
MAGYAR ÉLELMISZERVIZSGÁLATI MÓDSZEREK

MÓDSZERLAP

Lisztek mezofil aerob spóraszámának meghatározása

1. A módszer elve

Az élő mikrobaszám-meghatározás alapelve, hogy a mintából vett meghatározott mennyiségű vizsgálati anyagot hígítóoldattal ismert arányban felhígítjuk. Az így nyert alapsuszpenzióban jelenlévő mikroorganizmusok folyékony tápoldatba oltva és elszaporítva a növekedés jeleit mutatják.

A mezofil aerob spóraszámot MPN-módszerrel, TGE tápoldatban, 30 °C hőmérsékleten 3 napig tartó tenyésztés után határozzuk meg.

2. Vegyszerek

Tripton (tripszinnel bontott kazein, pl. Tripton, Trip casin)

Élesztőkivonat (pl. Cellamin)

Glükóz

Nátriumhidroxid

Nátriumklorid

Sósav

A tápközegek készítéséhez analitikai tisztaságú vegyszereket kell felhasználni. Az oldatokat desztillált vízzel kell készíteni. Az oldatok és a tápközegek pH-értékét 1 mól/l-es nátriumhidroxid, ill. 1 mól/l-es sósav oldattal kell beállítani pH-mérő készülék alkalmazásával. A tápközegek pH-értékét úgy kell beállítani, hogy az a sterilizálás után 25 °C hőmérsékleten érje el a leírásban megadott értéket.

A hígító oldat összetétele és elkészítése

Összetétel: tripton 1,0 g
nátriumklorid 8,5 g
desztillált víz 1000,0 cm³
pH = 7,0 ± 0,1

Elkészítés: a komponenseket a desztillált vízben feloldjuk és az oldat pH-ját beállítjuk.

Sterilizálás: 121 °C hőmérsékleten 15 percig.

Tárolhatóság: 4 °C hőmérsékleten 2 hétig.

A tápközeg összetétele és elkészítése

Tripton-glükóz-élesztőkivonat (TGE) tápoldat

Összetétel: tripton 5,0 g
élesztőkivonat 2,5 g
glükóz 1,0 g
desztillált víz 1000,0 cm³
pH = 7,0 ± 0,1

Elkészítés: a komponenseket desztillált vízben feloldjuk és az oldat pH-ját beállítjuk, majd kb. 10 cm³-enként kémcsövekbe adagoljuk.
Sterilizés: 121 °C hőmérsékleten 15 percig.
Tárolhatóság: 4 °C hőmérsékleten 4 hétig.

3. Eszközök

A szokásos mikrobiológiai laboratóriumi felszerelések.

4. A minta előkészítése

4.1. A laboratóriumi minta előkészítése

A mikrobiológiai vizsgálatokhoz a mintavétel általános előírásainak betartásával (aszéptikus körülmények, steril eszközök és edényzet) kell a laboratóriumi mintát venni.

4.2. Az alapszuspenzió készítés

Az alapszuspenzió készítéséhez 10 g vizsgálati anyagot használunk fel. A vizsgálati anyagot steril 250 cm³-es lombikba mérjük be, amelyhez 90 cm³ hígító oldatot adunk. A homogenizálás 3 percig tartó kézi rázással történik. Az így nyert alapszuspenziót (1:10 arányú alaphígítás = 10⁻¹ hígítás) szobahőmérsékleten 10 percig ülepedni hagyjuk.

4.3. Hőkezelés

A 10 percig ülepitett alapszuspenzió folyadék fázisából 10 cm³-nyi mennyiséget kémcsőbe pipettázunk úgy, hogy a pipettáról ne kenődjön szuszpenzió a kémcső falára. Az alapszuspenziót tartalmazó kémcsövet ezután 82 °C hőmérsékletű vízfürdőbe helyezzük úgy, hogy a víz szintje 2–3 cm-rel magasabb legyen, mint a kémcsőben lévő szuszpenzió szintje. Egyidejűleg 10 cm³ vizet tartalmazó, hőmérővel ellátott ún. ellenőrző kémcsövet is a vízfürdőbe helyezünk. A hőkezelési időt attól az időponttól számoljuk, amikor a kémcsőben levő víz hőmérséklete a 80 °C hőmérsékletet elérte. A 10 perces hőkezelés után a kémcsöveket azonnal csapvízzel lehűtjük.

4.4. A hígítási sor készítése

A steril hígító oldatból aszeptikus körülmények között 9–9 cm³-eket kémcsövekbe adagolunk. A hőkezelt alapszuspenzióból (10⁻¹ hígítás) tízes alapú hígítási sort készítünk. Az alapszuspenzióból 1 cm³-t a 9 cm³ steril hígító oldatot tartalmazó kémcsőbe pipettázunk, majd a szuszpenziót alaposan homogenizáljuk (ez lesz a 10⁻² hígítás). Az így hígított szuszpenzióból 1 cm³-t újabb 9 cm³ hígító oldatot tartalmazó kémcsőbe pipettázunk (ez lesz a 10⁻³ hígítás). Ezt a műveletet addig végezzük, amíg a kellő mértékű hígítást elérjük, azaz MPN-eljárásnál a hígított szuszpenzió 1 cm³-e várhatóan már élő sejtet nem tartalmaz. A hígítási sor készítése és a tápoldatba való beoltás között maximum 15 perc telhet el.

5. A vizsgálat végrehajtása

5.1. Leoltási eljárás

A hőkezelt alapszuspenzióból és a hígítási sor tagjaiból – hígításonként – 3 tápoldatot tartalmazó kémcsőbe oltunk 1–1 cm³-t.

5.2. *Tenyésztési eljárás*

A tenyésztés hőmérséklete 30 °C, időtartama 3 nap.

5.3. *Értékelés*

Az előírt tenyésztési idő letelte után az opálosodást, zavarosodást, gyűrű vagy hártya képződést mutató pozitív csövek alapján a Hoskins-táblázat segítségével állapítjuk meg a termék 1 g-jára vonatkoztatott spóraszámot, a hígítás mértékének figyelembevételével.

6. **Az eredmények kiszámítása**

A mezofil aerob spóraszámot a vizsgálati anyag 1 grammjára vonatkoztatva adjuk meg. Ha a spóraszám az egységnyi mennyiségben 10-nél kevesebb, akkor az eredményt numerikusan (pl. 5 db/g), ha 10-nél több, akkor normál alakban (pl. $2,3 \cdot 10^3$ db/g) közöljük. Ha mikrobafejlődés nem tapasztalható, az eredményt a következőképpen adjuk meg:

A vizsgált mikroorganizmust a termék 1 grammjában nem lehetett kimutatni.

7. **A mérés pontossága**

A módszer ismételhetősége: 0,6

A módszer összehasonlíthatósága: 0,7

(Mindkét érték tizes alapú logaritmusban van megadva.)

8. **Megjegyzés**

9. **Forrásmunkák**

9.1. *A módszer előkészítője*

Állategészségügyi és Élelmiszer Ellenőrző Központ

9.2. *A körvizsgálatban résztvevők*

Baranya megyei, Bács-Kiskun megyei, Békés megyei, Borsod-Abauj-Zemplén megyei, Csongrád megyei, Fejér megyei, Győr-Sopron megyei, Hajdu-Bihar megyei, Heves megyei, Komárom megyei, Nógrád megyei, Somogy megyei, Szabolcs-Szatmár megyei, Szolnok megyei, Vas megyei, Veszprém megyei, Zala megyei és Fővárosi Állategészségügyi és Élelmiszer Ellenőrző Állomás, valamint az Állategészségügyi és Élelmiszer Ellenőrző Központ.

9.3. *A jóváhagyás időpontja*

1984. január

10. **Irodalom**

MSZ 3640

MSZ 6369

ISO 5725