



جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

Institute of Standards and Industrial Research of Iran



استاندارد ملی ایران

۱۱۴۱-۲

چاپ اول

ISIRI

11141 -2

1st. edition

عسل - تعیین فعالیت ساکاراز

قسمت دوم: روش هادورن

**Honey - Determination of saccharase
activity
Part 2: Hadorn method**

ICS: 67.180.10

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 حوزه های مختلف در کمیسیون های فنی مرکب از کارشناسان مؤسسه* صاحب نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط انجام می شود 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، مصرف کنندگان، صادرکنندگان و وارد کنندگان، مراکز علمی و تخصصی، نهادها، سازمان های دولتی و غیر دولتی حاصل می شود. پیش نویس استانداردهای ملی ایران برای نظرخواهی به مراجع ذی نفع و اعضای کمیسیون های فنی مربوط ارسال می شود 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 می شود.

پیش نویس استانداردهایی که مؤسسات و سازمان های علاقه مند و ذیصلاح نیز با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می کنند در کمیته ملی طرح و بررسی و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی ایران چاپ و منتشر می شود. بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می شود که بر اساس مفاد نوشته شده در استاندارد ملی ایران شماره ۵ تدوین و در کمیته ملی استاندارد مربوط که مؤسسه استاندارد تشکیل می دهد به تصویب رسیده باشد.

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران از اعضای اصلی سازمان بین المللی استاندارد (ISO)^۱ کمیسیون بین المللی الکتروتکنیک (IEC)^۲ و سازمان بین المللی اندازه شناسی قانونی (OIML)^۳ است و به عنوان تنها رابط^۴ کمیسیون کدکس غذایی (CAC)^۵ در کشور فعالیت می کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندی های خاص کشور، از آخرین پیشرفتهای علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین المللی بهره گیری می شود.

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران می تواند با رعایت موازین پیش بینی شده در قانون، برای حمایت از مصرف کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست محیطی 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 می تواند به منظور حفظ بازارهای بین المللی برای محصولات کشور، اجرای استاندارد کالاهای صادراتی و درجه بندی آن را اجباری نماید. همچنین برای اطمینان بخشیدن به استفاده کنندگان از خدمات سا زمانها و مؤسسات فعال در زمینه مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و صدور گواهی سیستم های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست محیطی، آزمایشگاه ها و مراکز کالیبراسیون (واسنجی) وسایل سنجش، مؤسسه استاندارد این گونه سازمان ها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران ارزیابی می کند و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامه تأیید صلاحیت به آن ها اعطا و بر عملکرد آنها نظارت می کند. ترویج دستگاه بین المللی 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
عسل – تعیین فعالیت ساکاراز
قسمت دوم: روش هادورن

رئیس:

سیف هاشمی، سعیده
(دکترای دامپزشکی)

سمت و/یا نمایندگی

سازمان نظام دامپزشکی جمهوری اسلامی ایران

دبیر:

صدغی، ناصر
(لیسانس صنایع غذایی)

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

اعضاء: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)

تاج دولتشاهی، فرشید
(دکترای دامپزشکی)

آزمایشگاه ویرومد

شاه حسینی، مهناز
(فوق لیسانس علوم و صنایع غذایی)

شرکت پارس مینو

جمالی، زهره
(لیسانس تغذیه)

وزارت بهداشت و درمان و آموزش پزشکی
آزمایشگاه های کنترل غذا و دارو

مجتبایی، سید حمید
(لیسانس صنایع غذایی)

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

محمدی، حسین
(لیسانس علوم آزمایشگاهی)

وزارت بازرگانی
شرکت بازرسی بین المللی کالای تجاری

پیش‌گفتار

استاندارد " عسل -تعیین فعالیت ساکاراز به روش هادورن" که پیش‌نویس آن در کمیسیون های مربوط توسط مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران تهیه و تدوین شده و در هشتصد و هفتمین اجلاس کمیته ملی استاندارد خوراک و فرآورده های کشاورزی مورخ ۱۳۸۷/۱۱/۵. مورد تصویب قرار گرفته است ، اینک به استناد بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱ به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می‌شود.

برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت های 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.

منبع و مآخذی که برای تهیه این استاندارد مورد استفاده قرار گرفته به شرح زیر است:

1-DIN 10759-2: 1999. Determination of saccharase activity in honey by the Hadorn method.

عسل - تعیین فعالیت ساکاراز به روش هادورن

۱ هدف و دامنه کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد، تعیین فعالیت ساکاراز در عسل است. این استاندارد برای تعیین فعالیت ساکاراز (الفا گلوکوزیداز) در عسل کار برد دارد.

یادآوری - تعیین فعالیت ساکاراز با این روش وابستگی مهمی با روش سایتالر که در قسمت اول این استاندارد ملی بطور مجزا تدوین می شود وجود ندارد.

۲ مراجع الزامی

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

۱-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۱-۱۱۴۱-۱ سال ۱۳۸۸، عسل - تعیین فعالیت ساکاراز - قسمت اول: روش سایتالر

۲-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۹۲، عسل - ویژگی ها و روش های آزمون

۳-۲ استاندارد ملی ایران ۱-۷۴۴۲، درستی (صحت ودقت) روش ها ونتایج اندازه گیری قسمت اول: تعاریف و اصول کلی

۳ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد اصطلاح و تعریف زیر به کار می رود:

۱-۳

ساکاراز

ساکاراز (اینورتاز) آنزیمی است که ساکارز را تبدیل به فروکتوز و گلوکز می کند. فعالیت ساکاراز در روش هادورن در ۱۰۰ گرم عسل است که X گرم ساکارز را در مدت یک ساعت هیدرولیز کند.

۴ اساس روش

حجم هایی از یک محلول بافری عسل و یک محلول ساکارز جداگانه در ظرف واکنش تا ۴۰ درجه سانتی گراد گرم، و پس از آن کاملاً مخلوط می شوند. حجم های برابری از محلول واکنش در فواصل منظم از ظرف واکنش برداشته می شود، واکنش با اضافه کردن این حجم ها از محلول متوقف کننده خاتمه می یابد. نمونه یک شب می ماند و فعالیت ساکاراز از تغییر چرخش نوری در مدت ۶۰ دقیقه تعیین می شود.

۵ مواد و یا واکنشگرها

مواد شیمیایی و آب مقطر باید دارای درجه خلوص آزمایشگاهی باشد.

۱-۵ محلول ۰/۲ مول در لیتر دی سدیم سیترات

۲۱/۰۱۵ گرم اسید سیتریک دارای یک مولکول آب ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$) رادر حدود ۱۰۰ میلی لیتر آب در بالن اندازه دار ۵۰۰ میلی لیتری حل کنید. ۲۰۰ میلی لیتر محلول هیدرواکسید سدیم یک مول در لیتر به آن اضافه و تا خط نشانه آن را پر و محلول را کاملاً مخلوط کنید.

۲-۵ محلول بافر سیترات (pH 5.8)

۳۶/۴ میلی لیتر از محلول هیدرواکسید سدیم ۰/۲ مول در لیتر و ۶۳/۶ میلی لیتر محلول دی سدیم سیترات را مخلوط، و در صورت لزوم pH آنرا کنترل کنید.

۳-۵ محلول توقف^۱

۱۵ گرم سدیم کربنات (Na_2CO_3) را با آب حل، و به حجم ۱۰۰ میلی لیتر برسانید.

¹ Stop solution

۴-۵ محلول ساکارز

۲۰۰ گرم ساکارز تصفیه شده را در ارلن ۵۰۰ میلی لیتری با آب مقطر جوش حل کنید و مدت چند دقیقه ارلن را در حمام آب جوش قرار دهید. پس از خنک کردن آن را به بالن حجمی ۵۰۰ میلی لیتری انتقال دهید و به حجم برسانید.

۶ وسایل

افزون بر وسایل معمول آزمایشگاهی وسایل زیر مورد نیاز است. تمامی تجهیزات اندازه گیری و نگهداری مواد باید عاری از مواد پاک کننده باشد.

۱-۶ الک استیل، باچشمه های ۰/۵۰ میلی متری

۲-۶ ظرف شیشه ای واکنش، متشکل از ارلن مخروطی ۱۰۰ میلی لیتری B دارای دهانه گشاد درب سمباده ای شماره (NS 29/32) و یک بالن متصل جانبی A با خط نشان ۲۵ میلی لیتری (مطابق شکل ۱)^۱

۳-۶ حمام آب، با قابلیت تنظیم دمای آب در 40 ± 0.2 درجه سلسیوس

۴-۶ قیف، دارای لوله باریک (قطر ۶ میلی متر) و بلندی ۹۰ میلی متر برای پرکردن بالن حجمی A از محلول نمونه

۵-۶ لوله آزمایش، با ظرفیت اسمی ۳۰ میلی لیتر

۶-۶ زمان سنج (تایمر)

۷-۶ دستگاه پلازیمتر دارای لوله ۲۰۰ میلی متری

۸-۶ پیپت حساب دار، با ظرفیت اسمی ۲۰ میلی لیتر

۹-۶ بالن حجمی، با ظرفیت اسمی ۲۰۰ میلی لیتری

۱۰-۶ بالن حجمی، با ظرفیت اسمی ۵۰۰ میلی لیتری

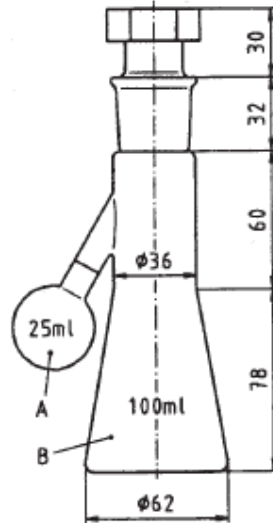
۱۱-۶ بالن تخت، با ظرفیت اسمی ۵۰۰ میلی لیتری

۱۲-۶ بشر

¹ Information on sources of supply is obtainable from the (Normenausschub Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte im DIN ,D10772 Berlin)

۷ نمونه برداری

نمونه برداری باید مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۹۲ انجام گیرد.



شکل ۱-شمایی از ظرف واکنش برای تعیین عدد ساکاراز

۸ روش آزمون

۸-۱ آماده سازی نمونه

۸-۱-۱ عسل مایع یا کریستال شده بدون نا خالصی

نمونه عسل را حداقل ۳ دقیقه همگون و یکنواخت کنید. تا جایی که ممکن است از مخلوط شدن هوا با آن به ویژه در آزمون HMF جلوگیری کنید.

۸-۱-۲ عسل مایع یا کریستال شده دارای نا خالصی

نا خالصی های درشت را بردارید، عسل را در دمای محیط به هم بزنید تا نرم شود، سپس آن را از الک عبور دهید.

۸-۱-۳ عسل شان

اگر خانه های شان عسل بسته است، ابتدا آن ها را باز کنید سپس عسل را از موم جدا سازید. بدون گرم کردن از الک استفاده کنید.

۸-۲ آماده سازی محلول نمونه

۱۰ گرم عسل را در بشر کوچکی با حدود ۸ میلی لیتر محلول بافر سیترات با یک میله شیشه ای حل کنید تا یکنواخت شود.

به کمک قیف محلول را به بالن A متصل به ظرف واکنش انتقال دهید و با محلول بافر سیترات آن را تا خط نشان پر کنید از عدم سرایت محلول به قسمت B ظرف مطمئن شوید. ۵۰ میلی لیتر محلول ساکارز و ۲۵ میلی لیتر آب مقطر به قسمت B ظرف واکنش با پیپت انتقال دهید.

۸-۳ انجام آزمون

ظرف واکنش را به کمک گیره در حمام آب 40 ± 0.2 درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه آویزان کنید. دقت شود که محلول ها با هم مخلوط نشوند. سپس به سرعت آن را از حمام خارج کنید. محلول نمونه موجود در ظرف بازوی جانبی را با ۴ تا ۵ بار کج کردن ظرف واکنش، و سپس به شدت تکان دادن با محلول ساکارز مخلوط کنید. کارزمان سنج را همراه با مخلوط کردن شروع کنید. ظرف واکنش را دوباره در حمام قرار دهید. در زمان های ۱۰، ۳۰، ۵۰ و ۷۰ دقیقه پس از عمل مخلوط سازی، ۲۰ میلی لیتر از مخلوط را با پیپت حباب دار به لوله آزمایش که دارای ۵ میلی لیتر محلول توقف است طوری انتقال دهید که نوک پیپت با دیواره لوله و سطح محلول توقف تماس پیدا نکند. ۱۰ ثانیه پس از تخلیه پیپت، آن را اندکی فوت کنید. پیپت را در فواصل هر یک از نمونه ها شستشو ندهید، اما بطور عمودی و نوک پیپت به سمت پایین بر روی کاغذ صافی خشک قرار گیرد.

چنانچه محلول شفاف نیست آن را صاف کنید.

آزمون نمونه ها را یکسان انجام دهید.

pH محلول باقیمانده در ظرف واکنش را اندازه گیری کنید باید pH بین ۸ / ۵ و ۶ باشد.

۸-۴ پلاریمتری

با توجه به اثر تغییرات دمای محلول صاف شده هنگام اندازه گیری، از عدم تغییر دمای تمامی محلول های آزمون اطمینان حاصل کنید. سپس درجه پلاریمتری محلول را در لوله پلاریمتر ۲۰۰ میلی لیتری در دستگاه پلاریمتر با لامپ سدیم طول موج ۵۸۹ نانومتر و یا با لامپ بخار جیوه طول موج ۵۴۶ نانومتر اندازه گیری کنید.

۹ ارزیابی

۹-۱ رسم منحنی

تک تک اعداد چرخش نوری را به عنوان عملکرد زمان واکنش رسم کنید. چهار نقطه اندازه گیری تقریباً باید بر روی خط مستقیمی قرار گیرند. خط رگرسیون (برگشت) را رسم کنید و تلاقی آن را با محور عمودی

پیش بینی نمایید که مشابه شروع واکنش است. چرخش نوری را در این نقطه پس از مدت ۶۰ دقیقه از زمان واکنش بخوانید. اختلاف بین دو عدد نسبتی از مقدار ساکارز هیدرولیز شده در یک ساعت است. فعالیت ساکارز ممکن است با محاسبه نیز ارزیابی شود.

۲-۹ روش محاسبه

فعالیت ساکاراز را محاسبه، و برحسب عدد ساکاراز بیان کنید، $S_z(\text{hadorn})$ در معادله (۱) برای اندازه گیری با لامپ سدیم، و در معادله (۲) برای اندازه گیری لامپ بخار جیوه است.

$$S_z(\text{hadorn})=7.34 \times \alpha \quad \text{معادله (۱)}$$

$$S_z(\text{hadorn})=6.27 \times \alpha \quad \text{معادله (۲)}$$

که در آن:

α تغییر در چرخش نوری در ۶۰ دقیقه است

نتیجه را تا یک رقم اعشار گزارش کنید.

۳-۹ دقت

دقت آزمون که مطابق استاندارد ملی ایران ۷۴۴۲-۱ درستی (صحت ودقت) روش ها ونتایج اندازه گیری قسمت اول: تعاریف و اصول کلی (ISO 5725-1) انجام گرفته است در جدول ۱ پیوست الف اطلاعاتی آمده است.

۱۰ گزارش آزمون

گزارش آزمون باید دارای آگاهی های زیر باشد:

- ۱-۱۰ شناسایی نمونه
- ۲-۱۰ تاریخ نمونه برداری
- ۳-۱۰ روش نمونه برداری
- ۴-۱۰ تاریخ دریافت نمونه
- ۵-۱۰ تاریخ انجام آزمون
- ۶-۱۰ بیان فعالیت ساکاراز طبق این استاندارد
- ۷-۱۰ دلایل هر گونه انحراف از این استاندارد
- ۸-۱۰ نام و نام خانوادگی و امضاء آزمون کننده

پیوست الف
اطلاعاتی

جدول ۱- نتایج آزمون بین آزمایشگاهی

نمونه	\bar{x}	r	S _r	R	S _R
عسل آکاسیا	۳/۵۴	۰/۹۱	±۰/۳۲	۱/۱۰	±۰/۳۹
عسل شکوفه	۴/۶۷	۰/۹۷	±۰/۳۴	۱/۱۷	±۰/۴۱
عسل مکزیکی	۱۶/۲۸	۰/۹۹	±۰/۳۵	۱/۸۳	±۰/۶۵
عسل جنگل	۱۹/۶۰	۱/۴۳	±۰/۵۱	۲/۲۴	±۰/۷۹
عسل کاج	۲۳/۷۰	۱/۳۳	±۰/۴۷	۲/۸۹	±۱/۰۲
<p>\bar{x} میانگین</p> <p>r حد تکرار پذیری</p> <p>S_r انحراف معیار تکرار پذیری</p> <p>R حد تجدید پذیری</p> <p>S_R انحراف معیار تجدید پذیری</p>					