ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

СТБ ISO 23275-1-2009

Жиры и масла животные и растительные

ЭКВИВАЛЕНТЫ КАКАО-МАСЛА В КАКАО-МАСЛЕ И ШОКОЛАДЕ

Часть 1

Определение наличия эквивалентов какао-масла

Тлушчы жывёльныя і раслінныя, маслы жывёльныя і алей

ЭКВІВАЛЕНТЫ КАКАВА-МАСЛА Ў КАКАВА-МАСЛЕ І ШАКАЛАДЗЕ

Частка 1

Вызначэнне наяўнасці эквівалентаў какава-масла

(ISO 23275-1:2006, IDT)

Издание официальное

53 4-2009

Госстандарт
Минск

gost.e-ecolog.ru

УДК 665.355.97(083.74)(476) МКС 67.190; **67.200.10** КП 02 IDT

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

ОКП РБ 15.84.12.000

Предисловие

Цели, основные принципы, положения по государственному регулированию и управлению в области технического нормирования и стандартизации установлены Законом Республики Беларусь «О техническом нормировании и стандартизации».

1 ПОДГОТОВЛЕН республиканским унитарным предприятием «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по продовольствию»

ВНЕСЕН Белорусским государственным концерном пищевой промышленности «Белгоспищепром»

2 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ постановлением Госстандарта Республики Беларусь от 24 апреля 2009 г. № 19

3 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 23275-1:2006 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 (Жиры и масла животные и растительные. Эквиваленты какао-масла в какао-масле и шоколаде. Часть 1. Определение наличия эквивалентов какао-масла)

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

Перевод с английского языка (en).

Официальный экземпляр международного стандарта, на основе которого подготовлен настоящий государственный стандарт, имеется в Национальном фонде ТНПА.

Степень соответствия – идентичная (IDT)

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

© Госстандарт, 2009

Настоящий стандарт не может быть воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Госстандарта Республики Беларусь

Издан на русском языке

Содержание

Введение IV
1 Область применения 1
2 Термины и определения 1
3 Сущность метода 1
4 Реактивы и материалы 1
5 Оборудование 2
6 Отбор образцов 2
7 Приготовление анализируемой пробы 2
7.1 Приготовление сертифицированного стандартного материала какао-масла для калибровки и проверки пригодности системы 2
7.2 Приготовление образца шоколада 2
8 Методика определения 3
8.1 Экстрагирование жиров 3
8.2 Разделение триацилглицеридов методом газовой хроматографии высокого разрешения 3
8.3 Идентификация 3
9 Вычисления 3
9.1 Определение факторов отклика 3
9.2 Вычисление процентного содержания триацилглицеридов 4
9.3 Заключение, является ли образец чистым какао-маслом 4
10 Процедурные требования 4
10.1 Общие положения 4
10.2 Пригодность хроматографической системы 4
11 Прецизионность 5
11.1 Межлабораторные испытания 5
11.2 Повторяемость 5
11.3 Воспроизводимость 5
12 Протокол испытаний 5
Приложение А (справочное) Результаты межлабораторных испытаний 6
Библиография 11

Введение

«Эквиваленты какао-масла» – это общий термин для жиров, используемых для замены какао-масла в шоколаде. Они очень близко напоминают какао-масло по своему химическому составу и физическим свойствам, в результате чего их количественное определение (в некоторых случаях и качественное определение) является очень сложным. Эквиваленты какао-масла по определению должны быть жирами с низким содержанием лауриновой кислоты, высоким содержанием симметричных мононенасыщенных триацилглицеридов типа 1,3-дипалмитоил-2-олеоилглицерида, 1-палмитоил-2-олеоил-3-стеароилглицерида и 1,3-дистеароил-2-олеоилглицерида, способными смешиваться с какао-маслом 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 настоящем стандарте приведен метод качественного определения этих жиров (исключение делается только для образцов чистого иллипе) в какао-масле и шоколаде. В ISO 23275-2 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 какао-масла в шоколаде, сертифицированного стандартного материала какао-масла (IRMM-801) для калибровки аналитических инструментов и электронной оценочной таблицы в Microsoft Excel© для вычисления окончательного результата. При проведении качественного и количественного определения эквивалентов какао-масла требуется откалибровать газохроматографическую систему с использованием IRMM-801, разделить триацилглицериды анализируемого образца и применить электронную оценочную таблицу для последующей обработки данных.

Информация относительно CoCal-1 доступна на веб-сайте Института стандартных материалов и измерений: gost.e-ecolog.ru

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

Жиры и масла животные и растительные ЭКВИВАЛЕНТЫ КАКАО-МАСЛА В КАКАО-МАСЛЕ И ШОКОЛАДЕ Часть 1 Определение наличия эквивалентов какао-масла

Тлушчы жывёльныя і раслінныя, маслы жывёльныя і алей ЭКВІВАЛЕНТЫ КАКАВА-МАСЛА Ў КАКАВА-МАСЛЕ І ШАКАЛАДЗЕ Частка 1 Вызначэнне наяўнасці эквівалентаў какава-масла

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

Дата введения 2009-10-01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод качественного определения эквивалентов какао-масла (ЭКМ) в какао-масле (КМ) и шоколаде путем разделения триацилглицеридов капиллярной газожидкостной хроматографией высокого разрешения с последующей оценкой данных при помощи регрессионного анализа.

Метод применим для детектирования 2 % ЭКМ в какао-масле, что соответствует около 0,6 % ЭКМ в шоколаде (при допущении, что содержание жиров в шоколаде составляет 30 %).

2 Термины и определения

В настоящем стандарте применяют следующий термин с соответствующим определением:

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

Примечание – Результат представляется как качественный, т. е. ЭКМ присутствуют/ЭКМ не присутствуют (ДА/НЕТ).

3 Сущность метода

Какао-масло или жир, выделенные путем экстракции растворителем из шоколада, разделяются при помощи газовой хроматографии высокого разрешения на триацилглицериды в соответствии с их молекулярной массой и степенью ненасыщенности. Наличие ЭКМ определяется при помощи линейного регрессионного анализа, применяемого к отдельным триацилглицеридам анализируемого жира.

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 стандартный материал какао-масла (ССМ) IRMM-801 [2] для калибровки и проверки пригодности системы.

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

Издание официальное

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 [1)] (т. е. кухонный блендер с расположением двигателя выше принимающего контейнера для предотвращения плавления образцов).

5.4 Ротационный испаритель

Могут использоваться альтернативные методы упаривания.

5.5 Пипетки с емкостью 1 мл.

5.6 Мерные колбы с емкостью 20 мл.

5.7 Микрошприц с максимальным объемом 10 мкл, ценой деления 0,1 мкл или автоматический пробоотборник.

5.8 Газовый хроматограф (ГХ), оборудованный системой холодного ввода на 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 до 340 °С (конечная температура) – 30 °С/мин;

– 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 триацилглицеридов какао-масла.

5.9 Хроматографическая система сбора и обработки данных

6 Отбор образцов

Репрезентативная проба направляется в лабораторию. Она не должна быть повреждена или изменена в ходе транспортировки и хранения.

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

7 Приготовление анализируемой пробы

7.1 Приготовление сертифицированного стандартного материала какао-масла для калибровки и проверки пригодности системы

До вскрытия и использования ССМ какао-масла (4.1) ампулу нагревают в сушильном шкафу (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.

7.2 Приготовление образца шоколада

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

[1)] Philips HR2833 – пример подходящего, имеющегося в продаже оборудования. Данная информация приведена для удобства пользователей и не подразумевает одобрения этого продукта со стороны ISO.

8 Методика определения

8.1 Экстрагирование жиров

Из навески тертого шоколада (7.2) массой от 10 до 40 г путем экстрагирования при помощи двух или трех порций растворителя по 100 мл (4.2) выделяют жир. Центрифугируют и декантируют. Объединяют экстракты и выпаривают большую часть растворителя (5.4), затем окончательно высушивают в токе азота.

Могут использоваться альтернативные процедуры экстрагирования (например, в аппарате Сокслета, сверхкритическим углекислым газом или микроволновая экстракция) при условии, что получаются идентичные результаты.

8.2 Разделение триацилглицеридов методом газовой хроматографии высокого разрешения

Анализируемые образцы [какао-масло; жир, экстрагированный из шоколада; ССМ какао-масла (4.1)] подогревают в сушильном шкафу (5.2) до полного плавления. Если расплавленный образец содержит осадок, то образец фильтруют внутри шкафа для получения чистого фильтрата. Пипетки или аналогичное оборудование, используемые для переноса образца в процессе взвешивания, нагревают примерно до температуры 55 °С в сушильном шкафу (5.2), чтобы избежать частичного фракционирования жиров.

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

Инжектируют от 0,5 до 1,0 мкл конечного анализируемого раствора (концентрация анализируемого образца 0,5 мг/мл) 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 (10.2).

8.3 Идентификация

Идентификация пяти основных триацилглицеридов [1,3-дипалмитоил-2-олеоилглицерид (POP), 1-палмитоил-2-олеоил-3-стеароилглицерид (POS), 1-пальмитоил-2,3-диолеоилглицерид (POO), 1,3-дистеароил-2-олеоилглицерид (SOS) и 1-стеароил-2,3-диолеоилглицерид (SOO)] анализируемого образца осуществляется путем сравнения их времен удерживания со временами удерживания триацилглицеридов ССМ какао-масла (4.1). В целом триацилглицериды выходят в порядке увеличения количества атомов углерода и увеличения числа двойных связей при одинаковом числе атомов углерода. Порядок выхода триацилглицеридов какао-масла приведен на рисунке А.1 (приложение А).

9 Вычисления

9.1 Определение факторов отклика

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

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

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

где $P_{ref,\,i}$ – процент i-го триацилглицерида в ССМ какао-масла (по площадям пиков);

$A_{ref,\,i}$ – площадь пика i-го триацилглицерида в ССМ какао-масла;

$\Sigma A_{ref,\,i}$ – сумма площадей пиков POP, POS, POO, SOS и SOO в ССМ какао-масла;

F_i – фактор отклика i-го триацилглицерида в ССМ какао-масла;

$w_{ref,\,i}$ – значение массовой доли i-го триацилглицерида в ССМ какао-масла, %, указанное в сертификате [2].

Результаты указывают до двух десятичных знаков.

9.2 Вычисление процентного содержания триацилглицеридов

Вычисляют процентное содержание триацилглицеридов POP, POS и SOS в тестируемом образце по формуле:

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

где $w_{test,i}$ – массовая доля *i*-го триацилглицерида в тестируемом образце, %;
$A_{test,i}$ – площадь пика соответствующего *i*-го триацилглицерида в тестируемом образце;
F_i – фактор отклика *i*-го триацилглицерида, определенный по 9.1.

Результаты указывают до двух десятичных знаков.

9.3 Заключение, является ли образец чистым какао-маслом

Вариативность триацилглицеридного состава какао-масла выражается формулой (4) при использовании нормализированного содержания триацилглицеридов, т. е. содержание POP + содержание POS + содержание SOS = 100 %, определяемого по формуле (3).

$$\mathrm{POP} = 43{,}734 - 0{,}733 \times \mathrm{SOS} \qquad (4)$$

(остаточное стандартное отклонение = 0,125).

Принцип метода состоит в том, что содержание POS в образцах какао-масла практически постоянно при большой вариативности содержания POP и SOS, связанных линейной зависимостью [так называемая КМ-линия, формула (4)]. Все смеси КМ/ЭКМ приведут к отклонению от КМ-линии в той степени, в которой их значение POS отличается от значения POS какао-масла. Формула (4) была выведена с использованием стандартизованной базы данных профилей триацилглицеридов 74 проанализированных и валидированных подлинных образцов какао-масел [4]. Для стандартизации применяемого аналитического метода при определении профилей триацилглицеридов был использован ССМ какао-масла (4.1).

В 99 % случаев чистое какао-масло соответствует:

$$\mathrm{POP} < 44{,}025 - 0{,}733 \times \mathrm{SOS}. \qquad (5)$$

Значение POP, большее чем определяемое (5), означает, что образец не является чистым какао-маслом. Преимущество разработанного подхода состоит в том, что при использовании ССМ какао-масла для калибровочных целей приведенное математическое выражение может использоваться для проверки чистоты какао-масла отдельными испытательными лабораториями без необходимости предварительного установления КМ-линии. Калибровка с использованием ССМ какао-масла автоматически связывает полученные в лаборатории результаты с базой данных триацилглицеридов какао-масла и разработанным правилом (5).

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 (10.2).

10.2 Пригодность хроматографической системы

Для проверки пригодности хроматографической системы должен использоваться ССМ какао-масла (4.1).

а) 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 триацилглицеридов незначительно отличаются от единицы, необходимо проанализировать ССМ какао-масла, применяя стандартные условия хроматографирования. Опыт показывает, что для нормально функционирующей системы факторы отклика пяти основных триацилглицеридов (POP, POS, POO, SOS, SOO) варьируют в диапазоне 0,80 – 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.

Примечание – В качестве вспомогательного средства для проверки надлежащего функционирования хроматографической системы в 11.2, 11.3 приведены данные о прецизионности для трех триацилглицеридов POP, POS, SOS (нормализованных к 100 %).

11.2 Повторяемость

Абсолютная разность между результатами двух независимых единичных испытаний, полученных 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:

r = 0,514 г/100 г – для значений POP в диапазоне от 18,99 г/100 г до 25,37 г/100 г;

r = 0,293 г/100 г – для значений POS в диапазоне от 43,76 г/100 г до 47,73 г/100 г;

r = 0,621 г/100 г – для значений SOS в диапазоне от 30,87 г/100 г до 33,80 г/100 г.

11.3 Воспроизводимость

Абсолютная разность между результатами двух независимых единичных испытаний, полученных 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:

R = 0,741 г/100 г – для значений POP в диапазоне от 18,99 г/100 г до 25,37 г/100 г;

R = 0,588 г/100 г – для значений POS в диапазоне от 43,76 г/100 г до 47,73 г/100 г;

R = 0,782 г/100 г – для значений SOS в диапазоне от 30,87 г/100 г до 33,80 г/100 г.

Примечание – Пределы повторяемости и воспроизводимости, полученные в ходе межлабораторных испытаний, являются индикативными и могут применяться для значений содержания триацилглицеридов за пределами указанных диапазонов (данные расширенных исследований [4]).

12 Протокол испытаний

В протоколе испытаний должны содержаться:

a) вся информация, необходимая 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 принимало участие 13 лабораторий [5], [6]. Результаты, полученные в ходе этих межлабораторных испытаний, указывают на то, что методика работает хорошо с пределом обнаружения не менее 2 % примеси ЭКМ в КМ, что соответствует 0,6 % ЭКМ в шоколаде (при допущении, что содержание жиров в шоколаде 30 %) без ошибочно-положительных или ошибочно-отрицательных результатов.

В таблице А.1 приведены приемлемые газохроматографические условия [2)]. Пример профиля триацилглицеридов ЭКМ какао-масла приведен на рисунке А.1. Данные прецизионности приведены в таблицах А.2 – А.5.

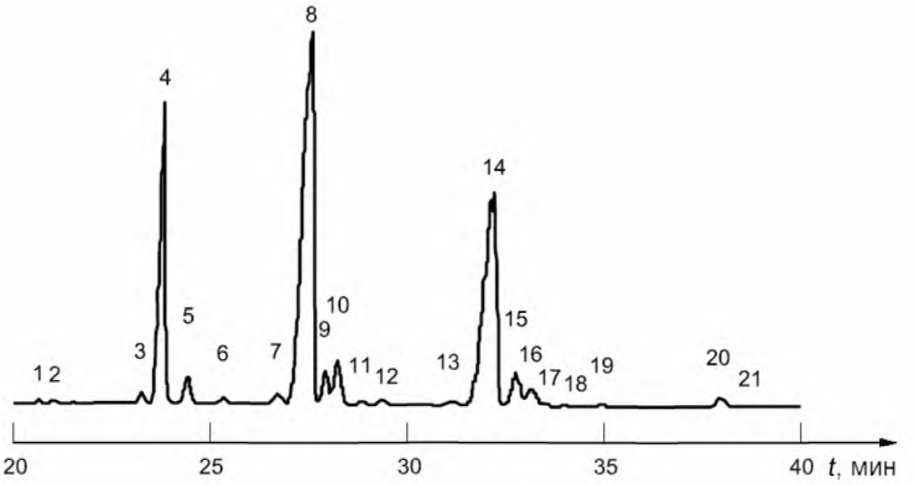
Таблица А.1 – Приемлемые газохроматографические условия, используемые для анализа триацилглицеридов какао-масла, эквивалентов какао-масла, смесей какао-масла/ эквивалентов какао-масла и шоколада

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	На колонку	С делением потока	С делением потока	На колонку	С делением потока
Газ-носитель:					
– тип	H_2	H_2	H_2	He	He
– давление, кПа	–	120	100	–	150
– скорость потока, мл/мин	0,8	–	–	0,8	–
Проба:					
– концентрация, мг/мл	0,3	50	12,5	0,3	–
– вводимый объем, мкл	0,5	0,1	0,6	0,5	1

[2)] Эти типы колонок являются примерами подходящих, коммерчески доступных продуктов. Данная информация предоставлена для удобства пользователей настоящего стандарта и не подразумевает поддержки этих продуктов со стороны ISO.

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	370/0	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	На колонку	На колонку	На колонку	На колонку	На колонку (горячий)
Газ-носитель:						
– тип	H_2	H_2	H_2	He	H_2	H_2
– давление, кПа	150	–	120	90	150	–
– скорость потока, мл/мин	–	1	–	–	–	2,4
Проба:						
– концентрация, мг/мл	10	15	0,5	1 – 2	0,5	0,65
– вводимый объем, мкл	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.

Экспериментальные условия

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

Сокращения

PPP – трипалмитин.
MOP – 1-маргароил-2-олеоил-3-палмитоилглицерид.
PPS – 1,2-дипалмитоил-3-стеароилглицерид.
POP – 1,3-дипалмитоил-2-олеоилглицерид.
PLP – 1,3-дипалмитоил-2-линолеоилглицерид.
PSS – 1-палмитоил-2,3-дистеароилглицерид.
POS – 1-палмитоил-2-олеоил-3-стеароилглицерид.
POO – 1-палмитоил-2,3-диолеоилглицерид.
PLS – 1-палмитоил-2-линолеоил-3-стеароилглицерид.
PLO – 1-палмитоил-2-линолеоил-3-олеоилглицерид.
SSS – тристеарин.
SOS – 1,3-дистеароил-2-олеоилглицерид.
SOO – 1-стеароил-2,3-диолеоилглицерид.
SLS – 1,3-дистеароил-2-линолеоилглицерид.
OOO – триолеин.
SLO – 1-стеароил-2-линолеоил-3-олеоилглицерид.
SOA – 1-стеароил-2-олеоил-3-арахидоилглицерид.
AOO – 1-арахидоил-2,3-диолеоилглицерид.

Рисунок А.1 – Профиль триацилглицеридов сертифицированного стандартного материала какао-масла

Таблица А.2 – Данные прецизионности для образцов чистого какао-масла

	Чистое КМ [a]			Чистое КМ [b]			Чистое КМ [c]		
	POP	POS	SOS	POP	POS	SOS	POP	POS	SOS
Количество лабораторий	13	13	13	13	13	13	13	13	13
Количество выбросов	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Количество приемлемых результатов	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Среднее значение, г/100 г	20,396	47,731	31,873	19,491	47,421	33,089	18,991	47,210	33,799
Стандартное отклонение повторяемости s_r, г/100 г	0,057	0,056	0,093	0,069	0,095	0,097	0,092	0,084	0,154
Относительное стандартное отклонение повторяемости, %	0,28	0,12	0,29	0,36	0,20	0,29	0,49	0,18	0,45
Предел повторяемости r [= 2,83 × s_r], г/100 г	0,160	0,157	0,261	0,194	0,265	0,271	0,258	0,236	0,430
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R, г/100 г	0,142	0,108	0,169	0,081	0,148	0,166	0,120	0,090	0,168
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости, %	0,70	0,23	0,53	0,42	0,31	0,50	0,63	0,19	0,50
Предел воспроизводимости R [= 2,83 × s_R], г/100 г	0,397	0,302	0,473	0,227	0,413	0,464	0,337	0,253	0,471

[a] Страна происхождения Гренада.
[b] Страна происхождения Гана.
[c] Страна происхождения Кот-д'Ивуар.

Таблица А.3 – Данные прецизионности для реальных образцов шоколада

	Шоколад с ЭКМ			Шоколад без ЭКМ		
	POP	POS	SOS	POP	POS	SOS
Количество лабораторий	13	13	13	13	13	13
Количество выбросов	2	2	2	1	1	1
Количество приемлемых результатов	11	11	11	12	12	12
Среднее значение, г/100 г	25,375	43,757	30,868	19,740	47,401	32,859
Стандартное отклонение повторяемости s_r, г/100 г	0,128	0,101	0,180	0,089	0,070	0,074
Относительное стандартное отклонение повторяемости, %	0,50	0,23	0,58	0,45	0,15	0,23
Предел повторяемости r [= 2,83 × s_r], г/100 г	0,358	0,282	0,503	0,250	0,195	0,208
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R, г/100 г	0,265	0,210	0,198	0,120	0,106	0,111
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости, %	1,04	0,48	0,64	0,61	0,22	0,34
Предел воспроизводимости R [= 2,83 × s_R], г/100 г	0,741	0,588	0,553	0,335	0,298	0,310

Таблица А.4 – Данные прецизионности для какао-масла с 2 % примеси эквивалентов какао-масла

	2,06 % ЭКМ/КМ [a]			1,98 % ЭКМ/КМ [b]			2,04 % ЭКМ/КМ [c]			2,09 % ЭКМ/КМ [d]		
	POP	POS	SOS	POP	POS	SOS	POP	POS	SOS	POP	POS	SOS
Количество лабораторий	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
Количество выбросов	0	0	0	1	1	1	2	2	2	1	1	1
Количество приемлемых результатов	13	13	13	12	12	12	11	11	11	12	12	12
Среднее значение, г/100 г	20,611	47,082	32,307	19,938	46,795	33,267	19,698	46,619	33,682	19,859	46,646	33,495
Стандартное отклонение повторяемости s_r, г/100 г	0,184	0,095	0,222	0,050	0,070	0,082	0,093	0,063	0,137	0,029	0,083	0,077
Относительное стандартное отклонение повторяемости, %	0,89	0,20	0,69	0,25	0,15	0,25	0,47	0,14	0,41	0,14	0,18	0,23
Предел повторяемости r [= 2,83 × s_r,], г/100 г	0,514	0,267	0,621	0,140	0,196	0,230	0,261	0,177	0,383	0,080	0,233	0,217
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R, г/100 г	0,193	0,132	0,250	0,118	0,091	0,181	0,113	0,142	0,149	0,094	0,118	0,185
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости, %	0,94	0,28	0,77	0,59	0,19	0,54	0,57	0,31	0,44	0,47	0,25	0,55
Предел воспроизводимости R [= 2,83 × s_R], г/100 г	0,540	0,368	0,701	0,331	0,254	0,506	0,317	0,399	0,417	0,262	0,330	0,517

[a] КМ из Гренады смешано с ЭКМ вида – средняя фракция пальмового масла/(ши + иллипе) [35/65].
[b] КМ из Ганы смешано с ЭКМ вида – средняя фракция пальмового масла/ши [50/50].
[c] КМ из Кот-д'Ивуар смешано с ЭКМ вида – средняя фракция пальмового масла/сал/манго [50/25/25].
[d] КМ из Кот-д'Ивуар смешано с ЭКМ вида – средняя фракция пальмового масла/ши/иллипе [50/25/25].

Таблица А.5 – Данные прецизионности для какао-масла с 4 % примеси эквивалентов какао-масла

	4,0 % ЭКМ/КМ [a]			3,96 % ЭКМ/КМ [b]			4,04 % ЭКМ/КМ [c]			4,00 % ЭКМ/КМ [d]		
	POP	POS	SOS	POP	POS	SOS	POP	POS	SOS	POP	POS	SOS
Количество лабораторий	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
Количество выбросов	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Количество приемлемых результатов	13	13	13	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Среднее значение, г/100 г	20,747	46,341	32,912	20,348	46,176	33,475	20,421	46,075	33,504	20,765	46,100	33,135
Стандартное отклонение повторяемости s_r, г/100 г	0,141	0,077	0,171	0,075	0,053	0,075	0,115	0,105	0,134	0,109	0,079	0,126
Относительное стандартное отклонение повторяемости, %	0,68	0,17	0,52	0,37	0,11	0,22	0,56	0,23	0,40	0,53	0,17	0,38
Предел повторяемости r [= 2,83 × s_r,], г/100 г	0,395	0,215	0,478	0,209	0,148	0,209	0,322	0,293	0,377	0,306	0,221	0,354
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R, г/100 г	0,156	0,182	0,279	0,214	0,066	0,213	0,157	0,148	0,196	0,164	0,125	0,226
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости, %	0,75	0,39	0,85	1,05	0,14	0,64	0,77	0,32	0,59	0,79	0,27	0,68
Предел воспроизводимости R [= 2,83 × s_R], г/100 г	0,437	0,510	0,782	0,601	0,183	0,596	0,441	0,414	0,549	0,459	0,351	0,633

[a] КМ из Гренады смешано с ЭКМ вида – средняя фракция пальмового масла/(ши + иллипе) [35/65].
[b] КМ из Ганы смешано с ЭКМ вида – средняя фракция пальмового масла/ши [50/50].
[c] КМ из Кот-д'Ивуар смешано с ЭКМ вида – средняя фракция пальмового масла/сал/манго [50/25/25].
[d] КМ из Кот-д'Ивуар смешано с ЭКМ вида – средняя фракция пальмового масла/ши/иллипе [50/25/25].

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 какао-масле)

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

[4] 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 какао-масла в какао-масле и шоколаде путем разделения триацилглицеридов газожидкостной хроматографией)

[5] 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 какао-масла в какао-масле и шоколаде)

[6] 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 какао-масла в какао-масле и шоколаде)

Ответственный за выпуск *В. Л. Гуревич*

Сдано в набор 07.05.2009. Подписано в печать 19.06.2009. Формат бумаги 60×84/8. Бумага офсетная.
Гарнитура Arial. Печать ризографическая. Усл. печ. л. 1,86 Уч.- изд. л. 0,88 Тираж экз. Заказ

Издатель и полиграфическое исполнение:
Научно-производственное республиканское унитарное предприятие
«Белорусский государственный институт стандартизации и сертификации» (БелГИСС)
ЛИ № 02330/0549409 от 08.04.2009.
ул. Мележа, 3, 220113, Минск.

gost.e-ecolog.ru