

### نمونه برداری

هدف‌های رفتاری: در پایان این فصل، فراگیر باید بتواند:

- ۱- ارزش نمونه برداری صحیح را بیان نماید.
- ۲- وسایل نمونه برداری را شناسایی نماید.
- ۳- بتواند در شرایط متفاوت از آب نمونه برداری نماید.
- ۴- بتواند از مواد غذایی نمونه برداری نموده، به آزمایشگاه تحویل دهد.
- ۵- طرز آماده نمودن نمونه‌های رسیده به آزمایشگاه را بیان کند.
- ۶- بتواند نمونه‌ای ارسالی به آزمایشگاه را رقیق کرده، برای کشت آماده نماید.

### ۳- نمونه برداری

نمونه برداری صحیح یا به عبارتی جمع‌آوری تعداد کافی و مناسب نمونه‌های مختلف مواد غذایی اساس کار بررسی‌های میکروبیولوژیکی است که برای بازرسی و نظارت مواد غذایی ضرورت دارند. تصمیم در انتخاب نمونه، تعداد نمونه‌هایی که می‌باید انتخاب شوند، روش نمونه برداری و چگونگی راه‌های حمل آن‌ها به طوری که تغییر فاحشی در تعداد و کیفیت باکتری‌ها ایجاد نشود حایز اهمیت است. دقت، صحت و کفایت نمونه برداری به اندازه‌ی سرعت در رساندن آن‌ها به آزمایشگاه و روش‌های آماده کردن و آزمون نمونه‌ها اهمیت دارد و حاصل تمام این کوشش‌ها است که قابل مصرف بودن فرآورده را نشان می‌دهد.

#### ۱-۳-۱- واژه‌های نمونه برداری

نمونه: یک نمونه باید دارای تمام ویژگی‌های ماده‌ای باشد که از آن برداشته می‌شود.

نمونه اولیه: عبارتست از ماده جمع آوری شده در نمونه برداری، که حداقل باید دو برابر مقدار ماده غذایی لازم برای آزمایش باشد. مقدار مازاد آن برای مواقعی که نیاز دوباره به نمونه است نگهداری شود.

## ۲-۳- تهیهی نمونه های اولیه

– برای تهیه نمونه های اولیه، نمونه برداری باید به دست شخص صلاحیت دار صورت گیرد.  
– در صورت امکان، نمونه ها در حین تخلیه مواد غذایی (کشتی، کامیون، هواپیما) از تمام قسمت های محموله برداشته شوند. چنانچه نمونه برداری از تمامی قسمت های محموله امکان پذیر نیست، از بسته هایی که در دسترس هستند نمونه برداری شود که در این صورت نتایج فقط برای بسته های آن چهارچوب قابل تفسیر می باشند و نماینده کل محموله نیستند. امکان طبقه بندی محموله باید در نظر گرفته شود و چندین برابر مقدار واقعی لازم برای تجزیه در آزمایشگاه برداشته شود. مقدار اضافی نمونه در شرایطی که به سبب تغییر شرایط میکروبی ماده غذایی نگردد نگهداری شود. تا جای ممکن نمونه ها باید از ظرف باز نشده و اصلی به آزمایشگاه فرستاده شود، اگر تمام بسته ها در دسترس باشند از آن ها به روش تصادفی نمونه برداری شود.

– در نمونه برداری از کارتن های بزرگ حاوی بسته های کوچک، ابتدا به روش تصادفی چند کارتن را انتخاب کرده، سپس از هر یک از کارتن ها به طور تصادفی به تعداد مورد نیاز از بسته های کوچک برداشته شود و در تمام مراحل از جداول ارقام تصادفی استفاده گردد. بهتر است از هر کارتن فقط یک بسته برداشته شود، با این روش بهترین نمونه معرف از محموله بدست خواهد آمد (البته این روش همیشه عملی نیست).

– چنانچه فرآورده در ظروف خیلی بزرگ قرار دارد که به آسانی قابل حمل به آزمایشگاه نمی باشند البته باید آلودگی سطحی روی بسته های غذایی و ظرف نمونه را با مواد پاک کننده تمیز کرده سپس با الکل ۷۰ درصد سترون کنند سپس تحت شرایط اسپتیک نمونه های معرف را انتخاب و به ظروف سترون جداگانه منتقل نمایند.

– در مورد بسته های کاغذی لازم است لایه خارجی آن را برداشته، سپس لاک و مهر بسته ها را بدقت با کارد یا قیچی برید. به منظور جلوگیری از آلودگی ثانویه، بخصوص در مورد بسته های حاوی مواد پودری و مواد تحت فشار باید برای هر بسته از وسیله نمونه برداری سترون جداگانه استفاده شود. مواد غذایی کنسرو شده را به همان صورت به عنوان نمونه اولیه به آزمایشگاه ارسال کنند. چنانچه نمونه

غذایی حجم زیادی دارد باید از قسمت‌های مختلف آن نمونه برداری شود. مگر از مخلوط شدن آن اطمینان حاصل شود و یا به تجربه ثابت شده باشد که نمونه برداری از عمق بخصوص قابل قبول است. پیش از نمونه برداری از دهانه یا سوراخ ظروف، باید مقداری از ماده از آن خارج شود. در هنگام نمونه برداری از ظروف یا تانک‌های بزرگ یا بسته‌های غذایی، همچنین انتقال آن‌ها به ظرف نمونه باید سعی شود آلودگی پیش نیاید. برای تهیه نمونه اولیه متناسب با حالت فیزیکی مواد غذایی از وسایل مخصوص استفاده شود. از مته‌های مخصوص برای نمونه برداری از پنی‌های سخت و یا پیست برای مایعات. سعی بر این باشد که همیشه برای تهیه نمونه‌ی معرف، در صورت امکان مواد غذایی مایع یا به حالت سوسپانسیون و یا موادی با گرانی بالایی را تا یکنواخت شدن هم بزنند.

– موادی نظیر مایعات منجمد را باید در یک ظرف سترون بزرگ قرار داد و سپس تحت شرایط سترونی به قطعات کوچک تر شکست. (در کیسه پلاستیکی محکم) پس از آن از خرد شده‌ها نمونه برداری نمود. با وجود نکته‌های گفته شده گاهی ممکن است بازرسان نمونه‌ای را بدون رعایت شرایط سترونی با حجم بزرگ به آزمایشگاه بفرستند مانند یک تکه گوشت منجمد بدون استخوان. در هر حال میکروبی‌شناسان می‌توانند یک نمونه سترون از لایه‌های داخلی به‌عنوان نمونه مورد آزمایش بردارند و رئیس آزمایشگاه را از این مطلب آگاه سازند. دمای هوای اتاق نگهداری و یا وسیله‌ی حمل نمونه، همچنین دمای ماده غذایی در هنگام نمونه برداری باید یادداشت شود.

– دماسنج نباید هیچ‌گاه پیش از نمونه برداری وارد ظروف نمونه شود.

– در مواردی که بسته‌های کوچک باز نشده به آزمایشگاه فرستاده می‌شود، باید درجه حرارت غذای موجود در بسته یادداشت شود.

یادآوری ۱– نمونه برداری باید در محیطی دور از گرد و خاک و جریان هوا و رطوبت انجام گیرد.  
یادآوری ۲– در صورتی که قسمتی از محموله وضع خاص و غیر مشابهی با سایر قسمت‌های محموله دارد نظیر جعبه و یا کارتن‌های شکسته، له شده و رطوبت دیده نمونه برداری باید به‌طور انتخابی صورت گیرد.  
یادآوری ۳– در مورد برداشت نمونه از کالاهای بسته‌بندی شده موجود در انبار و یا نمونه برداری از کالا در محل فروش و یا توزیع که بیشتر به سبب مشکوک بودن صورت می‌گیرد، باید به شرایط نگهداری و تاریخ ساخت آن بیشتر توجه گردد و در صورتی که نقایصی درباره‌ی نگهداری وجود نداشته باشد بررسی بیشتر در مورد تاریخ تهیه، شماره بھر و یا توزیع آن کالا ضرورت خواهد داشت.

### ۳-۳- وسایل نمونه برداری

ظروف نمونه برداری باید خشک، تمیز و سترون باشند. برای این منظور می توان از ظروف شیشه ای دهان گشاد و دریچ دار (در مورد مایعات از بطری و یا شیشه ای در سمباده ای) همچنین از ظروف فلزی زنگ نزن و کیسه های پلاستیکی یکبار مصرف محکم با گنجایش کافی، به طوری که بتوان ۲۵۰ گرم نمونه را در آن جای داد، استفاده کرد. در مورد ظروفی که بیش از یکبار مورد مصرف قرار می گیرند باید جنس آن ها طوری باشد که تحمل چندین بار شستشو و سترون شدن را دارا باشند. در صورت استفاده از چوب پنبه و پوشش پلاستیکی برای بستن در ظروف، باید آن ها را در ورقه های غیر قابل نفوذ (ورقه های آلومینیوم و یا ورقه های پلاستیکی) مناسب پوشانده، سپس سترون نموده و مصرف کرد. در صورتی که از کیسه های پلاستیکی یکبار مصرف سترون شده استفاده می شود باید پس از نمونه برداری آن ها را محکم با نخ و سیم طوری بست که هیچ گونه منفذی برای ورود و خروج مایعات در آن نباشد. سایر وسایل نمونه برداری عبارت اند از: چنگال، قاشق، انبرک، گیره، کارد، کاردک، مته های مخصوص، سینی، پیپت، در بازکن، قیچی و ... و چراغ الکلی، چراغ گاز کوچک دماسنج که از ۲۰°C تا ۱۰۰ درجه را نشان دهد و حساسیت آن حدود ۲ درجه تنظیم شده باشد (کلیه این وسایل باید قبل از مصرف با روش مناسب سترون شده باشند).

### ۳-۴- نمونه برداری از آب

برای این منظور از شیشه های ۱۰۰ میلی لیتر در سمباده ای یا فلزی استفاده می شود. شیشه ها را پس از سترون نمودن در کاغذ پیچیده، در موقع برداشت نمونه کاغذ را از سر شیشه باز می کنند و با دست چپ شیشه را نگاه داشته، با انگشت کوچک و کف دست راست در شیشه را برمی دارند. پس از آنکه دهانه ی شیشه را چند لحظه روی شعله نگاه داشتند آن را از آب پر کرده، سپس در شرایط سترون در آن بسته می شود. اگر برداشت آب از شیر صورت می گیرد باید دور دهانه شیر را چند لحظه شعله داده، پس از آن شیر را باز کنند تا آب از شیر برای چند دقیقه جاری شود سپس نمونه برداری را انجام دهند. برای برداشت نمونه آب از آب های ساکن (استخر، حوض، آب انبار و ...) ابتدا ته شیشه را با دست گرفته و آن را طوری به زیر آب فرو می برند که دهانه ی آن روبه پایین باشد. در ضمن شیشه در عمق ۱۵ تا ۳۰ سانتی متری سطح آب قرار گیرد. آنگاه شیشه را کمی کج کرده، از آب پر می کنند، هنگام برداشت آب و آب های جاری باید دهانه شیشه در جهت مخالف مسیر آب قرار گیرد تا آبی که در نتیجه ی تماس با دست، آلوده می شود وارد شیشه نگردد و در مواقعی که می خواهند از یک چاه نیمه



شکل ۱-۳- نمونه‌ای از میکروپیپت مخصوص نمونه برداری

عمیق که با وسایل دستی آب از آن می‌کشند نمونه برداری کنند. با رعایت نکات بهداشتی ریسمانی به گردن یک بطری بسته، پس از برداشتن در بطری آن را داخل چاه می‌کنند. وقتی که شیشه از آب پر شد آن را به کمک ریسمان بالا می‌کشند. پس از برداشت نمونه و بستن و مهر و موم کردن، ذکر مشخصات نمونه روی برجسب شیشه الزامی است و شیشه‌های حاوی نمونه را از آب پر نمی‌کنند بلکه  $\frac{3}{4}$  شیشه را از آب پر می‌کنند تا در موقع آزمایش بتوان آن را مخلوط کرد.

### ۵-۳- نمونه برداری از مواد غذایی

نمونه‌های غذایی باید با وسایل مناسب برداشته شود و به ظروف شیشه‌ای سترون دهان گشاد مجهز به در مناسب با اندازه‌های مختلف و یا کیسه‌های پلی اتیلنی دو جداره که بخوبی بسته می‌شوند منتقل گردد. مقدار لازم حدود  $25^{\circ}$  گرم است. وسایل مورد نیاز برای نمونه برداری از مواد غذایی

شامل چاقو، قیچی، گیره، قاشق، انبرک (پنس)، قوطی بازکن، چکش برای غذاهای سخت و منجمد، ساطور، مته، اره، سینی، ظروف شیشه‌ای دهانه گشاد با ابعاد مختلف، کیسه‌های پلی اتیلن در ابعاد و اندازه‌های متفاوت می‌باشند. از آنجا که وسایل نمونه‌برداری باید به‌طور مرتب تمیز و سترون شوند بدین جهت باید جنس آن‌ها از موادی با کیفیت خوب و دارای طراحی ساده باشند، تا به راحتی قابل تمیز کردن باشند. (ظروف چوبی مناسب نیستند) موادی که برای شستشو و سترون کردن بکار می‌روند باید از پاک‌کننده‌های قابل سازش با آب، آب‌جوش، هیپوکلریت و الکل ۷۰ درصد باشند.

### روش نمونه‌برداری از مواد غذایی

۱- تخم مرغ: تخم مرغ به چند شکل به بازار عرضه می‌شود. در این قسمت نمونه‌برداری از تخم مرغ به‌شکل کامل و به‌صورت پودر توضیح داده می‌شود.

**الف) تخم مرغ کامل:** پس از باز کردن جعبه‌های حاوی تخم مرغ، در صورتی که تمام آن‌ها از نظر ظاهری بدون عیب باشند تعدادی را به‌طور تصادفی انتخاب و برداشت کرده (به‌طوری که تخم مرغ‌ها نشکنند) سپس بلافاصله آن‌ها را به آزمایشگاه منتقل می‌کنند. چنانچه امکان انتقال فوری نمونه‌ها به آزمایشگاه وجود ندارد باید آن‌ها را تا زمان رسیدن به آزمایشگاه و آزمایش در حرارت بین ۴ تا ۱۰ درجه سلسیوس نگهداری نمود.

**ب) پودر تخم مرغ:** برای این منظور توسط وسیله‌ی نمونه‌برداری سترون، از هر بسته در سه نقطه یکی وسط و دو تا از اطراف بسته از قسمت عمقی، نمونه‌برداری می‌شود. سپس هر سه نمونه را که تقریباً باید مساوی باشند به یک ظرف شیشه‌ای سترون منتقل کرده، بلافاصله آن‌ها را به آزمایشگاه ارسال می‌کنند. نمونه‌ها تا موقع آزمایش باید در دمای مناسب نگهداری شوند.

۲- غذاهای منجمد: این غذاها باید تا زمان رسیدن به آزمایشگاه همچنان به‌حالت منجمد باشند. چنین فرآورده‌هایی اگر از حالت انجماد خارج شده باشند نباید دوباره منجمد گردند (مگر در موارد خیلی اضطراری).

**الف) غذاهای دریایی پخته و نیپخته منجمد:** باید از تمام محموله نمونه‌برداری انجام شود یعنی قسمت‌هایی از بسته‌های بزرگ برداشته و خرد شوند و به کیسه‌های دو جداره پلی اتیلنی منتقل گردند.

**ب) گوشت خام منجمد (نمونه‌برداری از قطعات گوشت بدون استخوان):** برای نمونه‌برداری از گوشت خام باید به کمک اره و یا ساطور تمیز و سترون، حداقل ۲۵۰ گرم نمونه برداشته و به کیسه‌ی پلی اتیلنی منتقل شود. سر کیسه را گره زده، در کیسه‌ی دیگری گذاشته و با دقت بسته شود.

**ج) نمونه‌برداری از لاشه‌ی کامل:** چنانچه گوشت به شکل لاشه‌ی کامل و یا قطعات بزرگ

و یا منجمد باشد در صورتی که ترکیب گوشت به حالت طبیعی خود باقی مانده باشد، پیش از هر چیز باید از نظر تشخیص آلودگی یا عدم آلودگی مورد بررسی واقع شود. و چون بخش زیادی از آلودگی گوشت سطحی است (به جز مواعقی که حیوان در حال بیماری ذبح شده و یا مدتی در شرایط نامناسب نگهداری شده و فاسد شده باشد) باید میزان آلودگی در سطح معینی از لاشه معلوم گردد. اگر لاشه به صورت تازه یا منجمد است با وسیله‌ی سترون از سطح معینی به اندازه‌ی ۵° گرم برداشته، به آزمایشگاه ارسال می‌شود.

**د) گوشت طیور:** برای این منظور باید از کیسه‌های پلاستیکی جداگانه برای قسمت‌های مختلف لاشه (لفاف‌دار یا بدون لفاف) استفاده شود. به محض رسیدن این نمونه به آزمایشگاه باید آن را از کیسه‌ی خارجی درآورده، در یک سینی قرار داده، در یخچال بگذارند تا کمی باز و نرم شود سپس لفاف یا بقایای لفاف را از آن جدا کنند.

**۳- غذاهای یخچالی:** این گونه نمونه‌های غذایی نباید پیش از آزمایش منجمد شوند ولی می‌باید در طی نگهداری و جابجایی در دمای حدود ۴+ درجه سانتی‌گراد در ظروف عایق نگهداری شود و به سرعت به آزمایشگاه فرستاده شود.

**۴- گوشت دام و طیور سرد شده:** نمونه‌های گوشت دام و طیور سرد باید به روش فرآورده‌های منجمد خیلی سریع پس از رسیدن به آزمایشگاه مورد آزمایش واقع شوند. در تهیه نمونه برای آزمایش باید از روش خراشیدن استفاده شود.

**۵- پنیر:** برای نمونه‌برداری از پنیرهای سخت و نیمه سخت که مشکوک به آلودگی هستند باید به طریق زیر عمل شود. ابتدا باید قسمت سطحی پنیر را به عمق ۱ تا ۱/۵ سانتی‌متر کنار زد. آنگاه از قسمت داخلی آن با وسیله‌ی مخصوص نمونه‌برداری پنیر (سرنگ مانند) از ۵ نقطه متمایز ۵ نمونه هر کدام به وزن تقریبی ۵ گرم برداشت. نمونه‌های پنیر را باید تا انجام آزمایش در دمای ۱° درجه سانتی‌گراد یا کمتر نگهداری کرد. چنانچه از پنیر تازه‌ی بی‌نمک نمونه‌برداری می‌شود باید تا هنگام رساندن آن به آزمایشگاه و انجام آزمایش، نمونه در دمای بین صفر تا ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود. چنانچه نمونه‌برداری به منظور آزمایش‌های شیمیایی انجام می‌گیرد باید طوری باشد که از قسمت سطحی و عمقی هر دو برداشت گردد و مقدار آن باید حدود ۲۰۰ گرم باشد.

**۶- شیر تازه:** برای آزمایش‌های مختلف روی شیر می‌توان از شیر یک رأس دام یا شیر مخلوط شده در یک ظرف کوچک یا بزرگ نمونه‌برداری کرد.

**الف) نمونه‌برداری از شیر دام هنگام دوشش:** قبل از دوشش باید پستان گاو با آب و صابون

و برس پاک شده، پس از نظافت، با یک پارچه‌ی تمیز خشک گردد. نظافت پستان گاو بیش از دوشش آن حائز اهمیت است زیرا در صورت آلوده بودن آن هنگام دوشیدن، شیر آلوده می‌شود و نتیجه آزمایش صحیح و قابل اطمینان نخواهد بود، بهتر است قطرات اولیه شیر دور ریخته شود زیرا مجرای پستان قبل از دوشش آلوده است و شیر به هنگام عبور از آن آلوده می‌گردد. پس از آن که شیر به‌طور کامل دوشیده شد چنانچه تهیه‌ی نمونه بلافاصله صورت گیرد لازم است آن را به خوبی هم زده و نمونه برداری کرد. کلیه ظروف و وسایل باید سترون باشند و نمونه برداری در شرایط سترونی صورت گیرد. در هنگام استفاده از شیردوش مکانیکی، چون لوله‌ی بعضی از شیردوش‌های مکانیکی به یک مخزن استیل ضدزنگ وصل است. پیش از نمونه برداری چند بار شیر موجود در مخزن هم زده شود. **ب) شیر در ظروف بزرگ (تانکر، مخزن، پیدون):** در هنگام تهیه‌ی نمونه از این ظروف باید به چند مورد توجه شود.

۱- مدتی که شیر در این ظروف مانده است. ۲- چگونگی نگهداری. ۳- دمای شیر.

با توجه به عوامل بالا پیشنهاد یک روش مشخص برای نمونه برداری صحیح نیست. ولی پیشنهاد می‌گردد که در هر صورت قبل از تهیه، نمونه‌ی شیر را با همزن الکتریکی یا همزن دستی یا هوای فشرده و یا هر وسیله‌ی ممکن دیگر یکنواخت کنند. چنانچه از ریختن شیر در این ظروف ۳۰ دقیقه گذشته باشد باید عمل هم‌زدن پنج دقیقه ادامه یابد. استفاده از همزن الکتریکی یا هوای فشرده باید آنقدر ادامه یابد تا شیر همگن شده و نمونه‌های برداشت شده از بالا و پایین یکسان باشند. بدیهی است مدت لازم را با تجربه می‌توان تعیین کرد. با اتمام یکنواخت کردن، از شیر نمونه برداری می‌شود مقدار نمونه نباید از ۵۰۰ سانتی‌متر مکعب کمتر باشد.

— **شیر پاستوریزه و استریلیزه:** در مورد شیر پاستوریزه یا استریلیزه باید به تعداد لازم نمونه انتخاب و به آزمایشگاه ارسال شود. کلیه وسایل نمونه برداری باید سترون باشند و برای رساندن نمونه‌های شیر به آزمایشگاه باید شرایط دما بین ۲۰ تا ۴ درجه سانتی‌گراد باشد و نمونه هر چه زودتر به آزمایشگاه برسد.

۷— **خامه:** نمونه برداری از خامه مانند شیر است. خامه نیز باید پیش از نمونه برداری با همزن یکنواخت شود. هنگام بهم‌زدن خامه باید دقت شود که تمام خامه بویژه قسمت‌های موجود در ته و اطراف ظرف به هم خورده، یکنواخت شود. در هنگام هم‌زدن همزن را نباید به‌شدت بالا و پایین برد بلکه باید آن‌را در داخل خامه فرو کرد. پس از یکنواخت شدن ۲۰۰ گرم نمونه در شرایط سترونی برداشت شده، با رعایت اصول بهداشتی به آزمایشگاه ارسال می‌گردد.



۸- کره: برداشت نمونه از کره ممکن است در محل تولید یا فروشگاه‌ها صورت گیرد.

الف) کره در دستگاه کره‌زنی: پس از آنکه کره در دستگاه کره‌زنی آماده شد، سه نمونه به وزن تقریبی هر یک ۱۰ گرم از سه نقطه یکی از وسط و دو نمونه از اطراف برای آزمایش‌های میکروبی برداشت شود. برای آزمایش‌های شیمیایی مقدار بیشتری نمونه لازم است.

ب) کره در ظروف و بسته‌های بزرگ: برای آزمایش میکروبی با وسایل سترون از دو قسمت جداگانه به وزن تقریبی هر یک ۱۵ گرم نمونه تهیه شود. اگر از بسته‌های بزرگ کره نمونه تهیه می‌شود، باید قسمتی از پوشش آن کنار زده شود تا سطح کره نمایان گردد. سپس با قاشق یا اسپاتول یا وسیله‌ی مناسب دیگر، نمونه برداری صورت گیرد. برداشت نمونه از کنار بسته به طوری صورت گیرد که قسمت‌های سطحی از سه طرف برداشته شود.

ج) کره قالبی: کره‌های قالبی در اندازه‌های مختلف تهیه می‌گردد. برای آزمایش‌های میکروبی باید بر طبق روش‌های نمونه برداری از تعداد معینی از بسته‌ها نمونه تهیه کرده، به آزمایشگاه ارسال دارند. یا اینکه بسته‌بندی کره را در شرایط سترونی بازکنند تا تمام سطح آن نمایان گردد. پس از مشاهده و اطمینان از یکنواختی آن از سطحی به اندازه‌ی ۸ تا ۱۰ سانتی متر مربع حدود ۱۵ گرم را با وسایل سترون برداشت نمایند. نمونه برداری باید طوری انجام شود که قسمت‌های سطحی نیز همراه نمونه باشد. پس از تهیه نمونه باید آن‌ها را بلافاصله در حرارت صفر تا ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده، به آزمایشگاه ارسال دارند. آزمایش‌های میکروبی روی کره باید هر چه زودتر انجام شود و فاصله نمونه برداری و آزمایش کوتاه باشد.

۹- بستنی: برای نمونه برداری از بستنی و سایر مواد غذایی منجمد، ابتدا با یک چاقو یا وسیله‌ی برنده و تیز سترون، سطح نمونه را تا عمق حدود ۲/۵ سانتی متر کنار زده و بعد، از آن محل نمونه برداشت شود چنانچه بستنی خیلی سفت و سخت باشد می‌توان از روش‌های مخصوص برای برداشت نمونه استفاده کرد. به هر حال ۵۰ گرم نمونه لازم است. نمونه‌ها پس از برداشت و انتقال به ظروف سترون هر چه سریع‌تر باید به آزمایشگاه ارسال شوند تا در هنگام آزمایش فرآورده از حالت انجماد خارج نشده باشد. چنانچه بستنی ایجاد مسمومیت کرده باشد، بهتراست علاوه بر آن از کلیه مواد اولیه آن در صورت موجود بودن نمونه برداری صورت گیرد.

۱۰- شیر غلیظ شده<sup>۱</sup>: این شیرها را معمولاً در بسته‌های فلزی بسته‌بندی می‌کنند.

تهیه نمونه از بسته‌های کوچک: ابتدا قوطی‌ها را از نظر وضع ظاهری مورد آزمایش قرار

۱- Condensed Milk

می‌دهند. چنانچه برخی از آن‌ها دارای سوراخ بوده و یا وضع ظاهری مشکوک داشته باشد این قبیل قوطی‌ها از قوطی‌های سالم جدا می‌شوند و از هر یک به‌طور جداگانه به تعداد لازم نمونه برداشته می‌شود. (نمونه‌های قابل فساد باید در شرایط مناسب به آزمایشگاه فرستاده شوند) تهیه نمونه از بسته‌های بزرگ به همان صورت نمونه‌برداری از بسته‌های کوچک است و پس از یکنواخت نمودن محتویات ظرفها، از هر یک جداگانه حدود ۲۵۰ گرم نمونه برداشته می‌شود.

**۱۱- شیرخشک:** در محل نمونه‌برداری از شیرخشک به هیچ‌وجه نباید رطوبت هوا زیاد باشد اگر شیرهای خشک به‌صورت بسته‌های کوچک است، به تعداد مناسب از بسته‌ها انتخاب و برداشت می‌شود.

ولی اگر بسته بزرگ باشد از بین آن‌ها تعدادی انتخاب و سپس مقدار لازم از آن‌ها برداشته شود. چون شیرخشک خیلی سریع رطوبت را جذب می‌کند، نمونه‌برداری از ظروف باید خیلی سریع انجام شده، بلافاصله نمونه به ظروف سترون و شیشه‌ای منتقل شود و مهر و موم گردد. چنانچه امکان آلودگی در بعضی از قسمت‌های بسته زیاده‌تر به نظر می‌رسد، باید از آن قسمت‌ها به‌طور جداگانه برداشت شود و مشاهدات و علل نمونه‌برداری در گزارش قید گردد.

**۱۲- مواد شکل‌دهنده:** مواد شکل‌دهنده مانند ژلاتین، پکتین، آگار و غیره که به مواد غذایی افزوده می‌گردد چنانچه آلوده باشند، منبع مهمی برای آلودگی فرآورده‌های غذایی می‌باشند. بنابراین مواد شکل‌دهنده نیز قبل از مصرف، اگر مشکوک به نظر می‌رسند باید نمونه‌برداری و آزمایش شوند. پس از انتخاب بسته‌های لازم، در شرایط سترونی و در محلی که رطوبت زیاد نباشد، در آن‌ها باز شده، با استفاده از نمونه‌بردار سترون از هر بسته حدود ۲۵۰ گرم از نقاط مختلف برداشته، به یک ظرف سترون منتقل می‌شود، چنانچه مقدور باشد، بهتر است کلیه‌ی مواد موجود در بسته در یک ظرف بزرگ سترون خالی شده، پس از یکنواخت کردن از آن نمونه‌برداری گردد.

**۱۳- مواد غذایی بسته‌بندی شده در قوطی (کنسروها و کمپوت‌ها):** ابتدا تعداد لازم قوطی به روش تصادفی و با استفاده از جداول نمونه‌برداری استاندارد انتخاب می‌گردد. سپس سطح قوطی‌ها با آب نیم‌گرم و صابون خوب شسته و با پنبه‌ی آغشته به الکل سترون می‌شود. چون ممکن است مقداری گاز در داخل قوطی تولید شده باشد که در هنگام سوراخ کردن سبب پخش ماده‌ی غذایی به اطراف و برخورد آن به سر و صورت آزمایش‌کننده گردد، همچنین برگشت آن روی قوطی ممکن است سبب آلودگی ثانوی شود. باید قیف سترونی را که اندازه‌ی آن متناسب با اندازه‌ی قوطی کنسرو باشد به‌طور واژگون روی قوطی قرار داده، سپس میخ بلند و سترونی را از جهت باریک قیف

داخل کرده، با ضربه قوطی را سوراخ کرد. در مورد قوطی های سالم می توان با استفاده از دریاکن سترون در قوطی را به اندازه ی کافی باز کرده، سپس با وسیله ی فلزی توخالی و سترون که تا عمق قوطی وارد می شود نمونه تهیه کرد. چنانچه ماده موجود در قوطی مایع است با پیست سترون مقدار نمونه ی لازم تهیه و به یک ظرف سترون منتقل می شود و به آزمایشگاه ارسال می گردد.

### ۶-۳- نشانه گذاری<sup>۱</sup> ظروف حاوی نمونه

تمام ظروف باید قبل و یا بلافاصله پس از نمونه برداری نشانه گذاری شوند. بهتر است برای جلوگیری از کنده شدن و افتادن احتمالی برچسب در طول عملیات بعدی آنرا محکم چسباند. برچسب ها شماره گذاری شده، اطلاعات ضروری در مورد نمونه روی آن ها قید گردد. چنانچه نمونه اولیه از یک ظرف بزرگ مانند کیسه یا کارتن برداشته شده باشد ظرف حاوی نمونه با شماره روی کیسه یا کارتن مشخص شود.

گزارش نمونه برداری: گزارش نمونه برداری باید توسط نمونه بردار امضا گردد.

گزارش نمونه برداری از هر نمونه باید شامل اطلاعات زیر باشد:

۱- نام و آدرس نمونه بردار ۲- نام و آدرس نماینده ی کالا و یا صاحب کالا ۳- تاریخ، محل و زمان نمونه برداری ۴- علت نمونه برداری ۵- مشخصات ماده غذایی ۶- نام تولیدکننده، واردکننده، فروشنده، خریدار و در صورت لزوم سایر اطلاعات ضروری ۷- تعداد و اندازه واحدهای تشکیل دهنده ی بهر ۸- شماره و علامت بهر ۹- شماره فاکتور و بارنامه ° ۱- روش نمونه برداری (روش تصادفی از بهر یا انتخابی از واحدهای در دسترس) ۱۱- کلیه ی مدارک مربوط به حمل و نقل - گواهی بهداشت و استاندارد کشور مبدأ ۱۲- در صورتی که نمونه برداری از یک واحد بزرگ صورت گیرد کلیه داده ها روی بسته بندی بزرگ، ویژگی های کالا، اندازه و تعداد روی بسته کوچک قید گردد. ۱۳- چگونگی و کیفیت حمل نمونه ها به آزمایشگاه ۱۴- در مواردی که فروشنده و خریدار تقاضای آزمایش دارند خودشان باید آزمایش های مورد نظر را ذکر کنند. ۱۵- شرایطی که ممکن است در نمونه برداری و یا وضعیت نمونه ها تغییر ایجاد نماید.

### ۷-۳- جابه جایی و نگهداری نمونه ها

در جابه جایی نمونه ها باید کوشش شود که شرایط میکروبیولوژیکی ماده ی غذایی تغییر نکند.

۱- Labling

از این رو باید تا جای ممکن به فوریت نمونه‌ها را پس از برداشتن مورد آزمایش قرارداد و یا اینکه از وسایلی مانند یخدان، یخچال و فریزر استفاده شود که امکان تغییر شرایط ماده غذایی در طول جابه‌جایی و نگهداری وجود نداشته باشد. ارسال نمونه‌ها به آزمایشگاه تا حد ممکن باید سریع صورت گیرد. چنانچه نمونه‌ی موردنظر از غذاهای خشک و کنسروها باشد، در این موارد احتیاطات خاصی لازم نیست فقط درجه حرارت نباید از ۴۵ درجه سانتی‌گراد تجاوز کند. چنانچه نمونه‌ی غذایی فاسد شدنی و غیرمنجمد باشد باید تا هنگام آزمایش در ۰ تا ۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود و با ظروف عایق‌دار به آزمایشگاه ارسال گردد. نمونه‌های غذایی منجمد را باید تا هنگام آزمایش همچنان به حالت انجماد نگاهداری نمود. برای این منظور باید آن‌ها را در ظروف نمونه‌برداری عایق که در فریزر قرار داشته و سرد شده‌اند قرار داد و با استفاده از یخ خشک یا وسیله‌ی مناسب دیگری در تمام مدت حمل و نقل یا نگهداری درجه حرارت نمونه را پایین‌تر از صفر نگاه داشت.

### ۸-۳- آماده کردن نمونه‌های مورد آزمون

پس از رسیدن نمونه‌های جمع‌آوری شده، باید بلافاصله اقدام به آزمایش کرد.

۸-۳-۱ چنانچه نمونه‌های رسیده به آزمایشگاه منجمد باشد باید به یکی از سه روش زیر

آماده شوند.

الف) نمونه در ظرفی که به آزمایشگاه رسیده است برای ۱۸ ساعت در یخچالی که ۲-۵ درجه سانتی‌گراد حرارت دارد قرار داده شود.

ب) چنانچه نمونه به آسانی قابل خرد شدن باشد باید آن را خرد کنند.

پ) نمونه‌هایی که بهسولت از حالت انجماد خارج می‌شوند باید به مدت کمتر از یک‌ربع ساعت در حرارت ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شوند.

۸-۳-۲ در صورتی که نمونه غذایی مایع یا به حالت سوسپانسیون و یا جامد باشد در هر حال قبل از باز کردن، ظرف دارای نمونه باید خوب تکان داده شود.

- هنگام باز کردن درب ظرف دارای نمونه باید از آلوده شدن آن جلوگیری شود. به این منظور روی درب و اطراف و محلی که از آنجا ظرف باز می‌شود باید ضدعفونی گردد.

- در مورد غذاهای بسته‌بندی شده برای از بین بردن آلودگی از شعله دادن یا پاک کردن با الکل ۷۰ درصد و یا هوای خشک گرم استفاده می‌شود.

- هنگام باز کردن ظروف حاوی نمونه‌های غذایی پودری شکل باید دقت شود تا از آلودگی

اطراف و محل کار و سایر نمونه‌ها جلوگیری گردد.

۳-۸-۳- هنگامی که نمونه‌ها متشکل از چندین ترکیب یا لایه هستند مانند کیک‌های خامه‌ای یا ژله‌ای به‌ویژه اگر به‌صورت قسمت‌ها و لایه‌های جداگانه تهیه شده‌اند باید نمونه‌های جداگانه از هر بخش برداشت شود. به‌طوری‌که بر اثر اختلاط با یکدیگر آلودگی پخش نشود. سپس همه قسمت‌ها به ظروف جداگانه منتقل شوند.

در تهیه‌ی رقت‌ها و یکنواخت کردن نمونه غذایی رعایت شرایط سترونی الزامی است.

— هرگونه شکل و یا وضعیت غیرعادی نمونه باید یادداشت شود.

— ظروف دارای باقیمانده نمونه‌های جمع‌آوری شده در یخچال یا فریزر برای تکرار آزمایشها نگاه داشته شوند. برای جداسازی و شمارش میکروب‌ها در ماده‌ی غذایی غیرمایع و یا مواد غذایی که دارای لایه‌ی ژلاتینی و خشک هستند نخست باید مخلوطی یکنواخت از ماده‌ی غذایی در محیط مایع تهیه شود سپس رقت‌های لازم از آن بدست آید. برای این منظور ماده‌ی غذایی باید خرد شود ولی هنگام خرد کردن آن و تهیه مخلوط اولیه باید به نکات زیر توجه داشت:

مدت عمل خرد کردن نباید طولانی شود زیرا باعث بالا رفتن دما و در نتیجه از بین رفتن بعضی از باکتری‌ها خواهد شد، همچنین سرعت بیش از حد مخلوط کن ممکن است باعث آسیب مکانیکی و در نتیجه از بین رفتن باکتری‌ها گردد و در شمارش تعداد باکتری‌ها باعث اشتباه شود، کم‌بودن زمان مخلوط کردن باعث می‌شود که تمامی میکروب‌های موجود در ماده‌ی غذایی در محیط آزاد نشود. چون در هنگام خرد کردن ماده‌ی غذایی خطر انتشار میکروب‌های بیماریزا در هوا وجود دارد باید این عمل در زیر هود انجام گیرد.

### ۳-۹- روش رقیق کردن نمونه

در بسیاری موارد میزان آلودگی در نمونه موردنظر در حد بالایی قرار دارد لازم است قبل از کشت دادن نمونه در محیط کشت آن‌را با رقیق‌کننده‌های استریل به نسبت معین رقیق نمود تا بتوان براحتی و با دقت بیشتر آلودگی موجود در نمونه را تعیین کرد. این عمل در اساس به‌خاطر این است که برابر استاندارد بین‌المللی بعد از کشت نمونه‌ها در محیط کشت و قرار گرفتن محیط‌ها به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در اینکوباتور با دمای معین، تعداد پرگنه‌های ناشی از تکثیر میکروارگانیسم‌های موجود در نمونه می‌باید در حد ۳۰ تا ۳۰۰ قرار داشته باشد. محلول‌های رقیق‌کننده متداول عبارت‌اند از: آب مقطر استریل، سرم فیزیولوژی، محلول سیلین (محلول ۹ گرم در لیتر نمک طعام) و محلول رینگر.

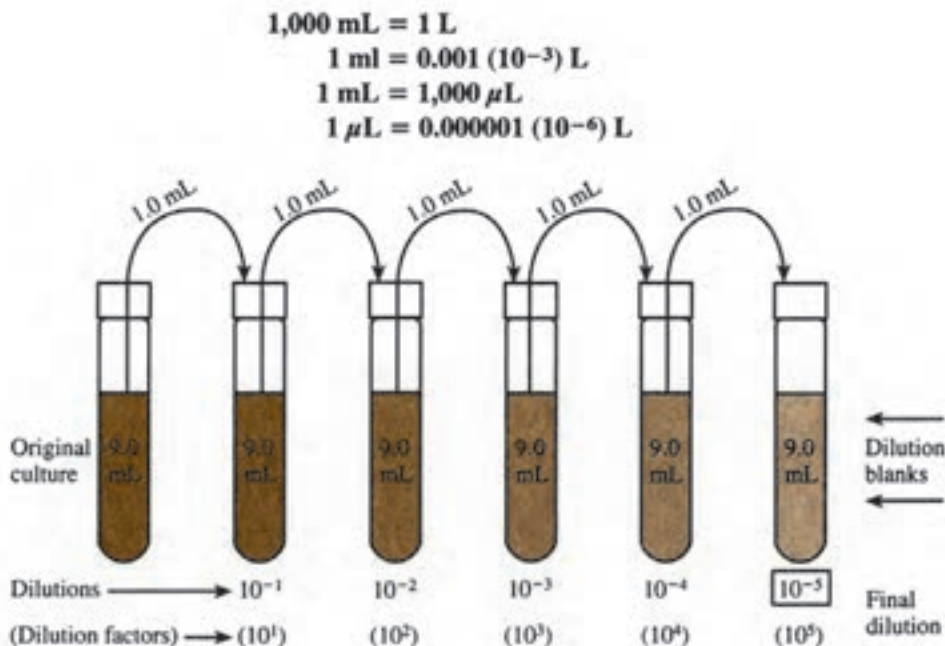
این مواد علاوه بر رقیق‌کنندگی نمونه مورد آزمایش دو نقش اساسی دیگر نیز دارا می‌باشند:

۱- جدا کردن میکروارگانیسم‌های موجود در نمونه از آن و هدایت آن‌ها به داخل رقیق‌کننده سترون شده.

۲- جدا و پراکنده نمودن میکروارگانیسم‌ها از یکدیگر.

بدین ترتیب هنگامی که از محلول‌های رقیق‌کننده عمل کشت دادن در محیط‌های جامد (در پتری‌دیش) صورت می‌گیرد، میکروارگانیسم‌های موجود در نمونه با وضعیت مناسب و شرایط آماده‌تری شروع به تغذیه و رشد و تکثیر می‌نمایند.

**طرز رقیق کردن:** ابتدا ظرف خالی و سترون مخلوط‌کن را توزین کرده، ۱۰ گرم از نمونه یکنواخت شده را داخل آن وزن می‌کنند. ۹۰ میلی‌لیتر رقیق‌کننده‌ی آب پیتونه یا بافر فسفات به آن افزوده و مخلوط‌کن را با سرعت کم راه می‌اندازند و سرعت را به صورت یکنواخت افزایش داده، مدت ۱-۲ دقیقه با سرعت بالا عمل مخلوط کردن را ادامه می‌دهند تا مخلوطی یکنواخت از نمونه با رقت یک‌دهم بدست آید. برای رقیق کردن نمونه مورد آزمایش ابتدا به تعداد لازم لوله‌های حاوی ۹ میلی‌لیتر مایع رقیق‌کننده را به ترتیب با  $\frac{1}{10}$ ،  $\frac{1}{100}$ ،  $\frac{1}{1000}$  و ... مشخص کرده سپس به کمک پیپت



شکل ۲-۳- مراحل رقیق کردن نمونه‌های آزمایشگاهی

یک میلی لیتر از رقت (نمونه‌های مایع) یا از رقت  $\frac{1}{10}$  (نمونه‌های جامد) برداشته، به اولین لوله حاوی مایع رقیق کننده بیفزایید و چندبار با پرو خالی کردن پیست آن را هم بزنید. سپس با یک پیست یک میلی لیتری دیگر، یک میلی لیتر از آن را به دومین لوله‌ی حاوی محلول رقیق کننده اضافه کنید و به همین ترتیب عمل رقیق کردن را تا بیشترین رقت مورد نظر ادامه دهید ( $\frac{1}{1000000}$  یا بیشتر و یا کمتر) باید دقت داشت که هر پیست فقط در یک رقت فرو رود و هرگز با رقت‌های دیگر تماس پیدا نکند ولی چنانچه کشت یک رقت، در چند محیط مورد نظر باشد می‌توان از یک پیست استفاده کرد. کلیه عملیات رقیق کردن باید در کنار شعله در شرایط سترونی صورت گیرد.

## خودآزمایی

- ۱- نمونه و نمونه‌ی اولیه را تعریف کرده، طرز تهیه‌ی آن‌ها را بنویسید.
- ۲- از مایعات منجمد چگونه نمونه برداری می‌شود؟
- ۳- ویژگی ظروف نمونه برداری را بنویسید.
- ۴- از آب‌های ساکن مثل مخازن و چاه و ... چگونه نمونه برداری می‌شود؟
- ۵- نمونه‌ای از آب محل زندگی خود را تهیه کنید و همراه با گزارش به آزمایشگاه تحویل دهید.
- ۶- طرز آماده کردن نمونه‌های منجمد در آزمایشگاه چگونه است؟
- ۷- به هنگام خرد کردن نمونه‌ی مواد غذایی جامد رعایت چه نکاتی الزامی است؟
- ۸- روش رقیق کردن نمونه‌های مختلف را توضیح دهید.
- ۹- محلول‌های رقیق کننده را نام برده، خواص دیگر آن‌ها را بنویسید.
- ۱۰- قبل از باز کردن درب ظروف نمونه برداری شده، رعایت چه نکاتی الزامی است؟
- ۱۱- نحوه‌ی نمونه برداری از بودر تخم مرغ را توضیح دهید.
- ۱۲- نمونه برداری از گوشت خام منجمد چگونه انجام می‌گیرد؟
- ۱۳- هنگام نمونه برداری شیر از ظروف بزرگ به چه مواردی باید دقت نمود؟
- ۱۴- چرا نمونه برداری از شیر خشک باید خیلی سریع انجام گیرد؟
- ۱۵- چرا برای جابه‌جایی و نگهداری نمونه‌ها از وسایلی مانند یخدان، یخچال یا فریزر استفاده می‌شود؟