



ÖNORM EN ISO 1211

Ausgabe: 2001-10-01

Normengruppe N

Ident (IDT) mit ISO 1211:1999 (Übersetzung)

Ident (IDT) mit EN ISO 1211:2001

Ersatz für Ausgabe 1995-09

ICS 67.100.10

Milch – Bestimmung des Fettgehaltes – Gravimetrisches Verfahren (Referenzverfahren)

(ISO 1211:1999)

Milk – Determination of fat content – Gravimetric method (Reference method)
(ISO 1211:1999)

Lait – Détermination de la teneur en matière grasse – Méthode gravimétrique (Méthode
de référence) (ISO 1211:1999)

Die Europäische Norm EN ISO 1211 hat den Status einer Österreichischen Norm.

Die ÖNORM EN ISO 1211 besteht aus

- diesem nationalen Deckblatt sowie
- der offiziellen deutschsprachigen Fassung der EN ISO 1211:2001.

Fortsetzung
EN ISO 1211 Seiten 1 bis 13

EUROPÄISCHE NORM
EUROPEAN STANDARD
NORME EUROPÉENNE

EN ISO 1211

August 2001

ICS 67.100.10

Ersatz für EN ISO 1211:1995

Deutsche Fassung

**Milch - Bestimmung des Fettgehaltes - Gravimetrisches
Verfahren (Referenzverfahren) (ISO 1211:1999)**

Milk - Determination of fat content - Gravimetric method
(Reference method) (ISO 1211:1999)

Lait - Détermination de la teneur en matière grasse -
Méthode gravimétrique (Méthode de référence)
(ISO 1211:1999)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 14. Juni 2001 angenommen.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist. Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim Management-Zentrum oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

Diese Europäische Norm besteht in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch). Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Dänemark, Deutschland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Luxemburg, Niederlande, Norwegen, Österreich, Portugal, Schweden, Schweiz, Spanien, der Tschechischen Republik und dem Vereinigten Königreich.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

Management-Zentrum: rue de Stassart, 36 B-1050 Brüssel

Vorwort

Der Text der Internationalen Norm ISO 1211:1999 des Technischen Komitees ISO/TC 34 „Food products“ der International Organization for Standardization (ISO) wurde als Europäische Norm durch das Technische Komitee CEN/TC 302 „Milch und Milchprodukte – Probenahme- und Untersuchungsverfahren“ übernommen, dessen Sekretariat vom NEN gehalten wird.

Diese Europäische Norm ersetzt EN ISO 1211:1995.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Februar 2002, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Februar 2002 zurückgezogen werden.

Entsprechend der CEN/CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Norm zu übernehmen: Belgien, Dänemark, Deutschland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Italien, Luxemburg, Niederlande, Norwegen, Österreich, Portugal, Schweden, Schweiz, Spanien, die Tschechische Republik und das Vereinigte Königreich.

Anerkennungsnotiz

Der Text der Internationalen Norm ISO 1211:1999 wurde von CEN als Europäische Norm ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

WARNHINWEIS Bei der Anwendung dieser Internationalen Norm ist es möglich, dass gefährliche Substanzen, Arbeitsgänge und Geräte angewendet werden. Diese Norm erhebt nicht den Anspruch, dass alle mit ihrer Anwendung verbundenen Sicherheitsprobleme angesprochen werden. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders dieser Norm, geeignete Vorkehrungen für den Arbeits- und Gesundheitsschutz zu treffen und vor der Anwendung festzulegen, welche einschränkenden Vorschriften gelten.

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm legt das Referenzverfahren für die Bestimmung des Fettgehaltes von Milch fest. Das Verfahren gilt für Rohmilch, bearbeitete flüssige Milch, teilentrahmte Milch und Magermilch, in der keine merkliche Trennung oder Fettspaltung eingetreten ist (siehe Anmerkung im Abschnitt 8).

ANMERKUNG Falls für Magermilch eine höhere Bestimmungsgenauigkeit erforderlich ist, z. B. um die Wirksamkeit von Rahmseparatoren festzustellen, sollte das in ISO 7208 speziell für entrahmte Produkte festgelegte Verfahren angewandt werden.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden normativen Dokumente enthalten Festlegungen, die durch Verweisungen in diesem Text Bestandteil dieser Internationalen Norm sind. Bei datierten Verweisungen gelten spätere Änderungen oder Überarbeitungen dieser Publikationen nicht. Anwender dieser Internationalen Norm werden jedoch gebeten, die Möglichkeit zu prüfen, die jeweils neuesten Ausgaben der nachstehend angegebenen normativen Dokumente anzuwenden. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen normativen Dokuments. Mitglieder von ISO und IEC führen Verzeichnisse der gültigen Internationalen Normen.

ISO 3889, *Milk and milk products – Determination of fat content – Mojonnier-type fat extraction flasks.*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieser Internationalen Norm gilt der folgende Begriff:

3.1

Fettgehalt von Milch

Massenanteil der Substanzen, die mit dem in dieser Internationalen Norm festgelegten Verfahren bestimmt werden

ANMERKUNG Der Fettgehalt wird als Massenanteil in Prozent [früher % (*m/m*)] angegeben.

4 Kurzbeschreibung

Eine ammoniakalische ethanolische Lösung einer Untersuchungsmenge (Einwaage) wird mit Diethylether und Petroleumbenzin extrahiert. Die Lösemittel werden durch Destillation oder Verdampfen entfernt. Die Masse der extrahierten Substanzen wird bestimmt.

ANMERKUNG Dies ist allgemein als Röse-Gottlieb-Prinzip bekannt.

5 Chemikalien

Falls nicht anders festgelegt, dürfen bei der Untersuchung nur Reagenzien von anerkannter Analysenreinheit und destilliertes oder entmineralisiertes Wasser oder Wasser von mindestens gleichwertiger Reinheit verwendet werden.

Die Reagenzien dürfen keinen merklichen Trocknungsrückstand hinterlassen, wenn die Bestimmung nach dem festgelegten Verfahren durchgeführt wird (siehe 9.2.2).

5.1 Ammoniaklösung, mit einem Massenanteil an NH_3 von etwa 25 %, ($\rho_{20} = 910 \text{ g/l}$)

ANMERKUNG Falls Ammoniaklösung dieser Konzentration nicht erhältlich ist, darf eine konzentriertere Lösung bekannter Konzentration verwendet werden (siehe 9.4.1).

5.2 Ethanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) oder mit Methanol vergälltes Ethanol, mit einem Volumenanteil an Ethanol von mindestens 94 %.

(Siehe A.5)

5.3 Kongorot-Lösung

1 g Kongorot wird in einem 100-ml-Messkolben (6.14) in Wasser gelöst und mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt.

ANMERKUNG Die Verwendung dieser Lösung, die die klarere Erkennung der Grenze zwischen der Lösemittelphase und der wässrigen Phase ermöglicht, ist freigestellt (siehe 9.4.2). Andere wässrige Farblösungen dürfen verwendet werden, sofern sie das Ergebnis der Bestimmung nicht beeinflussen.

5.4 Diethylether ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OC}_2\text{H}_5$), peroxidfrei (siehe A.3). Der Diethylether darf höchstens 2 mg/kg Antioxidantien enthalten und muss den Anforderungen des Blindversuchs (siehe 9.2.2, A.1 und A.4) entsprechen.

ANMERKUNG Die Verwendung von Diethylether kann zu Gefahrensituationen führen. Auf Grund der zu erwartenden Änderungen in den Sicherheitsbestimmungen sind derzeit Untersuchungen zum Ersatz von Diethylether durch ein anderes Reagenz im Gange, vorausgesetzt, dass dadurch nicht das Endergebnis der Bestimmung beeinflusst wird.

5.5 Petroleumbenzin, Siedebereich von 30 °C bis 60 °C, oder als gleichwertige Substanz Pentan ($\text{CH}_3[\text{CH}_2]_3\text{CH}_3$) mit einem Siedepunkt von 36 °C, jeweils entsprechend den Anforderungen des Blindversuchs (siehe 9.2.2, A.1 und A.4).

ANMERKUNG Wegen seiner höheren Reinheit und gleichbleibenden Qualität sollte Pentan verwendet werden.

5.6 Lösemittelgemisch

Kurz vor der Verwendung werden gleiche Volumenteile Diethylether (5.4) und Petroleumbenzin (5.5) gemischt.

6 Geräte

WARNHINWEIS Da bei der Bestimmung flüchtige entflammable Lösemittel verwendet werden, müssen die eingesetzten elektrischen Geräte die rechtlichen Bestimmungen erfüllen, die bezüglich der Gefahren beim Verwenden derartiger Lösemittel gelten.

Übliche Laborausrüstung sowie:

6.1 Analysenwaage, mit der auf 1 mg gewogen werden kann und die auf 0,1 mg ablesbar ist.

6.2 Zentrifuge, in die die Fettextraktionskolben oder -rohre (6.6) eingestellt werden können und die auf eine Drehzahl von 500 min^{-1} bis 600 min^{-1} mit einer wirksamen Zentrifugalbeschleunigung von 80 g bis 90 g, am äußeren Ende der Kolben oder Rohre, einstellbar ist.

ANMERKUNG Die Verwendung der Zentrifuge ist freigestellt, sie wird jedoch empfohlen (siehe 9.4.5).

6.3 Gerät zum Abdestillieren oder Verdampfen, um die Lösemittel und das Ethanol aus den Rund- oder Erlenmeyerkolben abzudestillieren oder aus Bechergläsern und Schalen (siehe 9.4.12) bei höchstens 100 °C zu verdampfen.

6.4 Wärmeschrank, elektrisch beheizt, mit vollständig geöffneter(n) Belüftungsöffnung(en), für den gesamten Arbeitsraum auf $(102 \pm 2) \text{ °C}$ einstellbar.

Der Wärmeschrank muss mit einem geeigneten Thermometer ausgestattet sein.

6.5 Wasserbad, einstellbar auf 35 °C bis 40 °C.

6.6 Fettextraktionskolben nach Mojonier, nach ISO 3889.

ANMERKUNG Wahlweise dürfen auch Fettextraktionsrohre, die mit einem Siphon- oder Waschflascheneinsatz ausgestattet sind, verwendet werden. Die in diesem Fall abweichende Arbeitsweise ist in Anhang B beschrieben.

Die Fettextraktionskolben müssen mit Korkstopfen guter Qualität oder Stopfen aus sonstigem Material (zum Beispiel Silikonkautschuk oder Polytetrafluorethylen (PTFE)) versehen sein, die durch die verwendeten Reagenzien nicht beeinflusst werden. Korkstopfen müssen mit Diethylether (5.4) extrahiert und danach mindestens 15 min in Wasser von mindestens 60 °C gelagert werden. Anschließend werden die Korkstopfen im Wasser abgekühlt, so dass diese bei Gebrauch mit Wasser gesättigt sind.

6.7 Ständer für Fettextraktionskolben (oder -rohre) (6.6).

6.8 Waschflasche, die für die Verwendung mit dem Lösemittelgemisch (5.6) geeignet ist.

Waschflaschen aus Kunststoff dürfen nicht verwendet werden.

6.9 Fettsammelkolben, Rundkolben (Stehkolben) mit Nennvolumina von 125 ml bis 250 ml, Erlenmeyerkolben mit einem Nennvolumen von 250 ml oder Metallschalen.

Falls Metallschalen verwendet werden, sind Schalen aus nichtrostendem Stahl mit flachem Boden, einem Durchmesser von 80 mm bis 100 mm und einer Höhe von etwa 50 mm einzusetzen.

6.10 Siedehilfsmittel, fettfrei, aus nicht porösem Porzellan oder Siliciumcarbid (Verwendung bei Metallschalen freigestellt).

6.11 Messzylinder, Nennvolumina 5 ml und 25 ml.

6.12 10-ml-Messpipetten, graduiert.

6.13 Zange, aus Metall, zum Halten von Kolben, Bechergläsern oder Schalen.

6.14 Messkolben, Nennvolumen 100 ml.

7 Probenahme

Die Probenahme ist nicht Bestandteil des in dieser Internationalen Norm festgelegten Verfahrens. Ein als geeignet zu empfehlendes Probenahmeverfahren ist in ISO 707 angegeben.

Es ist wichtig, dass dem Labor eine Probe zur Verfügung gestellt wird, die tatsächlich repräsentativ ist und die während des Transports oder der Lagerung nicht beschädigt oder verändert wurde.

Die Proben müssen vom Zeitpunkt der Probenahme bis zum Beginn der Untersuchung bei 2 °C bis 6 °C aufbewahrt werden.

8 Vorbereitung der Untersuchungsprobe

Die Untersuchungsprobe wird, falls erforderlich im Wasserbad (6.5), auf 35 °C bis 40 °C erwärmt und durch vorsichtiges wiederholtes Stürzen der Probenflasche gründlich durchmischt, ohne jedoch Schaumbildung oder Ausbuttern zu verursachen. Anschließend wird schnell auf etwa 20 °C abgekühlt. Ausgebutterte Milch darf nicht gekühlt werden, da diese bei 30 °C bis 40 °C (siehe 9.1) eingewogen werden muss.

Falls eine homogene Untersuchungsprobe ohne Erwärmung auf 35 °C bis 40 °C erhalten werden kann (z. B. bei Magermilchproben), sollte die folgende Arbeitsweise angewandt werden:

Die Untersuchungsprobe wird auf 20 °C erwärmt. Anschließend wird gründlich durchmischt, um eine homogene Verteilung des Fettes in der Untersuchungsprobe sicherzustellen. Beim Schütteln ist darauf zu achten, dass dadurch weder Schaumbildung noch Ausbuttern verursacht werden.

ANMERKUNG Ein zuverlässiger Wert für den Fettgehalt kann nicht erwartet werden:

- wenn die Milch ausgebuttert ist;
- wenn ein ausgeprägter Geruch nach freien Fettsäuren wahrzunehmen ist;
- falls während oder nach der Vorbereitung der Probe weiße Partikel an den Wandungen der Probenflasche erkennbar sind oder Fetttropfchen auf der Oberfläche der Probe schwimmen.

9 Durchführung

ANMERKUNG 1 Falls es erforderlich ist, das Einhalten der Wiederholgrenze (11.2) nachzuprüfen, sind zwei Einzelbestimmungen nach 9.1 bis 9.4 vorzunehmen.

ANMERKUNG 2 Ein alternatives Verfahren unter Verwendung von Fettextraktionsrohren mit Siphon- oder Waschflascheneinsätzen (siehe Anmerkung zu 6.6) ist im Anhang B beschrieben.

9.1 Einwaage

Die Untersuchungsprobe (siehe Abschnitt 8) wird durch vorsichtiges drei- oder viermaliges Drehen des Probenbehältnisses durchmischt. Unmittelbar anschließend werden 10 g bis 11 g der Untersuchungsprobe direkt oder durch Differenzwägung auf 1 mg in einen Fettextraktionskolben (6.6) eingewogen.

Die Einwaage ist so vollständig wie möglich in die untere (kleine) Kugel des Fettextraktionskolbens zu überführen.

9.2 Blindversuche

9.2.1 Blindversuch für das Verfahren

Gleichzeitig mit der Bestimmung ist ein Blindversuch mit 10 ml Wasser anstelle der Einwaage (siehe 9.4.1) durchzuführen, bei dem die gleiche Arbeitsweise anzuwenden und die gleichen Chemikalien zu verwenden sind (siehe A.2).

Falls der im Blindversuch erhaltene Wert regelmäßig 1,0 mg überschreitet, sind die Reagenzien zu überprüfen, sofern dies nicht erst kürzlich erfolgt ist (siehe 9.2.2). Korrekturen über 2,5 mg sollten im Untersuchungsbericht erwähnt werden.

9.2.2 Blindversuch für die Reagenzien

Zur Prüfung der Qualität der Reagenzien ist ein Blindversuch, wie in 9.2.1 beschrieben, durchzuführen. Hierfür wird zusätzlich ein leerer nach 9.3 vorbereiteter Fettsammelkolben zur Überprüfung der Massenabweichungen verwendet. Die Reagenzien dürfen keinen größeren Trocknungsrückstand als 1,0 mg hinterlassen (siehe A.1).

Falls die Masse des Rückstandes der gesamten Blindreagenzien 1,0 mg überschreitet, wird der Rückstand der Lösemittel getrennt bestimmt, indem je 100 ml Diethylether (5.4) und Petroleumbenzin (5.5) destilliert werden. Um die wahre Masse des Rückstands zu bestimmen, die 1,0 mg nicht überschreiten darf, wird ein leerer Fettsammelkolben verwendet, der, wie oben beschrieben, für Überprüfungszwecke vorbereitet wird.

Sehr selten können die Lösemittel flüchtige Substanzen enthalten, die vom Fett hartnäckig zurückgehalten werden. Falls Anzeichen für das Vorhandensein derartiger Substanzen vorliegen, sind mit allen Reagenzien und für jedes Lösemittel Blindversuche unter Verwendung eines Fettsammelkolbens mit etwa 1 g wasserfreiem Butterfett durchzuführen. Falls erforderlich, sind die Lösemittel zusammen mit 1 g wasserfreiem Butterfett je 100 ml Lösemittel erneut zu destillieren. Die Lösemittel dürfen nur kurze Zeit nach der Redestillation verwendet werden.

Nicht zufrieden stellende Reagenzien und Lösemittel sind zu ersetzen oder die Lösemittel erneut zu destillieren.

9.3 Vorbereitung des Fettsammelkolbens

Ein Fettsammelkolben (6.9) wird mit einer geringen Menge Siedehilfsmittel (6.10) bei 102 °C im Wärmeschrank (6.4) 1 h getrocknet.

ANMERKUNG 1 Die Verwendung von Siedehilfsmitteln ist wünschenswert, um während des folgenden Abdestillierens der Lösemittel ein gelindes Sieden zu fördern, insbesondere bei der Verwendung von Fettsammelkolben aus Glas; die Verwendung von Siedehilfsmitteln bei Metallschalen ist freigestellt.

Der Fettsammelkolben wird staubgeschützt auf die Temperatur des Wägers abkühlen gelassen (Fettsammelkolben aus Glas mindestens 1 h, Metallschalen mindestens 30 min).

ANMERKUNG 2 Um unzureichendes Abkühlen oder übermäßig lange Abkühlzeiten zu vermeiden, sollte der Fettsammelkolben nicht in einen Exsikkator gestellt werden.

Zum Aufstellen des Fettsammelkolbens auf die Waage wird eine Zange (6.13) verwendet. Der Fettsammelkolben wird auf 1,0 mg gewogen.

ANMERKUNG 3 Eine Zange sollte vorzugsweise verwendet werden, um insbesondere Temperaturänderungen zu vermeiden.

9.4 Bestimmung

9.4.1 Die Bestimmung wird unverzüglich durchgeführt.

2 ml Ammoniaklösung (5.1) oder eine äquivalente Menge einer konzentrierteren Ammoniaklösung (siehe Anmerkung zu 5.1) werden zu der Einwaage (9.1) gegeben und mit dieser gründlich in der (kleinen) Kugel des Fettextraktionskolbens durchmischt.

9.4.2 10 ml Ethanol (5.2) werden zugegeben. Es wird vorsichtig, aber gründlich durchmischt, indem der Inhalt des Fettextraktionskolbens zwischen der (kleinen) Kugel und dem Körper hin- und herfließt. Dabei ist zu vermeiden, dass die Flüssigkeit zu nahe an den Hals des Fettextraktionskolbens gelangt. Wahlweise können zwei Tropfen Kongorot-Lösung (5.3) zugesetzt werden.

9.4.3 25 ml Diethylether (5.4) werden zugegeben. Der Fettextraktionskolben wird mit einem mit Wasser gesättigten Korkstopfen oder mit einem mit Wasser befeuchteten Stopfen aus anderem Material (6.6) verschlossen. Der Fettextraktionskolben wird 1 min kräftig geschüttelt, jedoch nicht übermäßig, um die Bildung beständiger Emulsionen zu vermeiden.

Während des Schüttelns wird der Fettextraktionskolben horizontal, mit der (kleinen) Kugel nach oben gerichtet, gehalten, so dass die Flüssigkeit abwechselnd aus der (kleinen) Kugel in den Körper und zurück fließen kann. Falls erforderlich, wird der Fettextraktionskolben unter fließendem Wasser auf Raumtemperatur abgekühlt. Der Korken oder Stopfen wird vorsichtig entfernt und dieser und der Hals des Fettextraktionskolbens mit etwas Lösemittelgemisch (5.6) gespült. Dazu wird die Waschflasche (6.8) in der Weise verwendet, dass die Spülflüssigkeit in den Fettextraktionskolben fließt.

9.4.4 25 ml Petroleumbenzin (5.5) werden zugegeben. Der Fettextraktionskolben wird mit dem (durch Eintauchen in Wasser) wieder befeuchteten Korken oder Stopfen verschlossen und erneut, wie in 9.4.2 beschrieben, vorsichtig 30 s durchmischt. Anschließend ist mit Schütteln, wie in 9.4.3 beschrieben, fortzufahren.

9.4.5 Der verschlossene Fettextraktionskolben wird 1 min bis 5 min bei einer Zentrifugalbeschleunigung von 80 g bis 90 g zentrifugiert. Steht keine Zentrifuge zur Verfügung, wird der verschlossene Fettextraktionskolben mindestens 30 min im Ständer (6.7) stehen gelassen, bis die überstehende Phase klar geworden ist und sich deutlich von der wässrigen Phase getrennt hat. Falls erforderlich, wird der Fettextraktionskolben unter fließendem Wasser auf Raumtemperatur abgekühlt.

9.4.6 Der Korken oder Stopfen wird vorsichtig entfernt und dieser und die Innenseite des Halses des Fettextraktionskolbens mit etwas Lösemittelgemisch (5.6) gespült. Dazu wird die Waschflasche (6.8) in der Weise verwendet, dass die Spülflüssigkeit in den Fettextraktionskolben fließt. Falls sich die Phasengrenzschicht unterhalb des unteren Endes des Kolbenschaftes befindet, wird sie durch vorsichtiges Zugießen von Wasser, das an der Gefäßwand herunterlaufen muss, geringfügig über dieses Niveau gehoben (siehe Bild 1), um das Dekantieren der Lösemittel zu erleichtern.

ANMERKUNG In den Bildern 1 und 2 wurde einer der drei in ISO 3889 beschriebenen Fettextraktionskolbentypen ausgewählt. Dies bedeutet aber nicht, dass diesem der Vorzug gegenüber den anderen Typen gegeben wird.

9.4.7 Der Fettextraktionskolben wird an der (kleinen) Kugel gehalten und es wird vorsichtig so viel wie möglich von der überstehenden Phase in den vorbereiteten, im Falle eines Rund- oder Erlenmeyerkolbens mit Siedehilfsmittel (6.10) versehenen Fettsammelkolben (siehe 9.3) dekantiert (bei Metallschalen ist die Verwendung von Siedehilfsmitteln freigestellt). Ein Dekantieren der wässrigen Phase ist zu vermeiden (siehe Bild 2).

9.4.8 Der äußere Hals des Fettextraktionskolbens wird mit etwas Lösemittelgemisch (5.6) abgespült und die Spülflüssigkeit im Fettsammelkolben aufgefangen. Es ist darauf zu achten, dass das Lösemittelgemisch nicht über die Außenseite des Fettextraktionskolbens fließt. Falls erwünscht, wird das Lösemittel oder ein Teil davon, wie in 9.4.12 beschrieben, durch Destillation oder Verdampfen aus dem Fettsammelkolben entfernt.

9.4.9 Zum Inhalt des Fettextraktionskolbens werden 5 ml Ethanol (5.2) gegeben. Das Ethanol dient zum Abspülen der Halsinnenseite des Fettextraktionskolbens. Es wird durchmischt, wie in 9.4.2 beschrieben.

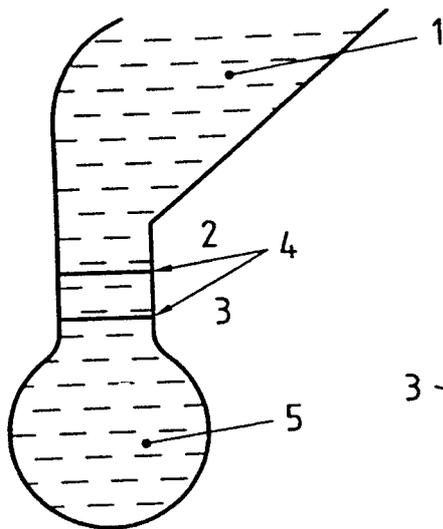
9.4.10 Es wird eine zweite Extraktion durchgeführt, indem die in 9.4.3 bis 9.4.7 beschriebenen Verfahrensschritte wiederholt werden. Anstelle von 25 ml werden jedoch nur 15 ml Diethylether (5.4) und 15 ml Petroleumbenzin (5.5) verwendet. Der Diethylether wird auch dazu verwendet, die Halsinnenseite des Fettextraktionskolbens abzuspülen.

Falls erforderlich, wird die Phasengrenzschicht durch vorsichtiges Zugeben von Wasser entlang der Kolbeninnenseite (siehe Bild 1) geringfügig auf ein Niveau in der Mitte des Schaftes angehoben, um das Lösemittel abschließend so vollständig wie möglich dekantieren zu können (siehe Bild 2).

9.4.11 Es wird eine dritte Extraktion ohne Zugabe von Ethanol durch neuerliches Wiederholen der in 9.4.3 bis 9.4.7 beschriebenen Verfahrensschritte durchgeführt, wiederum mit nur 15 ml Diethylether (5.4) und 15 ml Petroleumbenzin (5.5). Der Diethylether wird wieder dazu verwendet, die Halsinnenseite des Fettextraktionskolbens abzuspülen.

Falls erforderlich, wird die Phasengrenzschicht durch vorsichtiges Zugeben von Wasser entlang der Kolbeninnenseite (siehe Bild 1) geringfügig auf ein Niveau in der Mitte des Schaftes angehoben, um das Lösemittel abschließend so vollständig wie möglich dekantieren zu können (siehe Bild 2).

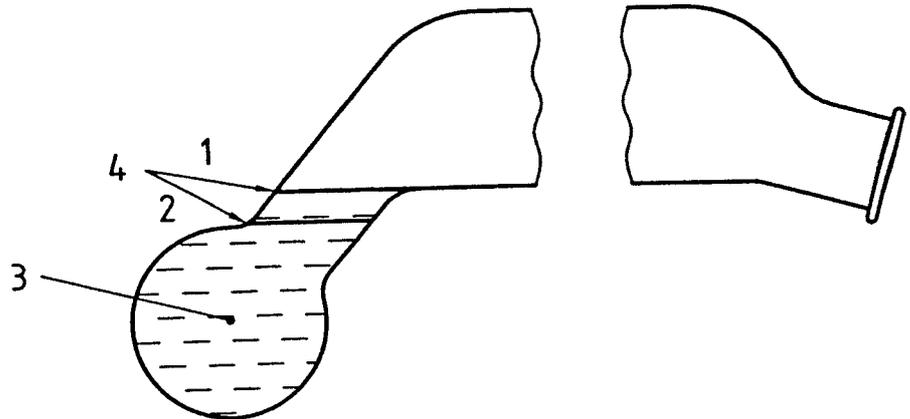
ANMERKUNG Die dritte Extraktion darf für Milch mit einem Fettgehalt unter 0,5 % entfallen.



Legende

- 1 Lösemittel
- 2 bei der zweiten und dritten Extraktion
- 3 bei der ersten Extraktion
- 4 Phasengrenzschicht
- 5 wässrige Phase

Bild 1 – Vor dem Dekantieren



Legende

- 1 bei der zweiten und dritten Extraktion
- 2 bei der ersten Extraktion
- 3 wässrige Phase
- 4 Phasengrenzschicht

Bild 2 – Nach dem Dekantieren

9.4.12 Die Lösemittel (einschließlich des Ethanol) werden, sofern ein Rund- oder Erlenmeyerkolben verwendet wurde, so vollständig wie möglich aus dem Fettsammelkolben abdestilliert oder aus dem Becherglas oder der Schale (6.3) verdampft. Vor Beginn der Destillation wird die Innenseite des Rund- oder Erlenmeyerkolbenhalses mit etwas Lösemittelgemisch (5.6) abgespült.

9.4.13 Der Fettsammelkolben wird im Wärmeschrank (6.4) 1 h bei 102 °C erwärmt, wobei der Rund- oder Erlenmeyerkolben auf der Seite liegt, um das Entweichen der Lösemitteldämpfe zu ermöglichen. Der Fettsammelkolben wird aus dem Wärmeschrank entnommen und sofort geprüft, ob das Fett klar ist. Falls es nicht klar ist, ist das Vorhandensein fettfremder Substanzen anzunehmen, und der gesamte Arbeitsablauf muss wiederholt werden. Falls das Fett klar ist, ist der Fettsammelkolben vor Staub geschützt (jedoch nicht im Exsikkator) auf die Temperatur des Wägers abkühlen zu lassen (Fettsammelkolben aus Glas mindestens 1 h, Metallschalen mindestens 30 min).

Der Fettsammelkolben darf unmittelbar vor dem Wägen nicht abgewischt werden. Der Fettsammelkolben wird mit einer Zange (6.13) auf die Waage gestellt und auf 1,0 mg gewogen.

9.4.14 Der Fettsammelkolben wird im Wärmeschrank (6.4) 30 min bei 102 °C erwärmt, wobei der Rund- oder Erlenmeyerkolben auf der Seite liegt, um das Entweichen der Lösemitteldämpfe zu ermöglichen. Es wird, wie in 9.4.13 beschrieben, abgekühlt und zurückgewogen. Falls erforderlich, werden die Erwärmungs- und Wägevorgänge so oft wiederholt, bis die Masse des Fettsammelkolbens zwischen zwei aufeinander folgenden Wägungen um höchstens 1,0 mg abnimmt oder wieder zunimmt. Die geringste ermittelte Masse wird als Masse des Fettsammelkolbens mit den extrahierten Substanzen festgehalten.

10 Auswertung

10.1 Berechnung

Der Fettgehalt der Probe wird nach der folgenden Gleichung berechnet:

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

Dabei ist:

- w_f der Massenanteil an Fett in der Probe, in Prozent;
- m_0 die Masse der Einwaage (9.1), in Gramm;

- m_1 die Masse des Fettsammelkolbens und der extrahierten Substanzen, bestimmt nach 9.4.14, in Gramm;
- m_2 die Masse des vorbereiteten Fettsammelkolbens (9.3), in Gramm;
- m_3 die Masse des für den Blindversuch (9.2) verwendeten Fettsammelkolbens und der eventuell extrahierten Substanzen, bestimmt nach 9.4.14, in Gramm;
- m_4 die Masse des für den Blindversuch (9.2) verwendeten Fettsammelkolbens (9.3), in Gramm.

10.2 Angabe der Ergebnisse

Das Ergebnis ist auf zwei Dezimalstellen gerundet anzugeben.

11 Präzision

11.1 Ringversuch

Einzelheiten über einen Ringversuch zur Präzision des Verfahrens nach ISO 5725¹⁾ wurden veröffentlicht (siehe [6] und [7]).

Die Werte für die Wiederhol- und die Vergleichsgrenzen gelten für das 95 %-Wahrscheinlichkeitsniveau und dürfen nicht auf andere Konzentrationsbereiche und Matrices angewendet werden als angegeben.

11.2 Wiederholpräzision

Die absolute Differenz der Ergebnisse von zwei voneinander unabhängigen Bestimmungen, die nach dem gleichen Verfahren an identischem Untersuchungsmaterial durch einen einzigen Bearbeiter in demselben Labor mit derselben Geräteausstattung innerhalb einer kurzen Zeitspanne ermittelt werden, wird in nicht mehr als 5 % der Fälle größer sein als ein Massenanteil von:

- 0,02 % für Rohmilch und bearbeitete flüssige Milch;
- 0,02 % für Milch mit einem Massenanteil an Fett von 0,5 % bis 2 %;
- 0,01 % für Milch mit einem Massenanteil an Fett unter 0,5 %.

11.3 Vergleichpräzision

Die absolute Differenz der Ergebnisse von zwei voneinander unabhängigen Bestimmungen, die nach dem gleichen Verfahren an identischem Untersuchungsmaterial in verschiedenen Laboren von verschiedenen Bearbeitern mit verschiedenen Geräteausstattungen ermittelt werden, wird in nicht mehr als 5 % der Fälle größer sein als ein Massenanteil von:

- 0,04 % für Rohmilch und bearbeitete flüssige Milch;
- 0,03 % für Milch mit einem Massenanteil an Fett von 0,5 % bis 2 %;
- 0,025 % für Milch mit einem Massenanteil an Fett unter 0,5 %.

12 Untersuchungsbericht

Der Untersuchungsbericht muss folgende Angaben enthalten:

- alle Angaben, die zur vollständigen Identifizierung der Probe erforderlich sind;
- das Verfahren, nach dem die Probenahme durchgeführt wurde (falls bekannt);
- das verwendete Untersuchungsverfahren mit einem Hinweis auf diese Internationale Norm;
- alle Arbeitsbedingungen, die nicht in dieser Internationalen Norm festgelegt sind oder als wahlfrei erachtet wurden, sowie alle Umstände, die das (die) Ergebnis(se) beeinflusst haben können;
- die vorgenommenen Korrekturen, falls in dem Blindversuch für das Verfahren ein Wert erhalten wurde, der 2,5 mg überschreitet;
- das (die) erhaltene(n) Untersuchungsergebnis(se); oder falls die Wiederholpräzision überprüft wurde, das endgültig erhaltene Ergebnis.

1) ISO 5725:1986 (jetzt zurückgezogen) wurde zur Ermittlung der Präzisionsdaten verwendet.

Anhang A (informativ)

Hinweise zur Durchführung

A.1 Blindversuch zur Prüfung der Reagenzien (siehe 9.2.2)

In diesem Blindversuch ist ein Fettsammelkolben zur Überprüfung der Massen zu verwenden, damit Änderungen der atmosphärischen Bedingungen im Wägeraum oder Temperatureinwirkungen auf den Fettsammelkolben nicht zu falschen Annahmen hinsichtlich der An- oder Abwesenheit nicht-flüchtiger Bestandteile im Extrakt der Reagenzien führen. Falls eine zweischalige Waage verwendet wird, darf dieser Fettsammelkolben als Gegengewicht verwendet werden. Andernfalls sollten Abweichungen der scheinbaren Masse ($m_3 - m_4$ in 10.1) des Kontroll-Fettsammelkolbens bei der Überprüfung der Masse des für den Blindversuch verwendeten Fettsammelkolbens berücksichtigt werden. Daher darf die auftretende Schwankung der scheinbaren Masse des Fettsammelkolbens, korrigiert um die scheinbare Massenschwankung des Kontroll-Fettsammelkolbens, keine größere Massenzunahme als 1,0 mg aufweisen.

Sehr selten können die Lösemittel flüchtige Substanzen enthalten, die vom Fett hartnäckig zurückgehalten werden. Falls Anzeichen für das Vorhandensein derartiger Substanzen vorliegen, sind mit allen Reagenzien und für jedes Lösemittel Blindversuche unter Verwendung eines Fettsammelkolbens mit etwa 1 g wasserfreiem Butterfett durchzuführen. Falls erforderlich, sind die Lösemittel zusammen mit 1 g wasserfreiem Butterfett je 100 ml Lösemittel erneut zu destillieren. Die Lösemittel dürfen nur kurze Zeit nach der Redestillation verwendet werden.

A.2 Blindversuch, der gleichzeitig mit der Bestimmung durchgeführt wird (siehe 9.2.1)

Der im gleichzeitig mit der Bestimmung durchgeführten Blindversuch ermittelte Wert ermöglicht es, die scheinbare Masse der aus einer Untersuchungsmenge (Einwaage) extrahierten Substanzen ($m_1 - m_2$) hinsichtlich anwesender nicht-flüchtiger, aus den Reagenzien stammender Substanzen zu korrigieren; ebenso kann hinsichtlich der Schwankungen der atmosphärischen Bedingungen im Wägeraum und vorhandener Temperaturdifferenzen zwischen dem Fettsammelkolben und dem Wägeraum bei den beiden Wägungen (9.4.14 und 9.3) korrigiert werden.

Unter günstigen Bedingungen (niedrige Werte im Blindversuch mit den Reagenzien, gleichmäßige Temperatur des Wägeraums, ausreichende Abkühlzeit für den Fettsammelkolben) liegt der Wert in der Regel unter 1,0 mg und kann dann bei Routineuntersuchungen bei der Berechnung vernachlässigt werden. Geringfügig höhere (positive und negative) Werte bis 2,5 mg werden ebenfalls oft festgestellt. Nach Korrektur um diese Werte sind die Ergebnisse weiterhin genau. Falls ein Wert über 2,5 mg korrigiert wird, sollte dies im Untersuchungsbericht erwähnt werden (siehe Abschnitt 12).

Falls die in diesem Blindversuch ermittelten Werte regelmäßig 1,0 mg überschreiten, sollten die Reagenzien überprüft werden, sofern dies nicht kürzlich erfolgt ist. Alle unreinen Reagenzien oder mit Substanzspuren behafteten Reagenzien sollten ersetzt oder gereinigt werden (siehe 9.2.2 und A.1).

A.3 Prüfung auf Peroxide

Zur Prüfung auf Peroxide wird 1 ml einer frisch hergestellten Kaliumiodidlösung von 100 g/l zu 10 ml Diethylether zugegeben; dies erfolgt in einem kleinen mit Glasschliffstopfen versehenen Messzylinder, der vorher mit dem Diethylether ausgespült worden ist. Der Messzylinder wird geschüttelt und 1 min stehen gelassen. In der Diethyletherschicht sollte keine gelbe Färbung erkennbar sein.

Andere zur Prüfung auf Peroxide geeignete Verfahren dürfen verwendet werden.

Um sicherzustellen, dass der Diethylether peroxidfrei ist und bleibt, wird der Diethylether mindestens drei Tage vor dessen Verwendung wie folgt behandelt:

Zinkfolie wird in Streifen geschnitten, die mindestens die halbe Länge der Höhe der Flasche aufweisen, in der der Diethylether aufbewahrt wird. Dabei sind etwa 80 cm² Zinkfolie je Liter Diethylether zu verwenden.

Vor deren Verwendung werden die Folienstreifen 1 min vollständig in eine Lösung getaucht, die 10 g/l Kupfer(II)-sulfat-Pentahydrat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) und 2 ml/l konzentrierte Schwefelsäure [98 % Massenanteil] enthält. Die Folienstreifen werden vorsichtig, aber gründlich mit Wasser gespült und die feuchten mit Kupfer überzogenen Streifen in die Flasche gebracht, die den Diethylether enthält, und dort belassen.

Andere Verfahren dürfen angewandt werden, falls sie das Ergebnis der Bestimmung nicht beeinflussen.

A.4 Diethylether, der Antioxidantien enthält

In einigen Ländern ist, insbesondere für Fettbestimmungen, Diethylether mit etwa 1 mg Antioxidantien je Kilogramm im Handel erhältlich. Dieser Gehalt schließt dessen Verwendung für Referenzzwecke nicht aus.

In einigen Ländern ist Diethylether mit einem höheren Gehalt an Antioxidantien, zum Beispiel bis 7 mg/kg, im Handel. Derartiger Diethylether sollte nur für Routineuntersuchungen bei obligatorischer Durchführung eines Blindversuches verwendet werden, der gleichzeitig mit der (den) Bestimmung(en) zur Korrektur der durch den Antioxidantienrückstand bedingten systematischen Abweichung erfolgt. Für Referenzzwecke muss derartige Diethylether immer vor der Verwendung destilliert werden.

A.5 Ethanol

Auf andere Weise als durch die Zugabe von Methanol denaturiertes Ethanol darf nur verwendet werden, wenn das Denaturierungsmittel das Ergebnis der Bestimmung nicht beeinflusst.

Anhang B (informativ)

Alternative Arbeitsweise unter Verwendung von Fettextraktionsrohren mit Siphon- oder Waschflascheneinsätzen

B.1 Allgemeines

Falls Fettextraktionsrohre verwendet werden, die mit Siphon- oder Waschflascheneinsätzen ausgestattet sind, ist die in diesem Anhang festgelegte Arbeitsweise anzuwenden. Die Fettextraktionsrohre müssen mit Korkstopfen guter Qualität oder Stopfen für Kolben, wie sie in 6.6 festgelegt sind, versehen sein (siehe Bild B.1 als Beispiel).

B.2 Durchführung

B.2.1 Vorbereitung der Untersuchungsprobe

Siehe Abschnitt 8.

B.2.2 Einwaage

Es ist wie in 9.1 festgelegt zu verfahren, jedoch unter Verwendung der Fettextraktionsrohre (siehe Anmerkung zu 6.6 und Bild B.1).

Die Einwaage ist so vollständig wie möglich auf den Boden des Fettextraktionsrohres zu bringen.

B.2.3 Blindversuch

Siehe 9.2 und A.2.

B.2.4 Vorbereitung des Fettsammelkolbens

Siehe 9.3.

B.2.5 Bestimmung

B.2.5.1 Die Bestimmung wird unverzüglich durchgeführt.

2 ml Ammoniaklösung (5.1) oder eine äquivalente Menge einer konzentrierteren Ammoniaklösung (siehe Anmerkung zu 5.1) werden zu der Einwaage in das Fettextraktionsrohr (B.2.2) gegeben und gründlich mit der vorbehandelten Einwaage am Boden des Fettextraktionsrohres durchmischt.

B.2.5.2 10 ml Ethanol (5.2) werden zugegeben. Es wird vorsichtig, aber gründlich am Boden des Fettextraktionsrohres durchmischt. Wahlweise können zwei Tropfen Kongorot-Lösung (5.3) zugesetzt werden.

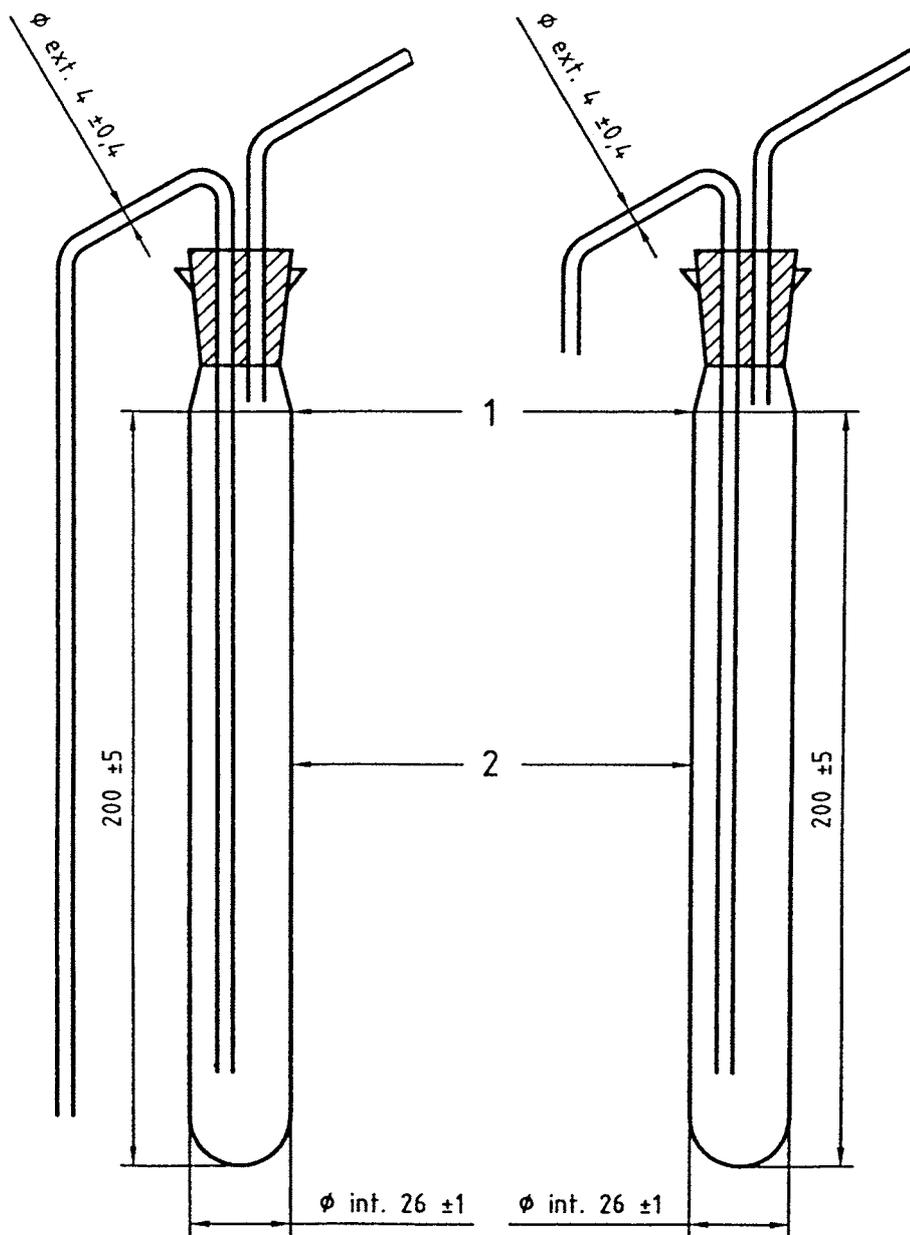
B.2.5.3 25 ml Diethylether (5.4) werden zugegeben. Das Fettextraktionsrohr wird mit einem mit Wasser gesättigten Korkstopfen oder mit einem mit Wasser angefeuchteten Stopfen aus anderem Material (6.6) verschlossen. Das Fettextraktionsrohr wird durch mehrfaches Stürzen 1 min kräftig geschüttelt, jedoch nicht übermäßig, um die Bildung beständiger Emulsionen zu vermeiden. Falls erforderlich, wird das Fettextraktionsrohr unter fließendem Wasser abgekühlt. Der Korken oder Stopfen wird vorsichtig entfernt und dieser und der Hals des Fettextraktionsrohres mit etwas Lösemittelgemisch (5.6) gespült. Dazu wird die Waschflasche (6.8) in der Weise verwendet, dass die Spülflüssigkeit in das Fettextraktionsrohr fließt.

B.2.5.4 25 ml Petroleumbenzin (5.5) werden zugegeben. Das Fettextraktionsrohr wird mit dem (durch Eintauchen in Wasser) wieder befeuchteten Korken oder Stopfen verschlossen und, wie in B.2.5.3 beschrieben, 30 s vorsichtig geschüttelt.

B.2.5.5 Das verschlossene Fettextraktionsrohr wird 1 min bis 5 min bei einer Zentrifugalbeschleunigung von 80 g bis 90 g zentrifugiert. Steht keine Zentrifuge zur Verfügung, wird das verschlossene Fettextraktionsrohr mindestens 30 min im Ständer (6.7) stehen gelassen, bis die überstehende Phase klar geworden ist und sich deutlich von der wässrigen Phase getrennt hat. Falls erforderlich, wird das Fettextraktionsrohr unter fließendem Wasser auf Raumtemperatur abgekühlt.

B.2.5.6 Der Korken oder Stopfen wird vorsichtig entfernt und dieser und der Hals des Fettextraktionsrohres mit etwas Lösemittelgemisch (5.6) gespült. Dazu wird die Waschflasche (6.8) in der Weise verwendet, dass die Spülflüssigkeit in das Fettextraktionsrohr fließt.

Maße in Millimeter



a) mit Siphoneinsatz

b) mit Waschflascheneinsatz

Legende

- 1 Nennvolumen bis zu diesem Füllstand ohne Einsatz (105 ± 5) ml
- 2 Wanddicke ($1,5 \pm 0,5$) mm

Bild B.1 – Beispiele für Fettextraktionsrohre

B.2.5.7 In das Fettextraktionsrohr wird ein Siphon- oder Waschflascheneinsatz eingesetzt. Der lange innere Schenkel des Einsatzes wird heruntergeschoben, bis dessen Ende etwa 4 mm oberhalb der Phasengrenzschicht steht. Der innere Schenkel des Einsatzes muss zur Achse des Fettextraktionsrohres parallel stehen.

Die überstehende Phase wird vorsichtig aus dem Fettextraktionsrohr in den, im Falle von Rund- oder Erlenmeyerkolben, mit Siedehilfsmittel (6.10) versehenen Fettsammelkolben (siehe 9.3) übergeführt (bei Metallschalen ist die Verwendung von Siedehilfsmitteln freigestellt). Ein Überführen der wässrigen Phase ist zu vermeiden. Der Auslassschenkel des Einsatzes wird mit etwas Lösemittelgemisch abgespült und die Spülflüssigkeit im Fettsammelkolben aufgefangen.

ANMERKUNG Die überstehende Phase kann zum Beispiel mit Hilfe eines Gummiballs aus dem Fettextraktionsrohr übergeführt werden, der zum Ausüben eines Drucks an dessen kurzem Schaft angebracht wird.

B.2.5.8 Der Einsatz wird am Hals des Fettextraktionsrohres gelockert. Der Einsatz wird leicht angehoben und der untere Teil von dessen langem inneren Schenkel mit etwas Lösemittelgemisch (5.6.) gespült. Der Einsatz wird wieder gesenkt, eingesetzt und die Spülflüssigkeit in den Fettsammelkolben übergeführt.

Der Auslassschenkel des Einsatzes wird erneut mit etwas Lösemittelgemisch gespült und die Spülflüssigkeit im Fettsammelkolben aufgefangen. Falls erwünscht, wird das Lösemittel oder ein Teil davon, wie in 9.4.13 beschrieben, durch Destillation oder Verdampfen aus dem Fettsammelkolben entfernt.

B.2.5.9 Der Einsatz wird erneut am Hals des Fettextraktionsrohres gelockert. Der Einsatz wird leicht angehoben, und 5 ml Ethanol werden zum Inhalt des Fettextraktionsrohres gegeben. Das Ethanol dient zum Abspülen des langen inneren Schenkels des Einsatzes. Es wird durchmischt, wie in B.2.5.2 beschrieben.

B.2.5.10 Es wird eine zweite Extraktion durchgeführt, indem die in B.2.5.3 bis B.2.5.8 beschriebenen Verfahrensschritte wiederholt werden. Anstelle von 25 ml werden jedoch nur 15 ml Diethylether (5.4) und 15 ml Petroleumbenzin (5.5) verwendet. Der Diethylether dient zum Abspülen des langen inneren Schenkels des Einsatzes während der Entnahme des Einsatzes aus dem Fettextraktionsrohr nach vorangegangener Extraktion.

B.2.5.11 Es wird eine dritte Extraktion ohne Zugabe von Ethanol durch neuerliches Wiederholen der in B.2.5.3 bis B.2.5.8 beschriebenen Verfahrensschritte durchgeführt, wiederum mit nur 15 ml Diethylether und 15 ml Petroleumbenzin. Der Diethylether dient, wie in B.2.5.10 beschrieben, zum Abspülen des langen inneren Schenkels des Einsatzes.

ANMERKUNG Die dritte Extraktion darf für Milch mit einem Fettgehalt unter 0,5 % entfallen.

B.2.5.12 Der weitere Arbeitsablauf erfolgt wie in 9.4.12 bis 9.4.14 beschrieben.

Literaturhinweise

- [1] ISO 707, *Milk and milk products – Guidance on sampling*.
- [2] ISO 5725:1986, *Precision of test methods – Determination of repeatability and reproducibility for a standard test method by inter-laboratory tests*.
- [3] ISO 5725-1:1994, *Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 1: General principles and definitions*.
- [4] ISO 5725-2:1994, *Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method*.
- [5] ISO 7208, *Skimmed milk, whey and buttermilk – Determination of fat content – Gravimetric method (Reference method)*.
- [6] AOAC International Interlaboratory Study. *J. AOAC*, **71**, 898 (1988).
- [7] International Dairy Federation. Interlaboratory Collaborative Studies, Second Series. *Bull. Int. Dairy Fed.*, No 235, 1988.