



جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

Institute of Standards and Industrial Research of Iran



استاندارد ملی ایران

۵۹۳۹

تجدیدنظر اول

ISIRI

5939

1st.revision

میکروبیولوژی انواع سبزی خشک –
ویژگی‌ها

**Microbiolog of Dehydrated vegetables-
Specifications**

ICS:07.100.30

به نام خدا

آشنایی با مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی 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 حوزه های مختلف در کمیسیون های فنی مرکب از کارشناسان مؤسسه* صاحب نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط انجام می شود 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، مصرف کنندگان، صادرکنندگان و وارد کنندگان، مراکز علمی و تخصصی، نهادها، سازمان های دولتی و غیر دولتی حاصل می شود. پیش نویس استانداردهای ملی ایران برای نظرخواهی به مراجع ذی نفع و اعضای کمیسیون های فنی مربوط ارسال می شود 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 می شود.

پیش نویس استانداردهایی که مؤسسات و سازمان های علاقه مند و ذیصلاح نیز با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می کنند در کمیته ملی طرح و بررسی و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی ایران چاپ و منتشر می شود. بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می شود که بر اساس مفاد نوشته شده در استاندارد ملی ایران شماره ۵ تدوین و در کمیته ملی استاندارد مربوط که مؤسسه استاندارد تشکیل می دهد به تصویب رسیده باشد.

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران از اعضای اصلی سازمان بین المللی استاندارد (ISO)^۱ کمیسیون بین المللی الکتروتکنیک (IEC)^۲ و سازمان بین المللی اندازه شناسی قانونی (OIML)^۳ است و به عنوان تنها رابط^۴ کمیسیون کدکس غذایی (CAC)^۵ در کشور فعالیت می کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندی های خاص کشور، از آخرین پیشرفتهای علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بینالمللی بهره گیری می شود.

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران می تواند با رعایت موازین پیش بینی شده در قانون، برای 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 استانداردهای ملی ایران را برای محصولات تولیدی داخل کشور و / یا اقلام وارداتی، با تصویب شورای عالی استاندارد، اجباری نماید. مؤسسه می تواند به منظور حفظ بازارهای بین المللی برای محصولات کشور، اجرای استاندارد کالاهای صادراتی و درجه بندی آن را اجباری نماید. همچنین برای اطمینان بخشیدن به استفاده کنندگان از خدمات سا زمانها و مؤسسات فعال در زمینه مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و صدور گواهی سیستم های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست محیطی، آزمایشگاه ها و مراکز کالیبراسیون (واسنجی) وسایل سنجش، مؤسسه استاندارد این گونه سازمان ها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران ارزیابی می کند و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامه تأیید صلاحیت به آن ها اعطا و بر عملکرد آنها نظارت می کند. ترویج دستگاه بین المللی یکاها، کالیبراسیون (واسنجی) وسایل

* مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

- 1- International organization for Standardization
- 2 - International Electro technical Commission
- 3- International Organization for Legal Metrology (Organization International de Metrology Legal)
- 4 - Contact point
- 5 - Codex Alimentarius Commission

سنجش، تعیین عیار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی ایران از دیگر وظایف این مؤسسه است.

کمیسیون فنی تدوین استاندارد "میکروبیولوژی انواع سبزی خشک - ویژگی ها"

رئیس:

رحیمی فرد، ناهید
(دکترای میکروبیولوژی)

سمت یا نمایندگی
وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی - اداره کل
آزمایشگاه‌های کنترل غذا و دارو

دبیر:

افضلی، سمانه‌السادات
(فوق لیسانس میکروبیولوژی)

اداره کل استاندارد و تحقیقات صنعتی استان مازندران

اعضاء: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)

حسن پور، مجید
(لیسانس صنایع غذایی)

شرکت سبزی ایران

رفتنی امیری، زینب
(دکترای صنایع غذایی)

دانشگاه مازندران - دانشکده کشاورزی

زندوکیلی، فاطمه
(فوق لیسانس علوم بهداشتی در تغذیه)

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

سهراب وندی، سارا
(دکترای صنایع غذایی)

شرکت سپید گل

عباسی، رویا
(لیسانس علوم تغذیه)

دانشگاه علوم پزشکی مازندران - معاونت غذا و دارو

فیاضی، اکرم‌السادات
(لیسانس علوم تغذیه)

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

کامران، نسرين
(لیسانس مهندسی شیمی)

شرکت محصولات غذایی گلها

کریم‌زاده، لاله
(لیسانس علوم تغذیه)

دانشگاه علوم پزشکی مازندران - معاونت غذا و دارو

مارونسی، نازدار
(لیسانس میکروبیولوژی)

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

دانشگاه مازندران – دانشکده کشاورزی

شرکت سه‌هند تیهو

معمدزادگان، علی
(دکترای صنایع غذایی)

ناظر، نسرین
(لیسانس علوم تغذیه)

استاندارد "میکروبیولوژی انواع سبزی خشک - ویژگی‌ها" نخستین بار در سال ۱۳۸۱ تدوین شد. این استاندارد براساس پیشنهادهای رسیده و بررسی توسط موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران و تایید کمیسیون‌های مربوط برای اولین بار مورد تجدیدنظر قرار گرفت و در دویست و شانزدهمین اجلاس کمیته ملی استاندارد میکروبیولوژی و بیولوژی مورخ ۱۳۸۷/۱۰/۲ تصویب شد. اینک به استناد بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱، به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می‌شود.

برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت‌های ملی و جهانی در زمینه صنایع، علوم و خدمات، استانداردهای ملی ایران در مواقع لزوم تجدیدنظر خواهد 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 استفاده کرد.

این استاندارد جایگزین استاندارد ملی ایران شماره ۵۹۳۹ : سال ۱۳۸۱ می‌شود.

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

- 1- ROBINSON, R. BATT, C. PATEL, P. Encyclopaedia of food microbiology, UK: Academic press, 2000, pp. 530-536.
- 2- BLAKIE. Microorganisms in foods, ICMSF: Academic press, 1998, pp. 232-234.
- 3- LUND, B.M. et al. The microbiology safety and quality of food. Vol.1, An aspen publication, 2000, pp. 897-918.
- 4- VANDERZANT, CARL. et al. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3th ed. American public health association, 1998, pp. 961-974.
- 5- ANDRESS, E. et al. Microbiota of fresh herbs and whole spices used in home food preservation and effectiveness of microbial intervention methods, The University of Gorgia, Athens, Gorgia 30602, 2002.

میکروارگانیسیم‌های موجود در سبزی‌های خشک از دسته میکروارگانیسیم‌های بومی¹ خاک و گیاهان می‌باشند. گرد و غبار، حشرات، فضولات پرندگان و جوندگان و آب مورد مصرف در فرآیند، از منابع دیگر آلودگی این فرآورده‌ها می‌باشند.

کیفیت میکروبیولوژی سبزی‌های خشک تا حد زیادی به منطقه کشت این محصولات، شرایط حمل و نقل و انبارش آنها بستگی دارد. به علت فعالیت آبی (a_w) پایین این فرآورده‌ها، امکان رشد میکروارگانیسیم‌های بیماری‌زا در آن وجود ندارد.

اگر فرآیند خشک کردن و شرایط نگهداری سبزی خشک مناسب باشد، میکروارگانیسیم‌ها در آنها رشد نمی‌کنند. در روش‌های متداول برای خشک کردن سبزی‌ها، با کاربرد فرایند خشک کردن، فلور میکروبی² کاهش می‌یابد. در صورتی که تجهیزات مورد استفاده در فرآیند خشک کردن، تمیز و بهداشتی نباشد، شمارش نهایی میکروارگانیسیم‌ها نیز افزایش می‌یابد.

در صورت کاربرد برخی از روش‌های شیمیایی و فیزیکی برای آلودگی‌زدایی، باید دقت شود که این روش‌ها اثرات نامطلوب بر روی طعم و رنگ فرآورده خشک نداشته باشد. واحدهای فرایند سبزی خشک باید برای تضمین سلامت و قابلیت مصرف فرآورده برنامه‌های کنترل کیفیت را بکار گیرند. این برنامه‌ها باید مطابق با اصول و مبانی تجزیه و تحلیل خطر و نقاط کنترل بحرانی³ (HACCP) برای هر فرایند خاص باشد.

1- Indigenous

2- Microflora

3- Hazard analysis critical control point

میکروبیولوژی انواع سبزی خشک - ویژگی‌ها

۱ هدف

هدف از تدوین این استاندارد تعیین ویژگی‌های میکروبیولوژی انواع سبزی خشک می‌باشد.

۲ دامنه کاربرد

این استاندارد برای انواع سبزی خشک شده کاربرد دارد.
یادآوری - این استاندارد برای قارچ‌های خوراکی کاربرد ندارد.

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 می‌شود.
در صورتی که به مدرکی با ذکر تاریخ انتشار ارجاع داده شده باشد، اصلاحیه‌ها و تجدیدنظرهای بعدی آن موردنظر این استاندارد ملی ایران نیست. در مورد مدارکی که بدون ذکر تاریخ انتشار به آن‌ها ارجاع داده شده است، همواره آخرین تجدیدنظر و اصلاحیه‌های بعدی آن‌ها موردنظر است.
استفاده از مراجع زیر برای این استاندارد الزامی است:

۱-۳ استاندارد ملی ایران شماره ۲۱۹۸: میکروبیولوژی مواد غذایی خوراک دام - جستجو، شناسایی و شمارش انتروکوک‌های روده‌ای در مواد غذایی

۲-۳ استاندارد ملی ایران شماره ۲۳۲۴: میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - روش شمارش باسیلوس سرئوس احتمالی به روش شمارش کلنی در دمای ۳۰ درجه سلسیوس - روش آزمون

۳-۳ استاندارد ملی ایران شماره ۲۹۴۶: میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - روش جستجو و شمارش اشرشیاکلی با استفاده از روش بیشترین تعداد احتمالی

۴-۳ استاندارد ملی ایران شماره ۵۲۷۲: میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - روش شمارش کلی میکروارگانسیم‌ها در ۳۰ درجه سلسیوس

۵-۳ استاندارد ملی ایران شماره ۱-۸۹۲۳: میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - آماده سازی آزمایش سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای آزمون میکروبیولوژی قسمت اول - مقررات کلی، برای آماده سازی سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری

۳-۶ استاندارد ملی ایران شماره ۴-۸۹۲۳: میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - آماده‌سازی آزمایشه، سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای آزمون میکروبیولوژی - قسمت چهارم: مقررات ویژه برای آماده‌سازی محصولات به غیر از شیر، گوشت، ماهی و فرآورده‌های آنها

۳-۷ استاندارد ملی ایران شماره ۳-۹۲۶۳: میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - روش جامع برای شمارش کلی فرم‌ها - روش شمارش کلنی

۳-۸ استاندارد ملی ایران شماره ۹۸۹۹: میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - راهنمای کلی الزامات آزمون

۳-۹ استاندارد ملی ایران شماره ۱-۱۰۸۹۹: میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - روش جامع برای شمارش کپک‌ها و مخمرها - قسمت اول: روش شمارش کلنی در فرآورده‌هایی با فعالیت آبی (a_w) بیشتر از ۰/۹۵

۳-۱۰ استاندارد ملی ایران شماره ۲-۱۰۸۹۹: میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - روش جامع برای شمارش کپک‌ها و مخمرها - قسمت دوم: روش شمارش کلنی در فرآورده‌هایی با فعالیت آبی (a_w) مساوی یا کمتر از ۰/۹۵

۳-۱۱ رحیمی فرد، ناهید. راهنمای سریع کنترل میکروبیولوژی مواد غذایی، آشامیدنی، آرایشی و بهداشتی، چاپ اول، انتشارات تیمورزاده - طبیب، پاییز ۱۳۸۶

۴ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد اصطلاح و تعریف زیر به کار می‌رود:

۴-۱

سبزی خشک

گیاهان و یا بخش‌های گیاهی خشک شده می‌باشند که به صورت کامل یا پودر شده، به تنهایی و یا به صورت مخلوط شده مورد استفاده قرار می‌گیرند. سبزی‌هایی که برای فرآیند خشک شدن مورد استفاده قرار می‌گیرند از قسمت‌های مختلف گیاهان بدست می‌آیند که دارای انواع زیر می‌باشد:

۴-۱-۱

سبزی‌های برگ‌گی

منظور سبزی‌هایی هستند که برگ یا قسمتی از برگ و یا ساقه‌های جوان، ظریف و غیر خشبی آنها مصرف غذایی دارند مانند نعنا، جعفری و کرفس.

۴-۱-۲

سبزی‌های غده‌ای

منظور سبزی‌هایی هستند که قسمت‌های متورم زیر زمینی آنها به مصرف می‌رسند مانند سیر و پیاز.

۵ ویژگی‌های میکروبیولوژی

ویژگی‌های میکروبیولوژی انواع سبزی خشک باید با جدول ۱ مطابقت داشته باشد.

جدول ۱- ویژگی‌های میکروبیولوژی انواع سبزی خشک

انواع سبزی خشک (حداکثر مجاز در گرم)	فرآورده ویژگی
۱۰ ^۵	شمارش کلی میکروارگانیزم‌ها
۱۰ ^۳	کلی‌فرم‌ها
منفی	اشریشیاکلی
۱۰ ^۲	باسیلوس سرئوس
منفی	انتروکوک‌ها
۱۰ ^۳	کپک
منفی	تخم انگل

۶ نمونه‌برداری

نمونه‌هایی که به آزمایشگاه تحویل داده می‌شود باید نماینده واقعی کل نمونه بوده و در طی حمل و نقل، جا به جایی و نگهداری صدمه ندیده و یا تغییری در آن ایجاد نشده باشد. برای آگاهی بیشتر از شرایط نمونه‌برداری و نگهداری نمونه به استاندارد ملی ایران ۹۸۹۹ مراجعه کنید.

۷ مواد لازم

۱-۷ محلول کلرید سدیم اشباع

مواد تشکیل دهنده

مقدار

۹۰ g

کلرید سدیم

۲۳۰ ml

آب مقطر

روش تهیه

۹۰ g کلرید سدیم را در ۲۳۰ ml آب مقطر استریل حل کنید تا یک محلول کاملاً اشباع حاصل شود.

۲-۷ محلول لوگل

مواد تشکیل دهنده

مقدار

۵g

ید

۱۰g

یدور پتاسیم

روش تهیه

مواد فوق را در ۱۰۰ ml آب مقطر استریل حل کنید.

۳-۷ محلول سولفات روی اشباع

<u>مقدار</u>	<u>مواد تشکیل دهنده</u>
۳۳۱g	سولفات روی
۱۰۰۰ ml	آب مقطر
	روش تهیه

۳۳۱g سولفات روی را در ۱۰۰۰ml آب مقطر استریل حل کنید تا یک محلول کاملاً اشباع حاصل شود.

۴-۷ محلول فرمالدئید

<u>مقدار</u>	<u>مواد تشکیل دهنده</u>
۲ml	فرمالدئید
۱۰۰ml	آب مقطر
	روش تهیه

۲ml فرمالدئید را در ۱۰۰ml آب مقطر استریل حل کنید.

۸ وسایل

از وسایل و تجهیزات آزمایشگاهی مطابق با استاندارد ملی ایران ۹۸۹۹ استفاده کنید.

۹ روش اجرای آزمون

۱-۹ آماده‌سازی آزمون

برای آماده‌سازی آزمون به استاندارد ملی ایران شماره ۱-۸۹۲۳: سال ۱۳۸۶ و استاندارد ملی ایران شماره ۴-۸۹۲۳: سال ۱۳۸۵ مراجعه شود.

برخی از ادویه‌ها (مانند میخک، خردل، آویشن و فلفل) دارای خاصیت ضد میکروبی می‌باشند آماده سازی این دسته از فرآورده‌ها را مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۴-۸۹۲۳ انجام دهید.

۲-۹ تعیین وجود انگل

برای تعیین وجود تخم انگل مطابق روش زیر عمل نمایید:

۱۵g سبزی خشک را در ۱۰۰ml محلول کلرید سدیم اشباع ریخته و حداقل ۴۵min اجازه دهید مخلوط حاصل ثابت در یک جا بماند. سپس آن را از پارچه تنزیب یکبار مصرف که روی یک بشر خالی قرار داده‌اید عبور داده و صاف کنید. در انتهای صاف کردن، برای جداسازی بیشتر ۲۰۰ml آب مقطر استریل ریخته و صبر کنید تا کل محلول در بشر زیر تنزیب جمع شود.

کل محتویات بشر را از صافی با قطر منافذ $1\mu\text{m}$ عبور داده، صافی را در ۱ lit آب دو بار تقطیر غوطه‌ور نموده و به مدت ۱۰ min تکان دهید. محلول فوق را در لوله‌های سانتریفوژ تقسیم کرده و به مدت ۵ min با دور ۶۰۰ g سانتریفوژ کنید، مایع رویی را دور ریخته و به ۱ ml رسوب حاصل ۱ ml محلول فرمالدئید ۲٪ افزوده و مخلوط کنید.

۲ تا ۳ قطره محلول لوگل (به نسبت ۱ به ۵ با محلول سولفات روی اشباع رقیق شود) به رسوب به دست آمده بیفزایید، کاملاً مخلوط کنید.

۱ ml از رسوب را روی لام مخصوص قرار دهید، لامل را روی آن قرار داده و توسط میکروسکوپ تمام سطح لام را از نظر وجود کیست تک یاخته‌ها و یا تخم انگل بررسی کنید. نتیجه را از نظر وجود یا عدم وجود کیست تک یاخته‌ها و یا تخم انگل در حجم مشخصی از نمونه گزارش کنید.

سپس ۵ ml محلول سولفات روی اشباع به یک میلی‌لیتر باقیمانده رسوب افزوده به گونه‌ای که از لوله سرریز نشود و محتویات آن را پس از مخلوط نمودن در دور ۶۵۰ g به مدت ۳ min سانتریفوژ کنید.

یک لامل را بر روی سطح لوله به گونه‌ای که با مایع داخل لوله در تماس مستقیم باشد ۲ min تا ۳ min روی لوله قرار دهید. سپس با دقت و به آرامی آن را برداشته روی یک لام بگذارید. توسط میکروسکوپ تمام سطح لام را از نظر وجود کیست تک یاخته‌ها و یا تخم انگل بررسی کنید.

نتیجه را به صورت وجود یا عدم وجود کیست تک یاخته‌ها و یا تخم انگل در وزن مشخصی از نمونه گزارش کنید.

۳-۹ شمارش کلی میکروارگانیزم‌ها

شمارش کلی میکروارگانیزم‌ها باید مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۵۲۷۲ انجام شود.

۴-۹ کلیفرم‌ها

شمارش کلی فرم‌ها باید مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۹۲۶۳ انجام شود.

۵-۹ اشریشیاکلی

شناسایی اشریشیاکلی باید مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۲۹۴۶ انجام شود.

۶-۹ باسیلوس سرئوس

شمارش باسیلوس سرئوس باید مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۲۳۲۴ انجام شود.

۷-۹ آنتروکوک‌ها

برای جستجوی آنتروکوک‌ها به استاندارد ملی ایران شماره ۲۱۹۸ انجام شود.

۸-۹ کپک

شمارش کپک باید مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۱-۱۰۸۹۹ و استاندارد ملی ایران شماره ۲-۱۰۸۹۹ انجام شود.