



جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

Institute of Standards and Industrial Research of Iran



استاندارد ملی ایران

۱۱۱۴۵

چاپ اول

ISIRI

11145

1st. edition

عسل - تعیین مقدار پرولین

Honey - Determination of proline

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 مقدار پرولین»

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)

آزمایشگاه و پرومد

تاج دولتشاهی، فرشید
(دکترای دامپزشکی)

شرکت پارس مینو

شاه حسینی مهناز
(فوق لیسانس علوم و صنایع غذایی)

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

جمالی، زهره
(لیسانس تغذیه)

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

مجتبایی، سید حمید
(لیسانس صنایع غذایی)

وزارت بازرگانی
شرکت بازرسی بین المللی کالای تجاری

محمدی، حسین
(لیسانس علوم آزمایشگاهی)

پیش گفتار

استاندارد " عسل- تعیین مقدار پرولین " که پیش نویس 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 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 می شود .

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.

منابع و ماخذی که برای تهیه این استاندارد مورد استفاده قرار گرفته به شرح زیر است:

- 1-DIN 10754, Determination of proline content of honey August 2002.
- 2-Harmonised methods of the international honey commission(2002).

عسل - تعیین مقدار پرولین

۱ هدف و دامنه کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد، تعیین میزان پرولین عسل می باشد. این استاندارد علاوه بر سایر روش های آزمونی که در استاندارد ملی ایران شماره ۹۲ موجود است، می تواند برای تشخیص کیفیت عسل به کار رود.

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 ۹۲، عسل ویژگی ها و روش های آزمون
- ۲-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۱۷۲۸، آب مورد مصرف در آزمایشگاه تجزیه - 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
- ۴-۲ استاندارد ملی ایران ۲-۷۴۴۲، درستی (صحت ودقت) روش ها ونتایج اندازه گیری-قسمت دوم: روش پایه برای تعیین تکرار پذیری و تجدید پذیری روش اندازه گیری استاندارد

۳ اصطلاحات و تعاریف

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

۱-۳

پرولین

پرولین اسید آمینه اصلی عسل است، که به عنوان شاخصی از کیفیت عسل چنانچه میزان آن از حد مشخصی کمتر شود نشانه کیفیت نامناسب عسل است.

۴ اساس روش

پرولین با نین هیدرین^۱ تشکیل ترکیب پیچیده رنگی می دهد. پس از افزودن ۲ پروپانل، میزان پرولین از نسبت حداکثر جذب آزمون و یک محلول مرجع محاسبه می شود.

۵ مواد و یا واکنشگرها

۱-۵ کلیات

مواد شیمیایی باید دارای درجه خلوص آزمایشگاهی باشند. آب مصرفی باید آب مقطر یا معادل با خلوص آن مطابق با "استاندارد ملی ایران ۱۷۲۸، آب مورد مصرف در آزمایشگاه تجزیه - ویزگی ها و روش های آزمون" باشد.

۲-۵ اسید فرمیک، ۹۸ تا ۱۰۰ در صد جرمی

۳-۵ محلول نین هیدرین، ۱/۵ گرم از پودر را در ۵۰ میلی لیتر اتیلن گلیکول مونو اتیل اتر حل کنید.

یادآوری- برای هر آزمون باید محلول تازه تهیه شود.

۴-۵ پرولین مرجع

۱-۴-۵ محلول ذخیره پرولین، ۴۰ میلی گرم در ۵۰ میلی لیتر

۲-۴-۵ محلول استاندارد پرولین (۰/۸ میلی گرم در ۲۵ میلی لیتر)، برای تهیه محلول استاندارد، یک میلی لیتر محلول ذخیره پرولین بند ۱-۴-۵ را با آب مقطر به حجم ۲۵ میلی لیتر برسانید.

۵-۵ ۲- پروپانل ۵۰ درصد (حجمی)، یک حجم ۲- پروپانل را با یک حجم آب مقطر مخلوط کنید.

۶ وسایل

^۱ -ninhydrin

۱-۶ عمومی

علاوه بر وسایل معمولی آزمایشگاهی وسایل ویژه زیر مورد نیاز است.

۲-۶ الک استیل، با چشمه های ۰/۵ میلی متری

۳-۶ اسپکترو فتومتر، با قابلیت تنظیم در طول موج ۵۰۰ تا ۵۲۰ نانومتر

۴-۶ سل شیشه ای، با طول عبور نور یک سانتیمتری

۵-۶ لوله های آزمایش، در پیچ دار با ظرفیت اسمی ۲۰ میلی لیتر

۶-۶ بالن ژوژه، با گنجایش ۱۰۰ میلی لیتر

۷-۶ بشر

۷ نمونه برداری

نمونه برداری باید طبق استاندارد ملی ایران شماره ۹۲، عسل - ویژگی ها و روش های آزمون انجام شود.

۸ روش کار

۱-۸ آماده سازی نمونه

برای یکنواخت کردن نمونه را حداقل به مدت سه دقیقه به هم بزنید. دقت کنید که مقدار هوای مخلوط شده به حداقل برسد به ویژه در مورد نمونه هایی که HMF آن هم اندازه گیری می شود.

بعد از حذف مواد خارجی درشت، عسل را در دمای محیط به هم بزنید تا نرم شود، آن را از الک بند ۲-۶ عبور دهید.

در مورد عسل شان هم پس از پولک برداری عسل را از شانه جدا کنید و بدون گرم کردن از الک فوق عبور دهید.

۲-۸ آماده سازی محلول نمونه

در بشر کوچکی ۵ گرم عسل را با دقت یک میلی گرم وزن، و آن را در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر حل کنید. محلول را به طور کمی به بالن ژوژه ۱۰۰ میلی لیتری انتقال دهید، به حجم ۱۰۰ برسانید، در آن را ببندید و به شدت تکان دهید تا یکنواخت شود.

۸-۳ انجام آزمون

به علت نوسانات جذب، میانگین محلول استاندارد پرولین در هر گروه از آزمون ها باید سه تایی^۱ (سه بار) اندازه گیری شود.

۰/۵ میلی لیتر محلول نمونه را در لوله آزمون اول، ۰/۵ میلی لیتر آب در لوله دوم بعنوان شاهد (بلانک)، و ۰/۵ میلی لیتر محلول پرولین در لوله سوم بریزید. یک میلی لیتر محلول نین هیدرین و یک میلی لیتر اسید فرمیک به هر لوله اضافه کنید. در لوله ها را به دقت ببندید و به مدت ۱۵ دقیقه به شدت تکان دهید. سپس لوله ها را ۱۵ دقیقه در حمام آب جوش قرار دهید بطوریکه سطح آب حمام بالا تر از سطح مایع داخل لوله ها باشد. متعاقباً لوله ها را ده دقیقه درون حمام آب ۷۰ درجه سلسیوس قرار دهید. در این مدت به هریک از لوله ها ۵ میلی لیتر ۲ پروپانل اضافه کنید و فوراً در لوله ها را ببندید. لوله ها را از حمام در آورید و ۴۵ دقیقه بگذارید تا افزایش رنگ کامل شود. اکنون جذب لوله ها را در طول موج ۵۰۰ تا ۵۲۰ نانومتر با استفاده از لوله شاهد به عنوان مرجع ثبت کنید. حداکثر جذب در حدود ۵۱۰ نانومتر می باشد. زمان های ویژه را مراعات کنید.

۹ بیان نتایج

۹-۱ محاسبه

میزان جرمی پرولین، W_p ، بر حسب میلی گرم پرولین در کیلوگرم عسل با استفاده از فرمول زیر محاسبه می شود:

$$\frac{E_p}{E_s} \times \frac{M_1}{M_2} \times 80 W_p =$$

که در آن:

E_p	جذب محلول نمونه
E_s	میانگین جذب محلول استاندارد پرولین
M_1	جرم اصلی پرولین در محلول استاندارد (در اینجا ۴۰ میلی گرم)
M_2	جرم اصلی آزمون عسل (در اینجا ۵ گرم)
۸۰	فاکتور رقت بر حسب یک گرم عسل

یاد آوری - دقت آزمون رادر آزمون بین آزمایشگاهی در جدول ۱ پیوست اطلاعاتی ببینید.

^۱ Triplicate

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 میزان پرولین برحسب میلی گرم در کیلو گرم نمونه
- ۷-۱۰ دلایل هر گونه انحراف از این استاندارد
- ۸-۱۰ نام و نام خانوادگی و امضاء آزمون کننده

پیوست الف اطلاعاتی

دقت آزمون در آزمون بین آزمایشگاهی در جدول یک آمده است.

مطابق با استانداردهای ملی ۱-۷۴۴۲ و ۲-۷۴۴۲ ارزیابی آزمون انجام شده است.

جدول ۱- نتایج آزمون بین آزمایشگاهی (اعداد بر حسب میلی گرم در کیلوگرم)

نوع عسل			شاخص ها
عسل بلوط	عسل افاقیا	عسل یاکاتان	
۷۶۲	۲۹۳	۱۷۵	میانگین \bar{x}
۲۴/۴	۱۲/۵	۱۰/۳	حدتکرار پذیری
۸/۶	۴/۴	۳/۶	انحراف معیار تکرار پذیری
۵۸/۴	۳۵/۷	۳۸/۲	حد تکرار پذیری
۲۰/۷	۱۲/۶	۱۳/۵	انحراف معیار تکرار پذیری