МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ ISO 23275-2— 2020

Жиры и масла животные и растительные

ЭКВИВАЛЕНТЫ МАСЛА КАКАО В МАСЛЕ КАКАО И ШОКОЛАДЕ

Часть 2

Количественное определение эквивалентов масла какао

(ISO 23275-2:2006, IDT)

Издание официальное

Москва
Российский институт стандартизации
2024

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и общие правила проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН научно-производственным республиканским унитарным предприятием «Белорусский государственный институт стандартизации и сертификации» (БелГИСС) на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии стандарта, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Государственным комитетом по стандартизации Республики Беларусь

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 30 июня 2020 г. № 131-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	ЗАО «Национальный орган по стандартизации и метрологии» Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узбекское агентство по техническому регулированию

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 20 июня 2024 г. № 862-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 23275-2—2020 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2025 г. с правом досрочного применения

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 23275-2:2006 «Жиры и масла животные и растительные. Эквиваленты масла какао в масле какао и шоколаде. Часть 2. Количественное определение 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», IDT).

Международный стандарт разработан подкомитетом SC 11 «Животные и растительные жиры и масла» Технического комитета ISO/TC 34 «Пищевые продукты» Международной организации по стандартизации (ISO)

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© ISO, 2006

© Оформление. ФГБУ «Институт стандартизации», 2024

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения 1
2 Термины и определения 1
3 Сущность метода 1
4 Реактивы и материалы 2
5 Оборудование 2
6 Отбор образцов 2
7 Приготовление анализируемой пробы 3
8 Методика определения 3
9 Вычисления 4
10 Процедурные требования 5
11 Прецизионность 6
12 Протокол испытаний 6
Приложение А (справочное) Результаты межлабораторных испытаний 7
Библиография 12

Введение

«Эквиваленты масла какао» — это общий термин для жиров, используемых для замены масла какао в шоколаде. Они очень близко напоминают масло какао по своему химическому составу и физическим свойствам, в результате чего их количественное определение (в некоторых случаях и качественное определение) является очень сложным. Эквиваленты масла какао по определению должны быть жирами с низким содержанием лауриновой кислоты, высоким содержанием симметричных мононенасыщенных триацилглицеролов (триглицеридов) типа 1,3-дипальмитоил-2-олеоилглицерола, 1-пальмитоил-2-олеоил-3-стеароилглицерола и 1,3-дистеароил-2-олеоилглицерола, способными смешиваться с маслом какао и получаемыми только путем очистки и фракционирования.

В соответствии с [1] в Европейском союзе по отдельности или в смесях могут использоваться следующие растительные жиры, полученные из приведенных ниже растений:

- масло мадуки длиннолистной (иллипе), борнейский жир или жир тенгкаванг (вид рода Shorea);
- пальмовое масло (Elaeis guineensis, Elaeis olifera);
- сал (шорея кистевая) (Shorea robusta);
- масло плодов масляного дерева (ши) (Butyrospermum parkii);
- масло кокум (Garcinia indica);
- масло косточек манго (Mangifera indica).

В ГОСТ ISO 23275-1 приведен метод качественного определения этих жиров (исключение делается только для образцов чистого масла иллипе) в масле какао и шоколаде. В настоящем стандарте приведен метод, позволяющий провести надежное количественное определение этих жиров при концентрации 5 %, соответствующей законодательно установленному пределу, утвержденному в [1].

Для более удобного пользования серией стандартов ISO 23275 был разработан набор инструментальных средств под названием CoCal-1. CoCal-1 состоит из валидированных методов качественного и количественного определения эквивалентов масла какао в шоколаде, сертифицированного стандартного образца масла какао (IRMM-801) для калибровки аналитических инструментов и электронной оценочной таблицы в Microsoft Excel© для вычисления окончательного результата. При проведении качественного и количественного определения эквивалентов масла какао требуется откалибровать газохроматографическую систему с использованием IRMM-801, разделить триглицериды анализируемого образца и применить электронную оценочную таблицу для последующей обработки данных.

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

Жиры и масла животные и растительные

ЭКВИВАЛЕНТЫ МАСЛА КАКАО В МАСЛЕ КАКАО И ШОКОЛАДЕ

Часть 2

Количественное определение 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

Дата введения — 2025—07—01
с правом досрочного применения

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод количественного определения эквивалентов масла какао (ЭМК) в масле какао (МК) и шоколаде путем разделения триацилглицеролов капиллярной газожидкостной хроматографией высокого разрешения с последующей оценкой данных при помощи регрессионного анализа методом частных наименьших квадратов.

Примечание — Наличие ЭМК в МК и шоколаде ниже уровня 0,6 % (при условии, что содержание жиров в шоколаде составляет 30 %) может быть определено по методу, приведенному в ISO 23275-1. Различие методов состоит в количестве триацилглицеролов, используемых для обработки данных, и в математической оценке данных. Наличие ЭМК устанавливают при помощи линейного регрессионного анализа, применяемого к соотношениям трех основных триацилглицеролов анализируемого жира. Количественное содержание ЭМК оценивают при помощи регрессионного анализа методом частных наименьших квадратов, применяемого к соотношениям пяти основных триацилглицеролов.

2 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

2.1 **эквиваленты масла какао** (cocoa butter equivalents): Жиры, определяемые в масле какао и шоколаде в соответствии с методом, описанным в настоящем стандарте.

2.2 **содержание эквивалентов масла какао в масле какао** (cocoa butter equivalents content of cocoa butter): Массовая доля веществ в масле какао, определяемых по методу, установленному в настоящем стандарте.

Примечание — Выражается в г/100 г масла какао.

2.3 **содержание эквивалентов масла какао в шоколаде** (cocoa butter equivalents content of chocolate): Массовая доля веществ в шоколаде, определяемых по методу, установленному в настоящем стандарте.

Примечание — Выражается в г/100 г шоколада.

3 Сущность метода

Масло какао или жир, выделенные из шоколада, разделяются при помощи газовой хроматографии высокого разрешения на триацилглицеролы в соответствии с их молекулярной массой и степенью ненасыщенности. Количественное содержание ЭМК оценивают при помощи регрессионного анализа методом частных наименьших квадратов, применяемого к отдельным триацилглицеролам анализируемого жира.

Издание официальное

4 Реактивы и материалы

Используются только реактивы признанного аналитического класса, если не указано иное.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Необходимо уделять внимание пунктам, которые описывают процедуры обращения с опасными веществами. Должны соблюдаться технические и организационные меры безопасности, а также меры личной безопасности.

4.1 Сертифицированный референсный материал (CPM) масла какао IRMM-801 [2] для калибровки и проверки пригодности системы.

4.2 Растворитель жиров, не содержащий хлора (например, диэтиловый эфир, *н*-гептан, изооктан).

4.3 Соляная кислота концентрацией 8 моль/л.

4.4 Гофрированный бумажный фильтр[1)] диаметром 15 см.

5 Оборудование

5.1 Аналитические весы с ценой деления 0,1 мг.

5.2 Сушильный шкаф, способный поддерживать температуру 55 °С. Может использоваться сухой нагревательный блок.

5.3 Пищевой измельчитель[2)] (т. е. кухонный блендер с расположением двигателя выше принимающего контейнера для предотвращения плавления образцов).

5.4 Мерные колбы вместимостью 20 $см^3$.

5.5 Пипетки вместимостью 1 $см^3$.

5.6 Микрошприц с максимальным объемом 10 $мм^3$, ценой деления 0,1 $мм^3$ или автоматический пробоотборник.

5.7 Газовый хроматограф (ГХ), оборудованный системой холодного ввода в колонку и пламенно-ионизационным детектором (ПИД).

Могут использоваться альтернативные системы ввода (например, инжектор с делением потока, температурно-программируемый испаритель (ТПИ) или инжектор с подвижной иглой) при условии, что получаемые результаты идентичны указанным в 10.2.

Удовлетворительные разделение и детектирование достигаются при соблюдении следующих экспериментальных условий:

- кварцевая хроматографическая колонка: длина — от 25 до 30 м, внутренний диаметр — 0,25 мм, толщина пленки термостабильного 50 %-ного фенилметилполисилоксана — от 0,1 до 0,15 мкм;
- температурная программа: начальная температура — 100 °С, скорость нагрева — 30 °С/мин, конечная температура — 340 °С;
- газ-носитель: гелий или водород (чистота ≥99,999 %).

Примечание — Подходящие колонки и альтернативные экспериментальные условия, использованные в международном совместном исследовании, приведены в приложении А. Рабочие условия могут быть изменены для получения оптимального разделения триацилглицеролов масла какао.

5.8 Хроматографическая система сбора и обработки данных.

5.9 Аппарат Сокслета со стандартными конусными соединениями и вместимостью сифона примерно 100 $см^3$ (экстракционная гильза 33 × 88 мм), колбой Эрленмейера на 250 $см^3$ и температурно-регулируемым кожухом.

6 Отбор образцов

Репрезентативную пробу направляют в лабораторию без повреждения или изменения в ходе транспортирования и хранения.

Отбор образцов не является частью метода, описанного в настоящем стандарте. Рекомендуемый метод отбора образцов приведен в [3].

---

1) Средний бумажный фильтр S&S 589 — пример коммерчески доступного изделия.

2) Philips HR2833 — пример коммерчески доступного изделия.

Данная информация приведена для удобства применения настоящего стандарта, не является рекламной поддержкой ISO данных изделий и не исключает возможности использования других изделий с аналогичными свойствами.

7 Приготовление анализируемой пробы

7.1 Приготовление СРМ масла какао для калибровки и проверки пригодности системы

До вскрытия и использования СРМ масла какао (см. 4.1) ампулу нагревают в сушильном шкафу (см. 5.2) до плавления содержимого. После получения прозрачного раствора перемешивают содержимое путем переворачивания ампулы в течение не менее 20 с. Затем ампулу вскрывают и переносят содержимое в чистую виалу, которую плотно закрывают и хранят в прохладном месте для последующего использования в токе азота.

7.2 Приготовление образца шоколада

Охлаждают примерно 200 г шоколада до затвердевания и натирают на мелкие гранулы при помощи механического устройства (см. 5.3). Тщательно перемешивают и хранят в плотно закрытой емкости в холодильнике.

8 Методика определения

8.1 Экстракция жира

8.1.1 Выделяют жир и определяют его содержание в образце шоколада (приготовленного по 7.2) путем экстрагирования при помощи аппарата Сокслета [4], как указано ниже. В мензурку вместимостью от 300 до 500 см^3 взвешивают от 4 до 5 г шоколада. Медленно, при помешивании, прибавляют 45 см^3 кипящей воды для получения гомогенной суспензии. Добавляют 55 см^3 HCl (см. 4.3) и обезжиренные центры кипения, затем перемешивают. Накрывают часовым стеклом, медленно доводят раствор до кипения и кипятят в течение 15 мин. Часовое стекло промывают 100 см^3 воды. Фильтруют раствор через бумажный фильтр средней плотности (см. 4.4) или аналогичный, три раза промывают мензурку водой. Продолжают промывку до тех пор, пока последняя порция фильтрата не будет содержать ионы хлора. Помещают фильтр с образцом в обезжиренную экстракционную гильзу и сушат в течение 2 ч в маленькой мензурке при температуре 100 °С. Мензурку закрывают стекловатой.

В колбу Эрленмейера вместимостью 250 см^3 помещают несколько обезжиренных центров кипения и сушат в течение 1 ч при температуре 100 °С. Охлаждают колбу до комнатной температуры в эксикаторе, затем взвешивают ее. Помещают экстракционную гильзу с высушенным образцом в аппарат Сокслета (см. 5.9), закрепив ее при помощи спиральных или стеклянных держателей. Промывают мензурки, использованные для гидролиза и сушки, а также часовое стекло тремя порциями растворителя по 50 см^3, добавляют смыв в экстракционную гильзу. Гидролизованный образец подвергают экстракции в течение 4 ч, корректируя температуру таким образом, чтобы проводилось более 30 экстракционных циклов. Снимают колбу и выпаривают растворитель. Сушат колбу при температуре 102 °С до постоянной массы (1,5 ч). Охлаждают колбу в эксикаторе до комнатной температуры, затем взвешивают ее. Массу считают постоянной, если в последовательных периодах сушки ее потеря составляет менее 0,05 %. Расхождения между параллельными определениями жира должны быть в пределах 0,1 %.

Общее содержание жира в шоколаде c_{fat}, г/100 г, вычисляют по формуле

$$c_{fat} = \frac{m_{fat} \cdot 100}{m}, \quad (1)$$

где m_{fat} — общее количество жира, полученное при экстракции, г;

m — масса анализируемой порции шоколада, г.

Могут использоваться альтернативные процедуры экстрагирования (например, ускоренное экстрагирование растворителем, сверхкритическим углекислым газом или микроволновая экстракция) при условии, что получаются идентичные результаты.

Содержание жира округляют до двух десятичных знаков.

8.2 Разделение триацилглицеролов методом газовой хроматографии высокого разрешения

Анализируемые образцы [масло какао; жир, экстрагированный из шоколада; СРМ масла какао (см. 4.1)] подогревают в сушильном шкафу (см. 5.2) до полного плавления. Если расплавленный образец содержит осадок, то образец фильтруют внутри шкафа для получения чистого фильтрата. Пи-

петки или аналогичное оборудование, используемые для переноса образца в процессе взвешивания, нагревают примерно до температуры 55 °С в сушильном шкафу (см. 5.2), чтобы избежать частичного фракционирования жиров.

Взвешивают примерно 0,2 г анализируемого образца, помещают в мерную колбу на 20 $см^3$ (см. 5.4), доводят до отметки подходящим растворителем для жиров (см. 4.2). 1 $см^3$ полученного раствора переносят пипеткой (см. 5.5) в другую мерную колбу вместимостью 20 $см^3$ и доводят до метки тем же растворителем.

Инжектируют от 0,5 до 1,0 мкл конечного анализируемого раствора (концентрация анализируемого образца 0,5 $мг/см^3$) в хроматографическую систему высокого разрешения, используя систему холодного ввода на колонку.

Могут использоваться альтернативные значения объема и концентрации пробы, а также инжекторы при условии, что система детектирования дает линейную зависимость и выполняются требования пригодности системы (см. 10.2).

8.3 Идентификация

Идентификацию пяти основных триацилглицеролов [1,3-дипальмитоил-2-олеоилглицерол (POP), 1-пальмитоил-2-олеоил-3-стеароилглицерол (POS), 1-пальмитоил-2,3-диолеоилглицерол (POO), 1,3-дистеароил-2-олеоилглицерол (SOS) и 1-стеароил-2,3-диолеоилглицерол (SOO)] анализируемого образца осуществляют путем сравнения их времени удерживания со временем удерживания триацилглицеридов СРМ масла какао (см. 4.1). В целом триацилглицеролы выходят в порядке увеличения количества атомов углерода и увеличения числа двойных связей при одинаковом числе атомов углерода. Порядок выхода триацилглицеролов масла какао приведен на рисунке А.1 (приложение А).

9 Вычисления

9.1 Определение факторов отклика

Определяют факторы отклика триацилглицеролов POP, POS, POO, SOS и SOO инжекцией раствора СРМ масла какао при экспериментальных условиях, идентичных тем, которые используют при анализе образцов. Вычисляют процентное содержание каждого из пяти триацилглицеролов по формулам:

$$P_{\text{ref},i} = \frac{A_{\text{ref},i}}{\sum A_{\text{ref},i}} \cdot 100\ \%, \tag{2}$$

$$F_i = \frac{w_{\text{ref},i}}{P_{\text{ref},i}}, \tag{3}$$

где $P_{\text{ref},i}$ — процент i-го триацилглицерола в СРМ масла какао (по площадям пиков);

$A_{\text{ref},i}$ — площадь пика i-го триацилглицерола в СРМ масла какао;

$\sum A_{\text{ref},i}$ — сумма площадей пиков POP, POS, POO, SOS и SOO в СРМ масла какао;

F_i — фактор отклика i-го триацилглицерола в СРМ масла какао;

$w_{\text{ref},\,i}$ — значение массовой доли i-го триацилглицерола в СРМ масла какао, %, указанное в сертификате [2].

Результаты округляют до двух десятичных знаков.

9.2 Вычисление процентного содержания триацилглицеролов

Вычисляют процентное содержание триацилглицеролов POP, POS, POO, SOS и SOO в тестируемом образце по формуле

$$w_{\text{test},i} = \frac{F_i \cdot A_{\text{test},i}}{\sum\left(F_i \cdot A_{\text{test},i}\right)} \cdot 100\ \%, \tag{4}$$

где $w_{\text{test},i}$ — массовая доля i-го триацилглицерола в тестируемом образце, %;

$A_{\text{test},i}$ — площадь пика соответствующего i-го триацилглицерола в тестируемом образце;

F_i — фактор отклика i-го триацилглицерола, определенный по 9.1.

Результаты округляют до двух десятичных знаков.

9.3 Вычисление содержания эквивалентов масла какао в масле какао

Содержание ЭМК в масле какао $c_{CBE,CB}$, г/100 г, рассчитывают с использованием регрессионного анализа методом частных наименьших квадратов [формула (5)] по нормализированному содержанию пяти основных триацилглицеролов, т. е. содержание POP + содержание POS + содержание POO + содержание SOS + содержание SOO = 100 %, определенному по формуле (4)

$$c_{CBE,CB} = 37{,}439 + 1{,}175 \cdot POP - 1{,}939 \cdot POS - 0{,}121 \cdot POO + 0{,}982 \cdot SOS - 0{,}097 \cdot SOO. \quad (5)$$

Результаты округляют до двух десятичных знаков, г/100 г.

Формула (5) была выведена с использованием калибровочного набора из 798 смесей МК/ЭМК, содержащих 10 %, 15 % и 20 % ЭМК. Обязательное использование СРМ масла какао для калибровочных целей и проверки пригодности системы обеспечивает высокую сопоставимость результатов между отдельными испытательными лабораториями и стандартизирует разработанный метод [5].

В 99 % случаев при использовании имеющихся в продаже жиров для формирования смеси ошибка определения не превышает ±2,60 % относительно масла какао.

9.4 Вычисление содержания эквивалентов масла какао в шоколаде

Содержание ЭМК в шоколаде $c_{CBE,choc}$, г/100 г, рассчитывают по формуле

$$c_{CBE,chok} = \frac{c_{fat} \cdot c_{CBE,CB}}{100}, \quad (6)$$

где c_{fat} — общее содержание жира в шоколаде, г/100 г, определенное по 8.1;

$c_{CBE,CB}$ — содержание ЭМК в масле какао, г/100 г, определенное по 9.3.

Результаты округляют до двух десятичных знаков.

В 99 % случаев при использовании имеющихся в продаже жиров для формирования смеси ошибка определения не превышает ±0,78 % относительно шоколада (при допущении, что содержание жиров в шоколаде составляет 30 %).

10 Процедурные требования

10.1 Общие положения

Процедура хроматографического анализа, помимо других факторов, зависит от оборудования, типа, степени износа, производителя колонки, способа введения анализируемого раствора, объема инжектируемой пробы и детектора. Могут использоваться колонки различной длины и производителей, а также варьироваться объемы инжектируемых проб, если выполняются требования пригодности системы (см. 10.2).

10.2 Пригодность хроматографической системы

Для проверки пригодности хроматографической системы должен использоваться СРМ масла какао (см. 4.1).

a) Разрешение

Хроматографическая система должна быть способной разделять критические пары POS/POO и SOS/SOO с разрешением не менее 1,0. В противном случае условия хроматографирования (например, объем инжектируемой пробы, температура колонки, скорость потока газа-носителя) должны быть оптимизированы.

b) Определение факторов отклика детектора

Для проверки предположения, что факторы отклика пламенно-ионизационного детектора для триацилглицеролов незначительно отличаются от единицы, необходимо проанализировать СРМ масла какао, применяя стандартные условия хроматографирования. Опыт показывает, что для нормально функционирующей системы факторы отклика пяти основных триацилглицеролов (POP, POS, POO, SOS, SOO) варьируются в диапазоне от 0,80 до 1,20.

11 Прецизионность

11.1 Межлабораторные испытания

Результаты межлабораторных испытаний относительно прецизионности метода приведены в приложении А. Значения, полученные в ходе проведенных межлабораторных испытаний, не могут быть применимы к диапазонам концентраций и матрицам, отличным от указанных.

11.2 Повторяемость

Абсолютная разность между результатами двух независимых единичных испытаний, полученными при использовании одного метода и идентичного анализируемого материала в одной и той же лаборатории тем же оператором на одном и том же оборудовании в течение короткого промежутка времени, не более чем в 5 % случаев (при доверительной вероятности P = 0,95) будет больше, чем 0,721 г/100 г относительно масла какао и 0,216 г/100 г относительно шоколада (при допущении, что содержание жиров в шоколаде составляет 30 %).

Значения предела повторяемости r, полученные в ходе валидационных исследований, приведены в таблицах А.2 — А.4 (приложение А).

11.3 Воспроизводимость

Абсолютная разность между результатами двух независимых единичных испытаний, полученными при использовании одного метода и идентичного анализируемого материала в разных лабораториях разными операторами с использованием различного оборудования, не более чем в 5 % случаев будет больше, чем 1,719 г/100 г относительно масла какао и 0,516 г/100 г относительно шоколада (при допущении, что содержание жиров в шоколаде составляет 30 %).

Значения предела воспроизводимости R, полученные в ходе валидационных исследований, приведены в таблицах А.2 — А.4 (приложение А).

12 Протокол испытаний

Протокол испытаний должен содержать:

a) всю информацию, необходимую для полной идентификации образца;

b) метод отбора образцов, если известен;

c) использованный метод тестирования со ссылкой на настоящий стандарт;

d) все подробности работы, не указанные в настоящем стандарте или считающиеся дополнительными, вместе с подробностями любых инцидентов, которые могут повлиять на результаты испытаний;

e) полученные результаты испытаний или конечный полученный результат, если проверялась повторяемость.

Приложение А
(справочное)

Результаты межлабораторных испытаний

Метод был валидирован в 2002 году в ходе европейских межлабораторных испытаний, в которых принимали участие 13 лабораторий [6], [7]. Метод был валидирован для уровней ЭМК примерно 5 % ЭМК в шоколаде, т. е. примеси составляли 15, 25 и 30 г ЭМК/100 г масла какао, что соответствовало 4,5, 7,5 и 9,0 г ЭМК/100 г шоколада (при допущении, что содержание жиров в шоколаде составляло 30 %).

В таблице А.1 приведены приемлемые газохроматографические условия[1)]. Пример профиля триацилглицеролов ЭМК масла какао приведен на рисунке А.1. Данные прецизионности приведены в таблицах А.2—А.4.

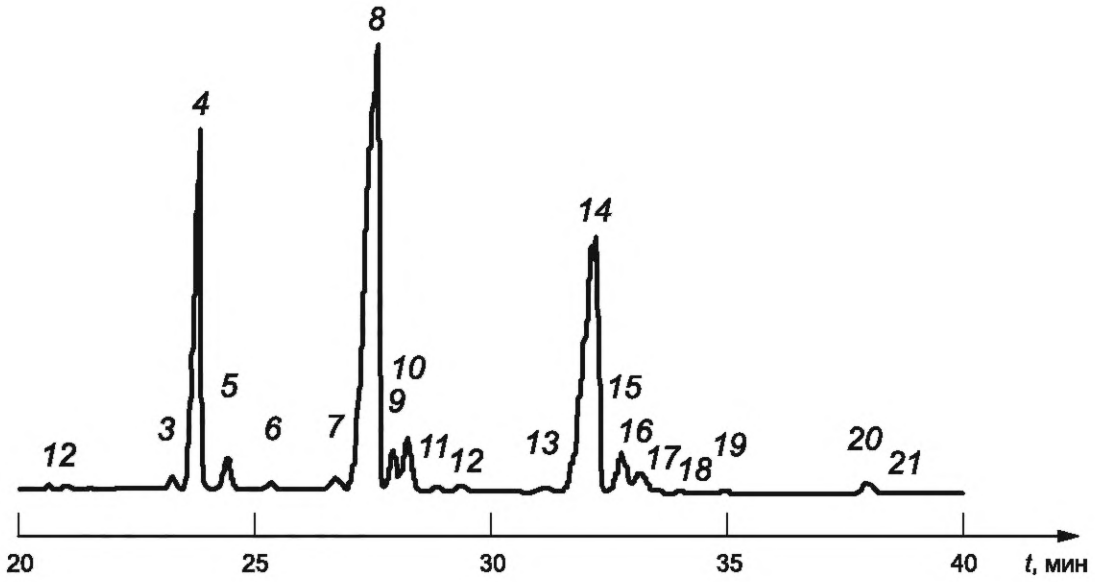
Таблица А.1 — Приемлемые газохроматографические условия, используемые для анализа триацилглицеролов масла какао, эквивалентов масла какао, смесей масла какао/эквивалентов масла какао и шоколада

Возможный метод	1	2	3	4	5
Характеристики колонки:					
- неподвижная фаза	DB-17HT	RTx-65TG	CB-TAP	RTx-65TG	CB-TAP
- длина, м	30	30	25	30	25
- внутренний диаметр, мм	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
- толщина пленки, мкм	0,15	0,1	0,1	0,1	0,1
Температурный режим (термостат):					
- начальная температура, °С/время поддержания, мин	80/2	340/1	280/0	100/0,5	340/0
- программируемая скорость 1, °С/мин	50	1	10	50	1
- температура 1, °С/время поддержания, мин	300/0	—	320/0	330/2	—
- программируемая скорость 2, °С/мин	30	—	2	1	—
- температура 2, °С/время поддержания, мин	—	—	—	—	—
- программируемая скорость 3, °С/мин	—	—	—	—	—
- конечная температура, °С/время поддержания, мин	350/30	360/3	360/6	350/5	360/10
- температура инжектора, °С	Термостат	390	370	Термостат	360
- температура детектора, °С	360	370	370	355	360
Режим введения	В колонку	С делением потока	С делением потока	В колонку	С делением потока
Газ-носитель:					
- тип	H_2	H_2	H_2	He	He
- давление, кПа	—	120	100	—	150
- скорость потока, $см^3$/мин	0,8	—	—	0,8	—
Проба					
- концентрация, мг/$см^3$	0,3	50	12,5	0,3	—
- вводимый объем, $мм^3$	0,5	0,1	0,6	0,5	1

[1)] Указанные типы колонок являются примерами коммерчески доступного изделия. Данная информация приведена для удобства применения настоящего стандарта, не является рекламной поддержкой ISO данных изделий и не исключает возможность использования других изделий с аналогичными свойствами.

Окончание таблицы А.1

Возможный метод	6	7	8	9	10	11
Характеристики колонки:						
- неподвижная фаза	RTx-65TG	CB-TAP	DB-17HT	CB-TAP	CB-TAP	CB-TAP
- длина, м	30	25	30	25	25	25
- внутренний диаметр, мм	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
- толщина пленки, мкм	0,1	0,1	0,15	0,1	0,1	0,1
Температурный режим (термостат):						
- начальная температура, °С/время поддержания, мин	200/0	100/0,1	50/2	200/2	100/1	200/2
- программируемая скорость 1, °С/мин	15	70	50	20	30	12
- температура 1, °С/время поддержания, мин	360/0	—	300/1	320/0	300/2	—
- программируемая скорость 2, °С/мин	1	—	10	1	30	—
- температура 2, °С/время поддержания, мин	—	—	340/2	—	—	—
- программируемая скорость 3, °С/мин	—	—	0,5	—	—	—
- конечная температура, °С/время поддержания, мин	370	350/21	345/26	360/10	340/35	350/10
- температура инжектора, °С	390	Термостат	50	65-220-370	100	—
- температура детектора, °С	390	360	360	370	360	360
Режим введения	С делением потока	В колонку	В колонку	В колонку	В колонку	В колонку (горячий)
Газ-носитель:						
- тип	H_2	H_2	H_2	He	H_2	H_2
- давление, кПа	150	—	120	90	150	—
- скорость потока, $см^3$/мин	—	1	—	—	—	2,4
Проба						
- концентрация, $мг/см^3$	10	15	0,5	1—2	0,5	0,65
- вводимый объем, $мм^3$	0,5	0,5	0,5	0,1	0,4	0,3



Идентификация пиков: 1, PPP; 2, MOP; 3, PPS; 4, POP; 5, PLP; 6, не идентифицирован; 7, PSS; 8, POS; 9, POO; 10, PLS; 11, PLO; 12, не идентифицирован; 13, SSS; 14, SOS; 15, SOO; 16, SLS + OOO; 17, SLO;18, не идентифицирован; 19, не идентифицирован; 20, SOA; 21, AOO

Рисунок А.1 — Профиль триацилглицеролов сертифицированного стандартного образца масла какао

Экспериментальные условия

Газохроматографическая колонка:	кварцевая капиллярная колонка 25 м × 0,25 мм с 0,1 мкм Chrompack TAP.
Температура термостата колонки:	100 °С поддерживается в течение 1 мин; от 30 °С/мин до 340 °С поддерживается в течение 35 мин.
Ввод пробы:	холодный в колонку.
Детектор (ПИД):	360 °С.
Газ-носитель:	H_2, 1,6 бар.
Вводимое количество:	0,5 мкл раствора концентрацией 0,5 мг/см^3.

Сокращения

PPP — трипальмитин.

MOP — 1-маргароил-2-олеоил-3-пальмитоилглицерол.

PPS — 1,2-дипальмитоил-3-стеароилглицерол.

POP — 1,3-дипальмитоил-2-олеоилглицерол.

PLP — 1,3-дипальмитоил-2-линолеоилглицерол.

PSS — 1-пальмитоил-2,3-диастеароилглицерол.

POS — 1-пальмитоил-2-олеоил-3-стеароилглицерол.

POO — 1-пальмитоил-2,3-диолеоилглицерол.

PLS — 1-пальмитоил-2-линолеоил-3-стеароилглицерол.

PLO — 1-пальмитоил-2-линолеоил-3-олеоилглицерид.

SSS — тристеарин.

SOS — 1,3-дистеароил-2-олеоилглицерол

SOO — 1-стеароил-2,3-диолеоилглицерол.

SLS — 1,3-дистеароил-2-линолеоилглицерол.

OOO — триолеин.

SLO — 1-стеароил-2-линолеоил-3-олеоилглицерол.

SOA — 1-стеароил-2-олеоил-арахидоилглицерол.

AOO — 1-арахидоил-2,3-диолеоилглицерол

Таблица А.2 — Данные прецизионности для образцов шоколада и смесей масла какао/эквивалентов масла какао, приготовленных с использованием масла какао из Гренады и эквивалентов масла какао вида «средняя фракция пальмового масла/(ши + иллипе)» (массовые доли 35 % и 65 %)

Образец	Образец шоколада	Низкий уровень	Средний уровень	Высокий уровень
Количество лабораторий	13	13	13	13
Количество выбросов	1	1	0	0
Количество приемлемых результатов	12	12	13	13
Среднее значение, г ЭМК/100 г МК	13,992	15,142	24,798	29,563
Истинное значение, г ЭМК/100 г МК	—	14,790	24,920	30,010
Смещение, г ЭМК/100 г МК	—	−0,352	0,122	0,447
Стандартное отклонение повторяемости s_r, г/100 г	0,258	0,167	0,181	0,222
Относительное стандартное отклонение повторяемости, %	1,84	1,11	0,73	0,75
Предел повторяемости r [= 2,83 × s_r], г/100 г	0,721	0,469	0,506	0,623
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R, г/100 г	0,614	0,357	0,410	0,541
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости, %	4,39	2,36	1,65	1,83
Предел воспроизводимости R [= 2,83 × s_R], г/100 г	1,719	1,000	1,148	1,514

Таблица А.3 — Данные прецизионности для смесей масла какао/эквивалентов масла какао, приготовленных с использованием масла какао из Ганы и эквивалентов масла какао вида «средняя фракция пальмового масла/ши» (массовые доли 50 % и 50 %)

Образец	Низкий уровень	Средний уровень	Высокий уровень
Количество лабораторий	13	13	13
Количество выбросов	2	1	0
Количество приемлемых результатов	11	12	13
Среднее значение, г ЭМК/100 г МК	16,627	25,871	30,686
Истинное значение, г ЭМК/100 г МК	15,070	24,900	30,010
Смещение, г ЭМК/100 г МК	–1,557	–0,971	–0,676
Стандартное отклонение повторяемости s_r, г/100 г	0,214	0,258	0,158
Относительное стандартное отклонение повторяемости, %	1,29	1,00	0,51
Предел повторяемости r [= 2,83 × s_r], г/100 г	0,599	0,722	0,442
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R, г/100 г	0,229	0,427	0,452
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости, %	1,37	1,65	1,47
Предел воспроизводимости R [= 2,83 × s_R], г/100 г	0,640	1,196	1,265

Таблица А.4 — Данные прецизионности для смесей масла какао/эквивалентов масла какао, приготовленных с использованием масла какао из Кот-д'Ивуар и эквивалентов масла какао вида «средняя фракция пальмового масла/сал/манго» (массовые доли 50 %, 25 % и 25 %)

Образец	Низкий уровень	Средний уровень	Высокий уровень
Количество лабораторий	13	13	13
Количество выбросов	0	0	0

Окончание таблицы А.4

Образец	Низкий уровень	Средний уровень	Высокий уровень
Количество приемлемых результатов	13	12	13
Среднее значение, г ЭМК/100 г МК	15,655	24,170	28,535
Истинное значение, г ЭМК/100 г МК	14,970	24,970	29,960
Смещение, г ЭМК/100 г МК	−0,685	0,800	1,425
Стандартное отклонение повторяемости s_r, г/100 г	0,223	0,189	0,222
Относительное стандартное отклонение повторяемости, %	1,43	0,78	0,78
Предел повторяемости r [= 2,83 × s_r], г/100 г	0,625	0,530	0,621
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R, г/100 г	0,309	0,356	0,406
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости, %	1,98	1,47	1,42
Предел воспроизводимости R [= 2,83 × s_R], г/100 г	0,866	0,997	1,138

Библиография

[1] Directive 2000/36/EC of the European Parliament and of the Council of 23 June 2000 relating to cocoa and chocolate products intended for human consumption. Official Journal, L 197, 03/08/2003, 19—25 (Директива Европейского парламента и совета ЕС 2000/36 от 23 июня 2000 г., касающаяся продуктов из какао и шоколада, предназначенных для потребления в пищу)

[2] KOEBER R., BUCHGRABER M., ULBERTH F., BACAROLO R., BERNREUTHER A., SCHIMMEL H., ANKLAM E. and Pauwels J. The certification of the content of five triglycerides in cocoa butter, 2003, EUR 20781 EN, ISBN 92-894-6036-9 (Сертификация содержания пяти триацилглицеридов в масле какао)

[3] ISO 5555:2001[1)] Animal and vegetable fats and oils — Sampling (Жиры и масла животные и растительные. Отбор проб)

[4] Official Methods of Analysis of AOAC International, AOAC Official Method 963.15: Fat in Cacao Products, 1995 (Жир в какао-продуктах)

[5] BUCHGRABER M., SENALDI Ch., ULBERTH F. and ANKLAM E. Detection and quantification of cocoa butter equivalents in cocoa butter and plain chocolate by gas liquid chromatography of triacylglycerols. J. AOAC Internat, 87, 2004, pp. 1153—1163 (Определение наличия и количественное определение эквивалентов масла какао в масле какао и шоколаде путем разделения триацилглицеридов газожидкостной хроматографией)

[6] BUCHGRABER M., ULBERTH F. and ANKLAM E. Method validation for detection and quantification of cocoa butter equivalents in cocoa butter and plain chocolate. J. AOAC Internat, 87, 2004, pp. 1164—1172 (Валидация метода определения наличия и количественного определения эквивалентов масла какао в масле какао и шоколаде)

[7] BUCHGRABER and ANKLAM E. Validation of a method for the detection of cocoa butter equivalents in cocoa butter and plain chocolate, 2003, EUR 20685 EN, ISBN 92-894-5510-1 (Валидация метода определения наличия эквивалентов масла какао в масле какао и шоколаде)

[1)] Официальный перевод этого стандарта находится в национальных фондах стандартов.

УДК 663.918:006.354 МКС 67.190 67.200.10 IDT

Ключевые слова: жиры растительные, жиры животные, масла растительные, масла животные, масло какао, эквиваленты масла какао, шоколад, триацилглицеролы, метод газовой хроматографии

Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Л.С. Лысенко*
Компьютерная верстка *Е.О. Асташина*

Сдано в набор 24.06.2024. Подписано в печать 11.07.2024. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,48.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении в ФГБУ «Институт стандартизации»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru