



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  
۶۲۷۴  
تجدیدنظر اول  
۱۳۹۸

INSO  
6274  
1st Revision  
2019

میکروبیولوژی شربت –  
ویژگی‌ها و روش‌های آزمون

**Microbiology of Syrup –  
Specifications and test methods**

ICS: 07.100.30; 67.160.20

استاندارد ملی ایران شماره ۶۲۷۴ (تجدید نظراول): سال ۱۳۹۸

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: ۳۲۸۰۸۱۱۴ (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 شربت - ویژگی‌ها و روش‌های آزمون »

سمت و/یا محل اشتغال:

رئیس:

پژوهشگاه استاندارد

مختاری، فهیم دخت  
(کارشناسی ارشد ایمونولوژی)

دبیر:

پژوهشگاه استاندارد

مقدمی، شهپر  
(کارشناسی ارشد میکروبیولوژی)

اعضا: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)

شرکت عالیفرد(سن ایچ)

احمدی، لیلا  
(کارشناسی ارشد شیمی تجزیه)

شرکت کشت و صنعت تکدانه

پور علی اکبر، محمد رضا  
(کارشناسی ارشد میکرو بیولوژی)

سازمان غذا و دارو

تکلو، معصومه  
(کارشناسی ارشد صنایع غذایی)

شرکت زرین جم مارینا (سان استار)

حسینی، رضا  
(کارشناسی صنایع غذایی)

اداره کل آزمایشگاه های مرجع کنترل غذا، دارو و تجهیزات پزشکی، سازمان غذا و دارو

خضری پور، معصومه  
(کارشناسی ارشد بیو تکنولوژی)

شرکت عالیفرد (سن ایچ)

دهقان، آتنا  
(دکتری صنایع غذایی)

سازمان غذا و دارو

دالوندی، فرشته  
(کارشناسی ارشد صنایع غذایی)

اداره کل آزمایشگاه های مرجع کنترل غذا، دارو و تجهیزات پزشکی، سازمان غذا و دارو

رحیمی فرد، ناهید  
(دکتری تخصصی میکروبیولوژی)

شرکت صنایع عوجان ایرانیان

سعیدخانیان، آرمن  
(کارشناسی صنایع غذایی)

اعضا: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)

سمت و/یا محل اشتغال:

شرکت سارونه

سلطانی، نسرین

(کارشناسی صنایع غذایی)

شرکت سهامی پپسی

سید اصفهانی، وحید

(کارشناسی ارشد صنایع غذایی)

شرکت عالیفرد(سن ایچ)

شفیعی، غزت اله

(کارشناسی صنایع غذایی)

دانشگاه زنجان – عضو هیئت علمی

شهابی قهفرخی، ایمان

(دکتری صنایع غذایی)

شرکت صنایع عوجان ایرانیان

صادقی، سعید

(کارشناسی صنایع غذایی)

پژوهشگاه استاندارد

عاملی، سودا

(کارشناسی ارشد میکروبیولوژی)

اداره کل آزمایشگاه های مرجع کنترل غذا، دارو و تجهیزات پزشکی، سازمان غذا و دارو

محرابی، فرحناز

(کارشناسی ارشد بهداشت و ایمنی مواد غذایی)

شرکت طبیب دارو

محبوبی، محدثه

(دکتری تخصصی میکروبیولوژی)

شرکت عالیفرد(سن ایچ)

محمد زمان بیگی، الهه

(کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی)

سازمان ملی استاندارد

کامران، سمیه

(کارشناسی ارشد بیوشیمی)

سازمان ملی استاندارد

معمارزاده، سمیه

(کارشناسی ارشد میکروبیولوژی)

ویراستار:

پژوهشگاه استاندارد

مختاری، فهیم دخت

(کارشناسی ارشد ایمونولوژی)

## فهرست مندرجات

| صفحه | عنوان   |
|------|---|
| ز    | پیش‌گفتار   |
| ۱    | ۱ هدف و دامنه کاربرد                                      |
| ۱    | ۲ مراجع الزامی  |
| ۲    | ۳ اصطلاحات و تعاریف                                       |
| ۳    | ۴ ویژگی‌های میکروبیولوژی                                  |
| ۳    | ۵ نمونه‌برداری  |
| ۴    | ۶ وسایل و تجهیزات   |
| ۴    | ۷ آماده کردن آزمایش                                       |
| ۴    | ۸ روش آزمون   |
| ۴    | ۹ بیان نتایج  |
| ۵    | ۱۰ گزارش آزمون  |
| ۶    | پیوست الف (الزامی) شمارش باکتری‌های مقاوم به اسید در شربت |

## پیش‌گفتار

استاندارد « میکروبیولوژی شربت- ویژگی‌ها و روش‌های آزمون » که نخستین بار در سال ۱۳۸۱ تدوین و منتشر شد، بر اساس پیشنهادهای دریافتی و بررسی و تأیید کمیسیون‌های مربوط برای اولین 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 ۶۲۷۴: سال ۱۳۸۱ می‌شود.

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

1-Brackett R.E., Splittstoesser D.F, *Fruit and Vegetables in compendium of methods for the microbiological examination of foods*, third edition ., USA : APHA, 2005, p515 – 518.



## میکروبیولوژی شربت - ویژگی‌ها و روش‌های آزمون

### ۱ هدف و دامنه کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد، تعیین ویژگی‌ها و روش‌های آزمون میکروبیولوژی، انواع شربت‌های بسته‌بندی شده است.

این استاندارد برای انواع شربت‌های بسته‌بندی شده کاربرد دارد.

### 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 ۳۱۹۶، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - مخمرهای اسموفیلیک - روش شمارش

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

۳-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۸۶۶۳، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام و آب - آماده‌سازی، ساخت، ذخیره سازی و آزمون عملکرد محیط‌های کشت

۴-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۸۹۲۳-۱، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - آماده سازی آزمایش، سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای آزمون‌های میکروبیولوژی - قسمت اول - مقررات کلی برای آماده‌سازی سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری

۵-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۸۹۲۳-۴، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - آماده‌سازی آزمایش، سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای آزمون میکروبیولوژی - قسمت ۴: مقررات ویژه برای آماده - سازی فرآورده‌های متفرقه

۶-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۹۸۹۹، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- راهنمای الزامات کلی برای آزمون

۷-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۸۹۹-۲، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- روش شمارش کپک‌ها و مخمرها - قسمت اول: روش شمارش کپک‌ها و مخمرها - روش شمارش کلنی در فرآورده- های با فعالیت آبی ( $a_w$ ) مساوی یا کمتر از ۰/۹۵

### ۳ اصطلاحات و تعاریف

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

۱-۳

شربت

#### **syrup**

فرآورده‌ای است، که از اختلاط آب، شیرین کننده‌ها، طعم دهنده‌های مجاز خوراکی و افزودنی‌های مجاز خوراکی با/ بدون آب میوه، کنسانتره آب میوه، پوره میوه و عصاره‌ها و دانه‌های (تخم و بذر) گیاهی تا رسیدن به غلظت مطلوب به دست می‌آید و به روش‌های فیزیکی نگهداری و بسته بندی می‌شود.

۲-۳

میکروارگانسیم‌های هوازی

#### **aerobic microorganisms**

تمامی میکروارگانسیم‌هایی که بعد از گرمخانه‌گذاری در شرایط هوازی در دمای  $30^{\circ}\text{C}$ ، قابلیت رشد و تشکیل کلنی در محیط کشت جامد را دارند.

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

باکتری‌های مقاوم به اسید

#### **acid resistant bacteria**

باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی، هوازی و کم هوازی هستند که در  $\text{pH}=2$  تا  $\text{pH}=4$  به خوبی رشد و تکثیر می‌کنند.

۳-۳

### کپک‌ها

#### molds

میکروارگانسیم‌های رشته‌ای، هوازی مزوفیل که تحت شرایط شرح داده شده در استاندارد ملی ایران شماره ۲-۱۰۸۹۹، 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 ۴-۱ استاندارد ملی ایران شماره ۲-۱۰۸۹۹]

۴-۳

### مخمرهای اسموفیلیک

#### osmophilic yeasts

میکروارگانسیم‌هایی هستند که در شرایط نوشته شده در استاندارد ملی ایران شماره ۳۱۹۶، روی محیط کشت جامد انتخابی رشد می‌کنند.

[منبع: زیربند ۳-۱ استاندارد ملی ایران شماره ۳۱۹۶]

### ۴ ویژگی‌های میکروبیولوژی

۴-۱ ویژگی‌های میکروبیولوژی انواع شربت، باید مطابق با جدول ۱ این استاندارد باشد.

جدول ۱- ویژگی‌های میکروبیولوژی انواع شربت

| حد قابل قبول (cfu/g) | ویژگی                    | ردیف |
|----------------------|--------------------------|------|
| $1 \times 10^2$      | باکتری‌های هوازی         | ۱    |
| ۱۰                   | باکتری‌های مقاوم به اسید | ۲    |
| کمتر از ۱۰           | کپک                      | ۳    |
| ۵۰                   | مخمرهای اسموفیلیک        | ۴    |

### ۵ 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 میکروارگانسیم‌ها در آن وجود نداشته باشد. برای آگاهی بیشتر از شرایط کلی نمونه برداری و نگهداری نمونه به منظور انجام آزمون‌های میکروبیولوژی به استاندارد ملی ایران شماره ۹۸۹۹، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- راهنمای الزامات کلی برای آزمون مراجعه کنید.

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

## ۶ وسایل و تجهیزات

از وسایل و تجهیزات معمول در آزمایشگاه میکروبی که در استاندارد ملی ایران شماره ۹۹۹۸، نوشته شده است، استفاده کنید.

## ۷ آماده کردن آزمایش

۱-۷ آماده‌سازی آزمایش و تهیه رقت‌های لازم باید مطابق با استاندارد ملی ایران شماره‌های ۱-۸۹۲۳ و ۴-۸۹۲۳ انجام شود.

## ۸ روش‌های آزمون

### ۱-۸ شمارش کلی باکتری‌های هوازی

آزمون شمارش کلی باکتری‌های هوازی، باید مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۱-۵۲۷۲ انجام شود.

### ۲-۸ شمارش باکتری‌های مقاوم به اسید

آزمون شمارش باکتری‌های مقاوم به اسید، باید مطابق با پیوست الف (الزامی) این استاندارد ملی انجام شود.

### ۳-۸ شمارش کپک

آزمون شمارش کپک و مخمر، باید مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۲-۱۰۸۹۹ انجام شود.

### ۴-۸ شمارش مخمرهای اسموفیلیک

آزمون شمارش مخمرهای اسموفیلیک باید مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۳۱۹۶ انجام شود.

## ۹ بیان نتایج

برای بیان نتایج، به استاندارد ملی ایران شماره ۹۸۹۹ مراجعه کنید.

## ۱۰ گزارش آزمون

گزارش آزمون باید دارای آگاهی‌های زیر باشد:

۱-۱۰ نام و نشانی کامل و شماره مجوز قانونی فعالیت آزمایشگاه/ محل انجام آزمون؛

۲-۱۰ نام و نشانی کامل متقاضی؛

۳-۱۰ روش آزمون طبق استاندارد ملی ایران شماره ۶۲۷۴ (تجدید نظر اول)؛

۴-۱۰ نتایج آزمون؛

۵-۱۰ تاریخ انجام آزمون؛

۶-۱۰ تاریخ اعلام نتیجه آزمون؛

۷-۱۰ نام و نام خانوادگی و امضای آزمایش کننده؛

۸-۱۰ 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 شربت‌ها

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

| <u>مقدار</u>   | <u>ترکیبات</u>               |
|----------------|------------------------------|
| ۱۵٫۵ گرم       | پپتون از کازئین <sup>۲</sup> |
| ۳٫۰ گرم        | عصاره مخمر <sup>۳</sup>      |
| ۳٫۵ گرم        | عصاره پرتقال <sup>۴</sup>    |
| ۴٫۰ گرم        | گلوکز <sup>۵</sup>           |
| ۲٫۵ گرم        | دی پتاسیم فسفات <sup>۶</sup> |
| ۱۷٫۰ گرم       | آگار <sup>۷</sup>            |
| ۱۰۰۰ میلی‌لیتر | آب مقطر <sup>۸</sup>         |

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  $121^{\circ}\text{C}$ ، 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  $25^{\circ}\text{C}$  باشد. هنگام استفاده از محیط کشت، دمای آن را با استفاده از حمام آب به حدود  $44^{\circ}\text{C}$  تا  $47^{\circ}\text{C}$ ، برسانید.

- 
- 1- Orang serum agar (OSA)
  - 2- Peptone from casein
  - 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 به- عنوان 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 ۴۴°C تا ۴۷°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 به صورت 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 به صورت 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

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

| عملکرد   | روش کنترل | گرمخانه‌گذار<br>ی | سویه‌های کنترل <sup>a</sup>   | محیط کشت<br>مرجع | معیار                |
|--|-----------|-------------------|---|------------------|----------------------|
| قابلیت رشد   | کمی       | ۳۰°C±۱°C<br>/۵d   | <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><br>WDCM00104 | MRS agar         | $1/4 > P_r \geq 0/7$ |
| <sup>a</sup> استفاده از حداقل یکی از سویه‌ها الزامی است. |           |                   |   |                  |                      |