



جمهوری اسلامی ایران

Islamic Republic of Iran

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

Institute of Standards and Industrial Research of Iran



استاندارد ملی ایران

۱۵۳۱

تجدید نظر دوم

ISIRI

1531

2nd . Revision

شیر خشک و فرآورده‌های شیر خشک -
اندازه‌گیری مقدار چربی - روش وزن‌سنجی
(روش مرجع)

**Dried milk and dried milk products-
Determination of fat content – Gravimetric
method (Reference method)**

ICS:67.100.10

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)^۱ کمیسیون بین‌المللی الکتروتکنیک (IEC)^۲ و سازمان بین‌المللی اندازه‌شناسی قانونی (OIML)^۳ است و به عنوان تنها رابط^۴ کمیسیون کدکس غذایی (CAC)^۵ 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

شیر خشک و فرآورده‌های شیر خشک - اندازه‌گیری مقدار چربی - روش وزن‌سنجی (روش

مرجع)

(تجدید نظر دوم)

رئیس:

اکرم‌زاده اردکانی، مجتبی
(فوق لیسانس شیمی تجزیه)

سمت و/یا نمایندگی

اداره کل استاندارد و تحقیقات صنعتی استان یزد

دبیران:

پزشکی اردکانی، سیده زهرا
(لیسانس مهندسی کشاورزی - صنایع غذایی)

شرکت پارس معیار سنجش ایساتیس

اداره کل استاندارد و تحقیقات صنعتی استان یزد

مالی، افشین

(لیسانس صنایع غذایی)

اعضاء: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)

ارسلان، علی رضا

(لیسانس شیمی)

کارشناس استاندارد

دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد - معاونت غذا و دارو

اکرم‌زاده اردکانی، نعیمه

(فوق لیسانس صنایع غذایی)

مرکز تحقیقات پرتو فرایند یزد

وخشور، بهرام

(لیسانس زیست شناسی)

دانشگاه پیام نور - واحد اردکان

بهجتی اردکانی، رضا

(لیسانس شیمی)

اداره کل استاندارد و تحقیقات صنعتی استان یزد

توکلیان اردکانی، زهرا

(فوق لیسانس شیمی تجزیه)

شرکت فراورده‌های لبنی می‌سان میبد

سالاری، حبیب

(لیسانس شیمی)

اداره کل استاندارد و تحقیقات صنعتی استان یزد

فاضل رضوی، خدیجه

(لیسانس صنایع غذایی)

اداره کل استاندارد و تحقیقات صنعتی استان یزد

قیصری، ناهید

(فوق لیسانس شیمی معدنی)

سازمان جهاد کشاورزی استان یزد - اردکان

مذکوری اردکانی، علی

(لیسانس مهندسی صنایع)

دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد- معاونت غذا و دارو

یاسائی، غلامرضا

(فوق لیسانس صنایع غذایی)

فهرست مندرجات

صفحه					عنوان
ب					آشنایی با مؤسسه استاندارد
ج					کمیسیون فنی تدوین استاندارد
و					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
۵				۷	نمونه‌برداری و تهیه نمونه
۵				۸	آماده‌سازی آزمایش
۵				۹	روش انجام آزمون
۱۰				۱۰	محاسبه و بیان نتایج
۱۰				۱۱	دقت
۱۱				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
۱۸					پیوست پ کتابنامه

پیش‌گفتار

استاندارد « شیر خشک و فرآورده‌های شیر خشک -اندازه‌گیری مقدار چربی- روش وزن‌سنجی (روش مرجع) نخستین بار در سال ۱۳۷۲ تدوین شد. این استاندارد بر اساس پیشنهادهای رسیده و بررسی توسط شرکت پارس معیار سنجش ایساتیس و تأیید کمیسیون‌های مربوطه، برای دومین بار مورد تجدید نظر قرار گرفت و در هزار و چهل و دومین اجلاسیه کمیته ملی استاندارد خوراک و فرآورده‌های کشاورزی مورخ ۱۳۸۹/۱۲/۱۶ تصویب شد. اینک به استناد بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات سازمان 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 ۱۵۳۱: سال ۱۳۸۵ است.

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

ISO 1736/IDF 9:2008, Dried milk and dried milk products-Determination of fat content – Gravimetric method (Reference method)

شیر خشک و فرآورده‌های شیر خشک - اندازه‌گیری مقدار چربی - روش وزن‌سنجی (روش مرجع)

هشدار- 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 چربی موجود در شیر خشک و فرآورده‌های شیر خشک است. این استاندارد برای شیر خشک با مقدار چربی ۴۰ درصد کسر جرمی یا بیشتر، شیر خشک کامل، شیر خشک کم چرب، شیر خشک بدون چربی، پودر آب پنیر، پودر دوغ کره و پودر پس‌آب کره نیز کاربرد دارد. این روش برای پودرهای که حاوی ذرات سخت بوده که در محلول آمونیاکی حل نشده یا اسیدهای چرب آزاد آنها زیاد است، کاربرد ندارد.

یادآوری- در مورد چنین فرآورده‌های استفاده از روش 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 ۳۲۶: سال ۱۳۸۷، شیر و فراورده‌های آن - راهنمای نمونه برداری
- ۲-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۱۷۲۸: سال ۱۳۸۱، آب - مورد مصرف در آزمایشگاه تجزیه - ویژگی‌ها و روش‌های آزمون
- ۳-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۱۹۶۲: سال ۱۳۶۹، ویژگی‌های پیت‌های زینه‌دار
- ۴-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۷۲۵۸: سال ۱۳۸۳، شیشه آلات آزمایشگاهی - استوانه‌های مدرج
- ۵-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۱-۷۴۴۲: سال ۱۳۸۳، درستی (صحت و دقت) روش‌ها و نتایج اندازه‌گیری - قسمت اول - تعاریف و اصول کلی

- ۶-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۷۴۴۲-۲: سال ۱۳۸۴، درستی (صحت و دقت) روش‌ها و نتایج اندازه‌گیری - قسمت دوم- روش پایه برای تعیین تکرارپذیری و تجدیدپذیری روش اندازه‌گیری استاندارد
- ۷-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۷۴۴۲-۳: سال ۱۳۸۴، درستی (صحت و دقت) روش‌ها و نتایج اندازه‌گیری - قسمت سوم - اندازه میانگین یک روش اندازه‌گیری استاندارد
- ۸-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۷۵۲۰: سال ۱۳۸۳، ظروف شیشه‌ای آزمایشگاهی - بالن‌های حجم‌سنجی با یک خط نشانه - ویژگی‌ها
- ۹-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۳۲۹: سال ۱۳۸۷، شیر و فرآورده‌های آن-بالن‌های استخراج چربی از نوع موژونیر-ویژگیها

۳ اصطلاحات و تعاریف

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

۱-۳

مقدار چربی شیر خشک و فرآورده‌های خشک شیر

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 (مطابق بند ۹-۲-۲) انجام شود، واکنشگرها نباید باقیمانده قابل توجهی بر جای بگذارند.

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

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

۲-۵ اتانول، 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 ($C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$) را وزن نموده و به بالن حجمی ۱۰۰ میلی لیتری (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 دقیق تر سطح تماس بین لایه های حلال و محلول آبی را فراهم می کند (به بند ۹-۴-۴ مراجعه شود). از سایر محلول های شناساگر آبی می توان استفاده نمود، به شرط آن که نتیجه آزمون را تحت تاثیر قرار ندهد.

هشدار- قرمز کنگو سرطان زا است.

۴-۵ دی اتیل اتر ($C_2H_5OC_2H_5$)، عاری از پراکسید (به بند الف.۳ مراجعه شود)، حاوی حداکثر دو میلی گرم بر لیتر آنتی اکسیدان و مطابق با الزامات آزمون شاهد (به بند ۹-۲-۲ و بندهای الف.۱ و الف.۴ مراجعه شود).

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

۵-۵ نفت سبک، با نقطه جوش در یکی از محدوده های 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 می شود از پنتان به علت خلوص بالاتر و کیفیت ثابت استفاده شود.

۶-۵ حلال مخلوط

قبل از استفاده، حجم های مساوی از دی اتیل اتر (۵-۴) و نفت سبک (۵-۵) را مخلوط نمایید.

۶ وسایل

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

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

۱-۶ ترازوی تجزیه ای، با قابلیت توزین با دقت یک میلی گرم و قرائت ۰٫۱ میلی گرم.
۲-۶ سانتریفوژ، با قابلیت نگهداری بالن ها یا لوله های 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 بالن ها یا لوله ها.

استفاده از سانتریفوژ اختیاری بوده، اما استفاده از آن توصیه می شود (به بند ۹-۴-۷ رجوع شود).

۳-۶ وسایل تقطیر یا تبخیر، برای تقطیر حلال ها و اتانول از بالن های جوش یا ازلن مایر، یا برای تبخیر از بشرها و پلیت ها (به بند ۹-۴-۱۴ رجوع 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 ± 2) درجه سلسیوس. آون باید مجهز به دماسنج مناسب باشد.
- ۵-۶ حمام آب، با توانائی حفظ و نگه‌داری آب در دمای جوش.
- 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 پلی‌تترافلوراتیلن) باشند که واکنشگرهای مورد استفاده روی آن بی‌اثر است. برای حذف تمامی مواد آلی، چوب‌پنبه‌ها باید با دی‌اتیل اتر (۴-۵) استخراج شوند، 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.
- ۷-۶ پایه، برای نگهداری بالن‌های استخراج چربی (یا لوله‌ها) (۶-۶).
- ۸-۶ بطری شوی، مناسب برای استفاده با حلال مخلوط (۵-۶).
- بطری شوی پلاستیکی نباید استفاده شود.
- ۹-۶ 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.
- ۱۰-۶ 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).
- ۱۱-۶ 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.
- ۱۲-۶ پی‌پت‌های مدرج، با ظرفیت ۱۰ میلی‌لیتر و کلاس A مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۱۹۶۲.
- ۱۳-۶ انبر، از جنس فلز، برای نگه داشتن بالن‌ها، بشرها یا ظروف مربوطه.
- ۱۴-۶ بالن‌های حجمی، تک نشانه، با ظرفیت ۱۰۰ میلی‌لیتر و کلاس A و مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۷۵۲۰.

۷ نمونه برداری و آماده سازی نمونه

این استاندارد روش نمونه برداری را در بر نمی گیرد. توصیه می شود نمونه برداری 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 فسادگی در آن ایجاد نشود.

۸ آماده سازی آزمایش

با چرخش و وارونه نمودن ظرف نگهداری نمونه آن را خوب مخلوط نمایید. در صورت لزوم، جهت سهولت اختلاط، آزمایش را به ظرف نگهداری نمونه عایق به هوا با ظرفیت تقریباً دو برابر حجم نمونه منتقل نمایید.

۹ روش انجام آزمون

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

یادآوری ۲- روش جایگزین با استفاده از لوله های 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 یکی از آزمون های که در ذیل مشخص شده از آزمایه با دقت یک میلی گرم به روش توزین مستقیم یا تفاضلی درون بالن استخراج چربی (۶-۶) توزین نمایید.

(الف) شیر خشک با مقدار چربی بالا یا شیر خشک کامل یا سرم خشک کره: حدود ۱,۰۰۰ گرم؛

(ب) شیر خشک کم چربی: حدود ۱,۵۰۰ گرم؛

(پ) شیر خشک بدون چربی: حدود ۱,۵۰۰ گرم؛

(ت) پودر آب پنیر: ۱,۵۰۰ گرم؛

(ث) پودر دوغ کره: ۱,۵۰۰ گرم

آزمون را تا حد امکان کامل به حباب پایینی بالن استخراج منتقل نمایید. در صورت مناسب بودن از پی پت (۶-۱۴) استفاده کنید.

۲-۹ آزمون های 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 میلی لیتر 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 واکنشگرها به تازگی صورت نگرفته باشد، آنها را کنترل کنید (۲-۲-۹). تصحیحات بیش از ۲٫۵ میلی‌گرم باید در گزارش آزمون ذکر شود.

۲-۲-۹ آزمون شاهد برای واکنشگرها

به منظور ارزیابی کیفیت واکنشگرها، 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 واکنشگرها 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 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 میلی‌لیتر حلال، مجدداً تقطیر نمایید و حلال‌ها را بلافاصله بعد از تقطیر مصرف کنید.

واکنشگرها 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 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 (۶-۱۳) 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.

حدود ۱۰ میلی لیتر آب با دمای (65 ± 5) 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.

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 بالن استخراج چربی محتوی آزمونه را درون حمام آب (۶-۵) با دمای (65 ± 5) درجه سلسیوس قرار دهید. بالن را به مدت ۱۵ دقیقه تا ۲۰ دقیقه در حمام آب نگه دارید. گاهی آن را به آرامی تکان داده تا آزمونه به طور کامل پخش شود. سپس بالن را با کمک جریان آب تا دمای محیط سرد کنید.

۴-۴-۹ 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

۵-۴-۹ 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.

۶-۴-۹ 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 ۴-۴-۹ تکان دادن را ادامه دهید.

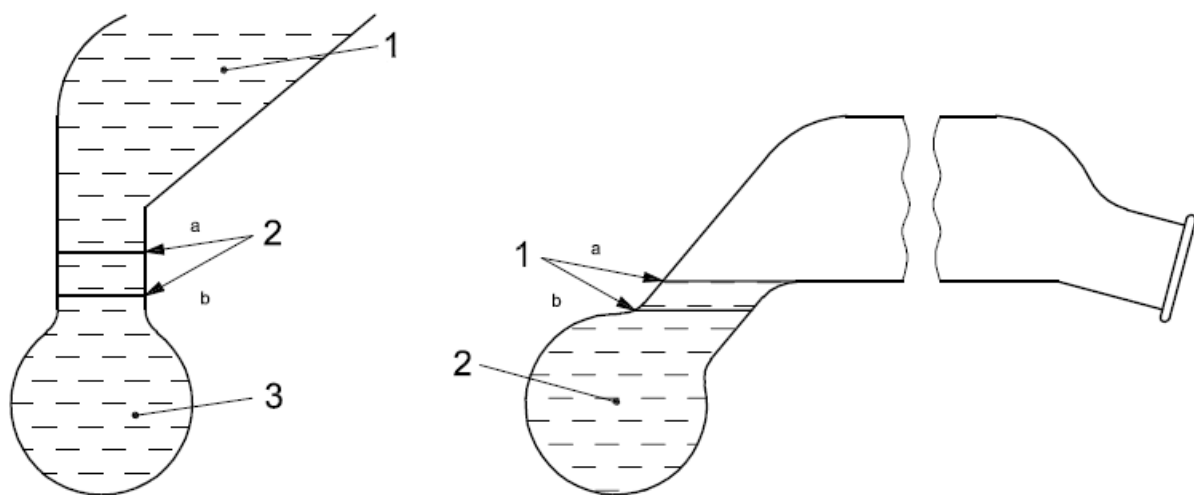
۷-۴-۹ بالن استخراج چربی در بسته را به مدت ۱ دقیقه تا ۵ دقیقه با شتاب شعاعی ۸۰g تا ۹۰g سانتریفوژ کنید. اگر سانتریفوژ در دسترس نیست، اجازه دهید بالن در بسته، برای حداقل ۳۰ دقیقه روی پایه (۶-۷) قرارگیرد تا لایه فوقانی شفاف شده و به طور مشخص از لایه آبی جدا شود. در صورت لزوم، بالن را با کمک جریان آب تا دمای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

۹-۴-۸ 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 یک 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.

۹-۴-۹ 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 رجوع شود) حاوی تعدادی سنگ جوش (۶-۱۰) منتقل نمایید. از تخلیه لایه آبی خودداری کنید (به شکل ۲ رجوع شود).

۹-۴-۱۰ 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 ۹-۴-۱۴ از ظرف جمع‌آوری چربی حذف نمایید.



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

۹-۴-۱۱ ۵ میلی لیتر اتانول (۵-۲) را به محتویات بالن استخراج چربی اضافه کنید. از اتانول برای آبکشی قسمت داخلی دهانه بالن استفاده کنید و طبق بند ۹-۴-۴ آن را مخلوط کنید.

۹-۴-۱۲ استخراج دوم را با تکرار کامل مراحل ۹-۴-۵ تا ۹-۴-۹ انجام دهید. به جای ۲۵ میلی لیتر، فقط از ۱۵ میلی لیتر دی اتیل اتر (۵-۴) 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 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 استخراج سوم را بدون اضافه کردن اتانول و با تکرار کامل مراحل ۹-۴-۵ تا ۹-۴-۹ انجام دهید. در این مرحله نیز فقط ۱۵ میلی لیتر دی اتیل اتر (۵-۴) 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.

یادآوری - استخراج سوم را برای فرآورده‌هایی با مقدار چربی کمتر از ۰٫۵ درصد، می توان حذف نمود.

۹-۴-۱۴ حلال‌ها (شامل اتانول) را تا حد امکان به طور کامل از ظرف جمع‌آوری 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.

۹-۴-۱۵ ظرف جمع‌آوری 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 جمع‌آوری 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 جمع‌آوری 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 شیشه‌ای جمع‌آوری چربی حداقل به مدت یک ساعت و ظروف فلزی حداقل به مدت نیم ساعت).

ظرف جمع‌آوری چربی را بلافاصله قبل از توزین تمیز نکنید. از انبر برای قرار دادن ظرف جمع‌آوری چربی روی ترازو استفاده کنید. ظرف جمع‌آوری چربی را با دقت ۱٫۰ میلی گرم وزن کنید.

۹-۴-۱۶ ظرف جمع‌آوری 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 ۹-۴-۱۵ مجدداً وزن کنید. خشک کردن و توزین کردن را تکرار نموده تا اختلاف دو توزین متوالی برابر ۱٫۰ میلی گرم یا کمتر باشد. کمترین جرم را به عنوان جرم ظرف جمع‌آوری 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 می‌شود:

$$W_f = \frac{(m_1 - m_2) - (m_3 - m_4)}{m_0} \times 100 \quad (۱)$$

که در آن:

m_0 جرم آزمون بر حسب گرم؛

m_1 جرم ظرف جمع‌آوری چربی و مواد استخراج شده بر حسب گرم، اندازه‌گیری شده در بند ۹-۴-۱۶؛

m_2 جرم ظرف جمع‌آوری چربی (۹-۳) بر حسب گرم؛

m_3 جرم ظرف جمع‌آوری چربی مورد استفاده در آزمون شاهد (۹-۲) و مواد استخراجی اندازه‌گیری شده

در بند ۹-۴-۱۶، بر حسب گرم؛

m_4 جرم ظرف جمع‌آوری چربی (۹-۳) مورد استفاده در آزمون شاهد (۹-۲)، بر حسب گرم.

۲-۱۰ بیان نتایج

نتایج را تا دو رقم بعد از اعشارگرد کنید.

۱۱ دقت

۱-۱۱ آزمون بین آزمایشگاهی

دقت روش در آزمون بین آزمایشگاهی طبق استاندارد ملی ایران شماره ۷۴۴۲ محاسبه شده و جزئیات آن 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 کسر جرمی چربی که در زیر مشخص شده بیشتر باشد:

الف) ۰٫۲۰ درصد برای شیر خشک با مقدار چربی بالا یا شیر خشک کامل؛

ب) ۰٫۱۵ برای شیر خشک کم چربی و پودر دوغ کره؛

ج) ۰٫۱۰ برای شیر خشک بدون چربی و پودر آب پنیر.

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 کسر جرمی چربی که در زیر مشخص شده بیشتر باشد:

الف) ۰٫۳۰ درصد برای شیر خشک با مقدار چربی بالا یا شیر خشک کامل؛

- (ب) ۰/۲۵ برای شیر خشک کم چربی و پودر دوغ کره؛
 (ج) ۰/۲۰ برای شیر خشک بدون چربی و پودر آب پنیر.

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 (۹-۴-۱۶ و ۹-۳-۳) 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، برای مثال 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 انجام آزمون

ب-۲-۱ آماده کردن آزمایه

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.

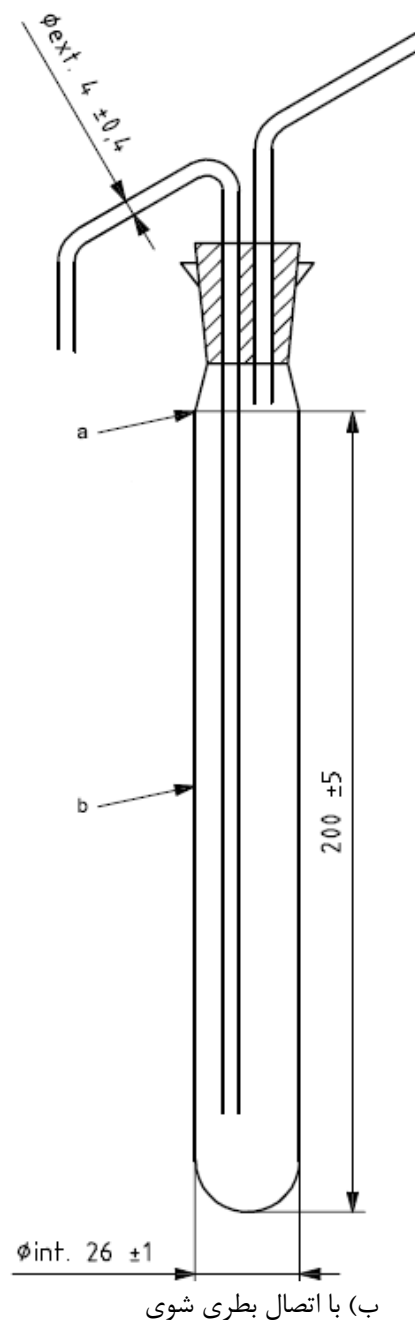
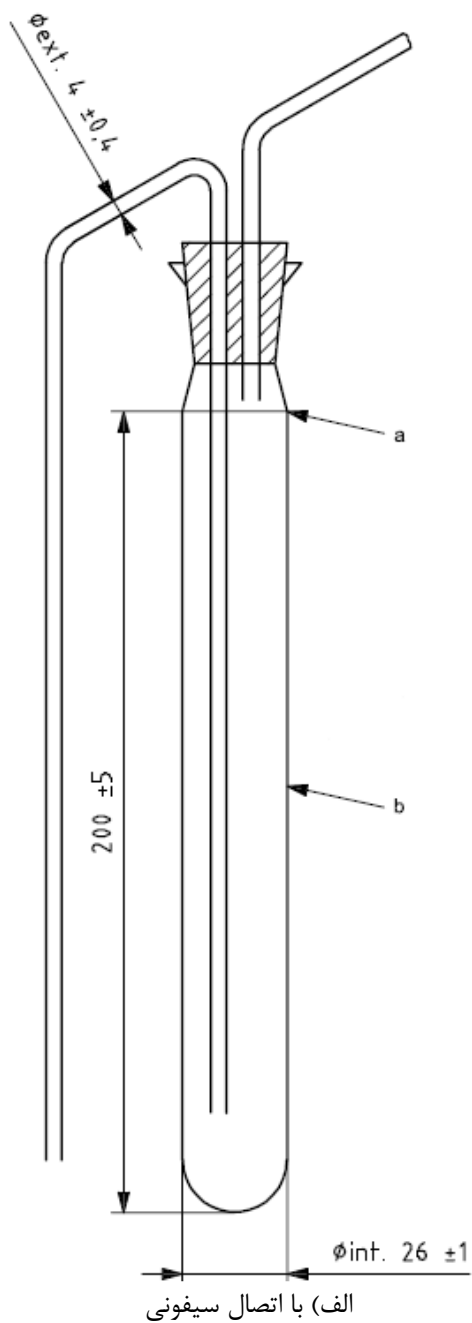
ب-۲-۵ اندازه گیری

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

۱۰ میلی لیتر آب مقطر از پیش گرم شده با دمای حدود (65 ± 5) درجه سلسیوس را به آزمون درون لوله استخراج چربی (ب.۲.۲) اضافه کنید تا آزمون را بشوید. کاملاً مخلوط کنید.

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

ب-۲-۵-۳ لوله استخراج چربی محتوی آزمون را درون حمام آب (۶-۵) با دمای (65 ± 5) درجه سلسیوس قرار دهید. بالن را به مدت ۱۵ دقیقه تا ۲۰ دقیقه در حمام آب نگه دارید. گاهگاهی آن را به آرامی تکان داده تا آزمون به طور کامل پخش شود. سپس بالن را با کمک جریان آب تا دمای محیط سرد کنید.



راهنما:

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

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

ب-۲-۴- 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-۲-۵-۵ 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-۲-۵-۶ 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.۵.۵.۲ تکان دهید.

ب-۲-۵-۷ لوله استخراج چربی در بسته را به مدت ۱ دقیقه تا ۵ دقیقه با شتاب شعاعی ۸۰g تا ۹۰g سانتریفوژ کنید. اگر سانتریفوژ 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-۲-۵-۸ 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-۲-۵-۹ 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 (به شکل ۲ رجوع شود). دهانه خروجی اتصالات را با حلال مخلوط (۵-۶) 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-۲-۵-۱۰ 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 ۹-۴-۱۴ حذف کنید.

ب-۲-۵-۱۱ 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-۲-۵-۴ مخلوط کنید.

ب-۲-۵-۱۲ استخراج دوم را با تکرار کامل مراحل ب-۲-۵-۵ تا ب-۲-۵-۱۰ 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 دی‌اتیل اتر برای آبکشی لوله بلند داخلی لوازم در هنگام جدا کردن آنها از لوله استخراج چربی، بعد از استخراج قبلی استفاده کنید.

ب-۲-۵-۱۳ استخراج سوم را بدون اضافه کردن اتانول و با تکرار مجدد مراحل ب-۲-۵-۵ تا ب-۲-۵-۱۱ انجام دهید. در این مرحله نیز فقط ۱۵ میلی‌لیتر دی‌اتیل اتر (۴-۵) و ۱۵ میلی‌لیتر نفت سبک (۵-۵) استفاده کنید. از دی اتیل اتر برای آبکشی لوله بلند داخلی لوازم مطابق بند ب.۲.۵.۱۲ استفاده کنید.

یادآوری- استخراج سوم را برای فرآورده‌هایی با مقدار چربی کمتر از ۰/۵ درصد می‌توان، حذف نمود.

ب-۲-۵-۱۴ آزمون را مطابق بندهای ۹-۴-۱۴ تا ۹-۴-۱۶، ادامه دهید.

پيوسٽ پ

ڪتاب نامہ

[1] INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Interlaboratory collaborative studies, Second series. *Bull. Int. Dairy Fed.* 1988, (235)