



جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

Institute of Standards and Industrial Research of Iran



استاندارد ملی ایران

۱۰۱۵۴

چاپ اول

ISIRI

10154

1st.edition

شیر و فرآورده های آن - شمارش واحدهای
تشکیل دهنده کلنی کپک و / یا مخمر -
شمارش کلنی در پلیت در دمای 25°C

Milk and milk products –
Enumeration of colony-forming units of
yeasts and/or moulds-colony -
Count technique at 25°C

نشانی مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران : کرج - شهر صنعتی، صندوق پستی ۱۶۳-۳۱۵۸۵



دفتر مرکزی : تهران - ضلع جنوبی میدان ونک صندوق پستی ۶۱۳۹-۱۴۱۵۵

تلفن مؤسسه در کرج : ۰۲۶۱-۲۸۰۶۰۳۱-۸



تلفن مؤسسه در تهران : ۵-۸۸۷۹۴۶۱



دورنگار : کرج ۰۲۶۱-۲۸۰۸۱۱۴ - تهران ۸۸۸۷۱۰۳-۸۸۸۷۰۸۰



بخش فروش تلفن : ۰۲۶۱-۲۸۰۷۰۴۵ دورنگار: ۰۲۶۱-۲۸۰۷۰۴۵



پیام نگار : Standard @ isiri.or.iran



بهاء : ۱۳۷۵ ریال



Headquarter : Institute Of Standards And Industrial Research Of IRAN

P.O.Box : Karaj – IRAN 31585-163

Central Office : NO.14, Shahid Shahamati St., Valiasr Ave. Tehran

P.O.Box : 14155-6139



Tel.(Karaj) : 0098 261 2806031-8



Tel.(Tehran) : 021- 8879461-5



Fax.(Karaj) : 0098 261 2808114



Fax.(Tehran) : 8887080-8887103



Email : Standard @ isiri.or.iran



Price : 1375 RLS

آشنایی با مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به موجب قانون، تنها مرجع رسمی کشور است که عهده دار وظیفه تعیین، تدوین و نشر استانداردهای ملی (رسمی) می باشد.

تدوین استاندارد در رشته های مختلف توسط کمیسیون های فنی مرکب از کارشناسان مؤسسه، صاحب نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط با موضوع صورت می گیرد. سعی بر این است که استانداردهای ملی، در جهت مطلوبیت ها و مصالح ملی و با توجه به شرایط تولیدی، فنی و فن آوری حاصل از مشارکت آگاهانه و منصفانه صاحبان حق و نفع شامل: تولیدکنندگان، مصرف کنندگان، بازرگانان، مراکز علمی و تخصصی و نهادها و سازمانهای دولتی باشد. پیش نویس استانداردهای ملی جهت نظرخواهی برای مراجع ذینفع و اعضای کمیسیون های فنی مربوط ارسال میشود و پس از دریافت نظرات و پیشنهادات در کمیته ملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب به عنوان استاندارد ملی (رسمی) چاپ و منتشر می شود.

پیش نویس استانداردهایی که توسط مؤسسات و سازمانهای علاقمند و ذیصلاح و با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می شود نیز پس از طرح و بررسی در کمیته ملی مربوط و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی چاپ و منتشر می گردد. بدین ترتیب استانداردهایی ملی تلقی می شود که بر اساس مفاد مندرج در استاندارد ملی شماره ((۵)) تدوین و در کمیته ملی مربوط که توسط مؤسسه تشکیل می گردد به تصویب رسیده باشد.

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران از اعضای اصلی سازمان بین المللی استاندارد می باشد که در تدوین استانداردهای ملی ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندیهای خاص کشور، از آخرین پیشرفتهای علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین المللی استفاده می نماید.

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران می تواند با رعایت موازین پیش بینی شده در قانون به منظور حمایت از مصرف کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردها را با تصویب شورای عالی استاندارد اجباری نماید. مؤسسه می تواند به منظور حفظ بازارهای بین المللی برای محصولات کشور، اجرای استانداردهای کالاهای صادراتی و درجه بندی آن را اجباری نماید.

همچنین به منظور اطمینان بخشیدن به استفاده کنندگان از خدمات سازمانها و مؤسسات فعال در زمینه مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و گواهی کنندگان سیستم های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست محیطی، آزمایشگاهها و کالیبره کنندگان وسایل سنجش، مؤسسه استاندارد اینگونه سازمانها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران مورد ارزیابی قرار داده و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامه تأیید صلاحیت به آنها اعطا نموده و بر عملکرد آنها نظارت می نماید. ترویج سیستم بین المللی یکاها، کالیبراسیون وسایل سنجش تعیین عیار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی از دیگر وظایف این مؤسسه می باشد.

کمیسیون فنی تدوین استاندارد

"شیر و فرآورده های آن - شمارش واحدهای تشکیل دهنده کلنی کپک و / یا مخمر - شمارش کلنی در پلیت در دمای ۲۵°C"

رئیس:

سمت و / یا نمایندگی

رحیمی فرد، ناهید

وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی - اداره کل

(دکترای میکروب شناسی تخصصی)

آزمایشگاه های کنترل غذا و دارو

دبیر:

جودکی، محبوبه

اداره کل استاندارد و تحقیقات صنعتی استان مرکزی

(لیسانس علوم آزمایشگاهی)

اعضاء: (اسامی به ترتیب حروف الفباء)

ابراهیمی امام، غلامحسین

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

(لیسانس علوم و صنایع غذایی)

احمدی، فاطمه

اداره کل استاندارد و تحقیقات صنعتی استان مرکزی

(لیسانس علوم و صنایع غذایی)

احمدی، مژگان

شرکت صنایع شیر محلات - سهامی خاص

(لیسانس علوم و صنایع غذایی)

اکبری، ندا

دانشگاه آزاد اسلامی - واحد اراک

(دکترای میکروب شناسی)

خلیلی، فروزنده

وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی - اداره کل

(لیسانس شیمی)

نظارت بر مواد غذایی، آشامیدنی، آرایشی و بهداشتی

استان مرکزی

دیده دار، مجتبی	دانشگاه آزاد اسلامی - واحد اراک
(دکترای قارچ شناسی)	
زندوکیلی، فاطمه	موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران
(فوق لیسانس تغذیه)	
سعادت، شهلا	وزارت بهداشت، درمان و آموزش - اداره کل
(لیسانس میکروب شناسی)	آزمایشگاه های کنترل غذا و دارو
سعیدی، بهارک	شرکت صنایع لبنی اراک - سهامی عام
(لیسانس علوم و صنایع غذایی)	
شکوری، پریرا	اداره کل استاندارد و تحقیقات صنعتی استان مرکزی
(لیسانس علوم و صنایع غذایی)	
صالحی، عطیه	کارشناس
(فوق لیسانس زبان و ادبیات انگلیسی)	
قائم مقامی، شمس الدین	موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی - شعبه ناحیه مرکزی
(دکترای دامپزشکی)	
قلعه نویی، بهنام	دانشگاه آزاد اسلامی - واحد اراک
(دکترای علوم آزمایشگاهی)	
لک، غلامرضا	سازمان دامپزشکی کل کشور
(دکترای دامپزشکی)	
وزیری، سمیرا	شرکت صنایع شیر ساوه - سهامی خاص
(فوق لیسانس میکروب شناسی)	

فهرست مندرجات

صفحه	عنوان
ج	آشنائی با موسسه استاندارد
د	کمیسیون فنی تدوین استاندارد
ز	پیش گفتار
۱	۱ هدف
۱	۲ دامنه کاربرد
۲	۳ مراجع الزامی
۲	۴ اصطلاحات و تعاریف
۳	۵ اصول آزمون
۳	۶ نمونه برداری
۳	۷ مواد
۶	۸ وسایل
۷	۹ روش آزمون
۹	۱۰ بیان نتایج
۱۰	۱۱ تکرار پذیری
۱۱	۱۲ گزارش آزمون

پیش‌گفتار

استاندارد " شیر و فرآورده‌های آن - شمارش واحدهای تشکیل دهنده کلنی کپک و / یا مخمر - روش شمارش کلنی در پلیت در دمای 25°C " که پیش نویس آن در کمیسیون های مربوط توسط موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران تهیه و تدوین شده و در یکصد و هفتاد و هفتمین اجلاس کمیته ملی استاندارد میکروبیولوژی و بیولوژی مورخ ۸۶/۱۲/۱۵ مورد تصویب قرار گرفته است، اینک به استناد بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱، به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می شود.

برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت های ملی و جهانی در زمینه صنایع، علوم و خدمات، استاندارد های ملی ایران در مواقع لزوم تجدید نظر خواهد 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 استفاده کرد.

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

1-ISO 6611 : 2004, Milk and milk products – Enumeration of colony- forming units of yeasts and/or moulds – colony-count technique at 25°C

شیر و فرآورده‌های آن - شمارش واحدهای تشکیل دهنده کلنی کپک و / یا مخمر - روش شمارش کلنی در پلیت در دمای C ۲۵

۱ هدف

هدف از تدوین این استاندارد تعیین روش جستجو و شمارش کلنی های کپک و / یا مخمر قابل رشد در شیر و فرآورده های آن در دمای C ۲۵ می باشد.

۲ دامنه کاربرد

این استاندارد درباره موضوع های نوشته شده بند های ۲-۱ تا ۲-۸ کاربرد دارد:

- ۱-۲ شیر و فرآورده های مایع آن
- ۲-۲ شیر خشک، پودر آب پنیر شیرین^۱، پودر پس آب کره (دوغ کره)^۲، لاکتوز
- ۳-۲ پنیر
- ۴-۲ کازیین اسیدی^۳، کازیین لاکتیکی^۴، کازیین رنتی^۵ (آنزیمی)
- ۵-۲ کازئینات، پودر آب پنیر اسیدی^۶
- ۶-۲ کره
- ۷-۲ فرآورده های منجمد شیر^۷ (مانند بستنی و فرآورده های یخی خوراکی)
- ۸-۲ فرنی تخم مرغی^۸، دسر های شیری^۹، فرآورده های تخمیری شیر و خامه

یاد آوری - این روش برای شمارش تعداد زیاد مخمرهای حساس به حرارت^۱ در برخی از فرآورده ها مانند پنیر تازه مناسب نمی باشد، برای این فرآورده ها روش کشت سطحی در پلیت ترجیح داده می شود.

-
- 1- Dried sweet whey
 - 2- Butter milk
 - 3 - Acid casein
 - 4 - Lactic casein
 - 5- Rennet casein
 - 6- Acid whey powder
 - 7 -Frozen milk products
 - 8- Custard
 - 9-Desserts milk
 - 10- Thermolabile

۳ مراجع الزامی

مدارک الزامی زیر حاوی مقرراتی است که در متن این استاندارد ملی ایران به آنها ارجاع داده شده است. بدین ترتیب آن مقررات جزئی از این استاندارد ملی ایران محسوب می شود. در صورتی که به مدرکی با ذکر تاریخ انتشار ارجاع داده شده باشد، اصلاحیه ها و تجدید نظرهای بعدی آن مورد نظر این استاندارد ملی ایران نیست. در مورد مدارکی که بدون ذکر تاریخ انتشار به آن ها ارجاع داده شده است، همواره آخرین تجدید نظر و اصلاحیه های بعدی آن مورد نظر است. استفاده از مراجع الزامی زیر برای این استاندارد الزامی است:

۱-۳ استاندارد ملی ایران شماره ۲۷۴۷، میکروبیولوژی - آیین کار در آزمایشگاه میکروبیولوژی

۲-۳ استاندارد ملی ایران شماره ۳۲۶، شیر و فرآورده های آن - نمونه برداری

۳-۳ استاندارد ملی ایران شماره ۹۴۱۵، شیر و فرآورده های آن - روش آماده سازی آزمایش، سوسپانسیون اولیه و رقتهای اعشاری برای آزمون میکروبیولوژی - راهنمای کلی

۴-۳ استاندارد ملی ایران شماره ۱-۷۴۴۲، درستی (صحت و دقت) روش ها و نتایج اندازه گیری - قسمت اول: روش پایه برای تعیین تکرارپذیری و تجدید پذیری روش اندازه گیری استاندارد

۴ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد، اصطلاح و تعریف زیر به کار می رود:

۱-۴ کپک ها و مخمر ها

میکروارگانیسم هایی هستند که در دمای 25°C در محیط کشت انتخابی و تحت شرایط تعیین شده در این استاندارد کلنی های قابل رویت تشکیل می دهند.

۵ اصول آزمون

۱-۵ کشت مقادیر مشخصی از آزمایش (فرآورده های مایع) یا رقت اولیه (سایر فرآورده ها) در محیط کشت انتخابی به روش آمیخته^۱ و کشت سایر پلیت های تهیه شده، تحت همین شرایط با استفاده از رقتهای رقتهای اعشاری آزمایش یا سوسپانسون اولیه

۲-۵ گرمخانه گذاری پلیت ها بصورت هوازی در دمای 25°C به مدت پنج روز

۳-۵ محاسبه تعداد کلنی های کپک و مخمر در گرم یا میلی لیتر فرآورده از روی تعداد کلنی های تشکیل شده در پلیت های انتخابی دارای نتیجه معنی دار

۴-۵ بیان نتایج به صورت تعداد واحدهای تشکیل دهنده کلنی در گرم یا میلی لیتر از فرآورده

۶ نمونه برداری

نمونه هایی که به آزمایشگاه تحویل داده می شوند باید نماینده واقعی کل نمونه بوده و در طی حمل، نقل و نگهداری آسیب ندیده و تغییری در آن ایجاد نشده باشد. برای آگاهی از چگونگی شرایط کلی نمونه برداری و نگهداری نمونه به استاندارد ملی ایران شماره ۳۲۶ مراجعه شود.

۷ مواد

۱-۷ محلول های رقیق کننده و محیط های کشت

برای آگاهی از شرایط کلی تهیه و آماده سازی محلول های رقیق کننده و محیط های کشت به استاندارد ملی ایران شماره ۳۲۶ و ۹۴۱۵ مراجعه شود. در صورت استفاده از محیط های کشت و محلول های رقیق کننده قابل دسترس از بازار، آماده سازی آن را مطابق دستور العمل سازنده انجام دهید.

۱-۱-۷ محلول های رقیق کننده

آماده سازی محلول های رقیق کننده عمومی و اختصاصی را مطابق با استاندارد ملی ایران ۹۴۱۵ انجام دهید.

۲-۱-۷ محیط های کشت

۱-۲-۱-۷ عصاره مخمر / دکستروز / اکسی تتراسایکلین آگار^۱

۱-۲-۱-۷ محیط کشت پایه

<u>مقدار</u>	<u>مواد تشکیل دهنده</u>
۵ g	پودر عصاره مخمر
۲۰ g	دکستروز (C ₆ H ₁₂ O ₆)
۱۰ g تا ۱۵ g ^۲	آگار
۹۰۰ ml	آب مقطر

روش تهیه :

مواد فوق را در آب حل و در صورت لزوم از حرارت استفاده کنید. pH محیط را به گونه ای تنظیم کنید، که پس از سترون سازی برابر ۶٫۶ در دمای ۲۵ °C باشد. محیط کشت را در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ °C به مدت ۱۵ دقیقه سترون کنید.

۲-۱-۲-۱-۷ محلول اکسی تتراسایکلین هیدرو کلراید^۳

<u>مقدار</u>	<u>مواد تشکیل دهنده</u>
۵۰ mg	اکسی تتراسایکلین هیدرو کلراید (C ₂₂ H ₃₀ O ₁₁ .HCL)
۵۰ ml	آب مقطر

روش تهیه :

اکسی تتراسایکلین هیدروکلراید را در آب حل کرده و آن را با استفاده از صافی غشایی با اندازه روزنه ۰٫۲۲ μm سترون کنید. محلول باید بلافاصله پیش از استفاده و به صورت تازه ، تهیه شود.

1 -Yeast extract/dextrose/oxytetracycline/agar/medium

۲- میزان مصرف آگار به قدرت ژله‌ای شدن آن بستگی دارد.

3-Oxytetracycline hydrochloride solution

۷-۱-۲-۳ محیط کشت کامل

<u>مقدار</u>	<u>مواد تشکیل دهنده</u>
۱۰ mg	اکسی تتراسایکلین هیدرو کلراید
۹۰ ml	محیط کشت پایه

روش تهیه :

۱۰ ml از محلول اکسی تتراسایکلین هیدرو کلراید را در شرایط اسپتیک به ۹۰ ml از محیط کشت پایه (طبق بند ۷-۱-۲-۱) که به دمای $45^{\circ}C$ رسیده است، بیافزائید.

۷-۱-۲-۲ عصاره مخمر/دکستروز/کلرامفنیکل آگار^۱

<u>مقدار</u>	<u>مواد تشکیل دهنده</u>
۵ g	پودر عصاره مخمر
۲۰ g	دکستروز ($C_6H_{12}O_6$)
۲۰٫۱ g	کلرامفنیکل ($C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$)
۱۲ تا ۱۵ ^۳ g	آگار
۱۰۰۰ ml	آب مقطر

روش تهیه :

مواد تشکیل دهنده را در آب حل کرده و در صورت لزوم از حرارت استفاده کنید. pH را به گونه ای تنظیم کنید که پس از سترون سازی برابر ۶٫۶ در دمای $25^{\circ}C$ باشد. محیط کشت را در اتوکلاو با دمای $121^{\circ}C$ به مدت ۱۵ دقیقه سترون کنید.

۱ - Yeast extract/dextrose/chloramphenicol/agar/medium

۲- به منظور به دست آوردن غلظت نهایی $100 \mu g/ml$ از محیط کشت

۳- میزان مصرف آگار به قدرت ژله ای شدن آن بستگی دارد.

۸ وسایل

احتیاط - تمام وسایل در تماس با آزمایشه، محلول های رقیق کنندیا محیط های کشت باید سترون باشند.

از وسایل متداول در آزمایشگاه میکروبیولوژی مطابق با استاندارد ملی ایران ۲۷۴۷ بویژه از لوازم آزمایشگاهی زیر استفاده کنید.

در صورتی که وسایل یکبار مصرف خصوصیات لازم ومناسب را داشته باشند می توان آن ها را به جای وسایل شیشه ای استفاده کرد.

۸-۱ تجهیزات لازم برای سترون سازی خشک (فور) یا مرطوب (اتوکلاو)

۸-۲ گرمخانه یخچال دار

قابل تنظیم در دمای $C (25 \pm 1)$

۸-۳ پلیت

شیشه ای یا پلاستیکی با قطر تقریبی ۹۰ mm تا ۱۰۰ mm

۸-۴ پیپت های مدرج

در اندازه های $ml (1 \pm 0.2)$ یا $ml (10 \pm 0.2)$ یا $ml (11 \pm 0.2)$ که انتهای آنها با پنبه مسدود شده باشد.

۸-۵ حمام آب

قابل تنظیم در دمای $C (45 \pm 1)$

۸-۶ کلنی شمار

شامل یک منبع نورانی با زمینه تاریک، مجهز به یک عدسی با بزرگنمایی ۱/۵ برابر و دارای یک شمارش گر مکانیکی یا الکترونیکی^۱

۸-۷ pH متر

با دقت ± 0.1 واحد pH در دمای $25^{\circ}C$

۱ - Mechanical or electronic digital counter

۹ روش آزمون

۱-۹ کلیات

برای بالا بردن دقت عمل روش جستجو و شمارش کلنی های کپک و مخمر ، رقت ها باید به دقت و مطابق استاندارد تهیه شوند. عوامل موثر بر دقت آزمایش شامل نوع مخلوط کن، مدت زمان مخلوط کردن، رقیق کننده ها، مدت زمان ته نشین شدن ذرات بزرگتر و مدت زمان مخلوط کردن درآماده سازی رقت های ددهمی^۱ رقت های اعشاری می باشد.

احتیاط- کلیه عملیات باید در شرایط کاملا اسپتیک صورت گیرد. عملیات شرح داده شده در بند ۸-۲ و ۸-۳ نباید در معرض نور آفتاب انجام شود.

۲-۹ آماده سازی آزمایش، سوسپانسیون اولیه و رقت های ددهمی

برای آماده سازی آزمایش، سوسپانسیون اولیه و رقت های ددهمی به استاندارد ملی ایران شماره ۸۹۲۳ مراجعه شود.

در پنیلهایی که بوسیله پوشش لایه مخمر یا کپک، رسیده می شوند لازم است لایه رویی برداشته شود. برای جداسازی می توان از تیغ یا چاقوی سترون استفاده کرد.

۳-۹ تلقیح و گرمخانه گذاری

۱-۳-۹ با استفاده از پیپت یک میلی لیتر از آزمایش (برای فرآورده های مایع) یا یک میلی لیتر از سوسپانسیون اولیه (برای سایر فرآورده ها) را به دو پلیت به صورت دوتایی^۲ انتقال دهید.

۲-۳-۹ در صورت لزوم برای رقت های بعدی نیز طبق بند ۹-۳-۱ عمل کنید.

۳-۳-۹ حدود ۱۵ml از محیط کشت حاوی اکسی تتراسایکلین هیدروکلراید (طبق بند ۱-۲-۱-۳) یا محیط کشت حاوی کلرامفنیکل (طبق بند ۱-۲-۱-۲) که دمای آن به ۴۵°C رسیده است را به هر پلیت بیافزایید.

۹-۳-۴ نمونه تلقیحی را با حرکت چرخشی پلیت ها به دقت با محیط کشت، مخلوط کنید و در سطح افقی خنک قرار دهید تا ببندد.

۹-۳-۵ مدت زمان بین تهیه سوسپانسیون اولیه و مخلوط کردن نمونه تلقیحی با محیط کشت نباید بیش از ۱۵ دقیقه باشد.

۹-۳-۶ برای کنترل سترونی، تعدادی از پلیت های فاقد نمونه تلقیحی را به عنوان شاهد در نظر بگیرید.

۹-۳-۷ پس از جامد شدن آگار، پلیت های آماده شده را به صورت وارونه در گرمخانه با دمای $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ برای مدت زمان ۵ روز قرار دهید.

برای جلوگیری از گسترش کلنی ها در سطح پلیت اقدامات زیر را انجام دهید:
پس از جامد شدن آگار، لایه ای از محیط کشت را به پلیت ها بیافزایید یا یک قطره گلسیرویل سترون را به کاغذ صافی سترون افزوده و داخل در پلیت ها قرار دهید.

۹-۳-۸ پلیت ها را در دسته های حداکثر ۶ تایی به صورت مجزا و با فاصله معین از یکدیگر، سقف و دیواره ها در گرمخانه قرار دهید.

۹-۴ بررسی نتایج

۹-۴-۱ پس از پایان زمان گرمخانه گذاری، کلنی های هر پلیت را شمارش کنید. از شمارش کلنی باکتری هایی که ممکن است به طور اتفاقی رشد کرده باشند اجتناب کنید.
در صورت لزوم، برای تفکیک دقیق وضعیت ظاهری کلنی باکتری ها، مخمرها و کپک ها در محیط کشت، به بند ۹-۵ مراجعه شود.

۹-۵ آزمون تائیدی

برای تشخیص کلنی های مشکوک^۱ و سر سوزنی^۲ از روش های متداول میکروسکوپی استفاده کنید.
در صورت لزوم حداقل به تعداد ریشه دوم، کلنی های شمارش شده را برای تائید انتخاب کنید.

۱۰ بیان نتایج

۱-۱۰ پلیت هایی که دارای حداقل ۱۰ و حداکثر ۱۵۰ کلنی می باشند را برای شمارش انتخاب کنید. تعداد کلنی های کپک و مخمر در هر گرم یا میلی لیتر (N) را با استفاده از فرمول ۱ محاسبه کنید.

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0.1n_2)d} \quad \text{فرمول شماره (۱)}$$

که در آن :

$\sum C$ مجموع کلنی های شمارش شده روی پلیت های انتخابی از دو رقت متوالی ؛
 n_1 تعداد پلیت ها با نتایج حداقل ۱۰ و حداکثر ۱۵۰ کلنی در اولین رقت قابل شمارش ؛
 n_2 تعداد پلیت ها با نتایج حداقل ۱۰ و حداکثر ۱۵۰ کلنی در دومین رقت قابل شمارش ؛
 d ضریب رقت در اولین رقت انتخابی می باشد .
 در صورتی که بیشتر از ۲ رقت قابل شمارش دارای نتایج بین ۱۰ تا ۱۵۰ کلنی باشند، فرمول تغییر خواهد کرد، به طوری که رقت های بعدی نیز به حساب آورده شوند.

در فرمول ۲، تعداد کلنی های کپک و مخمر در گرم یا میلی لیتر فرآورده با استفاده از سه رقت متوالی بیان شده است.

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0.1n_2 + 0.01n_3)d} \quad \text{فرمول شماره (۲)}$$

که در آن :

$\sum C$ مجموع کلنی های شمارش شده روی پلیت ها از سه رقت متوالی ؛
 n_1 تعداد پلیت ها با نتایج حداقل ۱۰ و حداکثر ۱۵۰ کلنی در سومین رقت قابل شمارش می باشد.

نتایج بدست آمده را تا ۲ رقم معنی دار گرد کنید. و به عنوان تعداد واحدهای تشکیل دهنده کلنی های مخمر یا کپک در میلی لیتر یا گرم فرآورده در نظر بگیرید. نتایج را به صورت عددی بین ۱/۰ تا ۹/۹ ضرب در توان مناسبی از ۱۰ گزارش کنید.

مثال:

از شمارش کلنی های مخمر و کپک در یک سری دوتایی نتایج زیر به دست آمده است:

در اولین رقت انتخاب شده (10^2)، تعداد ۸۳ و ۹۷ کلنی

در دومین رقت انتخاب شده (10^3)، تعداد ۳۳ و ۲۸ کلنی

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0/1n_2)d} \Rightarrow N = \frac{83 + 97 + 33 + 28}{(2 + (0/1 \times 2)) \times 10^2} = \frac{241}{0/022} = 10954$$

نتیجه حاصل را تا به دست آمدن عدد ۱۱۰۰۰ یا $10^4 \times 1/1$ گرد کنید که نمایانگر تعداد کلنی های مخمر و / یا کپک در هر گرم یا میلی لیتر از فرآورده می باشد.

۱۰-۲ اگر هر پلیت حاوی آزمایش (برای فرآورده های مایع) یا سوسپانسون اولیه (برای سایر فرآورده ها) دارای تعداد کمتر از ۱۰ کلنی باشد، نتیجه را به صورت زیر گزارش کنید:

- کمتر از ۱۰ واحد تشکیل دهنده کلنی های مخمر و / یا کپک در هر میلی لیتر از فرآورده مایع
- کمتر از $10 \times \frac{1}{d}$ واحد تشکیل دهنده کلنی های مخمر و / یا کپک در هر گرم از سایر فرآورده ها که d ضریب رقت از اولین رقت انتخابی می باشد.

۱۰-۳ اگر تمام پلیت ها دارای بیش از ۱۵۰ کلنی باشند، تعداد کلنی ها را در پلیت هایی که نزدیکترین تعداد کلنی را به ۱۵۰ دارند، تخمین زده و در عکس ضریب بالاترین رقت ضرب کنید. نتایج را به صورت تعداد تخمینی واحدهای تشکیل دهنده کلنی های مخمر و / یا کپک در گرم یا میلی لیتر فرآورده گزارش کنید.

۱۱ تکرار پذیری^۱

قدر مطلق بین نتایج دو آزمایش مستقل که با استفاده از یک روش و یک آزمایش کننده تحت شرایط یکسان در فاصله زمانی کوتاه روی یک نمونه مشخص انجام می شود نباید در بیشتر از ۵٪ موارد بزرگتر از ۳۰٪ نتیجه پایینی باشد.

اگر الزامات تکرار پذیری برآورده نشود، اقدامات لازم برای کشف منابع بروز خطا باید انجام شود. یادآوری - برای آگاهی بیشتر از تکرار پذیری به استاندارد ملی ایران شماره ۱-۷۴۴۲ مراجعه شود

۱۲ گزارش آزمون

گزارش آزمون باید دارای آگاهی های زیر باشد:

- ۱-۱۲ مشخصات کامل نمونه ؛
- ۲-۱۲ تاریخ نمونه برداری ؛
- ۳-۱۲ محل نمونه برداری ؛
- ۴-۱۲ تاریخ انجام آزمون ؛
- ۵-۱۲ تاریخ ارسال نمونه به آزمایشگاه ؛
- ۶-۱۲ روش نمونه برداری مورد استفاده در صورت لزوم ؛
- ۷-۱۲ روش آزمون مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۱۵۴ سال ۱۳۸۷؛
- ۸-۱۲ نتایج آزمون طبق بند ۱۰ این استاندارد ؛
- ۹-۱۲ سایر اطلاعات مربوط به روش آزمون ؛
- ۱۰-۱۲ نام، نام خانوادگی و امضای آزمایش کننده .

ICS: 07.100.30 ; 67.100.01

صفحه : ۱۱
