



جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran
سازمان ملی استاندارد ایران

Iranian National Standardization Organization



استاندارد ملی ایران

۱۶۸۷۸

چاپ اول

آبان ۱۳۹۲

INSO

16878

1st. Edition

nov.2013

افزودنی های خوراکی مجاز - شیرین کننده
های خوراکی - استویول گلیکوزیدها -
روش های آزمون

**Permitted Food Additives - Food Sweeteners
- Steviol Glycosides - Test Methods**

ICS:67.220.20

به نام خدا

آشنایی با سازمان ملی استاندارد 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.

نام موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به موجب یکصد و پنجاه و دومین جلسه شورای عالی اداری مورخ ۹۰/۶/۲۹ به سازمان ملی استاندارد ایران تغییر و طی نامه شماره ۲۰۶/۳۵۸۳۸ مورخ ۹۰/۷/۲۴ جهت اجرا ابلاغ شده است. تدوین استاندارد در حوزه های مختلف در کمیسیون های فنی مرکب از کارشناسان سازمان، 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 پیشنهادات 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 ذی صلاح 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 شوند که بر اساس مفاد نوشته شده در استاندارد ملی ایران شماره ۵ تدوین و در کمیته ملی استاندارد مربوط که سازمان ملی استاندارد ایران تشکیل می دهد به تصویب رسیده باشد.

سازمان ملی استاندارد 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 پیشرفت های علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین المللی بهره گیری می شود.

سازمان ملی استاندارد 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. سازمان 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 سازمان ها 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، سازمان ملی استاندارد ایران 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 آن ها نظارت می کند. ترویج دستگاه بین المللی یکاها، کالیبراسیون (واسنجی) وسایل سنجش، تعیین عبار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی ایران از دیگر وظایف این سازمان است.

1-International Organization for Standardization

2-International Electrotechnical Commission

3-International Organization of Legal Metrology (Organisation Internationale de Metrologie Legale)

4-Contact Point

5-Codex Alimentarius Commission

کمیسیون فنی تدوین استاندارد

"افزودنی های خوراکی مجاز - شیرین کننده های خوراکی - استویول گلیکوزیدها - روش های آزمون"

رئیس

قاسم پور، غلامرضا
(فوق لیسانس مدیریت)

سمت و/یا نمایندگی

سازمان ملی استاندارد ایران

دبیران :

جهانیان، لیدا
(فوق لیسانس مهندسی علوم و صنایع غذایی)

کانون انجمن های صنفی صنایع غذایی ایران

موسمی، محمد
(لیسانس مهندسی علوم و صنایع غذایی)

شرکت صنایع غذایی دینا توس (سهامی خاص)

اعضا : (اسامی به ترتیب حروف الفبا)

اسکندری، سیروس
(لیسانس مهندسی علوم و صنایع غذایی)

انجمن افزودنی های صنایع غذایی

حقانی حقیقی، حمید
(فوق لیسانس مهندسی علوم و صنایع غذایی)

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی
دانشگاه شهید بهشتی

حمزه تاش، داریوش
(دکترای شیمی)

شرکت اسانس و رنگ ابیض شیمی (سهامی خاص)

خضایی نیا، پروانه
(دکترای دامپزشکی)

شرکت گلنان پوراتوس (سهامی خاص)

فرامرزی، طاهره
(دکترای داروسازی)

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی
دانشگاه شهید بهشتی

متقیان، پریشان
(لیسانس مهندسی علوم صنایع غذایی)

انجمن صنفی شیرینی و شکلات

کمیسیون فنی تدوین استاندارد (ادامه)

اعضا :	سمت و / یا نمایندگی
نایب زاده، نازیلا (لیسانس تغذیه)	کانون انجمن های صنفی صنایع غذایی ایران
نصیری، بنفشه (لیسانس تغذیه)	سازمان ملی استاندارد ایران - پژوهشکده غذایی
هدایتی، عباس (لیسانس مهندسی علوم و صنایع غذایی)	شرکت پارس مینو (سهامی عام)
یوسف زاده، هنگامه (لیسانس مهندسی علوم و صنایع غذایی)	سازمان ملی استاندارد ایران
یوسفی، مریم (لیسانس زیست شناسی، علوم جانوری)	کانون انجمن های صنفی صنایع غذایی ایران

فهرست مندرجات

صفحه	عنوان
ب	آشنایی با سازمان ملی استاندارد
د	کمیسیون فنی تدوین استاندارد
ر	پیش گفتار
۱	۱ هدف
۱	۲ دامنه کاربرد
۱	۳ مراجع الزامی
۲	۴ اصطلاحات و تعاریف
۲	۵ نمونه برداری
۲	۶ روش های آزمون
۳	۶-۱ آزمون های شناسایی
۳	۶-۱-۱ استویوسید و ربودیوسید
۳	۶-۱-۲ حلالیت
۴	۶-۱-۳ pH
۴	۶-۲ آزمون های خلوص
۴	۶-۲-۱ کاهش وزن در اثر خشک شدن
۵	۶-۲-۲ خاکستر
۵	۶-۲-۳ باقیمانده حلالهای آلی
۵	۶-۲-۴ خلوص
۷	۶-۲-۵ آرسنیک
۷	۶-۲-۶ سرب
۷	۷ گزارش آزمون
۹	۸ پیوست الف (الزامی) کروماتوگرام مخلوط محلول استاندارد استویول گلیکوزیدهای ۹ گانه

پیش گفتار

استاندارد " افزودنی های خوراکی مجاز - شیرین کننده های خوراکی - استویول گلیکوزیدها - روش های آزمون " که توسط کمیسیون های فنی کانون انجمن های صنفی صنایع غذایی ایران تهیه و تدوین شده و در یک هزار و دویست و پنجاه و دومین اجلاس کمیته ملی استاندارد خوراک و فرآورده های کشاورزی مورخ ۱۳۹۲/۴/۱۶ مورد تصویب قرار گرفته است، اینک به استناد بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات سازمان ملی استاندارد ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱، به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می شود. برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفتهای ملی و جهانی در زمینه صنایع، علوم و خدمات، استانداردهای ملی ایران در مواقع لزوم تجدید نظر خواهد شد و هر پیشنهادی که برای اصلاح و تکمیل این استانداردها ارائه شود، هنگام تجدید نظر در کمیسیون فنی مربوط مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین، باید همواره از آخرین تجدید نظر استانداردهای ملی استفاده کرد.

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

- 1- www.codexalimentarius.net – Codex Compendium 2013
- 2- www.JECFA.org - JECFA Evaluation

افزودنی های خوراکی مجاز- شیرین کننده های خوراکی - استویول گلیکوزیدها - روش های آزمون

۱ هدف

هدف از تدوین این استاندارد، تعیین نمونه برداری، روش های آزمون و گزارش آزمون استویول گلیکوزیدها می باشد.

۲ دامنه کاربرد

این استاندارد برای استویول گلیکوزیدها که به عنوان شیرین کننده در صنایع غذایی استفاده می شوند، کاربرد دارد.

یادآوری- ویژگی های استویول گلیکوزیدها باید مطابق استاندارد ملی شماره ۱۳۰۲، مواد افزودنی خوراکی- شیرین کننده های مجاز خوراکی- فهرست و ویژگی های عمومی باشد.

۳ 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 تجدید نظرهای بعدی آن مورد نظر این استاندارد ملی ایران نیست. در مورد مدارکی که بدون ذکر تاریخ انتشار به آن ها ارجاع داده شده است، همواره آخرین تجدید نظر و اصلاحیه های بعدی آن ها مورد نظر است.

استفاده از مراجع زیر برای این استاندارد الزامی است :

۱-۳ استاندارد ملی ایران شماره ۱۷۲۸، آب مورد مصرف در آزمایشگاه تجزیه- ویژگی ها و روش های آزمون.

۲-۳ استاندارد ملی ایران شماره ۱۵۴، روش اندازه گیری آب با روش کارل فیشر و دین استارک.

۳-۳ استاندارد ملی ایران شماره ۶۰۷۶، آرسنیک- جذب اتمی- روش های آزمون.

۴-۳ استاندارد ملی ایران شماره ۱۲۸۴۸، مواد افزودنی خوراکی- شیرین کننده های مجاز خوراکی- آسپارتام- ویژگی ها و روش های آزمون.

۵-۳ استاندارد ملی ایران شماره ۸۰۲۱، مواد افزودنی- پودر (گرد) فروکتوز خوراکی- ویژگی ها و روش های آزمون.

۶-۳ استاندارد ملی ایران شماره ۱۳۰۲، مواد افزودنی خوراکی- شیرین کننده های مجاز خوراکی - فهرست و ویژگی های عمومی.

۴ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد اصطلاحات و تعاریف زیر به کار می‌رود :

۱-۴

افزودنی خوراکی

افزودنی خوراکی ماده ای است که به عنوان غذا و به عنوان یکی از مواد اولیه غذایی مصرف نمی شود و ممکن است دارای ارزش غذایی و یا فاقد آن باشد. هدف از افزودن این ماده، کمک به تکنولوژی تولید غذا از قبیل فرآوری، آماده سازی، بسته بندی و حمل و نقل می باشد و در نهایت (به صورت مستقیم یا غیر مستقیم) تبدیل به بخشی از آن و یا مواد جانبی آن می شود که خصوصیات آن را تحت تاثیر قرار می دهد. این تعریف شامل موادی که برای حفظ و یا بهبود خصوصیات تغذیه ای غذا افزوده می شوند و یا آلاینده ها نمی گردد.

۲-۴

استویول گلیکوزیدها

این شیرین کننده ها، از برگ های گیاه *Stevia Rebaudiana* به دست می آیند. برگ ها با آب داغ مخلوط و عصاره گیری می شوند. مایع حاصل، از رزین عبور داده می شود. استویول گلیکوزیدها و برخی مواد جذب رزین می شوند. رزین با الکل شسته تا گلیکوزیدها آزاد شوند. به کمک رزین تعویض یونی، گلیکوزیدها از متانل و یا اتانل جدا و کریستالیزه می شوند. محصول نهایی با اسپری حرارتی خشک می شود. استویوسید^۱ و ربودیوسید^۲ از بین سایر گلیکوزیدها به دلیل خاصیت شیرین کنندگی شان بیشتر مورد توجه هستند. گلیکوزیدها شامل ربودیوسیدهای A، B، C، D، F، دالکوسید^۳، ربوسوسید^۴ و استویول بیوسید^۵ که عموماً در محصول نهایی وجود دارند، می باشند.

۵ نمونه برداری

نمونه بردای از فراورده، باید مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۸۰۲۱، مواد افزودنی- پودر (گرد) فروکتوز خوراکی- ویژگی ها و روش های آزمون، انجام شود.

۶ روش های آزمون

روش های آزمون باید مطابق با بندهای زیر باشد و تمام مراحل آزمون باید زیر هود با استفاده از دستکش و ماسک انجام گیرد.

1-Stevioside
2-Rebaudioside A
3-Dulcoside A
4-Rubusoside
5-Steviolbioside

یادآوری ۱- آب مورد استفاده باید دارای خلوص لازم بوده و ویژگی های آن مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۱۷۲۸، آب مورد مصرف در آزمایشگاه تجزیه- ویژگی ها و روش های آزمون، باشد.

یادآوری ۲- فقط از واکنشگرهای با خلوص آزمایشگاهی استفاده نمایید مگر این که به طور اختصاصی قید شده باشد.

۱-۶ آزمون های شناسایی

۱-۱-۶ استویوسید و ربودیوسید A^۱

پیک های اصلی به دست آمده از کروماتوگرام در آزمون خلوص (مطابق با بند ۶-۲-۴)، باید طبق استانداردهای این دو ماده باشند.

۲-۱-۶ حلالیت

۱-۲-۱-۶ اصول آزمون

میزان حلالیت، باید مطابق جدول (۱) باشد :

جدول ۱- میزان حلالیت تقریبی

ردیف	اصطلاح توصیف شده	قسمت حلال مورد نیاز برای یک قسمت از ماده حل شونده
۱	کاملاً محلول ^a	کمتر از ۱
۲	به راحتی محلول ^b	۱ - ۱۰
۳	محلول ^c	۱۰ - ۳۰
۴	قسمتی محلول ^d	۳۰ - ۱۰۰
۵	کمی محلول ^e	۱۰۰ - ۱۰۰۰
۶	بسیار کم محلول ^f	۱۰۰۰ - ۱۰۰۰۰
۷	نامحلول ^g	بیشتر از ۱۰۰۰۰
^a Very Soluble ^d Sparingly Soluble ^g Practically Insoluble or Insoluble ^b Freely Soluble ^e Slightly Soluble ^c Soluble ^f Very Slightly Soluble		

۲-۲-۱-۶ وسایل

۱-۲-۲-۱-۶ بالن شیشه ای

۲-۲-۲-۱-۶ ترازوی آزمایشگاهی با دقت یک میلی گرم

۳-۲-۱-۶ مواد و واکنشگرها (شناساگرها)

۱-۳-۲-۱-۶ آب

۴-۲-۱-۶ روش انجام آزمون

1-Stevioside and Rebaudioside A

مقداری از نمونه را به یک بالن حاوی مقداری آب منتقل کنید و در دمای انحلال (۲۰ درجه سلسیوس) به مدت کمینه ۳۰ ثانیه تا بیشینه ۵ دقیقه، آن را تکان دهید. استویول گلیکوزیدها به راحتی محلول در آب می باشند.

۳-۱-۶ pH

۱-۳-۱-۶ وسایل

۱-۱-۳-۱-۶ دستگاه pH متر مناسب

۲-۱-۳-۱-۶ ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰/۱ میلی گرم

۲-۳-۱-۶ روش انجام آزمون

یک گرم از نمونه را وزن کرده و در ۱۰۰ گرم آب گرم جوشیده و سرد شده حل کنید (محلول یک درصد وزنی/ وزنی). سپس با استفاده از دستگاه pH متر مناسب، pH آن را اندازه بگیرید.

۲-۶ آزمون های خلوص

۱-۲-۶ کاهش وزن در اثر خشک کردن

۱-۱-۲-۶ وسایل

۱-۱-۱-۲-۶ وسایل شیشه ای آزمایشگاهی

۲-۱-۱-۲-۶ دسیکاتور

۳-۱-۱-۲-۶ ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰/۱ میلی گرم

۴-۱-۱-۲-۶ شیشه توزین درب دار کم عمق

۵-۱-۱-۲-۶ گرمخانه

۶-۱-۱-۲-۶ هاون چینی

۲-۱-۲-۶ روش انجام آزمون

اگر اندازه بلورهای نمونه بزرگ باشد، پیش از انجام آزمون آن را در هاون چینی به طور کامل خرد کنید تا اندازه هر ذره حدود یک تا ۲ میلی متر شود. سعی کنید عمل خرد کردن به سرعت انجام شود که از افزایش و کاهش رطوبت آن جلوگیری به عمل آید. شیشه توزین و در آن را به مدت ۳۰ دقیقه در درجه حرارت ۱۰۵ درجه سلسیوس در گرمخانه قرار دهید تا به وزن ثابت برسند. سپس شیشه توزین را به همراه در آن در دسیکاتور قرار دهید تا خنک شود. سپس آن را وزن کنید. یک گرم از نمونه یکنواخت شده را توزین نموده (m)، در آن ریخته، درپوش را روی آن بگذارید و وزن کنید (m₁). سپس به آرامی با تکان دادن، نمونه را به طور یکنواخت در کف شیشه پخش کنید، به نحوی که ضخامت آن در کف شیشه توزین بین ۵ تا ۱۰ میلی متر گردد. سپس آن را در گرمخانه قرار دهید. در شیشه توزین را بردارید و شیشه توزین و در آن را به مدت ۲ ساعت در گرمخانه و در دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس قرار دهید. سپس در را روی شیشه توزین بگذارید و از گرمخانه خارج کنید و در دسیکاتور خنک و توزین نمایید.

درصد کاهش وزن (رطوبت و مواد فرار) از رابطه (۱) به دست می آید :

$$\text{درصد کاهش وزن} = [(m_1 - m_2) / m] \times 100$$

رابطه (۱)

که در آن :

m_1 وزن شیشه توزین و نمونه قبل از خشک شدن به گرم؛

m_2 وزن شیشه توزین و نمونه بعد از خشک شدن به گرم؛

m وزن نمونه به گرم.

۲-۲-۶ خاکستر

۱-۲-۲-۶ وسایل

۱-۱-۲-۲-۶ کوره الکتریکی

۲-۱-۲-۲-۶ ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰/۱ میلی گرم

۳-۱-۲-۲-۶ دسیکاتور

۴-۱-۲-۲-۶ گوجه چینی

۵-۱-۲-۲-۶ گرم کن برقی

۶-۱-۲-۲-۶ گرمخانه

۲-۲-۲-۶ روش انجام آزمون

گوجه چینی را با آب و سپس با اتر شسته و در گرمخانه با حرارت ۱۳۵ درجه سلسیوس به مدت یک ساعت خشک نموده و در دسیکاتور سرد و سپس آن را توزین نمایید (w_1). یک گرم نمونه (w) را به دقت در گوجه توزین نموده و در کوره الکتریکی و در دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۳ ساعت بسوزانید. سپس آن را در دسیکاتور خنک کنید. اگر رنگ خاکستر، سیاه یا تیره بود با چند قطره آب آن را مرطوب نموده و بر روی اجاق برقی با حرارت ملایم حرارت دهید تا خشک شود و مجدداً آن را به مدت یک ساعت در کوره با همان شرایط حرارت دهید. سپس آن را در دسیکاتور خنک کرده و توزین نمایید (w_2). میزان درصد خاکستر را از رابطه (۲) محاسبه کنید.

$$\text{درصد خاکستر} = [(w_2 - w_1) / w] \times 100$$

رابطه (۲)

۳-۲-۶ باقیمانده حلال های آلی

اندازه گیری باقیمانده حلال های آلی باید مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۱۴۶۶۲، باقیمانده حلال های آلی باشد.

۴-۲-۶ خلوص

۱-۴-۲-۶ اصول آزمون

اندازه گیری خلوص استوئیل گلیکوزیدها به وسیله دستگاه کروماتوگرافی مایع (HPLC)^۱ انجام می گیرد.

۲-۴-۲-۶ وسایل

۱-۲-۴-۲-۶ وسایل شیشه ای آزمایشگاهی

۲-۲-۴-۲-۶ ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰/۱ میلی گرم

۳-۲-۴-۲-۶ دستگاه کروماتوگرافی مایع با شرایط :

۱-۳-۲-۴-۲-۶ شناساگر

شناساگر ماوراء بنفش که میزان جذب در طول موج ۲۱۰ نانومتر را نشان دهد.

۲-۳-۲-۴-۲-۶ ستون

ستون Capcell pak C₁₈ MG II Luna ۵ میکرومتر، C₁₈(2) 100 A به طول ۲۵۰ میلی متر و قطر داخلی ۴/۶ میلی متر با اندازه ذرات ۵ میکرومتر

۳-۳-۲-۴-۲-۶ دمای ستون

۴۰ درجه سلسیوس

۴-۳-۲-۴-۲-۶ سرعت جریان

۱۰ میلی لیتر در دقیقه

۵-۳-۲-۴-۲-۶ زمان ثبت دستگاه

حدود ۳۰ دقیقه

۳-۴-۲-۶ مواد و یا / واکنشگرها (شناساگرها)

۱-۳-۴-۲-۶ استونیتریل با عبور نور^۱ ۹۵ درصد در ۲۱۰ نانومتر

۲-۳-۴-۲-۶ فاز متحرک

۳۲ حجم استونیتریل (مطابق با بند ۱-۳-۴-۲-۶) و ۶۸ حجم محلول ۱۰ میلی مول در لیتر بافر سدیم فسفات با pH = ۲/۶

۳-۳-۴-۲-۶ استاندارد استیوسید با خلوص بیش از ۹۹ درصد

۴-۳-۴-۲-۶ استاندارد ربودیوسید A با خلوص بیش از ۹۹ درصد

۵-۳-۴-۲-۶ محلول مخلوط استانداردها شامل ۹ استاندارد استیوسید، ربودیوسید A، B، C، D، F، و دالکوسید A و ربوسوسید و استیویل بیوسید، هریک با خلوص بیش از ۹۹ درصد

۱۰ میلی گرم ربودیوسید F و ۵۰ میلی گرم از هریک از ۸ استیویل گلیکوزیدها را در یک بالن حجمی ۱۰۰ میلی لیتری با مخلوط ۷ حجم آب و ۳ حجم استونیتریل به حجم برسانید.

۶-۳-۴-۲-۶ محلول استانداردهای استیوسید و ربودیوسید A

۵۰ میلی گرم از هریک از ۲ استاندارد (مطابق با بند ۴-۲-۴-۲-۶ و ۵-۲-۴-۲-۶) را در ۲ بالن حجمی ۱۰۰ میلی لیتری توزین و با مخلوط ۷ حجم آب و ۳ حجم استونیتریل به حجم برسانید.

۷-۳-۴-۲-۶ محلول نمونه

۵۰ تا ۱۰۰ میلی گرم نمونه را توزین و در بالن حجمی ۵۰ میلی لیتری با مخلوط ۷ حجم آب و ۳ حجم استونیتریل به حجم برسانید.

۴-۴-۲-۶ روش انجام آزمون

۵ میکرولیتر از محلول نمونه (مطابق با بند ۶-۲-۴-۳-۴) و همچنین ۵ میکرولیتر از محلول مخلوط استاندارد (مطابق بند ۶-۲-۴-۲-۶) را به دستگاه کروماتوگرافی مایع با شرایط ذکر شده تزریق نمایید. پیک های حاصل از تزریق نمونه را در مقایسه با زمان بازداری ۹ استاندارد استیوئول گلیکوزیدها، شناسایی نمایید (به پیوست الف مراجعه کنید).

مساحت ۹ پیک حاصل از تزریق نمونه را اندازه گیری کنید.

مساحت پیک های استیوئوسید و ربودیوسید A را از محلول استاندارد محاسبه کنید.

درصد میزان ۸ استیوئول گلیکوزیدها (به جز ربودیوسید A) را در نمونه از رابطه (۳) محاسبه نمایید :

$$X = (W_S / W) \times (f_x \times A_x / A_S) \times 100 \quad \text{رابطه (۳)}$$

درصد میزان ربودیوسید A را در نمونه از رابطه (۴) محاسبه نمایید :

$$\text{درصد ربودیوسید} = (W_R / W) \times (A_x / A_R) \times 100 \quad \text{رابطه (۴)}$$

که در آن :

X هر یک از استیوئول گلیکوزیدها؛

W_S میزان استیوئوسید در محلول استاندارد به میلی گرم بر حسب ماده خشک؛

W_R میزان ربودیوسید A در محلول استاندارد به میلی گرم بر حسب ماده خشک؛

W میزان نمونه در محلول نمونه به میلی گرم بر حسب ماده خشک؛

A_S مساحت پیک استیوئوسید از محلول استاندارد؛

A_R مساحت پیک ربودیوسید از محلول استاندارد؛

A_x مساحت پیک های استیوئوسیدها در محلول نمونه؛

f_x نسبت وزن فرمولی هریک از استیوئوسیدها به وزن فرمولی استیوئوسید که برای استیوئوسید : ۱/۰۰،

ربودیوسید A : ۱/۲۰، ربودیوسید B : ۱/۰۰، ربودیوسید C : ۱/۱۸، ربودیوسید D : ۱/۴۰، ربودیوسید F :

۱/۱۶، دالکوزید A : ۰/۹۸، ربوسوسید : ۰/۸۰ و استیوئول بیوسید : ۰/۸۰ می باشد.

میزان درصد کل استیوئول گلیکوزیدها، از جمع درصدهای ۹ استیوئول گلیکوزیدها به دست می آید.

۵-۲-۶ آرسنیک

اندازه گیری میزان آرسنیک فراورده، باید مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۶۰۷۶، آرسنیک- جذب اتمی- روش های آزمون، باشد.

۶-۲-۶ سرب

اندازه گیری میزان سرب فراورده، باید مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۸۰۲۱، مواد افزودنی- پودر (گرد) فروکتوز خوراکی- ویژگی ها و روش های آزمون، انجام شود.

۷ گزارش آزمون

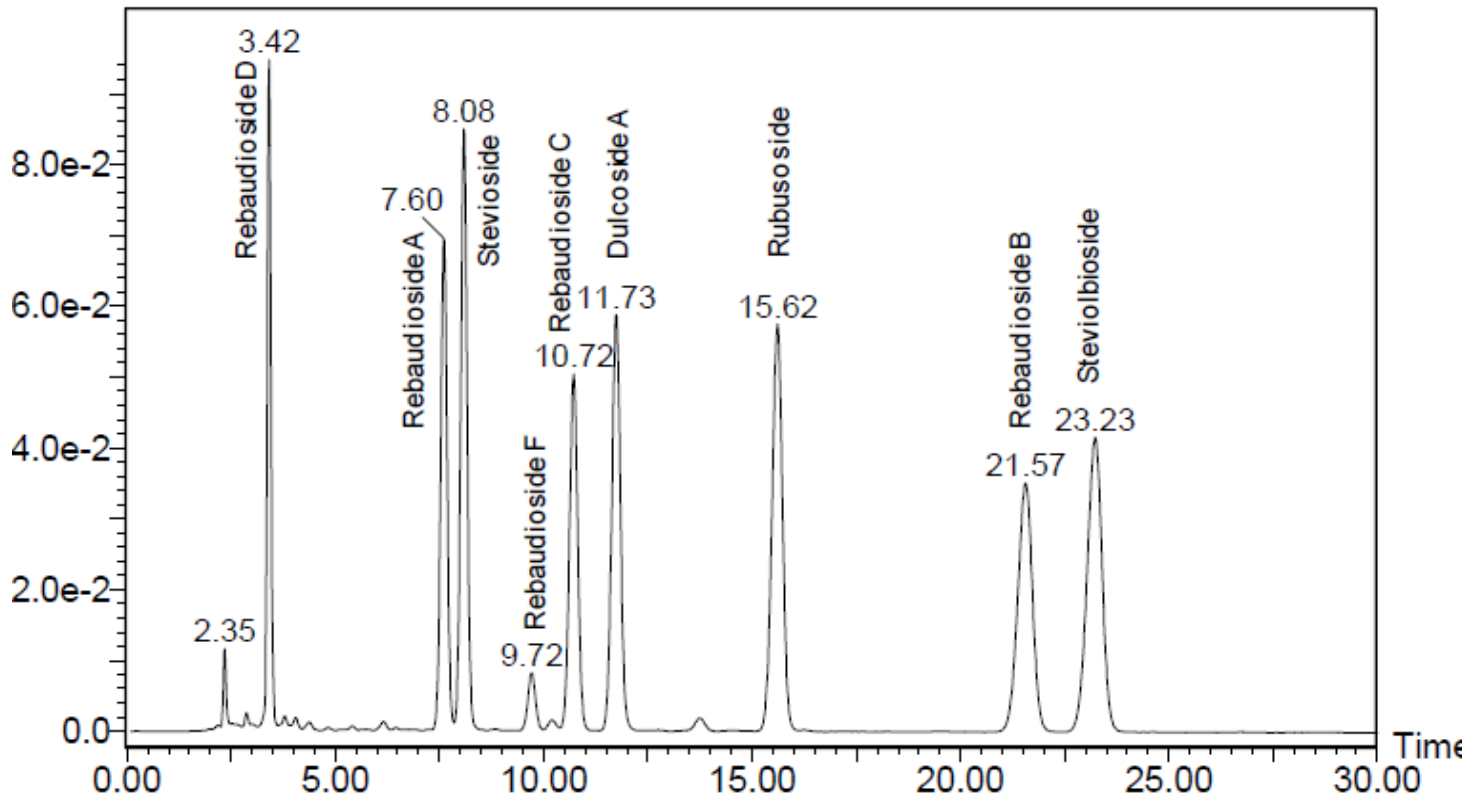
گزارش آزمون باید دارای آگاهی های زیر باشد :

- ۱-۷ تمام اطلاعات لازم برای شناسایی نمونه
- ۲-۷ تاریخ دریافت نمونه
- ۳-۷ تاریخ انجام آزمون
- ۴-۷ روش نمونه برداری به کار رفته
- ۵-۷ روش آزمون طبق این استاندارد ملی ایران
- ۶-۷ همه جزئیاتی که در این استاندارد مشخص نشده و از سوی آزمایشگاه به کار گرفته شده است و هر آن چه ممکن است روی نتایج آزمون تاثیر داشته باشد.
- ۷-۷ اگر قابلیت تکرار امتحان شده است، نتایج به دست آمده ذکر شود.
- ۸-۷ نتیجه آزمون
- ۹-۷ نام، نام خانوادگی و امضاء آزمایش کننده

پیوست الف

(الزامی)

کروماتوگرام مخلوط محلول استاندارد استویبول گلیکوزیدهای ۹ گانه^۱



۱- ستون: پک کپسل C₁₈MGII, غلظت: ۰/۵ میلی گرم در هر میلی لیتر برای هر کدام به جز ربودیوسید F (حدود ۰/۱ میلی گرم در هر میلی لیتر)