

Veszélyes hulladékok vizsgálata – Mikrobiológiai vizsgálatok

Clostridium-szám meghatározása

Az MSZ 21978-53 számú szabvány alapján

Mintavételi előírások:

A mintákat a helyszínen 250 cm³-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 cm³-es, alumíniumfóliával borított üveg dugóval; fémtok, a 250 cm³-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 cm³ steril hígítófolyadékot tartalmazó Erlenmeyer-lombikba mérünk, majd kémcsőrázóval vagy mágneses keverővel elegyítjük (tízszoros hígítás).

II. Az I-es elegyből 1 cm³-t adunk 9 cm³ hígítófolyadékhoz (százszoros hígítás)

III. Az II-es elegyből 1 cm³-t adunk 9 cm³ hígítófolyadékhoz (ezres hígítás)

IV. Az III-es elegyből 1 cm³-t adunk 9 cm³ hígítófolyadékhoz tízszoros hígítás)

V. Az IV-es elegyből 1 cm³-t adunk 9 cm³ hígítófolyadékhoz (százezres hígítás)

VI. Az V-ös elegyből 1 cm³-t adunk 9 cm³ hígítófolyadékhoz (egymilliószoros hígítás)

A hígítási sorozat tagjaiból hígításonként legalább egy párhuzamosban 1-1 ml-t előzetesen felolvasztott és 45-50 °C-ra lehűtött 20 cm³ 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.

A Clostridium-szám meghatározása

Szükséges táptalajok:

- Wilson-féle bizmutmentes táptalaj

Vizsgálat menete:

- a hígítási sorozat készítése;
- lemezöntés Wilson-féle bizmutmentes táptalajjal;
- inkubáció;
- telepszámlálás.

1 g hulladékot 39 cm³ steril hígítófolyadékkal kémcsórázóval összekeverünk, majd 40 cm³ Wilson-féle bizmutmentes táptalajjal elegyítjük, és 150 mm átmérőjű Petri-csészében öntjük ki (alap). A további hígításokat szintén 40-40 cm³ táptalajjal együtt öntjük ki Petri-csészékbe. 1 g hulladék és 39 cm³ steril hígítófolyadék elegyéből rázás után 4 cm³-t 36 cm³ steril hígítófolyadékba mérünk, majd lemezt öntünk (tízszeres hígítás).

A II-es elegy párhuzamos részéből rázás után 4 cm³-t 36 cm³ steril hígítófolyadékba mérünk, majd lemezt öntünk (százszoros hígítás).

A III-as elegy párhuzamos részéből rázás után 4 cm³-t 36 cm³ steril hígítófolyadékba mérünk, majd lemezt öntünk (ezerszeres hígítás)

A IV-es elegy párhuzamos részéből rázás után 4 cm³-t 36 cm³ steril hígítófolyadékba mérünk, majd lemezt öntünk (tízszeres hígítás)

A V-ös elegy párhuzamos részéből rázás után 4 cm³-t 36 cm³ steril hígítófolyadékba mérünk, majd lemezt öntünk (százezer szeres hígítás)

A lemezek öntését a fenti módszer szerint végezzük. A táptalajokat 46 °C-on inkubáljuk 24 óráig. Telepszámláláskor a 3 mm-nél nagyobb átmérőjű fekete telepeket vesszük figyelembe.

A hígítások figyelembevételével a lemezöntéses módszer szerint meghatározzuk a kiindulási minta 1 g-jára számított Clostridium-számot.