ISIRI
8923-2
1st.edition

جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran
مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران
Institute of Standards and Industrial Research of Iran

استاندارد ملی ایران
۲- ۸۹۲۳
چاپ اول

میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام – آماده‌سازی آزمایه، سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای آزمون میکروبیولوژی– قسمت دوم: مقررات ویژه برای آماده‌سازی گوشت و فرآورده‌های آن

Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination- Part 2: specific rules for the preparation of meat and meat products

« 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، صاحبنظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی واقتصادی آگاه ومرتبط با موضوع صورت میگیرد. سعی بر این است که استانداردهای ملی، در جهت مطلوبیت ها و مصالح ملی وبا 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 واعضای کمیسیون های فنی مربوط ارسال میشود و پس از دریافت نظرات وپیشنهادها در کمیته ملی مرتبط با آن رشته طرح ودر 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 بـررسی در کمیته ملی مربوط و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی چاپ ومنتشرمی 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 تـوجه به شرایط کلی ونیازمندیهای خاص کشور، از آخرین پیشرفتهای علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهـای بین المـللی استفـاده 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 وعمومی، 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 آنرا اجباری نماید.

همچنین بمنظور اطمینان بخشیدن به استفاده کنندگان از خدمات سازمانها و مؤسسات فعال در زمینه مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و گواهی کنندکان سیستم های مدیریت کیفیت ومدیریت 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 ـ شهر صنعتی، صندوق پستی ۱۶۳-۳۱۵۸۵

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

تلفن مؤسسه در کرج: ۸-۲۸۰۶۰۳۱-۰۲۶۱

تلفن مؤسسه در تهران: ۵-۸۸۷۹۴۶۱-۰۲۱

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

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

پیام نگار: Standard @ isiri.or.ir

بهاء ۲۷۵۰ ریال

Headquarters: Institute Of Standards And Industrial Research Of Iran

P.O.Box : 31585-163 Karaj – IRAN

Tel (Karaj): 0098 (261) 2806031-8

Fax (Karaj): 0098 (261) 2808114

Central Office: Southern corner of Vanak square, Tehran

P.O.Box : 14155-6139 Tehran-IRAN

Tel (Tehran): 0098 21 8879461-5

Fax (Tehran): 0098 21 8887080, 8887103

Email: Standard @ isiri.or.ir

Price: 2750 RLS

فهرست مندرجات

صفحه

پیش گفتار ..... ب

۱ هدف ۱

۲ دامنه کاربرد..... ۱

۳ مراجع الزامی ۲

٤ اصطلاحات و تعاریف..... ۳

۵ اساس روش..... ۵

٦ مواد لازم ٦

۷ وسایل لازم..... ۷

۸ آماده‌سازی نمونه‌ها..... ۸

۹ روش کار ۹

۱۰ رقت‌های متوالی اعشاری..... ۱۹

پیوست‌الف–ابزارنمونه‌برداری‌ازیک‌قطعه‌یایک‌قطعه‌آزمونی‌منجمدیامنجمدشده‌دردمای‌پائین(الزامی) ۲۰

پیوست ب– قالب برای تعیین محدوده یک نمونه سطحی (اطلاعاتی) ۲۱

.....

کمیسیون استاندارد « میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام – آماده‌سازی آزمایه، سوسپانسیون‌اولیه و رقت‌های اعشاری برای آزمون میکروبیولوژی – قسمت دوم: مقررات ویژه برای آماده‌سازی گوشت و فرآورده‌های آن»

۶-۲ رئیس	سمت یا نمایندگی
قائمی ، عزت‌ا... (دکترا میکروب‌شناسی)	دانشگاه علوم پزشکی گلستان

اعضاء

ابراهیمی امام، غلامحسن (لیسانس صنایع غذایی)	موسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران
رفتنی امیری ، زینب (دکترا صنایع غذایی)	دانشگاه مازندران – دانشکدهٔ کشاورزی
زند وکیلی ، فاطمه (فوق لیسانس علوم بهداشتی در تغذیه)	موسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران
عباسی ، رویا (لیسانس علوم تغذیه)	دانشگاه علوم پزشکی مازندران – معاونت غذا و دارو (آزمایشگاه مواد غذایی)
فزونی ، لیلا (فوق لیسانس میکروب‌شناسی)	دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

کریم‌زاده ، لاله — دانشگاه علوم پزشکی مازندران –

(لیسانس علوم تغذیه) — معاونت غذا و دارو (آزمایشگاه مواد غذایی)

کیمیابیکی ،کتایون — اداره کل استاندارد و تحقیقات صنعتی استان مازندران

(فوق لیسانس صنایع غذایی)

معتمدزادگان ، علی — دانشگاه مازندران – دانشکده کشاورزی

(دکترا صنایع غذایی)

معتمدی ، علی — شرکت تولیدی فرآورده‌های گوشتی غزال آمل

(دکترا دامپزشکی)

دبیر

افضلی، سمانه السادات — اداره کل استاندارد و تحقیقات صنعتی استان مازندران

(فوق لیسانس میکروبیولوژی)

پیش گفتار

استاندارد «میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام – آماده‌سازی آزمایه، سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای آزمون میکروبیولوژی – قسمت دوم: مقررات ویژه برای آماده‌سازی گوشت و فرآورده‌های آنها» که توسط کمیسیون‌های مربوط تهیه و تدوین شـده و در یکصد و دهمین جلسه کمیته ملی استاندارد میکروبیولوژی و بیولوژی مورخ ۸۵/۱۲/۲۱ مورد تصویب قرار گرفته است، اینک به استناد بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱ به عنوان استانداردملی ایران منتشر می شود.

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 یاتکمیل این استاندارد ارائه شود، در تجدیدنظر بعدی مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین برای مراجعه به استانداردهای ملی ایران بایدهمواره از آخرین تجدیدنظر آنها استفاده کرد.

در تهیه و تجدیدنظر این استاندارد سعی شده است که ضمن توجه به شرایط موجود و نیازهای جامعه، در حد امکان بین این استاندارد و استانداردهای بین المللی و استاندارد ملی کشورهای صنعتی و پیشرفته هماهنگی ایجاد شود.

منبع و مآخذی که برای تهیه این استاندارد به کار رفته به شرح زیر است:

1 – ISO 6887 – 2 : 2003 - Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - part 2: specific rules for the preparation of meat and meat products.

میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - آماده‌سازی آزمایه، سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای آزمون میکروبیولوژی - قسمت دوم: مقررات ویژه برای آماده‌سازی گوشت و فرآورده‌های آن

هشدار - کاربری این استاندارد ممکن‌است مستلزم استفاده از مواد، تجهیزات و یا انجام عملیات مخاطره-آمیز باشد.بنابراین رعایت‌کامل دستورالعمل‌های‌ایمنی‌وبهداشتی برای حفظ‌سلامتی‌کارکنان‌آزمایشگاه ضروری‌است.

۱ هدف

هدف از تدوین این استاندارد تعیین روش آماده‌سازی آزمایه و تهیهٔ سوسپانسیون اولیهٔ گوشت و فرآورده‌های آن برای انجام آزمون‌های میکروبیولوژی است.

۲ دامنهٔ کاربرد

این استاندارد برای گوشت‌های تازه، خام و فرآوری شدهٔ دام، طیور و فرآورده‌های آن که در بندهای ۲-۱ تا ۲-۷ شرح داده شده است کاربرد دارد:

۲-۱ یخچالی یا منجمد شده

۲-۲ عمل‌آوری شده[1] یا تخمیر شده[2]

۲-۳ چرخ کرده[3] یا خرد شده[4]

۲-۴ گوشت‌های آماده[1]

۲-۵ غذاهای پیش پخت شده[2] یا غذاهای تهیه شده از گوشت طیور

---

[1] – Cured
[2] – Fermented
[3] – Minced
[4] _ Comminuted

1 – Delicatessen
2 – Pre – Cooked meals

۶-۲ گوشت‌های دودی شده و خشک شده با درجات مختلف[3] آبگیری

۷-۲ عصاره‌های گوشتی تغلیظ شده

یاد آوری ۱ – این استاندارد در مورد گوشت حیوانات شکاری نیز کاربرد دارد.

یادآوری ۲ – این استاندارد برای سایر فرآورده‌های گوشتی مانند فرآورده‌های کنسرو شده کاربرد ندارد.

یاد آوری ۳ – این استاندارد فقط روش‌های آماده‌سازی را که برای چند میکروارگانیسم به‌طور همزمان کاربرد دارد شرح می‌دهد.

یاد آوری ۴ – این استاندارد درباره روش‌های آماده‌سازی برای شمارش یا جستجوی میکروارگانیسم خاص (که در استاندارد مربوط به هر میکروارگانیسم شرح داده شده است) کاربرد ندارد.

۳ مراجع الزامی

مدارک الزامی زیر حاوی مقرراتی است که در متن این استاندارد به آن ها ارجاع داده شده است. بدین ترتیب آن مقررات جزئی از این استاندارد محسوب می شود . در مورد مراجع دارای تاریخ چاپ و/یا تجدیدنظر ، اصلاحیه ها و تجدید نظرهای بعدی این مدارک مورد نظر نیست. معهذا بهتر است کاربران ذینفع این استاندارد ، امکان کاربرد آخرین اصلاحیه ها و تجدیدنظرهای مدارک الزامی زیر را مورد بررسی قرار دهند. در مورد مراجع بدون تاریخ چاپ و/یا تجدیدنظر، آخرین چاپ و/یا تجدید نظر آن مدارک الزامی ارجاع داده شده مورد نظر است.
استفاده از مراجع زیر برای کاربرد این استاندارد الزامی است:

۱-۳ استانداردملی ایران ۳۵۶: سال ۱۳۸۰ میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - تهیه سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای آزمایش های میکروبیولوژی.

۲-۳ استانداردملی‌ایران ۶۹۰: سال۱۳۷۹ گوشت‌وفرآورده‌های آن –روش‌نمونه‌برداری.

۳-۳ استاندارد ملی ایران ۲۳۲۵: سال ۱۳۸۰ میکروبیولوژی – آیین کاربرد روش‌های عمومی آزمایش‌های میکروبیولوژی.

۴-۳ استاندارد ملی ایران ۲۷۴۷: سال ۱۳۸۰ میکروبیولوژی – آیین کار در آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی.

۵-۳ استاندارد ملی ایران ۴-۸۹۲۳: سال ۱۳۸۵ میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام – آماده-سازی آزمایه، سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای آزمون میکروبیولوژی – قسمت چهارم : مقررات ویژه برای آمادسازی محصولاتی به غیر از شیر، گوشت، ماهی و فرآورده‌های آنها

۳-۶ ۴ اصطلاحات و تعاریف

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

۱-۴ آزمایه[1]

---

[3] – Various degrees
[1] – Test sample

مقدار مناسبی از نمونه است که با رعایت شرایط بهداشتی، از نمونه‌های ارسال شده به آزمایشگاه برای انجام آزمایش‌های گوناگون انتخاب می‌شود. بعضی از نمونه‌های آزمایشگاهی بدون هیچ تغییری و تنها با مخلوط کردن کامل می‌توانند به عنوان آزمایه به‌کار روند.

۴-۲ آزمونه[1]

مقدار معینی از آزمایه است که برای انجام یک آزمایش یا برای تهیه سوسپانسیون اولیه به صورت وزنی یا حجمی برداشته می‌شود. قبل از برداشتن آزمونه، آزمایه باید کاملاً مخلوط شود تا توزیع یکنواخت از میکروارگانیسم‌ها به دست آید.

۴-۳ سوسپانسیون اولیه (اولین رقت)

به سوسپانسیون، محلول یا امولسیونی گفته می‌شود که پس از توزین (نمونهٔ جامد) یا اندازه‌گیری حجم‌معینی (نمونهٔ مایع) از نمونهٔ مورد آزمایش (یا نمونهٔ آماده شده از فرآورده) با ۹ برابر وزن یا حجم آن با محلول رقیق کننده مخلوط شده و برای ته نشین شدن ذرات درشت به حالت سکون باقی مانده است.

یاد آوری – برای نمونه‌های سطحی رابطهٔ بین حجم رقت اولیه و سطح نمونه‌برداری باید بیان شود. برای مثال نمونه‌ای که از سطح ۲۵ سانتی‌متر مربعی نمونه‌برداری و با ۲۵ میلی‌لیتر محلول رقیق کننده رقیق شده است، یک میلی‌لیتر از این سوسپانسیون نشانگر یک سانتی‌متر مربع می‌باشد.

۴-۴ رقت‌های متوالی اعشاری

منظور سوسپانسیون‌ها و محلول‌هایی است که پس از مخلوط کردن حجم معینی از سوسپانسیون اولیه با ۹ برابر حجم رقیق‌کننده بدست می‌آید. با تکرار این عمل رقت‌های متوالی اعشاری حاصل می‌شود که برای تلقیح در محیط کشت مناسب است.

۴-۵ قطعه[2]

نمونه‌ای است که ترکیبات و ابعاد (سطح و به ویژه ضخامت) آن به گونه‌ای باشد که تحت شرایط سترون بتوان از عمق آن نمونه‌برداری کرد.

۴-۶ تکه[1] یا تراشه[2]

منظور نمونه‌ای است که حاصل برشی عمیق از یک نمونه سطحی باشد. یا نمونه‌ای که از داخل قطعهٔ مورد آزمون به وسیلهٔ مته دستی یا الکتریکی (با سر مته چوب) به دست آمده باشد.

۴-۷ ورقه[3]

برشی از گوشت است که سطوح آن تقریباً موازی بوده و دارای چند سانتی‌متر ضخامت باشد.

۴-۸ برش‌ها[4] و لاشه‌ها[5]

واحدهای مشابه با واحدهای آماده شده است که برای فروش عرضه می‌شود. (فرآورده‌های طیور)

۵ اساس روش

---

1 – Test portion
2 – Block or piece
1 - Fragment
2 - Shaving
3 - Slice
4 - Cuts
5 - Carcasses

برای دستیابی به توزیع یکنواخت از میکروارگانیسم‌های موجود در آزمایه، سوسپانسیون اولیه، سوسپانسیون غنی‌سازی و پیش غنی سازی تهیه می‌شود.

در صورت لزوم، برای کاهش تعداد میکروارگانیسم‌ها در واحد حجم، رقت‌های اعشاری تهیه می‌شود تا پس از گرمخانه‌گذاری مشاهدهٔ هرگونه رشد (در محیط‌های کشت مایع) یا کلنی (در پلیت‌های آگار) امکان‌پذیر باشد.

چنانچه زیاد بودن تعداد میکروارگانیسم‌ها پیش‌بینی می‌شود برای محدود کردن دامنهٔ شمارش، می‌توانید فقط رقت‌های اعشاری (حداقل دو رقت متوالی) را تلقیح کنید که در آن که احتمال محاسبه و شمارش میکروارگانیسم‌ها مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۲۳۲۵: سال ۱۳۸۰ وجود دارد.

۶ مواد لازم

۶-۱ محلول‌های رقیق کننده

۶-۱-۱ محلول‌های رقیق‌کنندهٔ عمومی

محلول‌های رقیق‌کنندهٔ عمومی را مطابق با استاندارد ملی ایران ۳۵۶: سال ۱۳۸۰تهیه کنید.

۶-۱-۲ محلول‌های رقیق‌کنندهٔ اختصاصی

۶-۱-۲-۱ محلول پپتون نمکی با برموکروزول ارغوانی[1]

۶-۱-۲-۲

مواد تشکیل دهنده	مقدار
محلول پپتون نمکی (مطابق با بند ۶-۱-۱)	۱۰۰۰ میلی‌لیتر
برموکروزول ارغوانی (محلول الکلی اتانول ۰/۰۴ درصد)	۰/۱ میلی‌لیتر

۶-۱-۲-۳ روش تهیه

۰/۱ میلی‌لیتر محلول برموکروزول ارغوانی را به ۱۰۰۰ میلی‌لیتر محلول پپتون نمکی اضافه کنید.

۶-۱-۲-۴ کاربرد

محلول برموکروزول ممکن است برای آزمون فرآورده‌های اسیدی استفاده شود تا تنظیم pH بدون استفاده از الکترود pH متر سترون امکان‌پذیر باشد. رنگ برموکروزول ارغوانی در pH اسیدی زرد و در pH بالای ۶/۸ ارغوانی است.

۶-۲ توزیع و سترون‌سازی محلول‌های رقیق‌کننده

برای توزیع و سترون سازی محلول‌های رقیق‌کننده مطابق با استاندارد ملی ایران ۳۵۶: سال ۱۳۸۰ عمل کنید.

۷ وسایل لازم

از وسایل معمول در آزمایشگاه میکروب‌شناسی مطابق با استاندارد ملی ایران ۲۷۴۷: ۱۳۸۰ و همچنین از وسایل زیر استفاده کنید.

۷-۱ سینی سترون

[1] – Bromocresol purple

۷-۲ قیچی، گیره، چاقوی جراحی سر صاف یا چاقوی معمولی و قاشق سترون

۷-۳ چرخ گوشت قابل سترون، در مقیاس آزمایشگاهی و مجهز به بشقاب سوراخدار با قطر سوراخ حداکثر ٤ میلی‌متر

۷-۴ تجهیزات برای سوزاندن سطح گوشت (مانند چراغ پریموس[1] قابل حمل)

۷-۵ قالب[2] و چهارچوب فلزی برای نمونه‌برداری سطحی

۷-۶ تجهیزات برای جمع‌آوری نمونهٔ آزمایشگاهی منجمد

۷-۶-۱ متهٔ الکتریکی با سرعت‌های مختلف (حداکثر سرعت ۹۰۰ دور در دقیقه در هنگام استفاده) یا مته دستی

۷-۶-۲ سر متهٔ چوب سترون با قطر ١٤ یا ١٦ میلی‌متر

۷-۶-۳ قلم چوب سترون با عرض ۲۰ میلی‌متر

۷-۶-۴ چکش یا پتک پلاستیکی

۷-۷ همگن ساز[3]

۷-۷-۱ مخلوط کن چرخشی (آسیاب)[4]

۷-۷-۲ مخلوط کن ضربه‌ای (مانند: استومیکر)[5]

یادآوری – از دستگاهها و تجهیزات دیگر نیز در صورتی که موجب گرم شدن بیش از حد و یا آلودگی نمونه نشوند، می‌توانید استفاده کنید.

۸ آماده‌سازی نمونه‌ها

۸-۱ نمونه‌های منجمد

فرآورده‌های منجمد باید پس از رسیدن به پایداری حرارتی آماده‌سازی شود. برای این منظور طبق بند ۸-۱-۱ و یا بند ۸-۱-۲ عمل کنید.

۸-۱-۱ نمونه‌ها را در دمای ۱۸ تا ۲۷ درجهٔ سلسیوس (دمای آزمایشگاه) برای مدت زمان حداکثر ۳ ساعت نگهداری کنید.

۸-۱-۲ نمونه‌ها را در دمای ۲±۲ درجهٔ سلسیوس برای مدت زمان حداکثر ٢٤ ساعت نگهداری کنید.

پس از پایان زمان فوق نمونه‌ها باید بلافاصله آزمون شوند. اگر پس از پایان این مدت، فرآورده همچنان به‌صورت منجمد باقی ماند، برای سهولت یخزدایی از محلول‌های رقیق‌کنندهٔ عمومی (طبق بند ٦-١-١) در دمای آزمایشگاه استفاده کنید.

۸-۲ فرآورده‌های خشک و سخت[1]

زمان لازم برای همگن‌سازی[2] فرآورده‌های خشک و سخت در آسیاب نباید بیشتر از ۲/۵ دقیقه در هر بار باشد. برای محصولات خشک، سخت یا ناهمگن[3] ممکن است چرخ کردن یا رنده کردن نمونهٔ آزمایشگاهی لازم باشد. در این صورت برای جلوگیری از ازدیاد دما، بیشتر از یک دقیقه چرخ یا رنده نکنید.

---

[1] – Portable gas blowtorch
2 – Template
[3] – Homogenizer
[4] – Rotary homogenizer (Blender)
[5] – Peristaltic homogenizer (Stomacher)
[1] – Hard and dry products

۸-۳ فرآورده‌های مایع و غیر ویسکوز[۴]

پیش از آزمون، آزمایه را با دست (برای مثال ۲۵ بار به صورت کمانی با طول ۲۵ سانتی‌متر) و یا وسایل مکانیکی کاملاً مخلوط کنید تا از توزیع یکنواخت میکروارگانیسم‌ها اطمینان حاصل شود.

۸-۴ فرآورده‌های ناهمگن

برای فرآورده‌های ناهمگن که حاوی قطعات مختلف غذایی هستند، نمونه باید به گونه‌ای برداشته شود تا معرف نسبت قطعات در محصول اولیه باشد. همچنین می‌توانید نمونهٔ کامل آزمایشگاهی را همگن کنید و نمونه‌برداری را از آزمایهٔ همگن انجام دهید.

یادآوری – درصورت‌نیاز به چرخ‌کردن یا رنده‌کردن نمونهٔ‌آزمایشگاهی بیشتر از یک‌دقیقه چرخ یا رنده نکنید.

۹ روش کار

۹-۱ کلیات

به‌منظور پیشگیری از آلودگی نمونه‌ها با منابع بیرونی، تمام مراحل آماده‌سازی و نمونه‌برداری باید با رعایت شرایط آسپتیک انجام شود.

۹-۱-۱ انواع نمونه

نمونه‌های گوشت و فرآورده‌های آن که به آزمایشگاه ارسال می‌شود شامل انواع زیر است:

۹-۱-۱-۱ قطعات گوشت یا فرآورده‌های آن، آماده شده یا فرآوری شده با ابعاد مختلف.

۹-۱-۱-۲ برش‌های گوشت حاصل از قطعاتی با وزن کمتر از ۲ کیلوگرم.

۹-۱-۱-۳ برش‌های گوشت یا گوشت لاشه حاصل از قطعاتی با وزن بیشتر از ۲ کیلوگرم.

یادآوری – در مواردی که از روش‌های غیر مخرب[۱] استفاده می‌شود سواب‌ها[۲] و یا بافت‌ها باید به آزمایشگاه ارسال شود. برای آگاهی بیشتر از روش‌های نمونه‌برداری غیر مخرب به استاندارد ملی ایران ۶۹۰: سال ۱۳۷۹ مراجعه کنید.

۹-۱-۲ وضعیت فیزیکی نمونه

وضعیت فیزیکی نمونه دریافتی با توجه به عوامل زیر ممکن است متفاوت باشد:

۹-۱-۲-۱ دما برای فرآورده‌های یخچالی، منجمد و یا فرآورده‌هایی که در دمای بسیار پایین منجمد[۱] می‌شوند.

۹-۱-۲-۲ فعالیت آبی[۲] (a_w) برای فرآورده‌هایی که تیمار[۳] نشده‌اند و یا به‌میزانی آبگیری شده‌اند که از تکثیر میکروارگانیسم‌ها در آن جلوگیری شود. (فعالیت آبی کاهش یافته)

۹-۲ هدف آزمون

---

2 – Homogenization
3 – H^{eterogeneous} products
4 – Liquid and non – viscous products
1 – Non – Destructive methods
2 – Swabs
1 – Deep - Frozen
2 – Water activity
3 – treated

هدف از انجام آزمون میکروبی ممکن است جستجو و / یا شمارش فلور میکروبی عمق، سطح و کل (عمق و سطح) باشد.
آمادهسازی آزمایه باید با در نظر گرفتن هدف آزمون و ماهیت نمونه انجام شود.

۹-۳ فرآوردههای اسیدی

هنگام استفاده از سوسپانسیون فرآوردههای اسیدی باید pH را در حد خنثی تنظیم کنید. چنانچه از محلولهای رقیقکنندهٔ حاوی معرف pH استفاده میشود نیازی به کاربرد pH متر یا الکترود سترون نیست. برای تنظیم pH، محلول هیدروکسید سدیم را تا زمان شروع تغییر رنگ معرف موجود در محلول رقیقکننده به سوسپانسیون فرآوردههای اسیدی اضافه کنید.
برای استفاده از محلولهای رقیقکننده بافری، افزودن هیدروکسید سدیم برای افزایش ظرفیت بافری ترکیبات قلیایی ضروری است. غلظت هیدروکسید سدیم، به اسیدیتهٔ فرآورده بستگی دارد. مناسبترین غلظت هیدروکسید سدیم (برای مثال ۰/۱ مولار یا ۱ مولار) غلظتی نزدیک به نسبت ۱ به ۹ با محلول رقیق کننده است.

۹-۴ غذاهای پر چرب (چربی بیش از ۲۰ درصد)

برای غذاهای پر چرب افزودن ۱ تا ۱۰ گرم در لیترتوین ۸۰ (سوربیتان مونواولئات) [1] به محلول رقیقکننده در بهبود امولسیونسازی[2] فرآورده موثر است. مقدار این ماده به میزان چربی غذا بستگی دارد. برای مثال در مورد غذاهایی با میزان چربی ٤۰ درصد، مقدار ٤ گرم بر لیتر توین ۸۰ اضافه کنید.

۹-۵ آمادهسازی اولیهٔ نمونههای مختلف

۹-۵-۱ نمونهٔ آزمایشگاهی با وزن ۵۰ گرم یا کمتر

در مورد نمونههایی با وزن مساوی یا کمتر از ۵۰ گرم، کل نمونه را برای آمادهسازی سوسپانسیون اولیه استفاده کنید.

۹-۵-۲ لاشه یا قطعهٔ آزمونی[3]

نمونه را از عمق و / یا سطح لاشه یا قطعهٔ آزمونی بردارید. برای آزمون سطح نمونه میتوانید از روشهای غیر مخرب (سواب یا پارچه کوچک) استفاده کنید.

۹-۵-۳ ورقه یا بخش خاصی از گوشت یا گوشت پخته

یک نوار از قسمت میانی ورقه، گوشت یا گوشت پخته بردارید.

۹-۵-۴ تکهها یا تراشههایی از فرآوردههای منجمد

تکهها یا تراشههای فرآوردههای منجمد را با استفاده از مخلوط کن کاملاً همگن کنید.

۹-۵-۵ فرآوردههای گوشتی پوششدار (انواع سوسیس و کالباس)

در صورتیکه پوشش فرآوردههای گوشتی غیر خوراکی[1] باشد، قطعهٔ پوششدار (نفوذپذیر یا نفوذ ناپذیر) را از نقطهٔ برش گندزدایی کنید و با استفاده از انبر سترون پوشش را بردارید. برشی به صورت ورقه تهیه کرده، سپس ورقههای خرد شده را بردارید. در مورد سوسیسهای خام رسانیده شده[2]، پوشش آن را جدا نکنید.

۹-۵-۶ غذاهای پیش پخت شده

---

[1] – Tween 80 (sorbitan monooleate)
[2] – Emulsification
3 – Test piece
1 – Inedible
2 – Mature raw sausages

برای غذاهای پیش پخت شده، بسته‌بندی را مطابق با بند ۹-٦ باز کنید. در صورتی‌که غذای پیش‌پخت شده از اجزای مختلف تشکیل شده باشد نمونه‌برداری باید با رعایت نسبت کلیة اجزاء در فرآوردة اولیه انجام شود. در صورت امکان، برای دستیابی به آزمایة یکنواخت، نمونة آزمایشگاهی را کاملاً همگن کنید.

۹-۶ روش کار برای فرآورده‌های یخچالی

۹-۶-۱ فرآورده‌های دارای بسته‌بندی نرم

برای آماده‌سازی فرآورده‌های دارای بسته‌بندی نرم پوشش را با استفاده از قیچی و یا گیرة سترون بردارید.

۹-۶-۲ فرآورده‌های دارای بسته‌بندی سخت مانند ظروف شیشه‌ای

سطح خارجی فرآورده‌های دارای بسته‌بندی سخت را با استفاده از الکل کاملاً تمیز و گندزدایی کرده و تحت شرایط سترون در آن را باز کنید.

سطح سخت یا نیمه سخت بسته‌بندی را پس از تمیز کردن با مادهٔ پاک کننده و آب با استفاده از حولهٔ تمیز یا کاغذ جاذب خشک کنید. بخش خارجی بسته‌بندی را برای جلوگیری از آلودگی در هنگام باز کردن به دقت گندزدایی کنید.

در مواردی که پوشش بسته‌بندی بسیار نازک باشد به گونه‌ای که احتمال آسیب به آن وجود دارد (مانند قطعات گوشت بسته‌بندی شده در ظروف)، عملیات فوق نباید انجام شود.

در مواردی که امکان برداشت محتویات بدون خطر آلودگی خارجی وجود دارد تمیز و گندزدایی کردن سطح بسته‌بندی ضروری نیست.

برای نمونه‌برداری از قطعات گوشتی که بر روی سینی به فروش می‌رسند باید پوشش بسته‌بندی از قسمت پشت سینی برداشته شود. برای باز کردن پوشش گوشت‌های بسته‌بندی شده در اتمسفر کنترل شده[1] و تحت خلاء[2]، از چاقو، قیچی یا گیرة سترون استفاده کنید.

۹-۶-۳ نمونه‌برداری از عمق

نمونه‌برداری فقط در موارد آزمون عمق گوشت پس از سوزاندن سطح آن انجام می‌شود.

در مورد گوشت بسته‌بندی شده نمونه را با رعایت شرایط آسپتیک و به وسیلة چاقوی معمولی یا جراحی برداشته و در سینی سترون قرار دهید. با استفاده از چراغ پریموس، لایه‌ای به ضخامت ۲ میلی‌متر و به ابعاد ٥×٥ سانتی‌متر را کاملاً بسوزانید تا ذغالی شود. سپس بوسیلة چاقوی معمولی یا جراحی سترون، لایه‌ای به ابعاد ٤×٤ سانتی‌متر و عمق ۱ سانتی‌متر را از پایین سطح ذغالی شده جدا کنید. با استفاده از گیره و چاقوی جراحی سترون، نمونة مورد نیاز را از سطح آشکار شده برداشته و در ظرف یا کیسه پلاستیکی سترون قرار دهید. سپس نمونه را وزن کرده و به آن محلول رقیق‌کننده (به میزان ۹ برابر وزن آن) اضافه کنید.

یادآوری – برای جدا کردن پوست از گوشت حیوانات وحشی از چاقوی جراحی و گیره استفاده کنید.

۹-۶-۴ نمونه‌برداری از سطح

نمونه‌ها بدون سوزاندن برداشته می‌شوند. در صورتی‌که گوشت بسته بندی شده باشد تحت شرایط سترون، بوسیله چاقوی جراحی، قیچی و گیره گوشت را برداشته و در سینی قرار دهید به گونه‌ای که سطح مورد آزمون رو به بالا باشد. برای نمونه‌برداری از قالب سترون یا گندزدایی شده با شکل مشخص استفاده کنید (به پیوست الف مراجعه کنید).

---

1 – Controlled atmosphere

2 – Vaccum - packed

با استفاده از یک چاقوی جراحی، در امتداد لبه‌های داخلی شبکه برش بزنید. سپس با استفاده از گیره نمونه‌را بردارید و به عمق ۲ تا ۳ میلی‌متر برش بزنید. قطعات را در ظرف یا کیسهٔ استومیکر قرار دهید. سپس نمونه را وزن کنید و به آن محلول رقیق کننده (به میزان ۹ برابر وزن آن) اضافه کنید.
مقدار محلول رقیق‌کننده را با توجه به ارتباط بین سطح نمونه‌برداری شده با حجم کل سوسپانسیون اولیه، تنظیم کنید. معادل سطح نمونه‌برداری شده، به حجم سوسپانسیون اولیه اضافه کنید. هر سانتی‌متر مربع از سطح معادل یک میلی‌لیتر از حجم رقیق کننده است. (برای مثال: برای مساحت ۲۵ سانتی‌متر مربع از ۲۵۰ میلی‌لیتر محلول رقیق‌کننده استفاده کنید.)

۹-۶-۵ نمونه‌برداری از قطعات ورقه شده

نمونه‌های قطعات ورقه شده را بدون سوزاندن بردارید. در صورتی که فرآورده بسته‌بندی شده باشد، گوشت را با رعایت شرایط آسپتیک بوسیلهٔ قیچی، چاقوی جراحی و گیره بردارید و به‌صورت مسطح روی سینی سترون قرار دهید. با استفاده از گیره و چاقوی جراحی سترون، یک نوار به عرض یک سانتی‌متر از مرکز بزرگترین طول برش بزنید. نوار را به قطعات کوچکتر ببرید و در ظرف یا کیسهٔ پلاستیکی مخصوص همگن‌سازی قرار دهید. پس از توزین نمونه‌ها، به آن محلول رقیق‌کننده (به میزان ۹ برابر وزن آن) اضافه کنید.

۹-۶-۶ نمونه‌برداری از لاشهٔ طیور

۹-۶-۶-۱ نمونه‌برداری از عضلهٔ سینه

نمونهٔ عضله سینه را پس از سوزاندن سطح از قسمت عمق آن بردارید. هنگامی که نمونه همراه با پر باشد منطقه مناسبی از پوست را لخت کنید. در صورتی که فرآورده بسته‌بندی باشد با رعایت شرایط آسپتیک بوسیلهٔ قیچی و چاقوی جراحی، پوشش بسته‌بندی را باز کنید و لاشه را به گونه‌ای در سینی سترون قرار دهید که به پشت باشد. با استفاده از چراغ پریموس، سطح پوستی که ماهیچهٔ ناحیهٔ سینه را می‌پوشاند بسوزانید و بوسیلهٔ گیره و چاقوی جراحی پوست سوزانده شده را بردارید. سپس با استفاده از چراغ پریموس، سطح آشکار شدهٔ عضلهٔ سینه را بسوزانید. بوسیلهٔ چاقوی جراحی و گیره عضله سوزانده شده را بردارید و نمونه‌ای از عمق، بدون تماس با قسمت‌های پایین‌تر عضله بردارید و در ظرف یا کیسه پلاستیکی سترون مخصوص همگن‌سازی قرار دهید. پس از توزین نمونه، به آن محلول رقیق‌کننده (به میزان ۹ برابر وزن آن) اضافه کنید.

۹-۶-۶-۲ نمونه از پوست آویخته گردن

نمونه‌های پوست آویخته گردن را بدون سوزاندن بردارید. اگر فرآورده بسته‌بندی شده باشد، لاشه را با رعایت شرایط آسپتیک بوسیلهٔ قیچی و چاقوی جراحی بردارید و در سینی سترون قرار دهید به طوری که ناحیهٔ مورد نمونه‌برداری رو به بالا باشد. سپس با استفاده از گیره و قیچی یا چاقوی جراحی، ۵ تا ۱۰ گرم از پوست آویختهٔ گردن را برش دهید. در صورتی که نمونه همراه با نای یا مری باشد آن را بریده و دور بریزید. همچنین چربی‌های اضافی را از سطح داخلی پوست بردارید. نمونه را در ظرف از پیش توزین شده یا کیسهٔ پلاستیکی مخصوص همگن‌سازی قرار دهید. پس از توزین نمونه، به آن محلول رقیق‌کننده (به میزان ۹ برابر وزن آن) اضافه کنید.

۹-۶-۶-۳ نمونه‌برداری از لاشهٔ کامل به روش شستشو

نمونه‌های لاشه کامل را بدون سوزاندن بردارید. در مورد فرآورده بسته‌بندی شده، لاشه را با رعایت شرایط آسپتیک بوسیلهٔ قیچی، چاقوی جراحی و گیره بردارید و در کیسه پلاستیکی بزرگ به گونه‌ای قرار دهید که قابل تکان دادن باشد.

۹-۶-۶-۴ نمونه‌برداری از برش‌های گوشت طیور

برای نمونه‌برداری از برش‌های گوشت طیور مطابق با بندهای ۹-٦-۳ یا ۹-٦-٤ عمل کنید.

۹-۶-۶-۵ نمونه‌برداری از لاشهٔ حیوانات شکاری (با پوشش مو)

با استفاده از گیره و چاقوی‌جراحی سطح مناسبی از پوست را بردارید. برای نمونه‌برداری از عمق‌یا سطح نمونه مطابق با بندهای ۹-٦-٤و ۹-٦-٦-۳ عمل کنید. با این تفاوت که برای برداشت نمونه از عضله، آن را بسوزانید. به‌منظور برداشت نمونهٔ سطحی بدون سوزاندن، از چاقوی جراحی و گیره استفاده کنید، نمونه را از سطح معین شدهٔ لاشه بردارید و برای آماده‌سازی بعدی در ظرف سترون قرار دهید. پس از توزین نمونه، به آن محلول رقیق کننده (به میزان ۹ برابر وزن آن) اضافه کنید.

۹-۷ روش کار برای گوشت‌های منجمد

۹-۷-۱ قطعات بزرگ یخ‌زدایی نشده

۹-۷-۱-۱ کلیات

با استفاده از چاقوی جراحی یا قیچی، نمونه را از پوشش بسته‌بندی جدا کنید و در سینی به گونه‌ای قرار دهید که سطح مسطح آن رو به بالا باشد.

۹-۷-۱-۲ نمونه‌برداری کلی (قسمت‌های سطح و عمق)

با استفاده از متهٔ الکتریکی یا دستی (بند ۷-٦-۱)، سوراخ‌هایی در آن ایجاد کنید (به پیوست ب مراجعه کنید). برای پیشگیری از پراکندگی و چسبندگی تراشه‌ها، سرعت دستگاه را حدود ۹۰۰ دور بر دقیقه تنظیم کنید.

با قاشق قطعات ایجاد شده (تراشه‌ها) را جمع‌آوری و آنها را در ظرف توزین شده یا کیسهٔ پلاستیکی مخصوص همگن‌سازی قرار دهید. اگر وزن تراشه‌ها بیشتر از ۵۰ گرم باشد، آنها را در کیسه پلاستیکی مخلوط کنید.

یادآوری ـ عملیات همگن‌سازی نباید موجب افزایش دمای نمونه شود.

۹-۷-۱-۳ نمونهٔ عمقی

با استفاده از قلم چوبی و چکش، از یک ناحیه به ابعاد ٦×٦ سانتی‌متر، یک نوار سطحی به ضخامت حدود ۳ میلی‌متر بردارید.با استفاده از چراغ پریموس آن را بسوزانید تا سطح شفاف شدهٔ قبلی کاملاً ذغالی شود. سپس کار را مطابق بند ۹-٦-۳ با ایجاد سوراخ در ناحیه سوزانده شده و بدون تماس با کنارهٔ پایینی قطعه ادامه دهید.

۹-۷-۱-۴ نمونهٔ سطحی

قالب و قلم چوبی را با فرو بردن در الکل و شعله دادن سترون کنید. زمانی که قالب هنوز داغ است از آن برای نمونه‌برداری سطحی از گوشت منجمد استفاده کنید. با استفاده از قلم و چکش سترون، لایهٔ بالای گوشتی که در قالب قرار گرفته است را به عمق ۲ میلی‌متر خراش دهید. قطعات را با رعایت شرایط آسپتیک در ظرف یا کیسهٔ استومیکر جمع‌آوری کنید. پس از توزین نمونه، به آن محلول رقیق‌کننده (به میزان ۹ برابر وزن آن) اضافه کنید.

۹-۷-۲ قطعات کوچک یخ‌زدایی شده

قطعات کوچک یخزدایی شده شامل برش‌های کوچکی از گوشت و قطعاتی از لاشهٔ طیور و حیوانات کوچک است. در مورد نمونه‌های بسته‌بندی شده، یخزدایی باید در دمای آزمایشگاه به گونه‌ای انجام شود که خونابهٔ آن خارج نشود. مدت زمان عملیات یخزدایی نباید بیش از ۲ تا ۳ ساعت باشد. در صورتی‌که یخزدایی بیشتر از ۳ ساعت طول بکشد با قرار دادن نمونه در محفظه‌ای با دمای ۲±۲ درجهٔ سلسیوس به مدت حداکثر ۱۸ ساعت به آرامی یخزدایی کنید.

برحسب مورد مطابق با بندهای ۹-٦-٥، ۹-٦-٦، ۹-٦-٦-٤ یا بند ۹-٦-٦-٥ عمل کنید.

یادآوری ۱ – به دلیل احتمال آلودگی آب، یخزدایی در حمام آب با دمای کنترل شده توصیه نمی‌شود. زیرا نمونه حتی در شکل بسته‌بندی شدهٔ آن نیز، در مقابل آب قابل نفوذ می‌باشد.

یادآوری ۲ – در مورد لاشهٔ طیور و حیوانات کوچک بهتر است یخزدایی را به آرامی در اتاق سرد با درجهٔ حرارت بالای صفر (بین صفر تا ۲ درجه سلسیوس) به مدت ۱۵ تا ۱٦ ساعت انجام دهید. پایین آوردن دمای لاشهٔ طیور به روش غوطه‌وری باعث تراوش بیشتر در مرحلهٔ یخزدایی می‌شود.

۹-۸ روش کار برای عصاره‌های گوشتی نیمه آبگیری شده

برای آمادسازی عصاره‌های گوشتی نیمه آبگیری شده مطابق با بند ۹-٦ این استاندارد بسته را باز کنید. سپس توسط یک قاشق، از بخش موردنظر نمونه‌برداری و مطابق با بند ۹-۷ عمل نمایید.
برای گوشت‌های کاملاً آبگیری شده مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ٤-۸۹۲۳ : سال ۱۳۸٥ عمل کنید.

۹-۹ نمونه‌های سطحی (سواب و پارچهٔ کوچک)

برای توزیع میکروارگانیسم‌هایی که به سواب چسبیده‌اند، سواب را در محلول رقیق‌کننده بچرخانید. برای انجام این عمل، دستهٔ سواب را به میزانی بشکنید که تکان دادن سواب در ارلن‌های کوچک حاوی مقادیر معین محلول رقیق کننده و گوی شیشه‌ای به آسانی امکان‌پذیر باشد. محلول حاصل را می‌توانید به روش اعشاری رقیق کنید.
برای آگاهی از جزئیات نمونه‌برداری از نمونه‌های سطحی به استاندارد ملی ایران ٦۹۰: سال ۱۳۷۹ مراجعه کنید.

یادآوری – از محلول رقیق‌کننده مخصوص حمل سواب‌های سترون استفاده کنید.

۱۰ رقت‌های متوالی اعشاری

برای تهیه سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری به استاندارد ملی ایران ۳٥٦: سال ۱۳۸۰ مراجعه کنید.

پیوست الف

ابزار نمونه‌برداری از یک قطعه یا قطعهٔ آزمونی منجمد یا منجمد شده در دمای پایین

(الزامی)

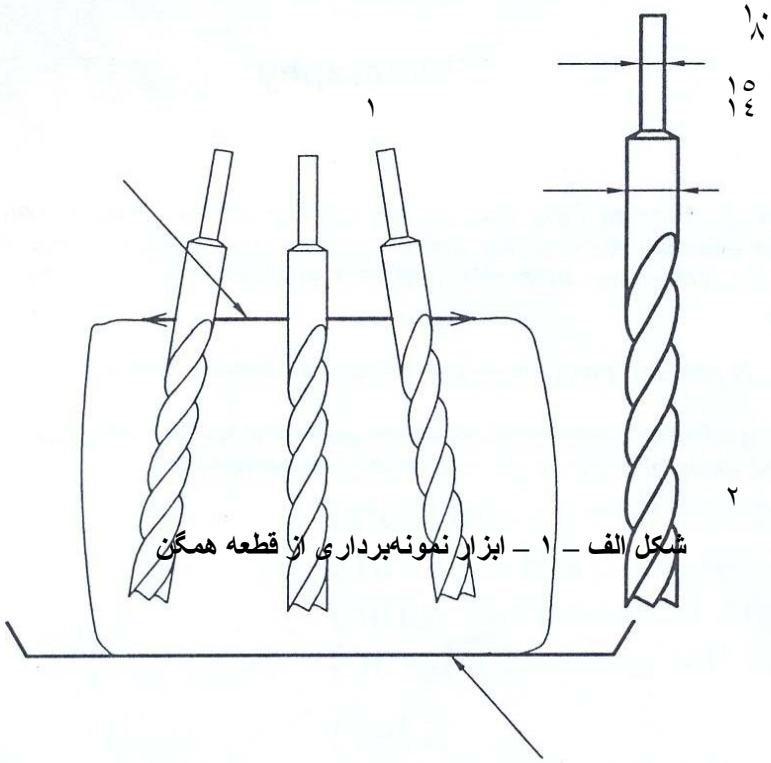
الف.۱ قطعه غیر همگن

برای یک قطعه غیرهمگن (قطعات منجمد یا منجمد شده در دمای پایین، تراکم شده و به شکل گوی و متراکم شده) با وزن ۲۵ تا ۳۰ کیلوگرم، نقاط ایجاد سوراخ (از نمونه کل) می‌تواند مانند شکل ب-۱ باشد.

الف.۲ قطعه آزمونی همگن

برای یک قطعه همگن، نقاط ایجاد سوراخ و حدود نمونه‌های عمیق می‌تواند مانند شکل ب-۲ باشد.

شکل الف – ۱ – ابزار نمونه‌برداری از قطعه غیرهمگن



شکل الف – ۱ – ابزار نمونه‌برداری از قطعه همگن

۱ – محل سوزاندن

۲ – سینی

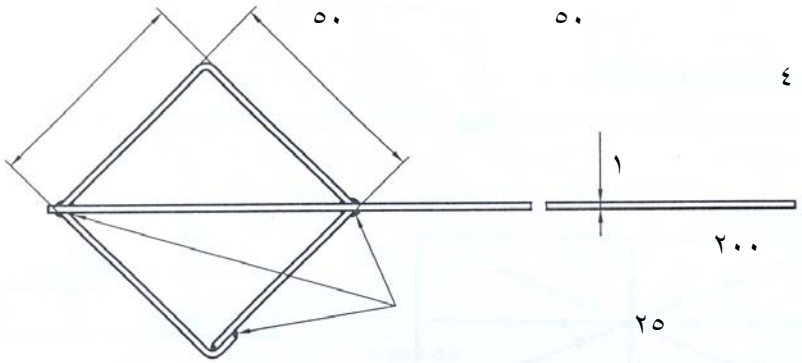
پیوست ب

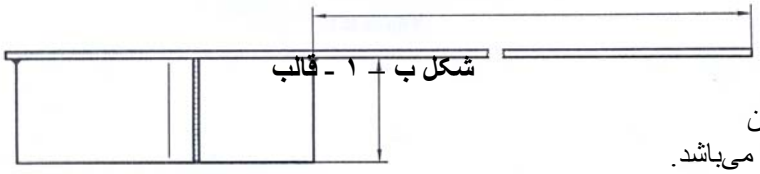
قالب برای تعیین محدودهٔ یک نمونهٔ سطحی

(اطلاعاتی)

جنس مواد مورد استفاده می‌تواند مانند زیر باشد:
- قالب: صفحه از جنس فولاد ضد زنگ با ضخامت ۰/۳ میلی‌متر.
- دسته: میله از جنس فولاد ضد زنگ با قطر ٤ میلی‌متر.

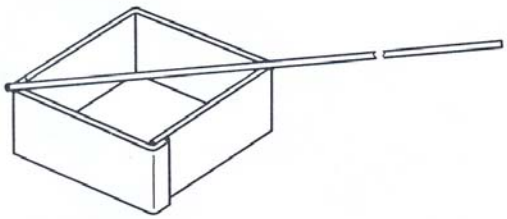
یک مثال از یک قالب مناسب در شکل الف-۱ نشان داده شده است.





شکل ب – ۱ - قالب

۱ – مناطق لحیم کردن
۲ – ابعاد به میلی‌لیتر می‌باشد.



ICS: 07.100.30

صفحه: ۲۲