



جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran
سازمان ملی استاندارد ایران

Iran National Standards Organization



استاندارد ملی ایران
۱۸۳۸۵
تجدید نظر اول
۱۴۰۰

INSO
18385
1st Revision
2021

ژله رویال -
ویژگی‌ها و روش‌های آزمون

Royal jelly -
Specifications and test methods

ICS: 65.120

استاندارد ملی ایران شماره ۱۸۳۸۵ (تجدیدنظر اول): سال ۱۴۰۰

سازمان ملی استاندارد ایران

تهران، ضلع جنوب غربی میدان ونک، خیابان ولیعصر، پلاک ۲۵۹۲

صندوق پستی: ۶۱۳۹-۱۴۱۵۵ تهران- ایران

تلفن: ۵-۸۸۸۷۹۴۶۱

دورنگار: ۸۸۸۸۷۰۸۰ و ۸۸۸۸۷۱۰۳

کرج - شهر صنعتی، میدان استاندارد

صندوق پستی: ۱۶۳-۳۱۵۸۵ کرج - ایران

تلفن: ۸-۳۲۸۰۶۰۳۱ (۰۲۶)

دورنگار: ۸۱۱۴-۳۲۸۰۸ (۰۲۶)

رایانامه: standard@inso.gov.ir

وبگاه: <http://www.inso.gov.ir>

Iran National Standards Organization (INSO)

No.1294 Valiasr Ave., South western corner of Vanak Sq., Tehran, Iran

P. O. Box: 14155-6139, Tehran, Iran

Tel: + 98 (21) 88879461-5

Fax: + 98 (21) 88887080, 88887103

Standard Square, Karaj, Iran

P.O. Box: 31585-163, Karaj, Iran

Tel: + 98 (26) 32806031-8

Fax: + 98 (26) 32808114

Email: standard@inso.gov.ir

Website: <http://www.inso.gov.ir>

به نام خدا

آشنایی با سازمان ملی استاندارد ایران

سازمان ملی استاندارد ایران به موجب بند یک ماده ۷ قانون تقویت و توسعه نظام استاندارد، ابلاغ شده در دی ماه ۱۳۹۶، وظیفه تعیین، تدوین، به روز رسانی و نشر استانداردهای ملی را به عهده دارد.

تدوین استاندارد در حوزه‌های مختلف در کمیسیون‌های فنی مرکب از کارشناسان سازمان، صاحب‌نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط انجام می‌شود 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، مصرف‌کنندگان، صادرکنندگان و واردکنندگان، مراکز علمی و تخصصی، نهادها، سازمان‌های دولتی و غیردولتی حاصل می‌شود. پیش‌نویس استانداردهای ملی ایران برای نظرخواهی به مراجع ذی‌نفع و اعضای کمیسیون‌های مربوط ارسال می‌شود و پس از دریافت نظرها و پیشنهادهای در کمیته ملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب، به‌عنوان استاندارد ملی (رسمی) ایران چاپ و منتشر می‌شود.

پیش‌نویس استانداردهایی که مؤسسات و سازمان‌های علاقه‌مند و ذی‌صلاح نیز با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می‌کنند در کمیته ملی طرح، بررسی و در صورت تصویب، به‌عنوان استاندارد ملی ایران چاپ و منتشر می‌شود. بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می‌شود که بر اساس مقررات استاندارد ملی ایران شماره ۵ تدوین و در کمیته ملی استاندارد مربوط که در سازمان ملی استاندارد ایران تشکیل می‌شود به تصویب رسیده باشد.

سازمان ملی استاندارد ایران از اعضای اصلی سازمان بین‌المللی استاندارد (ISO)^۱، کمیسیون بین‌المللی الکتروتکنیک (IEC)^۲ و سازمان بین‌المللی اندازه‌شناسی قانونی (OIML)^۳ است و به‌عنوان تنها رابط^۴ کمیسیون کدکس غذایی (CAC)^۵ در کشور فعالیت می‌کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندی‌های خاص کشور، از آخرین پیشرفت‌های علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین‌المللی بهره‌گیری می‌شود.

سازمان ملی استاندارد ایران می‌تواند با رعایت موازین پیش‌بینی شده در قانون، برای حمایت از مصرف‌کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست‌محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردهای ملی ایران را برای محصولات تولیدی داخل کشور و/یا اقلام وارداتی، با تصویب شورای عالی استاندارد، اجباری کند. سازمان می‌تواند به‌منظور حفظ بازارهای بین‌المللی برای محصولات کشور، اجرای استاندارد کالاهای صادراتی و درجه‌بندی آن را اجباری کند. هم‌چنین برای اطمینان بخشیدن به استفاده‌کنندگان از خدمات سازمان‌ها و مؤسسات فعال در زمینه مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و صدور گواهی سیستم‌های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست‌محیطی، آزمایشگاه‌ها و مراکز واسنجی (کالیبراسیون) وسایل سنجش، سازمان ملی استاندارد این‌گونه سازمان‌ها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران ارزیابی می‌کند و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامه تأیید صلاحیت به آن‌ها اعطا و بر عملکرد آن‌ها نظارت می‌کند. ترویج دستگاه بین‌المللی یکاها، 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 Legals)

4-Contact point

5- Codex Alimentarius Commission

کمیسیون فنی تدوین استاندارد
«ژله رویال – ویژگی‌ها و روش‌های آزمون»

رئیس:

رجبی خرمی، افشین
(دکتری شیمی تجزیه)

دبیر:

صدغی، ناصر
(کارشناسی صنایع غذایی)

اعضا: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)

باستانی، حسین
(کارشناسی زنبورداری)

بلقیسی، سبا
(دکتری مواد غذایی)

تاج ابادی، ناصر
(دکتری بیوتکنولوژی)

تیموری مهرنوش
(کارشناسی ارشد شیمی)

جیلانچی، نگار
(کارشناسی ارشد صنایع غذایی)

حمله‌داری نجف آباد، اعظم
(کارشناسی ارشد صنایع غذایی)

رئیزی سرحدی، عفت
(کارشناسی زنبورداری)

سمت و/یا محل اشتغال:

آزمایشگاه کیمیای ناب تجزیه (سهامی خاص)

کارشناس استاندارد – بازنشسته سازمان ملی استاندارد ایران

اتحادیه تعاونی سراسری زنبورداران ایران زمین

پژوهشگاه استاندارد – پژوهشکده صنایع غذایی و فرآورده‌های کشاورزی

وزارت جهاد کشاورزی – مؤسسه تحقیقات علوم دامی
پزشکی –

وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی = اداره کل نظارت برمواد غذایی
آشامیدنی و بهداشتی

پژوهشگاه استاندارد – پژوهشکده صنایع غذایی و فرآورده‌های کشاورزی

آزمایشگاه هورتاش (سهامی خاص)

شرکت نحل میهن (سهامی خاص)

اعضا: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)

سمت و/یا محل اشتغال:

فرجی، محمود
پژوهشگاه استاندارد- پژوهشکده صنایع غذایی و فرآورده‌های کشاورزی
(دکتری شیمی تجزیه)

موسویان، میر محسن
اتحادیه تعاونی سراسری زنبورداران ایران زمین
(کارشناسی مهندسی کشاورزی گرایش زنبورداری)

میرزایی، فر، گودرز
اتحادیه مرکزی زنبور داری اصفهان
(کارشناسی زنبورداری)

مهرآسا، مریم
آزمایشگاه تخصصی عسل و فرآورده‌های جانبی اتحادیه تعاونی سراسری
زنبورداران ایران زمین
(کارشناسی ارشد شیمی تجزیه)

مهربان راد، مژگان
سازمان ملی استاندارد ایران - دفتر نظارت بر استاندارد صنایع غذایی،
آرایشی، بهداشتی و حلال
(کارشناسی ارشد شیمی)

نصیری، بنفشه
پژوهشگاه استاندارد- پژوهشکده صنایع غذایی و فرآورده‌های کشاورزی
(کارشناسی ارشد فیزیولوژی و اصلاح گیاهان دارویی،
ادویه ای و عطری)

ویراستار:

مظاهری، منصوره
پژوهشگاه استاندارد- پژوهشکده صنایع غذایی و فرآورده‌های کشاورزی
(دکتری بیوفیزیک)

فهرست مندرجات

صفحه	عنوان
ز	پیش‌گفتار
۱	۱ هدف و دامنه کاربرد
۱	۲ مراجع الزامی
۲	۳ اصطلاحات و تعاریف
۳	۴ ویژگی‌ها
۳	۴-۱ ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی
۳	۴-۲ ویژگی‌های میکروبی
۴	۵ نمونه‌برداری
۴	۶ روش‌های آزمون
۱۷	۷ بسته‌بندی
۱۸	۸ نشانه‌گذاری

پیش‌گفتار

استاندارد «ژله رویال- ویژگی‌ها» که نخستین بار در سال ۱۳۹۳ تدوین و منتشر شد. بر اساس پیشنهادهای دریافتی و بررسی و تایید کمیسیون‌های مربوط برای اولین بار مورد تجدید نظر قرار گرفت و در یک‌هزار و هشتصد و پنجاه و پنجمین اجلاس کمیته ملی استاندارد خوراک و فرآورده‌های کشاورزی مورخ ۱۴۰۰/۱۱/۲۰ تصویب شد. اینک این استاندارد به استناد بند یک ماده ۷ قانون تقویت و توسعه نظام استاندارد، ابلاغ شده در دی ماه ۱۳۹۶، به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می‌شود.

استاندارد های ملی ایران بر اساس استاندارد ملی ایران شماره ۵ (استاندارد های ملی ایران - ساختار و شیوه نگارش) تدوین می‌شوند. برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت های ملی و جهانی در زمینه صنایع، علوم و خدمات، استانداردهای ملی ایران در صورت لزوم تجدید نظر خواهند 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 ایران استفاده کرد.

این استاندارد جایگزین استاندارد ملی ایران شماره ۱۸۳۸۵: سال ۱۳۹۳ می‌شود.

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

1- ISO 12824: 2016, Royal jelly- Specification

۲- بررسی نتایج آزمون نمونه های ژله رویال انجام شده توسط آزمایشگاه های همکار طی سال های ۱۳۹۹-۱۳۹۸-۱۳۹۷ در استان های البرز و اصفهان

ژله رویال - ویژگی ها و روش های آزمون

۱ هدف و دامنه کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد، تعیین ویژگی های فیزیکی، شیمیایی، میکروبی، نمونه برداری، روش های آزمون، بسته بندی و نشانه گذاری ژله رویال است.

این استاندارد برای ژله رویالی که توسط زنبور عسل تولید می شود و به طور مستقیم به مصارف تغذیه انسان، زنبور عسل یا صنایع غذایی می رسد، کاربرد دارد.

این استاندارد برای ژله رویالی که با سایر مواد خوراکی مخلوط شده است، کاربرد ندارد.

۲ مراجع الزامی

در مراجع زیر ضوابطی وجود دارد که در متن این استاندارد به صورت الزامی به آن ها ارجاع داده شده است. بدین ترتیب، آن ضوابط جزئی از این استاندارد محسوب می شوند.

در صورتی که به مرجعی با ذکر تاریخ انتشار ارجاع داده شده باشد، اصلاحیه ها و تجدیدنظرهای بعدی آن برای این استاندارد الزام آور نیست. در مورد مراجعی که بدون ذکر تاریخ انتشار به آن ها ارجاع داده شده است، همواره آخرین تجدیدنظر و اصلاحیه های بعدی برای این استاندارد الزام آور است.

استفاده از مراجع زیر برای کاربرد این استاندارد الزامی است:

۱-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۱۴۰۹: سال ۱۳۹۳، ظروف شیشه ای مخصوص بسته بندی مواد غذایی و آشامیدنی - ویژگی ها و روش های آزمون

۲-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۱۸۱۰: سال ۱۳۹۳، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - روش جامع برای جستجو و شناسایی سالمونلا

۳-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۲۴۶۱-۲: سال ۱۳۹۶، میکروبیولوژی زنجیره غذایی - روش جامع برای جستجو، شناسایی و شمارش انتروباکتریاسه - قسمت ۲: روش شمارش کلنی

۴-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۳۳۳۱: سال ۱۳۷۳، انواع بسته بندی های مواد خوراکی در ظروف شکل داده شده از مواد پلیمری و ورق های آلومینیومی

۵-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۴۴۷۰: سال ۱۳۸۸، مواد غذایی از پیش بسته بندی شده - مقررات برچسب گذاری کلی

۶-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۱-۵۲۷۲ : سال ۱۳۹۳، میکروبیولوژی زنجیره غذایی - روش جامع برای شمارش میکروارگانیسم ها- قسمت ۱- شمارش کلنی در ۳۰ درجه سانتی گراد با استفاده از روش کشت آمیخته

۷-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۱-۹۱۸۸: سال ۱۳۹۴، شیر و فرآورده های آن - تعیین مقدار نیتروژن

۳ اصطلاحات و تعاریف

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

۱-۳

ژله رویال

royal jelly

مخلوطی از ترشحات غدد هیپوفارینژینال^۱ و مندیبولار^۲ زنبورهای کارگر بدون هرگونه افزودنی است. یادآوری - ژله رویال غذای خام، طبیعی و بدون هیچ گونه ماده افزودنی برای لارو و ملکه بالغ است. رنگ، مزه و ترکیب شیمیایی ژله رویال بستگی به نوع موادی دارد که زنبور جذب کرده و منتقل می کند.

۲-۳

۱۰-هیدروکسی-۲-دسنوئیک اسید

10-hydroxy-2-decenoic acid (10-HDA)

ماده شاخص ژله رویال می باشد که خاصیت ضد باکتریایی و ضد قارچی دارد و سبب استریل نگه داشتن ژله رویال می شود.

۳-۳

مواد خارجی و ناپذیرفتنی

none royal jelly substances

هر ماده به جز ژله رویال است که موجب کاهش کیفیت و یا عدم قابلیت مصرف ژله رویال می شود. این مواد شامل: شن، ماسه، سنگریزه، شیشه، اشیاء فلزی، پوسته های تخم، لارو، شفیره، حشرات زنده و مرده. فضولات، پر پرندگان، موی جوندگان و هر گونه اجزای گیاهی می باشد.

1 -Hypopharyngeal
2-Mandibular

۴ ویژگی‌ها

۴-۱ ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی

ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی ژله رویال باید مطابق با جدول ۱ باشد.

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی ژله رویال

ردیف	ویژگی‌ها	حدود قابل قبول	روش آزمون
۱	وضع ظاهری	خمیری ژله‌ای	طبق زیر بند ۶-۱ این استاندارد
۲	رنگ	سفیدشیری زردکم‌رنگ همراه با درخشندگی	طبق زیر بند ۶-۲ این استاندارد
۳	بو و مزه	مزه تند عاری از بوی تخمیر	طبق زیر بند ۶-۳ این استاندارد
۴	مواد خارجی	عاری از هرگونه مواد خارجی و حباب هوا	طبق زیر بند ۶-۴ این استاندارد
۵	رطوبت (درصد جرمی)	۶۲-۶۸٫۵	طبق زیر بند ۶-۵ این استاندارد
۶	۱-هیدروکسی-۲-دسنوئیک اسید (درصد جرمی)	کمینه ۱/۴	طبق زیر بند ۶-۶ این استاندارد
۷	پروتئین (درصد جرمی)	۱۱ - ۱۸	طبق زیر بند ۶-۷ این استاندارد
۸	قند کل (درصد جرمی)	۷-۱۸	طبق زیر بند ۶-۸ این استاندارد
۹	فروکتوز (درصد جرمی)	۲-۹	طبق زیر بند ۶-۸ این استاندارد
۱۰	گلوکز (درصد جرمی)	۲-۹	طبق زیر بند ۶-۸ این استاندارد
۱۱	اسیدیته کل [(1 mol/l NaOH)/ml/ 100g]	۳۰-۵۳	طبق زیر بند ۶-۹ این استاندارد
۱۲	چربی کل (درصد جرمی)	۲ - ۸	طبق زیر بند ۶-۱۰ این استاندارد

۴-۲ ویژگی‌های میکروبی

ویژگی‌های میکروبی ژله رویال باید مطابق جدول ۲ باشد.

جدول ۲- ویژگی‌های میکروبی ژله رویال

ردیف	ویژگی‌ها	حدود قابل قبول	روش آزمون
۱	شمارش کلی در گرم	بیشینه ۵۰۰	استاندارد ملی ایران شماره ۱-۵۲۷۲
۲	انتروباکتریاسه (در ۱۰ گرم)	منفی	استاندارد ملی ایران شماره ۲-۲۴۶۱
۳	سالمونلا (در ۲۵ گرم)	منفی	استاندارد ملی ایران شماره ۱۸۱۰

۵ نمونه‌برداری

۱-۵ جمع آوری نمونه، باید توسط فرد دارای صلاحیت انجام شود.

۲-۵ ژله رویال باید بلافاصله بعد از استخراج، در ظروف شیشه‌ای کوچک و فاقد فضای هوایی، دارای درپوش غیرفلزی ذخیره شود. وسیله نمونه‌برداری باید کاملاً تمیز و خشک، از جنس استیل ضد زنگ از جمله: میله، لوله یا قاشق باشد.

۳-۵ نمونه مورد آزمون را در بطری استریل به حد کافی به هم زنید تا کاملاً مخلوط شود. هر نمونه نباید از ۲۰ گرم کمتر باشد. نمونه باید سریعاً مورد آزمایش قرار گیرد و یا تا زمان انجام آزمون در یخچال با دمای کمتر از ۵ درجه سلسیوس نگهداری شود.

۶ روش‌های آزمون

۱-۶ ویژگی‌های ظاهری وحسی

ژله رویال در دمای اتاق باید خمیری ژله‌ای باشد. نتیجه بررسی نمونه را از این نظر گزارش کنید.

۲-۶ رنگ

ژله رویال باید دارای رنگ سفیدشیری، زرد کم رنگ، همراه با درخشندگی باشد. موارد مذکور را بررسی و گزارش کنید.

۳-۶ بو و مزه

ژله رویال باید دارای مزه تند تخمیر نشده بوده و در سقف دهان دارای مزه گس و تند باشد. دقت شود که بوی تند آن حاصل از تخمیر نباشد. نتایج این بررسی را گزارش کنید.

۴-۶ مواد خارجی

ژله رویال را از نظر وجود مواد خارجی بررسی کنید. وجود هرگونه مواد خارجی و حباب هوا را گزارش کنید. یاد آوری - کریستالیزه شدن جزئی ژله رویال در مدت زمان نگهداری می‌تواند پدیده‌ای طبیعی باشد.

۵-۶ اندازه‌گیری رطوبت

۱-۵-۶ وسایل

۲-۱-۵-۶ آون خلأ

۳-۱-۵-۶ ترازو آزمایشگاهی، با دقت یک‌دهم میلی گرم

۴-۱-۵-۶ ظرف توزین، به ارتفاع ۲۵ میلی‌متر تا ۳۰ میلی‌متر و قطر ۳۵ میلی‌متر تا ۵۰ میلی‌متر

۲-۵-۶ روش اجرای آزمون

با دقت حدود ۰/۵ گرم از نمونه ژله رویال را کاملاً مخلوط نمایید و در ظرف توزین خشکی که به وزن ثابت رسیده است، وزن کرده و به‌طور یکنواخت پخش کنید. آن را به‌مدت ۴ ساعت در آون خلأ در دمای ۷۵ درجهٔ سلسیوس تحت خلأ (فشار بین ۰/۰۰۰ MPa و ۰/۰۰۵ MPa) قرار دهید. سپس ظرف توزین و نمونه را در دسیکاتور به دمای اتاق برسانید و بعد از ۳۰ دقیقه آنها را وزن کنید. دوباره به‌مدت ۲ ساعت ظرف را در آون خلا قرار داده و آن را خشک کنید و دوباره وزن کنید. این عمل را تا زمانی که اختلاف دو توزین متوالی بیشتر از ۲ میلی‌گرم نباشد و به وزن ثابت برسد، ادامه دهید.

۳-۵-۶ روش محاسبه

میزان رطوبت ژله رویال (X) را با استفاده از فرمول ۱ به شرح زیر محاسبه کنید:

$$X_1 = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_3} \times 100 \quad (1)$$

که در آن:

X_1 درصد رطوبت ژله رویال؛

m_1 جرم ظرف و نمونه قبل از آون‌گذاری بر حسب گرم؛

m_2 جرم ظرف و نمونه خشک شده بر حسب گرم؛

m_3 جرم ظرف خالی بر حسب گرم.

۴-۵-۶ دقت

انحراف نسبی نتایج آزمون موازی نباید از ۰/۸ درصد بیشتر باشد.

۶-۶ اندازه‌گیری ۱۰-هیدروکسی-۲-دسنوئیک اسید (روش مرجع)

یادآوری - فقط از آب مخصوص کروماتوگرافی استفاده کنید.

۱-۶-۶ مواد و /یا واکنشگرها

۱-۱-۶-۶ متانول با درجه خلوص کروماتوگرافی

۲-۱-۶-۶ استاندارد مرجع 10-HDA با درجه خلوص بالای ۹۹ درصد (دارای گواهی آنالیز تأمین‌کننده).

۳-۱-۶-۶ محلول استاندارد ذخیره 10-HDA S₀ با غلظت ۰/۱۳ mg/ml

۶/۵ میلی گرم از ماده مرجع استاندارد را در بالن حجمی ۵۰ میلی لیتری در متانول حل کرده و سپس به حجم برسانید.

با توجه به درجه خلوص ماده مرجع فاکتور رقت محلول استاندارد ذخیره ۱۰-هیدروکسی-۲-دسنوئیک اسید، تصحیح شود.

۶-۱-۶-۶ محلول بافر فسفات ۲۵ mM با pH=۲/۵ (محلول A)

۶/۹۰ گرم سدیم دی هیدروژن فسفات منو هیدرات ($M = 137.99 \text{ g/mol}$) را وزن کرده و در بالن حجمی ۲ لیتری بریزید. آن را در ۱۸۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل کنید. سپس pH آن را با فسفریک اسید ۸۵٪ در محدوده pH برابر با ۲/۵ تنظیم کنید و سپس با آب مقطر به حجم ۲ لیتر برسانید.

۶-۱-۶-۵ محلول استخراج

۵۵۰ میلی لیتر محلول بافر فسفات را با ۴۵۰ میلی لیتر متانول، دردمای اتاق مخلوط کنید.

۶-۱-۶-۶ حلال نمونه

۷۰۰ میلی لیتر محلول بافر فسفات را با ۳۰۰ میلی لیتر متانول دردمای اتاق مخلوط کنید.

۶-۶-۲ وسایل

۶-۶-۲-۱ دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مجهز به آشکار ساز ماوراء بنفش^۱

۶-۶-۲-۲ ستون کروماتوگرافی، $\text{zorbax SB-CN } 150 \text{ mm} \times 3,0 \text{ mm}; 3,5\mu\text{m}$ یا هر ستون معادل با آن

۶-۶-۲-۳ حمام فراصوت

۶-۶-۲-۴ همگن کننده (هموژنایزر)

۶-۶-۲-۵ ترازوی آزمایشگاهی، با دقت ۰/۰۱ میلی گرم

۶-۶-۳ روش آزمون

۶-۶-۳-۱ آماده سازی و استخراج نمونه

به دقت ۸۰ میلی گرم ژله رویال خشک شده منجمد و یا ۲۰۰ میلی گرم ژله رویال تازه را در لوله سانتریفیوژ ۵۰ میلی لیتری وزن کنید. ۴۰ میلی لیتر محلول استخراج را به آن اضافه کرده و آن را در همگن کننده با ۱۵۰۰۰

1 -HPLC with ultraviolet detector

دور در دقیقه، به مدت ۱۰ ثانیه تا ۲۰ ثانیه همگن کنید تا به حالت امولسیون درآید. سپس آن را به مدت ۱۰ دقیقه در حمام فراصوت قرار دهید.

یک میلی‌لیتر از محلول همگن شده استخراج شده را به بالن حجمی ۱۰ میلی‌لیتری انتقال دهید و با حلال، نمونه محتوی بالن را به حجم برسانید. محلول را از صافی غشایی با ضخامت $0.45 \mu\text{m}$ عبور دهید.

۶-۳-۲ شرایط کروماتوگرافی

طول موج آشکارسازی: ۲۱۶ نانومتر؛

شوینده A: بافر فسفات ۲۵ mM با $\text{pH}=2.5$ ؛

شوینده B: متانول؛

طول موج آزمون: ۲۱۶ نانومتر؛

دمای ستون: ۳۵ درجه سلسیوس؛

سرعت جریان فاز متحرک: ۱ میلی‌لیتر در دقیقه؛

برنامه شویش شیبی باید مطابق با جدول ۳ باشد.

جدول ۳- برنامه شویش شیبی

زمان (دقیقه)	در صد شوینده B
صفر تا ۲	۳۴
۲ تا ۹	۳۴ تا ۴۳
۹ تا ۱۰	۴۳ تا ۸۰
۱۰ تا ۱۶	۳۴

۶-۳-۳ تزریق و تعیین مقدار

دستگاه HPLC را برای جداسازی و شناسائی طبق شرایط مندرج در زیر بند ۶-۳-۲ آماده کنید. اجازه دهید فاز متحرک با سرعت حجمی ۱ میلی‌لیتر در دقیقه، تا زمانی که خط زمینه پایدار به دست آید، از سیستم عبور کند.

۶-۳-۳-۱ تهیه و تزریق محلول‌های استاندارد کاری

با استفاده از پی پت‌های مناسب، به ترتیب مقادیر ۳۸۵ میکرولیتر، ۵۷۸ میکرولیتر، ۷۷۰ میکرولیتر و ۹۶۳ میکرولیتر از محلول استاندارد ذخیره طبق زیر بند ۶-۳-۱ را جداگانه به بالن‌های حجمی ۱۰ میلی‌لیتری منتقل کنید و با حلال نمونه به حجم برسانید. در این صورت محلول‌های استاندارد کاری به ترتیب با

غلظت‌های ۵ میکروگرم در میلی لیتر، ۷/۵ میکروگرم در میلی لیتر، ۱۰/۵ میکروگرم در میلی لیتر و ۱۲/۵ میکروگرم در میلی لیتر به دست خواهد آمد.

برای رسم نمودار کالیبراسیون، هر یک از محلول‌های استاندارد کاری به شرح فوق را به دستگاه تزریق نمایید. نمودار کالیبراسیون را به طوری که روی محور طول‌ها، تغییرات مربوط به جرم نمونه استاندارد کاری بر حسب میکروگرم، و بر روی محور عرض‌ها، تغییرات مربوط به سطح زیر منحنی کروماتوگرام باشد، رسم کنید. یادآوری - نمودار کالیبراسیون باید در هر روز کاری رسم شود. منحنی کالیبراسیون باید خطی بوده و ضریب همبستگی منحنی باید بیش از ۰/۹۹ باشد.

۶-۳-۳-۲ تزریق عصاره استخراج شده نمونه

۲۰ میکرولیتر از محلول صاف و رقیق شده طبق زیر بند ۶-۳-۱ را به دستگاه HPLC تزریق کنید و در طول موج ۲۱۶ نانومتر اندازه گیری را نسبت به منحنی کالیبراسیون خارجی انجام دهید.

۶-۳-۳-۳ محاسبه و تعیین مقدار

کروماتوگرام حاصل از تزریق عصاره استخراجی از نمونه را از نظر زمان بازداری، با کروماتوگرام‌های استاندارد‌های کاری مقایسه کرده و مقدار ۱۰-هیدروکسی-۲-دسنوئیک اسید را با استفاده از منحنی کالیبراسیون و مقایسه سطح زیر کروماتوگرام‌های استاندارد‌های کاری با نمونه مجهول و با احتساب ضریب رقت، با استفاده از فرمول‌های ۲ و ۳ محاسبه کنید.

با استفاده از سطح زیر کروماتوگرام‌های استاندارد‌های کاری 10-HDA بر حسب غلظت (میکروگرم بر میلی لیتر)، معادله خطی منحنی کالیبراسیون با استفاده از فرمول ۲ به دست می‌آید.

$$Y = ax + b \quad (2)$$

که در آن:

Y سطح پیک 10-HDA؛

a شیب منحنی استاندارد؛

x غلظت تصحیح شده استاندارد؛

b عرض از مبدا منحنی کالیبراسیون .

با استفاده از سطح زیر کروماتوگرام 10-HDA حاصل از تزریق عصاره نمونه ، مقدار 10-HDA را در محلول نمونه مورد اندازه گیری را با استفاده از فرمول ۳ محاسبه کنید:

$$x' = (y' - b) / a \quad (3)$$

که در آن:

x' غلظت 10-HDA در محلول نمونه بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر؛

y' سطح پیک 10-HDA در نمونه.

مقدار 10-HDA در ژله رویال (میلی گرم در ۱۰۰ گرم) نمونه را با استفاده از فرمول ۴ محاسبه کنید:

$$C_{10-HDA} = x' \times 40/m \quad (۴)$$

که در آن:

x' غلظت محاسبه شده 10-HDA در محلول اندازه گیری نمونه بر حسب میکروگرم در میلی لیتر؛

40 فاکتور رقیق سازی در حجم استخراج ۴۰ میلی لیتری از پی پت یک میلی لیتری و بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری؛

m جرم واقعی نمونه ژله رویال بر حسب میلی گرم.

دقت ۴-۶-۶

انحراف نسبی آزمون های متوالی نباید بیش از ۲ درصد در نمونه لیوفلیزه^۱ و بیش از ۵ درصد در نمونه ژله رویال تازه باشد.

۷-۶ اندازه گیری پروتئین

یک گرم از نمونه ژله رویال را به دقت وزن کنید و مطابق روش تعیین مقدار پروتئین به روش کج لیدال، استاندارد ملی ایران شماره ۱-۹۱۸۸ اندازه بگیرید.

۸-۶ اندازه گیری قندها

۱-۸-۶ روش کروماتوگرافی مایع (روش مرجع)

۱-۱-۸-۶ مواد و/یا واکنشگرها

۱-۱-۱-۸-۶ استونیتریل با درجه HPLC

۲-۱-۱-۸-۶ متانول با درجه HPLC

۳-۱-۱-۸-۶ آب مخصوص کروماتوگرافی

۴-۱-۱-۸-۶ استانداردهای قند مورد آزمون با درجه خلوص بالاتر از ۹۸ درصد و یا برابر آن

۲-۱-۸-۶ وسایل

۱-۲-۱-۸-۶ دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا دارای آشکارساز ضریب شکست (RI)^۱

۲-۲-۱-۸-۶ ستون کروماتوگرافی آمینو

۳-۲-۱-۸-۶ حمام فراصوت

۴-۲-۱-۸-۶ سانتریفوژ

۵-۲-۱-۸-۶ ترازوی آزمایشگاهی، با دقت یک دهم میلی گرم

۶-۲-۱-۸-۶ صافی غشایی، با منافذ ۰/۴۵ میکرون از جنس نایلون یا PTFE

۳-۱-۸-۶ روش آزمون

۱-۳-۱-۸-۶ آماده سازی و استخراج نمونه

به دقت حدود ۲ گرم از ژله رویال را در یک بشر وزن کرده و چند میلی لیتر از محلول متانول در آب (به نسبت ۷۵:۲۵) به آن اضافه و به کمک همزن مغناطیسی آن را یکنواخت کنید. سپس آن را به بالن حجمی ۲۰ میلی لیتری منتقل کرده و با همان محلول متانول در آب به حجم برسانید. آن را به مدت ۱۰ دقیقه در سانتریفوژ با ۴۰۰۰ دور در دقیقه قرار دهید. قبل از تزریق به دستگاه HPLC قسمت مایع رویی را از فیلتر غشایی ۰/۴۵ میکرون عبور دهید.

۲-۳-۱-۸-۶ شرایط کروماتوگرافی

فاز متحرک: ترکیبی از استونیتریل و آب به نسبت حجمی (۷۵:۲۵)؛

سرعت جریان: یک میلی لیتر در دقیقه؛

دمای ستون: ۳۰ درجه سلسیوس.

۳-۳-۱-۸-۶ تزریق و تعیین مقدار

دستگاه HPLC را برای جداسازی و شناسایی طبق شرایط مندرج در زیر بند ۲-۳-۱-۸-۶ آماده کنید. اجازه دهید فاز متحرک با سرعت حجمی ۱ میلی لیتر در دقیقه، تا زمانی که خط زمینه پایدار به دست آید، از سیستم عبور کند.

1- Refractive Index

۶-۸-۱-۳-۱ تهیه و تزریق محلول‌های استاندارد کاری

محلول استاندارد (M): یک گرم از قند مربوطه استاندارد را وزن کنید، و به بالن حجمی ۱۰۰ میلی لیتری انتقال دهید، حدود ۲۵ میلی لیتر آب اضافه کنید و به هم بزنید و سپس با متانول به حجم برسانید.

F1: در بالن حجمی ۲۰ میلی لیتری، ۱۰ میلی لیتر از محلول (M) را با استفاده از محلول متانول و آب (۷۵:۲۵) به حجم برسانید.

F2: در بالن حجمی ۲۰ میلی لیتری، ۵ میلی لیتر از محلول (M) را با استفاده از محلول متانول و آب (۷۵:۲۵) به حجم برسانید.

برای رسم نمودار کالیبراسیون، هر یک از محلول‌های استاندارد کاری به شرح فوق را به دستگاه تزریق نمایید. نمودار کالیبراسیون را به طوری که روی محور طول‌ها، تغییرات مربوط به جرم نمونه استاندارد، و بر روی محور عرض‌ها، تغییرات مربوط به سطح زیر منحنی کروماتوگرام باشد، رسم کنید.

یادآوری - نمودار کالیبراسیون باید در هر روز کاری رسم شود. منحنی کالیبراسیون باید خطی بوده و ضریب همبستگی منحنی باید بیش از ۰/۹۹ باشد.

۶-۸-۱-۳-۲ تزریق عصاره استخراج شده نمونه

عصاره استخراجی نمونه طبق زیر بند ۶-۸-۱-۳-۱ را به دستگاه تزریق نمایید.

۶-۸-۱-۴ روش محاسبه و تعیین مقدار

کروماتوگرام حاصل از تزریق عصاره استخراجی از نمونه را از نظر زمان بازداری، با کروماتوگرام‌های استاندارد‌های کاری مقایسه کرده و مقدار قند را با استفاده از منحنی کالیبراسیون و مقایسه سطح زیر کروماتوگرام‌های استاندارد‌های کاری با نمونه مجهول و با استفاده از فرمول‌های ۵ و ۶ محاسبه کنید. غلظت قند در نمونه را با استفاده از فرمول ۵ محاسبه کنید:

$$C_i = K_i \times A_i \quad (5)$$

که در آن:

C_i غلظت قند (i) در نمونه برحسب میلی گرم در میلی لیتر؛

K_i فاکتور پاسخ قند (i) که از شیب منحنی کالیبراسیون حاصل از سطح زیرپیک محلول‌های استاندارد (M و F1 و F2) که برحسب غلظت رسم می‌شود، به دست می‌آید. از روی زمان بازداری گلوکز و فروکتوز در نمونه شناسایی کنید.

A_i سطح پیک قند در نمونه.

درصد قند کل ژله رویال را با استفاده از فرمول ۶ به شرح زیر محاسبه کنید :

$$i = ci \times \frac{20}{m} \times 100 \quad (۶)$$

که در آن:

i در صد قند کل ژله رویال؛

ci غلظت قند (i) در نمونه بر حسب میلی گرم در میلی لیتر؛

m وزن نمونه بر حسب میلی گرم؛

که قند کل عبارتست از مجموع گلوکز ، فروکتوز و ساکارز.

درصد قند کل = درصد قند فروکتوز + درصد قند گلوکز + درصد قند ساکارز

۵-۱-۸-۶ دقت

انحراف نسبی نتایج آزمون‌های متوالی نباید از ۳ درصد بیشتر باشد.

۲-۸-۶ روش تیتراسیون

۱-۲-۸-۶ مواد و/ یا واکنشگرها

۱-۱-۲-۸-۶ محلول استاندارد گلوگز

یک گرم گلوکز خالص خشک شده در دمای ۹۸ تا ۱۰۰ درجه سلسیوس (دارای زاویه چرخش ویژه ۵۲/۵ + تا ۵۳+) را به دقت (یک هزارم گرم) وزن کرده و در آب مقطر حل کنید. ۵ میلی لیتر هیدروکلریک اسید (۶ مول در لیتر) به آن اضافه و با آب به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر برسانید. هر میلی لیتر از این محلول معادل یک میلی گرم گلوکز است.

۲-۱-۲-۸-۶ محلول A: (محلول سولفات مس ۵ آبه $CuSO_4 \cdot 5H_2O$)

۱۵ گرم سولفات مس ۵ آبه ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) و ۰/۰۵ گرم متیل آبی را در ۱۰۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل کنید و در بطری با در محکم نگهداری کنید.

۳-۱-۲-۸-۶ محلول B: محلول قلیایی نمک پتاسیم سدیم تارتارات

۵۰ گرم تارتارات مضاعف سدیم و پتاسیم و ۷۵ گرم سدیم هیدروکسید را در مقداری آب حل کنید. ۴ گرم پتاسیم فروسیانید به آن اضافه و با آب تا حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر رقیق و کاملاً مخلوط کنید تا حل شود. سپس آن را در بطری با در محکم از جنس پلی اتیلن نگهداری کنید.

۴-۱-۲-۸-۶ استاندارد کردن محلول‌های A,B

به ترتیب ۵ میلی‌لیتر از محلول A و ۵ میلی‌لیتر از محلول B را در ارلن ۱۵۰ میلی‌لیتری بریزید. ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه کرده و تقریباً ۹ میلی‌لیتر محلول گلوکز استاندارد را با استفاده از بورت به آن بیافزایید. این مخلوط را به مدت ۲ دقیقه حرارت دهید تا به دمای جوش برسد. اضافه کردن محلول گلوکز استاندارد را با سرعت یک قطره در ۲ ثانیه در حالت جوش ادامه دهید. از بین رفتن رنگ آبی محلول نشان دهنده نقطه خاتمه واکنش است. حجم محلول مصرفی را یادداشت کنید. به‌طور متوالی آزمون را ۳ بار انجام دهید. مقدار میانگین را به دست آورید و جرم گلوکز بر حسب میلی‌گرم معادل با ۱۰ میلی‌لیتر محلول تیتراسیون (۵ میلی‌لیتر به ترتیب از محلول A و ۵ میلی‌لیتر از محلول B است).

۵-۱-۲-۸-۶ محلول روی استات (با غلظت ۲۱۹ گرم در لیتر)

۲۱/۹ گرم روی استات را وزن کرده و ۳ میلی‌لیتر استیک اسید به آن اضافه کنید و با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر برسانید.

۶-۱-۲-۸-۶ پتاسیم فروسیانید (با غلظت ۱۰۶ گرم در لیتر)

۷-۱-۲-۸-۶ هیدروکلریدریک اسید غلیظ (۳۶ درصد تا ۳۸ درصد)

۸-۱-۲-۸-۶ هیدروکلریدریک اسید، ۶ مول در لیتر

۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر را درون بالن حجمی ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته و به آهستگی هیدروکلریدریک اسید غلیظ به آن اضافه کنید تا به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر برسد.

۹-۱-۲-۸-۶ محلول سدیم هیدروکسید ۵ مول در لیتر

۲۰ گرم هیدروکسید سدیم را در مقداری آب مقطر حل کنید و به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر برسانید.

۱۰-۱-۲-۸-۶ معرف متیل رد: ۰/۱ گرم پودر متیل رد در ۳۰۰ میلی‌لیتر الکل اتیلیک ۹۵ درصد حل کنید و با آب مقطر به حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر برسانید.

۲-۲-۸-۶ وسایل

۱-۲-۲-۸-۶ حمام آب گرم با تنظیم دمایی و نوسان یک درجه سلسیوس

۲-۲-۲-۸-۶ ترازوی آزمایشگاهی با دقت یک دهم میلی‌گرم

۳-۲-۸-۶ روش اجرای آزمون

۱-۳-۲-۸-۶ آماده‌سازی نمونه

حدود ۴ گرم نمونه ژله رویال را وزن کرده و به بالن حجمی ۱۰۰ میلی‌لیتری منتقل نمایید. ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه کنید. بالن را تکان دهید تا نمونه حل شود. سپس ۵ میلی‌لیتر محلول روی استات و ۵ میلی‌لیتر از تارتارات پتاسیم و سدیم را به ترتیب و آهسته به آن اضافه کرده و با آب مقطر تا خط نشانه رقیق نموده و کاملاً مخلوط کنید. مدت ۳۰ دقیقه اجازه دهید این مخلوط در محیط آزمایشگاه بماند و با استفاده از کاغذ صافی خشک آن را صاف کنید. چند میلی‌لیتر اولیه صاف شده را دور بریزید. محلول صاف شده را برای کاربرد بعدی نگه دارید.

۵۰ میلی‌لیتر از محلول صاف شده را به بالن حجمی ۱۰۰ میلی‌لیتری منتقل کنید. ۱۰ میلی‌لیتر هیدروکلریدریک اسید ۶ مول در لیتر به آن اضافه کرده و کاملاً مخلوط کنید. آن را به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم ۶۸ تا ۷۰ درجه سلسیوس قرار دهید. بعد از خنک کردن در آب و در دمای اتاق، ۲ قطره متیل رد به آن اضافه کرده و کاملاً بهم بزنید. با استفاده از محلول سدیم هیدروکسید آن را خنثی کنید تا رنگ محلول نمونه زرد شود، سپس با آب مقطر تا خط نشانه رقیق کنید و محتویات درون ظرف را کاملاً مخلوط کنید. این محلول نمونه برای آزمایش آماده است.

۶-۸-۲-۳-۲ تیتراسیون محلول نمونه

به دقت به ترتیب از هر یک از محلول A و محلول B مقدار ۵ میلی‌لیتر برداشته و در ارلن‌مایر ۱۵۰ میلی‌لیتری بریزید، این مخلوط را به مدت ۲ دقیقه حرارت دهید تا به دمای جوش برسد. محلول نمونه را ابتدا به سرعت و سپس به کندی به صورت قطره قطره با استفاده از بورت اضافه کنید. به طوری که محلول در حال جوش باقی بماند. وقتی که رنگ مخلوط در حال از بین رفتن است، سرعت تیتراسیون یک قطره در هر ۲ ثانیه باشد. عمل تیتراسیون را تا زمانی که رنگ آبی از بین رود، ادامه دهید. در این زمان حجم محلول نمونه مصرفی را یادداشت کنید. حجم محلول نمونه مصرفی را هنگامی که رنگ آبی از بین می‌رود، یادداشت کنید.

۶-۸-۲-۳-۳ روش محاسبه

میزان قند کل در ژله رویال را با استفاده از فرمول ۷ به دست آورید:

(۷)

$$X_4 = \frac{T}{m_5 \times V_2 / 100 \times 1 / 2 \times 1000} \times 100$$

که در آن:

X_4 در صد قند کل بر حسب گلوکز؛

T معادل گلوکز بر حسب میلی‌گرم؛

m_5 برابر جرم نمونه بر حسب گرم؛

V₂ حجم مصرفی نمونه بر حسب میلی لیتر.

۴-۲-۸-۶ دقت

انحراف نسبی آزمون نمونه‌های متوالی نباید از بیشتر از ۳ درصد باشد.

۹-۶ اندازه‌گیری اسیدیته کل

۱-۹-۶ مواد و / یا واکنشگرها

۱-۱-۹-۶ سدیم هیدروکسید یک دهم مول در لیتر

۴ گرم سدیم هیدروکسید را به دقت در یک بالن حجمی به حجم یک لیتر برسانید.

۲-۹-۶ وسایل

۱-۲-۹-۶ pH متر

۲-۲-۹-۶ بورت ۱۰ میلی لیتری

۳-۲-۹-۶ ترازوی آزمایشگاهی

۳-۹-۶ روش اجرای آزمون

یک گرم نمونه ژله رویال را در بشر ۱۰۰ میلی لیتری وزن کنید و به آن ۷۵ میلی لیتر آب مقطر جوشیده و سرد شده اضافه کنید. سپس با استفاده از محلول سدیم هیدروکسید استاندارد ۰/۱ مول در لیتر تیترا کنید. نقطه پایان تیتراسیون رسیدن به pH برابر با ۸/۳ می باشد.

۴-۹-۶ روش محاسبه

درصد اسیدیته نمونه با استفاده از فرمول ۸ محاسبه کنید:

$$\text{Acidity}[(1\text{mol}/1\text{NaOH})\text{ml}/100\text{g}] = \frac{V \times c \times 100}{m} \quad (۸)$$

که در آن:

V میلی لیتر حجم محلول سدیم هیدروکسی 0.1 mol/l NaOH مصرفی بر حسب میلی لیتر؛

c غلظت محلول سدیم هیدروکسید؛ استاندارد NaOH مول در لیتر؛

m جرم نمونه بر حسب گرم.

۵-۹-۶ دقت

انحراف نسبی نتایج آزمون متوالی نباید بیش از ۵ درصد باشد.

۱۰-۶ اندازه‌گیری چربی کل

۱-۱۰-۶ مواد و / یا واکنشگرها

۱-۱-۱۰-۶ دی اتیل اتر (با درجه خلوص بالای ۹۹/۵ درصد یا حلال استخراج جایگزین آن).

۲-۱-۱۰-۶ سلیت^۱

۲-۱۰-۶ وسایل

۱-۲-۱۰-۶ دستگاه استخراج سوکسله

شامل لوله استخراج سوکسله با قطر داخلی حدود ۴۰ میلی‌متر، بالن استخراج و لوله کندانسور.

۲-۲-۱۰-۶ کارتوش^۲

با قطر داخلی ۲۵ میلی‌متر تا ۳۰ میلی‌متر و طول ۱۰۰ میلی‌متر تا ۱۲۰ میلی‌متر.

۳-۲-۱۰-۶ حمام بن ماری با قابلیت تنظیم دما

۴-۲-۱۰-۶ آون خشک

۵-۲-۱۰-۶ آون خشک خلا

۳-۱۰-۶ روش اجرای آزمون

به‌دقت حدود ۲/۵ گرم از نمونه ژله رویال را در یک بشر وزن کرده و ۳ گرم تا ۵ گرم سلیت به‌آن اضافه کنید. نمونه و سلیت را با یک میله شیشه‌ای به‌خوبی مخلوط کنید تا یکنواخت شود. سپس مخلوط را از بشر به کارتوش منتقل کنید و با پنبه آغشته به اتر، بشر و میله شیشه‌ای را پاک کنید. سپس پنبه را در قسمت بالایی کارتوش قرار دهید. ابتدا کارتوش را در دمای محیط قرار دهید تا بوی اتر از بین برود. کارتوش را به‌مدت ۲ ساعت در آون ۷۰ درجه سلسیوس تحت خلا خشک کنید. سپس ۱۰۰ تا ۱۵۰ میلی لیتر دی اتیل اتر را در بالن استخراجی که خشک شده و به‌وزن ثابت رسیده است بریزید. کارتوش را درون لوله استخراج قرار دهید. آن‌را به لوله کندانسور و بالن استخراج وصل کنید. استخراج چربی را روی اجاق بالن با قابلیت تنظیم دما در حدود ۵۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۸ ساعت انجام دهید. بعد از آن، کارتوش را از لوله استخراج خارج کنید، دی اتیل اتر را در بالن استخراج با تبخیرکننده یا با استفاده از گاز ازت تبخیر کنید. سطح خارجی بالن را پاک

1 - Celite

2 - Thimble filter

کنید و در آن ۱۰۵ درجه سلسیوس به مدت یک ساعت خشک کنید. بعد از خنک کردن بالن در دسیکاتور به مدت یک ساعت، آن را وزن کنید.

۴-۱۰-۶ روش محاسبه

چربی کل ژله رویال با استفاده از فرمول ۹ به شرح زیر به دست آورید:

$$X = \frac{m_2 - m_1}{m} \quad (9)$$

که در آن:

X در صد جرمی چربی کل بر حسب گرم؛

m_1 جرم بالن استخراج که به وزن ثابت رسیده بر حسب گرم؛

m_2 جرم بالن استخراج بعد از استخراج و خشک شدن بر حسب گرم؛

m جرم نمونه بر حسب گرم.

۷ بسته بندی

بسته بندی ژله رویال، بسته به نوع و جنس مواد مورد استفاده در بسته بندی آن باید به شرح زیر انجام گیرد:

۱-۷ بسته بندی ژله رویال باید در شرایط بهداشتی و در ظروف از جنس مناسب و مجاز مورد مصرف در مواد غذایی انجام گیرد.

۲-۷ جنس بسته ها باید به گونه ای باشد که موجب تغییرات فیزیکی و شیمیایی ژله رویال نشود و سبب بو و طعم خارجی در آن نگردد.

۳-۷ بسته باید به صورت محکم و غیر قابل نفوذ در برابر هوا باشد، به گونه ای که کیفیت فرآورده را در طول حمل و نقل حفظ کند و کاهش کمی و کیفی آن را سبب نشود و پیش از مصرف امکان دست کاری و دخل و تصرف در آن وجود نداشته باشد.

۴-۷ در صورت استفاده از ظروف شیشه ای، ویژگی های ظروف باید مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۱۴۰۹، باشد.

۵-۷ در صورت استفاده از ظروف پلیمری و ورق های آلومینیمی، ویژگی های ظروف پلیمری و ورق های آلومینیمی باید مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۳۳۳۱ باشد.

۸ نشانه گذاری

بر روی هر بسته حاوی ژله رویال، علاوه بر رعایت استاندارد ملی ایران شماره ۴۴۷۰، باید حداقل آگاهی‌های زیر با جوهر پاک نشدنی و غیر سمی، برای مصارف داخلی به زبان فارسی و برای صادرات به زبان انگلیسی و یا به زبان کشور خریدار نوشته، چاپ و یا برجسب شود:

الف- نام و نوع فرآورده؛

ب- نام و نشانی تولیدکننده و یا بسته‌بندی‌کننده؛

پ- نام و/یا علامت تجاری (در صورت وجود)؛

ت- سری ساخت؛

ث- عبارت «در کوتاه مدت در یخچال و بیش از یک ماه در دمای انجماد نگه داری شود»؛

ج- عبارت «در مجاورت مواد سمی، مواد خورنده و موادی با بوی خوشایند قرار نگیرد»؛

چ- وزن خالص (بر حسب گرم یا کیلوگرم)؛

ح- تاریخ تولید (روز، ماه، سال)؛

خ- تاریخ انقضاء (روز، ماه، سال)؛

د- شماره پروانه ساخت از مرجع ذیصلاح قانونی؛

ذ- عبارت «ساخت ایران»؛

ر- علامت استاندارد (در صورت اخذ پروانه کاربرد علامت استاندارد)

شیوه ردیابی علامت استاندارد باید بر اساس ضوابط اجرایی سازمان توسط تولیدکننده در نشانه‌گذاری محصول درج شود (به‌طور مثال عبارت «شماره پیامک اصالت پروانه استاندارد ۱۵۱۷۱۰۰۰»)