается 1 мин; 2,5 °С/мин до 340 °С поддерживается 10 мин
--	--

4) Черная бумажная лента S&S 589/1 является примером подходящего продукта, имеющегося в продаже. Информация дается для удобства пользователя и не является поддержкой продукта со стороны ISO. Можно использовать аналогичные продукты, если есть данные, что они дают такие же результаты

потока:

Детектор (FID): 360 °C

Газ-носитель для ОСI: H_2 (чистота $\geq 99,999\%$) с постоянной скоростью течения 3,5 мл/мин (другим подходящим газом-носителем является гелий)

Газ-носитель для деления H_2 (чистота $\geq 99,999\%$) с постоянной скоростью течения 25 мл/мин потока: (другим подходящим газом-носителем является гелий)

ПРИМЕЧАНИЕ 2 Колонки и альтернативные условия эксперимента, используемые в международном совместном исследовании (см. Ссылку [7]), приведены в Таблице А 1. Рабочие условия можно изменять для получения оптимального разделения.

5.13 Хроматографическая система данных.

6 Отбор проб

Отбор проб не является частью метода, установленного в этом международном стандарте. Рекомендованный метод отбора проб дан в ISO 5555^[3]. В лабораторию должна быть отправлена репрезентативная проба. Она не должна быть повреждена или изменена во время транспортировки или хранения.

7 Приготовление образцов

7.1 Приготовление IRMM-801 для калибровки и проверки пригодности системы

Перед вскрытием ампулы и использованием IRMM-801 (4.1) ампулу нагревают в сушильном шкафу (5.2), до тех пор пока содержимое не расплавится. Когда получен прозрачный раствор, содержимое перемешивают, многократно переворачивая ампулу не менее 20 с. Затем её открывают и переносят содержимое в чистую склянку, которую можно герметично закупорить и хранить в холодном месте для будущего использования.

7.2 Приготовление чистого молочного жира для проверки пригодности системы

Если нет чистого MF, его можно получить из пробы масла, растапливая и перенося слой жира через складчатую фильтровальную бумагу (5.3) при 50 °C в сушильный шкаф (5.2).

7.3 Приготовление образца шоколада

7.3.1 Общие положения

Охлаждают приблизительно 200 г шоколада до твердого состояния и растирают до мелкозернистого состояния, используя пищевую терку (5.4). Тщательно перемешивают и хранят в плотно закупоренной бутылке в холодном месте.

7.3.2 Быстрая экстракция жира

Шоколадный жир выделяют из 5 г тертого шоколада (7.3.1) путем экстрагирования, применяя от двух до трех порций по 10 мл подходящего растворителя жира (4.5). Центрифугируют и декантируют. Объединяют экстракты, выпаривают (5.5) большую часть растворителя жира и, наконец, сушат в потоке азота (5.6).

Шоколадный жир, полученный быстрой экстракцией, используется для окончательного анализа TAG методом HR-GLC. Для обнаружения CBEs в шоколаде точное количества общего жира не требуется. Если CBEs не обнаружены, вторая часть стандарта, т.е. количественное определение CBEs

относительно установленного предела 5 %, не нужна. Если CBEs обнаружены, количественное определение должно быть выполнено с использованием того же профиля TAG, который использовался для обнаружения CBE. Однако в этом случае определяют точное количество общего жира в шоколаде по процедуре 7.3.3. Можно использовать альтернативные процедуры экстракции, если они дают такие же результаты.

7.3.3 Определение содержания общего жира

Отделяют шоколадный жир и определяют общее содержание жира в образце молочного шоколада (приготовленного по 7.3.2) экстракцией Сокслета (на основе официального метода AOAC 963.15 [5]) следующим образом.

Навеску (5.1) шоколада массой от 4 г до 5 г помещают в лабораторный стакан вместимостью от 300 мл до 500 мл. Медленно добавляют при помешивании 45 мл кипящей воды для получения однородной суспензии. Добавляют 55 мл HCl (4.6) и немного обезжиренной кипящей стружки или другое средство 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 раствор через гофрированную фильтровальную бумагу (5.3) или аналогичную, промывая стакан водой три раза. Продолжают промывание, пока последняя порция фильтрата не будет свободной от хлора. Переносят фильтр с образцом в обезжиренную экстракционную гильзу и сушат 2 ч в небольшом лабораторном стакане при 100 °С. Покрывают тампоном из стекловаты фильтровальную бумагу. Добавляют немного стружки против бурления в колбу Эрленмейера вместимостью 250 мл и сушат в течение 1 ч при 100 °С. Охлаждают стакан до комнатной температуры в эксикаторе (5.7), затем его взвешивают (5.1). Помещают гильзу, содержащую высушенный образец в аппарат Сокслета (5.8), где она поддерживается спиралью или стеклянными бусами. Промывают варочный стакан, сушильный стакан и часовое стекло тремя порциями петролейного эфира по 50 мл и добавляют остаток промывки в гильзу. Орошают вываренный образец в течение 4 ч, регулируя нагрев, так чтобы сифон экстрактора переливался более 30 раз. Извлекают колбу и выпаривают растворитель. Сушат колбу при 102 °С до получения постоянной массы (1,5 ч). Охлаждают в эксикаторе (5.7) до комнатной температуры, затем взвешивают (5.1). Постоянная масса достигается, когда последующие периоды сушки по 1 ч последовательно показывают потерю жира < 0,05 %. Параллельные определения должны соответствовать друг другу в пределах 0,1 % жира.

Массовая доля, выраженная в процентах, общего жира в шоколаде, $w_{\text{fat; choc}}$, определяется уравнением:

$$w_{\text{fat; choc}} = \frac{m_{\text{fat}} \times 100}{m} \quad (1)$$

где

m масса, в граммах, взятого шоколада;

m_{fat} масса, в граммах, общего жира, полученного из шоколада экстракцией по Сокслету (на основе официального метода AOAC 963.15 [5]).

Можно использовать альтернативные методы экстракции (например, ускоренная экстракция растворителем, использование сверхкритического углекислого газа или СВЧ-диапазона), при условии что они дают такие же результаты. Шоколадный жир, полученный экстракцией по Сокслету, не следует использовать для анализа TAG посредством HR-GLC, поскольку в некоторых случаях могут наблюдаться изменения в полученном профиле TAG.

Результаты записывают до двух десятичных знаков.

8 Процедура

8.1 Построение калибровочной кривой для определения содержания PSB

Готовят пять калибровочных растворов, содержащих различные концентрации PSB (4.3), но всегда одну и ту же концентрацию α -холестана (4.4), а именно.

Для холодной инъекции на колонке (OCI) :

- **Калибровочный раствор 1** (Окончательные концентрации $\rho_{\text{PSB } 1} = 0,0128$ мг/мл; $\rho_{\alpha\text{-cholestane } 1} = 0,002$ мг/мл): Переносят 1 мл калибровочного раствора 1 ($\rho_{\text{PSB } 1} = 0,0256$ мг/мл; 4.3) в пробирку и добавляют 1 мл раствора α -холестана ($\rho = 0,004$ мг/мл; 4.4).
- **Калибровочный раствор 2** (Окончательные концентрации $\rho_{\text{PSB } 2} = 0,0096$ мг/мл; $\rho_{\alpha\text{-cholestane } 2} = 0,002$ мг/мл): Переносят 1 мл калибровочного раствора 2 ($\rho_{\text{PSB } 2} = 0,0192$ мг/мл; 4.3) в пробирку и добавляют 1 мл раствора α -холестана ($\rho = 0,004$ мг/мл; 4.4).
- **Калибровочный раствор 3** (Окончательные концентрации $\rho_{\text{PSB } 3} = 0,0064$ мг/мл; $\rho_{\alpha\text{-cholestane } 3} = 0,002$ мг/мл): Переносят 1 мл калибровочного раствора 3 ($\rho_{\text{PSB } 3} = 0,0128$ мг/мл; 4.3) в пробирку и добавляют 1 мл раствора α -холестана ($\rho = 0,004$ мг/мл; 4.4).
- **Калибровочный раствор 4** (Окончательные концентрации $\rho_{\text{PSB } 4} = 0,0032$ мг/мл; $\rho_{\alpha\text{-cholestane } 4} = 0,002$ мг/мл): Переносят 1 мл калибровочного раствора 4 ($\rho_{\text{PSB } 4} = 0,0064$ мг/мл; 4.3) в пробирку и добавляют 1 мл раствора α -холестана ($\rho = 0,004$ мг/мл; 4.4).
- **Калибровочный раствор 5** (Окончательные концентрации $\rho_{\text{PSB } 5} = 0,0016$ мг/мл; $\rho_{\alpha\text{-cholestane } 5} = 0,002$ мг/мл): Переносят 1 мл калибровочного раствора 5 ($\rho_{\text{PSB } 5} = 0,0032$ мг/мл; 4.3) в пробирку и добавляют 1 мл раствора α -холестана ($\rho = 0,004$ мг/мл; 4.4).

Инжектируют 0,5 мкл каждого калибровочного раствора в HR-GLC систему методом холодной инъекции на колонке.

Для инъекции с делением потока:

- **Калибровочный раствор 1** (Окончательные концентрации $\rho_{\text{PSB } 1} = 0,032$ мг/мл; $\rho_{\alpha\text{-cholestane } 1} = 0,005$ мг/мл): Переносят 1 мл калибровочного раствора 1 ($\rho_{\text{PSB } 1} = 0,064$ мг/мл; 4.3) в пробирку и добавляют 1 мл раствора α -холестана ($\rho = 0,01$ мг/мл; 4.4).
- **Калибровочный раствор 2** (Окончательные концентрации $\rho_{\text{PSB } 2} = 0,024$ мг/мл; $\rho_{\alpha\text{-cholestane } 2} = 0,005$ мг/мл): Переносят 1 мл калибровочного раствора 2 ($\rho_{\text{PSB } 2} = 0,048$ мг/мл; 4.3) в пробирку и добавляют 1 мл раствора α -холестана ($\rho = 0,01$ мг/мл; 4.4).
- **Калибровочный раствор 3** (Окончательные концентрации $\rho_{\text{PSB } 3} = 0,016$ мг/мл; $\rho_{\alpha\text{-cholestane } 3} = 0,005$ мг/мл): Переносят 1 мл калибровочного раствора 3 ($\rho_{\text{PSB } 3} = 0,032$ мг/мл; 4.3) в пробирку и добавляют 1 мл раствора α -холестана ($\rho = 0,01$ мг/мл; 4.4).
- **Калибровочный раствор 4** (Окончательные концентрации $\rho_{\text{PSB } 4} = 0,008$ мг/мл; $\rho_{\alpha\text{-cholestane } 4} = 0,005$ мг/мл): Переносят 1 мл калибровочного раствора 4 ($\rho_{\text{PSB } 4} = 0,016$ мг/мл; 4.3) в пробирку и добавляют 1 мл раствора α -холестана ($\rho = 0,01$ мг/мл; 4.4).
- **Калибровочный раствор 5** (Окончательные концентрации $\rho_{\text{PSB } 5} = 0,004$ мг/мл; $\rho_{\alpha\text{-cholestane } 5} = 0,005$ мг/мл): Переносят 1 мл калибровочного раствора 5 ($\rho_{\text{PSB } 5} = 0,008$ мг/мл; 4.3) в пробирку и добавляют 1 мл раствора α -холестана ($\rho = 0,01$ мг/мл; 4.4).

Инжектируют 1 мкл окончательного испытательного раствора в HR-GLC систему методом инъекции с делением потока.

Можно использовать альтернативные количества образцов и инжекторы, при условии что применяемая система обнаружения дает линейную характеристику и соответствует критериям пригодности системы (10.2).

8.2 Разделение отдельных TAGs в IRMM-801 методом HR-GLC

Аттестованный стандартный образец масла какао IRMM-801 (4.1) следует нагревать в сушильном шкафу (5.2) до полного расплавления. Пипетки (или аналогичные инструменты), используемые для переноса образца во время операций взвешивания, должны быть доведены до температуры ~ 55 °C в сушильном шкафу для избежания частичного расщепления жира при работе с образцами.

Для холодной инъекции на колонке (OCI): Навеску (5.1) массой $\sim 0,1$ г IRMM-801 (4.1) помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл (5.9) и разбавляют до метки изооктаном (4.5). Пипеткой (5.10) емкостью 1 мл вводят полученный раствор в другую мерную колбу емкостью 50 мл (5.9) и разбавляют до метки таким же растворителем ($\rho = 0,2$ мг/мл). Инжектируют 0,5 мкл окончательного испытательного раствора в HR-GLC систему посредством холодной инъекции на колонке.

Для инъекции с делением потока: Навеску (5.1) массой $\sim 0,1$ г IRMM-801 (4.1) помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл (5.9) и разбавляют до метки изооктаном (4.5). Пипеткой (5.10) емкостью 1 мл вводят полученный раствор в другую мерную колбу емкостью 10 мл (5.9) и разбавляют до метки таким же растворителем ($\rho = 1$ мг/мл). Инжектируют 1 мкл окончательного испытательного раствора в HR-GLC систему посредством инжектирования с делением потока.

Можно использовать альтернативные растворители жира, количества образцов и инжекторы, при условии что применяемая система обнаружения дает линейную характеристику и соответствует критериям пригодности системы (10.2).

8.3 Разделение отдельных TAGs чистого MF методом HR-GLC

Для холодной инъекции на колонке (OCI): Навеску (5.1) массой $\sim 0,1$ г чистого MF (4.2) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл (5.9) и разбавляют до метки изооктаном (4.5) ($\rho = 1$ мг/мл). Переносят 1 мл этого раствора в пробирку и добавляют 1 мл раствора α -холестана (4.4) (в полученном растворе $\rho = 0,5$ мг/мл). Инжектируют 0,5 мкл окончательного испытательного раствора в HR-GLC систему посредством холодной инъекции на колонке.

Для инъекции с делением потока: Навеску (5.1) массой $\sim 0,25$ г чистого MF (4.2) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл (5.9) и разбавляют до метки изооктаном (4.5) ($\rho = 5$ мг/мл). Переносят 1 мл этого раствора в пробирку и добавляют 1 мл раствора α -холестана (4.4) (в полученном растворе $\rho = 2,5$ мг/мл). Инжектируют 1 мкл окончательного испытательного раствора в HR-GLC систему посредством инъекции с делением потока.

Можно использовать альтернативные растворители жира, количества образцов и инжекторы, при условии что применяемая система обнаружения дает линейную характеристику и соответствует критериям пригодности системы (10.2).

8.4 Разделение отдельных TAGs шоколадного жира методом HR-GLC

Испытательный образец [шоколадный жир, выделенный из молочного шоколада методом быстрой экстракции жира (7.3.2)] нагревают в сушильном шкафу (5.2) до полного расплавления. Если жидкий образец содержит осадок, образец фильтруют в шкафу, чтобы получить прозрачный фильтрат. Пипетки (или аналогичное оборудование), используемые для переноса образца во время операций взвешивания, следует нагреть в сушильном шкафу до температуры ~ 55 °C, для того чтобы избежать частичного расщепления жира при переносе образцов.

Для холодной инъекции на колонке (OCI): Отвешивают на аналитических весах (5.1) $\sim 0,1$ г шоколадного жира (полученного по 7.3.2) в мерную колбу вместимостью 100 мл (5.9) и разбавляют до метки изооктаном (4.5) ($\rho = 1$ мг/мл). Переносят 1 мл этого раствора в пробирку и добавляют 1 мл раствора α -холестана (4.4) (в полученном растворе $\rho = 0,5$ мг/мл). Инжектируют 0,5 мкл окончательного испытательного раствора в HR-GLC систему посредством холодной инъекции на колонке.