



جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran
سازمان ملی استاندارد ایران

Iranian National Standardization Organization



استاندارد ملی ایران
۴۴۰۳
تجدید نظر دوم
۱۳۹۸

INSO

4403

2nd Revision

2019

آب معدنی طبیعی بسته‌بندی شده -
ویژگی‌ها و روش‌های آزمون میکروبی

**Packaged Natural mineral water-
Microbiological specifications and test
methods**

ICS: 13.060.20

سازمان ملی استاندارد ایران

تهران، ضلع جنوب غربی میدان ونک، خیابان ولیعصر، پلاک ۲۵۹۲

صندوق پستی: ۶۱۳۹-۱۴۱۵۵ تهران- ایران

تلفن: ۵-۸۸۸۷۹۴۶۱

دورنگار: ۸۸۸۸۷۰۸۰ و ۸۸۸۸۷۱۰۳

کرج، شهر صنعتی، میدان استاندارد

صندوق پستی: ۱۶۳-۳۱۵۸۵ کرج - ایران

تلفن: ۸-۳۲۸۰۶۰۳۱ (۰۲۶)

دورنگار: ۸۱۱۴-۳۲۸۰ (۰۲۶)

رایانامه: 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

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)^۱، کمیسیون بین‌المللی الکتروتکنیک (IEC)^۲ و سازمان بین‌المللی اندازه‌شناسی قانونی (OIML)^۳ است و به عنوان تنها رابط^۴ کمیسیون کدکس غذایی (CAC)^۵ 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 کالاهای 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

« آب معدنی طبیعی بسته‌بندی شده – ویژگی‌ها و روش‌های آزمون میکروبی »

رئیس:

رحیمی‌فرد، ناهید
وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی – مرکز آزمایشگاه-
های مرجع کنترل غذا و دارو (دکتری تخصصی میکروبیولوژی)

دبیر:

مقدمی، شهپر
پژوهشگاه استاندارد – پژوهشکده غذایی و کشاورزی- گروه
پژوهشی میکروبیولوژی (کارشناسی ارشد میکرو بیولوژی)

اعضا: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)

اصغری، مریم
وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی – مرکز آزمایشگاه-
های مرجع کنترل غذا و دارو (کارشناسی ارشد میکرو بیولوژی)

خیری، روح اله
شرکت آب و فاضلاب استان البرز(سهامی خاص)
(دکتری میکروبیولوژی)

دانشمند ایرانی، کوروش
اداره کل نظارت بر اجرای استاندارد صنایع غذایی – اداره کل
نظارت بر اجرای استاندارد صنایع غذایی (کارشناسی ارشد شیمی)

خضری‌پور، معصومه
وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی – مرکز
آزمایشگاه‌های مرجع کنترل غذا و دارو (کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی)

داداشی، شایان
شرکت اکساب (سهامی خاص)
(کارشناسی ارشد صنایع غذایی)

رحیم زاده، هادی
شرکت اکساب (سهامی خاص)
(دکتری بهداشت محیط)

رضایی، مهدی
شرکت خوشگوار (سهامی خاص)
(کارشناسی ارشد صنایع غذایی)

رضوانی، علی
شرکت خوشگوار (سهامی خاص)
(کارشناسی ارشد مدیریت اجرایی (MBA))

سید اصفهانی، وحید
شرکت پپسی (سهامی خاص)
(کارشناسی ارشد صنایع غذایی)

اعضا: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)

شاملویی، شراره (دکتری بیوشیمی)	شرکت آب و فاضلاب استان تهران (سهامی خاص)
شیرازی، محمدرضا (کارشناسی ارشد مهندسی محیط زیست)	شرکت آب و فاضلاب استان تهران (سهامی خاص)
فروهر، پیمان (کارشناسی ارشد بهداشت محیط - آب و فاضلاب)	انجمن آب‌های معدنی و آشامیدنی ایران
قریب، نقی (کارشناسی علوم و صنایع غذایی)	شرکت نستله (سهامی خاص)
محبی، ناصر (کارشناسی میکروبیولوژی)	شرکت آب و فاضلاب شهرها و شهرکهای غرب استان تهران
محرابی، فرحناز (کارشناسی ارشد بهداشت و ایمنی مواد غذایی)	وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی - مرکز آزمایشگاه- های مرجع کنترل غذا و دارو
مختاری، فهیم دخت (کارشناسی ارشد ایمونولوژی)	پژوهشگاه استاندارد - پژوهشکده غذایی و کشاورزی
مشرقی، روجیا (کارشناسی ارشد صنایع غذایی بیوتکنولوژی)	شرکت نستله (سهامی خاص)
مظاهری، لیدا (کارشناسی میکروبیولوژی)	پژوهشگاه استاندارد - پژوهشکده غذایی و کشاورزی - گروه پژوهشی میکروبیولوژی
منتظری، احمد (کارشناسی ارشد مهندسی آب و فاضلاب - بهداشت محیط)	شرکت مهندسی آب و فاضلاب کشور (سهامی خاص)

ویراستار

مختاری، فهیم دخت (کارشناسی ارشد ایمونولوژی)	پژوهشگاه استاندارد - پژوهشکده غذایی و کشاورزی - گروه پژوهشی میکروبیولوژی
--	---

فهرست مندرجات

صفحه	عنوان
ز	پیش‌گفتار
۱	۱ هدف و دامنه کاربرد
۱	۲ مراجع الزامی
۲	۳ اصطلاحات و تعاریف
۴	۴ ویژگی‌ها
۵	۵ نمونه‌برداری
۵	۶ روش‌های آزمون
۶	کتاب‌نامه

پیش‌گفتار

استاندارد « آب معدنی طبیعی بسته‌بندی شده - ویژگی‌ها و روش‌های آزمون میکروبی » که نخستین بار در سال ۱۳۷۶ تدوین و منتشر شد، بر اساس پیشنهادهای دریافتی و بررسی و تأیید کمیسیون‌های مربوط برای دومین بار مورد تجدیدنظر قرار گرفت و در دوازدهمین اجلاس کمیته ملی استاندارد آب و آبفا مورخ ۱۳۹۸/۰۵/۰۷ 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 ۴۴۰۳ : سال ۱۳۹۲ می‌شود.

منابع و مآخذی که برای تهیه و تدوین این استاندارد مورد استفاده قرار گرفته به‌شرح زیر است:

- 1- CAC/CODEX STAN 108:1981, Standard for Natural Mineral Waters.
- 2- EPA 822-F-18-001:2018, Drinking Water Standards and Health Advisories, U.S. Environmental Protection Agency Washington, DC.

آب معدنی طبیعی بسته‌بندی شده - ویژگی‌ها و روش‌های آزمون میکروبی

۱ هدف و دامنه کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد، تعیین ویژگی‌های میکروبی، نمونه‌برداری و روش‌های آزمون انواع آب معدنی طبیعی بسته‌بندی شده است. این استاندارد، برای انواع آب معدنی طبیعی بسته‌بندی شده کاربرد دارد. **یادآوری** - برای آگاهی از ویژگی‌های میکروبی آب آشامیدنی بسته‌بندی شده به استاندارد ملی ایران شماره ۶۲۶۷ مراجعه شود.

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 ۲۳۴۷، روش نمونه‌برداری آب

۲-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۲۴۴۱، آب معدنی طبیعی - ویژگی‌ها و روش‌های آزمون

۳-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۱-۳۷۶۰، کیفیت آب - شمارش باکتری‌های /شیرشیاکلی و کلی‌فرم - قسمت ۱- روش فیلتراسیون غشایی

۴-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۴۲۰۸، کیفیت آب - نمونه‌برداری از آب برای آزمون‌های میکروبی - آیین کار

۵-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۵۲۷۱، آب شمارش میکروارگانسیم‌های قابل کشت

۶-۲ استاندارد ملی ایران شماره: ۵۳۵۳، آب - جستجو و شمارش اسپورکلستریدیوم‌های احیاکننده سولفیت با استفاده از صافی غشایی در آب

۷-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۲-۷۷۲۴، کیفیت آب - جستجو و شمارش انتروکوک‌های روده‌ای - قسمت دوم: روش صافی غشایی

۸-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۸۸۶۹، کیفیت آب- شناسایی و شمارش سودوموناس آئروژینوزا به روش صاف کردن غشایی

۳ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد علاوه بر اصطلاحات و تعاریف ارائه شده در استاندارد ملی ایران شماره ۲۴۴۱، اصطلاحات و تعاریف زیر نیز به کار می‌رود.

۱-۳

میکروارگانسیم‌های هتروتروف (میکروارگانسیم‌های قابل کشت)

heterotrophic microorganisms (culturable microorganisms)

کلیه باکتری‌های هوازی، کپک‌ها و مخمرها هستند که قادر به تشکیل کلنی در سطح یا عمق محیط کشت‌های خاص هستند و به‌عنوان شاخص مدیریت فرایند تصفیه و عملکرد مناسب سیستم توزیع آب استفاده می‌شوند.

[منبع: برگرفته از استاندارد ملی ایران شماره ۵۲۷۱]

۲-۳

کلیفرم‌ها

Coliforms

باکتری‌های بی‌هوازی اختیاری، گرم منفی، بدون اسپور و میله‌ای شکل از باکتری‌های اعضاء خانواده انتروباکتریاسه هستند که آنزیم بتا-دی-گالاکتوزیداز تولید می‌کنند و قند لاکتوز را در دمای 35°C به مدت زمان $4\text{ h} \pm 48\text{ h}$ تخمیر کرده و تولید اسید و گاز می‌کنند. کلیفرم‌ها می‌توانند منشأ غیر از آلودگی مدفوعی داشته باشند، از این رو فقط به‌تنهایی به‌عنوان شاخص مدفوعی در نظر گرفته نمی‌شوند.

۳-۳

اشریشیا کلی

Escherichia coli

گونه‌ای از جنس اشریشیا متعلق به گروه کلیفرم‌های گرم‌پای است که علاوه بر دمای 35°C در دمای 44°C تا 45°C نیز قادر به تخمیر قند لاکتوز و تولید اسید و گاز می‌باشد. اشریشیا کلی علاوه بر آنزیم بتا-دی-گالاکتوزیداز، آنزیم بتا-دی-گلوکوزونیداز هم تولید می‌کند و با هیدرولیز

ماده سوبسترا MUG، فلورسنس آبی رنگ ایجاد می‌کند. این باکتری قادر به تولید اندول از تریپتوفان می‌باشد. با توجه به اینکه این باکتری‌ها قادر به تکثیر در آب نیست، بنابراین حضور آن در آب نشانگر آلودگی مدفوعی جدید می‌باشد.

۴-۳

انتروکوک‌ها

Enterococci

گروهی از استرپتوکوک‌های مدفوعی هستند. که قادر به احیاء ترکیب ۲، ۳، ۵-تری‌فنیل تترازولیوم کلراید^۱ و تبدیل آن به فورمازان^۲ بوده و همچنین اسکولین^۳ را در دمای ۴۴ °C هیدرولیز می‌کنند. انتروکوک‌ها در مقایسه با/شریشیا کلی و کلیفرم‌ها، مدت زمان بیشتری در آب زنده می‌مانند و به‌عنوان یک شاخص اضافی از آلودگی مدفوعی در آب استفاده می‌شوند.

۵-۳

سودوموناس آئروژینوزا

Pseudomonas aeruginosa

باکتری گرم مثبت با واکنش اکسیداز مثبت است که در محیط کشت انتخابی دارای سیتیماید تولید پیوسیانین، می‌کند و به‌عنوان شاخص آلودگی آب در منبع یا نقص در فرایند تصفیه آب در نظر گرفته می‌شود.

۶-۳

کلسترید یوم‌های احیاکننده سولفیت

sulfite-reducing clostridia

گروهی از باکتری‌های بی‌هوازی اجباری هستند که انرژی لازم برای رشد خود را از اکسیداسیون مواد آلی همراه با احیاء سولفات به‌دست می‌آورند. برخی توانایی تولید اندوسپور دارند. آن‌ها برخلاف کلیفرم‌ها و/شریشیا کلی به‌مدت طولانی در آب باقی می‌مانند، و نسبت به مواد شیمیایی و عوامل فیزیکی از اشکال رویشی، مقاوم‌تر بوده و نشانه وجود نقص در فرایند تصفیه آب در تصفیه‌خانه‌ها محسوب شده و به‌عنوان شاخص آلودگی متناوب معرفی می‌شوند.

1- 2,3,5- Triphenyl tetra zolium chloride (T.T.C)

2- Formazan

3- Aesculin

[منبع: بر گرفته از استاندارد ملی ایران شماره ۵۳۵۳]

۴ ویژگی‌ها

۴-۱ ویژگی‌های میکروبی آب معدنی طبیعی بسته‌بندی شده که بیش از ۱۲ h از بسته‌بندی آن گذشته باشد، باید مطابق با جدول ۱ باشد.

جدول ۱- ویژگی‌های میکروبی آب معدنی طبیعی بسته‌بندی شده

ردیف	ویژگی	حد قابل قبول (cfu)	روش آزمون
۱	کلیفرم‌ها	کمتر از ۱ در ۲۵۰ ml	استاندارد ملی ایران شماره ۱-۳۷۶۰
۲	اشریشیا کلی	کمتر از ۱ در ۲۵۰ ml	استاندارد ملی ایران شماره ۱-۳۷۶۰
۳	انتروکوک‌ها	کمتر از ۱ در ۲۵۰ ml	استاندارد ملی ایران شماره ۲-۷۷۲۴
۴	سودوموناس آئروژینوزا	کمتر از ۱ در ۲۵۰ ml	استاندارد ملی ایران شماره ۸۸۶۹
۵	کلستریدیوم‌های احیاکننده سولفیت	کمتر از ۱ در ۵۰ ml	استاندارد ملی ایران شماره ۵۳۵۳

۴-۲ ویژگی‌های میکروبی آب معدنی طبیعی، قبل از بسته‌بندی و آب معدنی طبیعی بسته‌بندی شده که کمتر از ۱۲ h از شروع بسته‌بندی آن گذشته باشد، باید مطابق با جدول ۲ باشد.

جدول ۲- ویژگی‌های میکروبی آب معدنی طبیعی قبل از بسته‌بندی، در حین فرایند تولید و کمتر از ۱۲ h پس از بسته‌بندی

ردیف	ویژگی	حد قابل قبول (cfu)	روش آزمون
۱	کلیفرم‌ها	کمتر از ۱ در ۲۵۰ ml	استاندارد ملی ایران شماره ۱-۳۷۶۰
۲	اشریشیا کلی	کمتر از ۱ در ۲۵۰ ml	استاندارد ملی ایران شماره ۱-۳۷۶۰
۳	انتروکوک‌ها	کمتر از ۱ در ۲۵۰ ml	استاندارد ملی ایران شماره ۲-۷۷۲۴
۴	سودوموناس آئروژینوزا	کمتر از ۱ در ۲۵۰ ml	استاندارد ملی ایران شماره ۸۸۶۹
۵	کلستریدیوم‌های احیاکننده سولفیت	کمتر از ۱ در ۵۰ ml	استاندارد ملی ایران شماره ۵۳۵۳
۶	میکروارگانسیم‌های قابل کشت (میکروارگانسیم‌های هتروتروف) ($36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $44\text{ h} \pm 4\text{ h}$)	۱۰۰ در ۱ ml	استاندارد ملی ایران شماره ۵۲۷۱
۷	میکروارگانسیم‌های قابل کشت (میکروارگانسیم‌های هتروتروف) ($22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $68\text{ h} \pm 4\text{ h}$)	۵۰۰ در ۱ ml	استاندارد ملی ایران شماره ۵۲۷۱

یادآوری- جدول ۲ فقط برای بررسی آب معدنی طبیعی، قبل از بسته‌بندی و کمتر از ۱۲ h پس از بسته‌بندی، کاربرد دارد و می‌تواند توسط تولیدکنندگان مورد استفاده قرار گیرد.

۵ نمونه‌برداری

۱-۵ نمونه‌برداری باید مطابق با استانداردهای ملی ایران شماره ۲۳۴۷ و ۴۲۰۸ انجام شود.

۶ روش‌های آزمون

روش‌های آزمون باید مطابق با جدول‌های ۱ و ۲ انجام شود.

کتابنامه

- [1] Improved Enumeration Methods for the Recreational Water Quality Indicators: Enterococci and Escherichia coli.
- [2] Incorporationg the first addendum, who, 2017.
- [3] Guidelines for drinking –water quality management for New Zealand. Third edition , 2013.
- [4] Speek M. (2005), Compendium of methods for the Microbiological examination of foods, third edition, APHA.
- [5] Australia New Zealand Food Standards Code - Standard 1.6.1 - Microbiological Limits for Food - F2014C00964.
- [6] Zimbabwe standard specification for packaged drinking water zws 791:2015.
- [7] Allen et al., 2004; Edberg and Allen, 2004.
- [8] J. Bartram, J. Cotruvo, M. Exner, C. Fricker, A. Glasmacher , 2003, Heterotrophic Plate Counts and Drinking-water Safety, The Significance of HPCs for Water Quality and Human Health, World Health Organization (WHO).
- [9] World Health Organization, (2017), Guidelines for drinking water quality fourth edition.