

Veszélyes hulladékok vizsgálata – Mikrobiológiai vizsgálatok

Fekális coliform-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 befogadására; 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 (gázbetétső), 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

Csőhígításos (MPN) módszer - mikroorganizmusok számlálására

A vizsgálat során a hulladékmintával és hígításaival párhuzamosan, tápoldatot tartalmazó kémcsöveket oltunk be. Az egyes kémcsövekben pozitív eredményt a tápoldatnak a mikroorganizmusok szaporodása miatti zavarosodása, illetve a vizsgált mikroorganizmuscsoportra az adott tápoldatban jellemző speciális reakciója jelzi. Mikroorganizmust nem tartalmazó hígításokkal beoltott kémcsövekben a tápoldat semmilyen változást nem mutat (negatív eredmény). A kiindulási mintában levő mikroorganizmusok legvalószínűbb száma az adott hígítási fokra és a párhuzamos kémcsövek számára kidolgozott statisztikai táblázatból (ld. lentebb) határozható meg (MPN-szám).

Az eljárás:

I. Ötször 1-1 g hulladékot 5 db, 5 cm³ tápoldatot tartalmazó kémcsőbe mérünk (alap).

II. 5 g hulladékot 45 cm³ steril hígítófolyadékot tartalmazó Erlenmeyer-lombikba mérünk, majd kémcsőrázóval vagy mágneses keverővel elegyítjük és 1-1 cm³ 5 db, 5 cm³ tápoldatot tartalmazó kémcsőbe mérünk (tízszerez hígítás).

- III. II-es elegyből rázás után 1 cm³-t 1 db 9 cm³ steril hígítófolyadékot tartalmazó kémcsőbe mérünk, majd ennek rázása után 1-1 cm³-t mérünk be 5 db, 5cm³ táplodatot tartalmazó kémcsőbe (százszoros hígítás).
- IV. A III-as elegyből rázás után 1 cm³-t 1 db 9 cm³ steril hígítófolyadékot tartalmazó kémcsőbe mérünk, majd ennek rázása után 1-1 cm³-t mérünk be 5 db, 5cm³ táplodatot tartalmazó kémcsőbe (tízezerszeres hígítás).
- V. A IV-es elegyből rázás után 1 cm³-t 1 db 9 cm³ steril hígítófolyadékot tartalmazó kémcsőbe mérünk, majd ennek rázása után 1-1 cm³-t mérünk be 5 db, 5cm³ táplodatot tartalmazó kémcsőbe (tízszeres hígítás).
- VI. Az V-ös elegyből rázás után 1 cm³-t 1 db 9 cm³ steril hígítófolyadékot tartalmazó kémcsőbe mérünk, majd ennek rázása után 1-1 cm³-t mérünk be 5 db, 5cm³ táplodatot tartalmazó kémcsőbe (százszoros hígítás).
- VII. A VI-os elegyből rázás után 1 cm³-t 1 db 9 cm³ steril hígítófolyadékot tartalmazó kémcsőbe mérünk, majd ennek rázása után 1-1 cm³-t mérünk be 5 db, 5cm³ táplodatot tartalmazó kémcsőbe (egymilliószoros hígítás).

Az egyes hígításokat és a táplodatokba való beméréseket minden esetben steril pipettával kell végezni.

A hulladékminta várható mikroorganizmustartalma alapján csökkenthető, illetve növelhető a vizsgált hígítások száma.

Az inkubációs időtartam lejárta után a kémcsövekben a szaporodást értékeljük. Az utolsó 3 pozitív kémcsövet tartalmazó hígítás eredményei alapján az MPN-táblázatból kikeressük az 1 g kiindulási hulladékminta mikroorganizmusszámát.

A fekális coliform-szám meghatározása (MPN-módszerrel)

Szükséges táptalajok:

- Brillantzöld-laktóz-marhaepe bouillon (BLEB) (A kész táplodatot Durham-csővel ellátott normálkémcsövekbe 5 cm³-enként szétmérjük, majd 115 °C-on 30 percig sterilizáljuk.);
- Endo-agar;
- Laktóz-fenolvörös bouillon (LDFVB).

Vizsgálat menete:

- a hígítási sorozat készítése;
- a BLEB-dúsítók beoltása a hulladékmintával és hígításaival;
- inkubáció;
- megerősítő vizsgálatok (Endo és LFVB táptalajon);
- értékelés;
- a fekális coliform-szám megállapítása az MPN-táblázat segítségével (1. táblázat).

A hígítási sorozat elkészítése után az MPN-módszer (ld. lentebb) szerint elvégezzük a BLEB dúsítók beoltását a hulladék mintával és a hígításaival.

A beoltott BLEB-dúsítókat 37 °C-on inkubáljuk. 24 és 48 órás leolvasás után a gáztermelést mutató kémcsövekből Endo-agarra oltunk ki, ritkító élesztéssel. Az Endo-lemezeket 37 °C-on 24 óráig inkubáljuk és a típusos telep morfológiát mutató (sötétpiros, fémfényű telepek)

kioltások száma alapján - tájékoztató jelleggel - az MPN-táblázat segítségével megállapíthatjuk a coliform-számot.

Az Endo-lemezeken típusos telepmorfológiát mutató kioltásokból laktóz-fenolvörös bouillonba (LFVB) végzünk beoltást kaccsal. Az LFVB-csöveket száma alapján az MPN-táblázat segítségével meghatározzuk a kiindulási minta 1 g-ra számított fekális coliform-számát.

Hoskins-féle táblázat a vizsgált minta MPN értékének meghatározásához 5-5 párhuzamos leoltás esetén

Kulcsszámok	A kulcsszámok megfelelő alapértékek	Kulcsszámok	A kulcsszámok megfelelő alapértékek	Kulcsszámok	A kulcsszámok megfelelő alapértékek
000		100	0,2	200	0,45
001	0,18	101	0,4	201	0,68
002	0,36	102	0,6	202	0,91
003	0,54	103	0,8	203	1,2
004	0,72	104	1,0	204	1,4
005	0,9	105	1,2	205	1,6
010	0,18	110	0,4	210	0,68
011	0,36	111	0,61	211	0,92
012	0,35	112	0,81	212	1,2
013	0,73	113	1,0	213	1,4
014	0,91	114	1,2	214	1,7
015	1,1	115	1,4	215	1,9
020	0,37	120	0,61	220	0,93
021	0,55	121	0,82	221	1,2
022	0,72	122	1,0	222	1,4
023	0,92	123	1,2	223	1,7
024	1,1	124	1,5	224	1,9
025	1,3	125	1,7	225	2,2
030	0,56	130	0,83	230	1,2
031	0,74	131	1,0	231	1,4
032	0,93	132	1,3	232	1,7
033	1,1	133	1,5	233	2,0
034	1,3	134	1,7	234	2,2
035	1,5	135	1,9	235	2,5
040	0,75	140	1,1	240	1,5
041	0,94	141	1,3	241	1,7
042	1,1	142	1,5	242	2,0
043	1,3	143	1,7	243	2,3
044	1,5	144	1,9	244	2,5
045	1,7	145	2,2	245	2,8
050	0,94	150	1,3	250	1,7
051	1,1	151	1,5	251	2,0
052	1,3	152	1,7	252	2,3
053	1,5	153	1,9	253	2,6
054	1,7	154	2,2	254	2,9
055	1,9	155	2,4	255	3,2

Kulcsszámok	A kulcsszámok megfelelő alapértékek	Kulcsszámok	A kulcsszámok megfelelő alapértékek	Kulcsszámok	A kulcsszámok megfelelő alapértékek
300	0,78	400	1,4	500	2,3
301	1,1	401	1,7	501	3,1
302	1,3	402	2,1	502	4,3
303	1,6	403	2,5	503	5,8
304	2,0	404	3,0	504	7,6
305	2,3	405	3,6	505	9,5
310	1,1	410	1,5	510	3,3
311	1,4	411	2,1	511	4,6
312	1,7	412	2,6	512	6,4
313	2,0	413	3,1	513	8,4
314	2,3	414	3,6	514	11,0
315	2,7	415	4,2	515	13,0
320	1,4	420	2,2	520	4,9
321	1,7	421	2,6	521	7,0
322	2,0	422	3,2	522	9,5
323	2,3	423	3,8	523	12,0
324	2,7	424	4,4	524	15,0
325	3,1	425	5,0	525	18,0
330	1,7	430	2,7	530	7,9
331	2,1	431	3,3	531	11,0
332	2,4	432	3,9	532	14,0
333	2,8	433	4,5	533	18,0
334	3,1	434	5,2	534	21,0
335	3,5	435	5,9	535	25,0
340	2,1	440	3,4	540	13,0
341	2,4	441	4,0	541	17,0
342	2,8	442	4,7	542	22,0
343	3,2	443	5,4	543	28,0
344	3,6	444	6,2	544	35,0
345	4,0	445	6,9	545	43,0
350	2,5	450	4,1	550	24,0
351	2,9	451	4,8	551	35,0
352	3,2	452	5,6	552	54,0
353	3,7	453	6,4	553	92,0
354	4,1	454	7,2	554	160,0
355	4,5	455	8,1	555	160,0 felett