

## Veszélyes hulladékok vizsgálata – Mikrobiológiai vizsgálatok

### Az összcsíraszám meghatározása

#### Az MSZ 21978-53 számú szabvány alapján

##### Mintavételi előírások:

A mintákat a helyszínen 250 cm<sup>3</sup>-es, előre sterilizált porüvegekbe töltjük sterilizált fémkanállal vagy fémlapáttal. A minta mennyisége 150-250 g legyen.

A mintákat tartalmazó porüvegeket fémtokba helyezzük és hűtőtáskában tárolva szállítjuk a vizsgáló laboratóriumba, és ott hűtőszekrényben +4 °C-on tároljuk. A minták feldolgozását 48 órán belül el kell kezdeni.

A kvantitatív mikrobiológiai vizsgálatok eredményeit 1 g hulladékra átszámítva adjuk meg.

##### *Szükséges eszközök, anyagok:*

Porüveg, 250 cm<sup>3</sup>-es, alumíniumfóliával borított üveg dugóval; fémtok, a 250 cm<sup>3</sup>-es porüveg befogására; fémkanál, leégethető kivitelben; fémlapát, leégethető kivitelben; turista gázpalack vagy azzal egyenértékű berendezés az eszközök leégetéséhez; hűtőtáska

##### Vizsgálati körülmények:

A hulladékminták vétele és laboratóriumi feldolgozása során a hulladékokkal és a mikroorganizmusok tenyésztésére használt táptalajokkal érintkező üvegeket, eszközöket, készülékeket, műszereket és azok tartozékait sterilizálni kell.

##### *Szükséges eszközök, készülékek:*

Erlenmeyer-lombik, botpipetta, automata pipetta, Petri-csésze, kémcső, szintelen porüveg, lombikok (táptalajkészítéshez), Durham-cső (gázbetétcső), üvegbot (hajlított)

##### *Szükséges készülékek:*

Termosztátok, hűtőszekrények, autoklávok, arnold-szekrény (az áramló gőzben való sterilizáláshoz), vízfürdő, rázógép kémcsőrázó, telepszámláló készülék, hűtőtáska jégakkumulátorral, hőmérők (tizedes beosztással), UV-fényforrás

### **Lemezöntéses módszer - mikroorganizmusok számlálására**

A vizsgálat során a hulladékminta hígításaiból párhuzamosan Petri-csészékbe pipetázunk, majd felolvasztott táptalajjal elkeverjük. A mikroorganizmusok szaporodásuk révén a megszilárdult táptalajban kolóniákat hoznak létre, amelyek kellően megválasztott hígítások esetén jól számolhatók. Az értékelhető hígítások párhuzamos feldolgozásával nyert kolóniaszámokból számolhatunk vissza a kiindulási hulladékminta mikroorganizmusszámára.

##### *Az eljárás:*

I. 5 g hulladékot 45 cm<sup>3</sup> steril hígítófolyadékot tartalmazó Erlenmeyer-lombikba mérünk, majd kémcsőrázóval vagy mágneses keverővel elegyítjük (tízszoros hígítás).

II. Az I-es elegyből 1 cm<sup>3</sup>-t adunk 9 cm<sup>3</sup> hígítófolyadékhoz (százszoros hígítás)

III. Az II-es elegyből 1 cm<sup>3</sup>-t adunk 9 cm<sup>3</sup> hígítófolyadékhoz (ezres hígítás)

IV. Az III-es elegyből 1 cm<sup>3</sup>-t adunk 9 cm<sup>3</sup> hígítófolyadékhoz tízszoros hígítás)

V. Az IV-es elegyből 1 cm<sup>3</sup>-t adunk 9 cm<sup>3</sup> hígítófolyadékhoz (százezres hígítás)

VI. Az V-ös elegyből 1 cm<sup>3</sup>-t adunk 9 cm<sup>3</sup> hígítófolyadékhoz (egymilliószoros hígítás)

A hígítási sorozat tagjaiból hígításonként legalább egy párhuzamosban 1-1 ml-t előzetesen felolvasztott és 45-50 °C-ra lehűtött 20 cm<sup>3</sup> térfogatú steril táptalajjal steril Petri-csészékben elkeverünk.

Az egyes hígításokat és a Petri-csészékbe végzett pipettázásokat minden esetben új pipettával kell elvégezni. A hulladékminta várható mikroorganizmustartalma alapján csökkenthető, illetve növelhető a vizsgált hígítások száma.

Az inkubáció utáni telepszámlálásra azokat az egymást követő hígítási fokokat használjuk fel, amelyek esetén a lemezenkénti telepszám jól értékelhető és 20-200 között van. Az értékelhető Petri-csészék adatait figyelembe véve a kiindulási minta mikroorganizmusszámát a következőképpen határozzuk meg.

E szerint:

$$x = (C_1 + C_2 + C_3 + C_4) / (p_1h_1 + p_2h_2 + p_3h_3 + p_4h_4) = C_i / P_ih_i$$

ahol:

- x 1 g kiindulási minta mikroorganizmusszáma;
- C az egyes Petri-csészében leolvasott telepszám;
- P az értékelt hígításhoz használt párhuzamosok (Petri-csészék) száma;
- h az értékelt hígítás mértéke.

## **Az összcsíraszám meghatározása**

### Szükséges táptalaj:

Nutrient-agar táptalaj:

összetétele: húskivonat 1 g; élesztőkivonat 2 g; pepton 5 g; agar 12 g; víz 1000 cm<sup>3</sup>. A pH-t 7,4-re állítjuk be, majd 121 °C-on 20 percig sterilizáljuk. Lehűlés után a táptalajt Petri-csészék-be fejtjük.

### Vizsgálat menete:

- a hígítási sorozat készítése;
- a nutrient agar lemezek beoltása;
- inkubáció;
- telepszámlálás.

A hígítási sorozat elkészítése után a fenti lemezöntéses módszer szerint elvégezzük a lemezöntést a hulladékminta hígításaiból. A Petri-csészéket 28 °C-on inkubáljuk, majd a lemezöntéses módszer szerint meghatározzuk a kiindulási minta 1 g-ra számított összcsíraszámát. A vizsgálati módszerrel azonos módon az összcsíraszám meghatározható más hőmérsékleten 20 °C-on, 46 °C-on, 55 °C-on, illetve anaerob körülmények között is.