

J. Iciek¹, U. Cywińska²
H. Stobińska³, P. Stolarek²

¹Institut Chemicznej Technologii Żywności,
²Institut Inżynierii Chemicznej i Procesowej,
³Institut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii
Politechnika Łódzka

Badanie skuteczności ciągłej sterylizacji termicznej cieczy

1. Wprowadzenie

Większość procesów biotechnologicznych jest realizowana na skalę przemysłową w sposób okresowy, ale coraz częściej zmierza się do stosowania metod ciągłych (1,2) z uwagi na ich bezsprzeczne zalety (3,4,5).

Opracowanie ciągłego procesu biotechnologicznego oznacza również konieczność opanowania ciągłej metody sterylizacji podłoża dla biotechnologii. Podłoża dla biotechnologii w kraju sterylizuje się termicznie i na ogół okresowo bezpośrednio w fermentorze lub w autoklawach. Tak jest np. w wytwórniach kwasu cytrynowego (Pelplin, Racibórz, Zgierz), w wytwórniach biopreparatów (Olsztyn, Wałcz), w wytwórniach preparatów enzymatycznych (Jasło, Wałcz), przy produkcji antybiotyków (Tarnów, Pabianice), w drożdżowniach (Niechcice, Tczew), przy produkcji dekstranu (Kutno). Z ciągłą sterylizacją termiczną metodą iniekcji pary do cieczy w przepływie spotkano się w Wytwórni Wódek i Drożdży w Józefowie k. Błonia. W kraju nie produkuje się gotowych instalacji do ciągłej sterylizacji cieczy w przepływie – te, które istnieją są importowane z Zachodu.

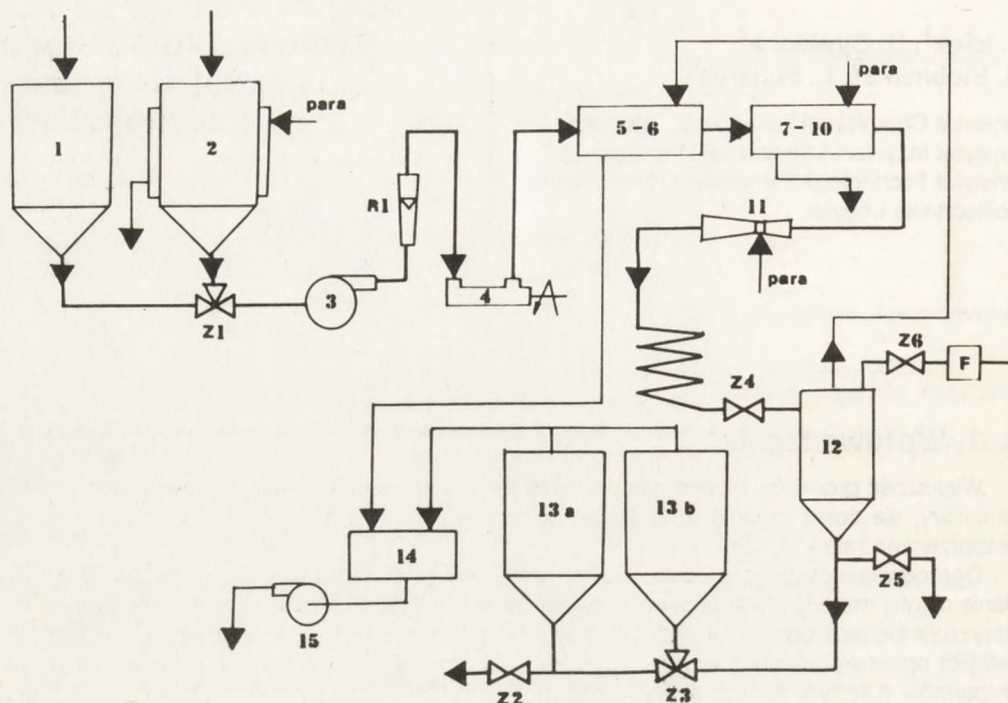
Korzyści i uwarunkowania oraz różne metody stosowania ciągłej sterylizacji termicznej były już omówione poprzednio (6). Ciągła sterylizacja może być wprowadzana niezależnie od tego czy sam proces biotechnologiczny prowadzony jest w sposób okresowy, czy też w sposób ciągły.

Dla zrealizowania procesu sterylizacji termicznej cieczy (podłoża) niezbędne jest jej przetrzymanie przez określony czas w podwyższonej temperaturze. W biotechnologii szczególne znaczenie ma metoda wykorzystująca iniekcję pary do cieczy w celu jej szybkiego ogrzania i rozprężenie tej cieczy dla jej szybkiego schłodzenia oraz odbioru wprowadzonej wcześniej pary. Duża szybkość wzrostu i spadku temperatury sterylizowanego medium pozwala na zachowanie termolabilnych składników odżywczych i wysokiej jakości organoleptycznej.

Sformułowanie zasad projektowania ciągłych sterylizatorów iniekcyjnych wymaga wnikliwych badań następujących procesów: ogrzewania metodą iniekcji pary do cieczy, bezprzeponowego schładzania cieczy oraz termicznej sterylizacji. Podstawowym celem, który musi być zrealizowany jest zapewnienie sterylnego podłoża.

2. Instalacja badawcza

W Instytucie Inżynierii Chemicznej i Procesowej PŁ zaprojektowano i zbudowano instalację do ciągłej sterylizacji termicznej cieczy z zastosowaniem wtrysku do niej pary. Instalacja powstała podczas realizacji zadania badawczego w programie CPBP 04.11. Podstawowe parametry instalacji: wydajność $0,05 \div 0,25 \text{ m}^3/\text{h}$, temperatura sterylizacji $120 \div 145 \text{ }^\circ\text{C}$ i czas sterylizacji $5 \div 25 \text{ s}$.



Rys.1. Instalacja do ciągłej sterylizacji termicznej cieczy i zawiesin. 1-zbiornik zalewowy bez płaszczu grzeijnego, 2- zbiornik zalewowy z płaszczem grzeijnym, 3-pompa wirowa, 4- pompa Mono, 5÷10-wymienniki ciepła, 11-wtryskiwacz pary, 12-rozprężacz, 13a,b-odbieralniki, 14-kompensacyjny zbiornik próżniowy, 15-pompa próżniowa z pierścieniem wodnym, R1-rotametr, Z1÷Z6-zawory, F-filtr powietrza.

Instalacja (rys. 1) składa się z dwóch zbiorników zalewowych: bez płaszczu grzeijnego (1) i z płaszczem grzeijnym (2), pompy wirowej (3), pompy Mono (4), zespołu wymienników płaszczowo-rurowych (5)÷(10), wtryskiwacza pary (11), rozprężacza (12), odbieralników (13a) i (13b), kompensacyjnego zbiornika próżniowego (14), pompy próżniowej z pierścieniem wodnym (15), wytwornicy pary WP-67, zespołu zaworów, rurociągów przesyłowych oraz oprzyrządowania pomiarowego.

Po wysterylizowaniu instalacji ciecz sterylizowana podawana jest ze zbiornika (1) (lub (2), jeżeli wymagane jest wstępne podgrzanie) pompą wirową (3) poprzez rotametr R1 do pompy Mono (4), która przetłacza dalej ciecz do wymienników (5) i (6), gdzie następuje jej wstępne podgrzanie oparami z rozprężacza (12). Następnie, ciecz po podgrzaniu parą technologiczną w wymiennikach (7)÷(10) przepływa do wtryskiwacza pary, gdzie w wyniku bezprzeponowego kontaktu z parą wodną ogrzewa się do temperatury sterylizacji. Zasadnicza sterylizacja następuje w przetrzymywaczu (odcinek przewodu między wtryskiwaczem pary (11) i zaworem (Z4)). Z przetrzymywacza przez zawór (Z4) ciecz kierowana jest do rozprężacza, gdzie schładza się przez samooodparowanie. Schłodzona i wysterylizowana ciecz jest gromadzona w odbieralnikach (13a) i (13b); opary są zawracane i służą jako czynnik grzeijny w wymiennikach (5) i (6). Próbkę wysterylizowanej cieczy pobierano przez aseptyczny zawór (Z5).

Pompa próżniowa (15) zapewnia podciśnienie w układzie; wahaniom ciśnienia zapobiega zbiornik kompensacyjny (14).

Wymaganą temperaturę sterylizacji uzyskiwano poprzez zmianę ciśnienia pary dostarczanej do wtryskiwacza; czas sterylizacji regulowany był gabarytami przetrzymywacza i wydajnością instalacji.

3. Kinetyka niszczenia mikroorganizmów

Prawidłowy dobór czasu i temperatury sterylizacji wymaga znajomości kinetyki niszczenia mikroorganizmów.

Kinetyka niszczenia mikroorganizmów jest kinetyką reakcji I rzędu

$$dN = -k N dt \quad (1)$$

lub

$$\ln N_0/N = k\tau, \quad (1')$$

gdzie:

N_0 – początkowa liczba mikroorganizmów w 1 cm^3

N – liczba mikroorganizmów po czasie τ w 1 cm^3

k – stała szybkości reakcji w określonej temperaturze, $1/s$

τ – czas przetrzymywania cieczy w określonej temperaturze, s

Stała szybkości reakcji k zależy od temperatury zgodnie z równaniem Arrheniusa (7)

$$k = A \exp(-E/RT), \quad (2)$$

w którym:

A – stała wyrażająca częstotliwość zderzeń, $1/s$

E – energia aktywacji, J/mol

R – uniwersalna stała gazowa, $J/mol \text{ K}$

T – temperatura sterylizacji, K

Wartości A i E dla zakresu temperatur, w których przebiegają procesy biologiczne są uzależnione od temperatury.

Kombinacja równań (1) i (2) daje równanie (3):

$$\ln N_0/N = A \int_{\tau_0}^{\tau} \exp(-E/RT) dt \quad (3)$$

Praktyczne zastosowanie równania (3) jest utrudnione ze względu na niepełną znajomość wartości stałej A i energii aktywacji E .

W technice sterylizacji efekt tego procesu opisywany jest często przez wprowadzenie czasu redukcji dziesiętnej τ_D współczynnika Z i Q_{10} .

Czas redukcji dziesiętnej τ_D jest definiowany jako czas redukcji populacji o 90% w określonej temperaturze, natomiast współczynnik Z jest rozumiany jako różnica temperatur, która powoduje dziesięciokrotną zmianę wartości τ_D . Równanie wiążące te dwie wielkości ma postać:

$$\ln N_0/N = 1/\tau_D \int_{\tau_D}^{\tau} 10^{(T-T_0)/Z} dt \quad (4)$$

gdzie:

τ – czas sterylizacji, s

T_0 – temperatura odniesienia, K

T – temperatura sterylizacji, K

Współczynnik Q_{10} jest definiowany następująco:

$$Q_{10} = \frac{\text{szybkość reakcji w } (T+10)^{\circ}\text{C}}{\text{szybkość reakcji w } T^{\circ}\text{C}}$$

Równie często stosowanym przybliżeniem jest współczynnik F_0 określający całkowite zniszczenie mikroorganizmów

$$F_0 = \int_{\tau_0}^{\tau} \tau_L d\tau, \quad (5)$$

gdzie:

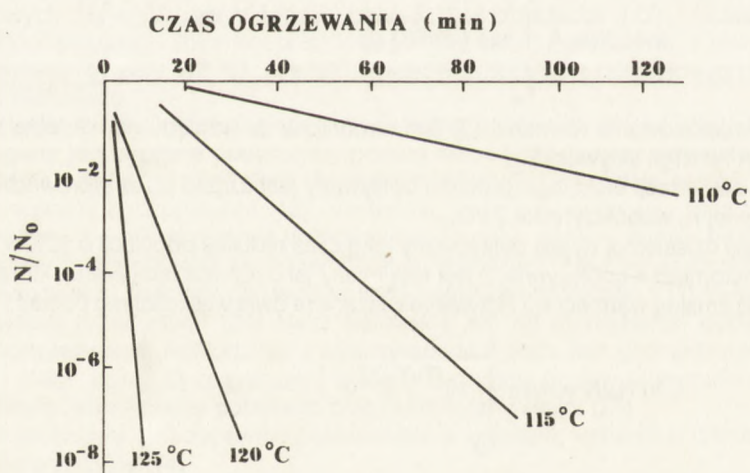
τ_L – śmiertelność mikroorganizmów w danej temperaturze, min

τ_L (8) definiowany jest jako czas oddziaływania w minutach w temperaturze odniesienia T_0 , który spowodowałby taki sam efekt sterylizacji jak czas jednej minuty w temperaturze T .

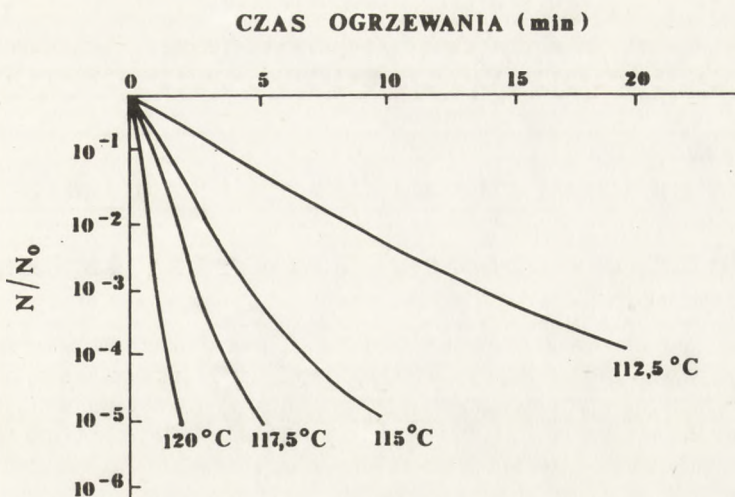
Stąd

$$\lg \tau_L = (T - T_0) / Z. \quad (6)$$

Inaktywację zarodników *Bacillus subtilis* przez ogrzewanie przedstawia rys. 2, natomiast zarodników *Bacillus stearothermophilus* – rys. 3.



Rys.2. Inaktywacja zarodników *B. subtilis* przez ogrzewanie (10).



Rys. 3. Inaktywacja zarodników *B. stearothermophilus* przez ogrzewanie (10).

4. Inne czynniki wpływające na skuteczność zabijania drobnoustrojów

Zasadniczymi czynnikami wpływającymi na szybkość zabijania drobnoustrojów są temperatura i czas jej działania (9,10). Im niższą stosujemy temperaturę sterylizacji tym dłuższy musi być czas jej działania (rys. 2 i 3, tab. 1).

Tabela 1

Wpływ warunków obróbki termicznej na bakterie termofilne (12)

Liczba przetrwałników	Czas (min) po którym przesiew nie dał wzrostu bakterii Kultury sterylizowane w °C								
	100	105	110	115	120	125	130	135	140
200000	1260	660	220	80	22	7	1	1	0,75
20000	1080	550	180	70	17	6	0,75	0,75	0,50
2000	1020	520	170	55	16	5	0,66	0,66	

Ustalając parametry sterylizacji należy wziąć pod uwagę szereg innych czynników, które wpływają na skuteczność zabijania drobnoustrojów. Ważnym czynnikiem jest poziom zanieczyszczenia bakteriologicznego. Im mniej drobnoustrojów w sterylizowanym płynie tym łagodniejsze można stosować warunki sterylizacji dla osiągnięcia wymaganego poziomu czystości bakteriologicznej (5,11). Przy jednakowej ilości drobnoustrojów w sterylizowanej cieczy na zwiększenie letalnego efektu temperatury wpływa zarówno kwasowość, jak i zasadowość środowiska, przy czym wpływ jonów H^+ jest większy niż OH^- (12,13). Nie bez znaczenia jest obecność w produkcie niektórych substancji chemicznych, jak np. białek i tłuszczów, które chronią drobnoustroje przed niszczącym wpływem temperatury (12). Nawet szczepy należące do tego samego gatunku mogą wykazywać różną wrażliwość na temperaturę (tab. 2).

Tabela 2

Stałe szybkości reakcji k oraz wartości czasu dziesięciokrotnej redukcji τ_D przetrwalników szczepów *B. stearothermophilus* zawieszonych w roztworze buforowym w temperaturze 121°C (9)

Szczep	k, min^{-1}	τ_D, min
<i>B. stearothermophilus</i> FS 1518	0,77	3,0
<i>B. stearothermophilus</i> FS 617	2,9	0,8

5. Szybkość niszczenia drobnoustrojów w rurkach kapilarnych i w instalacjach UHT

Przy doświadczalnym określaniu szybkości zabijania drobnoustrojów należy wyeliminować albo zminimalizować wpływ składu podłoża, wartości pH itp. (żeby temperatura była jedynym czynnikiem wpływającym na szybkość zabijania drobnoustrojów). Należy zapewnić jednorodność zawiesiny i jednakowe warunki obróbki termicznej dla wszystkich partii płynu. Szybkość zabijania drobnoustrojów określano w sposób okresowy umieszczając zawieszynę przetrwalników w rurkach kapilarnych (9), a następnie umieszczając te rurki raz w gorącej raz w zimnej łaźni. Liczbę żywych mikroorganizmów przed i po podwyższeniu temperatury określa się zazwyczaj przez liczenie kolonii bakterii na płytkach. Należy oczekiwać, że stosowanie metody UHT spowoduje zwiększenie parametrów kinetycznych. Burton i wsp. (14) opublikowali dane nt. śmierci termicznej *Bacillus stearothermophilus* otrzymane w laboratoryjnych oraz przemysłowych instalacjach UHT i porównali z danymi otrzymanymi dla ogrzewania przetrwalników w rurkach kapilarnych. Dla inaktywacji zarodników w instalacjach UHT uzyskali wyższe wartości Q_{10} niż w rurkach kapilarnych. Porównywano zawieszynę przetrwalników w wodzie i w mleku. Dla zawiesin wodnych rozbieżności między wynikami uzyskanymi w rurkach kapilarnych i w instalacjach UHT były mniejsze niż dla zawiesin w mleku i wzrastały w miarę obniżania się temperatury.

Zagadnienia kinetyczne były wielokrotnie poruszane w literaturze (10, 14–18) przy okazji niszczenia drobnoustrojów o różnej termicznej odporności i w różnych płynach. Badacze otrzymali nie zawsze takie same, ale zbliżone parametry kinetyczne. Na przykład czas redukcji dziesiętnej dla *B. stearothermophilus* w temp. 133,4°C wynosił 6,66 s (16), podczas gdy w pracy (18) czasy te wynosiły:

- dla 130°C – 18 s,
- 135°C – 6 s.

Różnice mogą być spowodowane innym składem mleka albo różnicami w budowie instalacji. Dlatego do obliczeń projektowych instalacji sterylizacyjnych, przyjmując pewne parametry kinetyczne na podstawie literatury, należy wziąć pod uwagę w jakich warunkach zostały wyznaczone i ewentualnie dokonać korekty założeń.

6. Dobór parametrów sterylizacji we własnej instalacji doświadczalnej dla wybranych mikroorganizmów testowych

Szczep *B. stearothermophilus* należący do termofilnych mikroorganizmów jest bardziej odporny na działanie wysokich temperatur niż *B. subtilis* – mezofil. Dlatego przy ustalaniu parametrów dla inaktywacji tego gatunku założono konieczność zastosowania wyższych temperatur niż dla inaktywacji *B. subtilis*.

Badania wstępne na instalacji pozwoliły ustalić, przy jakich wartościach natężenia przepływu płynu, a co za tym idzie czasu przetrzymywania, instalacja pracuje w sposób najbardziej stabilny. Badania skuteczności sterylizacji zdecydowano przeprowadzić dla najbardziej stabilnych wa-

runków pracy – natężenie przepływu w zakresie 50 l/h:250 l/h. Stosując natężenie przepływu z tego zakresu przeprowadzono pomiary skuteczności sterylizacji przyjmując do badań następujący zakres temperatur:

- dla *B. subtilis* 105 ÷ 140°C
- dla *B. stearothermophilus* 125 ÷ 148°C.

W badaniach skuteczności sterylizacji chodziło przede wszystkim o ustalenie, czy jesteśmy w stanie uzyskać w instalacji plyn sterylny oraz czy nie ma zakażeń wtórnych. Odpowiedź na to drugie pytanie dać miały pomiary mikrobiologiczne czystej wody po sterylizacji (seria 0).

7. Badania skuteczności sterylizacji

7.1. Zasada prowadzenia eksperymentu

Opanowanie techniki ciągłej sterylizacji termicznej cieczy, to nie tylko umiejętność uzyskania i utrzymywania odpowiednich parametrów pracy instalacji, a więc temperatury i czasu przetrzymywania sterylizowanego płynu, ale przede wszystkim zapewnienie – przez odpowiedni dobór parametrów procesu – skuteczności sterylizacji. Przez skuteczność sterylizacji rozumieć należy wymóg, żeby w produkcie po sterylizacji nie było mikroorganizmów zdolnych do rozmnażania. Chodzi zatem o wyeliminowanie tak wegetatywnych jak i przetrwalnych form drobnoustrojów.

Do określenia skuteczności sterylizacji zastosowano metodę bezpośrednią polegającą na wprowadzeniu do instalacji sterylizacyjnej (w charakterze medium badanego) płynu o zdefiniowanej ilości mikroorganizmów, a następnie określeniu ilości mikroorganizmów w płynie po sterylizacji.

7.2. Wybór mikroorganizmów do badań

Parametry sterylizacji muszą być tak dobrane, aby zapewnić zniszczenie najbardziej ciepłoodpornych form drobnoustrojów, a zatem przetrwalników bakteryjnych. Przetrwalniki różnych gatunków bakterii wykazują różną odporność na działanie temperatury (5). Oczywiście było zastosowanie drobnoustrojów, których przetrwalniki wykazują największą odporność termiczną. Spośród bakterii mezofilnych do najbardziej ciepłoodpornych należy *Bacillus subtilis* (5). Wysoką odpornością charakteryzują się przetrwalniki bakterii termofilnych (12). W literaturze jako drobnoustroje testowe występują najczęściej *B. subtilis* (15) oraz *B. stearothermophilus* (16). Te gatunki bakterii zdecydowano zastosować również w badaniach własnych.

7.3. Stosowany materiał biologiczny

W badaniach zastosowano dwa szczepy:

1. *Bacillus subtilis* – z Kolekcji Czystych Kultur Instytutu Technologii Fermentacji i Mikrobiologii PŁ,

2. *Bacillus stearothermophilus* – otrzymany z Kolekcji Szczepów UŁ.

Szczepy te hodowano na skosach bulionowych z 2% agaru. *Bacillus subtilis* inkubowano w temperaturze 37°C i czasie 24 godzin, a *Bacillus stearothermophilus* w temperaturze 55°C i czasie 72 godzin (19). Przechowywano je następnie w 4°C.

7.4. Przygotowanie szczepów *Bacillus subtilis* i *Bacillus stearothermophilus* do prób doświadczalnych

Podłożem do hodowli *B. subtilis* i *B. stearothermophilus* był bulion mięsny o pH = 7,2. Przygotowano 10 dm³ podłoża bulionowego i sterylizowano je w 121°C w czasie 40 min. Kolby o obj. 5 dm³ wypełnione 3 dm³ podłoża zaszczepiono wymienionymi bakteriami, wyhodowywani na skosach agarowych. Hodowlę prowadzono w temperaturach optymalnych dla wzrostu

szczepów. Kultury rozwijały się w podłożach tworząc białoszary, pofaldowany kożuch na powierzchni płynu. Przygotowano w ten sposób kultury *B. subtilis* i *B. stearothermophilus* wlewano do zbiornika (1) (rys. 1) zawierającego 0,3 m³ wody. Zawartość zbiornika po dokładnym wymieszaniu strumieniem sprężonego powietrza stanowiła materiał dla oceny skuteczności sterylizacji.

7.5. Pobór próbek do analizy

Po dokładnym wymieszaniu zawartości zbiornika (1) strumieniem powietrza, do sterylnego naczynia pobierano próbkę cieczy w celu określenia ogólnej liczby bakterii i liczby przetrwalników w płynie przed rozpoczęciem procesu sterylizacji.

Próbki cieczy sterylnej pobierano z zaworu (Z5). Aby zapobiec zakażeniu w czasie pobierania prób, na oliwkę zaworu aseptycznego (Z5) nakładano wąż silikonowy (sterylizowany razem z aparaturą, przepływającą wrzącą wodą). Po wysterylizowaniu zamykano wąż ściskaczem, a wylot zabezpieczano gazą zwilżoną alkoholem. Po zlikwidowaniu próżni w rozprężaczu (zaworem (Z6)) otwierano zawór (Z5), zdejmowano tampon z gazy zamykający wylot z węża silikonowego, zwalniano ściskacz, pozwalano wypłynąć porcji cieczy, a następnie do sterylnej kolby pobierano do analizy mikrobiologicznej próbkę wysterylizowanego płynu.

7.6. Wykonane oznaczenia

7.6.1. Oznaczanie ogólnej liczby bakterii

Liczbę bakterii znajdujących się w 1 cm³ badanych prób przed rozpoczęciem procesu sterylizacji, jak i po jego zakończeniu, oznaczano metodą płytkową. Z materiału przeznaczanego do analizy po dokładnym wymieszaniu pobierano po 1 cm³ próbki i wykonywano kolejne dziesiętne rozcieńczenia: 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵ w fizjologicznym roztworze chlorku sodu. Próby przed sterylizacją wysiewano z rozcieńczeń 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵. Pobierano po 0,2 cm³ rozcieńczonej próby i z każdego rozcieńczenia wysiewano 4 płytki Petriego z podłożem bulionowym. W próbach po sterylizacji liczbę bakterii oznaczano stosując: bezpośredni wysiew na płytki Petriego oraz z rozcieńczeń: 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴. Posiewy inkubowano w temperaturze 37°C bądź 55°C w zależności od rodzaju badanego szczepu. Po okresie hodowli wynoszącym 72 godziny określano liczbę wyrosniętych kolonii. Wyniki podawano jako liczbę komórek zdolnych do wzrostu w postaci kolonii czyli CFU/cm³.

7.6.2. Oznaczenie liczby bakterii przetrwalnikujących

Dla oznaczenia liczby przetrwalników, badane próby poddawano szokowi termicznemu (ogrzewano w czasie 10 min w temperaturze 80°C). Zabieg ten zniszczył formy wegetatywne bakterii. Następnie, z szokowanej termicznie zawiesiny wykonywano kolejne dziesiętne rozcieńczenia: 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³ i wysiewano na płytki Petriego z podłożem bulionowym. Inkubację płytek prowadzono analogicznie jak podczas określania ogólnej liczby bakterii.

7.6.3. Wyniki pomiarów na skuteczność sterylizacji

Na wstępie przeprowadzono badania na instalacji doświadczalnej dla wody pitnej. Celem tej próby było sprawdzenie czy nie następuje wtórne zakażenie podczas poboru sterylnych próbek z instalacji. Sterylizację wody prowadzono w temperaturze 140°C i w czasie 20 s. Analiza tak sterylizowanej i pobieranej z instalacji wody wykazała jej jałowość. W oparciu o te badania uznano, że można przystępować do badań zasadniczych. Badanym medium były wodne roztwory zawierające bakterie *Bacillus subtilis* lub *Bacillus stearothermophilus*. Wyniki analiz mikrobiologicznych płynów sterylizowanych w różnych warunkach podają tab. 3 i 4.

Tabela 3

Wpływ warunków sterylizacji na przeżywalność komórek *Bacillus subtilis*
(seria 1 ÷ 5). Seria 0 – płyn przed sterylizacją

Seria pomiarowa	Natężenie przepływu cieczy $10^3 \text{ m}^3/\text{h}$,	Warunki sterylizacji		Liczba komórek CFU/cm ³		Przeżywalność %
		Temperatura °C	Czas s	Ogólna liczba komórek	Liczba przetrwalników	
0	–	–	–	$6,25 \times 10^6$	$4,85 \times 10^4$	100,0
1	50	140	23,7	0,0	0,0	0,0
2	90	140	13,3	0,0	0,0	0,0
3	195	130	6,3	0,0	0,0	0,0
4	120	105	10,0	5,0	5,0	0,0
5/1	252	120	4,5	$2,5 \times 10^1$	$2,5 \times 10^1$	0,0
5/2	252	120	4,5	$1,7 \times 10^1$	$1,7 \times 10^1$	~0,04

W tab. 3 zamieszczono wyniki analiz prób zakażonych przed sterylizacją komórkami *Bacillus subtilis*. Płyn przed sterylizacją zawierał $6,25 \times 10^6$ CFU/cm³. Liczba form przetrwalnych równała się $4,84 \times 10^4$ kolonii w cm³ badanej próby. Warunki sterylizacji zastosowane w seriach 1, 2 i 3 całkowicie zniszczyły przetrwalniki *B. subtilis*. W próbach 4 i 5 niektóre przetrwalniki zachowały zdolność wzrostu. W serii 4 przeżyło około 0,01% wyjściowej ilości przetrwalników, a w próbie 5 – około 0,05% przetrwalników wykazało zdolność rozwoju. Wynik taki potwierdza dane literaturowe (9,10), iż stosowanie tak niskich temperatur sterylizacji (105°C, 120°C) jest niewystarczające i wymagałoby znacznego zwiększenia czasów jej oddziaływania. Zastosowanie prawidłowych parametrów procesu (serie 1 ÷ 3) pozwala całkowicie wysterylizować badane medium. Próby zakażone przed sterylizacją komórkami *Bacillus stearothermophilus* (tab. 4) zawierały w 1 cm³ $5,6 \times 10^4$ przetrwalników.

Tabela 4

Wpływ warunków sterylizacji na przeżywalność komórek *Bacillus stearothermophilus*
Seria 0 – płyn przed sterylizacją

Seria pomiarowa	Natężenie przepływu cieczy $10^3 \text{ m}^3/\text{h}$	Warunki sterylizacji		Liczba komórek CFU/cm ³		Przeżywalność %
		Temperatura °C	Czas s	Ogólna liczba komórek	Liczba przetrwalników	
0	–	–	–	$2,5 \times 10^5$	$5,6 \times 10^4$	100,0
1	55	148	21,5	0,0	0,0	0,0
2	70	140	17	0,0	0,0	0,0
3	55	133	21,5	0,0	0,0	0,0
4	60	125	20	0,0	0,0	0,0
5	190	144	6,2	0,0	0,0	0,0
6*	220	136	5,5	0,0	0,0	0,0
7	100	139	12,0	0,0	0,0	0,0

6* – płyn przetrzymany w rozprężaczu 0,5 h, końcowa temp. 119°C.

Tak jak widać z danych zamieszczonych w tej tabeli w próbach po sterylizacji przetrwalniki nie wykazywały zdolności wzrostu. Dane te świadczą o tym, że zastosowane we wszystkich seriach warunki sterylizacji skutecznie zniszczyły przetrwalniki termofilnego szczepu *Bacillus stea-*

rothermophilus. Wyniki przeprowadzonych badań mikrobiologicznych potwierdzają pełną przydatność instalacji do ciągłej sterylizacji cieczy i zawiesin metodą UHT.

8. Podsumowanie

1. Opisano czynniki wpływające na skuteczność sterylizacji oraz metodykę badań porównawczych stosowanych przy sterylizacji cieczy.

2. Na podstawie danych literaturowych dokonano wyboru mikroorganizmów do badań testowych i warunków sterylizacji.

3. Omówiono budowę i zasadę działania własnej instalacji do ciągłej sterylizacji cieczy metodą UHT wykorzystującą iniekcję pary do przepływającej cieczy, oraz przeprowadzono na niej badania testowe sterylizacji cieczy zawierających bakterie *B. subtilis* i *B. stearothermophilus*.

4. Stwierdzono poprawne działanie instalacji zapewniającej przy zachowaniu właściwych parametrów sterylizacji (czas i temperatura) uzyskanie jałowej cieczy.

Literatura

- Kristiansen B., Sinclair C. G., (1979), *Biotechnology and Bioengineering*, 21, 2, 297–315.
- Sikyra B., Duskocil J., Kasparowa J., (1959), *J. Biochem. Microbiol. Tech. and Eng.*, 1, 379.
- Iciek J. i wsp., (1986), Sprawozdanie z CPBR 0.4.11., Etap I, Łódź.
- Iciek J. i wsp., (1987), Sprawozdanie z CPBR 0.4.11., Etap II, Łódź.
- Pijanowski E., (1984), *Zarys chemii i technologii mleczarstwa*, II, PWRiL, Warszawa.
- Iciek J., *Biotechnologia* (w druku).
- Ashley M. H. J., (1982), *Chem. Engineer.*, 377, 54–58.
- Lewis M. J., (1986), *Modern Dairy Technology* (Robinson R. K.), Elsevier Appl. Sci., 1, 15–49.
- Aiba S., Humphrey A. E., Millis N. F., (1970), *Inżynieria biochemiczna*, WNT, Warszawa.
- Blakebrough N., (1968), *Biochemical and Biological Engineering Sci.*, 2, Academic Press, London – New York, 30–63.
- Galesloot T. E., (1962), *Milk hygiene*, WHO Genewa.
- Matuszewski T., (1963), *Wstęp do mikrobiologii rolniczej*, 104–112, PWRiL, Warszawa.
- Zięba Z., (1980), *Podstawy cieplnego utrwalania żywności*, 138–143, WNT, Warszawa.
- Burton H., Perkin A. G., Davies F. L., Underwood H. M., (1977), *Journal of Food technology*, 12, (2), 149–161.
- Mottar J., (1985), *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 39, (1),
- Konietzko M., Reuter H., (1980), *Milchwissenschaft*, 35 (5).
- Anap G. R., Agravale S. P., Patil G. R., (1987), 1, *Indian Journal of Dairy Science*, 40 (2).
- Anap G. R., Agravale S. P., Patil G. R., (1987), 2, *Indian Journal of Dairy Science*, 40 (2).
- Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, (1957), London.

Efficiency of a Continuous Thermal Sterilization

Summary

An installation for continuous thermal sterilization with steam injection into liquid, constructed within the research project CPBP 0.4.11., has been presented. The installation output is 0,05 to 0,25° m/h. Feasible sterilization conditions: temperature up to 150°C, holding time to 200 s.

To determine the sterilization efficiency, a direct method was applied. A liquid containing a defined number of microorganisms was introduced to the sterilizer. Two strains of *Bacillus* were used. Next, the number of microorganisms was determined in the liquid after sterilization.

Tests confirmed full applicability of the installation for continuous sterilization of liquids.

Adres dla korespondencji:

J. Iciek, Instytut Chemicznej Technologii Żywności, Politechnika Łódzka, ul. Stefanowskiego 4/10, 90–924 Łódź.