

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

3-2-1/2004 számú irányelv

A nyers tej árkonzekvens minősítésének vizsgálati módszerei

2. kiadás, 2008.

1. §

1. Ezen irányelv az élelmiszerekről szóló 2003. évi LXXXII törvény 17. § (2) bekezdésének c) pontja 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 jogosult.
- 2.3. *Illetékes hatóság*: a mintavétel állami felügyeletét ellátó, a Földművelésügyi és Vidékfejlesztési Minisztérium által kijelölt szervezet.
- 2.4. *Tejtétel*: a tejtermelő gazdaságban vagy a tejgyűjtőben 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 betegségekben 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 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 zární, 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 egyneműsítéséhez,
- 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, merítős mintavevő) legyenek tiszták és sterilek. Az eszközök sterilizálására az alábbiakban felsorolt módszerek egyike alkalmazható.

- 5.2.1. Hőálló anyagba vagy fémdobozba csomagolt eszközök sterilizálása 170-175 °C hőmérsékleten hőlég-sterilizátorban legalább 1 órán át.
- 5.2.2. Hőálló anyagba vagy fémdobozba csomagolt eszközök sterilizálása 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 átforrásodásig.
- 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-átvétellel 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 bűvónyílásába 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 vesszük, 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 vegyük 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) engedjük 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 fűzzük át kb. 25-30 cm hosszúságú zsineget, majd hurokszerűen vezessük át közvetlenül a gyűrű alatt a mintatartó edény ellentétes oldalára. A zsinagszárakat 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 biztosítjuk. 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 36 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 tejszűjtőt 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 tejmennyiséget, amelyből a mintát vették,
- i) az adott tejtermelő gazdaság vagy tejszűjtő jellemző napi tejmennyiségét.

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 egyenlőssítsük. 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 36 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 elege tej, 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 elege tej-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 elege tej, a hazai elege tejekre 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 elege tejet (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 36 órán belül el kell végezni.

Az áthordás vizsgálat előtt a nyers elege tejből (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 méréssel 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” kötéseit által 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 tejcukorcsononként 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 krioszkópokkal 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 krioszkóp:* 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 krioszkóp 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. Krioszkóp

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 tejszír kiköppüljön 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 krioszóp tároló-rekeszébe, és indítsuk el a mérést. A mérést a használati utasításnak megfelelően a műszer automatikusan elvégzi, a minta fagyáspontja a krioszóp kijelzőjéről, típustól függően, m°C, vagy °C mértékegységben leolvasható.

2.9. Pontossági követelmények

A krioszóppal 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 sejt számának 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 sorozatvizsgálóra 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 folyadékréteget ultraibolya 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 referenciamódszerrel 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) melegítjük 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) telepépző 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 kell ellenőrizni. 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 (t_{α}) és metszéspontja (b) $P=95\%$ megbízhatósági szinten nem tér el egytől ($t_{\alpha_{P=95\%}}=1$), illetve nullától ($b_{P=95\%}=0$),
- a becslés hibája ($S_{y(x)} \leq 0,3 \lg \text{CFU}$),
- 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 Delvotest SP NT tesztanyaggal való kimutatására vonatkozik.

5.2. Fogalommeghatározás

Tesztanyag: *Geobacillus stearothermophilus* (*Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* C 953) baktériumtörzset, agart, brómkrezolbíbor-indikátort 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 brómkrezolbíbor-indikátor 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 kiköpuľödjön, 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 csőbe mérjünk be 0,1 ml negatív és pozitív kontrollt (5.5.1. - 5.5.2. pont). A vizsgálandó mintából pipetázunk 0,1 ml-t a mérőcellába vagy a mérőcsőbe. Sorozatvizsgálatkor minden bemérés előtt cseréljük ki a pipettahegyet. A vizsgálólemez, illetve a vizsgálócsövet ragasszuk le védőfóliával, majd 2,5-3 óráig inkubáljuk 64 ± 1 °C hőmérsékleten. A vizsgálat értékelését 2,5 óra után csak akkor lehet elvégezni, ha a negatív kontrollmintát tartalmazó mérőcellák, illetve mérőcsövek mindegyike sárga, a pozitív kontrollmintákat tartalmazók pedig lila színűek.

5.8. Értékelés

A tesztanyag sárga színe az antibiotikumok és a szulfonamidok hiányára, a lila szín azok jelenlétére utal.

5.9. A vizsgálati eredmények megadása

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

– *VÉGE* –