

### Lisztek penész-számának meghatározása

#### 1. A módszer elve

Az élő mikrobaszám meghatározás alapelve, hogy a mintából vett meghatározott mennyiségű vizsgálati anyagot hígító oldattal ismert arányban felhígítjuk. Az így nyert szuszpenzióban jelenlevő mikrobák szilárd táptalajba oltva és elszaporítva telepeket képeznek.

A lisztekben előforduló penészgombák egy vagy több sejtű, mikroszkópikus méretű fonalas gombák, amelyek aerob körülmények között tenyésztve hifafonalak szövedékéből álló, szabad szemmel látható telepet, úgynevezett micéliumot képeznek. A telepek a konídiumok képződésekor 2–5 nap alatt elszíneződnek, zöld, sötétzöld, fekete, sárgás-zöld stb. színűvé válnak.

A penész-számot vékony lemezöntéses módszerrel, Oxitetraciklin – glükóz – agar (OGA) táptalajon,  $22 \pm 1$  °C hőmérsékleten, 3–5 napig tartó tenyésztés után határozzuk meg.

#### 2. Vegyszerek

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

Élesztőkivonat (pl. Cellamin)

Glükóz

Agar-agar

Nátrium-klorid

A tápközegek készítéséhez analitikai tisztaságú vegyszereket kell felhasználni. Ha nincs külön feltüntetve, úgy a vegyszerek vízmentesnek értendők.

Az oldatokat desztillált vízzel kell készíteni.

Az oldatok és tápközegek pH értékét 1 mól/l-es nátrium-hidroxid, illetőleg 1 mól/l-es sósav oldattal kell beállítani pH mérő készülék alkalmazásával. A tápközeg pH értékét úgy kell beállítani, hogy az a sterilizálás után 25 °C hőmérsékleten érje le a leírásban közölt értéket.

A táptalajok készítéséhez szükséges agar mennyiségét ennek gélképző tulajdonsága határozza meg. A táptalajoknál megadott mennyiség a vizsgálati gyakorlat alapján középértéknek felel meg.

### *A hígító oldat összetétele és készítése*

Peptonos fiziológiás só oldat

Összetétel: tripton 1,0 g  
nátrium-klorid 8,5 g  
desztillált vízzel 1000 cm<sup>3</sup>-re töltve  
pH = 7,0 ± 0,1

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

Sterilizés: 121 °C hőmérsékleten 15 perc időtartamig.

Tárolhatóság: 4 °C hőmérsékleten 2 hétig.

### *A tápközeg összetétele és készítése*

Oxitetraciklin – glükóz – agar (OGA) táptalaj

Összetétel: glükóz 20,0 g  
élesztőkivonat 5,0 g  
oxitetraciklin 0,1 g, vagy  
klóramfenikol 0,1 g  
agar-agar 15,0 g  
desztillált vízzel 1000 cm<sup>3</sup>-re töltve  
pH = 7,0 ± 0,1

Elkészítés: a komponenseket az antibiotikum kivételével desztillált vízben melegítéssel oldjuk.

Sterilizés: 115 °C hőmérsékleten 30 perc időtartamig.

Az antibiotikumot közvetlenül a lemezöntés előtt adjuk a 46–48 °C hőmérsékletű táptalajhoz. Az oxitetraciklint az adagolás előtt 1–2 cm<sup>3</sup> steril vízben, a klóramfenikolt 1–2 cm<sup>3</sup> acetonban oldjuk.

Tárolhatóság: az antibiotikumot tartalmazó táptalaj nem tárolható.

## **3. Eszközök**

A szokásos mikrobiológiai laboratóriumi felszerelés.

## **4. A minta előkészítése**

### *4.1. A laboratóriumi minta előkészítése*

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

### *4.2. Az alapszuspenzió készítése*

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

### *4.3. A hígítási sor készítése*

A steril hígító oldatból aszeptikus körülmények között 9 cm<sup>3</sup>-eket kémcsövekbe adagolunk.

Az alapszuspenzióból ( $10^{-1}$  hígítás) tizes alapú hígítási sort készítünk. Az alapszuspenzióból  $1\text{ cm}^3$ -t  $9\text{ cm}^3$  steril hígító oldatot tartalmazó kémcsőbe pipettázunk majd a szuspenziót alaposan homogenizáljuk ( $10^{-2}$  hígítás). Az így hígított szuspenzióból  $1\text{ cm}^3$ -t újabb  $9\text{ cm}^3$  hígító oldatba pipettázunk ( $10^{-3}$  hígítás).

E műveletet addig végezzük, amíg a kellő mértékű hígítást elérjük, azaz lemezöntéses eljárásnál a hígított szuspenzió  $1\text{ cm}^3$ -e 100-nál kevesebb élő sejtet tartalmaz. A hígítási sor készítése és a táptalajra való oltás között maximum 15 perc telhet el.

## 5. A vizsgálat végrehajtása

### 5.1. Leoltási eljárás

Az alapszuspenzióból és a hígítási sor tagjaiból  $1-1\text{ cm}^3$ -t aszeptikus körülmények között steril Petri-csészékbe pipettázunk hígítási fokként két-két párhuzamosban. Ezután a megolvasztott és  $46-48^\circ\text{C}$  hőmérsékletre lehűtött OGA táptalajból  $10-12\text{ cm}^3$ -t öntünk a Petri-csészébe. A mikrobaszuspenziót tartalmazó még folyékony táptalajt alaposan elkeverjük az asztal lapján való óvatos körkörös csúsztató mozgattal. A táptalaj megszilárdulása után – lehetőleg lamináris boxban történő egyidejű szikkasztás mellett – a Petri-csészét megfordítjuk és termosztátba tesszük.

A lemezek megfordítása azért szükséges, hogy a frissen öntött táptalajok felületére lecsapódó víz ne mossa össze a telepeket és hogy elősegítsük a különálló telepek kialakulását és így az értékelést.

### 5.2. Tenyésztési eljárás

A termosztálás hőmérséklete  $22\pm 1^\circ\text{C}$ , az időtartama a termék típusától és a penészgomba fajtól függően 3–5 nap.

### 5.3. Értékelés

Az előirt tenyésztési idő letelte után megszámláljuk a lemezeken kifejlődött mikrobatelepeket. Azok a lemezek értékelhetők, amelyek területének legalább a felén különálló (szoliter) telepek fejlődtek ki, továbbá amelyeken  $10-50$  telep található. Ha az értékelést a hígítás valamelyik tagjából beoltott lemezekkel végezzük, a telepek számát besorozzuk a hígítási fokkal.

## 6. Az eredmény kiszámítása

Az értékelés során Petri-csészénként megszámlált és a megfelelő hígítási fokkal beszorozott penész-számokat a vizsgálati anyag 1 g-jára vonatkoztatva adjuk meg. Az így kapott  $2-2$  párhuzamos eredmény számtani átlagát képezzük. Ez az átlagérték adja a minta penész-számát.

Ha a mikrobaszám az egységnyi mennyiségben  $10$ -nél kevesebb, az eredményt numerikusan adjuk meg: pl.  $2\text{ db/g}$ . Ha a mikrobaszám  $10$ -nél nagyobb, akkor a meghatározott mikrobaszámot normál alakban adjuk meg: pl.  $2,1 \cdot 10^2\text{ db/g}$ .

Ha mikrobafejlődés nem tapasztalható, az eredményt a következőképpen közöljük:

A vizsgált mikrobát a termék  $1\text{ g}$ -jában nem lehetett kimutatni.

## 7. A mérés pontossága

A módszer ismételtetősége: 0,32

A módszer összehasonlíthatósága: 0,45

Mindkét érték 10-es alapú mikrobaszámban van megadva.

## 8. Megjegyzés

### 9. Forrásmunkák

#### 9.1. A módszer előkészítője:

Állategészségügyi és Élelmiszer Ellenőrző Központ

#### 9.2. A körvizsgálati résztvevők

Békés megyei-, Fejér megyei-, Győr-Sopron megyei-, Hajdú-Bihar megyei-, Nógrád megyei-, Somogy megyei-, Szabolcs-Szatmár megyei-, Szolnok megyei-, Vas megyei-, Veszprém megyei- és Fővárosi Állategészségügyi és Élelmiszer Ellenőrző Állomás, valamint Állategészségügyi és Élelmiszer Ellenőrző Központ.

#### 9.3. A jóváhagyás időpontja

1982. július 22.

## 10. Irodalom

MSZ 3640

MSZ 6369

ISO 5725