

MICHAŁ KONOPKA, ZYGMUNT KOWALSKI*,
JANUSZ CHOLEWA, TOMASZ BAJCER**

BAKTOFUGACJA I TECHNIKA MEMBRANOWA UŻYWANA DO REDUKCJI POZIOMU MIKROFLORY W PLAZMIE KRWI

BACTOFUGATION AND REDUCTION OF BACTERIA QUANTITY IN PLASMA BLOOD WITH MEMBRANE TECHNIQUES

Streszczenie

W niniejszym artykule przedstawiono zastosowanie membran filtracyjnych do obniżenia zawartości ogólnej liczby bakterii w plazmie krwi otrzymanej techniką wirowania krwi. Badano wpływ użycia membran o rozmiarach: 1,4 μm , 0,45 μm , 0,07 μm i 300 kD na obniżenie ogólnej liczby bakterii i *E. Coli*. Badania wykonano w zakładach mięsnych DUDA-BIS w Sosnowcu. Omówiono również technikę baktofugacji.

Słowa kluczowe: krew, baktofugacja, techniki membranowe

Abstract

In this paper are present uses of filter membrane to lower the content of total bacteria amount in plasma blood produce by blood centrifugation. The influence of membrane with mesh size: 1,4 μm , 0,45 μm , 0,07 μm i 300 kD to lower the total bacteria amount and *E. Coli* bacterium was tested. The study was carry on in meat industry factory DUDA-BIS in Sosnowiec. Also discuss the bactofugation technique.

Keywords: blood, bactofugation, membrane technology

* Dr inż. Michał Konopka, prof. dr hab. inż. Zygmunt Kowalski, Instytut Chemii i Technologii Nieorganicznej, Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej, Politechnika Krakowska.

** Mgr inż. Janusz Cholewa, mgr inż. Tomasz Bajcer, P.P.H.U. DUDA-BIS Sp. z o.o., Sosnowiec.

1. Wstęp

Krew i produkty krwiopochodne są materiałami niezwykle wrażliwymi mikrobiologicznie, dlatego też przy ich przetwarzaniu muszą być zachowane najwyższe standardy higieny. Jeżeli krew nie zostanie pobrana w sposób sterylny, jej dalsze wykorzystanie w przemyśle spożywczym staje się bardzo ograniczone. Krew zdrowego zwierzęcia jest zazwyczaj wolna od drobnoustrojów, ale może łatwo ulec skażeniu zarówno podczas uboju, jak i jej dalszej obróbki. Przy zachowaniu zasad higieny oraz zastosowaniu sterylnych aparatów zawartość mikroorganizmów w krwi wieprzowej powinna być mniejsza niż 10^4 w ml (ogólna liczba bakterii w mililitrze krwi) [1].

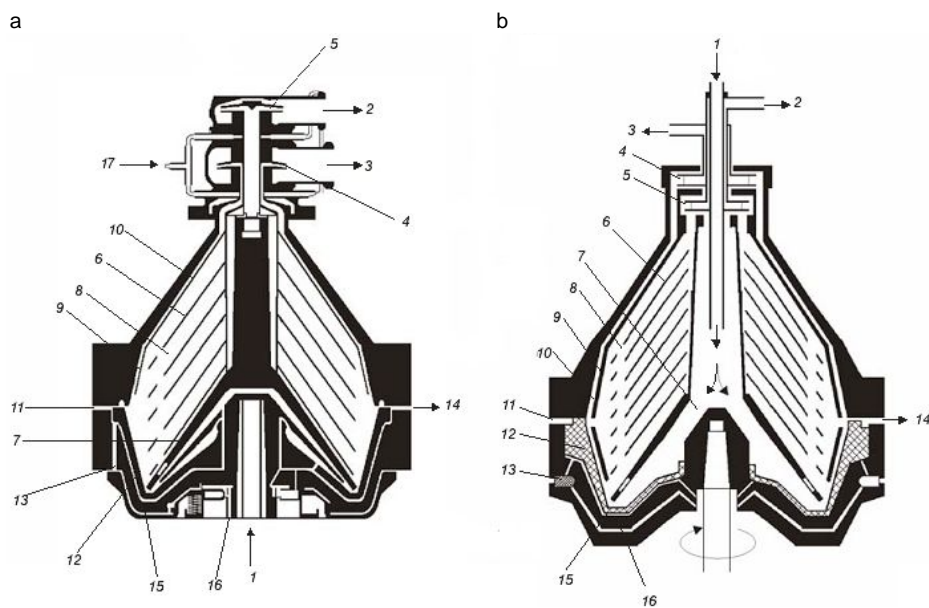
Pobór krwi odbywa się w tzw. strefie brudnej ubojni. Dlatego też, chcąc uzyskać krew spełniającą standardy surowca spożywczego, konieczne jest zachowanie specjalnych środków ostrożności w celu zminimalizowania możliwości jej skażenia. Ze względu na wrażliwość krwi i produktów jej przerobu na podwyższoną temperaturę (koagulacja zachodzi już przy 45–50°C) nie jest możliwe wykonanie sterylizacji termicznej bez utraty ich właściwości fizykochemicznych. Gdy surowiec zostanie już skażony, możliwe jest jedynie ograniczenie rozwoju drobnoustrojów poprzez zastosowanie odpowiednich rozwiązań technicznych. Zamknięte układy poboru krwi są nieodzowną częścią systemów mających spełniać wymagania czystości mikrobiologicznej. Zazwyczaj używane systemy poboru krwi przewidują zastosowanie specjalnych noży rurkowych ze zrzutem krwi do czystych zbiorników. Pobrana krew powinna być jak najszybciej schłodzona, aby umożliwić jej dalszą obróbkę, przy możliwie najniższej zawartości bakterii. Wszystkie rurociągi, zbiorniki i urządzenia (np. pompy) wykorzystywane przy poborze, transporcie oraz obróbce krwi powinny być okresowo myte i odkażane, tak by nie mogły mieć wpływu na zwiększenie zawartości drobnoustrojów w krwi i produktach krwiopochodnych [2].

W celu zmniejszenia poziomu mikrobiologii w produktach żywnościowych, stosuje się szereg technik. Najbardziej rozpowszechnionymi są procesy termiczne, wykorzystujące podwyższoną temperaturę do dezaktywacji mikroorganizmów. Ze względu na specyficzne właściwości krwi i produktów jej przerobu, techniki te nie mają w tym przypadku realnego zastosowania. Konieczne jest więc zastosowanie procesów bardziej zaawansowanych technologicznie, jak np. radiacji czy ultrafiltracji [3–6]. Próby sterylizacji plazmy wieprzowej otrzymanej metodą wirowania krwi prowadzono z użyciem technik membranowych. Dodatkowo pokazano możliwość wykorzystania baktiofugacji jako techniki redukcji poziomu mikroorganizmów.

2. Baktiofugacja plazmy wieprzowej

Baktiofugacją nazywa się proces umożliwiający oddzielenie komórek mikroorganizmów od cieczy w wyniku odwirowania [7]. Zasadą tego procesu jest wykorzystanie różnicy gęstości komórek bakteryjnych oraz samej cieczy. Pierwotnie wirówki usuwające drobnoustroje (tzw. baktiofugi) projektowano z myślą o przemyśle mleczarskim, obecnie jednak stosuje się je do wielu innych skażonych mikrobiologicznie cieczy przemysłowych, w tym plazmy wieprzowej. Rozdział mikroorganizmów odbywa się na wirówkach talerzowych o specjalnej konstrukcji bębna. Ponieważ gęstość komórek drobnoustrojów jest większa w porównaniu z gęstością fazy ciekłej plazmy, zachowują się one w przestrzeniach mię-

dzytalerzowych analogicznie do zachowania cząstek stałych w wirówkach sedimentacyjnych. Koncentrat bakteryjny przepływa w kierunku zewnętrznego obwodu bębna, natomiast strumień cieczy pozbawiony drobnoustrojów kieruje się do osi obrotu. Skuteczność oddzielenia komórek mikroorganizmów ze strumienia podawanej na wirówkę plazmy uzależniona jest od ciągłego odprowadzania frakcji koncentratu bakteryjnego na zewnątrz. Wzrost stężenia komórek w zewnętrznej części bębna może zablokować dopływ nowych cząstek, przez co może dojść do skażenia nowych partii plazmy. Na rycinie 1 przedstawiono schemat budowy wirówek do usuwania bakterii dwóch wiodących na rynku firm: 1 – dopływ surowej zawiesiny, 2 – odpływ cieczy oczyszczonej, 3 – odpływ koncentratu bakteryjnego, 4 – pompa koncentratu bakteryjnego, 5 – pompa cieczy oczyszczonej, 6 – talerze wirówki, 7 – rozdzielacz, 8 – kanał doprowadzający zawiesinę do przestrzeni międzytalerzowych, 9 – talerz rozdzielający, 10 – kanał koncentratu bakterii, 11 – okno do wyrzucania szlamu z bębna, 12 – przesuwne dno bębna, 13 – zawór wody sterującej, 14 – odpływ szlamu, 15 – komora wody zamykającej bęben, 16 – doprowadzenie wody sterującej, 17 – dopływ wody uszczelniającej [7].



Ryc. 1. Wirówki do usuwania bakterii ze strumienia cieczy: a – hermetyczna (Alfa Laval), b – zamknięta (Westfalia)

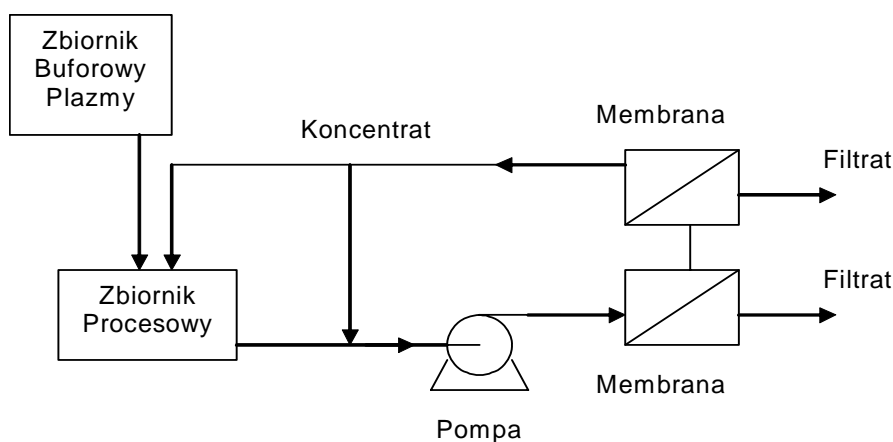
Fig. 1. Centrifuge to remove bacteria from liquid flux: a – hermetic (Alfa Laval), b – close (Westfalia)

3. Techniki membranowe

Techniki membranowe pozwalają na oddzielenie substancji różniących się wielkością poprzez rozdział na specjalnie w tym celu przygotowanych materiałach filtracyjnych

(membranach). Konieczny jest dobór odpowiedniej techniki, tak aby oddzielić niepożądane substancje, jednocześnie nie redukując zawartości składników wymaganych w danym medium, a co za tym idzie zmiany jego właściwości fizykochemicznych. Do celów redukcji poziomu bakterii używa się membran mikrofiltracyjnych.

Przydatność membran mikrofiltracyjnych do usuwania drobnoustrojów przebadano w P.P.H.U. DUDA-BIS. Do badań zastosowano membrany firmy Tami Industries. Celem badań było zbadanie możliwości zastosowania membran mikrofiltracyjnych do redukcji poziomu mikroflory bakteryjnej w plazmie krwi wieprzowej. Ideę procesu przedstawiono na ryc. 2.



Ryc. 2. Schemat instalacji doświadczalnej

Fig. 2. Flow-sheet experimental installation

Surowiec do filtracji pobierano w sposób periodyczny ze zbiornika magazynowego plazmy (temperatura surowca około 2–3°C) i doprowadzano do zbiornika procesowego instalacji pilotowej. Na zewnątrz układu filtracyjnego odprowadzano w sposób ciągły filtrat (plazma częściowo oczyszczona z bakterii), natomiast koncentrat zawierający większość mikroflory bakteryjnej pozostawał w układzie filtracyjnym. Przeprowadzono analizy mikrobiologiczne plazmy, koncentratu i filtratów (ogólna liczba bakterii (OLB) i *E. Coli*) w laboratorium zakładowym DUDA-BIS [1].

3.1. Próba 1

Proces prowadzono nieprzerwanie przez ~4 h, przerabiając ~280 dm³ plazmy i uzyskując ~7 dm³ koncentratu oraz ~273 dm³ filtratu. Osiągnięto ok. 40-krotne zagęszczenie produktu wejściowego. Do badania użyto membrany Isoflux o granicy rozdziału – 1,4 μm. W tabelicy 1 ujęto wyniki analiz mikrobiologicznych plazmy przed i po mikrofiltracji.

Wyjściowy poziom mikroflory przekraczał dopuszczalny poziom ogólnej liczby bakterii. Dodatkowo w plazmie obecne były, niedozwolone przez normę, bakterie z grupy *E. Coli*. Wszystkie filtry dla membrany 1,4 μm wykazały poziom ogólnej liczby bakterii w granicach 1,4*10⁴–4*10⁴. Oznacza to, iż membrana ta zredukowała liczbę drobnoustro-

jów o ok. 4 rzędy wielkości. W filtracji nie stwierdzono też obecności bakterii z grupy *E. Coli*.

Tablica 1

Ogólny poziom bakterii w plazmie przed i po mikrofiltracji, z zastosowaniem membrany Isoflux 1,4 µm

Przedmiot analizy	<i>E. Coli</i>	Ogólna liczba bakterii
Norma	nieobecne	$< 1 \cdot 10^4$
Plazma przed filtracją	$8 \cdot 10^3$	$> 10^8$
Filtrat 1,4 µm (przy koncentracji 11×)	nie stwierdzono	$4 \cdot 10^4$
Koncentrat (zagęszczony 11×)	$6 \cdot 10^4$	$> 10^8$
Filtrat membrana 1,4 µm (przy koncentracji 25×)	nie stwierdzono	$1,4 \cdot 10^4$
Koncentrat (zagęszczony 25×)	$5 \cdot 10^5$	$> 10^8$
Filtrat końcowy 1,4 µm (przy koncentracji 40×)	nie stwierdzono	$2 \cdot 10^4$
Koncentrat (zagęszczony 40×)	b.d.	b.d.

3.2. Próba 2

Proces prowadzono nieprzerwanie przez około 3,5 h, przerabiając $\sim 120 \text{ dm}^3$ plazmy i uzyskując $\sim 11 \text{ dm}^3$ koncentratu oraz $\sim 110 \text{ dm}^3$ filtratu. Osiągnięto ~ 11 -krotne zagęszczenie produktu wejściowego. Do badania użyto 2 membran o różnych granicach rozdziału – 1,4 µm i 0,45 µm. W tablicy 2 ujęto wyniki analiz mikrobiologicznych plazmy przed i po mikrofiltracji.

Tablica 2

Ogólny poziom bakterii w plazmie przed i po mikrofiltracji, z zastosowaniem membran Isoflux 1,4 µm i 0,45 µm

Przedmiot analizy	<i>E. Coli</i>	Ogólna liczba bakterii
Norma	nieobecne	$< 1 \cdot 10^4$
Plazma przed filtracją	$6 \cdot 10^1$	$> 1 \cdot 10^7$
Filtrat z 1,4 µm (przy koncentracji 11×)	nie stwierdzono	$4 \cdot 10^1$
Filtrat z 0,45 µm (przy koncentracji 11×)	nie stwierdzono	nie stwierdzono
Koncentrat (zagęszczony 11×)	$> 1 \cdot 10^7$	$1,2 \cdot 10^3$

Wyniki analiz mikrobiologicznych wskazują, że:

- membrana 1,4 µm zatrzymuje prawie całość mikroflory bakteryjnej, w filtracie nie stwierdzono obecności bakterii z grupy *E. Coli*;
- membrana 0,45 µm jest filtrem absolutnym dla drobnoustrojów występujących w plazmie, w filtracie nie stwierdzono obecności żadnej mikroflory bakteryjnej.

Wyjściowy poziom mikroflory przekraczał o ponad 3 rzędy wielkości dopuszczalny poziom ogólnej liczby bakterii. Poza tym, w plazmie obecne były niedozwolone przez normę bakterie z grupy *E. Coli*. Obie testowane membrany mikrofiltracyjne pozwoliły (w zależności od granicy rozdziału) bądź to na znaczącą redukcję ogólnej liczby bakterii, bądź też na całkowite usunięcie bakterii z roztworu plazmy. W obu przypadkach w całości usunięto bakterie z grupy *E. Coli*.

3.3. Próba 3

Proces prowadzono nieprzerwanie przez ~6 h 10 min, przerabiając ~60 dm³ plazmy i uzyskując ~20 dm³ koncentratu oraz ~40 dm³ filtratu. Proces koncentracji plazmy kilkakrotnie przerywano i zawracano filtrat do zbiornika procesowego. Analizowano pracę instalacji dla kilku wybranych poziomów koncentracji. Osiągnięto 3-krotne zagęszczenie produktu wejściowego. Do badania użyto 2 membran o różnych granicach rozdziału – 300 kD i 0,07 μm. W tablicy 3 ujęto wyniki analiz mikrobiologicznych plazmy przed i po mikrofiltracji.

Tablica 3

Ogólny poziom bakterii w plazmie przed i po mikrofiltracji, z zastosowaniem membran Isoflux 300 kD i 0,07 μm

Przedmiot analizy	E. Coli	Ogólna liczba bakterii
Norma	nieobecne	$< 1 \cdot 10^4$
Plazma przed filtracją	$8 \cdot 10^3$	$> 10^8$
Filtrat membrana 0,07 μm po 20 min	nie stwierdzono	$1,6 \cdot 10^3$
Filtrat membrana 300 kD po 20 min	nie stwierdzono	$1 \cdot 10^2$
Filtrat membrana 0,07 μm (przy koncentracji 2,3×)	nie stwierdzono	$2 \cdot 10^4$
Filtrat membrana 300 kD (przy koncentracji 2,3×)	nie stwierdzono	$2 \cdot 10^2$
Koncentrat (zagęszczony 2,3×)	$1,6 \cdot 10^3$	$> 10^8$
Filtrat membrana 0,07 μm (przy koncentracji 3×)	nie stwierdzono	$3 \cdot 10^5$
Filtrat membrana 300 kD (przy koncentracji 3×)	nie stwierdzono	$5,6 \cdot 10^2$
Koncentrat (zagęszczony 3×)	$5 \cdot 10^3$	$> 10^8$

Wszystkie filtry dla membrany 300 kD wykazują poziom ogólnej liczby bakterii w granicach $1 \cdot 10^2$ – $5,6 \cdot 10^2$. Oznacza to, iż membrana ta zredukowała liczbę drobnoustrojów o min. 6 rzędów wielkości. Wzrost liczby bakterii w filtracie był skorelowany ze wzrostem koncentracji plazmy i, będącym jej wynikiem analogicznym, wzrostem liczby bakterii w koncentracji. Poziom ogólną liczbę bakterii dla membrany 0,07 μm ulegał stopniowemu wzrostowi z $1,6 \cdot 10^3$ na początku procesu do $3 \cdot 10^5$ przy 3-krotnej koncentracji. Oznacza to, iż wzrost liczby bakterii był szybszy niż przyrost liczby bakterii w koncentracji będący wynikiem jego zagęszczenia. W obu przypadkach w całości usunięto bakterie z grupy *E. Coli*.

4. Wnioski

W próbach z użyciem membran 1,4 μm nie zanotowano zmian poziomu składników plazmy – zarówno zawartość białka, jak i soli mineralnych pozostały niezmiennie. W przypadku membrany 0,45 μm zanotowano natomiast spadek zawartości białka o około 20%, jednak sole mineralne przeszły w całości do filtratu. W przypadku membran 300 kD i 0,07 μm otrzymano sterylne filtry, ale skutkiem ubocznym był również znaczny ubytek białka (około 90%). Docelowa stacja mikrofiltracji powinna bazować zatem na membranach 1,4 μm jako wystarczających do redukcji poziomu bakterii w surowcu, a zarazem w pełni przepuszczalnych dla wszystkich składników odpowiedzialnych za jakość plazmy.

Literatura

- [1] PN-83/A-82054, Mięso i przetwory mięsne. Badania bakteriologiczne.
- [2] Ullmann's, *Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Sixth Edition, Wiley-VCH, 2002.
- [3] Bajcer T., Klatka M., *Radiacyjne metody utrwalania żywności*, Sosnowiec, luty 2005 (praca niepublikowana).
- [4] Jankowska P., Lenik E., *Zatężanie i odbarwianie plazmy na drodze ultrafiltracji*, Sosnowiec, luty 2006 (praca niepublikowana).
- [5] Torres M.R., Marin F.R., Ramos A.J., Soriano E., *Study of operating conditions in concentration of chicken blood plasma proteins by ultrafiltration*, Journal of Food Engineering, 54, 2002, 215-219.
- [6] Dailloux S., Djelveh G., Peyron A., Oulion C., *Rheological behaviour of blood plasmas concentrated by ultrafiltration and by evaporation in relation to liquid-gel transition temperature*, Journal of Food Engineering, 55, 2002, 35-39.
- [7] Zander L., Zander Z., *Baktofugacja* (praca niepublikowana).