

INSO
14667
1st. Edition



جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran
سازمان ملی استاندارد ایران
Iranian National Standardization Organization



استاندارد ملی ایران
۱۴۶۶۷
چاپ اول

افزودنی های خوراکی - شیرین کننده های
خوراکی مجاز - سوکralوز - روش های آزمون

Food Additives - Permitted Food Sweeteners
- Sucralose - 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 عیار 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 - شیرین کننده های خوراکی مجاز - سوکرالوز - روش های آزمون"

رئیس

یوسفی، مریم
(لیسانس زیست شناسی، علوم جانوری)

سمت و/یا نمایندگی

کانون انجمن های صنفی صنایع غذایی ایران

دبیر

جهانپان، لیدا
(فوق لیسانس علوم و صنایع غذایی)

کانون انجمن های صنفی صنایع غذایی ایران

اعضا: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)

خلجی، آزاده
(لیسانس علوم و صنایع غذایی)

کانون انجمن های صنفی صنایع غذایی ایران

رحمن زاده، سعید
(لیسانس علوم و صنایع غذایی)

اداره نظارت بر مواد غذایی، آشامیدنی، آرایشی و بهداشتی خراسان
رضوی - آزمایشگاه کنترل مواد غذایی

رئیس زاده، سمانه
(لیسانس علوم و صنایع غذایی)

شرکت صلواتی نیک (سهامی خاص)

سالاری، رزیتا
(دکترای علوم و صنایع غذایی)

معاونت غذا و دارو - اداره نظارت بر مواد غذایی، آشامیدنی، آرایشی و
بهداشتی خراسان رضوی

صحنی، مهسا
(لیسانس علوم و صنایع غذایی)

آزمایشگاه سورن تک توس

طوسی مقدم، مژگان
(فوق لیسانس علوم و صنایع غذایی)

شرکت قندهای رژیمی پراپارس (ماردین) (سهامی خاص)

فکور جنتی، سمیه سادات
(فوق لیسانس شیمی صنایع غذایی)

آزمایشگاه تستا

فیضی، جواد
(فوق لیسانس شیمی تجزیه)

آزمایشگاه تستا

کمیسیون فنی تدوین استاندارد

" افزودنی های مجاز خوراکی - شیرین کننده های مجاز خوراکی - سوکرالوز - روش های آزمون "

سمت و/ یا نمایندگی

سازمان ملی استاندارد ایران

سازمان ملی استاندارد ایران

شرکت پارس مینو (سهامی خاص)

شرکت زرین تابا (سهامی خاص)

شرکت صنایع غذایی دینا توس (سهامی خاص)

پژوهشکده سازمان ملی استاندارد ایران

اعضا: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)

قاسم پور، غلامرضا
(فوق لیسانس مدیریت)

کامران، سمیه
(لیسانس تغذیه)

متقیان، پرنیان
(لیسانس علوم و صنایع غذایی)

محتشمی، مریم
(لیسانس علوم و صنایع غذایی)

موسمی، محمد
(لیسانس علوم و صنایع غذایی)

نصیری، بنفشه
(لیسانس تغذیه)

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
۳	۵ نمونه برداری
۳	۶ روش های آزمون
۳	۶-۱ آزمون های شناسایی
۴	۶-۲ جذب مادون قرمز
۵	۶-۳ حلالیت
۶	۶-۴ سایر دی ساکاریدهای کلرینه شده
۷	۶-۵ آب
۷	۶-۶ چرخش ویژه
۸	۶-۷ مونوساکاریدهای کلرینه شده
۹	۶-۸ تری فنیل فسفین اکسید
۱۰	۶-۹ سرب
۱۰	۶-۱۰ خاکستر سولفات
۱۰	۶-۱۱ متانول
۱۲	۶-۱۲ خلوص
۱۳	۷ گزارش آزمون
۱۴	۸ پیوست (الزامی) طیف جذب مادون قرمز سوکراالوز

پیش گفتار

استاندارد "افزودنی های خوراکی- شیرین کننده های خوراکی مجاز - سوکرالوز - روش های آزمون " که توسط کمیسیون های فنی مربوط تهیه و تدوین شده و در هزار و صد و شصت و پنجمین جلسه کمیته ملی استاندارد خوراک و فرآورده های کشاورزی مورخ ۱۳۹۱/۵/۱۷ 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 تجدیدنظر خواهد شد و هر پیشنهادی که برای اصلاح و تکمیل این استانداردها ارائه شود، هنگام تجدیدنظر در کمیسیون فنی مربوط مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین، باید همواره از آخرین تجدیدنظر 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 2008
- 2- www.JECFA.org - JECFA Evaluation

افزودنی های خوراکی- شیرین کننده های خوراکی مجاز - سوکرالوز - روش های آزمون

۱ هدف

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

۲ دامنه کاربرد

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

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 تجدیدنظرهای 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 شماره ۱۳۰۲، مواد افزودنی خوراکی- شیرین کننده های مجاز خوراکی - فهرست و ویژگی های عمومی

۲-۳ استاندارد ملی ایران شماره ۳۹۱۱، افزودنی های خوراکی- شیرین کننده های خوراکی مجاز- سوربیتول- ویژگی ها و روش های آزمون

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

۴-۳ استاندارد ملی ایران شماره ۱۵۴، روش اندازه گیری آب با روش کارل فیشر و دین استارک

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 ۱۲۸۴۸، مواد افزودنی خوراکی- شیرین کننده های مجاز خوراکی- آسپارتام- ویژگی ها و روش های آزمون

۴ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد اصطلاحات و تعاریف زیر به کار می رود :

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.

سوکرالوز

سوکرالوز تنها شیرین کننده غیر مغذی است که از شکر طی یک فرآیند چند مرحله ای ساخته می شود، بدین ترتیب که سه گروه هیدروکسیل در مولکول شکر با سه اتم کلر جایگزین می شود. این ماده دارای طعمی مانند شکر بوده ولی مانند آن در بدن متابولیزه نشده و بدون تغییر از بدن دفع می شود. در محصولات خشک، محصولات آبی و اسیدی بسیار پایدار می باشد. این ماده، علاوه بر شیرین کنندگی، به عنوان تشدید کننده طعم^۱ نیز در فرآورده های خوراکی کاربرد دارد.

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

R_f

علامت اختصاری R_f عبارت است از نسبت فاصله ای که نمونه مورد نظر روی صفحه کروماتوگرافی طی کرده، نسبت به فاصله طی شده توسط حلال

$$R_f = X / S$$

که در آن :

X فاصله حرکت نمونه از مبدا؛

S فاصله حرکت حلال از مبدا.

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.

1-Flavor Enhancer
2-Retention Factor

۶ روش های آزمون

- 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 اینکه به طور اختصاصی قید شده باشد.
- یادآوری ۳- تمام مراحل آزمایش باید در زیر هود آزمایشگاهی و با ماسک و دستکش انجام شود

۱-۶ آزمون های شناسایی

۱-۱-۶ کروماتوگرافی لایه نازک^۱

۱-۱-۱-۶ وسایل

۱-۱-۱-۱-۶ وسایل شیشه ای آزمایشگاهی

۱-۱-۱-۲-۶ ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰٫۰۱ میلی گرم

۱-۱-۱-۳-۶ تانک کروماتوگرافی به ابعاد $25 \times 25 \times 7$ سانتی متر

۱-۱-۱-۴-۶ صفحه سیلیکاژل به ابعاد 20×20 سانتی متر

۱-۱-۱-۵-۶ لوله موئینه

۱-۱-۱-۶-۶ دستگاه افشانه

۱-۱-۱-۷-۶ سشوار دستی

۱-۱-۱-۸-۶ آون

۱-۱-۲-۶ مواد و / یا واکنشگرها (شناساگرها)

۱-۲-۱-۱-۶ محلول استاندارد

۵۰ میلی گرم سوکralوز خالص آزمایشگاهی را در ۲۰ میلی لیتر آب حل کنید.

۱-۲-۲-۱-۶ محلول آزمون

۵۰ میلی گرم نمونه را در ۲۰ میلی لیتر آب حل کنید.

۱-۲-۳-۱-۶ واکنشگر ۴- آمینو بنزوئیک اسید

یک گرم ۴- آمینو بنزوئیک اسید را در مخلوط حلال شامل ۱۸ میلی لیتر استیک اسید، ۲۰ میلی لیتر آب و یک میلی لیتر فسفریک اسید حل نمایید. این محلول را بلافاصله قبل از مصرف تهیه کنید.

۱-۲-۴-۱-۶ واکنشگر سدیم پریدات

شامل ۰٫۲ درصد (وزنی/حجمی) سدیم پریدات در آب می باشد.

۱-۲-۵-۱-۶ حلال تانک کروماتوگرافی (فاز متحرک)

۷ حجم پروپانول، ۲ حجم اتیل استات و یک حجم آب

۱-۲-۶-۱-۶ استن

۱-۱-۳-۶ روش انجام آزمون

یک ساعت قبل از انجام آزمون، ابتدا حدود ۱۰۰ میلی لیتر حلال تهیه شده (طبق بند ۱-۲-۱-۱-۶) را درون تانک کروماتوگرافی بریزید، درب آن را ببندید و بگذارید تا به حالت اشباع برسد. ۲ سانتی متر از انتهای

صفحه سیلیکاژل با مداد، خط افقی بکشید و به فواصل ۲ سانتی متری بر روی آن، نقاطی را با مداد مشخص کنید. سپس با استفاده از میکرو پی پت ۲ میکرو لیتر از هر کدام از محلول های استاندارد و آزمون را بر روی نقاط مشخص شده بر روی صفحه تزریق و به وسیله سشوار آن ها را خشک کنید. پس از آن، صفحه را از سمت لکه ها درون تانک بگذارید و درب آن را ببندید تا حلال حدود ۱۵ سانتی متر به طرف بالا پیشرفت کند. صفحه را از تانک خارج کنید و در زیر هود بگذارید تا خشک شود. سپس آن را با ۲ حجم واکنشگر ۴-آمینو بنزوئیک اسید (طبق بند ۶-۱-۱-۲-۳) و ۳ حجم استن با افشانه اسپری کنید. صفحه را به مدت ۱۵ دقیقه در آن با حرارت ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار دهید. سپس آن را خارج کنید و مجدداً با واکنشگر سدیم پریدات بند ۶-۱-۱-۲-۴، آن را اسپری کنید. دوباره به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار دهید. لکه اصلی ظاهر شده از نمونه باید از نظر اندازه حرکت (R_f) و رنگ، مشابه لکه اصلی ظاهر شده از استاندارد باشد.

۶-۲ جذب مادون قرمز^۱

۶-۲-۱ اصول آزمون

اصول آزمون بر اساس مقایسه طیف مادون قرمز نمونه مورد آزمون با نمونه استاندارد مرجع می باشد.

۶-۲-۲ وسایل

۶-۲-۲-۱ دستگاه طیف سنج مادون قرمز و لوازم جانبی

۶-۲-۲-۲ وسایل شیشه ای آزمایشگاهی

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

۶-۲-۲-۴ دسیکاتور

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

۶-۲-۳-۱ استاندارد مرجع سوکرالوز^۲

۶-۲-۳-۲ کلروفرم

۶-۲-۳-۳ پتاسیم برماید

۶-۲-۴ تهیه و آماده سازی نمونه ها

حدود ۵ تا ۱۵ میلی گرم سوکرالوز کاملاً پودر و نرم شده را با حدود ۴۰۰ میلی گرم پودر پتاسیم برماید خالص و خشک به روش فیزیکی مخلوط کنید و سپس این مخلوط را به صورت پودر نرم و یکنواخت در آورید و با فشار زیاد توسط دستگاه پرس تحت فشار بصورت یک قرص نازک و شفاف در آورید. از استاندارد مرجع سوکرالوز نیز به همین مقدار و روش، قرص تهیه کنید.

یادآوری- انتخاب پتاسیم برماید به این دلیل است که این ماده در دامنه عدد موج های 650 cm^{-1} تا 4000 cm^{-1} هیچ قله ای (پیکی) در نمودار ایجاد نمی کند و این امکان را می دهد که از نمونه طیف کاملی به دست آورید. لذا برای طیف سنجی ترکیبات آلی بسیار مناسب می باشد.

۶-۲-۵ روش انجام آزمون

1-Infrared Absorption

۲- سوکرالوز از نوع خالص آزمایشگاهی است که در ظرف کاملاً بسته و غیر قابل نفوذ به رطوبت و به دور از نور خورشید نگهداری شود.

دستگاه را طبق دستورالعمل سازنده، آماده کنید. طیف جذب پتاسیم بروماید موجود در نمونه باید دارای ویژگی های مشابه با طیف جذب استاندارد مرجع باشد. از طیف استاندارد (پیوست الف) نیز می توانید استفاده کنید.

۳-۶-۳-۶ حلالیت

۱-۳-۶-۳-۶ اصول آزمون

میزان حلالیت، مطابق با جدول (۱) تعریف می گردد :

جدول شماره 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	نا محلول ^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		

۲-۳-۶-۳-۶ وسایل

۱-۲-۳-۶-۳-۶ بالن شیشه ای

۲-۲-۳-۶-۳-۶ ترازوی آزمایشگاهی با دقت یک میلی گرم

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

۱-۳-۳-۶-۳-۶ آب

۲-۳-۳-۶-۳-۶ اتانول

۳-۳-۳-۶-۳-۶ متانول

۴-۳-۳-۶-۳-۶ اتیل استات

۴-۳-۶-۳-۶ روش انجام آزمون

مقداری از نمونه را به چند بالن حاوی مقداری از حلال های مورد نظر (طبق بند ۱-۳-۳-۶-۳-۶ تا ۴-۳-۳-۶-۳-۶) منتقل کنید و در دمای انحلال (۲۰ درجه سلسیوس) به مدت کمینه ۳۰ ثانیه تا بیشینه ۵ دقیقه، آن ها را تکان دهید. سوکralوز به راحتی محلول در آب، متانول، اتانول و کمی محلول در اتیل استات می باشد.

۴-۶ سایر دی ساکاریدهای کلرینه شده

۱-۴-۶ اصول آزمون

اصول آزمون بر اساس کروماتوگرافی لایه نازک^۱ می باشد.

۲-۴-۶ وسایل

۱-۲-۴-۶ وسایل شیشه ای آزمایشگاهی

۲-۲-۴-۶ ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰/۰۱ میلی گرم

۳-۲-۴-۶ تانک کروماتوگرافی لایه نازک

۴-۲-۴-۶ صفحات کروماتوگرافی لایه نازک فاز معکوس که با لایه ای از ماده جاذب سیلیکاژل به ضخامت ۰/۲۰ میلی متر پوشانده شده باشند.

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

۱-۳-۴-۶ استاندارد مرجع سوکرالوز

۲-۳-۴-۶ سولفوریک اسید

۳-۳-۴-۶ متانول

۴-۳-۴-۶ سدیم کلراید

۵-۳-۴-۶ استونیتریل

۶-۳-۴-۶ واکنشگر پاششی^۲

محلول ۱۵ درصد حجمی / حجمی سولفوریک اسید غلیظ در متانول

۷-۳-۴-۶ محلول های استاندارد

۱-۷-۳-۴-۶ محلول A

یک گرم استاندارد مرجع سوکرالوز را در ۱۰ میلی لیتر اتانول حل کنید.

۲-۷-۳-۴-۶ محلول B

۰/۵ میلی لیتر از محلول A را با متانول رقیق کنید و به حجم ۱۰۰ میلی لیتر برسانید.

۸-۳-۴-۶ محلول آزمون

یک گرم نمونه را در ۱۰ میلی لیتر اتانول حل کنید.

۹-۳-۴-۶ فاز متحرک

۷ حجم محلول ۵ درصد وزنی / حجمی سدیم کلرید در آب و ۳ حجم استونیتریل

بادآوری- این محلول را باید درست قبل از انجام کروماتوگرافی و تازه تهیه کنید.

۴-۴-۶ روش انجام آزمون

بر روی صفحه سیلیکاژل به فاصله ۲ سانتی متر از لبه خط افقی با مداد بکشید و به فواصل ۲ سانتی متر بر روی آن نقاطی را با مداد مشخص کنید. از هرکدام از محلول های A، B و آزمون، ۵ میکرولیتر بردارید و برروی نقاط مشخص شده تزریق کنید. بگذارید لکه ها خشک شوند. سپس صفحه را درون تانک کروماتوگرافی حاوی فاز متحرک (طبق بند ۹-۳-۴-۶) قرار دهید و درب آن را بگذارید و اجازه دهید حلال

1-Thin-layer Chromatography

2-Spray Reagent

تا ارتفاع ۱۵ سانتی متری بالا رود. صفحه را از تانک خارج کنید و اجازه دهید تا زیر هود خشک شود. سپس به آن واکنشگر پاششی (طبق بند ۶-۴-۳-۶) بپاشید. اکنون صفحه را در آون ۱۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه حرارت دهید. لکه اصلی تشکیل شده از تزریق نمونه باید دارای R_f مشابه لکه اصلی تشکیل شده از تزریق محلول A باشد و همچنین هیچ لکه ای از محلول نمونه نباید پر رنگ تر از محلول B باشد.

۵-۶ آب

اندازه گیری میزان آب فراورده، باید مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۱۵۴، روش اندازه گیری آب با روش کارل فیشر و دین استارک، انجام شود.

۶-۶ چرخش ویژه

۱-۶-۶ وسایل

۱-۱-۶-۶ دستگاه پلاریمتر

۲-۱-۶-۶ وسایل شیشه ای آزمایشگاهی

۳-۱-۶-۶ ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰٫۱ میلی گرم

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

۱-۲-۶-۶ محلول نمونه

محلولی از نمونه در آب تهیه نمایید که حاوی ۰٫۱ میلی گرم نمونه در هر میلی لیتر باشد.

۳-۶-۶ روش انجام آزمون

از آب مقطر به عنوان شاهد استفاده کنید و ۵ بار چرخش نوری محلول نمونه و شاهد را در حرارت ۲۰ درجه سلسیوس اندازه گیری کنید. از میزان اندازه شاهد و نمونه میانگین بگیرید. اگر اندازه دوبار شاهد یکسان باشد، میانگین شاهد را از میزان میانگین نمونه تفریق کنید. اگر برخلاف آن، میزان اندازه دوبار شاهد یکسان نبود، میزان میانگین شاهد را به میانگین نمونه اضافه نمایید تا عدد صحیح چرخش نوری ($[\alpha]_D^{20}$) معادل $+۸۴$ تا $+۸۷/۵$ به دست آید.

میزان چرخش نوری را مطابق فرمول (۱) بدست آورید :

$$[\alpha]_D^{20} = (100a / lc) = (100a / lpd) \quad (1)$$

که در آن :

20 درجه حرارت آزمون ($^{\circ}C$)؛

α درجه چرخش؛

l اندازه طولی شیشه پلاریمتر به دسی متر؛

d وزن مخصوص محلول در حرارت آزمون (۲۰ درجه سلسیوس)؛

p غلظت محلول نمونه به گرم در ۱۰۰ گرم حلال؛

c غلظت محلول نمونه بر حسب گرم در ۱۰۰ میلی لیتر حلال .

یادآوری-۱- غلظت های **p** و **c** باید برحسب ماده خشک محاسبه گردند.

یادآوری ۲- پس از آماده سازی محلول، در فاصله زمانی کمتر از ۳۰ دقیقه اندازه گیری را انجام دهید.

۷-۶ مونوساکاریدهای کلرینه شده

۱-۷-۶ اصول آزمون

اصول آزمون بر اساس کروماتوگرافی لایه نازک می باشد.

۲-۷-۶ وسایل

۱-۲-۷-۶ وسایل شیشه ای آزمایشگاهی

۲-۲-۷-۶ ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰/۱ میلی گرم

۳-۲-۷-۶ تانک کروماتوگرافی لایه نازک

۴-۲-۷-۶ صفحات کروماتوگرافی لایه نازک فاز معکوس که با لایه ای از ماده جاذب سیلیکاژل ۶۰ به ضخامت ۰/۲۵ میلی متر پوشانده شده باشند.

۳-۷-۶ مواد و / یا واکنشگرها (شناساگرها)

۱-۳-۷-۶ پاتالیک اسید^۱

۲-۳-۷-۶ p-آنیزیدین^۲

۳-۳-۷-۶ متانول

۴-۳-۷-۶ مانیتول

۵-۳-۷-۶ فروکتوز

۶-۳-۷-۶ واکنشگر پاششی

۱/۲۳ گرم p-آنیزیدین و ۱/۶۶ گرم پاتالیک اسید را در ۱۰۰ میلی لیتر متانول حل کنید. جهت جلوگیری از بی رنگ شدن واکنشگر، پس از آماده سازی، آن را در یخچال و در جای تاریک نگه دارید. در صورت بیرنگ شدن محلول آنرا دور بریزید.

هشدار- "p-آنیزیدین" ماده سمی است و توسط پوست جذب و یا از راه تنفس وارد بدن می شود. بدین لحاظ مراقبت های لازم در هنگام کار کردن با آن ضروری است.

۷-۳-۷-۶ محلول های استاندارد

۱-۷-۳-۷-۶ محلول A

۱۰ گرم مانیتول را با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین کرده و در یک بالن حجمی ۱۰۰ میلی لیتری، با آب به حجم برسانید.

۲-۷-۳-۷-۶ محلول B

۱۰ گرم مانیتول را به همراه ۴۰ میلی گرم فروکتوز و ۲۵ میلی لیتر آب حل کنید و در یک بالن حجمی ۱۰۰ میلی لیتری منتقل و سپس آن را با آب به حجم برسانید.

۸-۳-۷-۶ محلول نمونه

1-Pathalic Acid

2-P-anisidine

۲/۵ گرم نمونه را در ۵ میلی لیتر متانول حل کنید و در یک بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری، با متانول به حجم برسانید.

۶-۷-۴ روش انجام آزمون

بر روی صفحه سیلیکاژل به فاصله ۲ سانتی متر از لبه خط افقی با مداد بکشید و به فواصل ۲ سانتی متر بر روی آن نقاطی را با مداد مشخص کنید. از هر کدام از محلول های A، B و آزمون، ۵ میکرولیتر برداشته و بر روی نقاط مشخص شده ۵ بار و هر بار یک میکرولیتر تزریق کنید. در فاصله هر تزریق بگذارید لکه ها خشک شوند. سپس واکنشگر پاششی (طبق بند ۶-۷-۳-۶) را به صفحه بپاشید و آن را در آون با حرارت 100 ± 2 درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه قرار دهید. بلافاصله پس از حرارت دادن، صفحه را در محلی با پس زمینه سیاه بررسی نمایید. لکه مربوط به محلول نمونه، نباید پررنگ تر از لکه مربوط به محلول B باشد. این حالت معادل بیشینه ۰/۱ درصد مونوساکاریدهای کلرینه شده می باشد. تیره گی لکه مانیتول حاصل از محلول استاندارد A دلالت بر نگهداری صفحه بیش از ۱۵ دقیقه در آون می باشد. در این صورت آزمون باید دوباره تکرار شود.

۶-۸-۸ تری فنیل فسفین اکسید

۶-۸-۱ اصول آزمون

اصول آزمون بر اساس کروماتوگرافی مایع با فشار بالا^۱ که در حرارت اتاق انجام می گیرد می باشد. فاز متحرک آن باید در فشار و سرعت جریان ثابت بماند تا زمان شویش دلخواه را بدهد.

۶-۸-۲ وسایل

۶-۸-۲-۱ وسایل شیشه ای آزمایشگاهی

۶-۸-۲-۲ ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰/۱ میلی گرم

۶-۸-۲-۳ ستون فاز معکوس پر شده با C₁₈ Rad Pak به ضخامت ۵ میکرومتر و ابعاد ۸ میلی متر \times ۱۰ سانتی متر

۶-۸-۲-۴ سرعت جریان

۱/۵ میلی لیتر در دقیقه

۶-۸-۲-۵ آشکارساز

لامپ UV با طول موج ۲۲۰ نانومتر

۶-۸-۳ مواد و / یا واکنشگرها (شناساگرها)

۶-۸-۳-۱ استونیتریل با درجه HPLC با UV دور که از صافی ۰/۴۵ میکرومتری یا معادل آن عبور داده شده باشد.

۶-۸-۳-۲ آب مقطر که از صافی ۰/۴۵ میکرومتری یا معادل آن عبور داده شده باشد.

۶-۸-۳-۳ فاز متحرک

۶۷ حجم استونیتریل را با ۳۳ حجم آب مخلوط کنید و محلول را به طور کامل گاز زدایی کنید.

۶-۸-۳-۴ محلول آزمون

به دقت ۱۰۰ میلی گرم نمونه را به یک بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری انتقال دهید و با استفاده از فاز متحرک (طبق بند ۳-۳-۸-۶) بالن را به حجم برسانید. نمونه را از صافی سرسرنگی ۰/۴۵ میکرومتری عبور دهید. وزن نمونه را برحسب میلی گرم ثبت کنید.

۵-۳-۸-۶ محلول استاندارد

به دقت ۱۰۰ میلی گرم تری فنیل فسفین اکسید را به یک بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری انتقال دهید و با استفاده از فاز متحرک (طبق بند ۳-۳-۸-۶) بالن را به حجم برسانید. یک میلی لیتر از محلول داخل بالن را دوباره با فاز متحرک (طبق بند ۳-۳-۸-۶) به حجم ۱۰۰ میلی لیتر برسانید. از این رقت چند نمونه دیگر آماده کرده و به عنوان محلول استاندارد مورد استفاده قرار دهید. سپس این محلول ها را از صافی سرسرنگی ۰/۴۵ میکرومتری عبور دهید.

۴-۸-۶ روش انجام آزمون

۲۵ میکرولیتر از هر کدام از محلول های نمونه و استاندارد را با شرایط یاد شده به دستگاه کروماتوگرام تحت شرایط دستگاهی بیان شده، تزریق کنید. زمان ظهور قله (پیک) اکسید تری فنیل فسفین، ۶ دقیقه می باشد. مناطق قله (پیک) اصلی برای محلول های استاندارد و نمونه را به ترتیب به عناوین A_T و A_S ثبت کنید. غلظت تری فنیل فسفین اکسید^۱ در نمونه را بر حسب میلی گرم در کیلوگرم، از فرمول (۲) به دست آورید.

$$TPPO = (A_t / A_s) \times (10000 / Wt) \quad (2)$$

۹-۶ سرب

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

۱۰-۶ خاکستر سولفات

اندازه گیری میزان خاکستر سولفات فراورده، باید مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۱۲۸۴۸، مواد افزودنی خوراکی- شیرین کننده های مجاز خوراکی- آسپارتام- ویژگی ها و روش های آزمون انجام شود.

۱۱-۶ متانول

۱-۱۱-۶ اصول آزمون

اصول آزمون بر اساس کروماتوگرافی گازی^۲ با شعله هیدروژن و آشکارساز یونی می باشد. یادآوری- در هنگام کار با پیریدین مراقبت های لازم را انجام داده و آزمایشات در زیر هود و با ماسک و دستکش انجام شود.

۲-۱۱-۶ وسایل

۱-۲-۱۱-۶ پی پت حجمی ۲ میلی لیتری

۲-۲-۱۱-۶ وسایل شیشه ای آزمایشگاهی

1-TPPO

2-Gas Chromatography

۶-۱۱-۳-۲ ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰/۱ میلی گرم

۶-۱۱-۲-۴ شرایط کروماتوگرافی

۶-۱۱-۲-۴-۱ ستون

ستون شیشه ای ۴ میلی متر \times ۲/۱ متر که با 80-100 PORPAK PS مش یا معادل آن پر شده است

۶-۱۱-۲-۴-۲ دمای ستون

۱۵۰ درجه سلسیوس (ایزوترمال)

۶-۱۱-۲-۴-۳ دمای ورودی (Inlet)

۲۰۰ درجه سلسیوس

۶-۱۱-۲-۴-۴ گاز حامل

نیتروژن با سرعت ۲۰ میلی لیتر در دقیقه

۶-۱۱-۲-۴-۵ دمای آشکارساز

۲۵۰ درجه سلسیوس

۶-۱۱-۳ مواد و / یا واکنشگرها (شناساگرها)

۶-۱۱-۳-۱ پیریدین

۶-۱۱-۳-۲ متانول

۶-۱۱-۳-۳ محلول نمونه

۲ گرم نمونه را به دقت توزین کرده و به یک بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری منتقل کنید و با پیریدین به حجم برسانید.

۶-۱۱-۳-۴ محلول استاندارد

با استفاده از پی پت (طبق بند ۶-۱۱-۲-۱)، ۲ میلی لیتر متانول را به یک بالن حجمی ۱۰۰ میلی لیتری منتقل کنید و با پیریدین به حجم برسانید. یک میلی لیتر از این محلول را به یک بالن حجمی ۱۰۰ میلی لیتری دیگر منتقل کنید و مجدداً با پیریدین به حجم برسانید.

۶-۱۱-۴ روش انجام آزمون

یک میکرولیتر محلول استاندارد را به ستون کروماتوگرافی تزریق کنید. کروماتوگرام را به دست آورید و سطوح زیر قله (پیک) به وجود آمده را اندازه گیری کنید. انحراف معیار استاندارد مربوطه پس از تکرار تزریق نبایستی بیشتر از ۲ درصد باشد. اکنون سطوح زیر قله (پیک) اصلی محلول استاندارد را محاسبه کنید. یک میکرولیتر از محلول نمونه را به کروماتوگرام تزریق کنید و قله (پیک) های تولید شده متانول را برای محلول نمونه اندازه گیری کنید. سطوح زیر قله (پیک) اصلی را محاسبه کنید و غلظت متانول را از فرمول (۳) به دست آورید :

$$(3) \quad \text{درصد متانول} = (S_A \times C_S \times V_S) / (A_S / W_S)$$

که در آن :

S_A محدوده نمونه ؛

C_s غلظت متانول در استاندارد به درصد (حجم متانول \times فاکتور رقت \times دانسیته حلال که برابر است با $2 \times 10^{-4} \times 0.79 \times 100$)؛
 V_s حجم محلول نمونه؛
 A_s محدوده استاندارد؛
 W_s وزن نمونه.

۱۲-۶ خلوص

۱-۱۲-۶ اصول آزمون

اصول آزمون بر اساس کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا می باشد.

۲-۱۲-۶ وسایل

۱-۲-۱۲-۶ وسایل شیشه ای آزمایشگاهی

۲-۲-۱۲-۶ ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰٫۱ میلی گرم

۳-۲-۱۲-۶ شرایط کروماتوگرافی

۱-۳-۲-۱۲-۶ ستون

فاز معکوس C_{18} ۵ میکرومتر $\times 10$ سانتی متر با Radial Compression Module

۲-۳-۲-۱۲-۶ سرعت جریان

۱٫۵ میلی لیتر در دقیقه در فشار و سرعت جریان ثابت تا زمان شویش مناسب را فراهم کند.

۳-۳-۲-۱۲-۶ آشکارساز

لامپ UV با طول موج ۱۹۰ نانومتر یا آشکارساز رفرکتومتر

۳-۱۲-۶ مواد و / یا واکنشگرها (شناساگرها)

۱-۳-۱۲-۶ استونیتریل با درجه HPLC با UV دور که از صافی ۰٫۴۵ میکرومتری یا معادل آن عبور داده شده باشد

۲-۳-۱۲-۶ آب مقطر که از صافی ۰٫۴۵ میکرومتری یا معادل آن عبور داده شده باشد.

۳-۳-۱۲-۶ فاز متحرک

۱۵۰ میلی لیتر استونیتریل را با ۸۵۰ میلی لیتر آب مخلوط کرده و محلول را به طور کامل گاز زدایی کنید.

۴-۳-۱۲-۶ محلول آزمون

به دقت ۲۵۰ میلی گرم نمونه را به یک بالن حجمی ۲۵ میلی لیتری انتقال دهید و با استفاده از فاز متحرک

(طبق بند ۳-۳-۱۲-۶) بالن را به حجم برسانید. نمونه را از صافی سرسرنگی ۰٫۴۵ میکرومتری عبور دهید.

وزن نمونه را برحسب میلی گرم ثبت کنید (W_t).

۵-۳-۱۲-۶ محلول استاندارد

به دقت ۲۵۰ میلی گرم سوکralوز خالص آزمایشگاهی را به یک بالن حجمی ۲۵ میلی لیتری انتقال دهید و با

استفاده از فاز متحرک (طبق بند ۳-۳-۱۲-۶)، بالن را به حجم برسانید. این محلول را از صافی سرسرنگی

۰٫۴۵ میکرومتری عبور دهید. وزن سوکralوز را برحسب میلی گرم ثبت کنید (W_s).

۴-۱۲-۶ روش انجام آزمون

۲۰ میکرولیتر از هر کدام از محلول های نمونه و استاندارد را تحت شرایط دستگاهی بیان شده به دستگاه کروماتوگرام تزریق کنید. زمان ظهور قله (پیک) برای سوکراوز، ۹ دقیقه می باشد. این زمان برای ستون تعریف شده در (طبق بند ۶-۱۲-۲-۳-۱) می باشد. در صورت تغییر در ستون و یا اندازه طولی آن، برای تنظیم زمان ظهور قله (پیک) باید میزان استونیتریل در محلول استاندارد را تغییر دهید تا زمان ظهور قله (پیک) (۹ دقیقه) به دست آید. محدوده قله (پیک) اصلی برای محلول های استاندارد و نمونه را به ترتیب به عناوین A_S و A_T ثبت کنید. ضریب شکست تغییر قله (پیک) $(100 \times)$ انحراف معیار استاندارد تقسیم بر میانگین محدوده قله (پیک) اصلی) نبایستی بیشتر از ۲ درصد باشد. درصد خلوص را بر حسب میلی گرم در کیلوگرم، از فرمول (۴) به دست آورید.

$$\text{درصد خلوص} = (A_t / W_s) \times (A_s / W_t) \quad (4)$$

یادآوری- درصد خلوص بر مبنای ماده بدون آب و بدون متانول را با استفاده از اعداد به دست آمده در آزمون های آب و متانول همین استاندارد محاسبه کنید.

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 بکار رفته
- ۵-۷ روش آزمون طبق این استاندارد ملی ایران
- ۶-۷ همه جزئیاتی که در این استاندارد مشخص نشده و از سوی آزمایشگاه بکار 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 نام، نام خانوادگی و امضاء آزمایش کننده

پیوست الف

(الزامی)

طیف جذب مادون قرمز سوکرالوز

