

DIN ISO 8784-1

ICS 07.100.99; 85.040; 85.060

**Faserstoff, Papier und Pappe –
Mikrobiologische Untersuchung –
Teil 1: Zählung von Bakterien und bakteriellen Sporen nach Desintegration
(ISO 8784-1:2014)**

Pulp, paper and board –

Microbiological examination –

Part 1: Enumeration of bacteria and bacterial spores based on disintegration
(ISO 8784-1:2014)

Pâtes, papiers et cartons –

Analyse microbienne –

Partie 1: Dénombrement des bactéries et des spores bactériennes basé sur la désintégration
(ISO 8784-1:2014)

Gesamtumfang 21 Seiten

DIN-Normenausschuss Papier, Pappe und Faserstoff (NPa)

Inhalt

	Seite
Nationales Vorwort.....	3
Nationaler Anhang NA (informativ) Literaturhinweise	3
Vorwort	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich.....	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe	6
4 Kurzbeschreibung	7
5 Nährmedien und Verdünnungsmittel	7
5.1 Allgemeines	7
5.2 Wasser	7
5.3 Nährmedien für die Gesamtkeimzahl und Sporenzahl.....	7
5.4 Verdünnungsmittel.....	7
6 Geräte und Ausrüstungen.....	8
6.1 Allgemeines	8
6.2 Auflistung der Ausrüstung	8
7 Probenahme	9
8 Vorbereitung des Untersuchungsmaterials.....	10
8.1 Allgemeines	10
8.2 Bestimmung des Trockengehaltes	10
8.3 Wägen	10
8.4 Desintegration.....	10
9 Bestimmung der Gesamtkeimzahl und der Sporenzahl.....	11
9.1 Allgemeines	11
9.2 Ausplattieren für die Gesamtkeimzahl.....	11
9.3 Ausplattieren für die Sporenzahl.....	12
9.4 Bebrütung.....	12
10 Zählung der Kolonien.....	12
11 Berechnung und Angabe	13
11.1 Berechnung.....	13
11.2 Auswertung.....	14
11.3 Angabe	14
12 Prüfbericht.....	14
Anhang A (informativ) Verdünnungsflüssigkeit.....	15
A.1 Ringer-Lösung.....	15
A.2 Nichtionisches Tensid	15
A.3 Trypton-Glucose-Extrakt.....	15
Anhang B (informativ) Präzision	16
B.1 Allgemeines	16
B.2 Ringversuch.....	16
Literaturhinweise.....	21

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (ISO 8784-1:2014) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 6 „Paper, board and pulps“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom SCC (Kanada) gehalten wird. Das zuständige deutsche Gremium ist der Arbeitsausschuss NA 074-02-01 AA „Chemisch-technische Prüfverfahren für Papier, Pappe, Faserstoff und Chemiezellstoff“ im DIN-Normenausschuss Papier, Pappe und Faserstoff (NPa).

Dieses Dokument ist die Übernahme der Internationalen Norm ISO 8784-1:2014.

Für die in diesem Dokument zitierten Internationalen Normen wird im Folgenden auf die entsprechenden nationalen Normen hingewiesen.

ISO 186:2002	siehe DIN EN ISO 186: 2002-08
ISO 638:2008	siehe DIN EN ISO 638:2009-01
ISO 4833:2003	siehe DIN EN ISO 4833:2003-06
ISO 7213:1981	siehe DIN EN 27213:1993-11
ISO 7218	siehe DIN EN ISO 7218
ISO 11133	siehe DIN EN ISO 11133
ISO/TS 19036	siehe DIN ISO/TS 19036 (DIN SPEC 10125)

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 186:2002-08, *Papier und Pappe — Probenahme zur Bestimmung der Durchschnittsqualität (ISO 186:2002); Deutsche Fassung EN ISO 186:2002*

DIN EN ISO 638:2009-01, *Papier, Pappe und Faserstoff — Bestimmung des Trockengehaltes — Wärmeschränkverfahren (ISO 638:2008); Deutsche Fassung EN ISO 638:2008*

DIN EN ISO 4833:2003-06, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Horizontales Verfahren für die Zählung von Mikroorganismen — Koloniezählverfahren bei 30 °C (ISO 4833:2003); Deutsche Fassung EN ISO 4833:2003^{N1)}*

DIN EN 27213:1993-11, *Zellstoff — Probenahme für die Prüfung (ISO 7213:1981); Deutsche Fassung EN 27213:1993*

DIN EN ISO 7218, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Allgemeine Anforderungen und Leitlinien für mikrobiologische Untersuchungen*

DIN EN ISO 11133, *Mikrobiologie von Lebensmitteln, Futtermitteln und Wasser — Vorbereitung, Herstellung, Lagerung und Leistungsprüfung von Nährmedien*

DIN ISO/TS 19036 (DIN SPEC 10125), *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Anleitung zur Feststellung von Messunsicherheiten bei quantitativen Bestimmungen*

N1) Nationale Fußnote: Inzwischen ersetzt durch DIN EN ISO 4833-1:2013-12 und DIN EN ISO 4833-2:2013-12.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung von Nationalen Normungsorganisationen (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird normalerweise von ISO Technischen Komitees durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale Organisationen, staatlich und nicht-staatlich, in Liaison mit ISO, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) bei allen elektrotechnischen Themen zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC-Direktiven, Teil 1 beschrieben. Im Besonderen sollten die für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten notwendigen Annahmekriterien beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der empfangenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname wird als Information zum Nutzen der Anwender angegeben und stellt keine Anerkennung dar.

Eine Erläuterung der Bedeutung ISO-spezifischer Benennungen und Ausdrücke, die sich auf Konformitätsbewertung beziehen, sowie Informationen über die Beachtung der WTO-Grundsätze zu technischen Handelshemmnissen (TBT, en: Technical Barriers to Trade) durch ISO enthält der folgende Link: Foreword - Supplementary information.

Das zuständige Komitee für dieses Dokument ist ISO/TC 6, *Paper, board and pulps*, Subcommittee SC 2, *Test methods and quality specifications for paper and board*.

Diese dritte Ausgabe der ISO 8784-1:2015 ersetzt die zweite Ausgabe (ISO 8784-1:2005), die fachlich überarbeitet wurde.

Die zweite Ausgabe galt für Hefe- und Schimmelpilze sowie für Bakterien. Bezogen auf die vorherige Ausgabe wurden die folgenden hauptsächlichen Änderungen vorgenommen:

- die vorliegende dritte Ausgabe gilt nur für Bakterien und bakteriellen Sporen und nicht mehr für Hefe- und Schimmelpilze;
- die Bebrütungstemperatur ändert sich von $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ auf $(32 \pm 2) ^\circ\text{C}$ (9.4);
- es sind zwei parallele Bestimmungen durchzuführen (Abschnitt 8 und Abschnitt 9);
- das Ergebnis kann als Ergänzung zur Angabe im Bericht auf der Basis Trockenmasse als „im Anlieferungszustand“ angegeben werden (8.2, 11.1 und Abschnitt 12).

ISO 8784 besteht unter dem Haupttitel *Pulp, paper and board — Microbiological examination* aus den folgenden Teilen:

- *Part 1: Enumeration of bacteria and bacterial spores based on disintegration*

Einleitung

Dieser Teil von ISO 8784, der die mikrobiologische Untersuchung von trockenem Marktzellstoff, Papier und Pappe behandelt, beruht weitgehend auf ISO 4833 [1], auch wenn die Bedingungen nicht identisch sind. Jedoch ermöglicht das dargestellte Verfahren die spezifische Anzucht, falls erforderlich. Das dargestellte Verfahren ist vorgesehen für die Schätzung der koloniebildenden Einheiten, KBE, aeroben Bakterien und bakteriellen Sporen.

Aufgrund der anspruchsvollen Techniken, die bei aseptischen Verfahrensweisen erforderlich sind, können Ergebnisse von reproduzierbar guter Qualität nur durch qualifizierte Facharbeiter im Bereich Mikrobiologie sichergestellt werden.

Faserstoff, Papier und Pappe — Mikrobiologische Untersuchung — Teil 1: Zählung von Bakterien und bakteriellen Sporen nach Desintegration

1 Anwendungsbereich

Dieser Teil von ISO 8784 legt ein Verfahren zur Bestimmung der Gesamtanzahl von koloniebildenden Einheiten von Bakterien und bakteriellen Sporen in trockenem Marktzellstoff, Papier und Pappe nach Desintegration fest. Die Zählung ist auf spezifische Medien bezogen.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente, die in diesem Dokument teilweise oder als Ganzes zitiert werden, sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

ISO 186:2002, *Paper and board — Sampling to determine average quality*

ISO 638:2008, *Paper, board and pulps — Determination of dry matter content — Oven-drying method*

ISO 7213:1981, *Pulps — Sampling for testing*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1 Bakterien

mikroskopische einzellige Organismen, die eine prokaryotische Art der Zellstruktur aufweisen, sich durch Teilung vermehren und in der Lage sind, unter den in diesem Teil von ISO 8784 festgelegten Prüfbedingungen zu wachsen

3.2 bakterielle Sporen

äußerst widerstandsfähige Strukturen im Ruhezustand

BEISPIEL Endosporen von bestimmten Bakteriengattungen.

3.3 Gesamtkeimzahl

Anzahl der koloniebildenden Einheiten (KBE) von Bakterien und bakteriellen Sporen, die sich nach der Bebrütung in einem genormten Nährmedium unter den in diesem Teil von ISO 8784 festgelegten Prüfbedingungen gebildet haben

3.4 Sporenzahl

Anzahl der koloniebildenden Einheiten (KBE) von bakteriellen Sporen, die sich nach der Bebrütung in einem genormten Nährmedium unter den in diesem Teil von ISO 8784 festgelegten Prüfbedingungen gebildet haben

4 Kurzbeschreibung

Dieses Gussplattenverfahren schließt die Zählung von Kolonien in einem genormten Nährmedium ein. Eine aus Papier-, Pappe- oder Faserstoffproben hergestellte Fasersuspension wird in Agar ausplattiert. Es werden zwei parallele Bestimmungen durchgeführt. Für die Zählung von bakteriellen Sporen wird die Fasersuspension vor dem Ausplattieren 10 min bei 80 °C erhitzt. Die Platten werden 48 h bei 32 °C bebrütet. Die Gesamtanzahl von Bakterien oder bakteriellen Sporen wird durch Zählung der im Agar gebildeten Kolonien ermittelt.

Der Mittelwert von 2 parallelen Bestimmungen wird berechnet und die Ergebnisse werden als die Anzahl von KBE je Gramm Probe angegeben.

5 Nährmedien und Verdünnungsmittel

5.1 Allgemeines

Alle Substrate und Verdünnungsmittel müssen angemessen sterilisiert sein. Bei der Herstellung des Nährmediums ist sicherzustellen, dass die Bestandteile vor dem Abfüllen in geeignete Behälter für die Sterilisation durch Mischen unter Erwärmen vollständig gelöst sind. In Bezug auf die Qualitätssicherung und Anleitungen zur Vorbereitung und Herstellung von Nährmedien siehe ISO 11133 [2].

5.2 Wasser

Wird in einer Rezeptur Wasser erwähnt, wird destilliertes oder gereinigtes Wasser verwendet, siehe ISO 11133 [2].

5.3 Nährmedien für die Gesamtkeimzahl und Sporenzahl

Das Nährmedium muss wie folgt oder aus handelsüblichen Trockennährmedien nach den Herstelleranweisungen hergestellt werden. Ein Fertigmedium darf verwendet werden, wenn seine Zusammensetzung mit der in diesem Teil von ISO 8784 angeführten Zusammensetzung vergleichbar ist. Hinsichtlich der Leistungsprüfung des Nährmediums siehe ISO 11133 [2].

Zusammensetzung des Keimzählagars (en: Plate count agar, PCA) je Liter:

Trypton	5,0 g
Hefeextrakt	2,5 g
Glucose	1,0 g
Agar	15,0 g
Wasser	1 000 ml
endgültiger pH-Wert	7,0 ± 0,2

Wenn kein PCA zur Verfügung steht, darf Trypton-Glucose-Extrakt-Agar (TGE-Agar) verwendet werden (siehe A.3). Die Verwendung von TGE als alternatives Nährmedium ist zulässig, wenn es zu Ergebnissen führt, die mit denen des Standard-Nährmediums vergleichbar sind. Das verwendete Nährmedium muss im Prüfbericht angeführt werden (siehe Abschnitt 12).

5.4 Verdünnungsmittel

Eine Ringer-Lösung (siehe A.1) wird bevorzugt, obwohl auch andere isotonische Lösungen verwendet werden dürfen. Ringer-Tabletten sind im Handel erhältlich.

Um die Freisetzung von Zellen aus den Fasern zu erleichtern, wird empfohlen, vor der Sterilisation durch Autoklavieren, 20 µl Tween 80 (siehe A.2) je Liter zu der Ringer-Lösung hinzuzufügen.

Das verwendete Verdünnungsmittel und die Angabe, ob Tween 80 hinzugefügt wurde, müssen im Prüfbericht (siehe Abschnitt 12) angeführt werden.