

藝康 過程生物膜體檢方案

助力工廠提升品質的預防性管控

藝康（中國）投資有限公司

ECOLAB[®]



陳澤宇

高級技術支持工程師

上海海洋大學生物製藥專業

經歷

藝康工作年限-4年

多年的食品飲料行業經驗-15年

- ✓ 微生物高級技術支持工程師
- ✓ 食品三方實驗室技術工程師
- ✓ 微生物快檢設備技術經理

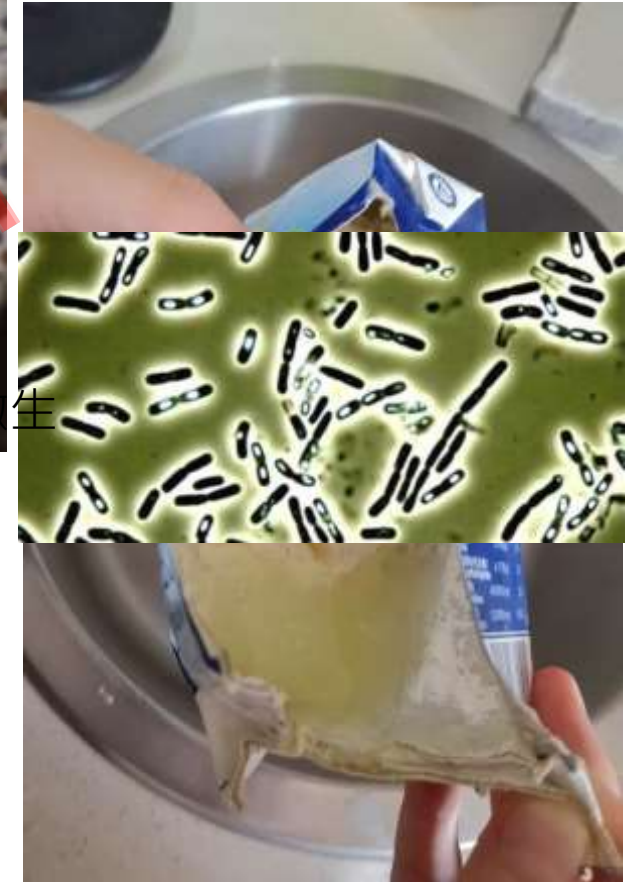
專長

- ✓ 乳品、飲料、農產品。
- ✓ 微生物問題解決
- ✓ 硬件評估&衛生死角排查
- ✓ 微生物菌相分析
- ✓ 生物膜去除項目
- ✓ 微生物實驗室檢測方法
- ✓ EMP項目
- ✓ 培訓：食品加工廠微生物控制，環境微生物監控，實驗室微生物檢測方法，消毒劑

乳品 & 飲料變質最大的元凶——微生物



a) 對於水質結果引入膜過濾法進行檢測，並對水中的微生物進行進一步的分析，作為數據溯源數據積累。

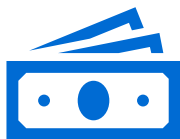


生物膜——困擾食品飲料企業和工廠的隱形原因



- 停產後/不定期/不明原因的 **批量產酸變質、脹包**

- **產品微生物數量超標**（尤其是奶粉芽孢）



- 偶發藏匿致病菌，**食品安全風險增加**



一些案例表明**生物膜**是導致偶發性**批量壞包**，造成百萬損失的根本原因。

為解決問題，工廠花費大量人力和精力進行排查，**影響生產和效率**。

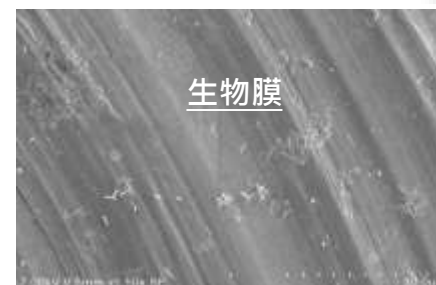
有多少？

在哪裏？

如何快
速？

有嗎？

如何有
效預防？



主要內容



生物膜簡介



過程生物膜及其影響



過程生物膜體檢及去除



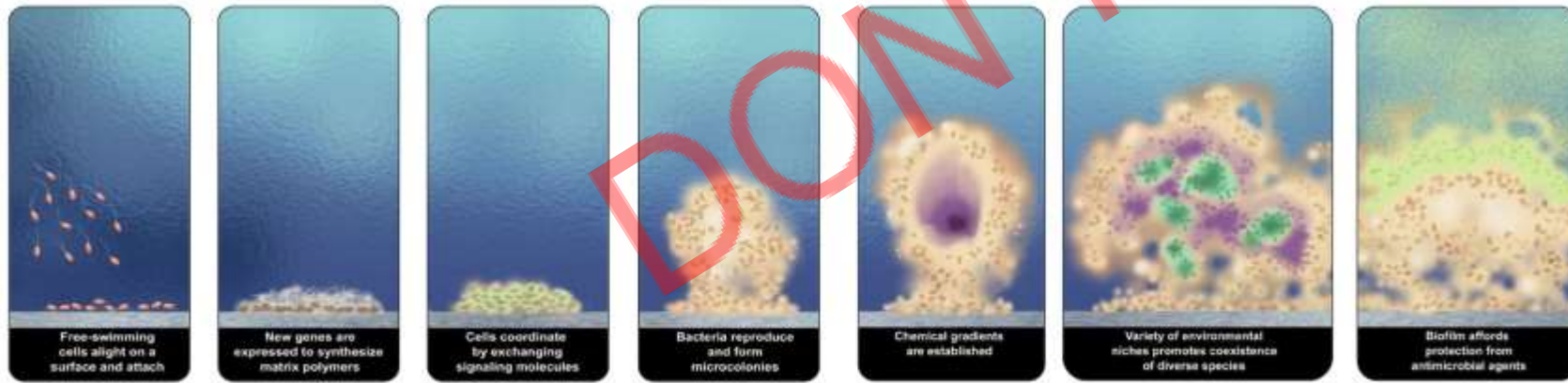
過程生物膜的去除和管控



數據分析及案例分享

生物膜介紹

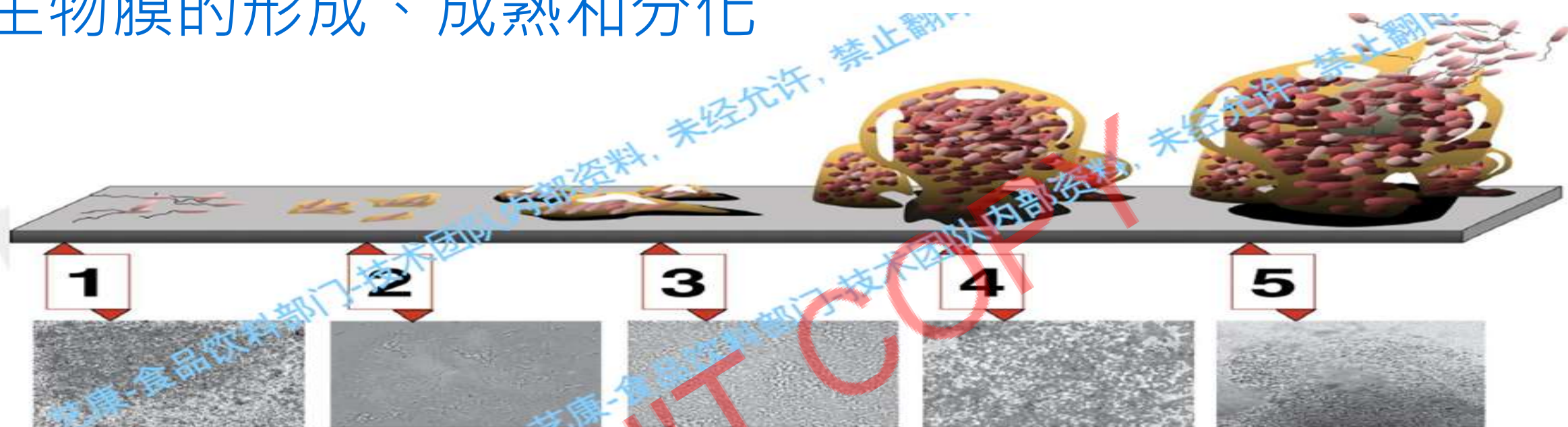
- ▲ **生物膜** 是指一群由同種或多種微生物組成，粘附于固體表面，被微生物分泌的胞外多聚物 (EPS) 所包裹的微生物聚集體。胞外多聚物 (EPS) 包括：胞外多聚糖、磷脂、蛋白質、核酸等
- 是一種代謝活躍的複合體，可以不斷生長擴大，不同種類的微生物能形成共生關係，相互積累和提供營養物質
- 有粘性聚合物包裹著，粘附在固體表面，為微生物創造生長場所和載體
- 具有不利環境下保護物體的功能，為微生物提供“保護傘” 生物膜能保護微生物不受有害物質 (清洗劑、消毒劑)、不利環境 (乾燥、UV照射) 的侵害，提高微生物在逆境中的存活和生長能力



Center for Biofilm Engineering - MSU



生物膜的形成、成熟和分化



- ▲ 阶段 I. 可逆粘附；由环境信号引发的微生物粘附，粘附在5-10秒发生；
- ▲ 阶段 II. 不可逆粘附；微生物通过鞭毛、纤毛或粘性物质而粘附于表面，粘附在20min-4h发生；
- ▲ 阶段 III. 生物膜形成；微生物聚集和生长，分泌EPS形成生物膜结构；
- ▲ 阶段 IV. 生物膜成熟；发展成由单层或多层细菌、EPS和水通道构成的孔状结构的微生物群落组织；成熟的生物膜结构复杂，代谢活跃。
- ▲ 阶段 V. 脱落和分散；部分微生物因结构崩塌或剪切力而脱落分离，形成游离微生物，传播到新的环境开始新一轮生物膜的形成。

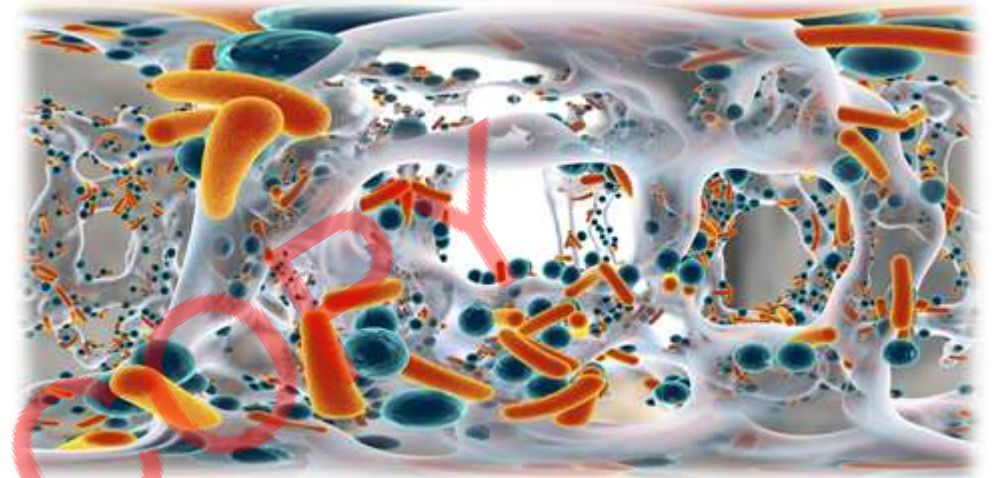
生物膜的優勢

形成獨特的小生境

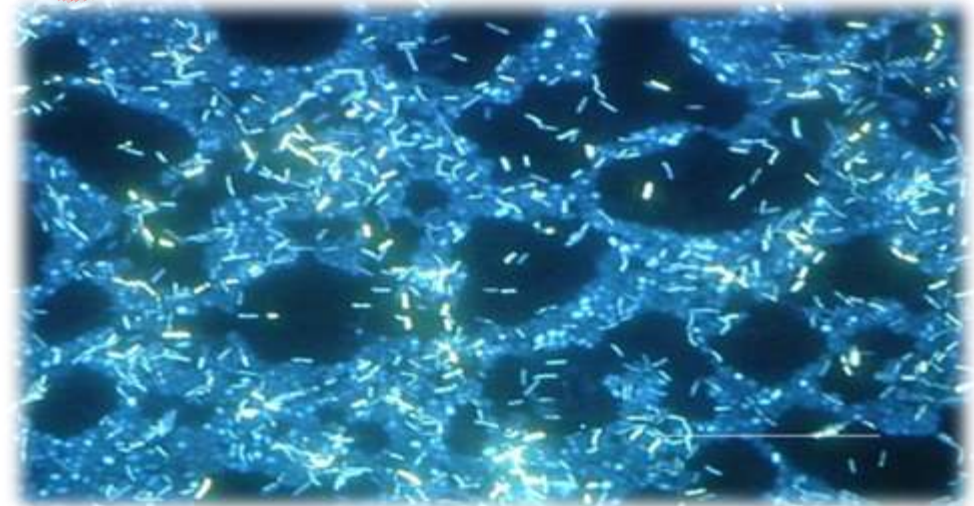
支持多物種微生物形成共生關係，
相互積累和提供營養物質。

可吸附營養物質。營養匱乏時，
還分泌並儲備碳源。

抵抗有害物質，乾燥，UV照射等
不利環境侵害，
提高微生物在逆境中的存活和生長能力。



<https://www.istockphoto.com/photo/biofilm-of-antibiotic-resistant-bacteria-gm597969966-102456091>



https://teamaquafix.com/wp-content/uploads/2014/01/Biofilm_Microenviron.jpg

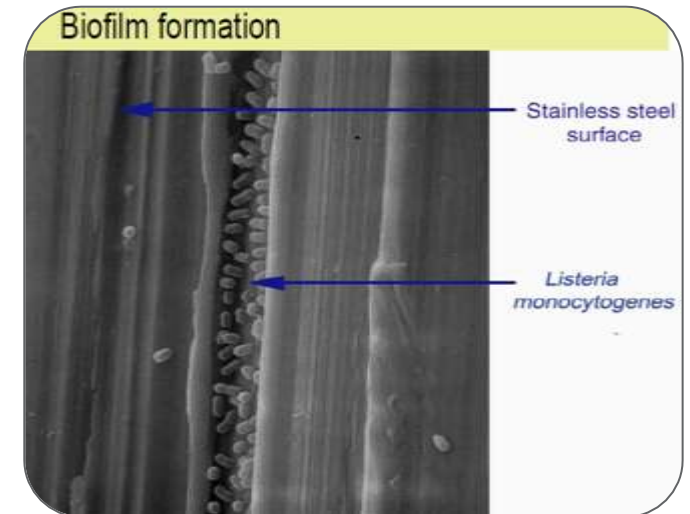
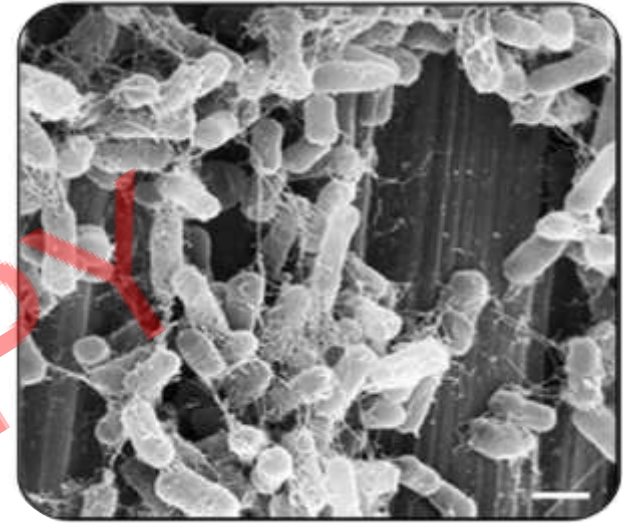
生物膜的 EPS 保護層

複雜的EPS結構：
胞外多聚糖，蛋白質，
DNA形成的網絡。

黏附在固體表面，為微生物
創造生長場所和載體。

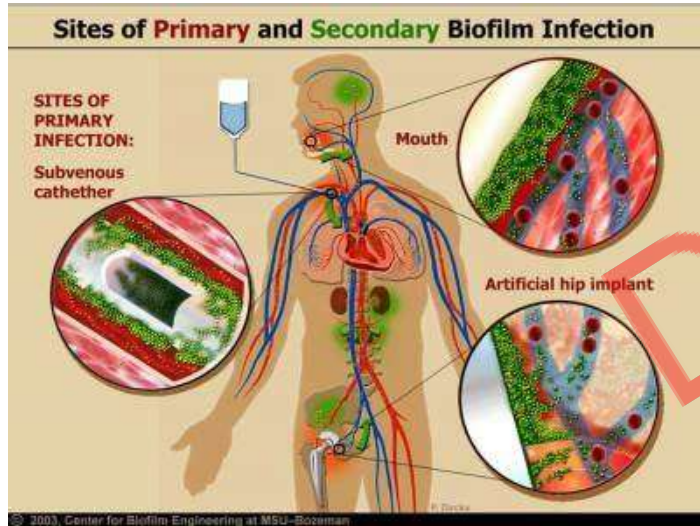
是一種代謝活躍的複合體，
可以不斷生長擴大。

EPS差異：有實驗表明，
假單胞菌對多糖酶敏感，
芽孢桿菌對蛋白酶敏感



常見的生物膜

- 醫療生物膜：器官感染（肺炎，牙菌斑）、植入物、複用醫療設備
- 環境生物膜：水處理設施、設備外表面、下水道、牆角等
- 過程生物膜：管道內粗糙表面、管道死角、管道連接處、墊圈、裂縫等



主要內容



生物膜簡介



過程生物膜及其影響



過程生物膜體檢及去除



過程生物膜的去除和管控



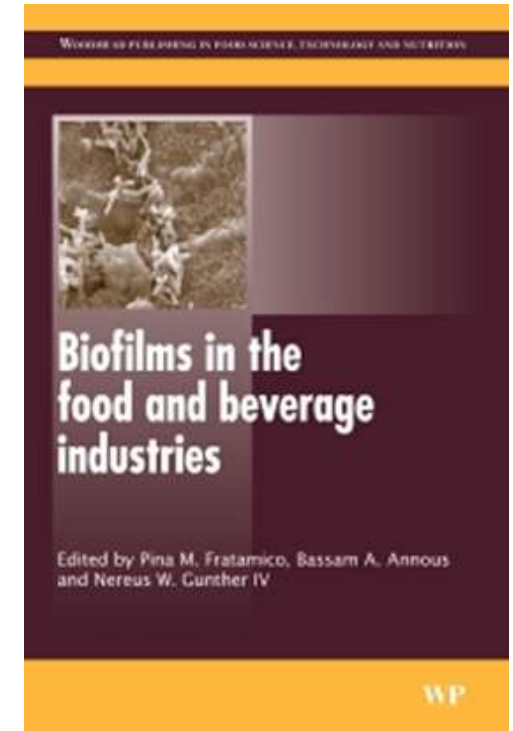
數據分析及案例分享

食品生產中的生物膜

生物膜可能在任何設備區域形成

Table 1—Overview of biofilm problem areas at dairy farms and dairy processing plants (Wirtanen 2004; Teixeira and others 2005; Agarwal and others 2006; Gunduz and Tuncel 2006).

Sampling points	Materials	Type of bacteria						
		<i>Pseudomonas</i>	<i>Aeromonas</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Bacillus</i>	LAB	Enterobacteriaceae	<i>Listeria</i>
Balance tank	Steel	—	—	—	+	—	+	—
Aging tank	Steel	—	—	+	+	—	—	—
Feeding unit	*	—	—	—	+	+	+	—
Conveyer belt of packaging machine	Rubber	+	—	—	—	+	+	—
Floor drain	*	—	—	—	—	—	+	+
Doormat	*	—	+	—	—	+	+	+
Ultrafiltration membranes	Steel	—	—	—	—	+	—	—
Silo, welded joints	Steel	+	—	+	+	—	—	*
Valves	Steel	—	—	—	—	+	—	*
Air separators, inside	Steel	+	—	+	+	+	—	*
Tank truck, valve, gasket	Rubber	+	—	+	+	—	—	*
Tank truck, air separator	Steel	+	—	—	—	—	+	*
Tank truck, air separator, gasket	Rubber	—	—	+	+	—	+	*
Bulk tank outlet on farm	Steel	*	—	*	*	*	*	+
Rubber liners	Rubber	*	—	*	*	*	*	+
Short milking tube	Rubber	+	—	+	—	+	+	—



引自 Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety Vol. 11, 2012 · P138

過程生物膜的形成

▲ 細菌營養體能在設備表面形成生物膜，而芽孢比營養體更快更牢固地吸附于食品加工表面生長並形成生物膜

▲ 現代生產過程適合芽孢菌的生存

- 巴氏殺菌或 UHT 工藝能夠殺死原料中的細菌營養體，但不能完全殺滅芽孢
- 許多熱處理環節可以激活芽孢，且適合芽孢生存
- 原料中的鈣離子有利于芽孢形成，且豐富的礦物質對芽孢抗熱性有促進作用
- 設備有粗糙或者關鍵部位的清洗不徹底，造成芽孢和生物膜的增加
- 設備不能有效排空/維護保養/開機率

▲ 以嗜熱芽孢和非芽孢類細菌為主（生長溫度40-70攝氏度）

■ 非芽孢耐熱菌

- 鏈球菌
- 微球菌
- 腸球菌
- 小杆菌
- 棒狀杆菌
- 節杆菌

■ 常見嗜熱芽孢菌

- 好熱黃無氧芽孢杆菌
- 嗜熱脂肪土芽孢杆菌
- 地衣芽孢杆菌
- 凝結芽孢杆菌
- 類芽孢杆菌
- 枯草芽孢杆菌
- 產胞芽孢杆菌

Microorganism	Temp (°C)	D value
<i>Bacillus Cereus</i> (蠟樣芽孢杆菌)	100	4-8min
	121.1	2.35min ^M
<i>Bacillus Licheniformis</i> (地衣芽孢杆菌)	100	4-8min
<i>Bacillus Subtilis</i> (枯草芽孢杆菌)	121.1	0.5min
<i>Bacillus Sporothermodurans</i> (產胞芽孢杆菌)	121	19-34s
<i>Bacillus Stearothermophilus</i> (嗜熱脂肪芽孢杆菌)	120	12.7min
<i>Bacillus Coagulans</i> (凝結芽孢杆菌)	98.9	3.1min
<i>Clostridium perfringens</i> (產氣夾膜梭菌)	100	> 17min
<i>Clostridium butyricum</i> (丁酸梭菌)	85	23min

幾種芽孢的D值

D 值: 一定條件下，某一溫度下殺死90%細菌所需的時間。
M: 文獻報導的最大值

蠟樣芽孢杆菌營養細胞在60°C 條件下的D值是1min

過程生物膜可能隱匿的位點

工廠因素

- 衛生設計，死角
- CIP設計，中央CIP循環清洗交叉污染，清洗消毒不徹底
- 污垢殘留

設備因素

- 換熱表面
- 墊圈密封
- 閥門的選型和清洗

其他因素：

- 非標準清洗操作或跳步
- 複雜配料，混料
- 漏檢的污染源



熱循環後的熒光染料入侵

密封圈等最易形成生物膜

過程生物膜產生的影響

- 生物膜一旦在加工管道內形成可以源源不斷向外釋放微生物
- 細菌芽孢比繁殖體更易于沉積在管路上
- 常規清洗消毒工藝可能無法徹底清除生物膜，而成爲污染源增加食品安全風險



主要內容



生物膜簡介



過程生物膜及其影響



過程生物膜體檢及去除

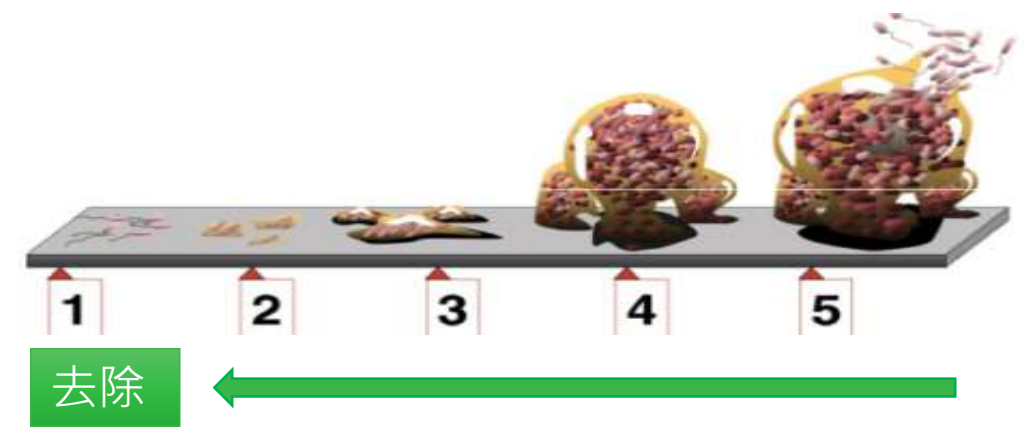
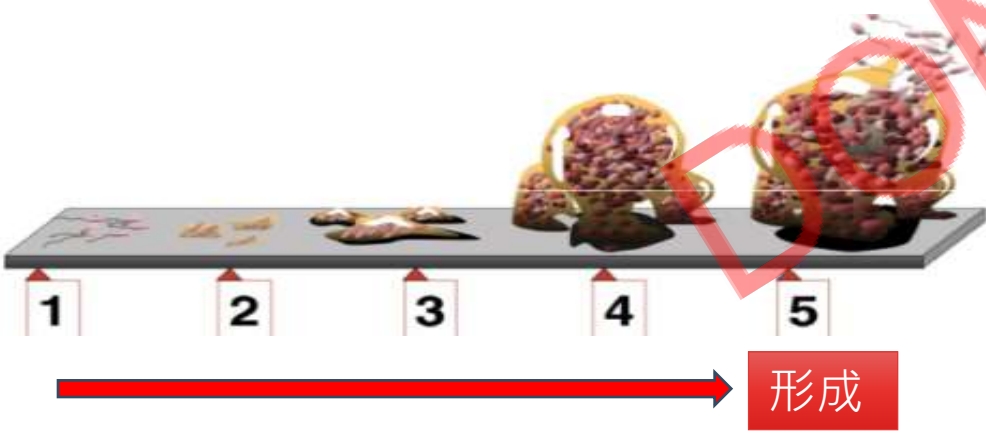
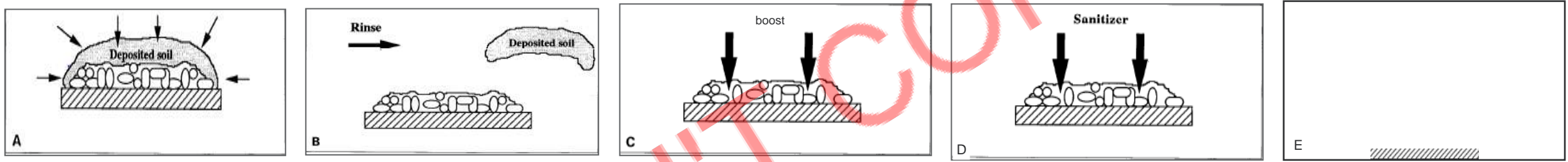


過程生物膜的去除和管控



數據分析及案例分享

過程生物膜的去除



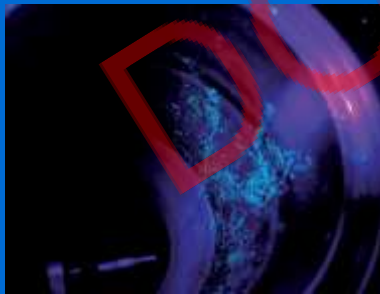
開放表面生物膜檢測方法介紹

開放系統生物膜分析

物理_紫外光燈

- 檢測有機殘留物 (蛋白質、多醣體、礦物質)
- 檢測生物膜中的微生物
- 侵入性的，易于應用，有助于識別潛在的棲息區和收集點
識別並非特定于生物膜，而是提供一目了然的概述

Possible biofilm in piping Source: Bactiscan EIT



INDICON GEL 藝滌康

- 不須額外設備、30秒內即可鑑別
- 可以檢測過氧化氫酶陽性生物膜 (單核增生李斯特菌、大腸杆菌、金黃色葡萄球菌及沙門氏菌等。)
- 對大部分表面材質相容、適用於大範圍的偵測應用。
- 難以觸及的表面與凹陷處皆通用。

Pseudomonas aeruginosa



Enterococcus hirae



Food soils



主要內容



生物膜簡介



過程生物膜及其影響



過程生物膜體檢及去除



過程生物膜的去除和管控

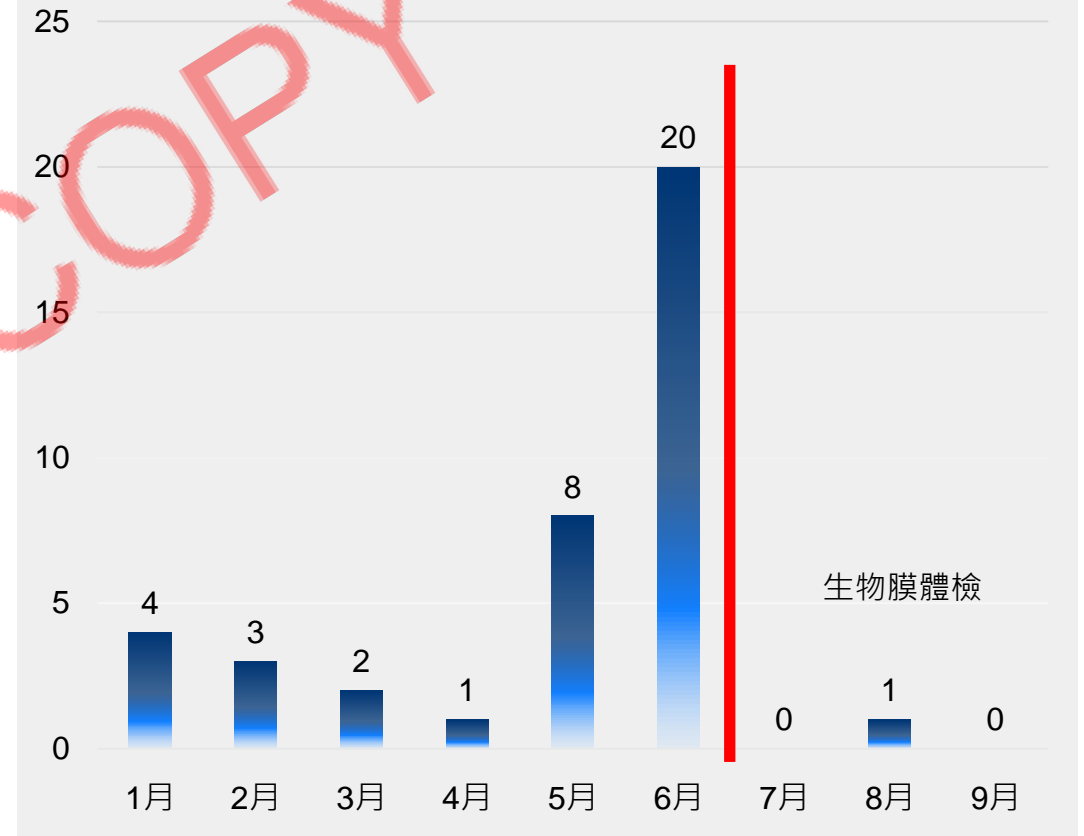


數據分析及案例分享

過程生物膜體檢應用場景

- ✓ 優先排查有以下情況的工廠進行過程生物膜體檢：
 - ✓ 曾經出現過批量品質異常事件至今未找到根本原因
 - ✓ 設備比較老舊的工廠
 - ✓ 投訴率異常升高
 - ✓ 可以配合實現清洗程序的調整
 - ✓ 加熱設備：UHT、蒸發器、巴殺等
 - ✓ 無菌系統的排查：無菌罐、充填機系統

生物膜體檢後的投訴趨勢



主要內容



生物膜簡介



過程生物膜及其影響



過程生物膜體檢及去除



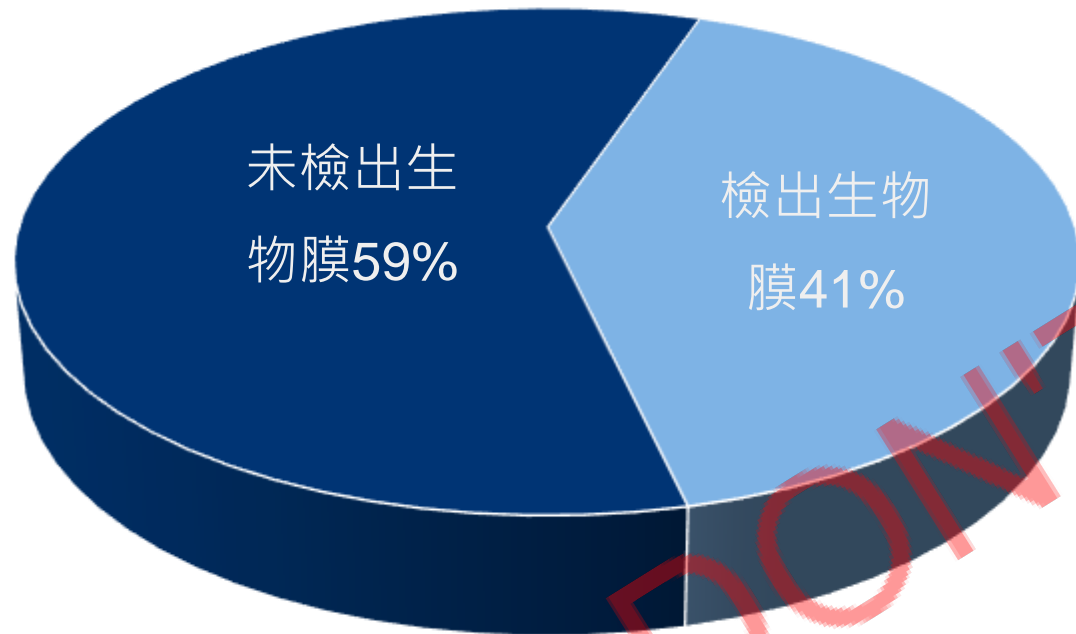
過程生物膜的去除和管控



數據分析及案例分享

生物膜數據總覽

- 共計 **33** 個工廠。總體檢目標數**121**個。
- 檢出有生物存在的目標數：**50** 個。



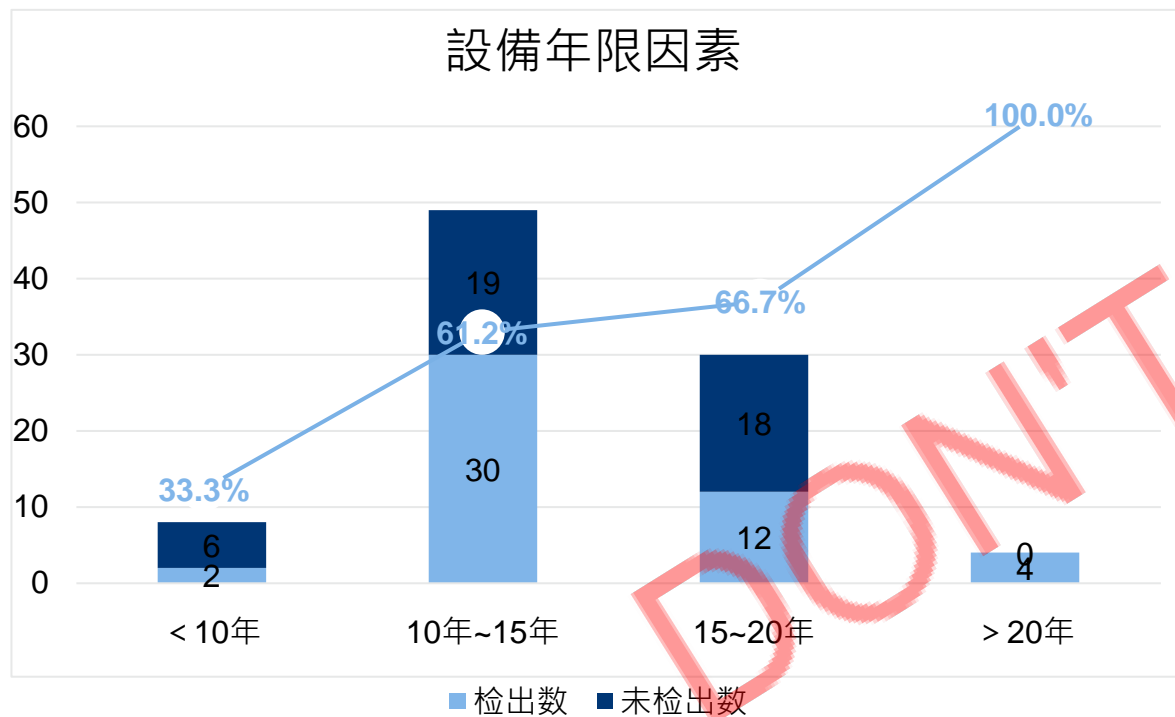
- 檢出生物膜的目标数
- 未檢出生物膜目标数

- ◆ 需氧芽孢
- ◆ 嗜熱芽孢
- ◆ 菌落總數

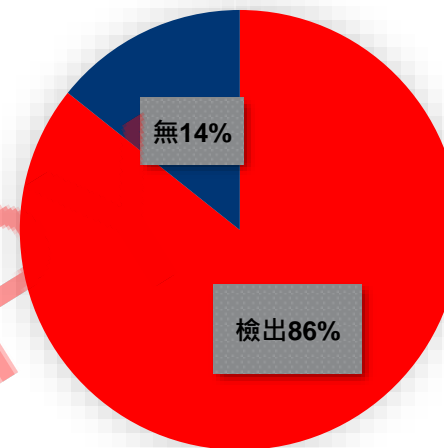
結塊；
酸包

酸包；
脹包

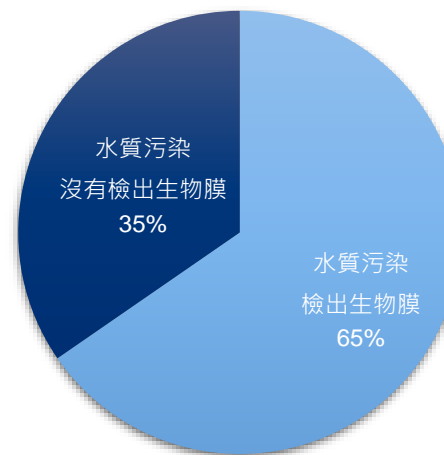
生物膜形成相關因素



非無菌段設備生物膜檢出情況



清洗用水污染情況與生物膜的關係





過程生物膜體檢，助力降低零星壞包

挑戰&背景

- 老廠房，常溫奶生產線，UHT等設備使用超過十年
- 20年下半年開始，市場上的壞包投訴增加，工廠進行了排查改善，但21年上半年壞包投訴也沒有下降
- 工廠期望能找到根本原因，降低客訴；UHT、無菌罐是否有生物膜殘留成爲下一步排查的對象——或明確爲根本原因或排除不是原因

解決方案

引入藝康過程生物膜體檢項目

- 明確工廠需求和目標後，參照實施指南進行前期調研，確認體檢對象、採樣點；水體微生物達標、無外來污染；確定程序和微生物檢測可實施等
- 實施生物膜體檢項目，包括工藝執行和微生物培養
- 提供體檢報告，對體檢設備的“健康狀況”給予反饋和評估意見

結果

UHT

有生物膜，強化清洗後已完全去除

酶洗A過程中觀察到嗜熱芽孢數量有增加，說明設備表面存在少量生物膜。加強清洗後，酶洗B的微生物數量與基準一致，生物膜已去除。

無菌罐

無生物膜檢出

酶洗過程中未觀察到微生物數量增加，說明設備潔淨度高，基本無生物膜

備注：

- 對有微生物污染的成品進行鏡檢。如果後續還需要做生物膜體檢，可以將體檢檢出的微生物和成品污染的微生物的鏡檢結果進行對比和進一步匹配
- 關注體檢後生產產品的苦包、酸包、脹包和客訴情況，看看是否有相關數據的變化。如有改善，結合歷史以及更新後的客訴波動周期來指導體檢頻率的制定。



幫助某乳粉工廠提升過程微生物管控

挑戰&背景

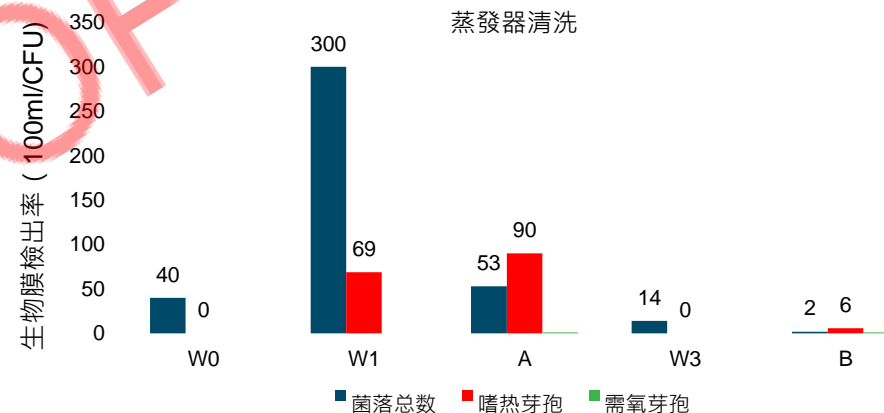
- 成品奶粉的微生物指標與分裝前的奶粉微生物指標、分裝過程污染、包材微生物指標有關
- 分裝前奶粉微生物指標與奶源微生物質量、殺菌工藝強度、加工設備和管道、罐體帶來的二次污染等有關
- 二次污染主要來自清洗、消毒不徹底帶來的微生物污染，其中蒸發器因其設備結構特點原因，清洗、消毒挑戰最為嚴重

解決方案

引入藝康過程生物膜體檢項目

- 通過前期調研，明確體檢對象為蒸發器且項目具有可實施性
- 實施生物膜體檢項目的實施，包括：生物膜洗脫、採樣、強化清洗消毒、定量培養以及風險評估

結果



- 結論：**系統存在生物膜風險且生物膜內微生物主要以嗜熱芽孢菌為主，經過藝康生物膜清洗工藝，得到有效的去除和殺滅。

工廠收益：

- 瞭解了蒸發器生物膜殘留水平，降低過程微生物累積，提升成品質量保障



幫助某大型飲料企業解決生產線整體污染問題

挑戰&背景

國內某大型飲料工廠，由于原料污染導致生產線被特定微生物污染。

多次強化清洗效果均不理想，無法正常生產。

常規清潔&消毒手段均無法有效清除系統內污染的微生物。

解決方案

引入藝康過程生物膜體檢項目

- 通過前期調研，明確系統整體存在生物膜風險。
- 實施生物膜體檢項目的實施，包括：生物膜洗脫、採樣、強化清洗消毒、定量培養以及風險評估

結果	
緩衝桶	清洗水中芽孢計數較高，有較高的生物膜風險，經過強化清洗後微生物負載有明顯降低。
T20料罐	清洗水中芽孢計數較高，有較高的生物膜風險，經過強化清洗後微生物負載有明顯降低。
複水桶	沒有生物膜存在的跡象
果粒系統	有需氧芽孢生物膜檢出，經過清洗後已經清除，但嗜熱芽孢有上升趨勢，建議再次進行清洗確認。

- 結論：多處設備存在芽孢類生物膜，經過體檢的強化清洗和消毒後，系統內的微生物負載有明顯降低，系統恢復了正常生產狀態
- 工廠收益：
恢復生產，解決了生產線的微生物污染問題。



助力某大型乳企降低微生物相關客訴

挑戰&背景

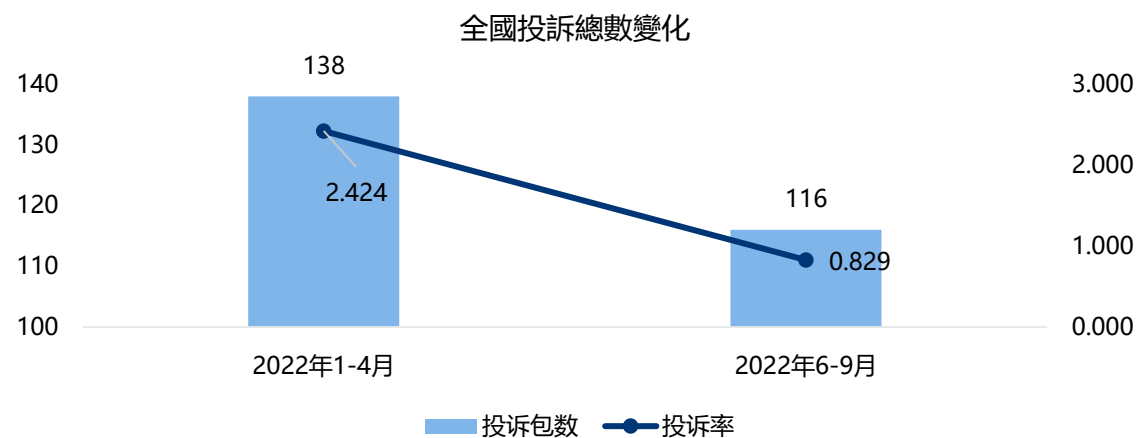
- 某大型乳品工廠，設備超過10年以上，有零星壞包偏高的問題。
- 日常衛生和清洗排查均沒有發現明顯的問題。

解決方案

- 藝康技術專家協助工廠進行微生物污染分析及排查，聚焦可能原因並建議解決方案
 - 制定及執行強化清洗消毒工藝
 - 對關鍵性無菌設備進行了生物膜診斷及驗證

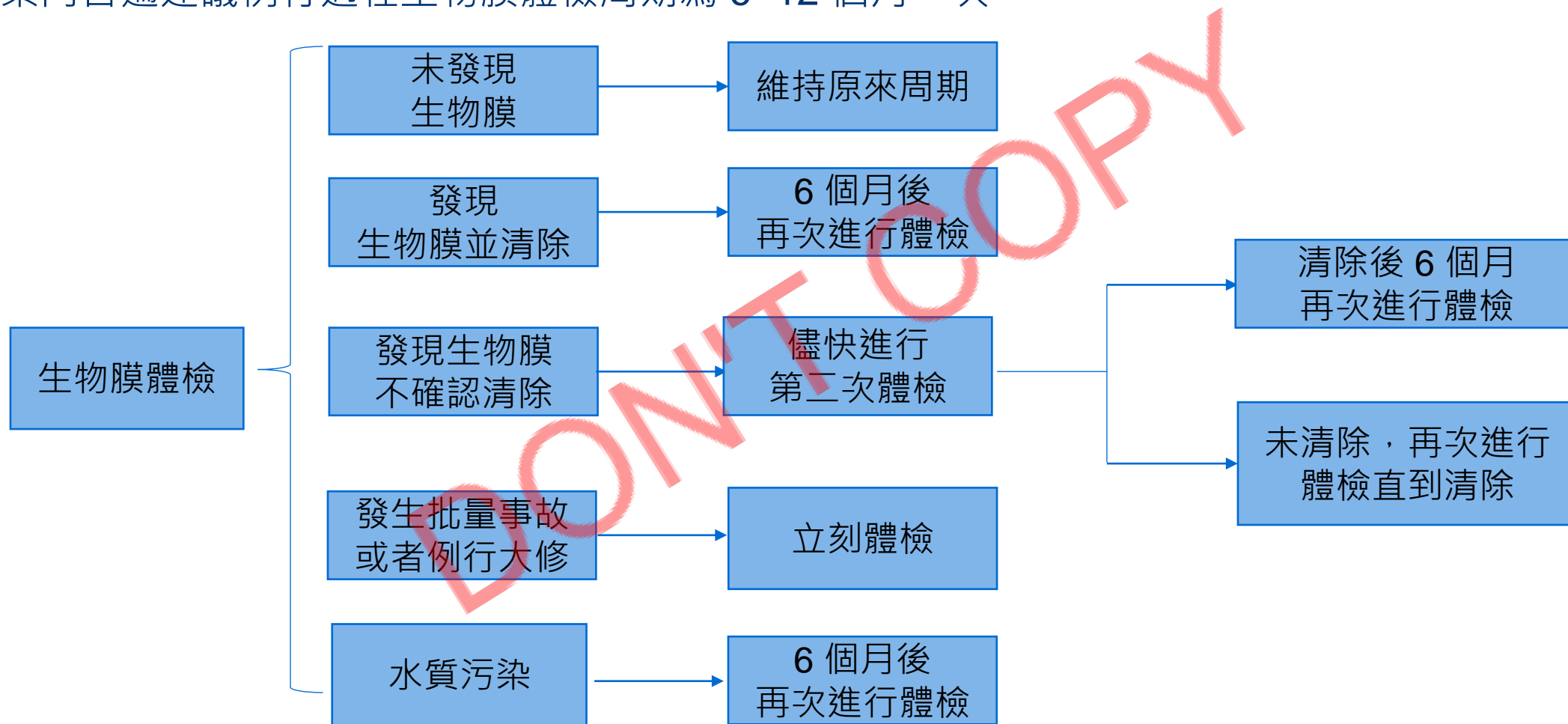
結果	
設備	生物膜檢測結果
5號UHT	發現輕微需氧芽孢構成的生物膜結構存在，經過酶的剝離和強化清洗消毒後已經完全去除。
無菌罐 & 充填機	未發現生物膜存在跡象，系統的衛生情況良好。

工廠收益：客訴率下降



生物膜體檢驗證計劃推薦指導原則

行業內普遍建議例行過程生物膜體檢周期為 6~12 個月一次。



您的系統體檢了嗎？



ECOLAB[®]
PROTECTING WHAT'S VITAL[™]

DOWNLOADED COPY

