

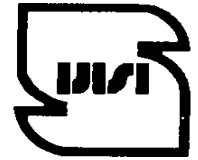


جمهوری اسلامی ایران

Islamic Republic of Iran

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

Institute of Standards and Industrial Research of Iran



استاندارد ملی ایران

۸۷۸۰

چاپ اول

ISIRI

8780

1 st. Edition

شیر و شیر خشک، دوغ کره و پودر دوغ کره ، آب پنیر و پودر
آب پنیر - شناسایی فعالیت فسفاتاز - روش آزمون

**Milk and dried milk ,butter milk and butter milk
powder, whey and whey powder Detection
of phosphatase activity-Test method**

« بسمه تعالی »

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) میباشد.


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 میگیرد. 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 میگردد به تصویب رسیده باشد.


مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران از اعضای اصلی سازمان بین المللی استاندارد میباشد 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 استاندارد کالاهای صادراتی و درجه بندی آنها اجباری نماید.


همچنین بمنظور 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.


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: ۰۲۱-۸۸۷۹۴۶۱-۵ 

دورنگار: کرج ۰۲۶۱-۲۸۰۸۱۱۴ - تهران ۰۲۱-۸۸۸۷۰۸۰ - ۸۸۸۷۱۰۳ 

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

پیام نگار: Standard @ isiri.or.ir 

بهاء: ۲۶۲۵ ریال 

	Headquarters :	Institute Of Standards And Industrial Research Of Iran
	P.O.Box:	31585-163 Karaj – IRAN
	Tel:	0098 261 2806031-8
	Fax:	0098 261 2808114
	Central Office :	Southern corner of Vanak square, Tehran
	P.O.Box:	14155-6139 Tehran-IRAN
	Tel:	0098 21 8879461-5
	Fax:	0098 21 8887080, 8887103
	Email:	Standard @ isiri.or.ir
	Price:	2625 RLS

کمیسیون استاندارد « شیر و شکر، دوغ کره و پودر دوغ کره، آب پنیر و پودر آب پنیر - شناسایی فعالیت فسفاتاز- روش آزمون»

رئیس

علیزاده ، محمد

(دکترای صنایع غذایی)

سمت یا نمایندگی

دانشکده کشاورزی - دانشگاه ارومیه

اعضاء

امینی ، غلامرضا

(فوق لیسانس مدیریت دولتی)

ایمانی آذر ، شنای

(لیسانس صنایع غذایی)

برازندگان ، خسرو

(فوق لیسانس صنایع غذایی)

جلایر ، منصور

(لیسانس شیمی)

قنبرپور ، فرامرز

(لیسانس شیمی)

شریعتی ، منیژه

(لیسانس علوم تغذیه)

اداره کل استاندارد و تحقیقات صنعتی استان رفعت نژاد ، محمد حسین

(لیسانس صنایع غذایی)

آذربایجان غربی

رفیعی ، بهنام

(لیسانس صنایع غذایی)

شرکت لبنیات کشت و صنعت مغان

مظفری ، فربود

(لیسانس علوم تغذیه)

شرکت شیر پاستوریزه پگاه ارومیه

میرزاپور ، امیر

(لیسانس صنایع غذایی)

شرکت لبنیاتی سحر

وحدانی ، احمد

(لیسانس علوم تغذیه)

دانشگاه علوم پزشکی استان آذربایجان غربی

دبير

اسلامی فرد ، فریده

(ليسانس صنايع غذايی)

اداره كل استاندارد و تحقيقات صنعتی استان آذربايجانغربی

اعضای پانصد و شصت و چهارمین اجلاس هیئت کمیته ملی استاندارد فوراکی و

فرآورده های کشاورزی مورخ ۸۵/۲/۲۴

رئیس

میر هادی ، سید احمد
(دکترای بیوشیمی)

سمت یا نمایندگی

عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات علوم دامی
وزارت جهاد کشاورزی

اعضا

اداره کل استاندارد و تحقیقات صنعتی آذربایجان غربی	اسلامی فرد ، فریده (لیسانس صنایع غذایی)
موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران	بادامچی ، فرهاد (لیسانس علوم تغذیه)
صنایع تبدیلی و تکمیلی وزارت جهاد کشاورزی	بوستانی ، محسن (فوق لیسانس صنایع غذایی)
شرکت صنایع شیر ایران	پور ایمان پرست ، کاوه (فوق لیسانس صنایع غذایی)
موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع وزارت جهاد کشاورزی	جایمند ، کامکار (دکتری شیمی آلی)
شرکت مواد غذایی شکلی	سیروس ، سحر (لیسانس شیمی)
اداره کل دامپزشکی استان آذربایجان غربی	قنبرپور ، فرامرز (لیسانس شیمی)
اداره کل استاندارد و تحقیقات صنعتی استان تهران	رفیعی طاری ، نیلوفر (فوق لیسانس صنایع غذایی)
سازمان توسعه تجارت ایران	صفویان ، سید عیسی (لیسانس مدیریت)
کارشناس استاندارد	نوروزی ، سعید (دکتر)
صنایع تبدیلی و تکمیلی محصولات کشاورزی وزارت جهاد کشاورزی	نجفی ، پریش (دکترای دامپزشکی)

شرکت شیر و پاستوریزه پگاه استان آذربایجان غربی

مظفری ، فرهود

(لیسانس علوم تغذیه)

شرکت لبنیاتی سحر

میرزا پور ، امیر

(لیسانس صنایع غذایی)

دانشگاه علوم پزشکی استان آذربایجان غربی

وحدانی ، احمد

(لیسانس علوم تغذیه)

دیپلم

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

شریعتی ، منیژه

(لیسانس علوم تغذیه)

فهرست مندرجات

صفحه

پیش گفتار.....	الف
۱ هدف	۱
۲ دامنه کاربرد	۱
۳ مراجع الزامی	۲
۴ اصطلاحات و تعاریف	۳
۵ اساس روش	۴
۶ مواد لازم	۵
۷ وسایل لازم	۷
۸ نمونه برداری	۸
۹ آماده کردن آزمایش و نمونه کنترل	۹
۱۰ روش های آزمون	۱۰
۱۱ بیان نتایج	۱۷
۱۲ دقت	۱۷
۱۳ گزارش آزمون	۱۸
پیوست الف(اطلاعاتی)- روش جایگزین با استفاده از معرف	۲۰

پیش گفتار

استاندارد شیرو شیر خشک، دوغ کره و پودر دوغ کره، آب پنیر و پودر آب پنیر - شناسایی فعالیت فسفاتاز- روش آزمون» که توسط کمیسیونهای مربوطه تهیه و تدوین شده و در پانصد و شصت و چهارمین جلسه کمیته ملی استاندارد خوراک و فرآورده‌های کشاورزی مورخ ۸۵/۲/۲۴ 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 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 هرگونه پیشنهادی که برای اصلاح یا تکمیل این استانداردها ارائه شود، در هنگام تجدیدنظر در کمیسیون فنی مربوط مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین برای مراجعه به استانداردهای ملی ایران باید همواره از آخرین تجدیدنظر آنها استفاده کرد.

در تهیه و تدوین این استاندارد سعی شده است که ضمن توجه به شرایط موجود و نیازهای جامعه، در حد امکان بین این استاندارد و استانداردهای ملی کشورهای صنعتی و پیشرفته هماهنگی ایجاد شود. منبع و موخدی که برای تهیه این استاندارد به کار رفته به شرح زیر است:

1- ISO/TS 6090 : 2004 _Milk and dried milk , buttermilk and buttermilk powder, whey and whey powder _ Detection of phosphatase activity

شیر و شکر خشک ، دوغ کره و پودر دوغ کره ، آب پنیر و پودر آب پنیر -

شناسایی فعالیت فسفاتاز - روش آزمون

۱ هدف

هدف از تدوین این استاندارد ، تعیین روش برای شناسایی فعالیت فسفاتاز می باشد.

۲ دامنه کاربرد

دامنه کاربرد این استاندارد در مورد شیر و شیرخشک ، دوغ کره و پودر دوغ کره ، آب پنیر و پودر آب پنیر می باشد.

یادآوری ۱ - در این استاندارد دو روش انتخابی الف و ب ارائه شده است .

یادآوری ۲ - روش الف (مطابق بند ۱۰-۱) عمل شفاف سازی نداشته و ساده و مناسب برای شیر است.

یادآوری ۳ - روش ب (مطابق بند ۱۰-۲) یک مرحله شفاف سازی داشته و نتایج کمی آن ، حساس تر و دقیق تر می باشد.

یادآوری ۴ - اگر یکی از این دو روش برای کنترل پاستوریزاسیون کامل این محصولات و مواد خام آن ها استفاده شود ، در صورت مثبت بودن نتایج ، آزمون های دیگری باید انجام گیرد تا مشخص شود که فعالیت فسفاتاز به علت فسفاتاز میکروبی مقاوم به حرارت و یا فسفاتاز فعال شده^۱ نمی باشد.

^۱ _ Reactivated

یادآوری ۵ - در این استاندارد یک روش سریع با استفاده از یک معرف ویژه در پیوست اطلاعاتی الف ، ذکر شده است.

۳ مراجع الزامی

مدارک الزامی زیر حاوی مقرراتی است که در متن این استاندارد به آنها ارجاع شده است. بدین ترتیب آن مقررات جزئی از این استاندارد محسوب می‌شود. در مورد مراجع دارای تاریخ چاپ و / یا تجدیدنظر، اصلاحیه‌ها و تجدیدنظرهای بعدی این مدارک مورد نظر نیست. معهذاً بهتر است کاربران ذینفع این استاندارد، امکان کاربرد آخرین اصلاحیه‌ها و تجدیدنظرهای مدارک الزامی زیر را مورد بررسی قرار دهند. در مورد مراجع بدون تاریخ چاپ و / یا آخرین چاپ و / یا تجدیدنظر آن مدارک الزامی ارجاع داده شده مورد نظر است.

استفاده از مراجع زیر برای کاربرد این استاندارد الزامی است:

۱-۳ استاندارد ملی ایران ۱۲۵۸ ، سال ۱۳۶۴ - تعیین فعالیت آنزیم فسفاتاز در شیر، شیرخشک -

دوغ کره - پودر دوغ کره و لاکتوسرم

۲-۳ استاندارد ملی ایران ۳۲۶ ، سال ۱۳۸۰ - شیر و فرآورده های آن - نمونه برداری

۳-۳ استاندارد ملی ایران ۶۶۴ ، سال ۱۳۴۹ - آزمون فسفاتاز کنترل آنزیمی پاستوریزاسیون شیر

۴-۳ استاندارد ملی ایران ۲۰۱۲ ، سال ۱۳۸۱ - شیر خشک - ویژگیها

۵-۳ استاندارد ملی ایران ۱۶۴ ، تجدید نظر اول ، سال ۱۳۸۳ - شیر خام - ویژگیها

۶۳- استاندارد ملی ایران ۶۹۵۹ ، سال ۱۳۸۲ - پنیر و فرآورده های آن - پودر آب پنیر - ویژگیها و روشهای آزمون

۷-۳ استاندارد ملی ایران ۵۸۷۷ ، سال ۱۳۸۱ - شیر و فرآورده های آن - پودر پنیر - ویژگیها

۸-۳ استاندارد ملی ایران ۱۷۲۸ ، سال ۱۳۸۱ - آب - مورد مصرف در آزمایشگاه تجزیه - ویژگیها و روشهای آزمون

۹-۳ استاندارد ملی ایران ۱-۷۴۴۲ ، سال ۱۳۸۳ - درستی (صحت و دقت) روشها و نتایج اندازه گیری - قسمت اول : تعاریف و اصول کلی

۱۰-۳ استاندارد ملی ایران ۱۷۵۶ ، تجدید نظر اول ، سال ۱۳۸۲ - شیر و فرآورده های آن - تعاریف و واژه ها

۴ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد اصطلاحات و / یا واژهها با تعاریف زیر به کار می رود:

۴-۱ بهر

مقدار مشخصی از محصول که در یک نوبت و در شرایط یکسان تهیه و تولید می شود.

۴-۲ آزمونیه^۱

نمونه ای که از بهر مورد نظر ، طبق ضوابط نمونه برداری ، استاندارد ملی ایران ۳۲۶ ، سال ۱۳۸۰ برای انجام آزمون تهیه می گردد.

۳-۴ آزمون^۱:

مقدار معینی از آزمایش است که برای انجام آزمایش ، از آزمایش به طور وزنی برداشت می شود.

۳-۴ آنزیم فسفاتاز :

آنزیم فسفاتاز به طور طبیعی در شیرخام وجود دارد ، که در اثر پاستوریزاسیون از بین می رود. وجود این آنزیم در شیرپاستوریزه دلیل برنقص درعمل پاستوریزاسیون می باشد.

۴-۴ فعالیت فسفاتاز :

فعالیت فسفاتاز با استفاده از روش شرح داده شده در این استاندارد شناسایی می شود.

یادآوری - در این استاندارد ، منظور از فعالیت فسفاتاز مثبت یا منفی بودن نتیجه است و برای تعیین آن باید به استاندارد ملی ایران ۱۲۵۸ ، سال ۱۳۶۴ مراجعه شود.

۵ اساس روش

نمونه فرآورده مایع و یا فرآورده مایع باز ساخته ، با افزودن سوبسترای بافر^۲ حاوی دی سدیم پارانیترو فنیل فسفات^۳ ($\text{pH}=10/6$) رقیق شده و به مدت دو ساعت در دمای ۳۷ درجه سلیسیوس گرمخانه گذاری می شود. پارانیترو فنل تحت تأثیر فسفاتازقلیایی فعال ، هیدرولیز و آزاد می شود. پارانیترو فنل آزاد شده به طور مستقیم (روش الف - طبق بند ۱۰-۱) و یا پس از شفاف سازی (روش ب- طبق بند ۱۰-۲) به واسطه رنگ زرد آن ، با تشخیص چشمی و یا با استفاده از طیف سنجی شناسایی می شود. اگر نتیجه مثبت باشد ، برای تشخیص وجود فسفاتاز میکروبی مقاوم به حرارت ، نمونه پاستوریزه می شود و برای شناسایی وجود فسفاتاز فعال شده ، نمونه با محلول استات منیزیم که به فسفاتاز فعال شده اضافه می شود ، رقیق می گردد. روشهای الف و ب برای تعیین و شناسایی حضور موارد فوق مورد استفاده قرار می گیرند.

۶ مواد لازم

فقط از واکنشگرهای با درجه خلوص بالا و آب مقطر یا آبی که دارای ویژگی های آب مقطر باشد ، استفاده کنید.

۱-۶ مملول هیدروکسید سدیم^۱ :

۰/۱ یا ۰/۵ مول بر لیتر.

۲-۶ مملول تامپون هیدروکلرید دی اتانول آمین (pH=۱۰/۶) :

۱۵/۸ گرم از هیدروکلرید دی اتانول آمین^۲ را در آب حل کنید و به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر برسانید.

۳-۶ مملول سوبسترای بافر :

۱/۵ گرم دی سدیم پارا نیتروفل فسفات ، یا ۱/۳ گرم دی هیدروژن پارا نیتروفل فسفات را در محلول تامپون هیدروکلرید دی اتانول آمین (طبق بند ۶-۲) حل کنید و سپس با همان بافر به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر برسانید. این محلول در دمای یخچال (۴ درجه سلیسیوس یا کمتر) به مدت ۴ هفته قابل نگه داری است ولی در صورت افزودن ۰/۱ در صد ، کلروفرم به آن ، این مدت زمان به ۳-۴ ماه افزایش می یابد.

هرگونه عدم پایداری سوبسترای بافر با تشکیل رنگ زرد مشخص می گردد. آزمون مذکور همیشه در حضور یک نمونه کنترل که از محصول جوشیده شده^۱ که شامل همان مقدار محلول سوبسترای بافر می باشد انجام می گیرد. بنابراین توصیه می شود سوبسترای بافر در مقایسه با نمایه^۲ ۲۵ میلی متری دیگری که حاوی آب مقطر است ، در طیف سنج (طبق بند ۷-۳) خوانده شود و اگر رنگ خوانده شده نشان دهنده مقادیر بیش از ۱۰ میکروگرم باشد ، باید محلول جدید تهیه شود.

۴-۶ (سوب دهنده ها)

۱-۴-۶ مملول سولفات روی :

۳۰ گرم از سولفات روی (هفت آبه)^۳ را در آب مقطر حل کنید و به حجم ۱۰۰ میلی لیتر برسانید.

۲-۴-۶ مملول هگزاfluورسیانور پتاسیم (دو ظرفیتی) سه آبه^۴ :

^۱ - NaOH

^۲ - [(C₂H₅O)₂NH₂Cl

1- A boild product control

2 - C ell

^۳ - ZnSO₄ , 7H₂O

۱۵ گرم از محلول هگزاfluoroسیانور پتاسیم (دو ظرفیتی) سه آبه را در آب مقطر حل کرده و به حجم ۱۰۰ میلی لیتر برسانید.

۵-۶ مملول استات منیزیم^۵:

۳۵/۴ گرم از استات منیزیم را در ۲۵ میلی لیتر آب مقطر حل کرده و به حجم ۱۰۰ میلی لیتر برسانید.

۶-۶ کاغذ لیتموس

۷ وسایل لازم:

به غیر از وسایل معمول آزمایشگاهی، وسایل زیر مورد نیاز است:

۱-۷ ترازوی مساس:

با دقت تقریبی ۰/۱ گرم

۲-۷ حمام آب:

بادمای 37 ± 1 تا 63 ± 1 درجه سلیسیوس و دمای جوش.

۳-۷ طیف سنج^۱ یا سیستم رنگ سنجی مقایسه ای^۲:

طیف سنج مناسب برای اندازه گیری جذب در طول موج ۴۰۵ نانومتر، یا سیستم رنگ سنج مقایسه ای، دارای صفحات شیشه ای رنگی استاندارد مخصوص. صفحات شیشه ای مزبور به منظور مقایسه بصری تحت نور منعکس شده، استفاده می شوند و بر حسب میکروگرم پارانیتروفنل در یک میلی لیتر نمونه کالیبره شده اند. این سیستم رنگ سنج دارای دو نمایه با قطر ۲۵ میلی متر می باشد.

۱۴-۷ لوله های آزمایش:

در اندازه ۱۶×۱۵۰ میلی متر و دارای درپوش مناسب.

یادآوری - لوله های آزمایش را بعد از استفاده، باید به روش زیر تمیز نمایید:

⁴ - $(K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O)$

⁵ - $[Mg(C_2H_3O_2)_2 \cdot 4H_2O]$

¹ - Spectrometer

² - Special comparator

لوله‌ها را خالی کنید و با آب شستشو دهید ، سپس با آب گرم حاوی یک ماده شوینده قلیایی بشوید و بعد در آب داغ کاملاً شستشو دهید و در نهایت با آب مقطر به مدت ۲ دقیقه شسته و قبل از استفاده خشک کنید. روش های شستشوی دیگری نیز ممکن است مورد استفاده قرار گیرد.

۵-۷ پی پت :

پی پت های یکسان و مدرج ۵/۰ ، ۱ ، ۲ ، ۵ و ۱۰ میلی لیتری.

یادآوری - پی پت را باید بلافاصله بعد از مصرف شسته و سپس با آب مقطر آب کشی کنید و قبل از استفاده خشک کنید .

۶-۷ کاغذ صافی :

درجه متوسط با اندازه مناسب.

۷-۷ گرمخانه^۱ :

با قابلیت تنظیم درجه حرارت 34 ± 1 درجه سلیسیوس.

۸ نمونه برداری

نمونه برداری باید مطابق با استاندارد ملی ایران ۳۲۶ ، سال ۱۳۸۰ - شیر و فرآورده‌های آن - نمونه برداری ، انجام گیرد.

یادآوری - نمونه باید نماینده واقعی از کل بهر باشد و در طی نگه داری و حمل و نقل ، دچار صدمه یا تغییر نگردد.

۹ آماده کردن آزمایش و نمونه کنترل

۱-۹ شیر ، دوغ کره و آب پنیر

بهتر است آزمون را بلافاصله پس از نمونه برداری انجام دهید ، در غیر این صورت نمونه را برای

^۱- Incubator

مدت حداکثر دو روز در یخچال نگه داری کنید. نمونه را به دقت در درجه حرارت ملایم به هم بزنید. دقت کنید در طی هم زدن درجه حرارت به بالاتر از ۳۵ درجه سلیسیوس نرسد.

۹-۲ شیر فشک ، پودر دوغ کره و پودر آب پنیر

۱۰ گرم از نمونه را با دقت تقریبی ۰/۱ گرم وزن کنید ، سپس در ۹۰ میلی لیتر آب حل کنید و نمونه بازسازی شده را به دقت با حرارت ملایم مخلوط کنید. نباید درجه حرارت به بالاتر از ۳۵ درجه سلیسیوس برسد.

۹-۳ محصولات ترش

مقدار مناسبی از محلول هیدروکسید سدیم را به نمونه محصول ترش یا محصول باز ساخته ترش اضافه کنید ، به طوری که قطره‌ای از آن ، با کاغذ لیتموس واکنش خنثی تولید نماید.

۹-۱۴ نمونه کنترل

مقداری از نمونه (طبق بندهای ۹-۱، ۹-۲، ۹-۳) را به دقت در یک لوله آزمایش به مدت بیشتر از دو ثانیه بجوشانید. وقتی اطمینان حاصل کردید که محتویات لوله به خوبی حرارت داده شده است ، تا رسیدن به دمای آزمایشگاه خنک کنید.

۱۰ روش های آزمون

یادآوری - به هیچ وجه نمونه را در برابر نور مستقیم آفتاب قرار ندهید. هم چنین بزاق ممکن است اشتباهاً نتایج را مثبت نشان دهد ، بنابر این در موقع برداشت با پی پت دقت کامل نموده و از آلوده شدن پی پت ها با آب دهان جلوگیری نمایید.

۱۰-۱ روش الف (مناسب برای شیرو بدون عمل شفاف سازی)

۱۰-۱-۱ مقدار آزمون

۱۰-۱-۱-۱ مملول آزمون

۵ میلی لیتر از محلول سوبسترای بافر را به داخل لوله آزمایش خشک و تمیز به وسیله پی پت انتقال دهید ، سپس بلافاصله یک میلی لیتر از آزمون (طبق بندهای ۹-۱، ۹-۲، ۹-۳) را اضافه کنید. درپوش لوله آزمایش را محکم بسته و محتویات آنرا با سر و ته کردن کاملاً مخلوط کنید.

۲-۱-۱-۱۰ مملول کنترل

۵ میلی لیتر از محلول سوپسترای بافر را به وسیله پی پت به داخل لوله آزمایش تمیز و خشک دیگری انتقال دهید ، سپس یک میلی لیتر از محلول کنترل (طبق بند ۹-۴) را اضافه کنید. لوله آزمایش را بسته و محتویات آنرا با سر و ته کردن کاملاً مخلوط کنید.

۲-۱-۱۰ شناسایی

۱-۲-۱-۱۰ هر دو لوله آزمایش فوق‌الذکر را به مدت دو ساعت در حمام آب تنظیم شده روی ۳۷ درجه سلیسیوس قرار دهید.

۲-۲-۱-۱۰ بعد از دو ساعت ، هر دو لوله را از حمام آب خارج نمایید و هر کدام را با سر و ته کردن مخلوط کنید.

۳-۲-۱-۱۰ درپوش ها را برداشته و محلول آزمایشی را با محلول کنترل ، به صورت بصری یا با استفاده از رنگ سنج مقایسه کنید (طبق بند ۷-۳).

۳-۱-۱۰ نتایج آزمون

اگر رنگ محلول آزمایشی با رنگ محلول کنترل یکسان باشد واکنش فسفاتاز منفی است. اما اگر رنگ محلول آزمایشی کاملاً زرد رنگ باشد آزمون فسفاتاز مثبت است.

یادآوری ۱ - در موارد مشکوک ، عمل شناسایی را طبق روش ب یا استاندارد ملی ۱۲۵۸ ، سال ۱۳۶۴ انجام دهید.

هنگام استفاده از رنگ سنج (طبق بند ۷-۳) ، میزان پارانیتروفنل نمونه به وسیله محلول کنترل

مشخص می شود. لوله حاوی محلول کنترل ، در بالای شیشه‌های رنگی استاندارد در صفحه قرار می گیرد.

یادآوری ۲ - در صورتی که هنگام قرائت عددها ، به نور مصنوعی نیاز باشد ، باید روشنایی آن حتی‌الامکان مشابه نور روز باشد.

یادآوری ۳ - اگر واکنش مثبت باشد ، مطابق بند ۱۰-۳ عمل نمایید.

۲-۱۰ روش ب (همراه با عمل شفاف سازی)

۱-۲-۱۰ مقدار آزمون

۱-۱-۲-۱۰ مملول آزمون

۱۵ میلی لیتر از محلول سوبسترای بافر را به لوله آزمایش خشک به وسیله پی پت انتقال دهید و دو میلی لیتر از آزمایش تهیه شده (طبق بندهای ۱-۹ ، ۲-۹ ، ۳-۹) را اضافه نمایید. لوله های آزمایش را با درپوش بسته و با سر و ته کردن لوله کاملاً مخلوط کنید.

۲-۱-۲-۱۰ مملول کنترل

دوباره ۱۵ میلی لیتر از محلول سوبسترای بافر را به لوله آزمایش خشک و تمیز دیگری به وسیله پی پت انتقال دهید. سپس دو میلی لیتر نمونه کنترل (طبق بند ۴-۹) به آن اضافه کنید. لوله آزمایش را بسته و با سر و ته کردن ، محتویات آن را کاملاً مخلوط کنید.

۲-۲-۱۰ شناسایی

۱-۲-۲-۱۰ هر دو لوله آزمایش (طبق بندهای ۱۰-۲-۱ و ۱۰-۱-۲-۱) را به مدت دو ساعت در حمام آب ۳۷ درجه سلیسیوس قرار دهید.

۲-۲-۲-۱۰ پس از دو ساعت ، لوله‌ها را از حمام آب خارج سازید و درپوش لوله‌ها را بردارید. ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول سولفات روی را به محتویات هر دو لوله آزمایش اضافه کنید. لوله‌ها را با درپوش بسته و به شدت تکان دهید. هر دو لوله را به مدت سه دقیقه ثابت نگه دارید. دوباره درپوش‌ها را بردارید. ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول هگزافروسیانورپتاسیم (دو ظرفیتی) سه آبه را به محتویات هر دو لوله اضافه کنید. کاملاً مخلوط کنید و محتویات هر لوله را با کاغذ صافی صاف کنید و بخش تفکیک شده هر دو لوله را در لوله‌های آزمایش خشک و تمیز مجزا جمع‌آوری کنید.

۳-۲-۲-۱۰ رنگ محلول آزمایشی را با رنگ محلول کنترل مقایسه کنید ، به صورت بصری و یا با استفاده از طیف سنجی که بر روی طول موج ۴۰۵ نانومتر تنظیم شده است یا با استفاده از رنگ سنج (طبق بند ۷-۳) تعیین نمایید.

۳-۲-۱۰ نتایج آزمون

۱-۳-۲-۱۰ در صورت مقایسه بصری ، اگر رنگ محلول آزمایشی با رنگ محلول کنترل یکسان باشد ، باید واکنش فسفاتاز را منفی در نظر بگیرید و اگر رنگ محلول آزمایشی زرد رنگ باشد ، واکنش مذکور را مثبت در نظر بگیرید و در موارد مشکوک از طیف سنج استفاده کنید.

۲-۳-۲-۱۰ اگر نتیجه مثبت باشد مطابق بند ۱۰-۳ عمل نمایید.

۳-۱۰ آزمون‌های فسفاتاز میکروبی مقاوم به حرارت و فعال شده

۱-۳-۱۰ کلیات

به منظور اطمینان از این مطلب که ، نتیجه مثبت آزمایش فسفاتاز که توسط روش الف (طبق بند ۱۰-۱) و یا روش ب (طبق بند ۱۰-۲) انجام شده ، به علت حضور فسفاتاز میکروبی مقاوم به حرارت و یا حضور فسفاتاز فعال شده نیست ، آزمونهای ذیل را انجام دهید:

۲-۳-۱۰ آزمون فسفاتاز میکروبی مقاوم به حرارت

۱-۲-۳-۱۰ پاستوریزاسیون نمونه

۱۰ میلی لیتر آزمایش (طبق بندهای ۱-۹ ، ۲-۹ ، ۳-۹) را به دو لوله آزمایش خشک و تمیز منتقل نمایید . یکی از لوله‌ها را توسط درپوش بسته و دما سنجی را داخل لوله دیگر قرار دهید تا درجه حرارت مشخص شود.

هر دو لوله را در حمام آب با درجه حرارت ۶۳ درجه سلیسیوس قرار دهید . به طوری که سطح

نمونه مذکور در زیر سطح آب بن ماری مذکور قرار گیرد . دمای نمونه مذکور بایستی در مدت

۵ دقیقه به ۶۳ درجه سلیسیوس برسد. لوله‌ها را در دمای ۶۳ درجه سلیسیوس به مدت زمان ۳۰ دقیقه دیگر نگه دارید. لوله‌ها را از حمام آب خارج ساخته و بلافاصله آن‌ها را تا رسیدن به دمای آزمایشگاه با مخلوط آب و یخ، سرد نمایید، در حالی که با دما سنج داخل یکی از لوله‌ها، درجه حرارت را مشاهده می‌نمایید.

۱۰-۳-۲-۲ شناسایی

آزمونه تهیه شده در بند ۱۰-۳-۲-۱ را مطابق روش الف یا ب مورد آزمون قرار دهید.

۱۰-۳-۲-۳ نتیجه آزمون

در صورتی که نتیجه فعالیت فسفاتاز نمونه پاستوریزه شده در آزمایشگاه، مثبت باشد. آن گاه مشخص می‌شود که نمونه حاوی فسفاتاز مقاوم به حرارت می‌باشد. این نتیجه‌گیری به عنوان کنترل برای کفایت عمل پاستوریزاسیون محصول بکار می‌رود.

۱۰-۳-۳-۱ آزمون فسفاتاز فعال شده

۱۰-۳-۳-۱ آماده کردن آزمونه برای رقیق سازی و اهداف کنترلی

۱۰ میلی لیتر آزمونه (طبق بندهای ۱-۹، ۲-۹، ۳-۹) را به یک لوله آزمایش خشک و تمیز منتقل کنید. لوله مذکور را در یک حمام آب قرار دهید. به وسیله یک دما سنج خشک، دمای نمونه مذکور را کنترل کنید تا به ۹۵ درجه سلیسیوس برسد و یک دقیقه در این دما نگه دارید. سپس به سرعت تا رسیدن به دمای آزمایشگاه، با مخلوط آب و یخ سرد کنید. از نمونه کنترل جوشیده و آماده شده برای رقیق سازی استفاده کنید.

۵ میلی لیتر از نمونه آماده شده (طبق بندهای ۱-۹ ، ۲-۹ ، ۳-۹) را به یک لوله آزمایش خشک و تمیز منتقل کنید. ۰/۱ میلی لیتر آب به آن اضافه کنید و مخلوط کنید. سپس ۵ میلی لیتر دیگر از نمونه آماده شده را به لوله آزمایش یکسانی منتقل کنید. ۰/۱ میلی لیتر از محلول استات منیزیم (طبق بند ۵-۶) را به آن اضافه کرده و مخلوط کنید. هر دو لوله آزمایش را در یک گرمخانه با درجه حرارت ۳۴ درجه سلیسیوس به مدت یک ساعت قرار دهید و سپس هر دو را سریعاً تا رسیدن به دمای آزمایشگاه ، در مخلوط آب و یخ سرد کنید.

یک میلی لیتر از محتویات لوله دوم را به یک لوله آزمایش جدید (لوله سوم) ، خشک و تمیز منتقل و سپس با ۵ میلی لیتر از نمونه آزمایش جوشانده شده (طبق بند ۱۰-۳-۳-۱) رقیق کنید . محتویات لوله اول را رقیق نکنید.

۱۰-۳-۳-۳ شناسایی

محتویات لوله اول و سوم را طبق روش الف یا ب امتحان نمایید.

۱۰-۳-۳-۴ نتیجه آزمون

اگر محتویات لوله سوم (نمونه رقیق شده که محتوی استات منیزیم است) دارای فعالیت فسفاتاز بیشتر یا یکسانی نسبت به نمونه لوله اول (که رقیق نشده و فاقد استات منیزیم است) باشد ، در این صورت نمونه از نظر فسفاتاز فعال شده ، منفی در نظر گرفته می شود.

این مطلب نشان می‌دهد که فسفاتاز مشخص شده توسط روش الف (۱۰-۱) یا ب (۱۰-۲) دارای اصل و منشأ فعال شده می‌باشد.

در صورتی که لوله سوم فعالیت کمتری نسبت به لوله اول نشان دهد، نمونه آزمایشی نسبت به فسفاتاز باقیمانده، مثبت ارزیابی می‌شود (یعنی جواب مثبت قبلی توسط روش الف یا ب تایید می‌شود).

یادآوری - اگر نمونه فعال شده در دمای بالاتری (۲۴-۲۱ درجه سلیسیوس) به مدت بیشتر از دو ساعت باقی بماند، این امر ممکن است بصورت اشتباهی نتیجه را مثبت نشان دهد.

۱۰ بیان نتایج

نتایج آزمون را به صورت مثبت یا منفی یا با ذکر عبارت "مجدداً با روش استاندارد ملی ۱۲۵۸، سال ۱۳۶۴ آزمون گردد" بیان کنید.

وقتی رنگ‌ها توسط طیف سنج یا رنگ سنج سنجیده می‌شود، قرائت‌های حاصل از مراحل ۱۰-۱-۲-۳ یا ۱۰-۲-۲-۳ را برحسب میکروگرم پارانیتروفنل آزاد شده در هر میلی‌لیتر نمونه مایع یا نمونه باز ساخته ثبت کنید. عدد قرائت شده بین دو صفحه رنگی استاندارد را با افزودن علامت مثبت و یا منفی به آن عددی که نزدیکترین رقم به استاندارد می‌باشد، ثبت کنید.

۱-۱۲ آزمون بین آزمایشگاهی

مقادیر تکرارپذیری حاصله از نتایج آزمون های آزمایشگاهی انجام شده ، مطابق با استاندارد ملی ایران ۱-۷۴۴۲ - سال ۱۳۸۳ ، ”درستی (صحت و دقت) روشها و نتایج اندازه گیری - قسمت اول : تعاریف و اصول کلی ” می باشد. مقادیر حاصل از این آزمایش ، ممکن است غیر از موارد ذکر شده برای دامنه های غلظت ، قابل انجام نباشد و احتمال دارد قوانین و مقررات ملی داخلی کشور (استاندارد های ملی مربوطه) ، محدودیت های ویژه ای برای فعالیت فسفاتاز محصولات مختلف وضع کرده باشد.

۲-۱۲ تکرارپذیری

نباید در بیش از ۵ در صد موارد اختلاف مطلق ، بین نتایج آزمون مستقل ، با یک روش روی نمونه های آزمون یکسان در یک آزمایشگاه توسط یک آزمایش گر و با استفاده از تجهیزات یکسان ، در فواصل زمانی کوتاه ، بیش از دو میکروگرم پارانیتروفنل ، بالاتر از محدوده بحرانی (۰-۱۴) در هر میلی لیتر نمونه مایع یا نمونه باز ساخته ، باشد.

۱۳ گزارش آزمون

گزارش آزمون باید دارای آگاهی های زیر باشد:

۱-۱۳ تمام اطلاعات لازم برای شناسایی کامل نمونه.

۲-۱۳ روش نمونه برداری طبق استاندارد ملی ایران ۳۲۶ ، سال ۱۳۸۰ - شیر و فرآورده های آن -
نمونه برداری.

۳-۱۳ روش آزمون طبق استاندارد ملی ایران ۸۷۸۰ سال ۱۳۸۵

۴-۱۳ هر گونه شرایطی که به طور اختیاری انجام شده و در این استاندارد ذکر نشده و هم چنین
هر گونه مشاهده غیر عادی در طول آزمون که ممکن است روی نتیجه آزمون مؤثر باشد ، ذکر
گردد.

۵-۱۳ در صورتی که تکرار پذیری انجام شده باشد ، آخرین نتایج بدست آمده از آن باید
موردنظر باشد.

۶-۱۳ تاریخ انجام آزمون

۷-۱۳ نام و نام خانوادگی و امضا آزمایش کننده

پیوست الف

روش هایگزین ، با استفاده از معرف

(اطلاعاتی)

الف - ۱ کلیات

یک معرف ویژه برای تجزیه سریع اجزاء تشکیل دهنده شیر کلوئیدی وجود دارد. این روش ، واکنش آنزیمی را متوقف کرده و این امکان را فراهم می‌سازد که یک ترکیب کاملاً شفاف در مدت بسیار کوتاه بدست آید. بنابراین روش مذکور قابل اجرا و عملی خواهد بود.

الف - ۲ معرف تجزیه کننده^۱

معرف تجزیه کننده به صورت تجارتي قابل دسترسى است.

الف - ۳ آماده کردن آزمايه و نمونه کنترل

مطابق بند ۹ عمل شود.

الف - ۴ روش آزمون

الف - ۴-۱ آزمون: به (بند ۱۰-۲-۱) رجوع کنید.

الف - ۴-۲ شناسایی

الف - ۴-۲-۱ لوله‌ها را بسته و به وسیله سر و ته کردن مخلوط کنید. لوله‌ها را در حمام

آب با درجه حرارت ۳۷ درجه سلیسیوس به مدت دو ساعت قرار دهید.

الف - ۴-۲-۲ لوله‌ها را از حمام آب خارج ساخته و سپس به شرح زیر عمل کنید:

درپوش‌ها را بردارید. ۸ میلی‌لیتر معرف تجزیه کننده (طبق بند الف - ۲) اضافه کنید. درپوش‌ها را

بگذارید و لوله‌ها را به منظور مخلوط کردن محتویات ، تکان دهید. لوله‌ها را در حمام آب با

دمای ۳۷ درجه سلیسیوس به مدت دو دقیقه قرار دهید.

^۱ _ Dissolving reagent

الف-۴-۳ رنگ محلول آزمایشی را با رنگ محلول کنترل ، به صورت بصری و یا به وسیله

رنگ سنج مخصوص یا طیف سنج با طول موج ۴۰۵ نانومتر(طبق بند ۷-۳) مقایسه کنید.

الف-۴-۲-۴ هنگام مقایسه بصری ، اگر رنگ محلول آزمایشی با رنگ محلول کنترل یکسان

باشد واکنش فسفاتاز را منفی در نظر بگیرید و هنگامیکه رنگ محلول آزمایشی به رنگ زرد و

پررنگ‌تر از رنگ محلول کنترل باشد ، واکنش فسفاتاز مثبت است . در موارد مشکوک از

طیف سنج استفاده کنید.

ICS 67.100.10

صفحة : ٢١
