



SÜDZUCKER

# Ocena czystości mikrobiologicznej cystern przewożących cukier luzem

dr Dagmara Wojtków  
Teresa Basińska Jesior

- **Mycie i dezynfekcja**
- **Kontrola mikrobiologiczna**
- **Luminometria**
- **Proces badań**
- **Podsumowanie**





**Proces mycia:** oderwanie cząsteczek zanieczyszczeń z powierzchni, w tym tych które tworzą warstwę adhezyjną zwaną biofilmem. W warstwie tej mogą znajdować się drobnoustroje, które są niewrażliwe na działanie środków myjących i dezynfekujących. Tworzeniu biofilmu sprzyja długi czas pomiędzy poszczególnymi etapami mycia, oraz obecność bakterii wytwarzających duże ilości zewnątrzkomórkowych polisacharydów (glikokaliks).

- **Czyszczenie**
- **Płukanie wstępne**
- **Mycie wodą z dodatkiem środków myjących**
- **Płukanie pośrednie**
- **Suszenie**



**Wskaźnikiem czystości urządzeń oraz prawidłowości procesów mycia i dezynfekcji jest stopień zanieczyszczenia powierzchni.**

## Metody kontroli higieny - klasyczne:



ocena ilościowa i jakościowa wybranych mikroorganizmów



niezwykle czasochłonne, wynik badań uzyskiwany po kilku dniach

## Metody kontroli higieny - alternatywne:



szybkie, nie wymagają konwencjonalnego wyposażenia laboratorium mikrobiologicznego

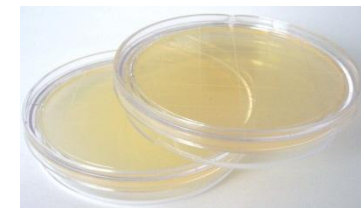


działanie niespecyficzne – nie rozróżniania typu mikroorganizmów

**Ważne: ocena wizualna**

## Wybór metody do badań określonej powierzchni - zależy od rodzaju powierzchni.

- **Metoda wymazów (tamponowa)** – wykorzystywana do oceny zanieczyszczeń powierzchni płaskich i wypukłych, takich jak: beczki, kontenery, zawory. Próby pobiera się za pomocą wymazówek, tamponów z waty, gazy lub gąbki. Pobraną próbę przenosi się do jałowego płynu do wymazów (najczęściej zbuforowana woda peptonowa), dokładnie wstrząsa a następnie posiewa na płytki z kompleksową pożywką agarową lub selektywną pożywką płynną w zależności od rodzaju oznaczanej mikroflory.
- **Metoda odciskowa** - używana do oznaczania stopnia zanieczyszczenia mikrobiologicznego powierzchni gładkich, płaskich powierzchni produkcyjnych, folii opakowaniowych, wieczek. Próby pobiera się za pomocą testów łopatkowych i płytek kompaktowych o powierzchniach lekko wypukłych, ściśle przylegających do badanej powierzchni. Następnie próby inkubuje się.





- **Metoda wypłukiwania** - służy do oceny czystości mikrobiologicznej opakowań jednostkowych szklanych, plastikowych lub metalowych. Badane opakowanie wypłukuje się określoną objętością jałowego płynu izotonicznego. Następnie wykonuje się posiew na odpowiednie pożywki.
- **Metoda filtracji membranowej** - stosowana do określenia liczby drobnoustrojów w środowiskach o małym stopniu zanieczyszczenia, takich jak np. w cukrze - substancji rozpuszczalnej w wodzie. Liczebność drobnoustrojów w takim środowisku wynosi zwykle poniżej 30 komórek w  $1\text{cm}^3$ , stąd konieczność oznaczania liczby w większej objętości np. 50, 100  $\text{cm}^3$  a nawet 500  $\text{cm}^3$ . Metoda polega na przesączeniu określonej objętości badanego roztworu cukru przez filtr membranowy o wielkości porów 0,2 – 0,45  $\mu\text{m}$  pod próżnią. Filtr z zebranymi mikroorganizmami przenosi się na powierzchnię odpowiedniej pożywki zestalanej agarem lub na bibułę nasączoną pożywką płynną umieszczoną na płytkach Petriego. Płytki inkubuje się i następnie liczy się kolonie, które wyrosły na powierzchni filtru, co odpowiada ilości mikroorganizmów w objętości lub masie badanej substancji wziętej do analizy.



**Luminometria** – metoda pozwalająca na wykrycie zawartości ATP (*adeozynotrifosforan*) w żywych komórkach. Metoda oparta jest na zasadzie wykrywania emitowanego światła powstającego przy enzymatycznym rozkładzie ATP. Wyemitowana energia jest proporcjonalna do zawartości ATP w komórkach organizmów i daje się oznaczać za pomocą czułego fotodetektora – luminometru, w tzw. relatywnych jednostkach świetlnych (*relative light unit RLU*).

Ilość ATP zależy od stanu fizjologicznego oraz rodzaju mikroorganizmu. Komórki drożdżowe zawierają około 100 razy więcej ATP niż komórki bakteryjne. Bakterie gramdodatnie zawierają około 10 razy więcej ATP niż bakterie gramujemne.

Mikroorganizmy	ATP [fg/komórkę]
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	0,7
<i>Escherichia coli</i>	1
<i>Lactobacillus sp.</i>	2,0÷2,2
Kultura mieszana bakterii	1
Kultura mieszana drożdży	100

Luminometria charakteryzuje się dużą czułością i dokładnością pomiarów oraz krótkim czasem oznaczenia. Określa stopień zanieczyszczenia organicznego (pozostałości roślinne i zwierzęce) oraz mikrobiologicznego.

## Zastosowanie:

- Kontrola stanu higienicznego powierzchni produkcyjnych
- Kontrola mikrobiologiczna produktów żywnościowych
- Ocena skuteczności mycia
- Monitoring w systemie HACCP
- Badanie czystości samochodów transportujących żywność





## CEL BADAŃ:

Kontrola stanu mikrobiologicznego autosilosów zarówno przed jak i po transporcie cukru.

## ZAŁOŻENIA:

- Powierzchnia wymazu: 25 cm<sup>2</sup>
- Kontrola powierzchni cystern: metoda luminometryczna (*Luminotester PD-10*), odciskowa PN-ISO 18593



metoda odciskowa	ogólna liczba drobnoustrojów	68 h
	pleśnie i drożdże	5 h
metoda luminometryczna	ATP	10 sek

- Analiza czystości mikrobiologicznej cukru kierowanego do autosilosów: metoda filtracyjna ICUMSA GS 2/3-41, 47

# Miejsca poboru prób



SÜDZUCKER

max: 400  
RLU/ 25 cm<sup>2</sup>



Właz górny (załadunek do silosu)

max: 400  
RLU/ 25 cm<sup>2</sup>



Właz rozładunkowy (rozładunek silosu)



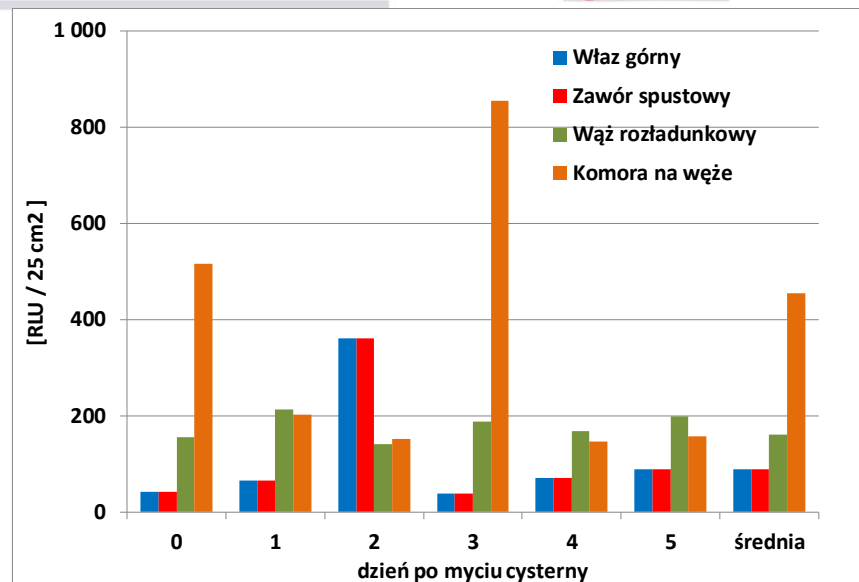
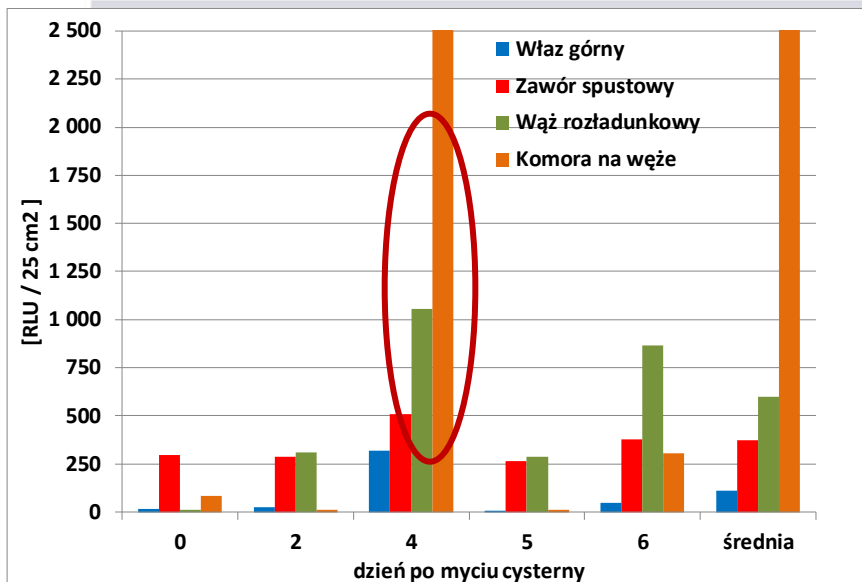
Komora na węże

max: 400  
RLU/ 25 cm<sup>2</sup>



Wąż rozładunkowy

# ..kontrola czystości cystern załadowniczych....

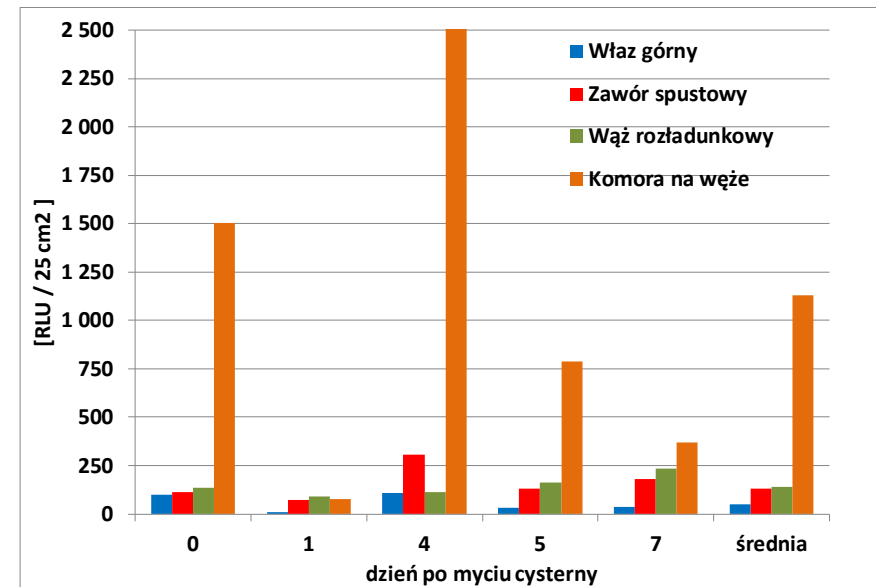
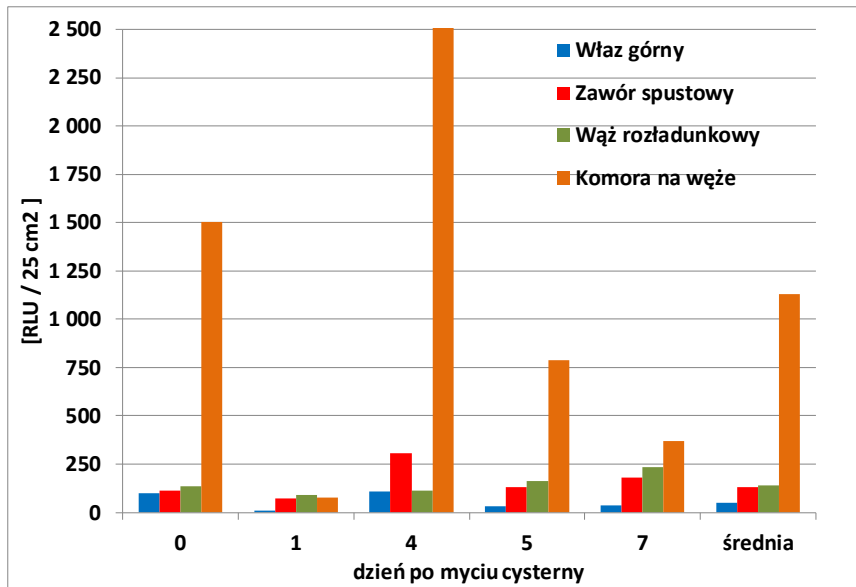


- Konieczność prowadzenia systematycznych badań czystości powierzchni silosów do przewozu cukru.
- Konieczność uszczelniania końcówek węża w trakcie transportu, gdyż dla powierzchni komory do której wkładano wąż, miała bardzo wysoki wynik pomiarów luminometrycznych.

# ..kontrola czystości cystern załadowniczych....



SÜDZUCKER



- Kontrola powierzchni mikrobiologicznej silosu w funkcji czasu mijającego od dnia mycia, wykazała stabilny poziom czystości dla włazu górnego oraz zaworu spustowego. Brak wtórnych zanieczyszczeń w cyklu 7-dniowym stosowania tych zbiorników do przewozu cukru.

# ..kontrola czystości cystern załadowniczych....



SÜDZUCKER

	miesiąc:	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
Właz górny	Ogólna liczba bakterii mezofilnych [jtk/25cm <sup>2</sup> ]	0	19	0	-	0	0	-
	Liczba drożdży [jtk/25cm <sup>2</sup> ]	0	0	0	-	0	0	-
	Liczba pleśni [jtk/25cm <sup>2</sup> ]	0	0	0	-	0	0	-
	[ RLU/25cm <sup>2</sup> ]	112	89	36	48	8	93	69

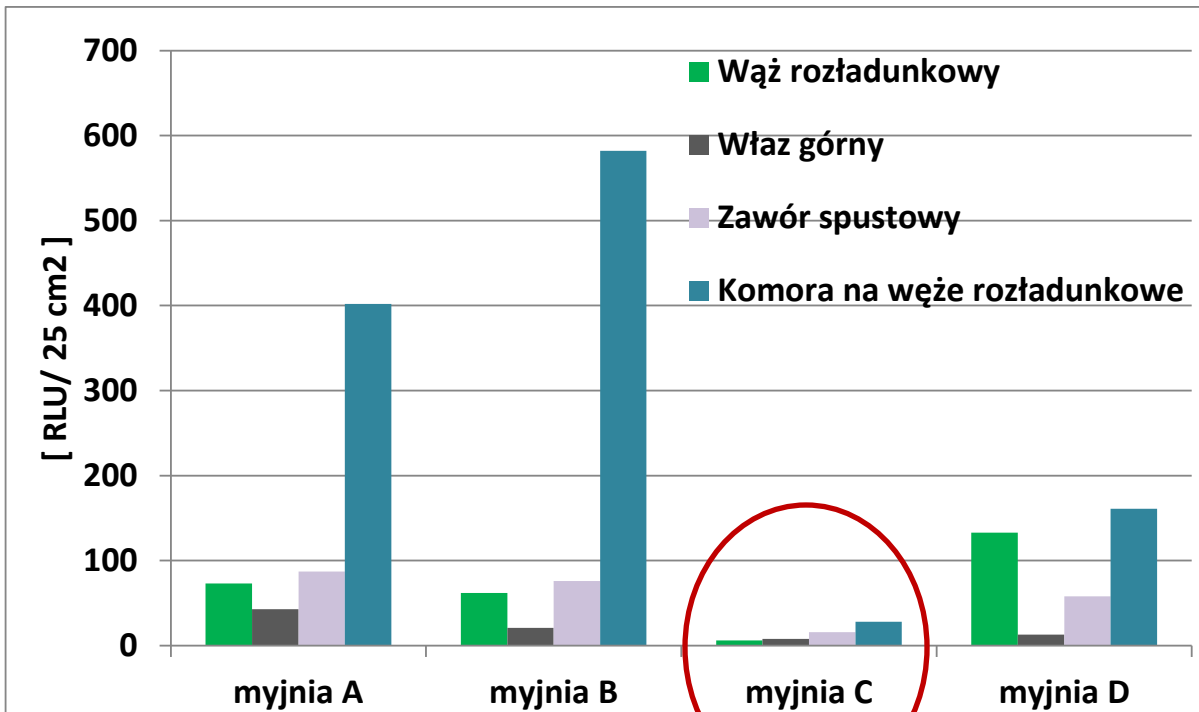
**Limit dopuszczalny:**  
**Ogólna liczba bakterii: 150 jtk/ 25 cm<sup>2</sup>**  
**Liczba drożdży: 10 jtk/ 25 cm<sup>2</sup>**  
**Liczba pleśni: 10 jtk/ 25 cm<sup>2</sup>**

Potwierdzenie wskazań luminometru metodą klasyczną: 1 x miesiąc (ogólna liczba bakterii liczba drożdży i pleśni) = dobra korelacja wyników RLU z wynikami klasycznej analizy mikrobiologicznej.

# ..kontrola czystości cystern załadowniczych....



SÜDZUCKER



## ..badania mikrobiologiczne cukru....



SÜDZUCKER

		V	VI	VII	VIII	IX	X
Ogólna liczba bakterii	[jtk/10g]	8	57	112	20	10	110
Liczba drożdży	[jtk/10g]	0	0	0	0	0	Mniej niż 1
Liczba pleśni	[jtk/10g]	0	1	1	0	0	Mniej niż 1
Bakterie z gr. coli	[jtk/1g]	Nie wykryto	Nie wykryto	Nie wykryto	Nie wykryto	Nie wykryto	Mniej niż 1
<i>Salmonella</i>	[jtk/25g]	Nie wykryto	Nie wykryto	Nie wykryto	Nie wykryto	Nie wykryto	Mniej niż 1

**Limit dopuszczalny:**

**Ogólna liczba bakterii: 200 jtk/ 10 cm<sup>2</sup>**

**Liczba drożdży: 10 jtk/ 10 cm<sup>2</sup>**

**Liczba pleśni: 10 jtk/ 10 cm<sup>2</sup>**

**Salmonella: 0 jtk/ 25g cukru**

**Bakterie z gr. coli: 0jtk / 1 g cukru**

**Wniosek: cukier nie wpływa znacząco na stan zanieczyszczenia mikrobiologicznego silosów stosowanych do przewozu, jednak zależność odwrotna może mieć istotne znaczenie.**



- **Żadne z otrzymanych wyników badań stanu czystości mikrobiologicznej cukru nie przekroczyły przyjętych wartości maksymalnych.**
- **Przyjęty poziom maksymalnych dopuszczalnych zanieczyszczeń powierzchni metodą luminometryczną wynoszący 400 RLU został właściwie dobrany dla badanych powierzchni cystern: wjazdu górnego i zaworu spustowego.**
- **Komora na węże była najbardziej krytycznym punktem stanu higienicznego silosu do przewozu cukru.**
- **Przeprowadzone pomiary luminometryczne czystości silosów do cukru wskazują na konieczność stałego monitorowania poziomu ich czystości przed załadunkiem cukru.**
- **W wyniku przeprowadzonych pomiarów stwierdzono, że system mycia i dezynfekcji automatyczny CIP w specjalistycznych myjniach jest skuteczny dla prowadzenia bezpiecznej wysyłki cukru.**





- **Istniejące tradycyjne, znormalizowane metody wykrywania oraz ilościowego oznaczania drobnoustrojów są czasochłonne i nie dają natychmiastowych rezultatów**  
**W zależności od stosowanych pożywek – minimalny czas inkubacji wynosi 48 h**
- **Metodami luminometrycznymi można określić nie tylko żywe drobnoustroje ale i substancje organiczne będące pożywką dla mikroorganizmów oraz określić zdolność drobnoustrojów do adhezji.**
- **Luminoscencja jest testem niespecyficznym tzn. nie odróżnia poszczególnych typów mikroorganizmów.**
- **Spory bakterii nie są wykrywalne metodami luminometrycznymi**
- **Jednakże istnieje korelacja pomiędzy metodami klasycznymi i luminometrycznymi.**
- **Metoda luminometryczna znakomicie nadaje się do szybkiej oceny czystości mikrobiologicznej samochodów przewożących cukier.**



SÜDZUCKER

**Dziękuję za uwagę...**

