



سیستم مدیریت ایزو  
www.isomanagement.ir

تماس تلفنی جهت دریافت مشاوره:

۱. مشاور دفتر تهران (آقای محسن ممیز)

☎ ۰۹۱۲ ۹۶۳ ۹۳۳۶

۲. مشاور دفتر اصفهان (سرکار خانم لیلا ممیز)

☎ ۰۹۱۳ ۳۲۲ ۸۲۵۹

مجموعه سیستم مدیریت ایزو با هدف بهبود مستمر عملکرد خود و افزایش رضایت مشتریان سعی بر آن داشته، کلیه استانداردهای ملی و بین المللی را در فضای مجازی نشر داده و اطلاع رسانی کند، که تمام مردم ایران از حقوق اولیه شهروندی خود آگاهی لازم را کسب نمایند و از طرف دیگر کلیه مراکز و کارخانه جات بتوانند به راحتی به استانداردهای مورد نیاز دسترسی داشته باشند.

این موسسه اعلام می دارد در کلیه گرایشهای سیستم های بین المللی ISO پیشگام بوده و کلیه مشاوره های ایزو به صورت رایگان و صدور گواهینامه ها تحت اعتبارات بین المللی سازمان جهانی IAF و تامین صلاحیت ایران می باشد.

هم اکنون سیستم خود را با معیارهای جهانی سازگار کنید...





جمهوری اسلامی ایران  
Islamic Republic of Iran  
سازمان ملی استاندارد ایران

Iranian National Standardization Organization



استاندارد ملی ایران

۳۴۱۴

تجدیدنظر دوم

۱۳۹۸

INSO

3414

2nd Revision

2019

میکروبیولوژی نوشیدنی‌ها- آب میوه، آب  
سبزی و فراورده‌ها- ویژگی‌ها و روش‌های  
آزمون

**Microbiology of Soft drinks-Fruit juice,  
Vegetable juice and products –  
Specifications and test methods**

ICS: 07.100.30; 67.160.20

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: ۸۱۱۴-۳۲۸۰ (۰۲۶)

رایانامه: [standard@isiri.gov.ir](mailto:standard@isiri.gov.ir)

وبگاه: <http://www.isiri.gov.ir>

**Iranian National Standardization Organization (INSO)**

No. 2592 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@isiri.gov.ir](mailto:standard@isiri.gov.ir)

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

## به نام خدا

### آشنایی با سازمان ملی استاندارد ایران

سازمان ملی استاندارد 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 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، به عنوان 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، به عنوان 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)<sup>۱</sup>، کمیسیون بین‌المللی الکتروتکنیک (IEC)<sup>۲</sup> و سازمان بین‌المللی اندازه‌شناسی قانونی (OIML)<sup>۳</sup> است و به عنوان تنها رابط<sup>۴</sup> کمیسیون کدکس غذایی (CAC)<sup>۵</sup> 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 به منظور حفظ بازارهای بین‌المللی برای محصولات کشور، اجرای استانداردهای 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 for Legal Metrology (Organisation Internationale de Metrologie Legals)

4- Contact point

5- Codex Alimentarius Commission

کمیسیون فنی تدوین استاندارد

«میکروبیولوژی نوشیدنی‌ها - آب میوه و آب سبزی - ویژگی‌ها و روش‌های آزمون»

رئیس:

رحیمی‌فرد، ناهید  
(دکتری تخصصی میکروبیولوژی)

اداره کل آزمایشگاه‌های مرجع کنترل غذا، دارو و تجهیزات پزشکی، سازمان غذا و دارو

دبیر:

مقدمی، شهر  
(کارشناسی ارشد میکرو بیولوژی )

پژوهشگاه استاندارد

اعضا: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)

آقاخانی، مریم  
(کارشناسی میکرو بیولوژی)

احمدی، لیلا  
(کارشناسی ارشد شیمی تجزیه)

پورعلی‌اکبر، محمد رضا  
(کارشناسی ارشد میکرو بیولوژی)

حسینی، رضا  
(کارشناسی صنایع غذایی)

حیدرپور، مژگان  
(کارشناسی ارشد میکروبیولوژی)

دالوندی، فرشته  
(کارشناسی ارشد صنایع غذایی)

روشن ضمیر، مهدی  
(کارشناسی ارشد صنایع غذایی)

سعیدخانیان، آرمن  
(کارشناسی صنایع غذایی)

شرکت عالیفرد (سن ایچ)

شرکت عالیفرد (سن ایچ)

شرکت تک دانه

شرکت زرین جم مارینا (سان استار)

پژوهشگاه استاندارد

سازمان غذا و دارو ایران

شرکت عالیفرد (سن ایچ)

شرکت صنایع عوجان ایرانیان

| <u>اعضا:</u> (اسامی به ترتیب حروف الفبا)                    | <u>سمت و/یا محل اشتغال:</u>  |
|---|--|
| سلطانی، نسرین<br>(کارشناسی صنایع غذایی)                     | شرکت سارونه  |
| سید اصفهانی، وحید<br>(کارشناسی ارشد صنایع غذایی)            | شرکت ساسان   |
| شفیعی، عزت اله<br>(کارشناسی صنایع غذایی)                    | شرکت عالیفرد (سن ایچ)  |
| شهایی قهفرخی، ایمان<br>(دکتری صنایع غذایی)                  | دانشگاه زنجان - عضو هیئت علمی  |
| صادقی، سعید<br>(کارشناسی صنایع غذایی)                       | شرکت صنایع عوجان ایرانیان  |
| عاملی، سودا<br>(کارشناسی ارشد میکرو بیولوژی)                | پژوهشگاه استاندارد   |
| محبوبی، محدثه<br>(دکتری تخصصی میکروبیولوژی)                 | شرکت طبیب دارو   |
| محرابی، فرحناز<br>(کارشناسی ارشد بهداشت و ایمنی مواد غذایی) | اداره کل آزمایشگاه های مرجع کنترل غذا، دارو و تجهیزات پزشکی، سازمان غذا و دارو |
| مختاری، فهیم دخت<br>(کارشناسی ارشد ایمونولوژی)              | پژوهشگاه استاندارد   |
| مظاهری، لیدا<br>(کارشناسی میکروبیولوژی)                     | پژوهشگاه استاندارد   |
| <u>ویراستار:</u>  |  |
| مختاری، فهیم دخت<br>(کارشناسی ارشد ایمونولوژی)              | پژوهشگاه استاندارد   |

فهرست مندرجات

| صفحه | عنوان   |
|------|---|
| ز    | پیش‌گفتار   |
| ح    | ۱ هدف و دامنه کاربرد  |
| ۱    | ۲ مراجع الزامی  |
| ۱    | ۳ اصطلاحات و تعاریف   |
| ۲    | ۴ ویژگی‌های میکروبیولوژی  |
| ۴    | ۵ نمونه‌برداری  |
| ۴    | ۶ آماده‌کردن آزمایش   |
| ۵    | ۷ وسایل و تجهیزات   |
| ۵    | ۸ روش‌های آزمون   |
| ۱۱   | ۹ بیان نتایج  |
| ۱۲   | ۱۰ گزارش آزمون  |
| ۱۴   | پیوست الف (الزامی) شمارش باکتری‌های مقاوم به اسید در آب میوه و آب سبزی و فراورده‌ها |

## پیش‌گفتار

استاندارد « میکروبیولوژی نوشیدنی‌ها - آب میوه و آب سبزی و فراورده‌ها - ویژگی‌ها و روش‌های آزمون » که نخستین بار در سال ۱۳۷۶ تدوین و منتشر شد، بر اساس پیشنهادهای دریافتی و بررسی و تأیید کمیسیون‌های مربوط برای دومین بار مورد تجدیدنظر قرار گرفت و در پانصد و نوزدهمین اجلاس کمیته ملی استاندارد بیولوژی و میکروبیولوژی مورخ ۹۸/۰۲/۳۱ تصویب شد. اینک این استاندارد به استناد بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱، به‌عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می‌شود.

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

این استاندارد جایگزین استاندارد ملی ایران شماره ۳۴۱۴: (تجدیدنظر اول): سال ۱۳۸۵ می‌شود.

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

- ۱- مقدمی، شهپر، پایش آب میوه و فراورده‌های تولید ایران از نظر آلودگی به باکتری *آلیسایکلوپاسیلوس/سیدوترستریس* و تعیین حد مجاز باکتری در فرآورده‌های آب میوه‌ها (به روش کلاسیک و مولکولی)، ۱۳۹۶ (شناسه طرح: ۹۱۰۴۰۰۸)، پژوهشکده غذایی و کشاورزی، گروه پژوهشی میکروبیولوژی
- 2- Brackett R.E., Splittstoesser D.F, Fruit and Vegetables in compendium of methods for the microbiological examination of foods, third edition ., USA : APHA, 2005, p 515 – 518.

## میکروبیولوژی نوشیدنی‌ها-آب میوه، آب سبزی و فراورده‌ها - ویژگی‌ها و روش‌های آزمون

### ۱ هدف و دامنه کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد، تعیین ویژگی‌ها و روش آزمون میکروبیولوژی، انواع آب میوه، انواع آب سبزی، انواع نکتار میوه و انواع نوشیدنی میوه بدون گاز از یک نوع میوه یا سبزی یا مخلوط آنها است.

این استاندارد برای انواع آب میوه، نکتار میوه و نوشیدنی میوه پروبیوتیک نیز کاربرد دارد.

این استاندارد برای انواع آب میوه، نکتار و نوشیدنی میوه گازدار کاربرد ندارد.

### ۲ مراجع الزامی

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

در صورتی که به مرجعی با ذکر تاریخ انتشار ارجاع داده شده باشد، اصلاحیه‌ها و تجدیدنظرهای بعدی آن برای این استاندارد الزام‌آور نیست. در مورد مراجعی که بدون ذکر تاریخ انتشار به آنها ارجاع داده شده است، همواره آخرین تجدیدنظر و اصلاحیه‌های بعدی برای این استاندارد الزام‌آور است.

استفاده از مراجع زیر برای کاربرد این استاندارد الزامی است:

۱-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۷۲۱۱، شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک مزوفیل به روش شمارش کلنی در دمای ۳۰ درجه سلسیوس در مواد غذایی

۲-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۵۲۷۲-۱، میکروبیولوژی زنجیره غذایی - روش جامع برای شمارش میکروارگانسیم‌ها - قسمت ۱ - شمارش کلنی در ۳۰ درجه سلسیوس با استفاده از روش کشت آمیخته

۳-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۸۲۴۸، کره، شیرهای تخمیری و پنیر تازه، شمارش میکروارگانسیم‌های آلوده کننده، روش شمارش کلی در ۳۰ درجه سلسیوس - روش آزمون میکروبیولوژی

۴-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۸۶۶۳، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام و آب - آماده‌سازی، ساخت، ذخیره سازی و آزمون عملکرد محیط‌های کشت

۵-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۱-۸۹۲۳، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - آماده سازی آزمایشه- سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای آزمون‌های میکروبیولوژی- قسمت اول- مقررات کلی برای آماده‌سازی سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری

۶-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۴-۸۹۲۳، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- آماده‌سازی آزمایشه، سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای آزمون میکروبیولوژی- قسمت ۴: مقررات ویژه برای آماده‌سازی فرآورده‌های متفرقه

۷-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۹۲۶۳، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام -روش جامع برای شمارش کلیفرم‌ها- روش شمارش کلنی

۸-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۹۴۳۲، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - روش جامع برای شمارش باکتری‌های احیاء کننده سولفیت در شرایط بی‌هوازی

۹-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۹۸۹۹، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام -الزامات کلی و راهنما برای آزمون‌های میکروبیولوژی

۱۰-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۱-۱۰۸۹۹، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- روش شمارش کپک‌ها و مخمرها - قسمت اول : روش شمارش کپک‌ها و مخمرها- روش شمارش کلنی در فرآورده‌های با فعالیت آبی ( $a_w$ ) مساوی یا بیشتر از ۰/۹۵

۱۱-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۱۶۶، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام -روش جامع برای شناسایی و شمارش کلی‌فرمها

۱۲-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۱۲۱۰۵، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - شمارش گونه‌های احتمالی باسیلوس‌های اسپوردار پروبیوتیک

### ۳ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد، اصطلاحات و تعاریف زیر به کار می‌رود:

۱-۳

میوه

**fruit**

طبق تعریف گیاه شناسی، میوه قسمتی از گیاه است که از طریق گلدهی تولید می‌شود و دارای دانه می‌باشد.

یادآوری ۱- چون صیفی‌جات از طریق گلدهی تولید می‌گردند، میوه محسوب می‌شوند.

۲-۳

سبزی

**vegetables**

به اندام‌هایی مانند ساقه، برگ، ریشه و حتی جوانه گل یک گیاه، گفته می‌شود.

۳-۳

آب میوه طبیعی

**natural fruit juice**

فراورده‌ای است تخمیر نشده، ولی قابل تخمیر که به‌روش فیزیکی از میوه تازه، سالم و رسیده به‌دست می‌آید و به‌روش‌های فیزیکی نگهداری می‌شود.

۴-۳

نکتار میوه

**fruit nectar**

فراورده‌ای است تخمیر نشده که از مخلوط کردن آب میوه طبیعی یا آب میوه بازسازی شده با قسمت‌های خوراکی میوه مانند پوره و پالپ میوه، تکه‌های میوه، برچه و پرک میوه، به‌صورت کلوئید پراکنده تهیه شده و به‌روش‌های فیزیکی نگهداری می‌شود.

۵-۳

نوشیدنی میوه‌ای (بدون گاز)

**non-carbonated fruit drinks**

فراورده‌ای است تخمیر نشده ولی قابل تخمیر که از مخلوط کردن آب میوه طبیعی یا آب میوه بازسازی شده، پوره میوه و یا قسمت‌های خوراکی میوه مانند گوشت میوه، پرک میوه، تکه‌های میوه، از یک نوع میوه (ساده) یا مخلوط انواع میوه‌ها با آب آشامیدنی با/ بدون سایر تکه‌های خوراکی به‌دست می‌آید و پس از اعمال فرایند حرارتی نگهداری می‌شود.

[منبع: زیربند ۴-۱ استاندارد ملی ایران شماره ۲۸۳۷]

۳-۶

آب میوه بازسازی شده

**reconstitued fruit juice**

فراورده‌ای است تخمیر نشده ولی قابل تخمیر که از مخلوط کردن آب میوه تغلیظ شده با آب، به‌دست می‌آید. و به‌روش‌های فیزیکی نگهداری می‌شود.

۳-۷

آب سبزی

**vegetable juice**

فراورده‌ای است تخمیر نشده ولی قابل تخمیر که به‌روش فیزیکی از سبزی‌های سالم و رسیده به‌دست می‌آید و به‌روش‌های فیزیکی نگهداری می‌شود.

۳-۸

مخلوط آب میوه‌ها، مخلوط آب سبزی‌ها و مخلوط آب میوه با آب سبزی

**mixed fruit juice, mixed vegetable juice and mixed fruit juice with vegetable juice**

فراورده‌ای است که از مخلوط کردن آب دو یا چند میوه، آب دو یا چند سبزی و یا از مخلوط کردن آب دو یا چند میوه با آب دو یا چند سبزی تهیه می‌شود.

۳-۹

باکتری‌های اسید لاکتیک

**lactic acid bacteria**

باکتری‌های گرم مثبت، هوازی اختیاری یا میکروآئروفیل و کاتالاز منفی هستند که به شرایط اسیدی به‌طور نسبی مقاوم هستند.

۳-۱۰

باکتری‌های مقاوم به اسید

**acid resistant bacteria**

باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی، هوازی و کم هوازی هستند که در pH=۲ تا pH=۴ به خوبی رشد و تکثیر می‌کنند.

۱۱-۳

### میکروارگانيسم‌های هوازی

#### aerobic microorganisms

تمامی میکروارگانيسم‌هایی که بعد از گرمخانه‌گذاری در شرایط هوازی در دمای ۳۰°C، قابلیت رشد و تشکیل کلنی در محیط کشت جامد را دارند.

[منبع: بند ۱ استاندارد ملی ایران شماره ۱-۵۲۷۲]

۱۲-۳

#### مخمرها

#### yeasts

میکروارگانيسم‌های تک سلولی، هوازی اختیاری مزوفیل که تحت شرایط شرح داده شده در استاندارد ملی ایران شماره ۱-۱۰۸۹۹، کلنی‌های گرد مات یا درخشان، معمولاً دارای پیرامون منظم و با تحدب کم یا زیاد، در سطح محیط‌های کشت قارچی، ایجاد می‌کنند.

[منبع: زیربند ۲-۴ استاندارد ملی ایران شماره ۱-۱۰۸۹۹]

۱۳-۳

#### کپک‌ها

#### molds

میکروارگانيسم‌های رشته‌ای، هوازی مزوفیل که تحت شرایط شرح داده شده در استاندارد ملی ایران شماره ۱-۱۰۸۹۹، معمولاً به صورت کلنی، پروپاگول<sup>۱</sup> یا جوانه<sup>۲</sup> صاف یا کرک‌دار، در سطح محیط‌های کشت قارچی ایجاد می‌کنند.

[منبع: زیربند ۱-۴ استاندارد ملی ایران شماره ۱-۱۰۸۹۹]

---

۱- به موجودات زنده مانند سلول رویشی، گروه سلول‌ها، اسپور، خوشه‌های اسپور یا قطعه‌ای از یک میسیلیوم قارچی گفته می‌شود که قادر به رشد در محیط کشت مغذی می‌باشد.

2- Germ

۱۴-۳

### کلیفرم

#### coliform

گروهی از باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه هستند که آنزیم بتا-دی-گالاکتوزیداز تولید می‌کنند و در دمای  $30^{\circ}\text{C}$  یا  $37^{\circ}\text{C}$  روی محیط کشت کریستال بنفش دارای قرمز خنثی با نمک‌های صفراوی، لاکتوز و آگار (VRBL)<sup>۱</sup>، کلنی مشخص تشکیل می‌دهند و در آزمون تأییدی با تخمیر لاکتوز، تولید گاز می‌کنند.

[منبع: زیربند ۴-۱ استاندارد ملی ایران شماره ۹۲۶۳]

۱۵-۳

### میکروارگانسیم‌های آلوده کننده غیرلاکتیک

#### non-lactic contaminating microorganisms

منظور کلنی‌های قابل شمارش باکتری‌های غیرلاکتیکی، مخمرها و کپک‌ها است.

[منبع: زیربند ۴-۱ استاندارد ملی ایران شماره ۸۲۴۸]

۱۶-۳

### پروبیوتیک

#### probiotic

میکروارگانسیم‌های (باکتری و مخمر) زنده و فعالی که با استقرار در بخش‌های مختلف بدن (اساساً روده) به تعداد مناسب، با فعالیت زیستی خود، عمدتاً از طریق حفظ و بهبود توازن فلور میکروبی روده میان میکروارگانسیم‌های سودمند و زیان بخش، در بردارنده خواص سلامت بخش برای میزبان هستند.

[منبع: زیربند ۳-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۳۲۴]

یاد آوری - جنس‌ها، گونه‌ها و سویه‌های میکروارگانسیم‌های پروبیوتیک مورد استفاده باید به تایید مراجع قانونی و ذیصلاح<sup>۲</sup> برسد.

---

1- Crystal violet neutral red bile lactose agar (VRBL)

۲- منظور از مراجع قانونی و ذیصلاح کشور، در حال حاضر، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی است.

۱۷-۳

### قابلیت زیستی

#### viability

درجه زنده و فعال بودن میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک در محصول نهایی است. این ویژگی اغلب از راه شمارش تعداد سلول‌های زنده و فعال پروبیوتیک در محیط کشت تعیین می‌شود.

[منبع: زیربند ۳-۵ استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۳۲۴]

۱۸-۳

### باسیلوس‌های اسپوردار پروبیوتیک

#### spore-forming probiotic bacillus

باکتری‌های گرم مثبت، با توانایی تولید اسپور، کاتالاز مثبت و دارای حرکت هستند که در دامنه دمایی  $25^{\circ}\text{C}$  تا  $55^{\circ}\text{C}$  رشد می‌کنند.

[منبع: زیربند ۳-۱ استاندارد ملی ایران شماره ۱۲۱۰۵]

### ۴ ویژگی‌های میکروبیولوژی

#### ۱-۴ انواع آب میوه و فرآورده‌های آن

ویژگی‌های میکروبیولوژی انواع آب میوه و فرآورده‌های آن باید مطابق با جدول ۱ باشد.

جدول ۱- ویژگی‌های میکروبیولوژی انواع آب میوه و فرآورده‌های آنها

| ردیف | ویژگی                    | حد قابل قبول (cfu/ml) | روش آزمون                         |
|------|--------------------------|-----------------------|-----------------------------------|
| ۱    | باکتری‌های مقاوم به اسید | کمتر از ۱             | مطابق پیوست الف این استاندارد     |
| ۲    | باکتری‌های اسید لاکتیک   | کمتر از ۱             | استاندارد ملی ایران شماره ۴۷۲۱    |
| ۳    | کپک و مخمر               | کمتر از ۱             | استاندارد ملی ایران شماره ۱-۱۰۸۹۹ |

#### ۲-۴ انواع آب سبزی و فرآورده‌های آن

ویژگی‌های میکروبیولوژی انواع آب سبزی و فرآورده‌های آن باید مطابق با جدول ۲ باشد.

جدول ۲- ویژگی‌های میکروبیولوژی آب سبزی و فراورده‌های آنها

| ردیف   | ویژگی   | حد قابل قبول (cfu/ml) | روش آزمون                              |
|--|---|-----------------------|--|
| ۱  | باکتری‌های هوازی                                | کمتر از ۱             | استاندارد ملی ایران شماره ۱-۵۲۷۲       |
| ۲  | کلی‌فرم <sup>a</sup>                            | کمتر از ۱             | استاندارد ملی ایران شماره ۹۲۶۳ و ۱۱۱۶۶ |
| ۳  | باکتری‌های احیاء کننده سولفیت در شرایط بی‌هوازی | کمتر از ۱             | استاندارد ملی ایران شماره ۲-۹۴۳۲       |
| ۴  | کپک و مخمر                                      | کمتر از ۱             | استاندارد ملی ایران شماره ۱-۱۰۸۹۹      |
| <sup>a</sup> در این استاندارد، استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۱۶۶ روش مرجع می‌باشد. |   |                       |  |

۳-۴ مخلوط انواع آب میوه و آب سبزی و فراورده‌های آنها

ویژگی‌های میکروبیولوژی مخلوط انواع آب میوه و آب سبزی و فراورده‌های آنها باید مطابق با جدول ۳ باشد.

جدول ۳- ویژگی‌های میکروبیولوژی مخلوط انواع آب میوه و آب سبزی و فراورده‌های آنها

| ردیف   | ویژگی   | حد قابل قبول (cfu/ml) | روش آزمون                              |
|--|---|-----------------------|--|
| ۱  | باکتری‌های هوازی                                | کمتر از ۱             | استاندارد ملی ایران شماره ۱-۵۲۷۲       |
| ۲  | باکتری‌های اسیدلاکتیک                           | کمتر از ۱             | استاندارد ملی ایران شماره ۱-۴۷۲۱       |
| ۴  | کلی‌فرم <sup>a</sup>                            | کمتر از ۱             | استاندارد ملی ایران شماره ۹۲۶۳ و ۱۱۱۶۶ |
| ۵  | باکتری‌های احیاء کننده سولفیت در شرایط بی‌هوازی | کمتر از ۱             | استاندارد ملی ایران شماره ۲-۹۴۳۲       |
| ۶  | کپک و مخمر                                      | کمتر از ۱             | استاندارد ملی ایران شماره ۱-۱۰۸۹۹      |
| <sup>a</sup> در این استاندارد، استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۱۶۶ روش مرجع می‌باشد. |   |                       |  |

## ۵ ویژگی‌های میکروبیولوژی انواع آب میوه و فراورده‌ها، آب سبزی و مخلوط آنها و مخلوط آب میوه و آب سبزی پروبیوتیک

۱-۵ قابلیت زیستی هر یک از سوبه‌های پروبیوتیک به کار رفته در فرآورده‌های نوشته شده در بند ۵ تا پایان تاریخ انقضای مصرف، نباید کمتر از  $10^6$  cfu/ml باشد.  
یادآوری - تولید فرآورده‌های پروبیوتیک، باید با اخذ مجوز از مراجع قانونی و ذی صلاح کشور باشد.

۲-۵ آلودگی‌های میکروبیولوژی انواع آب میوه، آب سبزی و مخلوط آنها و مخلوط آب میوه و آب سبزی پروبیوتیک که در ترکیب آنها از میکروارگانیسم‌های غیرلاکتیک (مانند باکتری‌های اسپوردار) به‌عنوان پروبیوتیک استفاده شده، باید مطابق با جدول ۴ این استاندارد باشد.

### جدول ۴- آلودگی‌های میکروبیولوژی انواع آب میوه و آب سبزی حاوی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک غیرلاکتیک

| ردیف   | ویژگی                | حد قابل قبول (cfu/ml) | روش آزمون                              |
|--|----------------------|-----------------------|--|
| ۱  | کلی فرم <sup>a</sup> | کمتر از ۱             | استاندارد ملی ایران شماره ۹۲۶۳ و ۱۱۱۶۶ |
| ۲  | کپک و مخمر           | کمتر از ۱             | استاندارد ملی ایران شماره ۱-۱۰۸۹۹      |
| <sup>a</sup> در این استاندارد، استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۱۶۶ روش مرجع می‌باشد. |                      |                       |  |

۳-۵ آلودگی‌های میکروبیولوژی انواع آب میوه، آب سبزی و مخلوط آنها و مخلوط آب میوه و آب سبزی پروبیوتیک که در ترکیب آنها از میکروارگانیسم‌های لاکتیک به‌عنوان پروبیوتیک استفاده شده باید مطابق با جدول ۵ این استاندارد باشد.

### جدول ۵- آلودگی‌های میکروبیولوژی انواع آب میوه و آب سبزی حاوی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک لاکتیک

| ردیف   | ویژگی                       | حد قابل قبول (cfu/ml) | روش آزمون                              |
|--|-----------------------------|-----------------------|--|
| ۱  | میکروارگانیسم‌های غیرلاکتیک | کمتر از ۱             | استاندارد ملی ایران شماره ۸۲۴۸         |
| ۲  | کلی فرم <sup>a</sup>        | کمتر از ۱             | استاندارد ملی ایران شماره ۹۲۶۳ و ۱۱۱۶۶ |
| <sup>a</sup> در این استاندارد، استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۱۶۶ روش مرجع می‌باشد. |                             |                       |  |

## ۶ نمونه برداری

نمونه‌هایی که به آزمایشگاه ارسال گردیده و تحویل داده می‌شود، باید نماینده واقعی کل کالا بوده و در طی حمل، جابه‌جایی و نگهداری آن صدمه ندیده و یا تغییرات فیزیکی و شیمیایی در آن ایجاد نشده باشد و در شرایطی نگهداری شوند که امکان رشد میکروارگانیسم‌ها در آن وجود نداشته باشد. برای آگاهی بیشتر از شرایط کلی نمونه برداری و نگهداری نمونه به‌منظور انجام آزمون‌های میکروبیولوژی به استاندارد ملی ایران شماره ۹۸۹۹، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- راهنمای الزامات کلی برای آزمون مراجعه کنید.

## ۷ وسایل و تجهیزات

از وسایل و تجهیزات معمول در آزمایشگاه میکروبیولوژی که در استاندارد ملی ایران شماره ۹۹۹۸، استفاده کنید.

## ۸ آماده کردن آزمایش

۱-۸ آماده سازی آزمایش و تهیه رقت‌های لازم باید مطابق با استانداردهای ملی ایران شماره‌های ۱-۸۹۲۳ و ۴-۸۹۲۳ انجام شود.

## ۹ روش‌های آزمون

### ۱-۹ آلودگی‌های میکروبیولوژی

مطابق با جدول‌های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ این استاندارد انجام شود.

### ۲-۹ میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک

در صورت استفاده از باکتری‌های اسپوردار (مانند *باسیلوس کواگولانس*)، آزمون شمارش میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک، باید مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۱۲۱۰۵، انجام شود.

در صورت استفاده از سایر انواع باکتری‌های پروبیوتیک، آزمون شمارش میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک، باید مطابق با استانداردهای ملی و بین‌المللی (در صورت وجود)، انجام شود. در صورت عدم وجود روش‌های استاندارد، روش شمارش باید توسط تولیدکننده اعلام گردد.

## ۱۰ نشانه‌گذاری

۱-۱۰ نشانه‌گذاری فراورده غیر پروبیوتیک، علاوه بر رعایت استاندارد ملی ایران به شماره ۴۴۷۰ باید مطابق با استاندارد مربوط باشد.

۲-۱۰ نشانه‌گذاری فراورده پروبیوتیک، علاوه بر رعایت استاندارد ملی ایران به شماره ۴۴۷۰، آگاهی‌های زیر باید روی هر بسته فراورده، به‌طور واضح، خوانا و پاک‌نشدنی، برای مصارف داخلی به زبان فارسی و برای صادرات به زبان انگلیسی یا به‌زبان کشور خریدار، با استفاده از جوهر غیر سمی و پاک‌نشدنی نوشته یا برچسب شود.

۳-۱۰ نام و نام فراورده (برای مثال "آب میوه پروبیوتیک")

۴-۱۰ ادعا/ ادعاهای سلامت بخش عمومی در صورت پروبیوتیک بودن محصول، با ذکر عینی کلیشه - عبارت «خواص سلامت بخش عمومی: بهبود سلامت و کارایی سیستم گوارشی، تنظیم و تقویت سیستم ایمنی، کاهش کلسترول، کاهش عوارض عدم تحمل لاکتوز، افزایش ارزش تغذیه‌ای غذا»

۵-۱۰ در صورت پروبیوتیک بودن محصول، ارائه هرگونه ادعای سلامت بخش دیگر به‌جز عناوین نوشته شده در زیر بند ۱۰-۲-۲ این استاندارد، فراورده پروبیوتیک را مشمول خواص سلامت بخش اختصاصی می‌کند و بدون کسب مجوز از مراجع قانونی و ذی‌صلاح کشور ممنوع می‌باشد.

## ۱۱ گزارش آزمون

۱-۱۱ گزارش آزمون باید دارای آگاهی‌های زیر باشد:

۱-۱-۱۱ نام و نشانی کامل و شماره مجوز قانونی

۲-۱-۱۱ فعالیت آزمایشگاه/ محل انجام آزمون؛

۳-۱-۱۱ نام و نشانی کامل متقاضی؛

۴-۱-۱۱ روش آزمون طبق استاندارد ملی ایران شماره ۶۳۳۲ (تجدید نظر اول)؛

۵-۱-۱۱ نتایج آزمون؛

۶-۱-۱۱ تاریخ انجام آزمون؛ تاریخ اعلام نتیجه آزمون؛

۷-۱-۱۱ نام و نام خانوادگی و امضای آزمایش کننده؛

۸-۱-۱۱ نام و نام خانوادگی و امضای تأیید کننده، ممه‌ور به مهر قانونی آزمایشگاه/ محل انجام آزمون.

## پیوست الف

### (الزامی)

شمارش باکتری‌های مقاوم به اسید در نوشیدنی‌ها - آب میوه و آب سبزی و فراورده‌های آنها

الف- ۱ مواد و محیط‌های کشت

الف-۱-۱ محیط کشت آگار حاوی عصاره پرتقال<sup>۱</sup>

الف-۱-۱-۱ مواد تشکیل دهنده

|                              |                |
|------------------------------|----------------|
| عصاره مخمر <sup>۲</sup>      | ۳٫۰ گرم        |
| عصاره پرتقال <sup>۳</sup>    | ۳٫۵ گرم        |
| گلوکز <sup>۴</sup>           | ۴٫۰ گرم        |
| دی پتاسیم فسفات <sup>۵</sup> | ۲٫۵ گرم        |
| آگار <sup>۶</sup>            | ۱۷٫۰ گرم       |
| آب مقطر <sup>۷</sup>         | ۱۰۰۰ میلی لیتر |

الف-۱-۱-۲ روش تهیه

مواد نوشته شده بالا را با حرارت دادن (در صورت نیاز)، در آب مقطر حل کنید. محیط کشت را در مقادیر ۱۰۰ ml تا ۱۵۰ ml، در ظروف مناسب تقسیم کرده و در اتوکلاو در دمای ۱۲۱°C، به مدت زمان ۱۵ min، سترون کنید. pH را به گونه‌ای تنظیم کنید، که پس از سترون کردن معادل  $5.5 \pm 0.2$  در دمای ۲۵°C باشد. هنگام استفاده از محیط کشت، دمای آن را با استفاده از حمام آب به حدود ۴۴°C تا ۴۷°C، برسانید.

- 
- 1- Orang serum agar (OSA)
  - 3- Yeast extract
  - 4- Orange extract
  - 5- Glucose
  - 6- Di-potassium Phosphate
  - 7- Agar
  - 8- Distilled Water

## الف-۲ روش اجرای آزمون

### الف-۲-۱ روش کشت آمیخته<sup>۱</sup>

برای هر آزمون، سوسپانسیون اولیه و یا رقت‌های آن دو پتری‌دیش در نظر بگیرید. با رعایت شرایط سترونی و با استفاده از پی‌پت سترون، مقدار ۲ ml از آزمون را به مرکز هر یک از ظروف پتری‌دیش (به هر کدام ۱ ml)، تلقیح کنید.

یادآوری ۱- به منظور کنترل سترونی، با انجام هر آزمون، یک پتری‌دیش بدون تلقیح آزمون را به‌عنوان شاهد در نظر بگیرید.

بی‌درنگ مقدار ۱۵ ml از محیط کشت زیربند (الف ۱-۱) پیوست الزامی این استاندارد ملی را که دمای آن به  $44^{\circ}\text{C}$  تا  $47^{\circ}\text{C}$  رسیده است، در مدت زمان ۱۵ min از زمان تلقیح (برای جلوگیری از تجمع کلنی‌ها) در هر پتری‌دیش ۱۸ ml تا ۲۰ ml بریزید. سپس پلیت را از سمت جلو به عقب و به‌صورت دورانی و چرخشی (به شکل «8») حرکت داده و کاملاً آزمون را با محیط کشت مخلوط و یکنواخت کنید و تا جامد شدن محیط، پلیت‌ها را بر روی سطح صاف و خنک، قرار دهید. سپس به‌صورت وارونه در گرمخانه با دمای  $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ، به مدت زمان ۵ d قرار دهید.

یادآوری ۱- از ریختن مستقیم محیط کشت ذوب شده بر روی مایع تلقیح شده خودداری کنید.

### الف-۲-۲ شمارش

پس از پایان گرمخانه‌گذاری کلنی‌های هر پلیت را شمارش کنید. کلنی‌های گسترش یافته را باید یک کلنی تک به حساب آورید. اگر کمتر از یک چهارم سطح محیط کشت به وسیله کلنی گسترش یافته اشغال شود، تعداد کلنی‌های موجود در بقیه سطح محیط کشت را شمارش کرده و به کل پلیت تعمیم دهید. اگر بیش از یک چهارم سطح محیط کشت توسط کلنی‌های گسترش یافته اشغال شده است، آن پلیت را برای شمارش انتخاب نکنید.

الف- ۳ آزمون عملکرد برای تضمین کیفیت محیط کشت

برای کنترل عملکرد محیط کشت OSA به استاندارد ملی ایران ۸۶۶۳ مراجعه کنید.  
برای بررسی قابلیت رشد محیط کشت آگار حاوی عصاره پرتقال از جدول الف- ۱ استفاده کنید.

جدول الف- ۱- معیارهای عملکرد برای کنترل کیفیت محیط کشت آگار حاوی عصاره پرتقال

| معیار  | محیط کشت مرجع | سویه‌های کنترل <sup>a</sup>  | گرمخانه‌گذاری                                     | روش کنترل | عملکرد     |
|--|---------------|--|---|-----------|------------|
| $1/4 > P_r \geq 0/7$                                     | MRS agar      | <i>Lactobacillus sakei</i> WDCM 00015<br><i>Lactococcus lactis</i> WDCM 00016<br><i>Lactobacillus casei</i> WDCM 00100<br><i>Lactobacillus plantarum</i> WDCM00104 | $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$<br>/5d | کمی       | قابلیت رشد |
| <sup>a</sup> استفاده از حداقل یکی از سویه‌ها الزامی است. |               |  |   |           |            |