



Streszczenie raportu sekcji S6 ICUMSA „Metody mikrobiologiczne”

prezentowanego na 30 Sesji ICUMSA
Warszawa
9-10 czerwca 2016 r.

Dr inż. Agnieszka Papiewska

Institut Technologii i Analizy Żywności PŁ
Zakład Cukrownictwa





International Commission
for Uniform Methods
of Sugar Analysis

S6 Microbiological Methods:

Referee

Dr Maritta Jacobs

**Pfeifer & Langen GmbH & Co.KG,
Germany**





Associate Referees

Ms. Virginie Adam (Francja)

Mr. Wim Antheunis (Belgia)

Dr Mr. Christer Bergwall (Szwecja)

Ms. Silvia Raquel Bettani (Brazil)

Ms. Miriam van den Blik (Holandia)

Ms. Teresa Ciołak (Polska)

Mr. B. Forse (Guyana)

Mr. Seelavarn Ganeshan (Mauritius)

Mr. Mark Goddard (Wielka Brytania)

Dr Ms. Claudia Graue (Niemcy)

Ms. Eva Horváth (Węgry)

Dr Mr. Michael Klingeberg (Niemcy)

Dr Mr. Sadashiv Nimbalkar (Indie)

Ms. Marianne Oakley-Heemels (Wielka Brytania)

Dr. Mr. Markus Omann (Austria)

Dr Ms. Agnieszka Papiewska (Polska)

Ms. Marja Pelo (Finlandia)

Ms. Indrani S. Samaraweera (USA)

Mr. Jiri Smolik (Czechy)

Dr. Mr. Eberhard Stoppok (Niemcy) emeryt

Ms. Defne Süral (Turcja)

Mr. Wokimar Teixeira Garcia (Brazylia)



Tematy prezentowane w raporcie

- ↳ **Spotkania 2015/16 mikrobiologów z Europy uczestniczących w pracach sekcji S6 ICUMSA**
- ↳ **Testy biegłości LGC realizowane zgodnie z programem SUGAR PROFICIENCY SCHEME w rundach MICRO**
- ↳ **Mikrobiologiczne metody ICUMSA**
- ↳ **Rekomendacje**



Spotkania europejskich mikrobiologów 2015/16 pracujących dla przemysłu cukrowniczego

**Marzec 2015 (ósme) Centrum Badań
i Innowacji Agrana (ARCI), Tulln
w Austrii, zaproszeni przez Markusa
Omann;**

**Kwiecień 2016 (dziewiąte): BENE-Orafti
w Tienen, Belgia, zaproszeni przez
Wima Antheunis**





Uczestnicy spotkania z kwietnia 2016:

Wim Antheunis

Südzucker Group

Christer Bergwall

Nordzucker Group (Nordic Sugar)

Miriam van den Blik

Cosun (Food Technology Centre)

Mark Goddard

British Sugar

Claudia Graue

Niemcy

Marianne Heemels

British Sugar (nowy członek S6)

Maritta Jacobs

Pfeifer & Langen

Michael Klingeberg

Südzucker

Markus Oman

Südzucker Group, ARIC, Tulln/Agrana

Gość w dyskusji:

**Veronique Breyne - Coca Cola Services,
European Quality Centre Brussels**



Tematyka spotkania:

- ↳ zapytania dotyczące nowych metod ICUMSA podkreślają ich znaczenie:
 - ✓ oznaczania TAB (Sugar Processing Research Institute-SPRI zbiera dane dla TAB w celu ustalenia, czy istnieją jakieś tendencje w zakresie:
 - gdzie bakterie występują lub nie są wykrywane
 - czy produkują gwajakol czy nie?
 - ✓ oznaczania mikroorganizmów osmofilnych
- ↳ Metoda ICUMSA do oznaczania bakterii z grupy coli typu kałowego/ *E.coli*
- ↳ Metoda ICUMSA do oznaczania osmotolerancyjnych drożdży i pleśni
- ↳ Optymalizacja starszych metod

Zapytania dotyczące metod ICUMSA

Termofilne kwasolubne bakterie (TAB) i termofilne kwasolubne bakterie produkujące gwajakol (GP-TAB)

- 👍 szczepy *Alicyclobacillus* nie są szkodliwe, jedynie mogą dawać aseptyczny zapach i posmak, szczególnie w nieutrwalanych kwaśnych napojach;
- 👍 kontrola procesu produkcji jak i powietrza w cukrowni wykazywała małą częstotliwość występowania TAB jak i bardzo niskie poziomy;
- 👍 bakterie w krystalicznym i płynnym cukrze z buraków cukrowych;
- 👍 przeprowadzono badania międzylaboratoryjne w rundach SUPS Testów Mikrobiologicznych przy udziale laboratoriów mikrobiologicznych różnych producentów cukru

Metoda ICUMSA GS2/3-50 (2013) „Oznaczanie termofilnych bakterii kwasolubnych (TAB) i termofilnych bakterii kwasolubnych produkujących gwajakol (GP-TAB) w produktach cukrowniczych” – TYMCZASOWA

- 📌 została zaprezentowana po raz pierwszy w Cambridge w 2012;
- 📌 została zmieniona po dyskusji podczas sesji ICUMSA w 2014
 - do oznaczania TAB – podłoże YSG-Agar
 - do oznaczania gwajakolou - podłoże VA-YSG
- 📌 do walidacji podłoży jak i sączków filtracyjnych zastosowano materiał typu BioBalls;
 - różne materiały filtracyjne mogą dawać odmienne wyniki odzysku
- 📌 Wyniki ostatnich rund badań SUPS Micro wykazały użyteczność tej metody.

Rekomendacja

Metoda ICUMSA GS2/3-50 (2013) „Oznaczanie termofilnych bakterii kwasolubnych (TAB) i termofilnych bakterii kwasolubnych produkujących gwajakol (GP-TAB) w produktach cukrowniczych” –

TYMCZASOWA → **AKCEPTOWALNA**

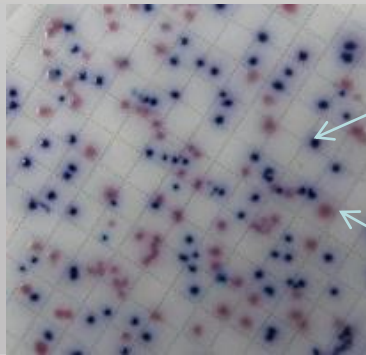
Zapytania dotyczące metod ICUMSA

***Escherichia coli* i bakterii z grupy coli**

☝ *E. coli* i bakterie z grupy coli są wskaźnikiem stanu higienicznego procesu produkcji;

Metoda „Oznaczanie β -glukuronidazo dodatnich *Escherichia coli* i β -galaktozydazo dodatnich bakterii z grupy coli w cukrze i produktach cukrowniczych metodą filtracji membranowej” – TYMCZASOWA

- po raz pierwszy zaprezentowana w 2014 r.
- po dyskusji podczas sesji zmodyfikowana przez Michael Klingeberga, np. opis wyglądu kolonii:



niebieskie (blue/violet) – *E.coli*

fioletowe – *Enterobacter aerogenes*

Rekomendacja

Metoda „Oznaczanie β -glukuronidazo dodatnich *Escherichia coli* i β -galaktozydazo dodatnich bakterii z grupy coli w cukrze i produktach cukrowniczych metodą filtracji membranowej” – **TYMCZASOWA**

Osmotolerancyjne drożdże i kserotolernacyjne pleśnie

- 👉 mogą być problemem w produktach o niskiej aktywności wody
- 👉 zalecane w normie **ISO 21527-2** podłoże do oznaczenia drożdży i pleśni w produktach o aktywności wodnej mniejszej lub równej 0,95 to tzw. DG-18 (Dichloran (18%), gliceryna, agar)
- 👉 aby zmniejszyć aktywność wody do ok. 0,93 zaproponowano zmodyfikowane DG-18 pod nazwą DG-18M zawierające dodatkowo sacharozę (200g/1l), podwyższoną ilość glukozy (50 g/1l) i gliceryny (50g/1l)

Rekomendacja

Metoda „Oznaczanie osmotolerancyjnych drożdży i kserotolerancyjnych pleśni w produktach cukrowniczych metodą płytkową lub filtracji membranowej” – **TYMCZASOWA**

- ☞ Metoda będzie badana na próbach cukru "naturalnie" zakażonego w ramach testów SUPS

Optymalizacja starszych metod

Metoda ICUMSA GS2/3-42 (2002)

„ Pobieranie próbek produktów cukrowniczych wysokiej czystości do analiz mikrobiologicznych ” – OFICJALNA

- ☞ opis materiałów do pobierania próbek jest nieaktualny/przestarzały, np. nie wspomniana się o zastosowaniu materiałów jednorazowego użytku;
- ☞ metoda zostanie zaktualizowana i przedstawiona podczas następnej sesji ICUMSA

Optymalizacja starszych metod

Metoda ICUMSA GS2/3-45 (2002)

„Oznaczanie bakterii tworzących śluzy w produktach cukrowniczych wysokiej czystości metodą płytkową lub metodą filtracji membranowej ” – OFICJALNA

- ☞ w 2002 roku dodano w tej metodzie pożywkę MRS do wykrywania bakterii kwasu mlekowego bez komentarza dotyczącego zliczania bakterii kwasu mlekowego,
- ☞ na zalecanych w metodzie podłożach Wemana lub McClesky' Faville'a dobrze oznacza się liczbę bakterii z rodzaju *Leuconostoc* i innych bakterii tworzących śluzy,
- ☞ zaproponowano usunięcie podłoża MRS

Rekomendacja

Metoda ICUMSA GS2/3-45 (2002)

„Oznaczanie bakterii tworzących śluzy w produktach cukrowniczych wysokiej czystości metodą płytkową lub metodą filtracji membranowej ” – OFICJALNA

- 📌 Wykreślenie z metody podłoża MRS

Optymalizacja starszych metod

Metoda ICUMSA GS2/3-47 (1998)

„Oznaczanie drożdży i pleśni w produktach cukrowniczych wysokiej czystości metodą płytkową lub metodą filtracji membranowej” – OFICJALNA

- ☞ zalecenie: „Odwrócić płytki Petriego i inkubować przez 72 godziny w 30°C” należy zweryfikować co do:
 - ☀ odwróconej pozycji, aby uniknąć porostania koloni satelitarnych przez pleśnie,
 - ☀ czasu inkubacji, który powinien wynosić od 3 do 5 dni, szczególnie do wykrywania pleśni;
- ☞ dyskutowano nad obniżeniem temperatury inkubacji do 25°C (tak jak w normie **ISO 21527-1** i **ISO 21527-2**) – decyzja wymaga eksperymentów;
- ☞ Wyniki eksperymentów z zastosowaniem różnego czasu i temperatury inkubacji zostaną omówione podczas następnego spotkania mikrobiologów

Doświadczenia z SUPS Micro

System badań biegłości realizowany przez LGC w programie **Sugar Proficiency Scheme** obejmuje badanie metod mikrobiologicznych w rundach **Micro**

- ↳ małe zakażenie badanego materiału może powodować wyniki fałszywie ujemne oraz większe niedokładności pomiaru,
- ↳ najlepiej jeśli w próbkach SUPS Micro liczba komórek w specyfikacji, będzie określona na:
 - 20 do 50 jtk dla drożdży i pleśni,
 - od 100 do 200 jtk dla ogólnej liczby bakterii.

**Następne planowane spotkanie mikrobiologów
sekcji S6:**

... kwiecień 2017

