



جمهوری اسلامی ایران  
Islamic Republic of Iran

سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

Institute of Standards and Industrial Research of Iran



استاندارد ملی ایران

۱۱۸۹

تجدید نظر اول

**ISIRI**

**1189**

**1<sup>st</sup>.Edition**

خامه - اندازه گیری مقدار چربی - روش  
وزن سنجی (روش مرجع)

**Cream-Determination of fat content -  
Gravimetric method  
(Reference method)**

**ICS:67.100.99**

## به نام خدا

### آشنایی با مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به موجب بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱ تنها مرجع رسمی کشور است که وظیفه تعیین، تدوین و نشر استانداردهای ملی (رسمی) ایران را به عهده دارد.

تدوین استاندارد در حوزه‌های مختلف در کمیسیون‌های فنی مرکب از کارشناسان مؤسسه\* صاحب نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط انجام می‌شود و کوششی همگام با مصالح ملی و با توجه به شرایط تولیدی، فناوری و تجاری است که از مشارکت آگاهانه و منصفانه صاحبان حق و نفع، شامل تولیدکنندگان، مصرف‌کنندگان، صادرکنندگان و واردکنندگان، مراکز علمی و تخصصی، نهادها، سازمان‌های دولتی و غیر دولتی حاصل می‌شود. پیش‌نویس استانداردهای ملی ایران برای نظرخواهی به مراجع ذی‌نفع و اعضای کمیسیون‌های فنی مربوط ارسال می‌شود و پس از دریافت نظرها و پیشنهادهای در کمیته ملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب به عنوان استاندارد ملی (رسمی) ایران چاپ و منتشر می‌شود.

پیش‌نویس استانداردهایی که مؤسسات و سازمان‌های علاقه‌مند و ذیصلاح نیز با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می‌کنند در کمیته ملی طرح و بررسی و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی ایران چاپ و منتشر می‌شود. بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می‌شود که بر اساس مفاد نوشته شده در استاندارد ملی ایران شماره ۵ تدوین و در کمیته ملی استاندارد مربوط که مؤسسه استاندارد تشکیل می‌دهد به تصویب رسیده باشد.

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران از اعضای اصلی سازمان بین‌المللی استاندارد (ISO)<sup>۱</sup> کمیسیون بین‌المللی الکتروتکنیک (IEC)<sup>۲</sup> و سازمان بین‌المللی اندازه‌شناسی قانونی (OIML)<sup>۳</sup> است و به عنوان تنها رابط<sup>۴</sup> کمیسیون کدکس غذایی (CAC)<sup>۵</sup> در کشور فعالیت می‌کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندی‌های خاص کشور، از آخرین پیشرفت‌های علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین‌المللی بهره‌گیری می‌شود.

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران می‌تواند با رعایت موازین پیش‌بینی شده در قانون، برای حمایت از مصرف‌کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست‌محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردهای ملی ایران را برای محصولات تولیدی داخل کشور و / یا اقلام وارداتی، با تصویب شورای عالی استاندارد، اجباری نماید. مؤسسه می‌تواند به منظور حفظ بازارهای بین‌المللی برای محصولات کشور، اجرای استاندارد کالاهای صادراتی و درجه‌بندی آن را اجباری نماید. همچنین برای اطمینان بخشیدن به استفاده‌کنندگان از خدمات سازمان‌ها و مؤسسات فعال در زمینه مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و صدور گواهی سیستم‌های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست‌محیطی، آزمایشگاه‌ها و مراکز کالیبراسیون (واسنجی) وسایل سنجش، مؤسسه استاندارد این گونه سازمان‌ها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران ارزیابی می‌کند و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامه تأیید صلاحیت به آن‌ها اعطا و بر عملکرد آنها نظارت می‌کند. ترویج دستگاه بین‌المللی یکاها، کالیبراسیون (واسنجی) وسایل سنجش، تعیین عیار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی ایران از دیگر وظایف این مؤسسه است.

\* مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

- 1- International organization for Standardization
- 2 - International Electro technical Commission
- 3- International Organization for Legal Metrology (Organization International de Metrology Legal)
- 4 - Contact point
- 5 - Codex Alimentarius Commission

کمیسیون فنی تدوین استاندارد  
خامه - اندازه‌گیری مقدار چربی - روش وزن‌سنجی (روش مرجع)  
(تجدید نظر اول)

سمت و/یا نمایندگی

اداره کل استاندارد و تحقیقات صنعتی استان یزد

رئیس:

اکرم‌زاده، مجتبی  
فوق لیسانس شیمی معدنی

دبیران:

دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد- معاونت کنترل غذا و دارو  
اداره کل استاندارد و تحقیقات صنعتی استان یزد

صادقی زاده، جلال  
(فوق لیسانس صنایع غذایی)  
مالی، افشین  
(لیسانس صنایع غذایی)

اعضاء: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)

دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد- معاونت کنترل غذا و دارو

اکرم‌زاده اردکانی، نعیمه  
(فوق لیسانس صنایع غذایی)

شرکت آزما پیمان ایساتیس

ضیغمیان، حمید  
(فوق لیسانس صنایع غذایی)

شرکت فرآورده‌های لبنی می‌سان میبید

سالاری، حبیب  
(لیسانس شیمی کاربردی)

شرکت پارس معیار سنجش ایساتیس

عاقبت خیری، علیرضا  
(لیسانس شیمی کاربردی)

اداره کل استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

فاضل رضوی، خدیجه  
(لیسانس صنایع غذایی)

شرکت بهکام میبید

مهینی، کتایون  
(لیسانس صنایع غذایی)

مرکز تحقیقات پرتو فرایند یزد

وخشور، بهرام  
(لیسانس زیست‌شناسی)

دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد- معاونت غذا و دارو

یاسایی، غلامرضا  
(فوق لیسانس صنایع غذایی)

## فهرست مندرجات

صفحه					عنوان
ب					آشنایی با مؤسسه استاندارد
ج					کمیسیون فنی تدوین استاندارد
ه					پیش‌گفتار
۱				۱	هدف و دامنه کاربرد
۱				۲	مراجع الزامی
۲				۳	اصطلاحات و تعاریف
۲				۴	اساس روش
۲				۵	مواد و/یا واکنشگرها
۳				۶	وسایل
۴				۷	نمونه‌برداری و تهیه نمونه
۵				۸	آماده سازی آزمایش
۵				۹	روش انجام آزمون
۹				۱۰	محاسبه و بیان نتایج
۱۰				۱۱	دقت
۱۰				۱۲	گزارش آزمون
۱۲					پیوست الف (اطلاعاتی) نکاتی در مورد روش آزمون
۱۴					پیوست ب (اطلاعاتی) روش جایگزین با استفاده از لوله های استخراج چربی مجهز به سیفون یا لوازم بطری شوی

## پیش‌گفتار

استاندارد « خامه - اندازه‌گیری مقدار چربی - روش وزن‌سنجی (روش مرجع) » نخستین بار در سال ۱۳۷۴ تدوین شد. این استاندارد بر اساس پیشنهادهای رسیده و بررسی توسط مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران و تأیید کمیسیون‌های مربوط برای اولین بار مورد تجدیدنظر قرار گرفت و در هزار و چهل و یکمین اجلاس کمیته ملی استاندارد خوراک و فرآورده‌های غذایی و کشاورزی مورخ ۱۳۸۹/۱۲/۱۶ تصویب شد. اینک این استاندارد به استناد بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه، ۱۳۷۱ به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می‌شود.

برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت‌های ملی و جهانی در زمینه صنایع، علوم و خدمات، استانداردهای ملی ایران در مواقع لزوم تجدید نظر خواهد شد و هر پیشنهادی که برای اصلاح و تکمیل این استانداردها ارائه شود، هنگام تجدید نظر در کمیسیون فنی مربوط مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین، باید همواره از آخرین تجدیدنظر استانداردهای ملی استفاده کرد.

این استاندارد جایگزین استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۸۹: سال ۱۳۷۴ است.

منبع و مأخذی که برای تهیه این استاندارد به کار رفته به شرح زیر است:

ISO 2450:2008 IDF16, Cream - Determination of fat content – Gravimetric method  
(Reference method)

## خامه - اندازه‌گیری مقدار چربی - روش وزن‌سنجی (روش مرجع)

هشدار- به کارگیری این استاندارد ملی ممکن است مستلزم کار با مواد شیمیایی، عملیات و تجهیزات خطرناک باشد. در این استاندارد تمام موارد ایمنی و بهداشتی نوشته نشده است. در صورت وجود چنین مواردی، مسئولیت برقراری شرایط ایمنی و سلامتی مناسب و اجرای آن بر عهده کاربر این استاندارد است.

### ۱ هدف و دامنه کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد، تعیین روش مرجع برای اندازه‌گیری مقدار چربی خامه خام، فرآیند شده و خامه ترش است که جداسازی محسوس یا تفکیک چربی ناشی از لیپولیز در آن انجام نشده باشد. این روش برای خامه‌های ترش مخلوط با نشاسته یا قوام دهنده‌های دیگر کاربرد ندارد.

یادآوری- در مورد چنین فرآورده‌هایی استفاده از روش مبتنی بر تئوری Weibull-Berntrop مناسب است (به استاندارد ملی ایران شماره ۳-۱۲۵۱۲ مراجعه شود).

### ۲ مراجع الزامی

مدارک الزامی زیر حاوی مقرراتی است که در متن این استاندارد ملی ایران به آن‌ها ارجاع داده شده است. بدین ترتیب آن مقررات جزئی از این استاندارد ملی ایران محسوب می‌شود. در صورتی که به مدرکی با ذکر تاریخ انتشار ارجاع داده شده باشد، اصلاحیه‌ها و تجدیدنظرهای بعدی آن مورد نظر این استاندارد ملی ایران نیست. در مورد مدارکی که بدون تاریخ انتشار به آن‌ها ارجاع داده شده است، همواره آخرین تجدید نظر و اصلاحیه‌های بعدی آن‌ها مورد نظر است. استفاده از مراجع زیر برای این استاندارد الزامی است:

- |     |   |
|-----|---|
| ۱-۲ | استاندارد ملی ایران شماره ۱۹۶۲: سال ۱۳۶۹، ویژگی‌های پیت‌های زینهدار   |
| ۲-۲ | استاندارد ملی ایران شماره ۷۲۵۸: سال ۱۳۸۳، شیشه آلات آزمایشگاهی - استوانه‌های مدرج   |
| ۳-۲ |   |
| ۴-۲ | استاندارد ملی ایران شماره ۱-۷۴۴۲: سال ۱۳۸۳، درستی (صحت و دقت) روش‌ها و نتایج اندازه‌گیری - قسمت اول - تعاریف و اصول کلی   |
| ۵-۲ | استاندارد ملی ایران شماره ۲-۷۴۴۲: سال ۱۳۸۴، درستی (صحت و دقت) روش‌ها و نتایج اندازه‌گیری - قسمت دوم - روش پایه برای تعیین تکرارپذیری و تجدیدپذیری روش اندازه‌گیری استاندارد |
| ۶-۲ | استاندارد ملی ایران شماره ۳-۷۴۴۲: سال ۱۳۸۴، درستی (صحت و دقت) روش‌ها و نتایج اندازه‌گیری - قسمت سوم - اندازه میانگین یک روش اندازه‌گیری استاندارد                           |
| ۷-۲ | استاندارد ملی ایران شماره ۷۵۲۰: سال ۱۳۸۳، ظروف شیشه‌ای آزمایشگاهی - بالن‌های حجم‌سنجی با یک خط نشانه - ویژگی‌ها   |

۸-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۳۲۹: سال ۱۳۸۷، شیر و فرآورده های آن-بالن های استخراج چربی از نوع موژونیر-ویژگیها

### ۳ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد، اصطلاح و تعریف زیر به کار می‌رود:

۱-۳

#### مقدار چربی خامه

کسر جرمی موادی است که به روش تعیین شده در این استاندارد ملی اندازه‌گیری می‌شود.

یادآوری- مقدار چربی بر حسب درصد کسر جرمی بیان می‌شود.

### ۴ اساس روش

یک محلول اتانولی آمونیاکی از آزمون، با دی‌اتیل اتر و نفت سبک استخراج می‌شود. حلال‌ها به روش تقطیر یا تبخیر حذف می‌شوند. جرم مواد استخراج شده اندازه‌گیری می‌شود.

یادآوری- این روش معمولاً به روش رزگوتلیب (Rose-Gottlib) معروف است.

### ۵ مواد و / یا واکنشگرها

در کلیه اندازه‌گیری‌ها، غیر از موارد تصریح شده، از واکنشگرهای با درجه خلوص تجزیه‌ای و آب مقطر با ویژگی‌های منطبق با استاندارد ملی ایران شماره ۱۷۲۸ استفاده کنید.

هنگامی که اندازه‌گیری به روش مشخص شده (به بند ۲-۲-۹ رجوع شود) انجام شود، واکنشگرها نباید باقیمانده قابل توجهی بر جای بگذارند.

۱-۵ محلول آمونیاک، با کسر جرمی تقریباً ۲۵ درصد آمونیاک ( $\rho_{20}(\text{NH}_3) = 910 \text{ g/l}$ ).

یادآوری- اگر محلول آمونیاک با این غلظت در دسترس نباشد، استفاده از محلول غلیظتر با غلظت مشخص مجاز است (به بند ۲-۴-۹ مراجعه شود).

۲-۵ اتانول ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ )، یا اتانولی تقلیبی از متانول، با کسر حجمی حداقل ۹۴ درصد اتانول (به بند الف.۵ مراجعه شود).

### ۳-۵ محلول قرمز کنگو

یک گرم قرمز کنگو ( $\text{C}_{32}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{Na}_2\text{O}_6\text{S}_2$ )، را وزن نموده و به بالن حجمی ۱۰۰ میلی‌لیتری (۶-۱۴) منتقل نمایید. تا خط نشانه با آب مقطر به حجم رسانده و مخلوط نمایید.

یادآوری- استفاده از این محلول اختیاری است، این محلول، امکان مشاهده دقیق‌تر سطح تماس بین لایه‌های حلال و محلول آبی را فراهم می‌کند (به بند ۳-۴-۹ مراجعه شود). از سایر محلول‌های شناساگر آبی می‌توان استفاده نمود، به شرط آن که نتیجه آزمون را تحت تاثیر قرار ندهد.

هشدار - قرمز کنگو سرطان‌زا است.

۴-۵ دی‌اتیل اتر ( $C_2H_5OC_2H_5$ )، عاری از پراکسید (به بند الف.۳ مراجعه شود)، حاوی حداکثر دو میلی‌گرم بر کیلوگرم آنتی‌اکسیدان و مطابق با الزامات آزمون شاهد (به بند ۹-۲-۲ و بندهای الف.۱ و الف.۴ مراجعه شود).

هشدار - استفاده از دی‌اتیل اتر خطرناک است. موارد ایمنی برای جابجائی، استفاده و حذف آن را رعایت نمایید.

۵-۵ نفت سبک، با نقطه جوش در یکی از محدوده‌های بین ۳۰ درجه سلسیوس و ۶۰ درجه سلسیوس یا حلال معادل آن، پنتان  $\{CH_3[CH_2]_3CH_3\}$  با نقطه جوش ۳۶ درجه سلسیوس و مطابق با الزامات آزمون شاهد (به بند ۹-۲-۲ و بندهای الف-۱ و الف-۴ مراجعه شود).  
توصیه می‌شود از پنتان به علت خلوص بالاتر و کیفیت ثابت استفاده شود.

#### ۶-۵ حلال مخلوط

قبل از استفاده، حجم‌های مساوی از دی‌اتیل اتر (۴-۵) و نفت سبک (۵-۵) را مخلوط نمایید.

### ۶ وسایل

هشدار - به جهت استفاده از حلال‌های فرار قابل اشتعال در این روش آزمون، تمام وسایل الکتریکی باید با مقررات مربوط به مخاطرات استفاده از چنین حلال‌هایی منطبق باشد.

علاوه بر وسایل معمول آزمایشگاهی موارد زیر نیز مورد نیاز است:

۱-۶ ترازوی تجزیه‌ای، با قابلیت توزین با دقت یک میلی‌گرم و قرائت ۰/۱ میلی‌گرم.

۲-۶ سانتریفوژ، با قابلیت نگهداری بالن‌ها یا لوله‌های استخراج چربی (۶-۶) و توانائی چرخش با سرعت ۵۰۰ دور در دقیقه تا ۶۰۰ دور در دقیقه برای ایجاد شتاب شعاعی  $g$  ۸۰ تا  $g$  ۹۰ در انتهای خارجی بالن‌ها یا لوله‌ها.

استفاده از سانتریفوژ اختیاری بوده، اما توصیه می‌شود که استفاده گردد (به بند ۹-۴-۶ مراجعه شود).

۳-۶ وسایل تقطیر یا تبخیر، برای تقطیر حلال‌ها و اتانول از بالن‌های جوش یا ارلن‌مایر، یا برای تبخیر از بشرها و پلیت‌ها (به بند ۹-۴-۱۳ مراجعه شود) در دمای حداکثر ۱۰۰ درجه سلسیوس.

۴-۶ آون یا خشک‌کن، از نوع الکتریکی با دریچه‌های خروجی کاملاً باز و توانائی حفظ و نگهداری دما در تمام فضای آون در محدوده  $(102 \pm 2)$  درجه سلسیوس.  
آون باید مجهز به دماسنج مناسب باشد.

۵-۶ حمام آب، با توانائی حفظ و نگهداری آب در دمای بین ۳۵ درجه سلسیوس و ۶۰ درجه سلسیوس.

۶-۶ بالن‌های استخراج چربی از نوع موژونیر، مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۳۲۹.



**یادآوری** - می‌توانید از لوله‌های استخراج چربی مجهز به سیفون یا لوازم بطری شوی نیز استفاده کنید. اما روش کار متفاوت است. روش‌های جایگزین در پیوست ب ارائه شده است.

بالن‌های استخراج چربی باید دارای درپوش‌های از جنس چوب پنبه یا مواد دیگری (برای مثال لاستیک سیلیکونی یا پلی‌تترافلوئوراتیلن) باشند که واکنشگرهای مورد استفاده روی آن بی‌اثر است. برای حذف تمامی مواد آلی، چوب‌پنبه‌ها باید با دی‌اتیل اتر (۴-۵) استخراج شود. سپس آن‌ها را در آب با دمای بیش از ۶۰ درجه سلسیوس به مدت حداقل ۱۵ دقیقه قرار دهید. اجازه دهید درون آب، سرد شوند، به این ترتیب در موقع استفاده، اشباع شده هستند.

۶-۷ پایه، برای نگهداری بالن‌های استخراج چربی (یا لوله‌ها) (۶-۶).

۶-۸ بطری شوی، مناسب برای استفاده با حلال مخلوط (۵-۶).

بطری شوی پلاستیکی نباید استفاده شود.

۶-۹ ظروف جمع‌آوری چربی، از قبیل بالن‌های جوش (ته صاف) با ظرفیت ۱۲۵ میلی‌لیتر تا ۲۵۰ میلی‌لیتر، ارلن مایر با ظرفیت ۲۵۰ میلی‌لیتر، یا ظروف فلزی.

اگر از ظروف فلزی استفاده شود، باید از جنس فولاد ضد زنگ، ته صاف با قطر ۸۰ میلی‌متر تا ۱۰۰ میلی‌متر و ارتفاع حدود ۵۰ میلی‌متر باشد.

۶-۱۰ سنگ جوش، عاری از چربی، از جنس چینی بدون خلل و فرج یا سیلیکون کاربید (در زمان استفاده از ظروف فلزی، استفاده از سنگ جوش اختیاری است).

۶-۱۱ استوانه‌های مدرج، با ظرفیت ۵ میلی‌لیتر و ۲۵ میلی‌لیتر و کلاس A مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۷۲۵۸ یا هر وسیله مناسبی برای فرآورده مربوطه.

۶-۱۲ پی‌پت‌های مدرج، با ظرفیت ۱۰ میلی‌لیتر و کلاس A مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۱۹۶۲.

۶-۱۳ انبر، از جنس فلز، برای نگه داشتن بالن‌ها، بشرها یا ظروف مربوطه.

۶-۱۴ بالن‌های حجمی، تک نشانه، با ظرفیت ۱۰۰ میلی‌لیتر و کلاس A و مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۷۵۲۰.

## ۷ نمونه‌برداری

این استاندارد روش نمونه‌برداری را در بر نمی‌گیرد. توصیه می‌شود نمونه‌برداری مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۳۲۶ انجام شود.

در هنگام انتقال نمونه به آزمایشگاه یا انبارش آن باید مواظب بود که نمونه آسیب ندیده و تغییری یا فساد در آن ایجاد نشود.

نمونه‌ها را از زمان نمونه‌برداری باید در دمای بین ۲ درجه سلسیوس تا ۶ درجه سلسیوس نگهداری شود.

## ۸ آماده‌سازی آزمایه

در صورت لزوم، آزمایه را درون حمام آب (۶-۵) تا دمای ۳۵ درجه سلسیوس و ۴۰ درجه سلسیوس گرم کنید. سپس آن را به آرامی با وارونه کردن مکرر بطری، بدون ایجاد کف و یا تشکیل کره، کاملاً مخلوط کنید. بلافاصله آزمایه را تا دمای ۲۰ درجه سلسیوس سرد کنید. خامه ترش نباید گرم شود، اما باید به خوبی مخلوط شود. خامه کره‌گیری شده نباید سرد شود و باید در دمای بین ۳۰ درجه سلسیوس و ۴۰ درجه سلسیوس وزن گردد (به بند ۹-۱ مراجعه شود).

**یادآوری-** به دلایل زیر نمی‌توان مقدار قابل اطمینانی برای چربی انتظار داشت:

الف- زمانی که بوی اسیدهای چرب آزاد به وضوح احساس شود؛

ب- اگر در حین یا بعد از آماده‌سازی آزمایه، ذرات سفید رنگی روی دیواره‌های ظرف نمونه مشاهده شوند یا قطرات کوچک چربی بر روی سطح نمونه شناور شده باشند.

در مورد چنین فرآورده‌هایی استفاده از روش مبتنی بر تئوری Weibull-Berntrop مناسب است (به استاندارد ملی ایران شماره ۳-۱۲۵۱۲ مراجعه شود).

## ۹ روش اجرای آزمون

**یادآوری ۱-** در صورت نیاز، برای کنترل انطباق حد تکرارپذیری (بند ۱۱-۲) دو اندازه‌گیری مجزا طبق بندهای ۹-۱ تا ۹-۴ انجام دهید.

**یادآوری ۲-** روش جایگزین با استفاده از لوله‌های استخراج چربی مجهز به سیفون یا لوازم بطری شوی در پیوست ب ارائه شده است.

### ۱-۹ آزمون

آزمایه (بند ۸) را با چرخش آرام یا تکان دادن و چند مرتبه وارونه نمودن ظرف، مخلوط نمایید. فوراً یک آزمون به مقدار ۰٫۳ گرم تا ۰٫۶ گرم از چربی استخراجی (بسته به مقدار چربی خامه) با دقت یک میلی‌گرم به روش توزین مستقیم یا تفاضلی درون بالن استخراج چربی (۶-۶) توزین نمایید. آزمون را تا حد امکان کامل به حساب پایینی بالن استخراج منتقل نمایید.

### ۲-۹ آزمون‌های شاهد

#### ۱-۲-۹ آزمون شاهد برای روش آزمون

هم‌زمان با آزمون، آزمون شاهد را با استفاده از همان روش آزمون و با همان واکنشگرها انجام دهید، اما به جای آزمون آماده شده در بند ۹-۴-۱، از ۱۰ میلی‌لیتر آب استفاده کنید (به بند الف-۲ مراجعه شود).

هنگامی که یک نمونه شاهد برای بهری از آزمایش‌ها، که نمونه‌های منفرد آن ممکن است شرایط یکسانی را نداشته باشند، استفاده شود، مطمئن شوید که روش محاسبه نتیجه شاهد دقیقاً با روش محاسبه آزمایش منفرد یکسان است.

اگر مقدار به دست آمده در آزمون شاهد از ۱٫۰ میلی‌گرم بیشتر باشد، اگر بررسی واکنش‌ها به تازگی صورت نگرفته باشد، آنها را کنترل کنید (۲-۹-۲). تصحیحات بیش از ۲٫۵ میلی‌گرم باید در گزارش آزمون ذکر شود.

#### ۲-۲-۹ آزمون شاهد برای واکنش‌ها

به منظور ارزیابی کیفیت واکنش‌ها، آزمون شاهد را طبق بند ۱-۲-۹ انجام دهید. علاوه بر این، از یک ظرف خالی جمع‌آوری چربی، که طبق بند ۳-۹ آماده شده، به منظور کنترل جرم استفاده کنید. نباید باقیمانده واکنش‌ها بیش از ۱٫۰ میلی‌گرم باشد (به بند الف-۱ مراجعه شود).

اگر کل باقیمانده واکنشگر در آزمون شاهد بیشتر از ۱٫۰ میلی‌گرم باشد، مقدار باقیمانده حلال‌ها را به طور مجزا و به ترتیب با تقطیر ۱۰۰ میلی‌لیتر دی‌اتیل اتر (۴-۵) و نفت سبک (۵-۵) اندازه‌گیری کنید. از یک ظرف خالی جمع‌آوری چربی که طبق بند ۳-۹ به منظور کنترل آماده شده، برای تعیین جرم واقعی باقیمانده، که نباید از ۱٫۰ میلی‌گرم تجاوز کند، استفاده کنید.

گاهی، ممکن است حلال‌ها حاوی مواد فراری باشند که در چربی باقی بمانند. اگر نشانه‌هایی از حضور چنین موادی وجود داشت، آزمون‌های شاهد را برای تمامی واکنش‌ها و برای هر حلال، با استفاده از ظرف جمع‌آوری چربی با حدود یک گرم چربی کره بدون آب انجام دهید. در صورت لزوم، حلال‌ها را در حضور یک گرم چربی کره بدون آب در ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال، مجدداً تقطیر نمایید و حلال‌ها را بلافاصله بعد از تقطیر مصرف کنید.

واکنش‌ها یا حلال‌های غیر قابل قبول را با نوع مناسب جایگزین کنید یا حلال‌ها را تقطیر مجدد نمایید.

#### ۳-۹ آماده سازی ظرف جمع‌آوری چربی

ظرف جمع‌آوری چربی (۶-۹) را همراه با تعدادی سنگ جوش (۶-۱۰) در آونی (۶-۴) با دمای ۱۰۲ درجه سلسیوس، به مدت یک ساعت خشک کنید.

**یادآوری ۱-** استفاده از سنگ جوش به منظور تداوم آهسته عمل جوش برای تبخیر حلال‌ها، به ویژه در هنگام کاربرد ظروف شیشه‌ای جمع‌آوری چربی مطلوب می‌باشند، استفاده از آنها هنگام به کار بردن ظروف فلزی، اختیاری است.

ظروف جمع‌آوری چربی را از گرد و غبار محافظت کنید و اجازه دهید تا رسیدن به دمای اتاق توزین، خنک شوند (ظروف شیشه‌ای جمع‌آوری چربی حداقل به مدت یک ساعت و ظروف فلزی حداقل به مدت نیم ساعت).

به منظور اجتناب از سرد شدن ناکافی یا طولانی شدن زمان سرد کردن، ظروف جمع‌آوری چربی، نباید در دسیکاتور قرار داده شوند.

برای قراردادن ظرف جمع‌آوری چربی روی ترازو از انبر مناسب استفاده کنید. ظرف جمع‌آوری چربی را با دقت ۱٫۰ میلی‌گرم وزن کنید.

یادآوری ۲- از انبرها به منظور اجتناب از تغییرات دمائی استفاده می‌شود.

#### ۴-۹ اندازه گیری

۱-۴-۹ اندازه گیری را بدون وقفه انجام دهید.

مقداری آب با دمای ۵۰ درجه سلسیوس را به آزمونه داخل بالن استخراج چربی (۹-۱) اضافه کنید تا حجم کل به ۱۰ میلی لیتر تا ۱۱ میلی لیتر برسد. از آب برای شستشوی آزمونه موجود در حباب کوچک بالن استخراج چربی استفاده کنید. آن را با آزمونه موجود در داخل حباب کوچک بالن استخراج چربی کاملاً مخلوط کنید. بالن را با کمک جریان آب تا دمای محیط سرد کنید.

۲-۴-۹ دو میلی لیتر محلول آمونیاک (۵-۱) یا حجم معادل آن از محلول آمونیاک غلیظتر (به یادآوری ۵-۱ مراجعه شود) را به آزمونه اضافه کنید. آن را با آزمونه موجود در داخل حباب کوچک بالن استخراج چربی کاملاً مخلوط کنید.

۳-۴-۹ ۱۰ میلی لیتر اتانول (۵-۲) اضافه کنید. آن را با مواد داخل بالن به آرامی مخلوط کرده، به طوری که محتویات بالن استخراج چربی، کاملاً بین دو حباب کوچک و بزرگ جریان یابند. از رسیدن مایع به نزدیکی گردن بالن اجتناب کنید. در صورت لزوم، دو قطره محلول قرمز کنگو (۵-۳) اضافه کنید

۴-۴-۹ ۲۵ میلی لیتر دی اتیل اتر (۵-۴) اضافه کنید. بالن استخراج چربی را با یک چوب پنبه اشباع شده با آب یا با درپوش مناسب از جنس دیگر (۶-۶) که با آب مرطوب شده، ببندید. برای جلوگیری از تشکیل امولسیون مقاوم، بالن را به شدت (اما نه بیش از حد مورد نیاز) به مدت یک دقیقه تکان دهید. در حین تکان دادن، بالن استخراج چربی را به طور افقی به گونه‌ای که حباب کوچک رو به بالا باشد، نگه داشته و به تناوب اجازه دهید تا مایع از حباب بزرگ به درون حباب کوچک حرکت کند. در صورت لزوم، بالن را با کمک جریان آب تا دمای محیط سرد کنید. با احتیاط چوب پنبه یا درپوش را بردارید. چوب پنبه یا درپوش و دهانه بالن را با مقدار کمی حلال مخلوط (۵-۶) آبکشی کنید. از بطری شور (۶-۸) به طوری که مواد حاصل از آبکشی به داخل بالن منتقل شود، استفاده کنید.

۵-۴-۹ ۲۵ میلی لیتر نفت سبک (۵-۵) را به آن اضافه کنید. دهانه بالن استخراج چربی را با چوب پنبه یا درپوش مجدداً خیس شده (با غوطه‌ور کردن مجدد در آب) ببندید. دوباره بالن را به آرامی به مدت ۳۰ ثانیه طبق بند ۴-۴-۹ تکان دهید. مطابق بند ۴-۵-۹ تکان دادن را ادامه دهید.

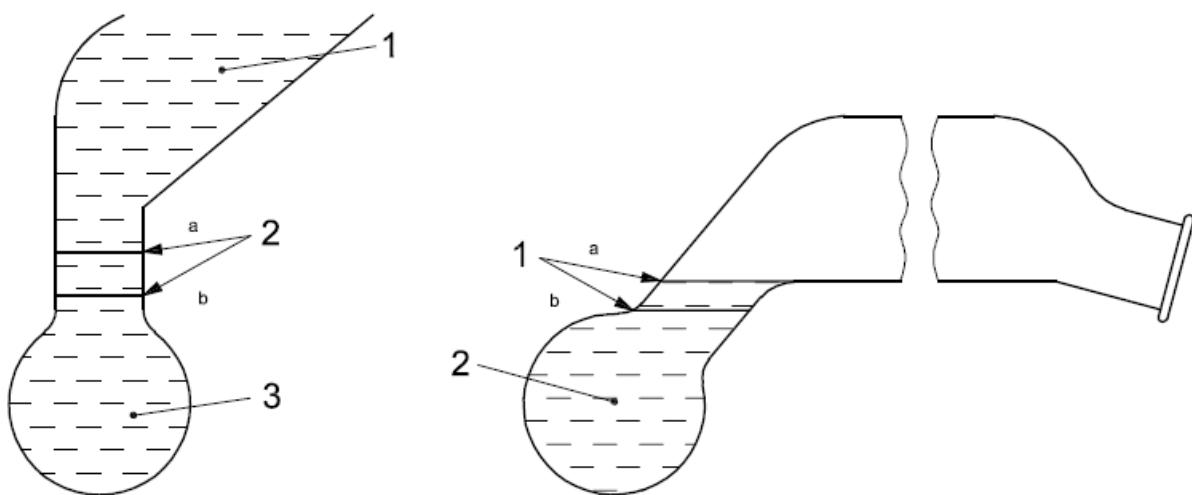
۶-۴-۹ بالن استخراج چربی در بسته را به مدت ۱ دقیقه تا ۵ دقیقه با شتاب شعاعی ۸۰g تا ۹۰g سانتریفوژ کنید. اگر سانتریفوژ (۶-۲) در دسترس نیست، اجازه دهید بالن در بسته، برای حداقل ۳۰ دقیقه روی پایه (۶-۷) قرارگیرد تا لایه فوقانی شفاف شده و به طور مشخص از لایه آبی جدا شود. در صورت لزوم، بالن را با کمک جریان آب تا دمای محیط سرد کنید.

۷-۴-۹ با احتیاط چوب پنبه یا درپوش را بردارید. چوب پنبه یا درپوش و دهانه بالن را با مقدار کمی حلال مخلوط (۵-۶) آبکشی کنید. از بطری شور (۶-۸) به نحوی که مواد حاصل از آبکشی به داخل بالن منتقل شود، استفاده کنید. اگر سطح تداخل در زیر قسمت پایین گردن بالن قرار می‌گیرد، جهت سهولت در

خالی کردن حلال، به آرامی با افزودن آب از دیواره بالن (به شکل ۱ رجوع شود) سطح آن را کمی بالاتر از گردن بالن تنظیم کنید.

**یادآوری -** در شکل‌های ۱ و دو، یکی از سه نوع بالن استخراج چربی، مطابق استاندارد ملی ایران ۱۱۳۲۹ انتخاب شده است. باید توجه داشت که کاربرد این سه نوع بالن مشابه است و هیچ یک بر دیگری ارجحیتی ندارد.

**۸-۴-۹** بالن استخراج چربی را از قسمت حباب کوچک نگه داشته و با دقت لایه فوقانی را تا حد امکان به ظرف جمع‌آوری آماده شده (به بند ۹-۳ مراجعه شود) حاوی تعدادی سنگ جوش (۶-۱۰) در حالت جوشیدن یا بالن مخروطی (بطور اختیاری با سینی‌های فلزی) منتقل نمایید. از تخلیه لایه آبی خودداری کنید (به شکل ۲ مراجعه شود).



راهنما:

حلال	1
سطح تداخل	2
لایه آبی	3
در استخراج دوم و سوم	a
در استخراج اول	b

شکل ۲- بعد از سرریز نمودن

راهنما:

سطح تداخل	1
لایه آبی	2
در استخراج دوم و سوم	a
در استخراج اول	b

شکل ۱- قبل از سرریز نمودن

**۹-۴-۹** قسمت بیرونی دهانه بالن استخراج چربی را با حلال مخلوط (۵-۶) آبکشی کنید. حاصل آبکشی را به ظرف جمع‌آوری چربی، منتقل کنید. دقت کنید که حلال مخلوط روی قسمت بیرونی بالن استخراج چربی پاشیده نشود. در صورت تمایل، تمام حلال یا بخشی از آن را به روش تقطیر یا تبخیر طبق بند ۹-۴-۱۳ از ظرف جمع‌آوری چربی حذف نمایید.

**۱۰-۴-۹** ۵ میلی‌لیتر اتانول (۵-۲) را به محتویات بالن استخراج چربی اضافه کنید. از اتانول برای آبکشی قسمت داخلی دهانه بالن استفاده کنید و طبق بند ۹-۴-۳ آن را مخلوط کنید.

۹-۴-۱۱ استخراج دوم را با تکرار کامل مراحل ۹-۴-۹ تا ۹-۴-۹ انجام دهید. به جای ۲۵ میلی لیتر، فقط از ۱۵ میلی لیتر دی اتیل اتر (۴-۵) و ۱۵ میلی لیتر نفت سبک (۵-۵) استفاده کنید. هم چنین قسمت داخلی گردن بالن استخراج چربی را با دی اتیل اتر آبکشی کنید.

در صورت لزوم، جهت اطمینان از تخلیه کامل حلال (به شکل دو مراجعه شود)، سطح لایه تداخل را کمی بالاتر از میانه گردن بالن، با افزودن آب از دیواره بالن (به شکل ۱ مراجعه شود) تنظیم کنید.

۹-۴-۱۲ استخراج سوم را بدون اضافه کردن اتانول و با تکرار کامل مراحل ۹-۴-۹ تا ۹-۴-۹ انجام دهید. در این مرحله نیز فقط ۱۵ میلی لیتر دی اتیل اتر (۴-۵) و ۱۵ میلی لیتر نفت سبک (۵-۵) استفاده کنید. مجدداً قسمت داخل گردن بالن استخراج چربی را با دی اتیل اتر آبکشی کنید.

در صورت لزوم، جهت اطمینان از تخلیه کامل حلال (به شکل ۲ رجوع شود)، سطح لایه تداخل را کمی بالاتر از میانه گردن بالن، با افزودن آب از دیواره بالن (به شکل ۱ رجوع شود) تنظیم کنید.

۹-۴-۱۳ حلال ها (شامل اتانول) را تا حد ممکن به طور کامل از ظرف جمع آوری چربی حذف نمائید. این عمل را برای ارلن مایر یا بالن جوش به روش تقطیر و برای بشر یا پلیت (۶-۳) به روش تبخیر انجام دهید. قبل از آغاز تقطیر، قسمت درونی گردن ارلن مایر یا بالن را با استفاده از مقدار کمی حلال مخلوط (۵-۶) آبکشی نمایید.

۹-۴-۱۴ ظرف جمع آوری چربی را به مدت یک ساعت در آن (۶-۴) در دمای ۱۰۲ درجه سلسیوس تا تبخیر کامل حلال حرارت دهید. پس از خارج کردن ظرف جمع آوری چربی از آن، بلافاصله آن را از نظر این که چربی شفاف است یا نه بررسی کنید. اگر چربی شفاف نیست، نشانه وجود مواد چرب دیگری است و کل روش باید تکرار شود. اگر چربی شفاف باشد، ظرف جمع آوری چربی را از گرد و غبار محافظت نموده و اجازه دهید، ظرف تا رسیدن به دمای اتاق توزین (ترجیحاً درون دسیکاتور قرار نگیرد)، سرد شود (ظروف شیشه ای جمع آوری چربی حداقل به مدت یک ساعت و ظروف فلزی حداقل به مدت نیم ساعت).

ظرف جمع آوری چربی را بلافاصله قبل از توزین تمیز نکنید. از انبر (۶-۱۳) برای قرار دادن ظرف جمع آوری چربی روی ترازو استفاده کنید. ظرف جمع آوری چربی را با دقت ۱۰ میلی گرم وزن کنید.

۹-۴-۱۵ ظرف جمع آوری چربی را به مدت ۳۰ دقیقه در آن (۶-۴) در دمای ۱۰۲ درجه سلسیوس تا تبخیر کامل حلال حرارت دهید. آن را سرد نموده و سپس طبق بند ۹-۴-۱۴ مجدداً وزن کنید. خشک کردن و توزین کردن را تکرار نموده تا اختلاف دو توزین متوالی برابر ۱۰ میلی گرم یا کمتر باشد. کمترین جرم را به عنوان جرم ظرف جمع آوری چربی و مواد استخراج شده ثبت کنید.

## ۱۰ محاسبه و بیان نتایج

### ۱-۱۰ محاسبه

مقدار چربی موجود در نمونه،  $w_f$ ، بر حسب درصد کسر جرمی، با استفاده از فرمول (۱) محاسبه می شود:

$$w_f = \frac{(m_1 - m_2) - (m_3 - m_4)}{m_0} \times 100\% \quad (1)$$

که در آن:

- $m_0$  جرم آزمون (۹-۱) بر حسب گرم؛
- $m_1$  جرم ظرف جمع‌آوری چربی و ماده استخراج شده بر حسب گرم مطابق با بند ۹-۵-۱۴؛
- $m_2$  جرم ظرف جمع‌آوری چربی آماده شده (۹-۳) بر حسب گرم؛
- $m_3$  جرم ظرف جمع‌آوری چربی مورد استفاده در آزمون شاهد (۹-۲) و هر ماده استخراج شده بر حسب گرم مطابق با بند ۹-۴-۱۵؛
- $m_4$  جرم ظرف جمع‌آوری چربی (۹-۳) بر حسب گرم مورد استفاده در آزمون شاهد (۹-۲).

### ۳-۱۰ بیان نتایج

نتایج را تا دو رقم بعد از اعشار گرد کنید.

## ۱۱ دقت

### ۱-۱۱ آزمون بین آزمایشگاهی

جزئیات دقت روش در آزمون بین آزمایشگاهی طبق استاندارد ملی ایران شماره ۷۴۴۲ در مرجع ۱ ارائه شده است.

مقادیر حدود تکرارپذیری و تجدیدپذیری برای سطح احتمال ۹۵ درصد بیان شده است و ممکن است برای دامنه‌های غلظت و ماتریس‌های به غیر از آنچه بیان شده، کاربرد نداشته باشد.

### ۲-۱۱ تکرارپذیری

اختلاف مطلق بین نتایج دو آزمون مستقل که به وسیله یک آزمایشگر بر روی آزمون یکسان با روش و مواد و تجهیزات یکسان در یک تناوب زمانی کوتاه انجام شود، نباید در بیش از ۵ درصد موارد از ۰٫۵ درصد کسر جرمی چربی نمونه بیشتر باشد.

مثال: اختلاف مطلق بین دو نتیجه آزمون مستقل با ۲۰ درصد کسر جرمی چربی نباید از ۰٫۱ گرم چربی در ۱۰۰ گرم نمونه بیشتر باشد و اختلاف برای خامه با ۸۰ درصد کسر جرمی چربی نباید از ۰٫۴۰ گرم چربی در ۱۰۰ گرم نمونه بیشتر باشد.

### ۳-۱۱ تجدیدپذیری

اختلاف مطلق بین نتایج دو آزمون مستقل که به وسیله آزمایشگر مختلف بر روی آزمون یکسان با همان روش و مواد و تجهیزات متفاوت در آزمایشگاه‌های متفاوت انجام شود، نباید در بیش از ۵ درصد موارد از ۱ درصد کسر جرمی چربی نمونه بیشتر باشد:

مثال: اختلاف مطلق بین دو نتیجه آزمون مستقل با ۲۰ درصد کسر جرمی چربی نباید از ۰٫۲ گرم چربی در ۱۰۰ گرم نمونه بیشتر باشد و اختلاف برای خامه با ۸۰ درصد کسر جرمی چربی نباید از ۰٫۸۰ گرم چربی در ۱۰۰ گرم نمونه بیشتر باشد.

## ۱۲ گزارش آزمون

گزارش آزمون باید شامل حداقل اطلاعات زیر باشد:

۱-۱۲ روش آزمون طبق این استاندارد ملی ایران؛

۲-۱۲ تمام مشخصات برای شناسائی کامل نمونه؛

- ۳-۱۲ نتایج آزمون یا اگر تکرارپذیری بررسی شده، نتیجه نهائی گزارش شود؛
- ۴-۱۲ تاریخ نمونه برداری و روش نمونه برداری مورد استفاده؛
- ۵-۱۲ تصحیح انجام گرفته، اگر مقدار بیش از ۲/۵ میلی گرم برای آزمون شاهد بر اساس این روش به دست آمده؛
- ۶-۱۲ کلیه موارد غیر معمول مشاهده شده در حین اندازه گیری؛
- ۷-۱۲ جزئیات عملیاتی که در این استاندارد مشخص نشده یا به صورت اختیاری در نظر گرفته شده و ممکن است بر نتایج آزمون موثر باشد؛
- ۸-۱۲ نام و نام خانوادگی و امضاء آزمون کننده؛
- ۹-۱۲ تاریخ انجام آزمون.



## پیوست الف

(اطلاعاتی)

### نکاتی در مورد روش آزمون

#### الف-۱ آزمون شاهد برای کنترل واکنشگرها (طبق بند ۹-۲-۲)

به منظور کنترل جرم در آزمون شاهد، باید ظرف جمع‌آوری چربی به گونه‌ای مورد استفاده قرارگیرد تا تغییرات شرایط محیطی اتاق توزین یا اثرات دمایی ظرف جمع‌آوری چربی منجر به گزارش نادرست مبتنی بر وجود یا عدم وجود مواد غیر فرار در استخراج واکنشگرها نگردد. این ظروف جمع‌آوری چربی ممکن است به عنوان ظرف توزین ترازوی دو کفه‌ای استفاده شود. از طرف دیگر، به منظور کنترل، هنگام بررسی جرم ظرف جمع‌آوری چربی مورد استفاده برای آزمون شاهد باید انحراف‌های جرم ظاهری ( $m_3 - m_4$ ) در بند ۱۰-۱) ظرف جمع‌آوری چربی در نظر گرفته شود. بنابراین تغییر جرم ظاهری ظرف جمع‌آوری چربی، تصحیح شده برای تغییر ظاهری در جرم ظرف جمع‌آوری چربی به منظور کنترل نباید افزایش جرمی بیش از ۱٫۰ میلی گرم را نشان دهد.

گاهی اوقات، ممکن است حلالها حاوی مواد فراری باشند که به طور جدی در چربی باقی بمانند. اگر نشانه‌هایی از حضور چنین موادی وجود داشت، آزمون‌های شاهد را برای تمامی واکنشگرها و برای هر حلال، با استفاده از ظرف جمع‌آوری چربی با حدود یک گرم چربی کره بدون آب انجام دهید. در صورت لزوم، حلالها را در حضور یک گرم چربی کره بدون آب در ۱۰۰ میلی لیتر حلال، تقطیر مجدد نمایید. حلالها را بعد از تقطیر مجدد، بلافاصله مصرف کنید.

#### الف-۲ انجام هم زمان آزمون شاهد با اندازه‌گیری (طبق بند ۹-۲-۱)

مقدار به دست آمده در آزمون شاهد که هم‌زمان با آزمون نمونه انجام شده، این امکان را فراهم می‌کند تا جرم ظاهری مواد استخراج شده از آزمون ( $m_1 - m_2$ ) برای حضور مواد غیر فرار ناشی از واکنشگرها و همچنین تغییر شرایط محیطی اتاق توزین و اختلاف دما بین ظرف جمع‌آوری چربی و اتاق توزین در دو توزین (۹-۴-۱۵ و ۹-۳) تصحیح شوند.

در شرایط مطلوب (مقدار کم در آزمون شاهد برای واکنشگرها، دمای ثابت اتاق توزین، زمان کافی برای سرد کردن ظرف جمع‌آوری چربی)، معمولاً مقدار اندازه‌گیری شده کمتر از ۱٫۰ میلی گرم خواهد بود و می‌توان در اندازه‌گیری‌های روزمره از آن صرف نظر کرد. مقادیر کمی بالاتر (مثبت و منفی) تا ۲٫۵ میلی گرم اغلب انتظار می‌رود. پس از تصحیح این مقادیر، نتایج درست خواهد بود. تصحیح بیش از ۲٫۵ میلی گرم باید در گزارش آزمون (طبق بند ۱۲) بیان شود.

اگر مقادیر بدست آمده در آزمون شاهد از ۱/۰ میلی گرم بیشتر باشد، اگر بررسی واکنشگرها به تازگی صورت نگرفته باشد، واکنشگرها باید کنترل شوند. واکنشگر ناخالص یا کم باید تعویض یا خالص شوند (به بند ۹-۲-۲ و بند الف-۱ مراجعه شود).

### الف-۳ آزمون پراکسید

برای آزمون پراکسید، یک میلی لیتر محلول تازه تهیه شده پتاسیم یدید با غلظت ۱۰۰ گرم در لیتر را به ۱۰ میلی لیتر دی اتیل اتر در یک ارلن دردار کوچک که قبلاً با اتر آبکشی شده، اضافه کنید. ارلن را تکان داده و بگذارید یک دقیقه بماند. رنگ زرد نباید در لایه دی اتیل اتر مشاهده شود. سایر روش‌های مناسب، ممکن است برای آزمون پراکسید استفاده شود. برای حصول اطمینان از عاری بودن دی اتیل اتر از پراکسید، حداقل سه روز قبل از آزمون، اقدامات زیر را انجام دهید.

فویلی از جنس روی را به صورت نوار ببرید به طوری که حداقل به نیمی از دهانه بالای ظرف حاوی دی اتیل اتر برسد. برای هر لیتر دی اتیل اتر، تقریباً ۸۰۰۰ میلی متر مربع فویل استفاده کنید. قبل از استفاده، نوارهای فویل را کاملاً به مدت یک دقیقه در محلول حاوی ۱۰ گرم مس سولفات ۵ آبه ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) و دو میلی لیتر محلول غلیظ سولفوریک اسید (۹۸ درصد کسر جرمی) غوطه‌ور کنید. نوارها را به آرامی و به طور کامل با آب شستشو دهید، نوارهای مرطوب مس را در بطری حاوی دی اتیل اتر قرار دهید و بگذارید درون بطری بمانند. می‌توان از روش‌های جایگزین، در صورتی که بر نتیجه آزمون اثری نداشته باشند، استفاده نمود.

### الف-۴ دی اتیل اتر حاوی آنتی اکسیدان‌ها

در بعضی کشورها، دی اتیل اتر حاوی حدود یک میلی گرم آنتی اکسیدان بر کیلوگرم به خصوص برای آزمون چربی در دسترس است. این مقدار کاربرد آن را برای آزمون مرجع محروم نمی‌کند. در کشورهای دیگر، دی اتیل اتر با مقادیر بالاتر آنتی اکسیدان تا ۷ میلی گرم بر کیلوگرم در دسترس است. چنین اثری فقط برای آزمون‌های روزمره که با آزمون شاهد به صورت اجباری و هم‌زمان برای تصحیح خطاهای سیستماتیک مربوط به باقیمانده آنتی اکسیدان انجام می‌شود، مورد استفاده قرار می‌گیرد. برای روش‌های مرجع، چنین دی اتیل اترهایی باید قبل از استفاده تقطیر شوند.

### الف-۵ اتانول

الکل تقلیبی اتانول ممکن است مورد استفاده قرار گیرد، به شرطی که خنثی کننده بر نتیجه اندازه گیری اثر نگذارد.

## پیوست ب (اطلاعاتی)

### روش جایگزین با استفاده از لوله های استخراج چربی مجهز به سیفون یا لوازم بطری شوی

#### ب-۱ کلیات

اگر از لوله های استخراج چربی مجهز به سیفون یا بطری شوی استفاده شود، روش ارائه شده در این پیوست را به کار ببرید. لوله ها باید همراه با چوب پنبه یا درپوش ها با کیفیت مناسب بوده، همان طور که در بند ۶-۶ برای بالن ها مشخص شده اند (به عنوان مثال به شکل ب-۱ رجوع شود).

#### ب-۲ روش اجرای آزمون

##### ب-۲-۱ آماده کردن آزمایش

به بند ۸ رجوع شود.

##### ب-۲-۲ آزمون

آزمون را طبق بند ۹-۱، اما با استفاده از لوله های استخراج چربی تهیه کنید (به یادآوری بند ۶-۶ و شکل ب-۱ رجوع کنید).

آزمون باید تا حد امکان به طور کامل وارد قسمت انتهایی لوله استخراج چربی شود.

##### ب-۲-۳ آزمون شاهد

به بند ۹-۲ و پیوست الف-۲ رجوع کنید.

##### ب-۲-۴ آماده سازی ظرف جمع آوری چربی

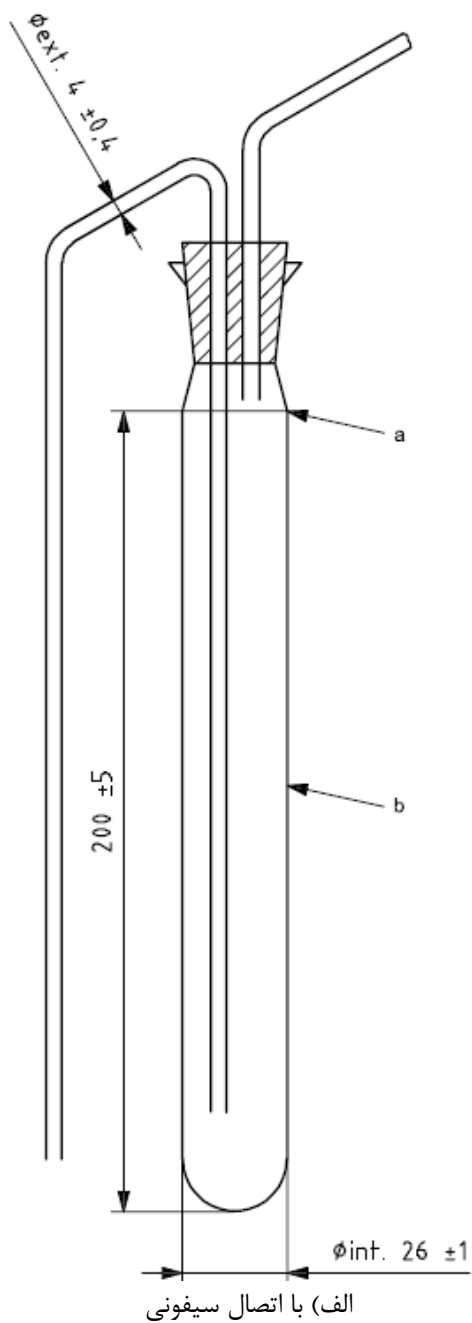
به بند ۹-۳ رجوع کنید.

##### ب-۲-۵ اندازه گیری

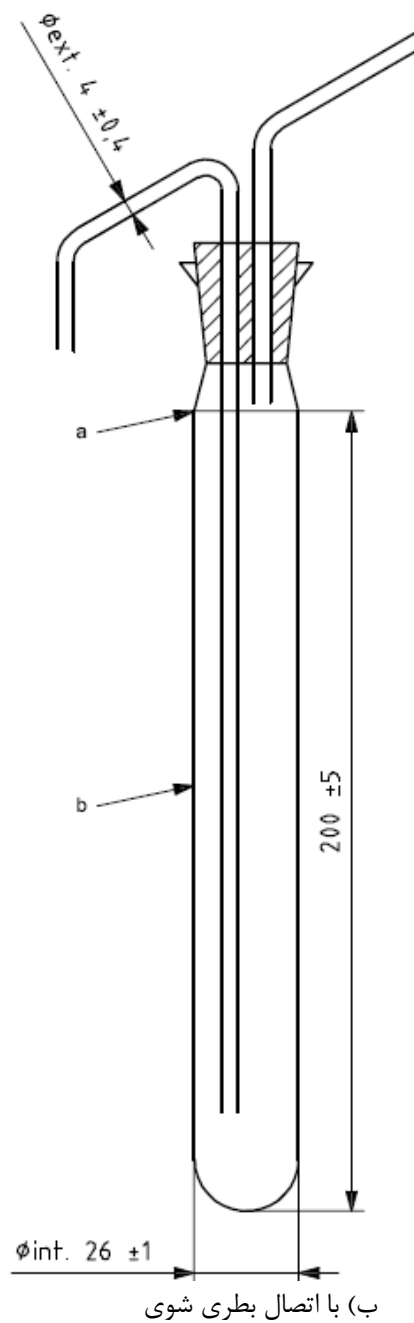
ب-۲-۵-۱ اندازه گیری را بدون تاخیر انجام دهید.

مقداری آب مقطر با دمای حدود ۵۰ درجه سلسیوس را به آزمون درون لوله استخراج چربی (ب-۲-۲) اضافه کنید تا حجم کلی آن به ۱۰ میلی لیتر تا ۱۱ میلی لیتر برسد. از آب مقطر برای شستشوی آزمون درون حباب کوچک بالن استخراج چربی استفاده کنید. آن را با آزمون کاملاً مخلوط کنید. بالن حاوی آزمایش را با کمک جریان آب تا دمای محیط سرد کنید.

ب-۲-۵-۲ دو میلی لیتر محلول آمونیاک (۵-۱) یا حجم معادل آن از محلول آمونیاک غلیظتر (به یادآوری بند ۵-۱ مراجعه شود) را به محتویات لوله استخراج چربی (ب-۲-۵-۱) اضافه کنید. آن را با آزمون موجود در داخل حباب کوچک بالن استخراج چربی کاملاً مخلوط کنید.



الف) با اتصال سیفونی



ب) با اتصال بطری شوی

**راهنما:**

- a ظرفیت تا این سطح با حذف اتصالات  $(10.5 \pm 0.5)$  میلی متر
- b ضخامت دیواره  $(1.5 \pm 0.5)$  میلی متر

**شکل ب-۱- مثال های از لوله های استخراج چربی**

ب-۲-۵-۳ ۱۰ میلی لیتر اتانول (۲-۵) اضافه کنید. آن را به آرامی با مواد موجود در ته لوله مخلوط کنید. در صورت لزوم، دو قطره محلول قرمز کنگو (۳-۵) اضافه کنید.

ب-۲-۵-۴ ۲۵ میلی لیتر دی اتیل اتر (۴-۵) اضافه کنید. لوله استخراج چربی را با یک چوب پنبه اشباع شده با آب یا با درپوش مناسب از جنس دیگر (۶-۶) که با آب مرطوب شده، ببندید. برای جلوگیری از تشکیل امولسیون مقاوم، بالن را به شدت (اما نه بیش از حد مورد نیاز) به مدت یک دقیقه تکان دهید. در صورت لزوم، لوله را با کمک جریان آب تا دمای محیط سرد کنید. با احتیاط چوب پنبه یا درپوش را بردارید. چوب پنبه یا درپوش و دهانه بالن را با مقدار کمی حلال مخلوط (۵-۶) آبکشی کنید. بطری شور (۶-۸) را به طوری که مواد حاصل از آبکشی به داخل لوله منتقل شود، استفاده کنید.

ب-۲-۵-۵ ۲۵ میلی لیتر نفت سبک (۵-۵) را به آن اضافه کنید. دهانه لوله استخراج چربی را با چوب پنبه یا درپوش مجدداً خیس شده (با غوطه‌ور کردن مجدد در آب) ببندید. دوباره لوله را به آرامی به مدت ۳۰ ثانیه طبق بند ب-۲-۵-۴ تکان دهید.

ب-۲-۵-۶ لوله استخراج چربی در بسته را به مدت ۱ دقیقه تا ۵ دقیقه با شتاب شعاعی ۸۰g تا ۹۰g سانتریفوژ کنید. اگر سانتریفوژ (۶-۲) در دسترس نیست، اجازه دهید لوله در بسته، برای حداقل ۳۰ دقیقه روی پایه (۶-۷) قرارگیرد تا لایه فوقانی شفاف شده و به طور مشخص از لایه آبی جدا شود. در صورت لزوم، لوله را با کمک جریان آب تا دمای محیط سرد کنید.

ب-۲-۵-۷ با احتیاط چوب پنبه یا درپوش را بردارید. چوب پنبه یا درپوش و دهانه بالن را با مقدار کمی حلال مخلوط (۵-۶) آبکشی کنید. بطری شور (۶-۸) را به طوری که مواد حاصل از آبکشی به داخل بالن منتقل شود، استفاده کنید.

ب-۲-۵-۸ لوازم سیفون یا لوازم بطری شوی را وارد لوله استخراج چربی کنید. لوله داخلی بلند لوازم را طوری که انتهای آن به میزان ۴ میلی لیتر بالاتر از تداخل بین لایه‌ها قرارگیرد، به طرف پایین فشار دهید. لوله داخلی باید موازی محور لوله استخراج چربی باشد.

با دقت لایه فوقانی لوله استخراج چربی را به ظرف جمع‌آوری چربی (به بند ۹-۳ رجوع شود) حاوی تعدادی سنگ جوش (۶-۱۰) منتقل نمایید (استفاده از سنگ جوش برای ظروف فلزی اختیاری است). از تخلیه لایه آبی خودداری کنید. دهانه خروجی اتصالات را با حلال مخلوط آبکشی کنید. حاصل آبکشی را به ظرف جمع‌آوری چربی، منتقل کنید.

یادآوری- می‌توان لایه بالایی را با استفاده از حباب پلاستیکی متصل به لوله کوتاه با اعمال فشار از لوله استخراج چربی به بیرون منتقل کرد.

ب-۲-۵-۹ لوازم را از قسمت گردن لوله استخراج چربی باز کنید. کمی لوازم را بالا بیاورید و قسمت انتهای آن را با کمی حلال مخلوط (۵-۶) آبکشی کنید. لوازم را پائین بیاورید و دوباره اتصالات را تعبیه کنید تا حاصل آبکشی را به ظرف جمع‌آوری چربی منتقل کنید.

مجدداً انتهای خروجی لوازم را با کمی حلال مخلوط آبکشی نمایید. حاصل آبکشی را به ظرف جمع‌آوری چربی منتقل کنید. در صورت لزوم، حلال یا بخشی از آن را از ظرف جمع‌آوری چربی به وسیله تقطیر یا تبخیر طبق بند ۹-۴-۱۳ حذف کنید.

ب-۲-۵-۱۰ مجدداً لوازم را از قسمت گردن باز کنید و وسایل را کمی بالا بیاورید و ۵ میلی لیتر اتانول به محتویات لوله استخراج چربی اضافه کنید. از اتانول برای آبکشی لوله‌های بلند داخلی استفاده کنید. طبق بند ب-۲-۵-۳ مخلوط کنید.

ب-۲-۵-۱۱ استخراج دوم را با تکرار کامل مراحل ب-۲-۵-۴ تا ب-۲-۵-۹ انجام دهید. به جای ۲۵ میلی‌لیتر، فقط از ۱۵ میلی‌لیتر دی‌اتیل اتر (۴-۵) و ۱۵ میلی لیتر نفت سبک (۵-۵) استفاده کنید. از دی اتیل اتر برای آبکشی لوله بلند داخلی لوازم در هنگام جدا کردن آنها از لوله استخراج چربی، بعد از استخراج قبلی استفاده کنید.

ب-۲-۵-۱۲ استخراج سوم را بدون اضافه کردن اتانول و با تکرار مجدد مراحل ب-۲-۵-۴ تا ب-۲-۵-۹ انجام دهید. در این مرحله نیز فقط ۱۵ میلی‌لیتر دی‌اتیل اتر و ۱۵ میلی‌لیتر نفت سبک استفاده کنید. از دی‌اتیل اتر برای آبکشی لوله بلند داخلی لوازم مطابق بند ب-۲-۵-۱۱ استفاده کنید.

ب-۲-۵-۱۳ آزمون را مطابق بندهای ۹-۴-۱۳ تا ۹-۴-۱۵، ادامه دهید.

پيوسٽ پ

(اطلاعاتي)

ڪتابنامہ

[1] INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Interlaboratory collaborative studies on reference method ISO 1211/IDF 1 for the determination of the fat content in cow milk, sheep milk and goat milk. *Bull. Int. Dairy Fed.* 2009, (439), pp. 1-34