

Jenni Peltomaa

Pesuainejäämien testaus kiertopesuista

Opinnäytetyö

Kevät 2010

Tekniikan yksikkö

Bio- ja elintarviketekniikka



SEINÄJOEN AMMATTIKORKEAKOULU

Opinnäytetyön tiivistelmä

Koulutusyksikkö: Tekniikan yksikkö
Koulutusohjelma: Bio- ja elintarviketekniikka

Tekijä: Jenni Peltomaa

Työn nimi: Pesuainejäämien testaus kiertopesuista

Ohjaaja: Marjatta Salminen

Vuosi: 2010

Sivumäärä: 31

Puhtaus on yksi tärkeimmistä asioista elintarviketeollisuudessa ja tuoteturvallisuudessa. Tuotteiden kontaminaatioiden estäminen on osa omavalvontaa. Mikrobiologisen puhtauden lisäksi on huolehdittava myös muista elintarvikkeita pilaavista aineista. Hyvä tuotantohygienia ja -suunnittelu ovat elintarvikelaitoksen perusta.

Meijerissä on paljon putkistoja, säiliöitä ja tuotantolaitteita, jotka pestään kiertopesulla. Kiertopesuissa kiertävät alkuhuuhe, emäs, välihuuhe, happo ja loppuhuuhtelu. Pesukohteita on yli sata ja jo yhden päivän aikana on monia pesuja. Työssä tutkittiin kiertopesujen pesuainejäämiä loppuhuuhteista. Pesuainejäämät määritin ATP-testillä luminometrin avulla. Testissä valoa tuottava bakteeri, *Vibrio fischeri*, altistetaan loppuhuuhtenäytteelle. Jos näytteessä on pesuainejäämiä, bakteerin valontuotto heikkenee. Tutkimuksen perusteella loppuhuuhtelu-aika on riittävä poistamaan pesuaineet pesukohteista, sillä otetuissa näytteissä ei löytynyt pesuainejäämiä.

Avainsanat: puhtaus, bioluminesenssi, *Vibrio fischeri*.

SEINÄJOKI UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Thesis abstract

Faculty: School of Technology

Degree programme: Food Processing and Biotechnology

Author: Jenni Peltomaa

Title of thesis: Testing detergent residues in CIP

Supervisor: Marjatta Salminen

Year: 2010

Number of pages: 31

Purity is one of the most important issues in the food industry and food safety. The purpose of the hygiene control is to prevent the contamination of products. Microbiological purity is important, but there are also other contaminants than microbes. Good production design and hygiene are the basis for the food industry.

In a dairy, there are a lot of pipes, tanks and production equipment, which are cleaned with cleaning-in-place system. The cleaning system consists of pre-rinsing, alkaline cleaning, rinsing, acid cleaning and final rinsing. I tested detergent residues in final rinse water using a luminometer. The ATP test is based on luminescent *Vibrio fischeri* photobacteria. If the water sample contains residues, the light production of the bacteria will decrease. The rinsing time is long enough, because there were no residues in the samples I took.

Keywords: purity, bioluminescence, *Vibrio fischeri*.

SISÄLTÖ

Opinnäytetyön tiivistelmä.....	2
Thesis abstract.....	3
Kuvioluettelo.....	5
1 JOHDANTO	6
2 TUOTANTOHYGIENIA	7
3 PROSESSISUUNNITTELU.....	8
4 MIKROBIOLOGINEN PUHTAUS	10
5 KIERTOPESET.....	13
5.1 Pesutulokseen vaikuttavia tekijöitä.....	14
5.2 Pesuliuokset.....	15
5.3 Kiertopesujen käytön seuranta.....	17
6 LUMINOMETRI JA HYGIENIATESTIT.....	19
7 VIBRIO FISCHERI -BAKTEERIN BIOLUMINESENSSI.....	21
8 PESUAINEJÄÄMÄTESTAUS.....	23
8.1 Näytteiden otto	23
8.2 Testin suoritus.....	26
8.3 Tulosten laskeminen	27
8.4 Tulokset ja tarkastelu	28
LÄHTEET	30

Kuvioluettelo

KUVIO 1. Uuden pesukeskuksen pesuliuosäiliöitä.....	13
KUVIO 2. Vanhan pesukeskuksen loppuhuuhdesäiliö.	15
KUVIO 3. Uuden pesukeskuksen loppuhuuhdesäiliö.....	16
KUVIO 4. Luminometri. (Labema Oy:n kotisivut 2009.)	19
KUVIO 5. Bioluminesenssin vaikutus: <i>Vibrio fischeri</i> -pesäkkeitä normaalissa valossa (vasemmalla) ja pimeässä (oikealla). (Dunn, [Viitattu 29.5.2010].)	21
KUVIO 6. Bakteerien valontuotto heikkenee toksisen näytteen lisäämisen jälkeen. (Labema Oy:n kotisivut 2009.)	23
KUVIO 7. Käsiventtiili, kermatankin näytteenottopaikka.	24
KUVIO 8. Kermapastöörin suppilot.	25
KUVIO 9. Kermasiilon näytteenottopaikka.	25

1 JOHDANTO

Puhtaus on elintarvikealalla tärkeä asia ja onhan olemassa sanonta: puhtaus on puoli ruokaa. Työssä käsitellään puhtautta, joka alkaa jo hygieenisestä suunnittelusta. Pääpaino on pesujen kemiallisessa puhtaudessa unohtamatta kuitenkaan mikrobiologista puhtautta.

Kaikki Valion ravintorasvat valmistetaan Seinäjoella, kuten esimerkiksi voi, Oivariini ja KevytLevi. Valmistuskapasiteettia on nostettu vanhan rasvatehtaan kylkeen rakennetulla uudella rasvatehtaalla. Syksyllä 2009 rasvaosastolla otettiin käyttöön uusi menetelmä pintahygienian tarkkailutavaksi. Vanha sivelymenetelmä korvattiin ATP-testauksella. Uusi menetelmä oli huomattavasti nopeampi. ATP-testi osoittaa kaiken lian, kun sivelymenetelmällä tutkittiin ainoastaan mikrobiologista puhtautta. Luminometrillä, jolla pintahygieniatesti tehdään, voidaan tarkkailla myös veden puhtautta sekä tutkia pesuainejäämiä.

Seinäjoen tehtaalla ei ole aikaisemmin ollut käytössä pesuainejäämätestausta. Auditoiden puolelta on tullut kyselyitä kuinka pesutulosten laatua seurataan. Koska luminometri oli jo pintahygienian tutkimista varten hankittuna, sillä ryhdyttiin tutki-
maan myös mahdollisia pesuainejäämiä rasvaosaston kiertopesuista. Uuden rasvatehtaan myötä myös pesukeskus siirtyy vähitellen uuteen paikkaan. Uuden pesukeskuksen toimivuuden testaus tuli ajankohtaiseksi ja samalla oli tarkoitus vertailla vanhan ja uuden pesukeskuksen laadullisia eroja pesuainejäämien suhteen.

2 TUOTANTOHYGIENIA

Tuotantohygienian hallinta on hyvin tärkeä osa elintarvikeyrityksen omavalvontaa ja kokonaisvaltaista laatuajattelua. Korkea tuotantohygienia takaa elintarvikkeiden puhtauden niiden käsittelyn aikana sekä varmistaa niiden turvallisuuden ja hyvän elintarvikehygieenisen laadun. Voin pilaantuminen ja makuvirheet saattavat johtua mikrobeista tai kemiallisista syistä. Elintarviketeollisuudessa pesuilla halutaan päästä sekä mikrobiologisesti että kemiallisesti puhtaaseen lopputulokseen. (Wir-
tanen 2002, 107.)

Kontaminaatio voi tulla elintarvikkeeseen useasta eri lähteestä. Ne voidaan luokitella fyysisiin, kemiallisiin ja mikrobiologisiin lähteisiin. Kemiallinen kontaminaatio voi tulla esimerkiksi koneiden voiteluaineista, pesuihin käytettävistä puhdistus- ja desinfiointiaineista, lattia-, seinä- ja kattomateriaaleista tai tehtaalla käytettävistä torjunta-aineista. (Lelieveld, Mostert, Holah & White 2003, 62–69.)

Pesutulokset voidaan jakaa neljään erilaiseen ryhmään puhtausasteen mukaan. Fysikaalinen puhtaus tarkoittaa, ettei pinnalla ole näkyvää likaa. Kemiallinen puhtaus edellyttää näkyvän lian ohella mm. puhdistukseen käytettyjen pesuainejäämien poistoa. Pinnat, joissa ei ole eläviä mikrobeja, ovat mikrobiologisesti puhtaita. Kuitenkaan aina mikrobiologisesti puhdas ei ole fysikaalisesti ja kemiallisesti puhdas. Neljäs puhtausasteen määritelmä on steriiliys, jolloin pinnalta ei löydy mikro-
bien lisäksi myöskään itiöitä eikä entsyymejä. (Bylund 1995, 404.)

3 PROSESSISUUNNITTELU

Laitteiden ja prosessien on oltava hygieenisesti suunniteltuja ja rakennettuja niin, että ne ovat helposti puhdistuvia. Hygieenisen suunnittelun lähtökohtana on mekaniikan, prosessin ja mikrobiologian yhdistäminen oikealla tavalla. Hygieniavaatimukset tulee ottaa huomioon jo prosessia suunniteltaessa, sillä vaatimusten täyttäminen voi kasvattaa laitteen elinikää, vähentää kunnossapitoa ja alentaa tuotantokustannuksia. Tuotteen kontaminaatioherkkyys vaikuttaa suurelta osalta prosessilaitteiden ja pintojen hygieniavaatimuksiin prosessoinnin ja pakkauksen aikana. (Wirtanen 2002, 45.)

Elintarvikkeen kanssa kosketuksissa olevien pintojen tulee kestää pesuliuoksia kaikissa käytetyissä olosuhteissa. Laitteiden ja putkistojen hygienian ja pestävyyden kannalta on tärkeää välttää pieniä koloja ja rakoja, joiden peseminen on hankalaa tai mahdotonta. Elintarviketta voi kertyä näihin koloihin, mikä edesauttaa mikrobien lisääntymistä niissä. Koloissa olevat bakteerit saattavat kontaminoida elintarvikkeen. (Wirtanen 2002, 57.)

Säiliöt. Tankkien ja säiliöiden pitää olla suunniteltu siten, että ne tyhjenevät itsestään. Käytännössä tämä tarkoittaa sitä, että tankista ulosvievä putki on sijoitettava tankin alimpaan kohtaan eikä putkea saa liittää siten, että putki tunkeutuu säiliön sisään. Tällä estetään elintarvikkeiden ja pesuliuosten kertyminen säiliöiden pohjalle. (Wirtanen 2002, 61.)

Putkistot. Paras putkimateriaali on ruostumaton teräs. Elintarvikehygienian kannalta putkien pintojen tulisi olla sileitä. Putkien tulee olla hieman kallistettuja nesteen kulkusuuntaan, jotta niihin ei jää elintarvikejäämiä tai pesuliuoksia. Putkistojen tulee olla riittävästi tuettuja, jotta ne eivät taivu mutkalle, sillä mutkiin voi kertyä elintarviketta tai pesuliuoksia. Putkistoissa tulee mahdollisuuksien mukaan välttää

ns. kuolleita alueita, joihin voi kertyä elintarviketta tai likaa. Myös erilaisiin liitoskohtiin, kuten hitsausseamoihin ja tiivisteisiin, tulee kiinnittää huomiota. (Bylund 1995, 408; Spreer 1998, 426; Wirtanen 2002, 36; Fellows 2009, 807–808.)

Rakentamiseen käytetyt materiaalit ovat yksi tärkeä asia hygieenisessä laitesuunnittelussa. Materiaalien tulee olla muun muassa korroosionkestäviä, myrkyttömiä ja imemättömiä. Materiaalit eivät saa vaikuttaa elintarvikkeen hajuun, väriin tai makuun. (Wirtanen 2002, 63.)

Meijerin laitteet on pääasiassa valmistettu ruostumattomasta teräksestä (Marth & Steel 2001, 552). Austeniittinen ruostumaton teräs on tavanomaisin rakennemateriaali elintarviketeollisuudessa. Austeniittiset teräkset sisältävät erittäin vähän hiiltä ja enemmän joitakin muita metalleja, kuten kromia ja nikkeliä. Kromipitoisuus (12 % tai enemmän) vaikuttaa teräksen korroosionkestävyyteen. Teräksen pinnalle muodostuu kromioksidikerros hapen läsnä ollessa, mikä tekee teräksestä ruostumattoman. Teräksen kestävyys vaikuttavat myös muut aineet, kuten molybdeeni, typpi, kupari, titaani, niobium, rikki ja hiili. Nikkeli, molybdeeni ja titaani parantavat kestävyttä ja korroosionkestävyyttä. AISI-304, AISI-316 ja AISI-316L antavat monessa tapauksessa riittävän ruostesuojan. AISI-316-terästä suositellaan esimerkiksi venttiileihin, roottoreihin ja akseleihin ja AISI-316L sopii hyvin esimerkiksi putkistojen ja tankkien materiaaliksi hitsattavuutensa takia. Puhdistavuuden kannalta elintarviketeollisuudessa käytettävän teräksen tulisi olla pinnan karheudeltaan sileää (R_a on 0,8 μm tai alle). Myös hitsausseamojen tulisi olla yhtä sileitä kuin materiaali, jossa sauma on. (Wirtanen 2002, 64–65.)

4 MIKROBIOLOGINEN PUHTAUS

Mikrobiologisen puhtauden pahimpia vihollisia prosessilaitteissa ovat mutkiin, taskuihin, syöpymäkohtiin ja kuolleisiin virtauspaikkoihin kertyneet biofilmit ja sakat. Tämän takia prosessilaitteet tulee suunnitella sellaisiksi, ettei niihin jää kuolleita alueita. Tärkeätä on myös pestä pinnat riittävän usein, jotta saostumia tai biofilmejä ei pääse muodostumaan. Biofilmin kasvaessa sen irrottaminen pinnalta hankaloituu. (Salkinoja-Salonen 2002, 32.)

Pintaan kiinnittynyttä mikrobikasvustoa nimitetään biofilmiksi. Esimerkiksi putkistoihin kerääntyneet biofilmikasvustot pilaavat tuotteiden hygienian. Biofilmit saattavat aiheuttaa tai edistää materiaalien korroosiota. (Salkinoja-Salonen 2002, 461–463.) Lisäksi biofilmit vähentävät nesteen virtausnopeutta ja tukkivat putkistoja lisäten energiankulutusta. Useimmilla mikrobeilla on kyky tarttua erilaisiin pintoihin. (Wirtanen 2002, 13.)

Mikro-organismien päälähteenä voion valmistuksessa on kerma. Raakamaito voi kontaminoitua monenlaisista patogeenisista ja pilaavista mikro-organismeista. Raakamaidon mikrobiflooraan vaikuttavia tekijöitä ovat muun muassa maidon käsitteilylaitteet ja säilytysolosuhteet. Kerman pastöroinnilla pyritään tuhoamaan patogeenisten mikrobien vegetatiivisoluja ja vähentämään mahdollisten pilaantumista aiheuttavien organismien määrää. Kirnumaidossa, joka syntyy voion valmistuksen yhteydessä, on tavallisesti suurempi bakteerikanta kuin kermassa tai voissa. (Marth & Steele 2001, 137–139.) Vaikka pastörointi tuhoaisi patogeenit, tuotteet voivat jälkikontaminoitua pastöroinnin jälkeen myöhemmässä prosessoinnissa tai pakkaamisen aikana (Wirtanen 2002, 37).

Koliformisia bakteereita tutkitaan meijereiden mikrobiologisessa laadunvalvonnassa. Jos koliformisia bakteereita on prosessissa pastöroinnin jälkeen, pesu- ja des-

infiointirutiineja tulee parantaa. Jos koliformisia bakteereita ei ole, voidaan pesumenetelmää pitää riittävänä. (Bylund 1995, 57.) Koliformiset bakteerit ovat fakultaatiivisesti anaerobisia, gram-negatiivisia, itiöttömiä sauvabakteereita. Ne käyttävät laktoosia tuottaen kaasua 48 tunnissa lämpötilan ollessa 35 °C. Tavallinen suolistobakteeri *Escherichia coli* kuuluu koliformisiin bakteereihin. (Madigan, Martinko & Parker 2003, 935.)

Pesujen tarkoituksena on poistaa pinnoilta tuotejämmät, jotta niihin ei pääsisi kehrääntymään elintarviketta pilaavia mikrobeja. Koska mikrobiologinen puhtaus on elintarvikehygienian ja tuoteturvallisuuden kannalta erittäin tärkeää, käsitellään tässä myös joitakin ruokamyrkytyksiä aiheuttavia bakteereita. Maidon ja maitovalmisteiden välityksellä voivat levitä muun muassa *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni* sekä *Yersinia enterocolitica* (Korkeala 2007, 209).

Bacillus cereus. *Bacillus cereus* on gram-positiivinen sauvabakteeri, joka itiöityy helposti. Itiöiden takia se pystyy säilymään poikkeuksellisissa olosuhteissa. Hyvin kuumennusta kestäväillä itiöillä on pieniä lisäkkeitä, joilla se voi kiinnittyä erilaisiin pintoihin. Itiöiden poistaminen onkin vaikeaa esimerkiksi meijereiden putkistoista. *B. cereus* lisäksi on muitakin *Bacillus*-lajeja, jotka voivat aiheuttaa ruokamyrkytyksiä. Näitä ovat esimerkiksi *B. licheniformis*, *B. subtilis* ja *B. pumilus*. (Korkeala 2007, 35.)

Listeria monocytogenes. *Listeria monocytogenes* on psykrotrofinen gram-positiivinen sauvabakteeri. *L. monocytogenes* pystyy lisääntymään jääkaappilämpötilassa ja kestää myös suhteellisen hyvin lämpöä, mutta tuhoutuu kuitenkin pastöroinnissa. Monet listerioosiepidemioista ovat aiheutuneet saastuneesta raakamaidosta tai raakamaitotuotteista. (Korkeala 2007, 55–58.)

Staphylococcus aureus. *Staphylococcus aureus* on gram-positiivinen kokki, joka tuottaa stafylokokkienterotoksiineja ympäristöönsä. Stafylokokit tuhoutuvat lämpökäsittelyssä, mutta enterotoksiinit kestävät hyvin kuumennusta. Elintarvikkeiden

saastuminen tapahtuu useimmiten jälkikontaminaationa huonon käsittelyn tai riittämättömän kylmäketjun hallinnan johdosta. (Korkeala 2007, 62–65.)

Escherichia coli. Enterohemorraaginen *Escherichia coli* (EHEC) on gram-negatiivinen sauvabakteeri. Serotyypin O157:H7 on yleisin ja tunnetuin hemorraagisen koliitin aiheuttaja. EHEC:iä esiintyy muun muassa märehtijöiden suolistossa ja se voi levitä elintarvikkeisiin lihan ja maidon välityksellä. Hyvän lypsyhygienian avulla voidaan estää bakteerin joutumista maitoon. EHEC:n lisäksi on myös muita *E. coli*-muotoja, jotka aiheuttavat ruokamyrkytyksiä kuten EPEC (enteropatogeeninen *E. coli*), EIEC (enteroinvasiivinen *E. coli*), ETEC (enterotoksigeeninen *E. coli*), EAEC (enteroaggregatiivinen *E. coli*) ja DAEC (diffuusisesti adheroiva *E. coli*). (Korkeala 2007, 65–71.)

Salmonella. *Salmonella* on gram-negatiivinen sauva. *Salmonella* on tuotantoeläinten suolistobakteeri, joka voi levitä lihaan ja elintarvikkeisiin ja sitä kautta ihmisiin. Bakteerin kantaja voi helposti saastuttaa elintarvikkeita niiden valmistuksen aikana, joten kantajien ei tule olla kosketuksissa elintarvikkeiden tai niiden raaka-aineiden kanssa. (Korkeala 2007, 79–83.)

Campylobacter jejuni. *Campylobacter jejuni* on suolistoinfektioita aiheuttava gram-negatiivinen sauvabakteeri, jota voi esiintyä raakamaidossa. *Campylobacter*-tartunnanlähteenä voi olla pastöroimaton maito, joka on aiheuttanut sairastapauksia ja epidemioita. *Campylobacterit* tuhoutuvat helposti pastöroinnissa. (Korkeala 2007, 71–76.)

Yersinia enterocolitica. *Yersinia enterocolitica* on gram-negatiivinen sauvabakteeri. Vain osa *Y. enterocolitica* -kannoista ovat patogeenisiä. *Y. enterocolitica* tuhoutuu helposti pastöroinnissa. *Y. enterocolitican* aiheuttamat epidemiat ovat olleet peräisin muun muassa siasta ja maitovalmisteista. (Korkeala 2007, 89–95.)

5 KIERTOPESUT

Meijereissä elintarvikeprosesseissa tuotteiden siirtoon ja käsittelyyn käytetään paljon putkistoja ja säiliöitä. Kiertopesu eli Clean-in-place (CIP)-menetelmä on erinomainen putkistojen ja tankkien puhdistamiseen. CIP-pesuilla pestään myös prosessilaitteita. Kiertopesu on puhdistusmenetelmä, jossa pesuliuokset kiertävät pesukohteessa. Pesuliuokset (emäs ja happo) sekä huuhteet sijaitsevat säiliöissä pesukeskuksessa (kuvio 1). Pesuliuokset palautuvat takaisin säiliöihin tai viemäriin puhtauden mukaan. CIP-pesuissa on tärkeitä huomioida riittävän pitkä pesuaika, riittävät lämpötilat ja virtausnopeudet (Korkeala 2007, 362).



KUVIO 1. Uuden pesukeskuksen pesuliuossäiliöitä.

Puhdistettavuuden kannalta olisi hyvä, jos pesukohteessa olisi mahdollisimman vähän tuotejäämiä. Kerman kypsytystankkien pohjalle jää aina vähän kermaa. Niinpä se huuhdellaan ennen varsinaista pesua talteen. Tämä talteen otettu huuhte separoidaan ja kerma voidaan käyttää valmistukseen. Tämän ansiosta hävikki pienenee, puhdistettavuus paranee ja jäteveden kuormitettavuus vähenee.

5.1 Pesutulokseen vaikuttavia tekijöitä

Pintojen puhdistuvuuteen vaikuttavat useat eri tekijät, kuten puhdistettavan pinnan materiaalin ja poistettavan lian ominaisuudet. Se, onko puhdistuksen kohde niin sanotusti kylmä vai kuuma pinta, vaikuttaa puhdistuvuuteen. Kylmien pintojen kohdalla on tärkeintä aloittaa pesu mahdollisimman pian tuotantoprosessin loputtua siten, että tuotejäämät eivät pääse kuivahtamaan pinnoille. Kuumennettavat laitepinnat ovat puhdistuksen kannalta vaikeampia tapauksia. (Bylund 1995, 404–405.)

Pesuaineiden tehokkuuteen vaikuttaa myös pesulämpötila. Lämpötilan nostaminen parantaa pesutehoa nopeuttamalla kemiallisia reaktioita. Korkeiden lämpötilojen käytöllä heikennetään myös mikrobien selviytymismahdollisuuksia. Lämpötilan valintaan vaikuttaa ensisijaisesti käytettävän pesuaineen vaatimukset, pestävä materiaali, lian tyyppi ja käytettävä pesumenetelmä.

Pesutapahtumaan vaikuttavat käytetyn pesuaineen sisältämät kemikaalit, pesuliuksen lämpötila ja vaikutusaika, käytetty pesuainevahvuus sekä mekaaninen vaikutus. Mekaaninen vaikutus aikaansaadaan turbulenttisella virtauksella (Bylund 1995, 406; Marth & Steele 2001, 552–553). Tekijöiden yhteisvaikutus määrää pesutehon. Pesuun vaikuttavat tekijät ovat myös eräänlaisessa riippuvuussuhteessa toisiinsa nähden: jonkin tekijän heikkeneminen on korvattava samaan pesutulokseen pääsemiseksi muita tekijöitä voimistamalla. Pesuparametreja valittaessa tulee kiinnittää huomiota myös taloudellisiin näkökohtiin, sillä pesujen optimoinnilla voidaan säästää energiaa, vettä, kemikaaleja ja aikaa. (Wirtanen 2002, 108.)

5.2 Pesuliuokset

Pesuliuokset ovat sopivan vahvuisina pesukeskuksen säiliöissä. Uuden pesukeskuksen säiliöt ovat selvästi suurempia kuin vanhan pesukeskuksen (kuviot 2 ja 3). Suurilla säiliöillä mahdollistetaan pesu usealla pesulinjalla yhtä aikaa, sillä suurista säiliöistä liuokset eivät loppu niin nopeasti kuin pienemmistä.



KUVIO 2. Vanhan pesukeskuksen loppuhuuhdesäiliö.



KUVIO 3. Uuden pesukeskuksen loppuhuuhdesäiliö.

Emäspesuvaiheessa pesukohteessa kiertää 0,5–2,0 -prosenttinen lipeä (natriumhydroksidi NaOH). Emäspesu irrottaa rasvan ja valkuaisen pesukohteen pinnoilta. Happopesuvaiheessa pesukohteessa kiertää 0,5–2,0 -prosenttinen happo (typpi-happo). Happopesu kiillottaa pesukohteen pinnat ja näin vaikeuttaa orgaanisen aineen tarttumista pintoihin.

Huuhteisiin kuuluvat alkuhuuhde, välihuuhde ja loppuhuuhde. Alkuhuuhde on keräilyvettä. Alkuhuuhteen tarkoituksena on pesukohteen huuhtelu ja näin vähentää varsinaisten pesuaineiden likaantumista. Välihuuhde on myös keräilyvettä ja sen tarkoituksena on estää varsinaisten pesuaineiden sekoittuminen. Huuhtelun tarkoituksena on poistaa pesuainejäämät pesukohteesta. Viimeisenä huuhteena voi olla loppuhuuhde, happosteriili tai kuumasteriili. Loppuhuuhdeena käytetään puhdasta talousvettä, joka otetaan kaupungin vesijohtoverkosta. Kierron jälkeen se palautetaan alku- tai välihuuhteeksi. Happosteriili on puhtaan talousveden ja typpihapon seos, jonka pH on 2–2,5. Tällä pH-alueella bakteerit eivät pysty kasvamaan. Kuumasteriili on kuumaa talousvettä, jonka lämpötila on 90–95 °C. Huuhteen valinnan ratkaisee kukin tuotantoprosessi omien tarkoitusten perusteella. Esimerkiksi joissakin pesuissa on loppuhuuhde jälkeen vielä happosteriili. Kiertopesuissa pesuaineen huolellinen huuhtelu on tärkeää ja käyttämällä alhaisia pesuainepitoisuuksia pyritään minimoimaan pesuainejäämien joutuminen itse tuotteeseen.

5.3 Kiertopesujen käytön seuranta

Kiertopesujen käyttöseuranta tapahtuu pääasiassa valvomossa näyttöpäätteitä seuraten. Kullekin pesukohteelle on suunniteltu oma pesuohjelma. Pesuohjelmat ovat automatisoituja, mutta pesun kulkua tulee tarkkailla mahdollisten häiriöiden varalta.

Prosessiautomaatio seuraa pesun kulkua mittaamalla eri suureita, kuten virtausta, painetta, sähkönjohtokykyä, lämpötilaa ja aikaa. Prosessiautomaatio keskeyttää pesun, jos virtaus on liian pieni tai liian suuri. Virtauksen tulee olla vähintään 1,5 m/s (Heldman & Lund 1992, 737; Bylund 1995, 407; Lelieveld ym. 2003, 200–201). Käytännössä virtauksen tulee olla suurempi, sillä putkistoissa on mutkia, jotka hidastavat virtausnopeutta. Sähkönjohtokyky mittareita on pesulinjoissa ohjaamassa pesuliukuksia keruusäiliöön tai viemäriin. Tehollinen pesuaika alkaa siitä, kun pesuliukuksen paluulämpötila vastaa asetettua tavoitelämpötilaa.

Emäs- ja happopesuliuosten väkevyyttä, lämpötilaa ja virtausta seurataan jatkuvasti prosessiautomaation avulla. Automaation avulla estetään pesuohjelmien käynnistyminen, jos liuosten väkevyydet tai lämpötilat ovat liian alhaiset. Pesuliuosten puhtautta tarkkaillaan aistinvaraisesti. Mikäli liuokset ovat väriltään tai hajultaan poikkeavia, pesuliuossäiliöihin vaihdetaan uudet liuokset.

Vanhassa ja uudessa pesukeskuksessa on molemmissa 12 pesulinjaa. Vähitellen vanhan pesukeskuksen pesulinjat siirretään uuteen pesukeskukseen. Kullakin pesulinjalla on omat pesukohteensa. Kaiken kaikkiaan pesukohteita on yli sata. Kullekin pesuohjelmalle on omat asetuksensa, jotka on määritetty pesukohteen mukaan. Pesut suoritetaan pesukohteen käytön mukaan. Osa laitteista on usein käytössä, jolloin niitä myös pestään usein. Esimerkiksi kermapastöörit ovat käytössä monta tuntia vuorokaudessa ja ne pestäänkin yleensä pari kertaa vuorokaudessa. Kaikki pesut kirjataan ylös viikkokohtaiseen pesulistaan, jotta tiedetään, milloin mitään on pesty. Pääasiassa jokaisen käytön jälkeen seuraa pesu.

6 LUMINOMETRI JA HYGIENIATESTIT

Luminometri (kuvio 4) on laite, jolla mitataan valoa. Mittaustulos saadaan noin 10 sekunnissa. Pikamenetelmän etu on se, että tulos saadaan heti, jolloin siihen voidaan välittömästi puuttua. Käynnistyessään laite kalibroitu itsestään ja tarkistaa valosensorien toiminnan sekä ilmoittaa mahdollisesta huoltotarpeesta (Labema Oy:n kotisivut 2009).

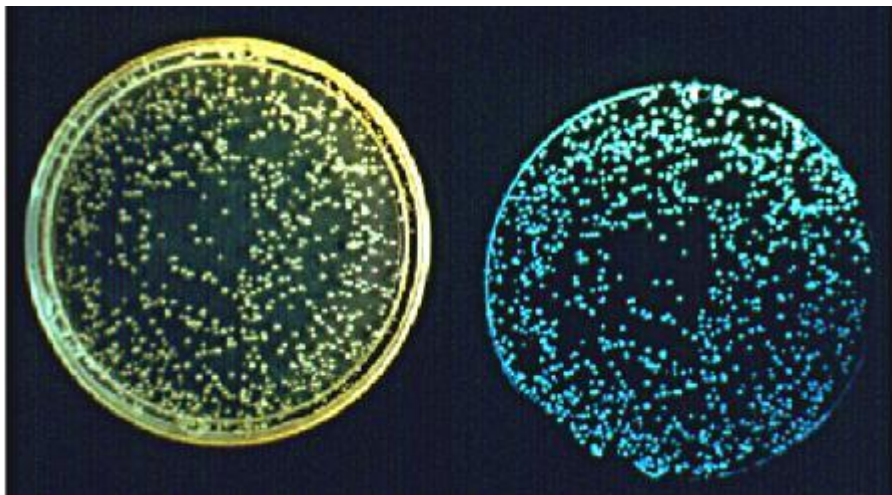


KUVIO 4. Luminometri. (Labema Oy:n kotisivut 2009.)

Luminometri mittaa soluissa olevaa ATP-pitoisuutta, joka ilmoitetaan RLU-arvona. Tämä RLU-arvo kertoo hygieniatason. Luminometrillä voidaan suorittaa erilaisia testejä. Pintahygieniatestillä on mahdollista ottaa näyte sekä kuivilta että märiltä pinnoilta. Viljelymenetelmiin verrattuna luminometriset mittaukset ovat nopeita. Viljelymenetelmiin perustuvilla mittauksilla tutkitaan mikrobiologista puhtautta. Kun taas luminometrisellä pintahygieniatestillä voidaan määrittää kokonaispuhtaustaso, sillä se huomioi kaiken lian kuten esimerkiksi tuotejäämät. Tämä on hyvä asia, sillä pinnalla oleva tuotejäämä parantaa mikrobien elinolosuhteita. Prosessipintojen lisäksi näytteitä voidaan ottaa esimerkiksi käsistä, jolloin saadaan selvitettyä käsihygienia. Vesitestillä voidaan seurata mm. prosessivesien puhtautta. Pesuainejäämätesti on herkkä ja luotettava testi pesuaine- ja desinfiointiainejäämien testaamiseen tuotteista ja tuotantopinnoilta. Pesuainejäämätesti perustuu *Vibrio fischeri* -bakteerin valontuottoon eli bioluminesenssiin, joka voidaan mitata luminometrillä.

7 VIBRIO FISCHERI -BAKTEERIN BIOLUMINESENSSI

Vibrio fischeri -bakteeri on valoa luminesoiva bakteeri, jonka avulla voidaan määrittää puhtaustasoa. Bioluminesenssin vaikutus on helppo havaita pimeässä (kuvio 5). *V. fischeri* on halofiili, joten se viihtyy suolaisessa ympäristössä (Madigan ym. 2003, 159–160). *V. fischeri* on gram-negatiivinen, fakultatiivisesti aerobinen sauvabakteeri ja sillä on fermentatiivinen aineenvaihdunta (Salkinoja-Salonen 2002, 250; Madigan ym. 2003, 379–381). Suurin osa luminesoivista bakteereista elää meressä kuten myös *Vibrio fischeri* (Madigan ym. 2003, 380).



KUVIO 5. Bioluminesenssin vaikutus: *Vibrio fischeri* -pesäkkeitä normaalissa valossa (vasemmalla) ja pimeässä (oikealla). (Dunn, [Viitattu 29.5.2010].)

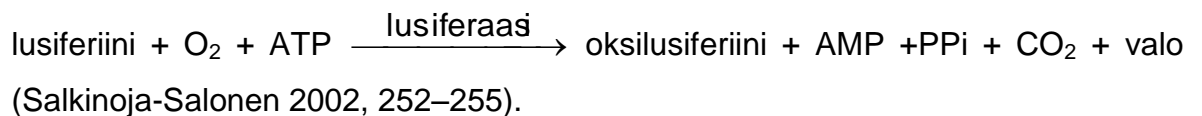
V. fischeri elää usein symbioosissa kalojen tai kalmarien kanssa. *V. fischeri* elää kalojen ja kalmarien valoelimissä, joissa bioluminesenssi tapahtuu. Kalojen ja kalmarien bioluminesenssin uskotaan houkuttelevan saaliita tai parantamaan naamiointia. Kalmari käyttää myös bakteerien tuottamaa valoa peittämään oman varjonsa meren pohjassa (Vibrio fischeri 2010.)

Bakteerin valontuotto on riippuvainen monista tekijöistä. Bioluminesenssi vaatii hapen läsnäoloa tapahtuakseen. Hapenpuute sammuttaa valontuoton, mutta myös

liian korkea happipitoisuus taas pienentää valontuottoa. Koska *V. fischeri* on halo-fiili ja elää merissä, tarvitsee se myös suolaisen elinympäristön. Kasvuliuoksessa käytetään ruokasuolaa, jonka riittävä pitoisuus on 20–30 g/l. Valontuottoon vaaditaan riittävän suuri bakteerimäärä (10^8 – 10^9 pmy/ml). (Salkinoja-Salonen 2002, 252–253.)

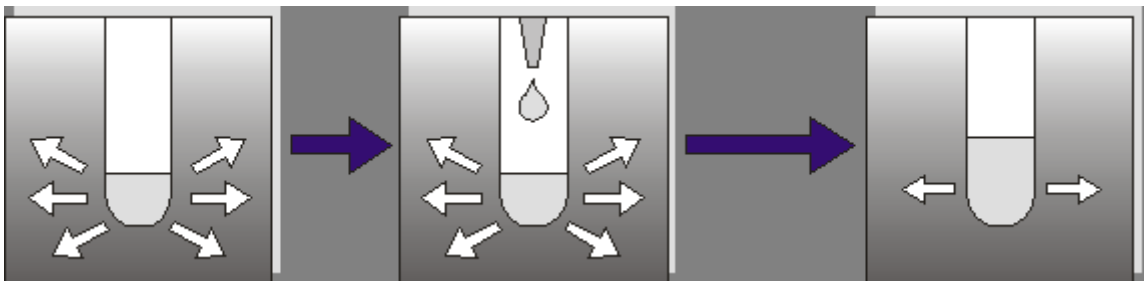
Bakteerin valontuoton käynnistää sen itse tuottama indukori N-(3-oksiheksanoyyli)-3-amino-dihydro-2-(3H)-furanoni eli homoseriinilaktoni. Homoseriinilaktoni on rasvaliukoinen aine ja se diffuntoituu vapaasti solukalvojen läpi. Näin ollen homoseriinilaktonia on solujen sisällä sekä niiden ympäristössä. Valontuotto käynnistyy vasta kun tätä autoindusoria on tarpeeksi kasvuympäristössä. (Salkinoja-Salonen 2002, 252–253.)

Valo syntyy reaktiossa, jossa lusiferiini muuttuu oksilusiferiiniksi lusiferaasientsyymin vaikutuksesta. Reaktiossa kuluu energiaa. ATP (adenosiinitrifosfaatti) on energiamolekyylä, joka hajoaa reaktiossa. Reaktioyhtälö on seuraavanlainen:



8 PESUAINEJÄÄMÄTESTAUS

Huuhtelun jälkeen prosessipinnoille mahdollisesti jääneet kemialliset jäämät ovat määritettävissä valobakteeritestillä, joka on kemiallisesti epäspesifinen testimenetelmä. Menetelmä perustuu valobakteerin, *Vibrio fischeri*, bioluminesenssiin eli valontuottoon. Näillä bakteereilla on oman aineenvaihduntansa osana kyky tuottaa valoa. Testissä bakteerit altistetaan näytteelle ja näytteen bioluminesenssia inhiboiva vaikutus tulkitaan toksisuudeksi (kuvio 6). Testi perustuu osittain standardiin ISO 11348-3:1998 Water quality – Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (luminescent bacteria test) sekä SFS-EN ISO 11348-3 (Lappalainen 2007). Mikäli testi paljastaa loppuhuuhteessa olevan pesuainejäämiä, tulokseen tulee reagoida välittömästi, ettei tuoteturvallisuus vaarannu. Toimenpiteenä on loppuhuuhteen vaikutusajan pidentäminen.



KUVIO 6. Bakteerien valontuotto heikkenee toksisen näytteen lisäämisen jälkeen. (Labema Oy:n kotisivut 2009.)

8.1 Näytteiden otto

Loppuhuuhtenäytteitä otettiin iltaisin, jolloin on enemmän pesuja. Näytteitä ei saatu otettua jokaisesta pesukohteesta, sillä kaikissa kohteissa ei ole venttiiliä tms., josta näytteen olisi saanut otettua. Näytteitä saatiin otettua kermapastööreista, kerman kypsytystankeista ja kermasiiloista, voitykeistä sekä voin pakkauskoneista.

Nämä kohteet ovat tärkeässä roolissa, sillä voion valmistus voidaan jakaa karkeasti neljään osaan: kerman pastörintiin, kerman kypsytykseen, voion valmistukseen ja voion pakkaamiseen. Näytteitä otettiin myös loppuhuuhdesäiliöistä.

Näytteet otettiin steriileihin näytepurkkeihin. Pääasiassa näytteet otettiin venttiileistä ja valutusputkista (kuvio 7). Kermapastöörin näytteet otettiin kauhalla suoraan pastöörin suppiloista (kuvio 8) pesun loputtua. Pastöörin näytteet olisi saanut otettua myös käsiventtiileistä. Myös loppuhuuhdesäiliöistä otettiin näytteet kauhalla. Kermasiiloista näytteen sai otettua ruiskulla putkessa olevasta näytteenottopaikasta (kuvio 9). Kun näytteet oli otettu, ne analysoitiin mahdollisimman pian. Yhteensä tutkittavia näytteitä oli 24 kappaletta. Yhtä bakteeriannosta kohden pystyi analysoimaan neljä näytettä kontrollinäytteen lisäksi. Analysointiin tarvittava bakteerisuspensio valmistettiin näytteiden oton jälkeen.



KUVIO 7. Käsiventtiili, kermatankin näytteenottopaikka.



KUVIO 8. Kermapastöorien suppilot.



KUVIO 9. Kermasiilon näytteenottoaikka.

8.2 Testin suoritus

Käytettävä bakteerisuspensio valmistettiin lisäämällä juuri pakastimesta otettuun kylmäkuivattua *V. fischeri* -bakteeria sisältävään reagenssipulloon jääkaappikylmää reagenssiliuosta 500 µl. Suspensio siirrettiin pipetoimalla puhtaaseen mittauskyvettiin, johon lisättiin vielä 2 ml jääkaappikylmää reagenssiliuosta. Sekoitettiin huolellisesti ja varovasti. Tämän jälkeen bakteerisuspension annettiin tasaantua huoneenlämpötilaan noin 30 minuuttia. Suspensio jaettiin yhteensä viiteen kyvettiin, jolloin jokaisessa kyvetissä oli 500 µl bakteerisuspensiota. Neljään kyvettiin pipetoitiin 100 µl kutakin loppuhuuhtenäytettä sekä yhteen kyvettiin 100 µl kontrollinäytettä (puhdasta huuhteluvettä). Näytteen lisäämisen jälkeen sekoitettiin varovasti. Valobakteerien valontuotto mitattiin luminometrillä 5 minuutin vaikutusajan jälkeen. Kunkin liuoksen valontuoton vähenemistä verrattiin kontrolliliuoksena olevan puhtaan huuhteluveden aiheuttamaan valontuoton vähentymiseen.

Pipetoitaessa tuli olla erittäin huolellinen, sillä pipetoitavat määrät olivat pieniä. Muutenkin tuli työskennellä menetelmän ohjeiden mukaisesti, jotta työtavat eivät vaikuttaisi tuloksiin ja vääristäisi niitä. Lisäksi bakteeria tuli käsitellä varovasti, etteivät bakteerisolut hajoaisi.

Testi soveltuu huuhteluveteen, prosessipinnoille tai tuotteisiin jääneiden pesu- tai desinfiointiainejäämien analysointiin. Se detektoi kaikenlaiset pesu- ja desinfiointiaineet. Testi perustuu aineiden luonnolliseen kykyyn tappaa bakteereja. Se paljastaa jäämät sekä suurissa että erittäin pienissä pitoisuuksissa. Testitulokset saadaan luettua kyvettitestaukseen soveltuvalla luminometrillä. (Labema Oy:n kotisivut 2009.)

Pesuainejäämänäyte voidaan ottaa myös kuivalta pinnalta. Tällöin pintaa hangataan huuhteluveteen kostutetulla näytteenottotikulla noin 10 × 10 cm alueelta. Tulosta mitattaessa näytteenottotikku laitetaan mittauskyvettiin. Vaikutusajan jälkeen mitataan tulos luminometrillä tikun ollessa kyvetissä. (Lappalainen 2007.)

8.3 Tulosten laskeminen

Näytteet otettiin pesun loppuhuuhteen aikana tai sen jälkeen, jolloin näytteeksi saatua loppuhuuhdetta käytettiin analysointiin. Näytteiden aikaansaama valon- tuoton vähenemä saatiin laskettua jakamalla näytteen tulos kontrollin tuloksella.

$$\text{Näytteen valontuotto (\%)} = 100 \cdot \frac{IT_{5\text{min}}}{IK_{5\text{min}}} \quad (1)$$

missä

$IT_{5\text{min}}$ = Näytteen valontuotto vaikutusajan (5 minuuttia) jälkeen

$IK_{5\text{min}}$ = Kontrollin valontuotto vaikutusajan (5 minuuttia) jälkeen

Mikäli tulos on alle 50 %, näytettä voidaan pitää erittäin toksisena. Jos tulos on alle 80 %, näytettä voidaan pitää lievästi toksisena. Huuhtelua on jatkettava, kunnes päästään yli 80 %:n tulokseen. (Lappalainen 2007.)

Ennen varsinaisten näytteiden analysointia menetelmää kokeiltiin astianpesuai- neella ja loppuhuuhdesäiliöstä otetulla loppuhuuhdenäytteellä. Molemmista näyt- teistä oli rinnakkaisnäytteet. Kontrollinäyte oli kylmä talousvesi. Luminometri antoi näytteistä seuraavat tulokset RLU-asteikolla: vesi 483, loppuhuuhdenäytteet 462 ja 451 sekä pesuaineliuos 56 ja 55.

Näiden lukemien perusteella voitiin laskea näytteiden valontuotto. Tulokset lasket- tiin rinnakkaisnäytteiden keskiarvosta. Loppuhuuhdenäytteiden keskiarvo oli

$$\frac{462 + 451}{2} = 456,5. \text{ Tästä laskettiin loppuhuuhdenäytteen valontuotto (\%)} = 100 \cdot$$

$$\frac{456,5}{483} = 94,5 \%. \text{ Pesuaineliuosnäytteiden keskiarvo oli } \frac{56 + 55}{2} = 55,5. \text{ Pesu-}$$

$$\text{aineliuoksen valontuotto (\%)} = 100 \cdot \frac{55,5}{483} = 11,5 \%.$$

Veteen liuotettu astianpesuaine antoi siis selvästi toksisen tuloksen eli näyte sisäl- si paljon pesuainetta. Loppuhuuhdenäyte oli taas lähellä kontrollinäytettä, joten näytettä voidaan pitää puhtaana.

Tulokset voidaan ilmoittaa myös inhibition tehokkuutena. Tulos on silloin käänteinen verrattuna valontuottoprosenttiin. Tuloksia tarkastellessa tulee siis huomioida kummalla tavalla tulokset on ilmoitettu. Tässä työssä laskettiin tulokset valontuottoprosentteina edellisen laskutavan mukaisesti.

$$\text{Näytteen inhibitio (\%)} = 100 - \frac{100 \cdot IT_{5\text{min}}}{IK_{5\text{min}}} \quad (2)$$

missä

$IT_{5\text{min}}$ = Näytteen valontuotto vaikutusajan (5 minuuttia) jälkeen

$IK_{5\text{min}}$ = Kontrollin valontuotto vaikutusajan (5 minuuttia) jälkeen

Mikäli inhibitiotehokkuus on alle 20 %, näytettä voidaan pitää puhtaana. Jos tulos on 20–50 %, näyte sisältää pienen määrän pesuainetta. Jos tulos on yli 50 %, näyte sisältää paljon pesuainejäämiä. Huuhtelua on jatkettava, kunnes päästään yli 20 %:n tulokseen. (Aboatox Oy 2009.)

8.4 Tulokset ja tarkastelu

Osa pesun jälkeen otetuista näytteistä antoi selvästi toksisen tuloksen. Tälle löytyi kuitenkin selitys. Näiden pesujen pesuohjelmissa on loppuhuuhteen jälkeen vielä happosteriili. Eli näytteeksi oli otettu happosteriiliä, joka aiheutti toksisen tuloksen.

Voin pakkauskoneiden pesuissa on mahdollista valita pesuohjelma, joka pesee useamman pakkauskoneen samalla pesulla. Tämän pesun aikana otettiin näytteet kolmelta pakkauskoneelta. Näytteet otettiin loppuhuuhteen puolella välissä (noin 250 sekunnin kuluttua loppuhuuhteen alkamisesta) ja loppuhuuhteen lopulla (noin 500 sekunnin kohdalla). Loppuhuuhteen puolella välissä otetuista näytteistä kahdessa pakkauskoneessa ei ollut enää jäämiä (valontuottoprosentti noin 100 %) ja yhdessä pakkauskoneessa oli paljon jäämiä (valontuottoprosentti noin 1 %). Loppuhuuhteen lopulla otetuissa näytteissä kaikki pakkauskoneet antoivat puhtaan tuloksen.

Kermatankkien ja -siilojen näytteet otettiin loppuhuuhteen loppupuolella. Näytteet antoivat puhtaan tuloksen. Kermapastöörin näytteet otettiin suppilosta pesun jälkeen, jolloin näytteet olivat puhtaita. Loppuhuuhtesäiliöt antoivat puhtaan näytteen.

Loppuhuuhteen loppupuolella otettujen loppuhuuhtenäytteiden valontuotto prosentti oli yli 90 % ja suurin osa hyvin lähellä sataa. Näiden tulosten perusteella pesuainejäämiä ei ollut. Loppuhuuhteelle asetetut huuhteluajat ovat siis riittävän pitkät poistamaan pesuaineet pesukohteista. Vanhan ja uuden pesukeskuksen tulosten välillä ei ollut eroa. Mikäli loppuhuuhtetta ei kierrätettäisi alku- ja välihuuhdeksi, voisi varmasti monessa pesukohteessa lyhentää loppuhuuhteeseen käytettävää aikaa. Näin tulisi huomattavasti säästää vedenkulutukseen.

Kaikkien pesukohteiden tutkimista varten tulisi pesulinjoissa olla käsiventtiilit näytteiden ottamista varten. Toisaalta kaikki ylimääräiset venttiilit hankaloittavat pesua. Menetelmän käyttöönotto vaatii suunnittelua. Näytteiden otto olisi paras toteuttaa pesuja seuraavan henkilön toimesta, sillä näyte voidaan ottaa vain loppuhuuhteen aikana tai sen jälkeen kohteista, joissa ei käytetä happosteriiliä loppuhuuhteen jälkeen. Mielestäni menetelmän käyttöä voisi laajentaa ottamalla näytteitä myös muilta tärkeiltä prosessipinnoilta.

Yhteenvetona voidaan todeta menetelmän olevan hyvä keino todeta pesuainejäämät. Pesuainejäämien testaus on yksi lisätekijä varmistamaan tuoteturvallisuutta. Erityisesti uusien pesulinjojen tai pesulinjamuutosten yhteydessä pesujen toimivuus on tärkeä todentaa. Menetelmän haittana voidaan pitää että tulos kertoo ainoastaan onko näyte toksinen vai ei, eikä erikseen kuinka toksinen. Lisäksi tulokset voivat vääristyä johtuen vääränlaisesta bakteerin käsittelystä, epätarkoista laimennoksista tai muista virheellisistä menettelyistä näytteitä analysoitaessa. Kun työtavat ovat oikeat, menetelmä on suhteellisen nopea ja helppo.

LÄHTEET

- Aboatox Oy. 2009. [Verkkosivusto]. Aboatox Oy. [Viitattu 3.5.2010]. Saatavana: <http://www.aboatox.com/index.html>
- Bylund, G. 1995. Dairy processing handbook. Sweden: Tetra Pak Processing Systems AB.
- Dunn, A. Ei päiväystä. [Verkkosivu]. Anne K. Dunn. [Viitattu 29.5.2010]. Saatavana: <http://www.ou.edu/cas/botany-micro/faculty/dunn.html>
- Fellows, P. 2009. Food processing technology: Principle and practice. Third edition. England: Woodhead Publishing Limited.
- Heldman, D. & Lund, D. (eds.). 1992. Handbook of Food Engineering. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Korkeala, H. (toim.). 2007. Elintarvikehygienia: ympäristöhygienia, elintarvike- ja ympäristötoksikologia. Helsinki: WSOY Oppimateriaalit Oy.
- Labema Oy:n kotisivut. 2009. [Verkkosivusto]. Labema Oy. [Viitattu 30.4.2010]. Saatavana: <http://www.labema.fi/~Zv2Px0000001/?Y999=MAI>
- Lappalainen, J. 2007. Menetelmäohje: Pesu- ja desinfiointiainejäämien mittaaminen valobakteereilla. Aboatox Oy.
- Lelieveld, H., Mostert, M., Holah, J. & White, B. (eds.). 2003. Hygiene in food processing. England: Woodhead Publishing Limited.
- Madigan, M., Martinko, J. & Parker, J. 2003. Brock Biology of Microorganisms. 10th edition. New Jersey: Pearson Education, Inc.
- Marth, E. & Steele, J. (eds.). 2001. Applied dairy microbiology. Second edition. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Salkinoja-Salonen, M. (toim.). 2002. Mikrobiologian perusteita. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy.
- Spreer, E. 1998. Milk and Dairy Product Technology. Axel Mixa. New York: Marcel Dekker, Inc.

Vibrio fischeri. 2010. [Verkkosivusto].The University of Nottingham.
[Viitattu 21.5.2010]. Saatavana:
<http://www.nottingham.ac.uk/quorum/fischeri.htm>

Wirtanen, G. (toim.). 2002. Laittehygieniä elintarviketeollisuudessa:
Hygieniäongelmien ja *Listeria monocytogenes* hallintakeinot.
Espoo: Otamedia Oy.

Wirtanen, G. & Salo, S. (eds.). 2004. DairyNet: Hygiene Control in
Nordic Dairies. Espoo: Otamedia Oy