392D0608

31.12.92 *EUROPEISKA GEMENSKAPERNAS OFFICIELLA TIDNING* Nr L 407/29

RÅDETS BESLUT

av den 14 november 1992

om fastställande av metoder för analys och test av värmebehandlad mjölk för omedelbar konsumtion

(92/608/EEG)

EUROPEISKA GEMENSKAPERNAS RÅD HAR FATTAT DETTA BESLUT

med beaktande av Fördraget om upprättandet av Europeiska ekonomiska gemenskapen,

med beaktande av rådets direktiv 85/397/EEG av den 5 augusti 1985 om frågor om livsmedelshygien och djurhälsa som påverkar handeln med värmebehandlad mjölk inom gemenskapen([1]), särskilt artikel 11.6 i detta,

med beaktande av kommissionens förslag, och

med beaktande av följande:

Enligt artikel 11.6 i direktiv 85/397/EEG skall rådet fastställa närmare bestämmelser om kontrollerna enligt artikel 11.2. Kontrollerna skall utföras av företagen under den offentliga myndighetens överinseende och ansvar och med regelbunden inspektion av den offentliga myndigheten och syfta till att säkerställa att kraven i direktiv 85/397/EEG följs, särskilt de som fastställs i artikel 3. A.3 i det direktivet.

De metoder som krävs för att kontrollerna skall kunna genomföras skall fastställas samtidigt med kontrollförfarandena.

Metoder måste fastställas så att torrsubstanshalten, fetthalten, fettfria torrsubstanshalten, den totala kvävehalten, proteinhalten och densiteten kan bestämmas i värmebehandlad mjölk som är avsedd för omedelbar konsumtion.

Av tekniska skäl bör man i första hand fastställa sådana referensmetoder för analys och test att det går att säkerställa att normerna enligt artikel 3. A.3 i direktiv 85/397/EEG uppfylls. Det är särskilt viktigt att undersöka under vilka förhållanden rutinmetoderna för analys och test används. I avvaktan på resultatet av denna undersökning skall den behöriga myndigheten se till att passande rutinmetoder används för att säkerställa att dessa normer uppfylls.

Vid bestämningen av ovannämnda metoder måste i synnerhet sådana analytiska förfaranden och kriterier för pålitligheten fastställas, att resultaten säkert kan tolkas på ett enhetligt sätt.

HÄRIGENOM FÖRESKRIVS FÖLJANDE.

Artikel 1

Vid analys och test av värmebehandlad mjölk skall följande metoder användas:

— Bestämning av torrsubstanshalten.

— Bestämning av fetthalten.

— Bestämning av totala halten fettfri torrsubstans.

— Bestämning av den totala kvävehalten.

— Bestämning av proteinhalten.

— Bestämning av densiteten.

([1]) EGT nr L 226, 24.8.1985, s. 13, senast ändrat genom direktiv 89/662/EEG (EGT nr L 395, 30.12.1989, s. 13).

Artikel 2

När referensmetoderna för analys och test används, pålitlighetskriterierna bestäms och proverna samlas in skall reglerna i bilaga 1 följas.

Artikel 3

De metoder som avses i artikel 1 förtecknas i bilaga 2.

Artikel 4

Detta beslut riktar sig till medlemsstaterna.

Utfärdat i Bryssel den 14 november 1992.

På rådets vägnar
J. GUMMER
Ordförande

BILAGA 1

I. ALLMÄNNA BESTÄMMELSER

1. INLEDNING

Här beskrivs allmänna bestämmelser med avseende på reagensmedel, utrustning, förklaring av resultaten, noggrannhetskriterier och testrapporter. De behöriga myndigheterna i medlemsstaterna och kontrollaboratorierna med ansvar för provtagning och testning av mjölk måste följa dessa bestämmelser.

2. REAGENSMEDEL

2.1. **Vatten**

2.1.1. Om inte annat anges skall allt vatten som används för lösningar, spädning eller rengöring vara destillerat vatten, avjoniserat vatten eller avmineraliserat vatten av minst likvärdig renhet.

2.1.2. Vid hänvisning till "lösning" eller "spädning" utan närmare angivelse avses "lösning i vatten" eller "spädning i vatten".

2.2. **Kemikalier**

Om inte annat anges skall alla kemikalier som används vara av vedertagen analyskvalitet.

3. UTRUSTNING

3.1. **Utrustningslistor**

Utrustningslistorna angivna i de olika referensmetoderna upptar endast artiklar för speciella ändamål och artiklar som skall vara av särskild kvalitet.

3.2. **Analysvåg**

Med analysvåg avses en våg som kan väga med en noggrannhet av 0,1 mg.

4. FÖRKLARING AV RESULTATEN

4.1. **Resultat**

Om inte annat anges skall resultaten i testrapporten (6) vara det aritmetiska medelvärde som erhållits från två tester och som uppfyller de kriterier på repeterbarhet (5.1.1) som anges för metoden. Om repeterbarhetskriterierna inte uppfylls skall testet upprepas om så är möjligt, i annat fall skall resultatet förklaras ogiltigt.

4.2. **Beräkning av procentandel**

Om inte annat anges skall resultaten beräknas som procent av provets vikt.

5. NOGGRANNHETSKRITERIER: REPETERBARHET OCH REPRODUCERBARHET

5.1. De noggrannhetskriterier som gäller för varje metod definieras enligt följande:

5.1.1. *Repeterbarhet (r)*: ett värde som är högre än den absoluta skillnaden mellan resultaten av två enskilda tester på identiskt testmaterial och som har erhållits under samma betingelser (utförda av samma person, med samma utrustning, i samma laboratorium och med kort tidsintervall).

5.1.2. *Reproducerbarhet (R)*: ett värde som är högre än den absoluta skillnaden mellan resultaten av två enskilda tester på identiskt testmaterial och som har erhållits under olika betingelser (utförda av olika personer, med olika utrustningar, i olika laboratorier och/eller vid olika tidpunkter).

5.1.3. Om inte annat anges utgör värdena för repetitions- och reproducerbarhetskriterierna för varje metod de konfidensnivåintervaller på 95 % som definieras i ISO 5725, 2:a uppl. 1986.

5.1.4. De jämförande prov och undersökningar som måste göras bör planeras och genomföras i enlighet med internationella riktlinjer.

6. TESTRAPPORT

Testrapporten skall redovisa den använda analysmetoden såväl som de uppnådda resultaten. Den skall dessutom innehålla alla uppgifter om förfarandet som inte anges i analysmetoden eller som är frivilliga, såväl som alla övriga omständigheter som kan ha påverkat de erhållna resultaten. Testrapporten skall innehålla all den information som behövs för en fullständig identifiering av provet.

II. PROVTAGNING PÅ VÄRMEBEHANDLAD MJÖLK

1. RÄCKVIDD OCH ANVÄNDNINGSOMRÅDE

Här beskrivs referensmetoden för provtagning, transport och förvaring av prover på värmebehandlad mjölk.

2. ALLMÄNT

Provtagning på värmebehandlad mjölk i tankar etc. skall utföras av en kompetent person som före provtagningen utbildats på lämpligt sätt.

Om de behöriga myndigheterna eller testlaboratoriet anser detta lämpligt, skall de instruera provtagarna i provtagningsteknik för att säkerställa att provet är representativt för och motsvarar hela partiet.

Om de behöriga myndigheterna eller testlaboratoriet anser detta lämpligt, skall de instruera provtagarna att märka proverna så att de kan identifieras på ett entydigt sätt.

3. PROVTAGNINGSUTRUSTNING

3.1. **Allmänt**

Utrustningen för provtagning skall vara tillverkad av rostfritt stål eller annat lämpligt material av tillräcklig styrka och vara utformad på ett sätt som är lämpligt för ändamålet (blandning, provtagning etc.). Omrörare för blandning av vätskor i behållare skall vara så stora att produkten blandas ordentligt men får inte orsaka härsken smak. Skoporna skall ha massivt handtag av sådan längd att prov kan tas på vilket djup som helst i behållaren. Skopan skall rymma minst 50 ml.

Provbehållare och förslutningar bör vara av glas, lämplig metall eller plast.

De material som ingår i provtagningsutrustningen (inklusive behållare och förslutningar) får inte orsaka någon förändring av provet som kan påverka resultatet av undersökningarna. Samtliga ytor i provtagningsutrustningen och provbehållarna skall vara rena och torra, jämna och fria från sprickor, och alla hörn skall vara rundade.

4. PROVTAGNINGSTEKNIK

4.1. **Allmänt**

Oberoende av vilka tester som skall utföras, skall mjölken före provtagningen blandas ordentligt, manuellt eller mekaniskt.

Provet skall tas omedelbart efter blandningen medan mjölken fortfarande är i rörelse.

Provvolymen skall vara så stor som testet kräver. Provbehållarna skall vara så stora att de fylls nästan helt av provet, så att detta inte kärnar sig under transporten men kan röras om ordentligt före testet.

4.2. **Manuell provtagning**

4.2.1. *Provtagning av mjölk fördelad på flera behållare*

Om mjölken som provet skall tas från finns i mer än en behållare, hämtas ett representativt prov från varje behållare och mjölkmängden i varje sådan behållare antecknas. Om inte proven från varje behållare testas individuellt, blandas delar av dessa representativa mängder proportionellt till mängden i den behållare som provet kommer ifrån. Efter blandningen tas prover från dessa sammanslagna proportionella mängder.

4.2.2. *Provtagning från stora kärl - förrådstankar, tankvagnar*

4.2.2.1. Blanda mjölken på lämpligt sätt före provtagningen.

Innehållet i stora kärl eller i förrådstankar eller tankvagnar bör blandas mekaniskt (4.2.2.2)

Blandningens omfattning skall stå i proportion till den tid som mjölken fått vila. Blandningsmetoden skall i varje enskilt fall bevisligen vara så effektiv att den uppfyller den följande analysens krav. Kriteriet på effektiv blandning avspeglas i synnerhet i likheten mellan analysresultaten från prover som har tagits antingen från olika delar av ett parti eller vid olika tidpunkter från tankavloppet under tömningen. Det sätt som man blandar mjölken på (rå mjölk eller helmjölk) skall anses effektivt om skillnaden i fetthalt mellan två prover som tagits under dessa förhållanden är mindre än 0,1 %.

I ett stort kärl med avlopp i botten kan det även efter blandning just vid avloppet finnas en mindre mängd mjölk som inte är representativ för innehållet i stort. Proverna bör därför helst tas genom en manlucka. Om proverna tas från avloppet, skall så mycket mjölk först passera att proverna säkert är representativa för hela partiet.

4.2.2.2. Blandning av innehållet i stora kärl eller förrådstankar eller tankvagnar kan utföras enligt följande:

— Genom mekanisk omrörare, inbyggd i tanken och driven med elmotor.

— Genom propeller eller omrörare som drivs med elmotor och placeras i manluckan med omröraren nedsänkt i mjölken.

— I tankvagnar genom att mjölken får cirkulera genom slang som ansluts vid tankens avloppspump och leder mjölken tillbaka till tanken via manluckan.

— Genom ren, filtrerad tryckluft. I detta fall bör minsta möjliga lufttryck och volym användas så att mjölken inte får härsken smak.

4.3. **Provtagning på värmebehandlad mjölk för omedelbar konsumtion i konsumentförpackning**

Prover på värmebehandlad mjölk för omedelbar konsumtion i konsumentförpackning skall utgöras av hel, oöppnad förpackning. Om möjligt skall proverna tas från förpackningsmaskinen eller kylrummet i den anläggning där mjölken behandlas och så snart som möjligt efter behandlingen (för pastöriserad mjölk samma dag som behandlingen).

Proverna tas från varje slag av värmebehandlad mjölk (pastöriserad, UHT-behandlad och steriliserad) i det antal som motsvarar de undersökningar som skall utföras och i enlighet med de instruktioner som fastställts av testlaboratoriet eller annan behörig myndighet.

5. PROVETS IDENTIFIERING

Provet skall märkas med en identifieringskod så att det lätt kan identifieras med hjälp av de instruktioner som testlaboratoriet eller den behöriga myndigheten har utfärdat.

6. KONSERVERING, TRANSPORT OCH FÖRVARING AV PROVER

I samråd med den behöriga myndigheten skall testlaboratoriet med hänsyn till mjölktyp och analysmetod utarbeta instruktioner för konservering (kemisk, värme-), transport, förvaring och tiden mellan provtagning och mjölkanalys.

Följande punkt skall ingå i instruktionerna:

— Under transport och förvaring skall sådana åtgärder vidtas att proverna inte utsätts för förorenande lukter och direkt solljus. Om behållaren för proverna är transparent skall den förvaras mörkt.

BILAGA 2

I. BESTÄMNING AV TORRSUBSTANSHALT

1. RÄCKVIDD OCH ANVÄNDNINGSOMRÅDE

Detta förfarande omfattar referensmetoden för bestämning av torrsubstanshalten i mjölk.

2. DEFINITION

torrsubstanshalt: Den vikt uttryckt i viktprocent som återstår efter avslutad torkning.

3. PRINCIP

Prov indunstat vid en temperatur av 102 ± 2°C i torkugn.

4. APPARATUR OCH GLAS

Normal laboratorieutrustning och särskilt följande:

4.1 **Analysvåg**

4.2. **Exsickator,** försedd med effektivt torkmedel (exempelvis nyaktiverad kiselgel med indikator för vattenhalt).

4.3. **Torkugn,** ventilerad, termostatreglerad till 102 ± 2 °C i hela ugnen.

4.4. **Skålar med plan botten,** höjd 20–25 mm, diameter 50–75 mm, av lämpligt material och med avtagbara lock med god passning.

4.5. **Kokande vattenbad**

4.6. **Homogeniseringsmaskin**

5. BEREDNING AV PROVET

Värm upp provet till en temperatur av 20–25 °C. Blanda noggrant för att säkerställa att fettet fördelas jämnt i hela provet. Undvik att röra om så häftigt att mjölken skummar eller fettet kärnar. Om det visar sig svårt att lösa upp gräddskiktet, värm sakta till 35–40 °C, under försiktig omrörning och se till att grädde som fastnat på behållarens väggar kommer med. Kyl snabbt ner provet till 20–25 °C.

Om så önskas får fettet lösas upp med hjälp av en homogeniseringsapparat.

Ett riktigt resultat kan inte väntas om provet innehåller separerat flytande fett, eller om synliga oregelbundna vita separeringspartiklar har fastnat på behållarens väggar.

6. FÖRFARANDE

6.1 **Beredning av skålen**

Ta av locket från en skål (4.4) och värm skålen och locket i ugnen (4.3), som skall vara inställd på 102 ± 2 °C, i minst 30 minuter. Sätt locket på skålen och flytta genast över den till exsickatorn (4.2), låt den svalna till rumstemperatur (dvs. i minst 30 minuter) och väg den med 0,1 mg noggrannhet.

6.2 **Provmängd**

Väg genast upp, med 0,1 mg noggrannhet 3–5 g av provet (5) i den beredda skålen (6.1).

6.3 **Bestämning**

6.3.1. Förtorka skålen i 30 minuter genom att värma den i kokande vattenbad (4.5).

6.3.2. Värm upp skålen med locket bredvid i ugnen (4.3), som skall vara inställd på 102 ± 2°C, i två timmar. Sätt locket på skålen och ta ut den från ugnen.

6.3.3. Låt svalna i exsickatorn (4.2) till rumstemperatur (dvs. i minst 30 minuter) och väg med 0.1 mg noggrannhet.

6.3.4. Värm upp skålen i ugnen igen, med locket bredvid, i en timme. Sätt locket på skålen och ta ut den från ugnen. Låt svalna i ca 30 minuter i exsickatorn och väg med 0,1 mg noggrannhet.

6.3.5. Upprepa tillvägagångssättet i 6.3.4 tills skillnaden mellan två vägningar i följd inte överstiger 0,5 mg. Anteckna den lägsta vikten.

7. REDOVISNING AV RESULTATEN

7.1. **Beräkning och formel**

Beräkna torrsubstanshalten som viktprocent enligt följande:

$$W_T = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100$$

där

W_T = torrsubstanshalt i gram per 100 g

m_0 = skålens och lockets vikt i gram (se 6.1)

m_1 = skålens, lockets och provets vikt i gram (se 6.2)

m_2 = skålens, lockets och det torkade provets vikt i gram (se 6.3.5)

Avrunda det erhållna värdet till närmaste 0,01 % (viktprocent).

7.2. **Noggrannhet**

7.2.1. *Repeterbarhet (r):* totalt 0,10 g torrsubstans på 100 g produkt.

7.2.2. *Reproducerbarhet (R):* totalt 0,20 g torrsubstans per 100 g produkt.

II. BESTÄMNING AV FETTHALTEN

1. RÄCKVIDD OCH ANVÄNDNINGSOMRÅDE

Denna beskrivning omfattar referensmetoden för bestämning av fetthalten i rå mjölk samt i helmjölk, delvis skummad mjölk och skummjölk.

2. DEFINITION

fetthalten i mjölk: allt material enligt bestämning med den angivna metoden. Anges som viktprocent.

3. PRINCIP

Fettet extraheras med dietyleter och lättbensin från en ammoniakalkoholhollösning av provet, varefter lösningsmedlen destilleras eller indunstas och det i lättbensin lösliga extraherade materialet vägs. (Förfarandet kallas vanligen Röse-Gottlieb-metoden.)

4. REAGENSMEDEL

Samtliga reagensmedel skall vara av vedertagen analyskvalitet och får inte lämna några märkbara rester i nollprovet.

Kontrollera reagensmedlets kvalitet genom att utföra en bestämning enligt 6.3. Använd för vägning en tom kolv, bägare eller metallskål (5.8), iordningställd enligt 6.4, som tara (för korrigering av de effekter som ändringar i de atmosfäriska förhållandena kan ha på vägningsresultatet). Om den resterande mängden, sedan den korrigerats efter en tydlig ändring av tarans vikt, är större än 2,5 mg, skall restmängden eller lösningarna bestämmas var för sig genom indunstning av respektive 100 ml dietyleter (4.4) och 100 ml lättbensin (4.5). Använd också en tara för vägningen. Om restmängden är större än 2,5 mg, rengör lösningen genom destillering eller ersätt den med en ny.

4.1. **Ammoniaklösning som innehåller** ca 25 % (m/m) NH3. En starkare ammoniaklösning får också användas (se 6.5.1 och A.1.5.1).

4.2. **Etanol,** minst 94 % (volymprocent). Etanol som denaturerats med metanol får användas under förutsättning att resultatet av bestämningen med säkerhet inte påverkas.

4.3. **Kongorött- eller kresolröttlösning**

Lös upp 1 g kongorött eller kresolrött i vatten och späd till 100 ml.

Anmärkning: Denna lösning gör avgränsningen tydligare mellan lösningen och vattenskikten. Användningen är inte obligatorisk (se 6.5.2). Även andra vattenhaltiga färglösningar får användas under förutsättning att de inte påverkar bestämningen av resultatet.

4.4. **Dietyleter** utan peroxider och med antioxidationsmedel på högst 2 mg/kg och som uppfyller nollprovets krav (6.3).

4.5. **Lättbensin** med valfritt kokintervall 30–60 °C.

4.6. **Blandat lösningsmedel** som beretts strax före användningen genom en blandning av dietyleter (4.4) och lättbensin (4.5).

5. APPARATUR OCH GLAS

Varning: Eftersom flyktiga, lättantändliga lösningsmedel används vid bestämningen skall all elektrisk apparatur som används uppfylla lagens krav för användning tillsammans med sådana lösningsmedel.

Normal laboratorieutrustning och särskilt följande:

5.1. **Analysvåg**

5.2. **Centrifug,** där de fettextraherande kolvarna och rören (5.6) kan centrifugeras med en hastighet av 500–600 r/min^{-1} så att gravitationsfältet i kolvarnas och rörens ytterändar uppgår till 80–90 G.

Anmärkning: Användningen av centrifug är inte obligatorisk (6.5.5).

5.3. **Destillations- eller indunstningsapparat** för destillation av lösningsmedel och etanol från kolvarna eller för indunstning från bägare och skålar (se 6.5.12 och 6.5.15) vid högst 100 °C.

5.4. **Torkugn,** elektrisk, med helt öppen luftventil(er), termostatreglerad till 102 ± 2°C i hela ugnen. Ugnen skall vara försedd med lämplig termometer.

5.5. **Vattenbad** med konstant temperatur, 35–40 °C.

5.6. **Fettextraktionskolvar av Mojonnier-typ**

Anmärkning: Det är också möjligt att använda fettextraktionsrör med sifon eller tvättflaskarmatur, men förfarandet blir då ett annat och detta beskrivs i tillägget.

Kolvarna (eller rören) skall förses med förslutning av slipat glas eller kork av god kvalitet eller förslutning av annat slag som inte påverkas av de använda reagensmedlen. Korkförslutningar skall extraheras med dietyleter (4.4) och hållas i vatten vid minst 60 °C i minst 15 minuter och därefter kylas ner i vatten så att de är mättade när de skall användas.

5.7. **Stativ** för att hålla fettextraktionskolvarna (eller rören) (se 5.6).

5.8. **Tvättflaska** lämplig att användas med det blandade lösningsmedlet (4.6). Tvättflaskan får inte vara av plast.

5.9. **Fettuppsamlingskärl,** exempelvis kolvar (med flat botten), 125–250 ml Erlenmeyer-kolvar eller metallskålar. Om metallskålar används skall de helst vara av rostfritt stål, ha flat botten och helst en pip. De skall ha 80–100 mm diameter och vara ca 50 mm höga.

5.10. **Kokstenar,** fettfria, av icke-poröst porslin eller kiselkarbid eller glaspärlor (valfritt om metallskålar används).

5.11. **Mätkolvar,** 5 och 25 ml.

5.12 **Pipetter**, graderade med en kapacitet om 10 ml.

5.13. **Tång** av metall, lämplig att hålla kolvar, bägare och skålar med.

6. FÖRFARANDE

Anmärkning: Det alternativa sättet med fettextraktionsrör med sifon eller tvättflaskarmatur (se anmärkningen till 5.6) beskrivs i tillägget.

6.1. **Beredning av testsatsen**

Justera laboratorieprovets temperatur till ca 35–40 °C i 15 minuter, om så behövs med hjälp av vattenbad. Blanda provet grundligt men försiktigt genom att vända på provkolven flera gånger utan att mjölken skummar eller kärnar och kyl därefter snabbt till ca 20 °C.

6.2. **Provmängd**

Blanda testsatsen (6.1) genom att försiktigt vända på kolven tre eller fyra gånger och väg därefter genast upp 10–11 g av testsatsen med 1 mg noggrannhet, direkt eller differentiellt, i en av extraktionskolvarna (5.6).

Provmängden skall hällas över så fullständigt som möjligt i extraktionskolvarnas nedre (mindre) behållare.

6.3. **Nollprov**

Utför nollprovet samtidigt med bestämningen och använd samma förfarande och samma reagensmedel men ersätt provmängden med 10–11 ml vatten.

Sedan fettuppsamlingskärlets skenbara vikt korrigerats efter kontrollkärlets skenbart ändrade vikt, bör ändringen inte överstiga 2,5 mg.

6.4. **Beredning av fettuppsamlingskärlet**

Torka ett kärl (5.9) tillsammans med kokstenar (5.10) för att underlätta försiktig kokning när lösningsmedlet avlägsnas i ugnen (5.4) i en timme. Låt kärlet svalna (inte i exsickator men skyddat från damm) till samma temperatur som i vågrummet (glaskärl i minst en timme, metallskålar i minst 30 minuter). Placera kärlet på vågen med hjälp av tång och undvik framför allt temperaturvariationer. Väg med en noggrannhet av minst 0,1 mg.

6.5. **Bestämning**

6.5.1. Tillsätt 2 ml ammoniaklösning (4.1) eller en likvärdig mängd ammoniaklösning av högre koncentration och blanda grundligt med provmängden i kolvens lilla behållare. Gör bestämningen omedelbart efter detta.

6.5.2. Tillsätt 10 ml etanol (4.2) och blanda försiktigt men grundligt genom att låta kolvens innehåll rinna fram och tillbaka mellan de båda behållarna, varvid vätskan inte får komma för nära kolvens hals. Tillsätt två droppar kongorött eller kresolrött (4.3), om så önskas.

6.5.3. Tillsätt 25 ml dietyleter (4.4), förslut flaskan med en kork som är genomfuktad med vatten eller med en vattenfuktad propp (se 5.6), skaka flaskan kraftigt men inte överdrivet (det kan annars bildas beständiga emulsioner) i en minut med kolven i horisontellt läge och med den lilla behållaren uppåt. Låt vätskan i den stora behållaren då och då rinna över i den lilla. Om så behövs, kyl kolven i rinnande vatten, avlägsna därefter försiktigt korken eller proppen och skölj den och kolvens hals med lite av det blandade lösningsmedlet (4.6). Använd tvättflaskan (5.8) och se till att sköljvätskan rinner ner i kolven.

6.5.4. Tillsätt 25 ml lättbensin (4.5), förslut kolven med den fuktade korken eller proppen (fukta på nytt genom att doppa i vatten), skaka kolven försiktigt i 30 sekunder enligt beskrivningen i 6.5.3.

6.5.5. Centrifugera den förslutna kolven 1–5 minuter vid 500–600 r/min^{-1} (5.2). Saknas centrifug (se anmärkningen till 5.2), ställ den förslutna kolven i stativet (5.7) i minst 30 minuter tills det översta skiktet är klart och tydligt avskilt från vattenskiktet. Kyl kolven i rinnande vatten om så behövs.

6.5.6. Ta ur korken eller proppen försiktigt samt skölj den och insidan av kolvens hals med lite av det blandade lösningsmedlet (4.6) så att sköljvätskan rinner ner i kolven.

Om gränsytan ligger nedanför kolvhalsens nedersta del, höj den till något över denna nivå genom att försiktigt tillsätta vatten längs kolvsidan, vilket gör det lättare att dekantera lösningsmedlet.

6.5.7. Fatta extraktionskolvens lilla behållare och häll försiktigt över så mycket som möjligt av det översta skiktet i det förberedda fettuppsamlingskärlet (6.4) som vid användning av kolvar skall innehålla några kokstenar (5.10) (valfritt om metallskålar används). Se till att ingenting av vattenskiktet kommer med.

6.5.8. Skölj extraktionskolvens hals utvändigt med lite av de blandade lösningsmedlen (4.6) och samla upp sköljvätskan i fettuppsamlingskärlet och se till att de blandade lösningsmedlen inte rinner ut över extraktionskolvens utsida.

Om så önskas kan lösningsmedlet eller en del av det avlägsnas från kärlet genom destillering eller indunstning enligt beskrivningen i 6.5.12.

6.5.9. Tillsätt 5 ml etanol (4.2) till extraktionskolvens innehåll. Skölj insidan av kolvens hals med etanol och blanda enligt 6.5.2.

6.5.10. Utför en andra extraktion genom att upprepa förfarandet enligt punkterna 6.5.3–6.5.8 men använd bara 15 ml dietyleter (4.4) och 15 ml lättbensin (4.5). Skölj extraktionskolvens hals invändigt med eter. Höj om så behövs gränsytan till mitten på kolvens skaft så att den slutliga dekanteringen av lösningsmedlet blir så fullständig som möjligt.

6.5.11. Gör en tredje extraktion genom att ännu en gång upprepa förfarandet enligt 6.5.3–6.5.8 men använd endast 15 ml dietyleter (4.4) och 15 ml lättbensin (4.5). Skölj extraktionskolvens hals invändigt med eter. Höj om så behövs gränsytan till mitten på kolvens skaft så att den slutliga dekanteringen av lösningsmedlet blir så fullständig som möjligt.

Vid skummjölk kan den tredje extraktionen utelämnas.

6.5.12. Avlägsna lösningsmedlen (inklusive etanolen) så fullständigt som möjligt från kolven genom destillation eller från bägaren eller skålen genom indunstning (5.3). Skölj kolvhalsen invändigt med lite av de blandade lösningsmedlen (4.6) före destillationen.

6.5.13. Placera fettuppsamlingskärlet (med kolven bredvid så att lösningsmedlets ångor kan avgå) i ugnen och värm upp i en timme (5.4). Ta ut fettuppsamlingskärlet från ugnen och låt det svalna (inte i exsickator men skyddat från damm) till vågrummets temperatur (glaskärl minst en timme, metallskålar minst 30 minuter) och väg med minst 0,1 mg noggrannhet.

Torka inte av kärlet omedelbart före vägningen. Placera kärlet på vågen med hjälp av tång och undvik framför allt temperaturvariationer.

6.5.14. Upprepa förfarandet enligt 6.5.13 tills fettuppsamlingskärlets vikt mellan två vägningar i följd minskar med högst 0,5 mg eller ökar. Anteckna den lägsta uppnådda vikten som fettuppsamlingskärlets och det extraherade ämnets vikt.

6.5.15. Tillsätt 25 ml lättbensin till fettuppsamlingskärlet för att kontrollera om det extraherade ämnet är helt lösligt. Värm försiktigt och skaka lätt tills allt fettet har lösts.

Om det extraherade ämnet är helt lösligt i lättbensin, utgör fettvikten skillnaden mellan kärlets slutliga vikt inklusive det extraherade ämnet (6.5.14) och den ursprungliga vikten (6.4).

6.5.16. Om det extraherade ämnet inte löses helt i lättbensin, eller vid tveksamhet, skall fettet extraheras fullständigt från kärlet genom upprepad tvättning med varm lättbensin.

Låt varje spår av olösligt ämne sjunka och dekantera lättbensinen försiktigt utan att något olösligt ämne följer med. Upprepa detta tre gånger och skölj kolvhalsens insida med lättbensin.

Skölj slutligen utsidan av kärlets ovandel med de blandade lösningsmedlen så att dessa inte sprids över kärlets utsida. Avlägsna ångorna efter lättbensinen från kärlet genom att värma upp kärlet en timme i ugnen, varefter det får svalna innan det vägs enligt 6.5.13 och 6.5.14.

Fettets vikt är lika med skillnaden mellan vikten enligt 6.5.14 och den slutliga vikten.

7. REDOVISNING AV RESULTATEN

7.1. **Beräkning och formel**

Beräkna fetthalten som viktprocent enligt följande:

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

där

F = fetthalten

m_0 = provmängdens vikt i gram (se 6.2)

m_1 = fettuppsamlingskärlets och det extraherade ämnets vikt i gram enligt 6.5.14

m_2 = det beredda fettuppsamlingskärlets eller, vid ofullständigt upplöst material, fettuppsamlingskärlets och de icke upplösta resternas vikt i gram enligt 6.5.16

m_3 = fettuppsamlingskärlets i nollprovet (6.3) och de extraherade ämnenas vikt i gram enligt 6.5.14

m_4 = det beredda fettuppsamlingskärlets (se 6.4) i nollprovet (6.3) eller, vid ofullständigt upplöst material, fettuppsamlingskärlets och de icke upplösta resternas vikt i gram enligt 6.5.16.

Ange resultatet med minst 0,01 % noggrannhet.

7.2. **Noggrannhet**

7.2.1. *Repeterbarhet (r)*

— för helmjölk och delvis skummad mjölk: 0,02 g fett per 100 g produkt,

— för skummjölk: 0,01 g fett per 100 g produkt.

7.2.2. *Reproducerbarhet (R)*

— för helmjölk: 0,04 g fett per 100 g produkt,

— för delvis skummad mjölk; 0,03 g fett per 100 g produkt,

— för skummjölk: 0,025 g fett per 100 g produkt.

III. BESTÄMNING AV HALT AV FETTFRI TORRSUBSTANS

1. RÄCKVIDD OCH ANVÄNDNINGSOMRÅDE

Denna beskrivning omfattar referensmetoden för bestämning av halten av fettfri torrsubstans i värmebehandlad mjölk.

2. DEFINITION OCH BERÄKNING

Halten av fettfri torrsubstans skall uttryckas i viktprocent. Halten av fettfri torrsubstans beräknas enligt följande: Torrsubstanshalten (se avsnitt I) minus fetthalten (se avsnitt II).

IV. BESTÄMNING AV KVÄVEHALTEN

1. RÄCKVIDD OCH ANVÄNDNINGSOMRÅDE

Denna beskrivning omfattar referensmetoden för bestämning av kvävehalten i rå mjölk, helmjölk, delvis skummad mjölk och skummjölk.

2. DEFINITION

kvävehalten i mjölk: kvävehalten enligt bestämning med Kjeldahl-metoden, uttryckt i viktprocent.

3. PRINCIP

En vägd kvantitet av mjölkprovet kokas med koncentrerad svavelsyra och kaliumsulfat och med koppar(II)sulfat som katalysator för att omvandla kvävet i organiska föreningar till ammoniumsulfat. Ammoniaken frigörs genom tillsats av natriumhydroxidlösning, destilleras och absorberas i en borsyrelösning. Denna titreras med en syralösning.

4. REAGENSMEDEL

4.1. **Kaliumsulfat** (K_2SO_4).

4.2. **Kopparsulfatlösning.** Lös upp 5,0 g koppar(II)sulfatpentahydrat ($CuSO_4,5H_2O$) i vatten och späd till 100 ml (vid 20 °C) i en mätkolv.

4.3. **Svavelsyra,** minst 98 % (m/m) H2SO4.

4.4. **Natriumhydroxidlösning,** 47 % (m/m) 704 g NaOH/1 (20 °C).

Anmärkning: En natriumhydroxidlösning i svagare koncentration får användas, exempelvis: 40 % (m/m) 572 g/l, 20 °C, eller 30 % (m/m) 399 g/l, 20 °C.

4.5. **Borsyrelösning.** Lös upp 40 g borsyra (H3BO3) i en liter hett vatten, låt svalna och förvara lösningen i en flaska av borsilikatglas.

4.6. **Indikatorlösning.** Lös upp 0,01 mg metylrött, 0,02 g bromtymolblått och 0,06 g bromkresolgrönt i 100 ml etanol. Förvara lösningen på sval och mörk plats i en väl försluten brun flaska.

4.7. **Ställd syra.**

c(½ H_2SO_4) eller c(HCl) = 0,1 mol/l, standardiserad till närmaste 0,0001 mol/l.

4.8. **Kvävefri sackaros.**

4.9. **Ammoniumsalt,** rent som exempelvis ammoniumoxalat $(NH_4)_2C_2O_4.H_2O$ eller ammoniumsulfat $(NH_4)_2SO4$.

4.10. **Tryptofan** ($C_{11}H_{12}N_2O_2$), **fenacetin** ($C_{10}H_7CH_2CONH_2$) eller lysinmono- eller dihydroklorid ($C_6H_{14}N_2O_2 \cdot HCl$ eller $C_6H_{14}N_2O_2 \cdot 2HCl$).

Anmärkning: Renheten i reagensmedlen i 4.9 och 4.10 bör vara högre än "analyskvalitet". Om möjligt bör kontrollerad ammoniumsaltlösning (4.9) användas.

5. APPARATUR OCH GLAS

Normal laboratorieutrustning och särskilt följande:

5.1. **Kjeldahl-kolvar,** 500 ml.

5.2. **Lämpliga kokstenar,** exempelvis glaspärlor med ca 5 mm diameter, Hengar-granulat eller pimpsten.

5.3. **Byrett eller automatisk pipett** kalibrerad till 1,0 ml.

5.4. **Graderade mätkolvar** av glas, 50, 100 och 250 ml.

5.5. **Kokapparat,** snedställd (ca 45°) med el- eller gasvärme som inte värmer upp flaskorna ovanför innehållets nivå, med anordning för utsugning av ånga och gas.

5.6. **Destilleringsapparat** av borsilikatglas, till vilken en Kjeldahl-kolv (5.1) kan anslutas, bestående av en effektiv droppfångare ansluten till en effektiv kylare med rakt rör invändigt och avloppsrör nedtill, röranslutningar och propp(ar) skall vara tättslutande och helst av neoprengummi.

5.7. **Pipett eller automatisk pipett,** kalibrerad till 0,10 ml.

5.8. **Koniska kolvar,** 500 ml, gradering vid 200 ml.

5.9. **Byrett,** 50 ml, graderad för 0,1 ml, max fel ± 0,05 ml.

5.10. **Förstoringsglas,** för avläsning av byretten (5.9).

5.11. **pH-mätare.**

5.12. **Automatisk byrett.**

6. FÖRFARANDE

6.1. Till Kjeldahl-kolven (5.1) tillsätts kokstenar (5.2) (exempelvis tre glaspärlor), 15 g kaliumsulfat (4.1), 1,0 ml kopparsulfatlösning (4.2), ca 5 g mjölkprov (vägt med en noggrannhet av 0,001 g) och 25 ml svavelsyra (4.3). Skölj ned kopparsulfat, kaliumsulfat eller mjölk som fastnat i kolvens hals med syran och blanda försiktigt innehållet i kolven.

Anmärkning: Organiska ämnen förbrukar svavelsyran under kokningen och därför skall 30 i stället för 25 ml H_2SO_4 (4.3) doseras för kokningen om mjölken innehåller mer än 5,0 % m/m fett. Detta gäller också nollprovet.

6.2. Värm upp varje Kjeldahl-kolv på kokapparaten (5.5), i början mycket försiktigt, så att allt det svarta skummet stannar kvar i behållaren. När den inledande skumningen har upphört och det bildas rikligt med vit ånga, koka häftigt (ångan från syran kondenserar halvvägs upp i kolvens hals) tills inga svarta partiklar finns kvar och tills koket får en klar, blekt blågrön färg. Koka därefter sakta i minst 1,5 timmar. Lägg märke till följande krav:

a) Koket bör ha klarnat inom en timme och den totala koktiden får inte understiga 2,5 timmar. Om klarningen kräver längre tid än en timme, skall den totala koktiden ökas i motsvarande grad.

b) Den tillsatta kaliumsulfaten underlättar kokningen eftersom den höjer blandningens koktemperatur. Om återstående volym H_2SO_4 är mindre än 15 ml i slutet av koktiden, kan kväve ha gått förlorat på grund av för hög värme. Vid uppvärmning med gas skall kolven värmas upp på en platta av värmeisolerande material som är försedd med en rund öppning av sådan storlek att den öppna lågan bara kommer i kontakt med den del av kolven som är nedanför det flytande innehållets yta (5.5).

c) Om svarta partiklar kommer in i kolvens hals och inte sköljs ned helt och hållet genom syrans återflöde i början av den häftiga kokningen (detta kan underlättas om man snurrar på flaskan), låt flaskan svalna tillräckligt och tvätta försiktigt med så lite vatten som möjligt. Fortsätt därefter kokningen enligt beskrivningen ovan.

6.3. När Kjeldahl-kolvarna har kallnat, tillsätt 300 ml vatten (se anmärkning) till var och en av dem för omsorgsfull sköljning av kolvhalsen och blanda innehållet ordentligt så att de utskilda kristallerna löses upp. Tillsätt några kokstenar (5.2) för att säkerställa att kokningen blir enhetlig. Tillsätt därefter till varje kolv 70 ml natriumhydroxidlösning (4.4) (se anmärkning) genom att försiktigt låta lösningen rinna ned längs den lutade kolvens hals så att en bottensats bildas i kolven. Se till att halsens översta del inte fuktas av natriumhydroxidlösningen.

Anmärkning: Det är nödvändigt att den sammanlagda mängden vatten och natriumhydroxidlösning blir 370 ml för att man skall kunna samla upp omkring 150 ml destillat omedelbart innan den häftiga kokningen (med "stötar") inleds (6.4).

Om en större likvärdig mängd natriumhydroxidlösning med lägre koncentration än 47 % (m/m) tillsätts, skall den tillsatta vattenmängden således minskas i motsvarande grad. Om exempelvis 85 ml 40 % (m/m) eller 125 ml 30 % (m/m) natriumhydroxidlösning skall tillsättas, måste den tillsatta vattenmängden vara 282 ml respektive 245 ml.

6.4. Anslut varje Kjeldahl-kolv omedelbart till en destilleringsapparat (5.6). Se till att spetsen på kylarens avloppsrör doppas i 50 ml borsyrelösning (4.5) tillsammans med 0,20 ml (5-6 droppar) indikatorvätska (4.6), allt i en konisk kolv (5.8). Snurra på innehållet i varje Kjeldahl-kolv för att blanda noggrant och koka, i början försiktigt för att undvika kraftig skumbildning. När 100–125 ml av destillatet har samlats upp, sänk var och en av de koniska kolvarna tills spetsen på kylarens avloppsrör är ca 40 mm ovanför 200 ml-markeringen. Fortsätt med varje destillation tills den häftiga kokningen (med stötar) börjar och slå genast därefter ifrån värmen. Lossa Kjeldahl-kolvarna från apparaterna och skölj spetsen på varje kylares avloppsrör med lite vatten och samla upp sköljvätskan i den koniska kolven. Lägg märke till följande krav:

a) Destillationen skall ske med sådan hastighet att ca 150 ml destillat kan samlas upp när den häftiga kokningen (med stötar) börjar. Innehållet i var och en av de koniska kolvarna kommer då att vara ca 200 ml.

b) Varje kylare bör vara så effektiv att temperaturen i var och en av de koniska kolvarna inte överstiger 25 °C under destilleringen.

6.5. Använd pH-mätare och om så önskas en automatisk byrett och titrera varje destillat med den ställda syran (4.7) tills pH-värdet är 4,6 ± 0,1. En indikator gör det lättare att kontrollera om titreringen fortgår på ett riktigt sätt. Läs av byretterna med 0,01 ml noggrannhet med hjälp av förstoringsglas (5.10) och undvik parallaxfel.

Titreringen kan utföras enbart med indikatorn. Titrera tills destillatet har samma färg som den lösning som strax förut beretts av 150 ml vatten med tillsats av 50 ml borsyrelösning och 0,20 ml av indikatorn i den koniska kolven (5.8).

6.6. Gör ett nollprov enligt 6.1–6.5 och använd 5 ml destillerat vatten tillsammans med ca 0,1 g sackaros (4.8) i stället för mjölkprovet.

Anmärkning: För titreringen av nollprovet behövs endast mycket liten mängd av den ställda syran (4.7).

6.7. Kontrollera regelbundet processens exakthet genom två återvinningsprov efter processen enligt 6.1–6.5.

6.7.1. Använd en provmängd av 0,15 g ammoniumoxalat eller ammoniumsulfat (4.9), som vägts upp med en noggrannhet av 0,001 g, tillsammans med 0,1 g sackaros (4.8), för att kontrollera att inget kväve går förlorat på grund av för hög värme eller mekaniska läckor under destillationen.

Kvävet skall återvinnas till 99,0–100,0 %.

Lägre eller högre resultat tyder på felaktigt utförande eller felaktig koncentration i standardlösningen (4.7).

6.7.2. Använd en provmängd av 0,20 g rent tryptofan, 0,35 g fenacetin eller 0,20 g lysinhydroklorid (4.10) för att kontrollera att kokningen räcker till för att frigöra allt proteinkvävet. Alla vägningar skall utföras med en noggrannhet av 0,001 g. Minst 98–99 % av kvävet skall återvinnas.

7. SÄKERHETSÅTGÄRDER

Använd alltid skyddsrock, skyddsglasögon och syrabeständiga handskar vid arbete med koncentrerad svavelsyra och natriumhydroxid och vid hanteringen av Kjeldahl-kolvar.

Lämna aldrig Kjeldahl-kolvarna utan uppsikt vid destilleringen. På grund av risken skall destilleringen omedelbart avbrytas, om kolvarnas innehåll börjar "stöta" alltför häftigt. Om strömmen avbryts mer än två till tre minuter, sänk uppsamlingskolven så att destilleringsmunstycket inte är kvar i vätskan.

8. REDOVISNING AV RESULTATEN

8.1. **Beräkning och formel**

Beräkna kvävehalten (WN) uttryckt i gram kväve per 100 g produkt enligt följande:

$$W_n = \frac{1{,}40\,(V - V_0)\,c}{m}$$

där

W_N = kvävehalten.

V = den använda mängden ställd syra i milliliter som använts vid bestämningen.

Vo = den använda mängden ställd syra i milliliter som använts i nollprovet.

c = den ställda syrans koncentration (4.7) uttryckt i mol per liter.

m = provmängdens vikt i gram.

Avrunda resultatet till närmaste 0,001 g per 100 g.

8.2. **Noggrannhet**

8.2.1. *Repeterbarhet (r):* 0,007 g per 100 g.

8.2.2. *Reproducerbarhet (R):* 0,015 g per 100 g.

9. ALTERNATIVT UTFÖRANDE

9.1. Använd en blockkokapparat med cylindriska kolvar i stället för kokapparaten och Kjeldahl-kolven enligt 5.5 och 5.1. För att identifiera eventuella problem måste varje steg i detta fall kontrolleras var för sig (6.7).

9.2. Ångdestillering i stället för direktuppvärmda kolvar (6.4). Om apparaten inte kan användas med destillerat vatten, måste vattnet kontrolleras så att det inte innehåller syra eller flyktiga alkaliska ämnen.

9.3. En provmängd av 1 g mjölk (semi-makro Kjeldahl) kan användas i stället för 5 g (6.1) under följande förutsättning:

— Mängden reagensmedel som använts för mineralisering (6.1): H2SO4,CuSO4× 5H2O,K2SO4, minskas till samma förhållande (1:5).

— Totala koktiden (6.2) minskas till 75 minuter.

— Mängden natriumhydroxidlösning (6.3) minskas till samma förhållande (1:5).

— En ställd syrelösning (4.7) av lägre koncentration (0,02–0,03 mol/l) måste användas.

Anmärkning: Ett eller flera av dessa alternativ får endast användas om repetitionsvärdet (8.2.1) och de båda noggrannhetsresultaten (6.7) stämmer med kraven i denna metod.

V. BESTÄMNING AV PROTEINHALTEN

1. RÄCKVIDD OCH ANVÄNDNINGSOMRÅDE

Detta är en beskrivning av referensmetoden för bestämning av proteinhalten i värmebehandlad mjölk (artikel 3 A3 i direktiv 85/397/EEG).

2. DEFINITION

proteinhalt: Det värde som erhålls när den totala kvävehalten i viktprocent, bestämd i enlighet med den metod som beskrivs i avsnitt IV.3, multipliceras med en lämplig faktor (3).

3. BERÄKNING

Proteinhalten i mjölk uttryckt i viktprocent = 6,38 x totala kvävehalten i mjölken uttryckt i %.

VI. BESTÄMNING AV DENSITETEN

1. RÄCKVIDD OCH ANVÄNDNINGSOMRÅDE

Detta är en beskrivning av referensmetoden för bestämning av densiteten vid 20 °C hos rå mjölk, helmjölk, delvis skummad mjölk och skummjölk.

2. DEFINITION

Mjölkens densitet är förhållandet i vikt mellan en viss mängd mjölk vid 20 °C och samma mängd vatten vid 20 °C.

3. PRINCIP

Densiteten vid 20 °C bestäms med hydrometer.

4. APPARATUR OCH GLAS

Normal laboratorieutrustning och särskilt följande:

4.1. **Hydrometer**

En hydrometer för bestämning av densitet består av en glasflottör med bred och tung nederdel. En cylindrisk, koaxiellt orienterad glasstav är ansluten till flottörens ovandel. Glasstaven är försluten upptill.

Glasflottören innehåller tyngden (bly, kvicksilver etc.) för justering av hydrometervikten. Glasstaven har en graderad skala, 1,025–1,035 g/ml.

Hydrometern bör kontrolleras pyknometriskt med en pyknometer som rymmer ca 100 ml och är försedd med en precisionstermometer.

4.2 **Cylindrar** (glas eller rostfritt stål). Dimensionerna bör vara minst följande:

— Invändig diameter ca 35 mm.

— Invändig höjd ca 225 mm.

4.3. **Vattenbad** med en reglerad temperatur av 20 ± 0,1 °C.

4.4. **Vattenbad** med en reglerad temperatur av 40 ± 2°C.

4.5. **Termometer** graderad till 0,5 °C.

5. UTFÖRANDE

5.1. Blanda provet genom att vända det upp och ned för att fördela fettet och lägg provet i ett vattenbad (4.4). Låt provets temperatur gå upp till 40 °C och behåll denna temperatur i fem minuter. Blanda noggrant genom att grundligt vända provet upp och ned för att säkerställa att fettet blir jämnt fördelat. Kyl till 20 °C i det andra vattenbadet (4.3).

5.2. Blanda provet grundligt genom att vända det upp och ned försiktigt så att det inte kommer in luft. Luta cylindern för att undvika skumbildning och bubblor och häll över mjölken i cylindern (4.2). Använd så mycket av mjölkprovet att en del mjölk kommer att flöda över från cylindern när hydrometern (4.1) sänks ner i den. Sänk hydrometern försiktigt ner i mjölken och låt den flyta fritt när den har nått sin balanspunkt. Cylindern skall stå lodrätt. Hydrometern måste befinna sig mitt i vätskan och får inte röra vid cylinderns väggar.

5.3. När hydrometern är i jämvikt, läs av skalan i höjd med meniskens ovankant.

5.4. Omedelbart efter avläsningen, sänk ner termometern (4.5) i provet och läs av temperaturen med en noggrannhet av 0,5 °C. Temperaturen får inte avvika mer än ± 2 °C från 20 °C.

6. TEMPERATURKORRIGERING

6.1. Om mjölkprovets temperatur inte är exakt 20 °C när densiteten mäts, korrigeras resultatet genom att den bestämda densiteten får ett tillägg av 0,0002 för varje grad Celsius över 20 °C eller ett avdrag av 0,0002 för varje grad Celsius under 20 °C. Denna korrigering får bara användas om mjölkprovets temperatur avviker högst 5 °C från 20 °C.

7. REDOVISNING AV RESULTATEN

Beräkningsmetoden och formeln för provets densitet uttrycks i g/ml skummjölk vid 20 °C enligt följande formel:

$$\frac{1\,000 \cdot mv - MG \cdot mv}{1\,000 - \frac{MG \cdot mv}{0{,}92}} = \frac{0{,}92\ mv\ (1\,000 - MG)}{920 - MG \cdot mv}$$

där

mv = provets densitet av läst på hydrometern (5.4) i g/l

MG = provets fetthalt i g/l

0,92 = fettets densitet.

8. **Noggrannhet**

8.1. *Repeterbarhet (r):* 0,0003 g/ml.

8.2.2. *Reproducerbarhet (R):* 0,0015 g/ml.

Tillägg

(till bilaga 2)

ALTERNATIVT FÖRFARANDE MED ANVÄNDNING AV FETTEXTRAKTIONSRÖR MED SIFON- ELLER TVÄTTKOLVSARMATUR

A.1. UTFÖRANDE

A.1.1. **Beredning av testsats**

Se 6.1.

A.1.2. **Provmängd**

Följ anvisningarna i 6.2 men använd fettextraktionsrör (se 5.6).

Provmängden skall överföras så fullständigt som möjligt till extraktionsrörets botten.

A.1.3. **Nollprov**

Se 6.3.

A.1.4. **Beredning av fettuppsamlingskärl**

Se 6.4.

A.1.5. **Bestämning**

A.1.5.1. Tillsätt 2 ml ammoniaklösning (4.1) eller en likvärdig mängd av en mera koncentrerad ammoniaklösning och blanda grundligt med den förberedda provmängden i rörets botten. Gör bestämningen så snart ammoniaklösningen tillsatts.

A.1.5.2. Tillsätt 10 ml etanol (4.2) och blanda försiktigt men grundligt i rörets botten. *Om så önskas,* tillsätt två droppar kongorött- eller kresolröttlösning (4.3).

A.1.5.3. Tillsätt 25 ml dietyleter (4.4), förslut röret med en kork genomfuktad med vatten eller med en vattenfuktad propp (5.6). Skaka röret kraftigt under en minut, men inte för mycket (det kan då bildas beständiga emulsioner) samt vänd det upp och ned flera gånger. Om så behövs, kyl röret i rinnande vatten, ta därefter försiktigt av korken eller proppen och skölj denna och rörets hals med lite av det blandade lösningsmedlet (4.6). Använd tvättflaskan (5.8) och se till att sköljvätskan rinner ner i röret.

A.1.5.4. Tillsätt 25 ml lättbensin (4.5), förslut röret med den på nytt fuktade korken eller proppen (fukta på nytt genom att doppa i vatten) och skaka röret försiktigt i 30 sekunder enligt beskrivningen i A.1.5.3.

A.1.5.5. Centrifugera det förslutna röret i 1–5 minuter vid 500–600 r/min^{-1} (5.2). Saknas centrifug (se anmärkningen till 5.2), låt röret stå i stativet (5.7) i minst 30 minuter tills det översta skiktet har klarnat och är tydligt avgränsat från vattenskiktet. Kyl röret i rinnande vatten om så behövs.

A.1.5.6. Avlägsna försiktigt korken eller proppen och skölj denna och rörets hals med en liten del av det blandade lösningsmedlet så, att sköljvätskan rinner ner i röret.

A.1.5.7. Stick in en sifon- eller tvättkolvsarmatur i röret och skjut in armaturens långa, invändiga del tills öppningen är ca 3 mm ovanför gränsytan mellan de två skikten. Den invändiga delen av armaturen skall vara parallell med extraktionsrörets axel.

Häll försiktigt ut det översta skiktet från röret till det förberedda fettuppsamlingskärlet (6.4) som vid användning av glaskolvar bör innehålla ett fåtal kokstenar (5.10) (valfritt vid skålar av metall). Undvik att få med något av vattenskiktet. Skölj armaturens öppning med en liten del av det blandade lösningsmedlet och samla upp sköljvätskan i fettuppsamlingskärlet.

A.1.5.8. Lossa armaturen från rörets hals, dra upp det en aning och skölj det nedre partiet av den långa delen av armaturen med lite av det blandade lösningsmedlet. Sänk ner armaturen igen och för över sköljvätskan till fettuppsamlingskärlet.
Skölj armaturen utvändigt med lite av det blandade lösningsmedlet och samla upp sköljvätskan i kärlet. Om så önskas kan lösningsmedlet helt eller delvis avlägsnas från kärlet genom destillering eller indunstning enligt beskrivningen i 6.5.12.

A.1.5.9. Lossa på nytt armaturen från rörhalsen, dra upp den en aning och tillsätt 5 ml etanol till rörets innehåll för att rengöra armaturens långa innerdel. Blanda enligt A.1.5.2.

A.1.5.10. Utför den *andra extraktionen* genom att upprepa förfarandet enligt A.1.5.3–A.1.5.8 men använd bara 15 ml dietyleter (4.4) och 15 ml lättbensin (4.5). Skölj armaturens långa innerdel med eter när den har avlägsnats från röret efter den föregående extraktionen.

A.1.5.11. Utför den *tredje extraktionen* genom att ännu en gång upprepa förfarandet enligt A.1.5.3–A.1.5.8 med 15 ml dietyleter och 15 ml lättbensin och skölj armaturens långa innerdel enligt A.1.5.10.

Vid skummjölk kan den tredje extraktionen utelämnas.

A.1.5.12. Fortsätt enligt 6.5.12–6.5.16