



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  
۶۳۳۲  
تجدیدنظر اول  
۱۳۹۸

INSO  
6332  
1st Revision  
2019

میکروبیولوژی آب میوه و آب سبزی تغلیظ  
شده (کنسانتره) - ویژگی‌ها و  
روش‌های آزمون

**Microbiology of Concentrated fruit and  
vegetable juices- 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: ۸۸۸۸۷۱۰۳ و ۸۸۸۸۷۰۸۰

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 کالاها 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 آب میوه و آب سبزی تغلیظ شده (کنسانتره) – ویژگی‌ها و روش‌های آزمون»

رئیس:

مختاری، فهیم‌دخت  
(کارشناسی ارشد ایمنولوژی)

سمت و/یا محل اشتغال:

پژوهشگاه استاندارد

دبیر:

مقدمی، شهرپور  
(کارشناسی ارشد میکروبیولوژی)

پژوهشگاه استاندارد

اعضا: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)

آقاخانی، مریم  
(کارشناسی میکروبیولوژی)

شرکت عالیفرد (سن‌ایچ)

احمدی، لیلا  
(کارشناسی ارشد شیمی تجزیه)

شرکت عالیفرد (سن‌ایچ)

پورعلی‌اکبر، محمدرضا  
(کارشناسی ارشد میکروبیولوژی)

شرکت کشت و صنعت تکدانه

پویان، مهوش  
(کارشناسی ارشد میکروبیولوژی)

اداره کل استاندارد استان چهارمحال و بختیاری

حسینی، رضا  
(کارشناسی صنایع غذایی)

شرکت زرین جم مارینا (سان‌استار)

دهقان، آتنا  
(دکتری صنایع غذایی)

شرکت عالیفرد (سن‌ایچ)

دالوندی، فرشته  
(کارشناسی ارشد صنایع غذایی)

سازمان غذا و دارو

رحیمی‌فرد، ناهید  
(دکتری تخصصی میکروبیولوژی)

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

شرکت عالیفرد (سن ایچ)	روشن ضمیر، مهدی (کارشناسی ارشد صنایع غذایی)
<b>سمت و/یا محل اشتغال:</b>	<b>اعضا:</b> (اسامی به ترتیب حروف الفبا)
شرکت صنایع عوجان ایرانیان	سعیدخانیان، آرمن (کارشناسی صنایع غذایی)
شرکت سارونه	سلطانی، نسرین (کارشناسی صنایع غذایی)
شرکت عالیفرد (سن ایچ)	شفیعی، عزت اله (کارشناسی صنایع غذایی)
دانشگاه زنجان	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 عالیفرد (سن ایچ)	محمدزمان بیگی، الهه (کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی)
شرکت طبیب دارو	محبوبی، محدثه (دکتری تخصصی میکروبیولوژی)
پژوهشگاه استاندارد	مختاری، فهیمدخت (کارشناسی ارشد ایمونولوژی)
تجارتخانه ماهوتی	ماهوتی، علی (کارشناسی ارشد مدیریت صنعتی)
	<b>ویراستار:</b>
پژوهشگاه استاندارد	مختاری، فهیمدخت (کارشناسی ارشد ایمونولوژی)

## فهرست مندرجات

صفحه	عنوان
ز	پیش‌گفتار
ح	۱ هدف و دامنه کاربرد
۱	۲ مراجع الزامی
۱	۳ اصطلاحات و تعاریف
۴	۴ ویژگی‌های میکروبیولوژی
۴	۵ نمونه‌برداری
۵	۶ آماده‌کردن آزمایش
۵	۷ وسایل و تجهیزات
۵	۸ روش‌های آزمون
۶	پیوست الف (الزامی) شمارش باکتری‌های مقاوم به اسید در آب میوه و آب سبزی تعلیظ شده

## پیش‌گفتار

استاندارد « میکروبیولوژی آب میوه و آب سبزی (کنسانتره) - 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 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 ۶۳۳۲: سال ۱۳۸۱ می‌شود.

منابع و مآخذی 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 اسیدوترستریس* و تعیین حد مجاز باکتری در فراورده‌های 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.



## مقدمه

آبمیوه یا آبسبزی تغلیظ شده (کنسانتره)، فراورده حاصل از خارج کردن آب از آبمیوه یا آبسبزی به وسیله حرارت غیرمستقیم، با بخار آب یا تحت خلاء است، طوری که نسبت مواد جامد محلول در آب<sup>۱</sup> (بریکس) در محصول نهایی نسبت به آب میوه طبیعی اولیه، دست کم دو برابر باشد. معمولاً بریکس آب میوهها حدود ۱۱٪ الی ۱۲٪ بوده که پس از فرایند تغلیظ، بریکس به ۳۵٪ تا ۷۵٪ می‌رسد. کنسانتره در ساخت آب میوه، آب سبزی، بستنی و مربا کاربرد دارد.

## میکروبیولوژی آب میوه و آب سبزی تغلیظ شده (کنسانتره) - ویژگی‌ها و روش‌های آزمون

### ۱ هدف و دامنه کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد، تعیین ویژگی‌ها و روش‌های آزمون میکروبیولوژی انواع آب میوه و آب سبزی تغلیظ شده (کنسانتره) است. این استاندارد، برای انواع (آب میوه و آب سبزی) تغلیظ شده در بسته‌بندی اسپتیک و غیراسپتیک، تولید داخل، وارداتی و صادراتی 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 ۱-۵۲۷۲، میکروبیولوژی زنجیره غذایی - روش جامع برای شمارش میکروارگانسیم‌ها - قسمت ۱ - شمارش کلنی در ۳۰ درجه سلیسیوس با استفاده از روش کشت آمیخته

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

۳-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۱-۸۹۲۳، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - آماده‌سازی آزمایشه - سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای آزمون‌های میکروبیولوژی - قسمت اول - مقررات کلی برای آماده‌سازی سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری

۴-۲ 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 فراورده‌های متفرقه

۵-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۹۸۹۹، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - الزامات کلی و راهنما برای آزمون‌های میکروبیولوژی

۶-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۸۹۹-۲، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - روش شمارش کپک‌ها و مخمرها - قسمت دوم: روش شمارش کپک‌ها و مخمرها - روش شمارش کلنی در فراورده‌های 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

آب میوه یا آب سبزی تغلیظ شده (کنسانتره)

#### **Juice or condensed vegetable juice (concentrate)**

آب میوه یا آب سبزی طبیعی است که تغلیظ شده و مواد جامد محلول در آب آن، نسبت به آب میوه اولیه، حداقل دو برابر باشد.

۲-۳

آب میوه یا آب سبزی تغلیظ شده اسپتیک

#### **aseptic Juice or concentrated vegetable juice**

آب میوه یا آب سبزی طبیعی است که تحت شرایط عاری از آلودگی بسته بندی می شود.

۳-۳

آب میوه یا آب سبزی تغلیظ شده غیراسپتیک

#### **non-aseptic concentrated Juice or vegetable**

آب میوه یا آب سبزی طبیعی است که با یکی از روش‌های معمول پاستوریزه شده است، و کلیه میکروبهای بیماری‌زای آن از بین رفته و بسته‌بندی می‌شود، به طوری که احتمال نفوذ آلودگی در آن، به صفر نمی‌رسد. این فراورده در شرایط عادی (بدون کاهش دما و یا سرد کردن فراورده) قابل نگهداری نیست.

۴-۳

### 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.

۵-۳

### 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]

۶-۳

### مخمرها

#### yeasts

میکروارگانسیم‌های تک سلولی، هوازی اختیاری مزوفیل که تحت شرایط شرح داده شده در استاندارد ملی ایران شماره ۲-۱۰۸۹۹، کلنی‌های گرد مات یا درخشان، معمولاً دارای پیرامون منظم و با تحدب کم یا زیاد، در سطح محیط‌های کشت قارچی، ایجاد می‌کنند.

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

---

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.

## ۴ ویژگی‌های میکروبیولوژی

۴-۱ ویژگی‌های میکروبیولوژی انواع آب میوه تغلیظ شده (کنسانتره) و آب سبزی تغلیظ شده (کنسانتره) اسپتیک و غیراسپتیک، باید مطابق با جدول ۱ این استاندارد باشد.

جدول ۱- ویژگی‌های میکروبیولوژی آب میوه تغلیظ شده (کنسانتره) و آب سبزی تغلیظ شده (کنسانتره)

روش آزمون	حد قابل قبول غیراسپتیک (cfu/g)	حد قابل قبول اسپتیک (cfu/g)	ویژگی	ردیف
استاندارد ملی ایران شماره ۱-۵۲۷۲	۱۰۰۰	۱۰۰	باکتری‌های هوازی	۱
پیوست الف (الزامی) این استاندارد	۱۰۰	۱۰	باکتری‌های مقاوم به اسید	۲
استاندارد ملی ایران شماره ۲-۱۰۸۹۹	۵۰	۱۰	کپک	۳
استاندارد ملی ایران شماره ۲-۱۰۸۹۹	۵۰۰	۱۰	مخمر	۴

## ۵ نمونه‌برداری

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 به منظور انجام آزمون‌های میکروبیولوژی به استاندارد ملی ایران شماره ۹۸۹۹، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- راهنمای الزامات کلی برای آزمون مراجعه کنید.

## ۶ وسایل و تجهیزات

از وسایل و تجهیزات معمول در آزمایشگاه میکروبی که در استاندارد ملی ایران شماره ۹۸۹۹، نوشته شده است، استفاده کنید.

## ۷ آماده کردن آزمایش

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

## ۸ روش‌های آزمون

مطابق جدول ۱ این استاندارد 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 ۶۳۳۲ (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 آب میوه و آب سبزی تغلیظ شده (کنسانتره)

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 میلی لیتر	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 ۱۲۱°C، به مدت زمان ۱۵ min، استرون کنید. pH را به گونه‌ای تنظیم کنید، که پس از استرون 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)
  - 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 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 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 پتری‌دیش 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، پتری‌دیش‌ها را بر روی سطح صاف و خنک، قرار دهید. سپس به‌صورت وارونه در گرمخانه با دمای  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ ، 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 (طبق زیربند الف ۲-۱) کلنی‌های هر ظرف 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 ظرف 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	گرمخانه‌گذاری	سویه‌های کنترل <sup>a</sup>	محیط کشت مرجع	معیار
قابلیت رشد	کمی	۳۰°C ± ۱°C /۵d	<i>Lactobacillus sakei</i> WDCM 00015 <i>Lactococcus lactis</i> WDCM 00016 <i>Lactobacillus casei</i> WDCM 00100 <i>Lactobacillus plantarum</i> WDCM00104	MRS agar	$1/4 > P_i \geq 0/7$
<sup>a</sup> استفاده از حداقل یکی از سویه‌ها الزامی است.					