

MAGYAR ÉLELMISZERKÖNYV
(Codex Alimentarius Hungaricus)
Hivatalos Élelmiszer-vizsgálati Módszergyűjtemény

3-2-1/2004 számú irányelv

A nyers tej árkonzekvens minősítésének mintavételi és vizsgálati módszerei

3. kiadás, 2013.

1. §

1. Ezen irányelv az élelmiszerláncról és hatósági felügyeletéről szóló 2008. évi XLVI törvény 66. § (1) bekezdése alapján a nyers tej árkonzekvens minősítésére vonatkozó ajánlott vizsgálati módszer irányelveket tartalmazza.

2. A módszerek a nyers tej alábbi jellemzőinek vizsgálatára vonatkoznak:

- zsír-, fehérje-, tejcukor- és zsírmentes szárazanyag-tartalom,
- fagyáspont,
- szomatikussejt-szám,
- mikrobaszám,
- antibiotikum- és szulfonamid-tartalom.

2. §

A vizsgálati módszereket az I. mellékletben ismertetett általános követelmények betartásával kell alkalmazni.

3. §

A mintavétel és a vizsgálati módszerek részletes szabályait a II. és a III. melléklet tartalmazza.

I. MELLÉKLET

ÁLTALÁNOS KÖVETELMÉNYEK

1. Bevezetés

Ez a fejezet a reagensekre, az eszközökre, az eredmények megadására, a pontosságra és a vizsgálati jegyzőkönyvre vonatkozó azon általános követelményeket tartalmazza, amelyeket a nyers tej árkonzekvens minősítését végző laboratóriumoknak be kell tartaniuk.

2. Reagensek

2.1 *Víz*

2.1.1. Ha a vizsgálati módszer másképp nem rendelkezik, akkor az oldáshoz, a hígításhoz és a mosáshoz minden esetben desztillált vagy ioncserélt, illetve ezekkel megegyező tisztaságú sótalanított vizet kell használni. A mikrobiológiai vizsgálatokhoz használt víz legyen mentes minden olyan anyagtól, amely az adott vizsgálati körülmények között befolyásolhatja a mikroorganizmusok szaporodását.

2.1.2. Ha nincs másképpen előírva, akkor az „oldáson” és a „hígításon” vizes oldás, illetve vizes hígítás értendő.

2.2. *Vegyszerek*

Ha a vizsgálati módszer másképp nem rendelkezik, akkor valamennyi felhasznált vegyszer analitikai tisztaságú legyen.

3. Eszközök

3.1. *Az eszközök jegyzéke*

A vizsgálati módszerek leírásában megadott eszközlista csak azokat tartalmazza, amelyek speciálisak, illetve különleges felhasználásúak.

3.2. *Analitikai mérleg*

Az „analitikai mérleg” 0,1 mg mérésére alkalmas mérleget jelent.

4. Az eredmények megadása

Ha a vizsgálati módszer másképp nem rendelkezik, akkor a jegyzőkönyvben megadott eredmény egy olyan mérésből, illetve vizsgálatból származó adat, amely kielégíti az adott vizsgálati módszer ellenőrzése során a pontossági követelményeket.

Ha a vizsgálati eredmények az ellenőrzéskor az adott módszer pontosságára vonatkozó követelményeket nem teljesítik, akkor - ha lehetséges - a vizsgálatot meg kell ismételni, ellenkező esetben az eredmény érvénytelen.

5. Teljesítmény jellemzők

A pontosság ismérvei az egyes módszerek vonatkozásában az ismételhetőség, a korrigált tapasztalati szórás, a relatív szórás és az összehasonlíthatóság.

- 5.1. Az ismételhetőség (r) akkor teljesül, ha ugyanazon eljárással ugyanazon mintából ugyanazon feltételek mellett (azonos vizsgáló személy, azonos eszközök, azonos laboratórium és rövid időkülönbség) az előírt számú mérésismétlésből számított átlag és/vagy szórás nem haladja meg az adott módszerre előírt határértéket.
- 5.2. A szórás (SD_r) az ismételhetőségi feltételek mellett kapott eredményekből számított adat.
- 5.3. A relatív szórás (RSD_r) az ismételhetőségi feltételek mellett kapott eredményekből számított adat [$RSD_r = (SD_r / X_{\text{átlag}}) \times 100$, ahol $X_{\text{átlag}}$ a mérésismétlések átlaga], amely százalékban (%), mint relatív hiba fejezhető ki.
- 5.4. Az összehasonlíthatóság (R) akkor teljesül, ha ugyanazon eljárással ugyanazon mintából különböző feltételek mellett (különböző vizsgáló személy, különböző eszközök, különböző vizsgáló laboratóriumok és/vagy eltérő időpontok) az előírt számú mérésismétlésből számított átlag eltérése nem haladja meg az adott módszerre előírt határértéket.
- 5.5. A mérések pontosságát az önellenőrzési kötelezettségen túlmenően a vonatkozó hazai és nemzetközi irányelveknek megfelelően szervezett körvizsgálatokkal is ellenőrizni kell.

6. Vizsgálati jegyzőkönyv

A vizsgálati jegyzőkönyvben meg kell adni a minta egyértelmű azonosítására szolgáló adatokat, az alkalmazott vizsgálati módszert és a vizsgálat eredményét. Meg kell adni továbbá az alkalmazott eljárás minden olyan részletét is, amely nincs rögzítve a vizsgálati módszer leírásában vagy választható. A vizsgálati jegyzőkönyvben fel kell tüntetni azokat a körülményeket, amelyek befolyásolhatták a vizsgálat eredményét.

II. MELLÉKLET

A NYERS TEJ MINTAVÉTELE

1. Tárgy és alkalmazási terület

Ez a leírás megadja a nyers tehén-, juh-, kecske- és bivalytej (a továbbiakban: nyers tej) árkonzekvens minősítése céljából végzett mintavétel módszereit. A leírás nem alkalmazható a tejelő haszonállatok törzskönyvi ellenőrzésére szolgáló mintavételhez, továbbá nem vonatkozik a mintavételt követő laboratóriumi tevékenységekre.

2. Fogalommeghatározások

2.1. *Árkonzekvens nyerstej-minősítés*: a nyers tej meghatározott rendszerességgel végzett fizikai-kémiai és higiéniai-mikrobiológiai vizsgálata a nyers tej külön jogszabályokban előírt minőségének megállapítása céljából.

2.2. *Nyerstej-minősítő laboratórium*: a külön jogszabály által kijelölt olyan akkreditált laboratórium, amely árkonzekvens nyerstej-minősítésre jogosult¹.

2.3. *Illetékes hatóság*: a mintavétel állami felügyeletét ellátó minisztérium által kijelölt szervezet.

2.4. *Tejtétel*: a tejtermelő gazdaságban vagy a tejjűjtőben tárolt, közvetlen fogyasztásra és/vagy feldolgozásra szánt nyers tej.

2.5. *Mintavétel*: az a művelet, amellyel a tejtételből a mintát kiveszik, és eredeti állapotának megőrzése céljából megfelelően kezelik.

2.6. *Minta*: a tejtételből árkonzekvens minősítésre elkülönített rész, amely a mintavételre kijelölt tejtétel egészét reprezentálja.

3. Általános követelmények

3.1. A mintavétel személyi feltételei

A mintavevő személy fertőző betegségekből nem szenvedhet, amelyet a külön jogszabályban meghatározott munka-alkalmassági dokumentummal igazolni köteles.

Mintavételt az a személy végezhet, aki az arra felhatalmazott intézményben szakirányú képzésben vett részt, és eredményes vizsgát tett. Sikeres vizsga esetén a mintavevő az oktatási intézménytől bizonyítványt kap. A mintavevő 5 évente köteles szakirányú továbbképzésen részt venni, és bizonyítványát megújítani. A mintavevők nyilvántartásáról és „Nyerstej mintavevő” feliratú, számozott bélyegzővel való ellátásáról a nyerstej-minősítő laboratórium gondoskodik¹. A mintavevő a mintavételt a nyerstej minősítő laboratórium képviselőjében végzi, ezért a

¹ Jelenleg a Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet Kft. Kutató-Élelmiszervizsgáló és Nyerstej Minősítő Laboratóriuma

mintavétellel összefüggő tevékenységéről a laboratóriumnak tartozik beszámolási kötelezettséggel.

Megjegyzés

A mintavevő személyeket az illetékes hatóság is nyilvántartásba veheti.

3.2. Az érdekelt felek képvisellete

Az érdekelt feleknek, illetve azok képviselőinek biztosítani kell azt a lehetőséget, hogy a mintavételkor jelen lehessenek. A gyakorlatban azonban előfordulhatnak olyan körülmények, amikor a mintavételkor a minta tulajdonosa nincs, vagy nem tud jelen lenni. Egyoldalú mintavétel kizárólag akkor végezhető, ha annak feltételeit a mintavevő és a minta tulajdonosa hivatalos okiratban (pl.: felvásárlási szerződésben) szabályozta. Az egyoldalú mintavétel tényét a mintavételi jegyzőkönyvben fel kell tüntetni.

3.3. A minta zárása és jelölése

A mintát a sértetlenséget és az azonosíthatóságot biztosító módon zárni, illetve jelölni kell.

3.4. A mintavételi jegyzőkönyv

A mintavételről hivatalos jegyzőkönyvet kell felvenni. A jegyzőkönyvben fel kell tüntetni minden olyan adatot, amelyek alapján a mintavétel helye, időpontja és a mintavételben résztvevő személyek azonosíthatók, illetve a mintavétel szabályszerűsége ellenőrizhető.

4. Mintavételi eszközök és anyagok

4.1. A mintavevő személy felszerelése

A mintavételt végző személy felszerelése a következő eszközökből és anyagokból álljon:

- a) merev falú hűtőtáska,
- b) hűtőtáskaként megfelelő számú jégakkumulátor a minták hűtve tárolásához,
- c) a nyerstej-minősítő laboratóriumok által sterilizált, tartósítószerrel (10.1.pont) ellátott műanyag mintatartó edény,
- d) hűtőtáskaként legalább 1 db mintatartó keret,
- e) hőmérő a mintavételre kijelölt tej és a hűtőtáska hőmérsékletének ellenőrzésére,
- f) steril pipetta vagy egyszer használatos fecskendő és tű vagy merítős mintavevő,
- g) zsineg és ragasztószalag a mintatartó edény zárásához,
- h) a mintavevő személyt azonosító számozott bélyegző.

4.2. A mintavételhez szükséges egyéb eszközök és anyagok

A mintavétel helyszínén a mintavételhez a következő eszközöket és anyagokat kell biztosítani:

- a) kézi vagy gépi működtetésű keverők a mintavételre kijelölt tejtétel egyenmősítéséhez,
- b) rozsdamentes acélból vagy a tisztító-fertőtlenítő szereknek ellenálló anyagból készült edény (pl. vödör),
- c) tisztító-fertőtlenítő szerek és eszközök (pl. kefék) a mintavételi pontok előkészítéséhez.

5. A mintavevő eszközök és a mintatartó edények előkészítése

5.1. Általános előkészítési előírások

5.1.1. Az 5.2.1.- és az 5.2.2. pontban előírt módszerrel sterilizett eszközök eredeti, sértetlen csomagolásban, elkülönített, tiszta helyen (pl. szekrényben) 30 napig tárolhatók.

5.1.2. Az 5.2.3., az 5.2.4. és az 5.2.5. pontokban ismertetett eljárások csak akkor alkalmazhatók, ha a mintavevő eszközt az előkészítés után azonnal felhasználják.

5.2. A minta kivételére és tárolására szolgáló eszközök előkészítése

A minta kivételére használt eszközök (pl. pipetta, merítő mintavevő) legyenek tiszták és sterilek. Az eszközök sterilizésére az alábbiakban felsorolt módszerek egyike alkalmazható.

5.2.1. Hőálló anyagba vagy fémdobozba csomagolt eszközök sterilizése 170-175 °C hőmérsékleten hőlég-sterilizátorban legalább 1 órán át.

5.2.2. Hőálló anyagba vagy fémdobozba csomagolt eszközök sterilizése 121±1 °C hőmérsékleten, 100 kPa túlnyomáson, autoklávban legalább 20 percig. A mintavevő eszköz a használatkor legyen száraz.

Ha az 5.2.1. és az 5.2.2. pontokban leírt módszer nem alkalmazható, akkor alternatív eljárásként a következők választhatók.

5.2.3. A mintavevő eszköz 70% (V/V) töménységű etil-alkoholba merítése, majd leégetése átforrósodásig.

5.2.4. A mintavevő eszköz lelángolása úgy, hogy a lánggal az eszköz teljes felülete érintkezzen.

5.2.5. A mintavevő eszköz bemelegítése frissen készített nátrium-hipoklorit-oldatba (aktív klórtartalma legalább 200 mg/l) vagy jodoformoldatba (aktív jódtartalma 40-50 mg/l) vagy ezekkel azonos hatékonyságú, az illetékes hatóság által engedélyezett más fertőtlenítőszerbe legalább 5 perces időtartamra. Ezt követően a fertőtlenítőszer ivóvíz-minőségű vízzel le kell öblíteni. Az eszköz felületén maradt vizet a mintavételre kijelölt tejjel öblítsük le.

5.2.6. A minta tárolására szolgáló, gumidugóval és zárógyűrűvel ellátott műanyag flakonokat a nyerstej-minősítő laboratórium sterilizálja, majd steril körülmények között 0,9 ml tartósítószerrel (10.1. pont) adagol az edénybe. Az így előkészített flakon felhasználható 2-8 °C hőmérsékletű hűtőszekrényben tárolva, az edény tetején bélyegzővel jelzett időpontig.

6. A mintavétel időpontja

A mintavételt a nyerstej-minősítő laboratórium által meghatározott időpontban, az átadás-átvételt megelőzően előkészített tejtételből, az átadás-átvétel időpontjában vagy közvetlenül azt megelőzően kell végrehajtani.

7. A tejtétel egyneműsítése

7.1. Általános előírások

7.1.1. A tejtételt a mintavétel előtt alaposan meg kell keverni. A tej keverése elvégezhető kézi vagy gépi módszerrel, amelyek alkalmazkodjanak:

- a mintavételre kijelölt tejtétel mennyiségéhez,
- a tárolóedény méretéhez és alakjához,
- a tej hőmérsékletéhez,
- ahhoz az időtartamhoz, amíg a tej a keverés előtt nyugalomban volt.

7.1.2. A tej egyneműsítésére használt keverők olyan kialakításúak legyenek, amelyek a tej megfelelő keverését úgy biztosítják, hogy abban fizikai-kémiai vagy higiéniai-mikrobiológiai elváltozást nem okoznak. A tartályok, az edények eltérő mérete és formája miatt nem lehet olyan általános keverőtípust ajánlani, amely valamennyi célra megfelel. A keverőket úgy kell elkészíteni, hogy azok hatékonyan tisztíthatók, fertőtleníthetők legyenek, és a tárolóeszköz belső felületét ne rongálják (pl.: karcolás, horpadás).

7.2. A tej keverése kannában és kisméretű tartályban kézi módszerrel

Kannából vagy kisebb tartályokból végzendő mintavétel előtt a keverőt az edény fenekéig merítve, majd függőleges irányba mozgatva keverjük meg a tejet. A keverőt óvatosan merítsük, és gyorsabb mozdulattal húzzuk felfelé. Ügyeljünk arra, hogy a keverő perforált korongrésze a tej felszínét ne hagyja el. A tej keverését a felfölözött zsírréteg teljes egyneműsítéséig kell folytatni. Az edény falán tejszíngyűrű, illetve a tejben szemmel látható zsírkiválás nem maradhat.

7.3. A tej keverése nagyméretű tartályokban

7.3.1. Nagyméretű tárolótartályokban lévő tej keverése a következő módszerekkel végezhető el:

- a tartályba épített, elektromos motorral meghajtott keverővel,
- a tartály bűvönnyílásába épített elektromos motorral meghajtott keverővel,
- a tej keringtetésével, a tartály szivattyújának és csővezetékeinek segítségével.

7.3.2. A tejet a kívánt homogenitás eléréséig kell keverni. Ha a tárolóeszközben lévő tej mennyisége nem elegendő a gépi keveréshez (7.3.1. pont), a keverést kézi módszerrel kell elvégezni (7.2. pont).

7.3.3. A mintavételre kijelölt tejtétel akkor tekinthető homogénnek, ha

- nyitott tárolótartály esetében a tartály különböző pontjairól vett részminták zsírtartalma közötti különbség nem haladja meg a 0,1%-ot,
- zárt tárolótartály esetében a különböző keverési idők után vett részminták zsírtartalma 0,1%-nál nagyobb mértékben nem tér el egymástól.

7.3.4. Olyan nagyméretű tartályok esetében (pl. silók), amelyeknek alsó kivezető nyílása van, a keverés után a csapnál „pangó”, keveretlen tej maradhat vissza, ami a tételt nem reprezentálja. Ha a mintát a kivezető nyílásnál veszik, ezt a tejet a mintavétel előtt le kell engedni.

8. Mintavételi eljárások

A mintát közvetlenül a tejtétel megkeverése után, a még mozgásban lévő tejből kell venni. A minta mennyiségét a nyerstej-minősítő laboratórium határozza meg.

Megjegyzés

Az árkonzekvens nyerstej-minősítés céljára vett minta mennyisége jelenleg 100 ± 10 ml.

8.1. Kézi mintavétel

8.1.1. Mintavétel nyitható fedelű tárolóeszközökből

Nyitható fedelű tárolóeszközökből a mintát közvetlenül a tej felszínéről kell kivenni. Ha a tej felszíne valamilyen ok miatt (pl. kis mennyiségű tej nagy térfogatú tartályban) nem érhető el, és a minta csak a tárolóeszköz leeresztő csapján keresztül vehető ki, akkor a csapot a mintavétel előtt a 8.1.2. pont szerint elő kell készíteni. Nagy felületű tartályok esetében a mintát a tartály több pontjáról vegyüek ki.

8.1.2. Mintavétel zárt tárolóeszközökből

Zárt tárolóeszközökből végzendő mintavétel előtt a mintavételi pontot (pl. leeresztő szelep, mintavételi csap) tisztító-fertőtlenítőszerrel (5.2.5. pont) alaposan le kell mosni. A tisztító-fertőtlenítő szer maradványait ivóvíz-minőségű vízzel gondosan öblítsük le, majd egy megfelelő tisztaságú edénybe (pl. vödörbe) engedjünk ki 10-15 liter tejet abból a célból, hogy a mintavételi pontról az öblítővizet is eltávolítsuk. Ezt a tejet tegyük félre, abból mintát venni tilos! A mintát a következő leeresztésből származó tejből kell venni.

Megjegyzés

Ha a tárolóeszközt felszerelték biztonságosan megközelíthető felső bűvónyílással, akkor a minta a bűvónyíláson át is vehető.

8.2. Arányos mintavétel több tejtételből

Amikor a mintavételre kijelölt tejtétel több tartályban van, és az egyes tartályokban található tejet külön-külön nem kell megvizsgálni, arányos mintavételt kell végezni. A tej keverése és a mennyiségek feljegyzése után mindegyik tartályból reprezentatív részmintát kell venni. A részmintákat a tartályokban lévő tej összes mennyiségéhez viszonyított arányban kell venni, és ezek egyneműsített elegyből kell kivenni az előírt mintamennyiséget.

8.3. Automata vagy félautomata mintavétel

A nyers tej mintavételéhez kizárólag azok az automata és félautomata mintavevők (továbbiakban: mintavevők) használhatók, amelyek teljesítik az alábbi követelményeket.

- a) Legyenek alkalmasak reprezentatív minta megvételére.
- b) A mintavevők által vett minta mennyisége 100 – 10.000 liter nagyságrendű tejmennyiség tartományban 100 ± 10 ml legyen.
- c) A mintavevők áthordása nem haladhatja meg a 0,1%-ot (V/V).

A mintavevők megfelelő működését azok használatbavétele előtt, illetve a használat során rendszeres időközönként, évente legalább két alkalommal az a), a b) és a c) bekezdésekben hivatkozott jellemzők vizsgálatával kell ellenőrizni. A vizsgálati módszereket a 12. pont ismerteti. A mintavevők ellenőrző vizsgálatait és minősítésüket akkreditált laboratórium végezheti el.

Megjegyzés: az áthordás folyamatos mintavétel esetén az egymást követő minták közül a megelőző mintából a következő mintába kerülő nyers tej mennyisége térfogat-százalékban (V/V%).

9. A minta zárása és jelölése

9.1. A minta zárása

A minta zárásához zsineget és ragasztószalagot használjunk a következők szerint.

A zárógyűrű perforált fülein fűzzünk át kb. 25-30 cm hosszúságú zsineget, majd hurokszerűen vezessük át közvetlenül a gyűrű alatt a mintatartó edény ellentétes oldalára. A zsinegszárakat fogjuk össze, és néhányszor csavarjuk meg. Feszítsük meg a zsineget, és ragasztószalaggal rögzítsük. A ragasztást úgy helyezzük el, hogy az a flakont teljesen körbefogja, és a zsineget feszesen tartsa. A zárógyűrű tetejét a gumidugót teljesen lefedő ragasztással biztosítsuk. A zárásokat a mintatartó edény tetején és a zsinegen áthaladó részen bélyegzéssel, valamint aláírással hitelesíteni kell. A minta zárásán fel kell tüntetni a mintavétel dátumát (év, hónap, nap, óra, perc) is.

9.2. A minta azonosítása

A minta azonosításához a nyerstej-minősítő laboratóriumban készített számítógépes vonalkód-címkét kell használni. A vonalkódot a minták zárása után (9.1. pont) a mintatartó edény oldalára úgy kell felragasztani, hogy az ne takarja el a zárást hitelesítő bélyegzőt és az aláírásokat.

10. A minta tartósítása, tárolása és szállítása

10.1. A minta tartósítása

A mintát 0,9% (V/V) nátrium-azid – bronopol – furacin (NBF) összetételű tartósítószerrel, és 2-8 °C hőmérsékletű hűtéssel kell tartósítani. Az így kezelt minta vizsgálatát a mintavételtől számított 48 órán belül el kell végezni.

Megjegyzés

A minta tartósítható NBF-tartósítószer nélkül, csak hűtéssel is. Ebben az esetben a mintát jeges vízben 0-2 °C hőmérsékleten kell tárolni és szállítani. A módszerhez jégzúzalékra van szükség, amellyel a hűtőtáskát annak kb. 1/3-1/2 részéig meg kell tölteni. A mintát úgy helyezzük a hűtőtáskába, hogy a jeges víz a mintatartó edényt kb. kétharmadáig ellepje. A 0-2 °C-on tárolt minta vizsgálatát a mintavételtől számított 48 órán belül el kell végezni.

10.2. A minta tárolása, szállítása

A mintavétel után a mintát azonnal helyezzük 2-8 °C hőmérsékletű hűtőtáskába. A hűtőtáskában a mintán, a mintatartó kereten, a jégakkumulátorokon és az ellenőrző hőmérőn kívül egyéb eszközt vagy anyagot tárolni nem lehet. A mintát a lehető legrövidebb időn belül a kijelölt mintagyűjtő központba (jellemzően egy tejüzembe) kell szállítani. A mintagyűjtő központban a mintát az erre a célra rendszeresített, zárható hűtőszekrénybe kell átrakni. A hűtőszekrény hőmérséklete 2-8 °C között legyen. A hűtőszekrényben a mintákon és a még fel nem használt mintatartó edényeken kívül más eszköz vagy anyag nem tárolható. A mintatároló hűtőszekrényhez csak arra illetékes személy(ek) férhet(nek) hozzá.

11. A mintavételi jegyzőkönyv

A mintavételi jegyzőkönyvnek a következő adatokat kell tartalmaznia:

- a) a tejtermelő gazdaságot vagy a tejgyűjtőt azonosító kódszámot (9.2. pont),
- b) a mintavétel helyét, dátumát, időpontját (perc pontossággal),
- c) a mintavételben részt vevők neveit,
- d) a tejtételből vett minták számát,
- e) a minta tartósításának módszerét,
- f) a minták zárásának és jelölésének tényét,
- g) hivatkozást arra az előírásra, amely alapján a mintavételt végrehajtották,
- h) azt a tejmenyiséget, amelyből a mintát vették,
- i) az adott tejtermelő gazdaság vagy tejgyűjtő jellemző napi tejmenyiségét.

A jegyzőkönyvet a mintavevő személy és a mintatulajdonos vagy megbízott képviselőjének aláírásaival, továbbá a mintavevőt azonosító számozott bélyegzővel hitelesíteni kell.

12. Automata és félautomata mintavevők helyes működésének ellenőrzése

12.1. Minta-megfelelőség (reprezentativitás) vizsgálata

A minta-megfelelőséget (reprezentativitást) a tartálygépkocsi üzemszerű tejbegyűjtése során az automata vagy félautomata mintavevővel (továbbiakban: mintavevő) és az ezzel párhuzamosan, kézi módszerrel (kontroll) vett minták zsírtartalmainak összehasonlító vizsgálatával kell ellenőrizni. A vizsgálatra legalább öt különböző olyan nyers elegytej-tételt (12.1.1.1. pont) kell kijelölni, amelyek zsírtartalma 3,0 - 4,0 g/100g közötti. A kijelölt tejtételeket a mintavétel előtt a 7. pontban előírtak szerint egyenlősítsük. Először kézi módszerrel, majd a tej felszivattyúzása közben a mintavevővel veszünk mintát. A mintákat a 10. pontban előírtak szerint tartósítjuk és tároljuk. Az így kezelt minták vizsgálatát a mintavételtől számított 48 órán belül el kell végezni.

A kézi módszerrel (kontroll) és a mintavevővel vett mintapárok zsírtartalmait két-két párhuzamos méréssel a III. melléklet 1. pontjában meghatározott módszerrel és műszerrel (12.1.1.2. pont) kell meghatározni. A mintavevővel vett minták reprezentativitása akkor megfelelő, ha a kézi és a gépi módszerrel vett mintapárok átlagos zsírtartalmának eltérése $\leq 0,07$ g/100g.

12.1.1. Eszközök és anyagok

12.1.1.1. Nyers elegytej, 4-8 °C hőmérsékletre hűtött.

12.1.1.2. FTIR-műszer a zsírtartalom mérésére, feleljen meg a III. melléklet 1. pontjában előírt követelményeknek.

12.2. A mintamennyiség vizsgálata

A tartálygépkocsi üzemszerű tejbegyűjtése során a mintavevővel 100 - 1.000 - és 10.000 liter nagyságrendű nyers elegytej-tételekből (12.2.1.1. pont) egy-egy mintát veszünk, majd a minták mennyiségét 20 °C hőmérsékleten mérőhengerrel megmérjük. A mintamennyiség akkor megfelelő, ha az a megmintázott tejtételek mindegyikénél 100 ± 10 ml.

Megjegyzés: a mintamennyiség ellenőrzése elvégezhető a minta reprezentativitás-, illetve áthordás vizsgálatok is, ha a tejmennyiség megfelel a hivatkozott tartományoknak.

12.2.1. Eszközök és anyagok

12.2.1.1. Nyers elegytej, a hazai elegytejekre jellemző átlagos összetétellel, 4-8 °C hőmérsékletre hűtött.

12.2.1.2. Mérőhenger, üvegből vagy műanyagból készült, 1 ml osztású skálával ellátott, 20 °C hőmérsékleten alkalmas legalább 120 ml mérésére.

12.3. Az áthordás vizsgálata

A tartálygépkocsi szivattyújával kb. 100 liter nyers elegytejet (12.3.1.4. pont) szivattyúzunk fel, miközben a mintavevővel mintát veszünk. Ezután a felszívó tömlőt (12.3.1.3. pont) a megfelelő pillangószelepek zárása után leválasztjuk a tejtartályról (12.3.1.1. pont), majd a vezetékben maradt tejet a gépkocsi szivattyújával eltávolítjuk. Ezt követően a felszívó tömlőt (12.3.1.3. pont) a víztartályhoz (12.3.1.2. pont) csatlakoztatjuk és 100 liter víz (12.3.1.5. pont) felszivattyúzása közben a mintavevővel ismét mintát veszünk. A vizsgálatot háromszor megismételjük. A vízmintákat a 10. pontban előírtak szerint tartósítjuk és tároljuk. Az így kezelt minták vizsgálatát a mintavételtől számított 48 órán belül el kell végezni.

Az áthordás vizsgálat előtt a nyers elegytejből (12.3.1.4. pont) és a vízből (12.3.1.5. pont) mintát veszünk. A vízmintából és a tejből 0,05-0,1-0,5-1,0- és 1,5% (V/V%) tejkoncentrációval hígítási sort készítünk. A minták fényelnyelését fotométerrel (12.3.1.6. pont) 850 nm hullámhosszon, hígításonként 3-3 párhuzamos vizsgálatával megmérjük, és az eredményekből kiszámítjuk a tejkoncentráció-abszorbancia összefüggést megadó regressziós egyenletet. A mintavevő által vett vízminták abszorbanciáját 3-3 párhuzamos mérésel fotométerrel (12.3.1.6. pont) 850 nm hullámhosszon vizsgáljuk. A vízminták átlagos abszorbanciája és a regressziós egyenlet alapján kiszámítjuk a tej koncentrációját a vízben, azaz a mintavevő áthordását. Az áthordás mértéke egyik vizsgálat esetében sem haladhatja meg a 0,1%-ot (V/V%)

12.3.1. Eszközök és anyagok

12.3.1.1. Tejtartály, rozsdamentes acélból, legalább 400 liter űrtartalommal, alsó kifolyónyílással, pillangószeleppel zárhatóan.

- 12.3.1.2. Víztartály, rozsdamentes acélból készült, legalább 400 liter űrtartalommal, alsó kifolyónyílással, pillangószeleppel zárhatóan.
- 12.3.1.3. Felszívó tömlő, tartálygépkocsira szerelten, max. 15 méter hosszú.
- 12.3.1.4. Nyers elegytej, a hazai elegytejekre jellemző átlagos összetétellel, 4-8 °C hőmérsékletre hűtött.
- 12.3.1.5. Víz, ivóvíz minőségű.
- 12.3.1.6. Fotométer, amellyel az abszorpció 850 nm hullámhosszon mérhető.

III. MELLÉKLET

VIZSGÁLATOK

1. A ZSÍR-, A FEHÉRJE-, A TEJCUKOR- ÉS A ZSÍRMENTES SZÁRAZANYAG-TARTALOM MEGHATÁROZÁSA
2. A FAGYÁSPONT MEGHATÁROZÁSA
3. A SZOMATIKUS SEJTEK SZÁMÁNAK MEGHATÁROZÁSA
4. A MIKROBASZÁM MEGHATÁROZÁSA
5. ANTIBIOTIKUMOK ÉS SZULFONAMIDOK KIMUTATÁSA

1. A ZSÍR-, A FEHÉRJE-, A TEJCUKOR- ÉS A ZSÍRMENTES SZÁRAZANYAG-TARTALOM MEGHATÁROZÁSA

1.1. Alkalmazási terület

Ez a módszer a nyers tej zsír-, fehérje-, tejcukor- és zsírmentes szárazanyag-tartalmának Fourier-transzformációs infravörös abszorpciós (FTIR) elven alapuló műszerekkel való meghatározására vonatkozik.

1.2. Fogalommeghatározás

FTIR-műszer: olyan sorozatvizsgálatra alkalmas automata készülék, amely g/100 g mértékegységben meghatározza a nyers tej zsír-, fehérje-, tejcukor- és zsírmentes szárazanyag-tartalmát, ha azt a műszer gépkönyvében foglaltak szerint üzemeltetik.

1.3. A vizsgálat elve

A vizsgálandó minta felmelegítése (1.7. pont), egyneműsítése után az abszorbeált infravörös sugárzás mennyiségét mérjük különböző hullámhosszokon.

- Zsírtartalom: a glicerid-észter kötések karbonilcsoportjai (C=O) által 5,7 μm hullámhosszon és/vagy a zsírsavmolekulák telített „C-H” kötéseitől 3,5 μm hullámhosszon elnyelt infravörös sugárzást mérjük.
- Fehérjetartalom: a peptidkötések „N-H” csoportja által 6,5 μm hullámhosszon elnyelt infravörös sugárzást mérjük.
- Tejcukortartalom: a laktózmolekula hidroxilcsoportjai (-OH) által 9,5 μm hullámhosszon elnyelt infravörös sugárzást mérjük.
- Szárazanyag-tartalom: a „C-C” kötések által 8,6 μm hullámhosszon elnyelt infravörös sugárzást mérjük, valamint a fehérjetartalmat.

Megjegyzés

A zsírmentes szárazanyag-tartalom származtatott mennyiség, amelyet a műszer a szárazanyag- és zsírtartalom különbsége alapján számít ki.

1.4. Berendezések és eszközök

1.4.1. Infravörös műszer

Az FTIR-elven alapuló olyan sorozatvizsgálatra alkalmas automata készülék, amit a gyártó utasításainak megfelelően kell üzemeltetni.

1.4.2. Vízfürdő, hőmérsékletszabályozott, áramlásos rendszerű, amely alkalmas 40 ± 2 °C hőmérséklet tartására.

1.5. Vegyszerek

A műszer üzemeltetéséhez kizárólag a műszer gyártója által előírt vegyszereket szabad használni.

1.5.1. Zéró folyadék

A műszer zérópontjának beállítására, illetve ellenőrzésére szolgáló olyan folyadék, amelyet a gyártó előírásai szerint kell elkészíteni és használni.

1.5.2. Mosóoldat

A műszer áramlási rendszerének tisztítására szolgáló olyan oldat, amelyet a gyártó előírásainak megfelelően kell elkészíteni és használni.

1.5.3. Standardizáló oldat

A műszer optikai rendszerének beállítására szolgáló olyan oldat, amelyet a gyártó előírásai szerint kell használni.

1.5.4. Kontrollminta

A műszer mérési pontosságának rendszeres ellenőrzésére szolgáló olyan igazolt minőségű tejminta, amelyet akkreditált laboratóriumban készítettek, és zsír-, fehérje-, tejcukor-, szárazanyag- és zsírmentes szárazanyag-tartalmát referencia-módszerekkel határozták meg.

1.5.5. Kalibrációs tejminta-sorozat

A műszer rendszeres kalibrálására, illetve a kalibráció pontosságának ellenőrzésére szolgáló olyan igazolt minőségű tejminták, amelyeket akkreditált laboratóriumban készítettek, és amelyek zsír-, fehérje-, tejcukor-, szárazanyag- és zsírmentes szárazanyag-tartalmát referencia-módszerekkel határozták meg. A kalibrációs tejminta-sorozat legalább 10 db olyan elemi mintából álljon, amelyek zsír-, fehérje-, tejcukor-, szárazanyag- és zsírmentes szárazanyag-tartalma átfogja a jellemző mérési tartományt.

1.6. A műszer kalibrálása

A műszert szükség szerint, de havonta legalább egyszer kalibrálni kell. A kalibrálást a műszer standardizálása után (1.5.3. pont), a használati utasításnak megfelelően kell elvégezni. A kalibrációhoz kizárólag az 1.5.5. pont szerinti minták használhatóak. A műszer kalibrálása akkor megfelelő, ha a kalibrációt jellemző paraméterek, úgymint:

- a regressziós egyenes meredeksége ($\text{tg}\alpha$) és metszéspontja (b),
- a becslés hibája ($S_{y(x)}$),
- a kalibráció standard hibája (SEC),
- a determinációs együttható (R^2)

kielégítik a műszer használati utasításában előírt határértékeket.

1.7. A vizsgálati minta előkészítése

A mintát a vizsgálat előtt vízfürdőben (1.4.2. pont) melegítjük 40 ± 2 °C hőmérsékletre.

1.8. Eljárás

A vizsgálatot a használati utasításban leírt módon a műszer automatikusan elvégzi. Ügyeljünk arra, hogy a készülék keverője hatékonyan működjön, úgy, hogy a zsír eloszlása a mintában a lehető legegyszerűsebb legyen. A vizsgálatot a minta felmelegítésétől (1.7. pont) számított 30 percen belül el kell végezni. A minta zsír-, fehérje-, tejcukor- és zsírmentes szárazanyag-tartalma a műszer kijelzőjéről g/100 g mértékegységben közvetlenül leolvasható.

1.9. Pontossági követelmények

A műszerrel mért zsír-, fehérje-, tejcukor- és zsírmentes szárazanyag-tartalomra vonatkozó eredmények csak abban az esetben fogadhatóak el, ha a műszer kielégíti a mérési pontosságra előírt követelményeket.

1.9.1. Zérópont-ellenőrzés

A műszer zérópontját a vizsgálatok megkezdése előtt, sorozatvizsgálat esetén minden 50. mérés után, továbbá a vizsgálatok befejezésekor a gyártó által előírt vegyszerrel (1.5.1. pont) és módon kell ellenőrizni. A műszer zérópontja akkor megfelelő, ha a zsír-, a fehérje-, a tejcukor- és a zsírmentes szárazanyag-csatornákon mért érték a $\pm 0,02$ g/100 g-ot nem haladja meg.

1.9.2. Az ismételhetőség (r) ellenőrzése

Az ismételhetőséget a vizsgálatok megkezdése előtt a kontrollminta (1.5.4. pont) öt párhuzamos mérésével kell ellenőrizni. A mérés ismételhetősége akkor megfelelő, ha az 5 mérésből számított szórás (SD_r) a zsír-, a fehérje- és a tejcukor-csatornákon egyaránt $\leq 0,014$ g/100 g.

1.9.3. Az összehasonlíthatóság (R) ellenőrzése

Az összehasonlíthatóságot a vizsgálatok megkezdése előtt a kontrollminta (1.5.4. pont) két párhuzamos mérésével, sorozatvizsgálat közben minden 50. mérés után a kontrollminta egy mérésével, valamint a vizsgálatok befejezését követően a kontrollminta két párhuzamos mérésével kell ellenőrizni. A mérés összehasonlíthatósága akkor megfelelő, ha a mért és a referencia-értékek különbsége a zsír, a fehérje és a tejcukor esetében $\leq 0,07$ g/100 g, a zsírmentes szárazanyag-tartalom vonatkozásában pedig $\leq 0,1$ g/100 g.

1.9.4. Áthordásvizsgálat

A műszer áthordását szükség szerint, de hetente legalább egyszer a gyártó utasításai szerint kell ellenőrizni. Az áthordás a zsír-, a fehérje-, a tejcukor- és a zsírmentes szárazanyag-tartalom vonatkozásában egyaránt legyen kisebb, mint 1%.

Megjegyzés: az áthordás sorozatvizsgálat esetén az egymást követő minták közül a megelőző mintából a következő mintába kerülő tejalkotók (zsír, fehérje, tejcukor, zsírmentes szárazanyag) mennyisége tömegszázalékban (m/m%).

1.10. Az eredmények megadása

A vizsgálati eredményeket g/100 g mértékegységben, két tizedesjegyre kell megadni.

2. A FAGYÁSPONT MEGHATÁROZÁSA

2.1. Alkalmazási terület

Ez a módszer a nyers tej fagyáspontjának termisztoros krioszópokkal való meghatározására vonatkozik.

2.2. Fogalommeghatározás

2.2.1. *A nyers tej fagyáspontja:* ezen módszer szerint elvégzett mérés értéke Celsius-fokban (°C).

2.2.2. *Termisztoros krioszóp:* olyan sorozatvizsgálatra alkalmas automata készülék, amely °C-ban meghatározza a nyers tej fagyáspontját, ha azt a műszer gépkönyvében foglaltak szerint üzemeltetik.

2.3. A vizsgálat elve

A vizsgálandó mintát, annak állandó keverése mellett a krioszóp meghatározott hőmérsékletre túlhűti, majd mechanikai úton (vibrációval) kiváltja a minta kristályosodását. A kristályképződés hatására a minta hőmérséklete az egyensúlyi állapotot jellemző ún. platóig folyamatosan emelkedik. A fagyáspont az a legnagyobb hőmérséklet, amit a műszer a fagyasztási impulzust követő 30 másodpercen belül mér.

2.4. Berendezések és eszközök

A szokásos laboratóriumi eszközök és a következők.

2.4.1. Krioszóp

Sorozatvizsgálatra alkalmas automata műszer, amely a következő főbb egységekből áll:

- hűtőfürdő a minta túlhűtésére,
- termisztor (félvezető ellenállás-hőmérő) a minta hőmérsékletének mérésére,
- keverőszár az egyenletes hőeloszlás biztosításához,
- értékelő és kijelző egység.

2.4.2. *Küvetta*, a vizsgálathoz külön szabványban meghatározott minőségű és méretű küvetta használható.

2.4.3. *Automata pipetta*, állítható térfogatú (1-5 ml) $\pm 0,1$ ml pontossággal, cserélhető műanyag hegygel a minta beméréséhez.

2.5. Vegyszerek

2.5.1. *Hűtőfolyadék*, a műszer használati utasításának megfelelően elkészített etilén-glikol-oldat.

2.5.2. *Kalibráló sóoldatok*

A műszer rendszeres kalibrálására, illetve a kalibráció pontosságának ellenőrzésére olyan $-0,408$ és $-0,600$ °C közötti fagyáspontú, igazolt minőségű nátrium-klorid-oldatok használhatók, amelyeket akkreditált laboratóriumban készítettek, és amelyek fagyáspontját referencia-módszerrel határozták meg.

2.5.3. *Ellenőrző sóoldat*

A műszer mérési pontosságának rendszeres ellenőrzésére szolgáló $-0,512$ °C fagyáspontú olyan nátrium-klorid-oldat, amelyet akkreditált laboratóriumban készítettek, és amelynek fagyáspontját referencia-módszerrel határozták meg.

2.6. A műszer kalibrálása

A műszer kalibrálását és a vizsgálatok során a kalibráció pontosságának ellenőrzését (2.9.1. pont) a használati utasításnak megfelelően, ismert fagyáspontú nátrium-klorid-oldatokkal (2.5.2., 2.5.3. pont) kell elvégezni. A műszerkalibráció akkor megfelelő, ha a mért és a referencia-értékek eltérése $\leq 0,002$ °C.

2.7. A vizsgálati minta előkészítése

A mintatartó edény többszöri, óvatos buktatásával és forgatásával keverjük meg a tejet. Ne keverjük a mintát olyan erősen, hogy a tejsír kiköpuľődjön vagy a minta felhabosodjon.

Pipettával (2.4.3. pont) mérjük ki a tejből a műszer használati utasításának megfelelő mennyiségű tejet egy tiszta, száraz küvetta (2.4.2. pont). Sorozatvizsgálat esetén minden bemérés előtt cseréljük ki a pipettahegyet.

2.8. Eljárás

Győződjünk meg arról, hogy a termisztor és a keverőszár tiszta és száraz-e. Ha szükséges, azokat tiszta, száraz papírkendővel töröljük meg. Helyezzük a küvetta a kriozkóp tároló-rekeszébe, és indítsuk el a mérést. A mérést a használati utasításnak megfelelően a műszer automatikusan elvégzi, a minta fagyáspontja a kriozkóp kijelzőjéről, típustól függően, m°C, vagy °C mértékegységben leolvasható.

2.9. Pontossági követelmények

A kriozkóppal mért fagyáspont csak abban az esetben fogadható el, ha a műszer kielégíti a mérési pontosságra előírt követelményeket.

2.9.1. A kalibrálás pontosságának ellenőrzése

A műszerkalibrálás pontosságát a vizsgálatok megkezdése előtt, sorozatvizsgálat esetén minden 40. mérés után, továbbá a vizsgálatok befejezésekor ismert fagyáspontú nátrium-klorid-oldatokkal (2.5.2., 2.5.3. pont) kell ellenőrizni. A kalibráció akkor megfelelő, ha a mért és a referencia-értékek eltérése $\leq 0,002$ °C.

2.9.2. Az ismételhetőség (r) ellenőrzése

Az ismételhetőséget a vizsgálatok megkezdése előtt megfelelő minőségű nyers tej 10 párhuzamos mérésével kell ellenőrizni. A 2.7. pont szerint készítsük elő a mintát, majd végezzük el a méréseket (2.8. pont). A mérés ismételhetősége akkor megfelelő, ha a 10 mérésből számított relatív szórás (RSD_r) kisebb, mint 0,5 %.

2.10. Az eredmények megadása

A vizsgálat eredményét Celsiusban-fokban (°C), három tizedesjegyre kell megadni.

3. A SZOMATIKUS SEJTEK SZÁMÁNAK MEGHATÁROZÁSA

3.1. Alkalmazási terület

Ez a módszer a nyers tej szomatikus sejtszámának áramlásos citometrián alapuló műszerekkel való meghatározására vonatkozik.

3.2. Fogalommeghatározások

3.2.1. *Szomatikus sejtek*: olyan sejtek, amelyek sejtmagjainak megfestett DNS-e meghatározott intenzitású fluoreszcenciát mutat.

3.2.2. *Sejtszámláló műszer*: olyan sorozatvizsgálatra alkalmas automata készülék, amely 1000 sejt/ml mértékegységben meghatározza a nyers tej szomatikussejt-számát, ha azt a műszer gépkönyvében foglaltak szerint üzemeltetik.

3.3. A vizsgálat elve

A műszer automata mintavevője a vizsgálandó tejet az ún. előkészítő kamrába juttatja, ahol a mintához etidium-bromid-puffer-elegyet és hígító folyadékot adagol. A tej-festékoldat-keverék ezután egy szűrőn halad át, amely eltávolítja a mérést zavaró szennyeződések (festékszemcsék, tejeredetű szilárd szennyeződések). A megfestett, szűrt mintát egy mikrofecskendő a mérőcellában folyamatosan áramló ún. vivőfolyadék belsejébe injektálja, amelynek eredményeként egy vékony mintasugár képződik. A mintasugár átmérője akkora, hogy a mérőcellán egyidejűleg csak egy szomatikus sejt képes áthaladni. A folyadékreteget ultrabolya fény sugározza be, ami a megfestett sejteket fénykibocsátásra készíti. A minta szomatikussejt-számát a műszer az impulzusszám alapján automatikusan határozza meg.

3.4. Berendezések és eszközök

3.4.1. Sejtszámláló műszer

Az áramlásos citometria elvén alapuló olyan sorozatvizsgálatra alkalmas automata készülék, amelyet a gyártó utasításainak megfelelően üzemeltetnek.

3.4.2. Vízfürdő, hőmérsékletszabályozott, áramlásos rendszerű, amely alkalmas 40 ± 2 °C hőmérséklet tartására.

3.5. Vegyszerek

A műszer üzemeltetéséhez kizárólag a műszer gyártója által előírt vegyszereket szabad használni.

3.5.1. Etidium-bromid

A szomatikus sejtek megfestésére szolgáló olyan vegyszer, amelyet a gyártó előírásai szerint kell elkészíteni és használni.

Figyelmeztetés

Az etidium-bromid mérgező anyag, ezért kezelését a vonatkozó munka- és egészségvédelmi előírások betartásával kell végezni!

3.5.2. Pufferoldat

A szomatikus sejtek permeabilitását növelő olyan oldat, amelyet a gyártó előírásai szerint kell elkészíteni és használni.

3.5.3. Vivőfolyadék

A megfestett szomatikus sejtek egyenletes eloszlását biztosító olyan folyadék, amelyet a gyártó előírásai szerint kell elkészíteni és használni.

3.5.4. Mosóoldatok

A műszer áramlási rendszerének tisztítására szolgáló olyan oldatok, amelyeket a gyártó előírásai szerint kell elkészíteni és használni.

3.5.5. Mesterséges részecskeminta

A műszer optikai rendszerének ellenőrzésére szolgáló olyan minta, amelyet a gyártó előírásai szerint kell elkészíteni és használni.

3.5.6. Kontrollminta

A műszer mérési pontosságának rendszeres ellenőrzésére szolgáló olyan igazolt minőségű tejminta, amelyet akkreditált laboratóriumban készítettek, és szomatikussejt-számát referencia-módszerrel határozták meg.

3.5.7. Kalibrációs minta

A műszer rendszeres kalibrálására, illetve a kalibráció pontosságának ellenőrzésére szolgáló olyan igazolt minőségű tejminta, amelyet akkreditált laboratóriumban készítettek, és szomatikussejt-számát referencia-módszerrel határozták meg. A kalibrációt, illetve annak ellenőrzését legalább 2 db, egy kisebb (≈ 200.000 sejt/ml) és egy nagyobb (≈ 450.000 sejt/ml) sejtszámú mintával kell elvégezni.

3.6. A műszer kalibrálása

A műszer kalibrálását, illetve a kalibrálás pontosságát szükség szerint, de hetente legalább egy alkalommal a használati utasításnak megfelelően kell ellenőrizni. A kalibrációhoz kizárólag a 3.5.7. pont szerinti minták használhatók. A műszer kalibrációja akkor megfelelő, ha a mért és a referencia-értékek eltérése $\leq 10\%$.

3.7. A vizsgálati minta előkészítése

A mintát a vizsgálat előtt vízfürdőben (3.4.2. pont) melegítsük 40 ± 2 °C hőmérsékletre.

3.8. Eljárás

A vizsgálatot a használati utasításban leírt módon a műszer automatikusan elvégzi. Ügyeljünk arra, hogy a készülék keverője hatékonyan működjön, úgy, hogy a szomatikus sejtek eloszlása a mintában a lehető legegyszerűsebb legyen. A vizsgálatot a minta felmelegítésétől (3.7. pont) számított 30 percen belül el kell végezni. A minta szomatikus sejtszáma a műszer kijelzőjéről 1000 sejt/ml mértékegységben leolvasható.

3.9. Pontossági követelmények

A műszerrel mért szomatikussejt-számra vonatkozó eredmény csak abban az esetben fogadható el, ha a műszer kielégíti a mérési pontosságra előírt követelményeket.

3.9.1. Vakpróba

A műszer áramlási rendszerének tisztaságát a vizsgálatok megkezdése előtt és a vizsgálatok befejezése után a gyártó által előírt módon ellenőrizni kell. A vakpróba eredménye akkor megfelelő, ha az nem haladja meg a műszer használati utasításában megadott határértéket.

3.9.2. Az optikai rendszer ellenőrzése

A műszer optikai rendszerét a vizsgálatok megkezdése előtt a mesterséges részecskeminta (3.5.5. pont) mérésével a használati utasításban foglaltak szerint kell ellenőrizni. A vizsgálat eredménye akkor megfelelő, ha az teljesíti a gyártó által megadott határértékeket.

3.9.3. Az ismételhetőség (r) ellenőrzése

Az ismételhetőséget a vizsgálatok megkezdése előtt a kontrollminta (3.5.6. pont) öt párhuzamos mérésével kell ellenőrizni. A mérés ismételhetősége akkor megfelelő, ha az 5 mérésből számított relatív szórás (RSD_r) kielégíti a következő határértékeket.

- Ha a kontrollminta átlagos szomatikussejt-száma ≤ 100.000 sejt/ml, akkor a relatív szórás maximum 7 % lehet.
- Ha a kontrollminta átlagos szomatikussejt-száma 100.001 – 300.000 sejt/ml közötti, akkor a relatív szórás maximum 5 % lehet.
- Ha a kontrollminta átlagos szomatikussejt-száma 300.001 – 500.000 sejt/ml közötti vagy nagyobb, mint 500.000 sejt/ml, akkor a relatív szórás maximum 4 % lehet.

3.9.4. Az összehasonlíthatóság (R) ellenőrzése

Az összehasonlíthatóságot a vizsgálatok megkezdése előtt a kontrollminta (3.5.6. pont) két párhuzamos mérésével, sorozatvizsgálat közben minden 50. mérés után a kontrollminta egy mérésével, továbbá a vizsgálatok befejezését követően a kontrollminta két párhuzamos mérésével kell ellenőrizni. A mérés összehasonlíthatósága akkor megfelelő, ha a mért és a referencia-értékek különbsége nem haladja meg a 10%-ot.

3.10. Az eredmények megadása

3.10.1. A vizsgálat eredményét 1000 szomatikus sejt/ml mértékegységben kell megadni.

3.10.2. A nyers tej szomatikussejt-szám szerinti minőségét az egymást követő utolsó 3 hónap vizsgálati eredményeiből (3.10.1. pont) számított mértani átlag adja. A mértani átlagot a következő képlet alapján kell kiszámítani:

$$X_{\text{mértani átlag}} = \sqrt[n]{X_1 * X_2 * \dots * X_n},$$

ahol:

X_1, X_2, \dots, X_n az egyedi vizsgálatok eredménye (3.10.1. pont), n az egyedi vizsgálatok száma.

4. A MIKROBASZÁM MEGHATÁROZÁSA

4.1. Alkalmazási terület

Ez a módszer a nyers tej mikrobaszámának áramlásos citometrián alapuló műszerekkel való meghatározására vonatkozik.

4.2. Fogalommeghatározások

4.2.1. *Mikrobák*: olyan sejtek, amelyek megfestett DNS-e meghatározott intenzitású fluoreszcenciát mutat.

4.2.2. *Mikrobaszámláló műszer*: olyan sorozatvizsgálatra alkalmas automata készülék, amely 1000 CFU/ml mértékegységben meghatározza a nyers tej mikrobaszámát, ha azt a műszer gépkönyvében foglaltak szerint üzemeltetik.

4.3. A vizsgálat elve

A műszer automata mintavevője a vizsgálandó tejet az ún. inkubátoregységbe juttatja, ahol többszöri szűréssel, homogénezéssel dezaggregálja a mikrobahalmazokat, majd enzimes kezeléssel lebontja a mérést zavaró tejalkotórészeket. Az előkezelést a mikroba-DNS etidium-bromiddal történő megfestése követi. A megfestett mintát egy mikrofecskendő a mérőcellában folyamatosan áramló ún. vivőfolyadék belsejébe injektálja, amely vékony mintasugarat képez. A mintasugár átmérője akkora, hogy a mérőcellán egyidejűleg csak egy mikrobasejt képes áthaladni. A folyadékréteget meghatározott hullámhosszú lézerefény sugározza be, ami a megfestett mikrobákat fénykibocsátásra készíti. Az impulzusokat fotodetektor érzékeli. Az impulzusszám (egyedi baktériumszám) telepképző egységekre (CFU) való átszámítását és az eredményközlést egy konverziós táblázat alapján a műszer automatikusan elvégzi.

A nyers tej árkonzekvens minősítésére csak az a mikrobaszámláló műszer használható, amelyhez van nemzeti konverziós táblázat. A nemzeti konverziós táblázatot az impulzusszám–CFU-szám összefüggését befolyásoló tényezők (pl. tartás-, takarmányozás- és fejéstechnológia, az évszakok változása, a tej hűtve tárolásának hőmérséklete és időtartama stb.) figyelembe vételével kell kidolgozni és rendszeresen ellenőrizni.

Megjegyzés

A nemzeti konverziós táblázat kidolgozása és rendszeres ellenőrzése (4.9.6. pont) a Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet Kft. feladata.

4.4. Berendezések és eszközök

4.4.1. Mikrobaszámláló műszer

Az áramlásos citometria elvén alapuló olyan sorozatvizsgálatra alkalmas automata készülék, amelyet a gyártó utasításainak megfelelően üzemeltetnek.

4.4.2. *Vízfürdő*, hőfokszabályozott, amely alkalmas 8-10 °C hőmérséklet tartására.

4.5. Vegyszerek

A műszer üzemeltetéséhez kizárólag a műszer gyártója által előírt vegyszereket szabad használni.

4.5.1. Etidium-bromid

A mikrobák megfestésére szolgáló olyan vegyszer, amelyet a gyártó előírásai szerint kell elkészíteni és használni.

Figyelmeztetés

Az etidium-bromid mérgező anyag, ezért kezelését a vonatkozó munka- és egészségvédelmi előírások betartásával kell végezni!

4.5.2. Pufferoldat

A mikrobasejtek permeabilitását növelő olyan oldat, amelyet a gyártó előírásai szerint kell elkészíteni és használni.

4.5.3. Enzimoldat

A mérést zavaró tejalkotórészek (szomatikus sejtek, kazein micellák) szelektív lebontására szolgáló olyan oldat, amelyet a gyártó előírásai szerint kell elkészíteni és használni.

4.5.4. Vivőfolyadék

A megfestett mikrobák egyenletes eloszlását biztosító olyan folyadék, amelyet a gyártó előírásai szerint kell elkészíteni és használni.

4.5.5. Mosóoldatok

A műszer áramlási rendszerének tisztítására szolgáló olyan oldatok, amelyeket a gyártó előírásai szerint kell elkészíteni és használni.

4.5.6. Liofilizált baktérium-kontroll

A műszer optikai rendszerének és mérési pontosságának ellenőrzésére szolgáló olyan minta, amelyet a gyártó előírásai szerint kell elkészíteni és használni.

4.5.7. Kontrollminta

A műszer mérési pontosságának rendszeres ellenőrzésére szolgáló olyan igazolt minőségű tejminta, amelyet akkreditált laboratóriumban készítettek, és mikrobaszámát referencia vizsgálatokkal határozták meg.

4.5.8. Kalibrációs minta

A műszer rendszeres kalibrálására, illetve a kalibráció pontosságának ellenőrzésére szolgáló olyan igazolt minőségű tejminta, amelyet akkreditált laboratóriumban készítettek, és mikrobaszámát referencia-módszerrel határozták meg. A kalibrációt, illetve annak ellenőrzését legalább 2 db, egy kisebb (≈ 200.000 CFU/ml) és egy nagyobb (≈ 400.000 CFU/ml) mikrobaszámú mintával kell elvégezni.

4.6. A műszer kalibrálása

A műszer kalibrálását, illetve a kalibrálás pontosságát a vizsgálatok megkezdése előtt és azok befejezése után a használati utasításnak megfelelően kell ellenőrizni. A kalibráláshoz, illetve az ellenőrzéséhez kizárólag a 4.5.8. pont szerinti minták használhatók. A műszer kalibrációja akkor megfelelő, ha a mért és a referencia-értékek eltérése $\leq 10\%$.

4.7. A vizsgálati minta előkészítése

A minta hőmérsékletét a vizsgálat előtt vízfürdőben (4.4.2. pont) 8-10 °C hőmérsékletre állítsuk be.

4.8. Eljárás

A vizsgálatot a használati utasításban leírt módon a műszer automatikusan elvégzi. Ügyeljünk arra, hogy a készülék keverője hatékonyan működjön, úgy, hogy a mikrobák eloszlása a mintában a lehető legegyszerűsebb legyen. A minta mikrobaszáma a műszer kijelzőjéről 1000 CFU/ml mértékegységben leolvasható.

4.9. Pontossági követelmények

A műszerrel mért mikrobaszámra vonatkozó eredmény csak abban az esetben fogadható el, ha a műszer kielégíti a mérési pontosságra előírt követelményeket.

4.9.1. Vakpróba

A műszer áramlási rendszerének tisztaságát a vizsgálatok megkezdése előtt és a vizsgálatok befejezése után a gyártó által előírt módon kell ellenőrizni. A vakpróba eredménye akkor megfelelő, ha az nem haladja meg a műszer használati utasításában megadott határértéket.

4.9.2. Az optikai rendszer ellenőrzése

A műszer optikai rendszerét a vizsgálatok megkezdése előtt és a vizsgálatok befejezése után a liofilizált baktériumkontroll (4.5.6. pont) mérésével a használati utasításban foglaltak szerint havonta legalább egy alkalommal kell ellenőrizni. Az optikai rendszer ellenőrzését a liofilizált baktériumkontroll (4.5.6. pont) mérésével karbantartások, javítások után, továbbá abban az esetben is el kell végezni, ha a műszer 4.6. pont szerinti ellenőrzése nem megfelelő eredményt ad. A vizsgálat eredménye akkor megfelelő, ha az nem haladja meg a gyártó által megadott határértéket.

4.9.3. Az ismételhetőség (r) ellenőrzése

Az ismételhetőséget a vizsgálatok megkezdése előtt a kontrollminta (4.5.7. pont) öt párhuzamos mérésével kell ellenőrizni. A mérés ismételhetősége akkor megfelelő, ha az öt párhuzamos mérésből számított relatív szórás (RSD_r) nem haladja meg a 8%-ot.

4.9.4. Az összehasonlíthatóság (R) ellenőrzése

Az összehasonlíthatóságot a vizsgálatok megkezdése előtt a kontrollminta (4.5.7. pont) és a kalibrációs minta (4.5.8. pont) 5-5 párhuzamos mérésével, sorozatvizsgálat közben minden 50. mérés után a kontrollminta egy mérésével, továbbá a vizsgálatok befejezését követően a kalibrációs minta öt párhuzamos mérésével kell ellenőrizni. A mérés összehasonlíthatósága akkor megfelelő, ha a mért és a referencia-értékek különbsége nem haladja meg a 10%-ot.

4.9.5. Áthordásvizsgálat

A műszer áthordását a vizsgálatok megkezdése előtt a gyártó utasításai szerint kell ellenőrizni. Az áthordás értéke nem haladhatja meg a 0,5%-ot.

Megjegyzés: az áthordás sorozatvizsgálat esetén az egymást követő minták közül a megelőző mintából a következő mintába kerülő baktériumok mennyisége CFU %-ban.

4.9.6. A konverziós táblázat ellenőrzése

A konverziós táblázat pontosságát szükség szerint, de évente legalább egy alkalommal a következők szerint kell ellenőrizni.

Határozzuk meg párhuzamosan ugyanazon nyerstej-minták CFU-számát referencia-módszerrel és a műszerrel. A vizsgálatokat úgy kell ütemezni, hogy a mintaszám havi rendszerességgel legalább 25, éves szinten legalább 300 db legyen. Az értékelésbe csak azok a minták vonhatók be, amelyek referencia-módszerrel meghatározott mikrobaszáma 10 ezer – 3 millió CFU/ml közötti. Az adatokat lineáris regresszióanalízissel és kétmintás t-próbával havonta illetve évente kell elemezni. A konverziós táblázat pontossága akkor megfelelő, ha

- a regressziós egyenes meredeksége ($tg\alpha$) és metszéspontja (b) $P=95\%$ megbízhatósági szinten nem tér el egytől ($tg\alpha_{P=95\%}=1$), illetve nullától ($b_{P=95\%}=0$),
- a becslés hibája ($Sy_{(x)}$) $\leq 0,3 \lg$ CFU,
- a determinációs együttható értéke (R^2) legalább 0,9,
- a kétmintás t-próba eredménye alapján a referencia-módszerrel és a műszerrel mért CFU-számok különbsége $P=95\%$ megbízhatósági szinten nem tér el a nullától.

4.10. Az eredmények megadása

4.10.1. A vizsgálat eredményét 1000 CFU/ml mértékegységben kell megadni.

4.10.2. A nyers tej mikrobaszám szerinti minőségét az egymást követő utolsó 2 hónap vizsgálati eredményeiből (4.10.1. pont) számított mértani átlag adja. A mértani átlagot a következő képlettel kell kiszámítani:

$$X_{\text{mértani átlag}} = \sqrt[n]{X_1 * X_2 * \dots * X_n}$$

ahol:

X_1, X_2, \dots, X_n az egyedi vizsgálatok eredménye (4.10.1.pont), n az egyedi vizsgálatok száma.

5. ANTIBIOTIKUMOK ÉS SZULFONAMIDOK KIMUTATÁSA

5.1. Alkalmazási terület

Ez a módszer a nyers tej antibiotikum- és szulfonamid-tartalmának kimutatását írja le mikrobaszaporodás-gátláson alapuló tesztanyaggal. A vizsgálatra olyan tesztanyag használható, amely megfelel az MSZ EN ISO 13969:2005 „Tej és tejtermékek. Mikrobainhibitor-vizsgálatok szabványos leírásának irányelvei (ISO 13969:2005)” szabvány követelményeinek.

5.2. Fogalommeghatározás

Tesztanyag: Geobacillus stearothermophilus (Bacillus stearothermophilus var. calidolactis C 953) baktériumtörzset, agart, sav/bázis indokátort és a hivatkozott baktérium szaporodásához szükséges tápanyagot tartalmazó anyag, amelyet a gyártó utasításainak megfelelően kell használni.

5.3. A vizsgálat elve

Az antibiotikumok és a szulfonamidok lassítják, korlátozzák vagy leállítják a *Geobacillus stearothermophilus* (*Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* C 953) baktérium élettevékenységét, amelyet a tesztanyagban található sav/bázis indikátor színváltozása vagy színmegtartása jelez.

5.4. Berendezések és eszközök

5.4.1. *Vízfürdő vagy hőmérsékletszabályozott száraz-inkubátor*, amely alkalmas 64 ± 1 °C hőmérséklet tartására.

5.4.2. *Automata pipetta*, 0,1 ml térfogatú, egyszer használatos műanyag hegygel, amely alkalmas a minta bemérésére.

5.4.3. A gyártó által vizsgálatra előkészített *tesztanyag*, amely lehet sorozatvizsgálatra alkalmas, 96 mérőcellát tartalmazó lemez, vagy egyedi vizsgálatra alkalmas mérőcső.

5.5. Vegyszerek

5.5.1. Negatív kontrollminta

A tesztanyag érzékenységének rendszeres ellenőrzésére szolgáló olyan igazolt minőségű antibiotikum- és szulfonamid mentes tejminta, amelyet akkreditált laboratóriumban készítettek.

5.5.2. Pozitív kontrollminta

A tesztanyag érzékenységének rendszeres ellenőrzésére szolgáló olyan igazolt minőségű, 0,008 µg/ml penicillint tartalmazó tejminta, amelyet akkreditált laboratóriumban készítettek.

5.6. A vizsgálati minta előkészítése

A mintatartó edény többszöri, óvatos buktatásával és forgatásával keverjük meg a tejet. Ne keverjük a mintát olyan erősen, hogy a tejszír kiköpüljön, vagy a minta felhabosodjon.

5.7. Eljárás

5.7.1. A tesztanyag ellenőrzése

A tesztanyag vizsgálatra kész állapotban kerül forgalomba. A szavatossági időn belül a tesztanyag érzékenységét a vizsgálatokkal párhuzamosan negatív és pozitív kontrollmintákkal (5.5.1.- 5.5.2. pont) ellenőrizni kell. A tesztanyag érzékenysége akkor megfelelő, ha a vizsgálat a kontrollmintákra jellemző eredményt (5.8. pont) ad.

5.7.2. Vizsgálat

A vizsgálat előtt a tesztanyagról távolítsuk el a védőfóliát. Sorozatvizsgálatra alkalmas, lemezes kialakítású tesztanyag esetén legalább 3-3 mérőcellába, egyedi vizsgálatra alkalmas, csöves kialakítású tesztanyag esetén pedig 1-1 csöbe mérjünk be 0,1 ml negatív és pozitív kontrollt (5.5.1. - 5.5.2. pont). A vizsgálandó mintából pipetázzunk 0,1 ml-t a mérőcellába vagy a mérőcsöbe. Sorozatvizsgálatkor minden bemérés előtt cseréljük ki a pipettahegyet. A vizsgálólemezt, illetve a vizsgálócsövet ragasszuk le védőfóliával, majd azt a tesztanyag használati utasításában megadott időtartamig inkubáljuk $64 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$ hőmérsékleten. A vizsgálat

értékelését az inkubálási idő letelte után csak akkor lehet elvégezni, ha a negatív és a pozitív kontrollmintákat tartalmazó mérőcellák, illetve mérőcsövek mindegyike a tesztanyag használati utasításában megadott színváltozást és színmegtartást mutatja.

5.8. Értékelés

A vizsgált mintában az antibiotikumok és a szulfonamidok hiányát vagy jelenlétét a tesztanyag használati utasításában megadott színváltozás vagy színmegtartás alapján kell értékelni.

5.9. A vizsgálati eredmények megadása

A vizsgálat eredményét „negatív” vagy „pozitív” jelzéssel kell megadni.

– VÉGE –