

Opinnäytetyö (AMK)

Bio- ja elintarviketekniikka

Elintarviketekniikka

2011

Ville Reunanen

Kuparimetallien antimikrobisuuden hyödyntäminen elintarviketeollisuudessa



TURUN AMMATTIKORKEAKOULU
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Ville Reunanen

Kuparimetallien antimikrobisuuden hyödyntäminen elintarviketeollisuudessa

Tässä opinnäytetyössä tutkittiin kupari- ja kuparimetallipintojen antimikrobisuutta elintarviketeollisuutta varten. Tutkittavaksi valittiin sellaiset mikrobit, joita ei ole ennen tutkittu ja jotka ovat haitallisia esiintyessään elintarvikkeissa tai elintarviketehtaassa.

Työ tehtiin käyttäen ohjeena EN 13697:2001 standardia, joka on tehty määrittämään kemiallisten desinfektio- ja antiseptisten aineiden mikrobeja tappavia ominaisuuksia. Osa mikrobeista voi kuolla pinnoilla myös ulkoisten tekijöiden vaikutuksesta. Tämän takia mikrobipitoisuuksien vähenemää verrattiin alkuperäisen mikrobipitoisuuden lisäksi myös ruostumattomaan teräkseen. Tutkittavina pintoina olivat puhtaan kuparin lisäksi messinki ja Nordic Royal -niminen pinta.

Työssä testimikrobeina olivat *Bacillus cereus*, *Candida sp.*, *Listeria monocytogenes* sekä *Salmonella enterica*, jotka pipetoitiin pienille metallilevyille. Inkubointiaikoina käytettiin 30 min, 60 min, 120 min sekä 240 min.

Työntuloksista huomattiin kuparin ja messingin olevan antimikrobisia pintoja ja tuhoavan suuria määriä mikrobeja hyvinkin lyhyissä ajoissa. Nordic Royal ei toiminut aivan niin hyvin, mutta sen todettiin olevan antimikrobisempi kuin teräksen.

Kuparimetallien avulla elintarviketehdas voisi helposti parantaa tuotteidensa hygienisyyttä vaihtamalla teräksisiä tartuntapintoja kuparisiin. Kupari ei kuitenkaan voi olla kosketuksissa elintarvikkeiden kanssa, koska se saattaa värjätä tuotteen. Kuparimetalleja voi myös hyvin käyttää muunlaisissa teollisuudenaloissa tai terveydenhuollon laitoksissa, joissa mikrobit myös ovat ongelma.

ASIASANAT:

antimikrobisuus, kupari, messinki, Nordic Royal, ruostumaton teräs

BACHELOR'S THESIS | ABSTRACT

TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Biotechnology and Food Technology | Food Technology

July 2011 | 39

Tommi Laaksonen, Senior Lecturer; Janne Juhola, Application Engineer

Ville Reunanen

Utilization of antimicrobial copper metals in food industry

The purpose of this thesis was to study the antimicrobial benefits of copper and copper metal surfaces for the food industry. The microbes which were studied had not been studied before and they are harmful when they occur in foodstuffs or are found at food factories.

In this study the standard EN 13697:2001 was used as a guideline. The standard is intended for evaluating the bactericidal and fungicidal activity of chemical disinfectants and antiseptics. Some microbes could die on surfaces because of extrinsic factors. That is why microbial reductions were compared with the initial microbe count and a microbe count on a stainless steel surface. In this thesis, surfaces of pure copper, brass and surface entitled Nordic Royal were studied.

The studied microbes were *Bacillus cereus*, *Candida sp.*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica*. The microbes were pipetted on small-sized metal plates. The incubation times were 30 min, 60 min, 120 min, and 240 min.

The results of the study showed that copper and brass are antimicrobial surfaces and they destroy microbes within a short time. Nordic Royal did not work as well but was found to be more antimicrobial than stainless steel.

The hygiene of products in food factories could easily be improved by replacing steel surfaces with copper ones. However, copper must not be in contact with foodstuffs because it may color products. Copper metals could also be used in other industries or within healthcare, where microbes are equally a problem.

KEYWORDS:

antimicrobial properties, copper, brass, Nordic Royal, stainless steel

SISÄLTÖ

1	JOHDANTO	5
2	ANTIMIKROBINEN KUPARI	6
3	MIKROBIEN LISÄÄNTYMISEEN VAIKUTTAVAT TEKIJÄT	7
3.1	Veden aktiivisuus	7
3.2	Lämpötila	8
3.3	Happi	9
3.4	Ravinteet	10
3.5	pH	10
3.6	Hapetus-pelkistys-potentiaali	10
3.7	Antimikrobiset yhdisteet	11
4	TYÖSSÄ KÄYTETYT PINNAT	11
4.1	Kupari	11
4.2	Messinki	12
4.3	Nordic Royal	12
4.4	Ruostumaton teräs	13
5	TYÖSSÄ KÄYTETYT MIKROBIT	13
5.1	Hiivat ja homeet	13
5.2	<i>Bacillus cereus</i>	14
5.3	<i>Listeria monocytogenes</i>	15
5.4	Salmonella	16
6	KÄYTETTÄVIEN MENETELMIEN PERIAATTEET	17
6.1	Määrittämissä käytetty menetelmä	17
6.2	Määrittämiseen käytetyt mikrobit	18
6.3	Määrittämiseen käytetyt kasvatusmaljat	19
6.3.1	Naudanveriagar kasvatusalusta	19
6.3.2	PDA-kasvatusalusta (potato dextrose agar)	19
6.3.3	LMBA-kasvatusalusta (<i>listeria monocytogenes</i> blood agar)	20
6.3.4	XLDA-kasvatusalusta (Xylose Lysine Deoxycholate agar)	21
7	LABORATORIOKOKKEET	22
7.1	<i>Candida</i> sp. ja <i>Bacillus cereus</i>	22
7.2	<i>Listeria monocytogenes</i>	23
7.3	<i>Salmonella enterica</i>	24
8	TULOKSET	24
9	TULOSTEN TARKASTELU	33

9.1 <i>Bacillus cereus</i>	33
9.2 <i>Candida</i> sp.	34
9.3 <i>Listeria monocytogenes</i>	35
9.4 <i>Salmonella enterica</i>	36
10 JOHTOPÄÄTÖKSET	36
LÄHTEET	38
LIITTEET	
Liite 1. Työn suoritus	
Liite 2. Mikrobipesäkkeiden pitoisuudet ajan suhteen	
KUVAT	
Kuva 1 <i>Bacillus cereus</i> -pesäkkeitä naudanveriagar-maljalla	19
Kuva 3 <i>Candida</i> sp. pesäkkeitä PDA-maljalla	20
Kuva 2 <i>Listeria monocytogenes</i> -pesäkkeitä LMBA-maljalla	21
Kuva 4 <i>Salmonella enterica</i> -pesäkkeitä XLDA-maljalla	22
TAULUKOT	
Taulukko 1. Mikrobien kasvu lämpötilat	8
Taulukko 2. Kuparin ominaisuudet	12
Taulukko 3. Messingin ominaisuudet	12
Taulukko 4. Ruostumattoman teräksen ominaisuudet	13
Taulukko 5. Elinkelpoisen mikrobien lukumäärä testiliuoksissa	25
Taulukko 6. <i>Bacillus cereus</i> -pesäkkeet	26
Taulukko 7. <i>Candida</i> sp. -pesäkkeet	27
Taulukko 8. <i>Listeria monocytogenes</i> -pesäkkeet	28
Taulukko 9. <i>Salmonella enterica</i> -pesäkkeet	29
Taulukko 10. <i>Bacillus cereus</i> -pesäkkeiden vähenemät pinnoilla	31
Taulukko 11. <i>Candida</i> sp. -pesäkkeiden vähenemät pinnoilla	31
Taulukko 12. <i>Listeria monocytogenes</i> -pesäkkeiden vähenemät pinnoilla	32
Taulukko 13. <i>Salmonella enterica</i> -pesäkkeiden vähenemät pinnoilla	32

1 Johdanto

Työn tarkoituksena oli tutkia kupari- ja kupariseospintojen antimikrobisuutta elintarviketeollisuutta varten. Koska elintarviketehtaasta lähtöisin oleva ruokamyrkytys epidemia voi viedä yrityksen maineen asiakkaidensa silmissä, on tärkeää varmistaa tuotteiden turvallisuus kaikin mahdollisin tavoin.

Työ suunnattiin elintarviketeollisuuteen siten, että pintojen mikrobisuuden vähentymää tutkittiin elintarviketeollisuudessa tavallisimmin haittaa aiheuttavilla mikrobeilla. Mikrobeiksi valittiin sekä gram-positiivisia että gram-negatiivisia bakteereja sekä hiivalaji. Työ tehtiin käyttämällä ohjeena soveltaen standardia EN 13697:2001, joka on tehty kemiallisten desinfektioaineiden ja antiseptisten aineiden bakteereja ja/tai sieniä tappavan kyvyn määrittämiseen. Referenssipintana kuparimetalleille käytettiin ruostumatonta terästä, koska se on yleinen pintamateriaali elintarviketeollisuudessa.

Kuparin antimikrobisuutta on tutkittu ennenkin hyvin tuloksin ja nyt tarkoituksena oli tutkia sitä enemmän elintarviketeollisuuden näkökulmasta. Lisäksi tutkittiin uutena pintana Nordic Royalia.

Työnteettäjänä oli Aurubis Finland Oy. Aurubis Finland Oy työllistää Porissa toimivalla tehtaallaan lähes 200 työntekijää. Tehdas aloitti toimintansa vuonna 1939. Tehdas valmistaa valssattuja kuparituotteita 30 000-40 000 tonnia vuosittain. Tuotteista yli 90 % menee vientiin. (Juhola, 2011 a.)

Aurubis Finland Oy kuuluu maailmanlaajuiseen Aurubikseen. Aurubis on johtava integroitu kuparintuottaja ja maailman suurin kuparin kierrätykseen keskittynyt yritys. (Juhola, 2011 a.) Aurubiksella on työntekijöitä noin 6 200, 16 tuotantotoimipaikalla, 11 eri maassa. Aurubis valmistaa vuosittain miljoona tonnia erilaisia kuparituotteita. (Aurubis, 2011.)

2 Antimikrobinen kupari

Kuparin mikrobeja tuhoava vaikutus on ollut tiedossa jo pitkän aikaa. Egyptiläiset käyttivät aikoinaan kuparia sterilisoivana aineena juomavesissä ja haavoissa (Antimicrobialcopper, 2011a). Vuonna 1983 Kuhn P. mittasi kokeessaan bakteerimääriä ovenkahvoista, joista toiset oli valmistettu messingistä ja toiset ruostumattomasta teräksestä. Tuloksista selvisi, että messinkisissä ovenkahvoissa ei ollut juurikaan bakteereja, mutta ruostumattomasta teräksestä valmistetuissa ovenkahvoissa oli runsaasti bakteereja. (Kuhn, 1983). Tämän jälkeen kuparin ja kupariseosten antimikrobisuutta on tutkittu terveydenhuoltoa varten. (Antimicrobialcopper, 2011a.)

Environmental Protection Agency (EPA) on tutkimuksissaan huomannut, että kuparipinnoilla ja erilaisilla kupariseospinnoilla, kuten messinki ja pronssi, mikrobien, mm. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ja *Enterobacter aerogenes*, määrä on vähentynyt 99,9 % kahden tunnin aikana (EPA, 2011)(Antimicrobialcopper, 2011b). Samoissa tutkimuksissa kuuden tunnin jälkeen ruostumattoman teräksen pinnalla oli havaittavissa vain pieni vähennys mikrobimäärässä. (Antimicrobialcopper, 2011b.) Kuparia ja sen seoksia käytetäänkin nykyään monissa sairaaloissa ja terveysasemilla mm. ovenkahvoissa, kaiteissa, huonekaluissa ja saniteettitiloissa (Antimicrobialcopper, 2011c.)

Syytä kuparin antimikrobisuuteen tutkitaan parhaillaan. Kuparin arvellaan tappavan mikrobeja kahdessa vaiheessa. Ensimmäisessä vaiheessa mikrobin solukalvoon syntyy reikä. Kun mikrobi on kosketuksissa kuparin kanssa, kupari voi vaikuttaa solun sisä- ja ulkotilan välillä olevaan potentiaalieroon heikentäen solua, jolloin voi syntyä reikä solukalvoon. (Antimicrobialcopper, 2011d.)

Reikä voi syntyä myös hapettumisesta. Kuparin pinnalta irtoaa kuparimolekyylejä tai -ioneja, jotka törmäävät mikrobin solukalvoon. Hapen läsnä ollessa törmäykset aiheuttavat hapettumista, jolloin mikrobin solukalvo heikkenee. (Antimicrobialcopper, 2011d.)

Kun solukalvoon on syntynyt reikiä, kupari-ionit pääsevät sisälle soluun. Solun sisällä kupari-ionit estävät solun aineenvaihdunnan sitomalla aineenvaihduntaa katalysoivia entsyymejä, jolloin solu kuolee. (Antimicrobialcopper, 2011d.)

Kupari olisi antimikrobisuutensa ja hyvän lämmönjohtokykynsä ansiosta oivallinen materiaali elintarviketeollisuuteen. Kuparia onkin ennen käytetty lämmönjohtokykynsä vuoksi ruuanlaittovälineissä. Huonona puolena kuparissa on se, että se saattaa liueta elintarvikkeisiin ruokaa valmistettaessa. Tutkimuksissa on havaittu, että kuparikattilassa valmistetussa ruoka-ateriassa voi olla kaksi kertaa enemmän kuparia kuin vastaavassa ateriasa ruostumattomassa teräskattilassa valmistetussa. (Reilly, 2008).

Kuparin suositeltava saanti päivässä on 0,5-3,0 mg. Talousveden laatuvaatimuksissa on asetettu kuparille ylärajaksi 2,0 mg/l:ssa. (Terveystieteiden ja hyvinvoinnin laitos, 2010). Aikuiselle vielä 0,5 mg/painokilo/päivä tai 10 mg satunnainen päiväannos kuparia ei ole vaarallista. Pitkäaikainen kuparin liiallinen saanti voi kuitenkin johtaa myrkytykseen ja aiheuttaa esimerkiksi maksakirroosin. (Reilly, 2008.) Koska kupari ei varastoidu elimistöön, kuparimyrkytykset ovat harvinaisia (Biomed, 2011).

3 Mikrobin lisääntymiseen vaikuttavat tekijät

Mikrobin lisääntymiseen vaikuttaa kasvuympäristön olosuhteet. Mikrobit tarvitsevat lisääntyäkseen sopivissa määrin kosteutta, lämpöä, happea ja ravinteita sekä sopivan pH:n. Elintarvikkeet toimivat mikrobeille hyvinä kasvualustoina, koska ne tarjoavat lähes kaikille mikrobeille sopivia ravinteita. Mikrobin lisääntymistä elintarvikkeissa voidaan jonkin verran rajoittaa muuttamalla elinolosuhteita, esimerkiksi pakastamalla elintarvikkeen. (Evira, 2011.)

3.1 Veden aktiivisuus

Mikrobin lisääntyminen ei riipu elintarvikkeen vesipitoisuudesta, vaan siitä kuinka helposti vesi on käytettävissä. Vapaan veden määrää kuvataan veden

aktiivisuudella a_w . Veden aktiivisuus a_w tarkoittaa elintarvikkeen pinnalta mitatun vesihöyryn paineen suhdetta kylläisen vesihöyryn osapaineeseen ilmassa kyseisessä lämpötilassa. Puhtaan veden aktiivisuus on 1.00 (Jay, 2000). Veteen liuenneet suolat ja sokerit laskevat veden aktiivisuutta.

Tuoreiden elintarvikkeiden, kuten lihojen ja hedelmien, veden aktiivisuus on noin 1 ja esimerkiksi jauhojen 0,8. Homeet ja hiivat elävät pienemmissä veden aktiivisuuksissa kuin bakteerit.

Lämpötilalla, ravinteilla ja veden aktiivisuudella on todettu olevan vaikutusta toisiinsa. Optimilämpötilassaan mikro-organismit pystyvät lisääntymään laajemmilla veden aktiivisuuden rajoilla. Samoin myös saatavilla olevat ravinteet kasvattavat veden aktiivisuuden rajoja, joissa mikro-organismit pystyvät lisääntymään. (Jay, 2000.)

3.2 Lämpötila

Mikrobit pystyvät elämään hyvin laajalla lämpötila-alueella aina -8 °C :sta $+100\text{ °C}$:seen asti, mutta yksittäinen organismi ei voi kasvaa koko tällä lämpötila-alueella (Adams & Moss, 2000). Jokaisella mikrobilla on sille ominainen minimi-, optimi- ja maksimilämpötila. Nämä alueet vaihtelevat hieman lähteestä riippuen. (Adams ja Moss, 2000) jakavat kirjassaan mikrobit ryhmiin taulukon 1 mukaan. Homeet pystyvät elämään laajemmalla lämpötila-alueella kuin bakteerit (Jay, 2000).

Taulukko 1. Mikrobien kasvu lämpötilat (Adams ja Moss, 2000)

Ryhmä	Lämpötila (°C)		
	Minimi	Optimi	Maksimi
Termofiilit	40 - 45	55 - 75	60 - 90
Mesofiilit	5 - 15	30 - 40	40 - 47
Ehdottomat psykrofiilit	-5 - +5	12 - 15	15 - 20
Fakultatiiviset psykrofiilit	-5 - +5	25 - 30	30 - 35

Elintarvikkeiden kannalta mesofiilit ja psykofiilit ovat yleisimpiä. Mesofiileihin, joiden lämpötilaoptimi on 37 °C:n lähetyvillä, kuuluu yleisiä ruokamyrkytysbakteereja, kuten *Salmonella*. Kuitenkin jäädytettyjen elintarvikkeiden ongelmana ovat psykofiilit, kuten *Listeria monocytogenes*, koska ne eivät kuole jääkaappiolosuhteissa. (Adams & Moss, 2000.)

3.3 Happi

Tärkein mikrobien lisääntymiseen liittyvä kaasu on happi. Jotkin bakteerit tarvitsevat soluhengitykseen hapen läsnäoloa. (Pönkä, 1999.) Bakteerien soluhengitys perustuu elektronien siirtymiseen primaariselta elektronidonorilta välivaiheiden kautta elektroniakseptorille. Eläinsoluilla ja monilla bakteereilla juuri happi toimii lopullisena elektronien vastaanottajana. Jotkin bakteerit voivat kuitenkin korvata hapen jollakin toisella epäorgaanisella elektroniakseptorilla, kuten nitraatilla tai sulfaatilla. (Mäkelä ym. 1993.)

Mikrobit voidaan jakaa ryhmiin hapentarpeensa mukaan. Mikrobeja, jotka eivät selviä ilman happea, kutsutaan obligatorisesti aerobisiksi. Tähän ryhmään kuuluvat esimerkiksi *Penicillium*-lajit. (Pönkä, 1999.)

Mikroaerofiileiksi kutsutaan mikrobeja, jotka tarvitsevat vähän happea kasvuun, mutta liiallinen happipitoisuus estää kasvun. Esimerkiksi kampylobakteerit pystyvät kasvamaan happipitoisuuden ollessa 1-10 %:n välillä. (Pönkä, 1999.)

Fakultatiivisesti anaerobisiksi kutsutaan mikrobeja, jotka pystyvät kasvamaan sekä hapellisissa että hapettomissa olosuhteissa. Tähän ryhmään kuuluvat muun muassa *Salmonella*-bakteerit, *Listeria monocytogenes* ja *Bacillus cereus*. (Pönkä, 1999.)

Obligatorisesti anaerobisiksi kutsutaan mikrobeja, jotka kasvavat ainoastaan hapettomissa olosuhteissa. Tähän ryhmään kuuluu esimerkiksi *Clostridium botulinum*. (Pönkä, 1999.)

3.4 Ravinteet

Mikro-organismit tarvitsevat elääkseen veden lisäksi energianlähteen, typpilähteen, vitamiineja ja hivenaineita. Elintarvikkeissa elävät mikro-organismit käyttävät energialähteenään mieluiten sokereita, alkoholeja ja aminohappoja. Jotkut pystyvät käyttämään myös pitkäketjuisia hiilihydraatteja, kuten tärkkelystä ja selluloosaa, pilkkomalla niitä lyhytketjuisemmiksi sokereiksi. (Jay, 2000.)

3.5 pH

Suurin osa mikrobeista kasvaa parhaiten pH-alueella, joka on lähellä neutraalia (pH 6,6-7,5). Bakteerit ovat tarkempia pH-arvosta kuin homeet ja hiivat. Homeet ja hiivat pystyvät toimimaan vielä niinkin alhaisissa pH olosuhteissa kuin alle 2. pH-alueiden rajat eivät kuitenkaan ole tarkkoja, koska mikrobien kasvu riippuu muistakin parametreista kuin pH:sta. (Jay, 2000.)

Hedelmät pilaantuvat lähinnä homeiden ja hiivojen takia, koska niiden pH on liian alhainen monille bakteereille. Lihan ja kalan pH taas on sellaisella alueella, että siinä pystyvät lisääntymään homeiden ja hiivojen lisäksi myös bakteerit. (Jay, 2000.)

3.6 Hapetus-pelkistys-potentiaali

Kun elektroneja siirtyy aineelta toiselle, niiden väliin syntyy potentiaaliero. Mitä enemmän aine hapettuu (luovuttaa elektroneja), sitä suurempi on sen positiivinen varaus. Mitä enemmän aine pelkistyy (vastaanottaa elektroneja), sitä suurempi on sen negatiivinen varaus. Hapetus-pelkistys-potentiaalia kuvataan symbolilla Eh. (Jay, 2000.)

Aerobiset mikro-organismit vaativat positiivisen Eh-arvon kasvaakseen ja anaerobiset mikro-organismit vaativat negatiivisen Eh-arvon. Kuitenkin jotkin aerobiset bakteerit kasvavat paremmin hieman pelkistyneissä olosuhteissa ($Eh < 0$), nämä bakteerit ovat yleensä mikroaerofiileja, kuten laktobassilli ja kampylobakteerit. (Jay, 2000.)

3.7 Antimikrobiset yhdisteet

Mikro-organismeja vastaan elintarvikkeissa on yhdisteitä, jotka ovat antimikrobisia. Kasveilla on haihtuvia antimikrobisia maku- ja hajufraktioita, joita kutsutaan eteerisiksi öljyiksi. Näitä ovat esimerkiksi allisiini valkosipulissa, eugenoli mausteneilikassa ja kanelissa, tymoli timjamissa ja oreganossa, sekä kanelialdehydi kanelissa ja kassiassa. Myös lehmänmaidossa ja kananmunassa on antimikrobisia ainesosia, kuten esimerkiksi lysotsyymi-entsyymi. (Adams & Moss, 2000.)

4 Työssä käytetyt pinnat

4.1 Kupari

Työssä käytettiin kuparina DHP-kuparia (Deoxidiced-High-Phosphorus) eli hapetonta deoksidoitua kuparia. Kuparista on poistettu happi lisäämällä fosforia metallisulaan. Työssä käytetty kupari, Nordic Standard, sisältää kuparia vähintään 99,90 % ja fosforia 0,015-0,04 %. Materiaali täyttää standardin EN 1172 vaatimukset. (Juhola, 2011.)

DHP-kuparia käytetään materiaalina katoissa, seinäpaneeleissa sekä ikkuna- ja ovenkarmeissa. Kuparin ominaisuudet on esitetty taulukossa 2. (Juhola, 2011.) Kupari on väriltään punertavan ruskeaa. Kuparin väri muuttuu vuosien aikana tummemmaksi ja tietyissä olosuhteissa vihertäväksi pinnan peittyessä oksidikerroksilla. (Scandinavian Copper Development Association, 2011.)

Kupari on hyvä käyttömateriaali, koska sillä on erinomainen lämmön- ja sähkönjohtokyky. Lisäksi se on korroosionkestävää ja sitä on helppo muokata. Kupari on puhtaana pehmeää ja taipuisaa, mutta lisäaineiden avulla siitä saadaan koviakin seoksia. (Scandinavian Copper Development Association, 2011.)

Taulukko 2. Kuparin ominaisuudet (Juhola, 2011)

Tiheys	8,94	g/cm ³
Lämpölaajenemiskerroin	0,000017	1/K
Lämmönjohtokyky	335	W/mK

4.2 Messinki

Messinki on kuparin ja sinkin seos. Työssä käytetty messinki, Nordic Brass, sisältää kuparia vähintään 83 % ja sinkkiä 14-17 %. Materiaali täyttää standardin EN 1652 vaatimukset. (Juhola, 2011.)

Kuten kuparia myös messinkiä käytetään materiaalina katoissa, seinäpaneeleissa sekä ikkuna- ja ovenkarmeissa. Messingin ominaisuudet on esitetty taulukossa 3. (Juhola, 2011.) Messinki on väriltään kullankeltaista ja useiden muiden kupariseosten tapaan se tummuu ajan kuluessa. (Scandinavian Copper Development Association, 2011.)

Taulukko 3. Messingin ominaisuudet (Juhola, 2011)

Tiheys	8,75	g/cm ³
Lämpölaajenemiskerroin	0,000019	1/K
Lämmönjohtokyky	160	W/mK

4.3 Nordic Royal

Nordic Royal on kuparin, alumiinin, sinkin ja tinan seos. Työssä käytetty Nordic Royal sisältää alumiinia 4-6 %, sinkkiä 4-6 %, tinaa 0,3-1,5 % ja 86,5-91,7 % on kuparia. (Juhola, 2011.)

Nordic Royal on alun perin kehitetty kolikkojen materiaaliksi. Sitä voidaan käyttää materiaalina kuparin ja messingin tavoin myös muissa kohteissa. Nordic

Royal on väriltään kullankeltaista, kirkaampaa kuin messinki. Merkittävin ero Nordic Royalin ja muiden kuparimetallien välillä on se, että Royal ei ajan kuluessa muutu tummaksi tai vihreäksi. Royal mattaantuu, mutta säilyttää kultaisen värinsä. (Juhola, 2011.)

4.4 Ruostumaton teräs

Ruostumaton teräs koostuu raudasta, kromista, hiilestä ja nikkelistä. Työssä käytettiin standardin EN 1.4301 mukaista terästä. Se sisältää rautaa 73,6 %, kromia 18,1 %, nikkeliä 8,2 % ja hiiltä enintään 0,07 %. (Outokumpu, 2011.)

EN 1.4301 teräs on korroosion kestävä ja sen yleisimmät käyttökohteet ovat elintarvike- ja meijeriteollisuuden laitteet. Korroosionkestävyys on hyvä hapettaville aineille, mutta rajoittunut klorideille. Kloridit saattavat aiheuttaa piste- ja rakokorroosiota. EN 1.4301:llä on hyvät hitsattavuus- ja muovattavuusominaisuudet. Ruostumattoman teräksen ominaisuudet on esitetty taulukossa 4. (Outokumpu, 2011.)

Taulukko 4. Ruostumattoman teräksen ominaisuudet (Outokumpu, 2011)

Tiheys	7,9	g/cm ³
Lämpölaajenemiskerroin	0,000016	1/K
Lämmönjohtokyky	15	W/mK

5 Työssä käytetyt mikrobit

5.1 Hiivat ja homeet

Hiivat ja homeet ovat sieniä. Veden saatavuus ja säilytysympäristön kosteus vaikuttavat ensisijaisesti sienien lisääntymiseen elintarvikkeessa. Ne pystyvät lisääntymään alhaisemmissa veden aktiivisuuksissa kuin bakteerit, monet tuotteissa, joiden $a_w=0,85-0,90$. (Salkinoja-Salonen, 2001.) Joidenkin hiivojen ja

homeiden on todettu elävän niinkin alhaisissa veden aktiivisuuksissa kuin 0,65 ja 0,61.

Elintarvikkeissa homeet vaikuttavat tuotteen makuun ja tuoksuun sekä voivat tuottaa myrkkijä, mykotoksiineja. Kun raaka-ainetta valmistetaan ruuaksi, mykotoksiinit eivät yleensä häviä tai inaktivoitu. Sienet ovat yleisiä viljassa. Kun vilja korjuun jälkeen kuivataan alle 14 % vesipitoisuuteen, sienten kasvu pysähtyy. Muissa elintarvikkeissa homeita esiintyy mm. mausteissa, hedelmissä ja niistä valmistetuissa tuotteissa, tuorevihanneksissa, juustoissa, viineissä sekä oluessa. (Salkinoja-Salonen, 2001.)

Elintarvikkeen varastoiminen alle -10 °C:een lämpötilassa estää kaikenlaisen homehtumisen. Hedelmiä ja vihanneksia voi suojata homeilta myös varastoimalla ne muunneltuun ilmakehään. Tällöin hiilidioksidin määrää nostetaan. Hiilidioksidin korkea pitoisuus pysäyttää sienten hengityksen ja hidastaa käymisprosessia. (Salkinoja-Salonen, 2001.)

5.2 *Bacillus cereus*

Bacillus cereus on gram-positiivinen, fakultatiivisesti anaerobinen, itiöitä muodostava sauvabakteeri. *Bacillus cereus* pystyy lisääntymään laajalla lämpötila-alueella. Sen optimi lämpötila on 28-35 °C, mutta se pystyy lisääntymään lämpötila-alueella 4-50 °C. Bakteeri pystyy lisääntymään myös laajalla pH-alueella, 4,3-9,3. *Bacillus cereus* on yleisimpiä ruokamyrkytyksen aiheuttajia. Se erittää kahdenlaisia toksineja. Toista toksinia se muodostaa lisääntyessään ruuassa, jolloin se aiheuttaa oksennustyyppistä tautimuotoa. Toista toksinia muodostuu lähinnä bakteerin päästessä ohutsuoleen ja lisääntyessä siellä, jolloin tautimuoto on ripulityypistä. (Pönkä, 1999.)

Ulkoisia vaikutteita, kuten kuumennusta ja kuivuutta, vastaan *B. cereus* muodostaa itiöitä. Itiöt kestävät kuumuutta paremmin kuin bakteerit. Itiöiden täydelliseksi tuhoamiseksi vaaditaan kannasta riippuen 1-8 minuutin keittämistä vedessä. Jos elintarvikkeen annetaan jäähtyä hitaasti, itiöt muuttuvat lisääntymiskykyisiksi bakteereiksi. (Pönkä, 1999.)

Bacillus cereus esiintyy lähes kaikkialla, kuten maaperässä, pinnoilla, pölyssä, luonnonvesissä ja kasveissa. Pieninä pitoisuuksina sitä esiintyy myös joidenkin ihmisten ulosteissa, noin joka viidennellä tutkituista. Oksennustyyppinen tauti aiheutuu yleensä riisin välityksellä. Ripulityyppistä tautia voivat välittää liha- ja kalaruuat, sekä kasvikset, kastikkeet ja maito. (Pönkä, 1999.) Suomessa on raportoitu vuosittain 1-7 *Bacillus cereus* -bakteerin aiheuttamaa epidemiaa vuosina 1995-2004 (Evira, 2010). *Bacillus cereus* -bakteeria on yleensä elintarvikkeessa joitakin kymmeniä tai satoja pmy/g. Oksennustyyppisen taudin aiheuttamiseen tarvitaan vähintään 1000-100 000 pmy/g ja ripulityyppisen taudin aiheuttamiseen 100 000-10 000 000 pmy/g. (Pönkä, 1999.)

5.3 *Listeria monocytogenes*

Listerioita tunnetaan kaikkiaan kuutta eri lajia, joista *Listeria monocytogenes* on ihmiselle tautia aiheuttava. *Listeria monocytogenes* on gram-positiivinen fakultatiivisesti anaerobinen sauvabakteeri. Sen optimilämpötila on 30-37 °C, mutta suurin osa kannoista pystyy lisääntymään myös kylmissä olosuhteissa jopa 0-1 °C:ssa. Kylmät lämpötilat estävät sen kilpailevien mikrobien kasvua, jolloin se pystyy lisääntymään jääkaappilämpötiloissa. Pakastaminenkaan ei tuhoa *Listeria monocytogenes* -bakteeria. *Listeria monocytogenes* lisääntyy pH-alueella 4,1-9,6 ja sen optimi pH on 6-8. (Pönkä, 1999.)

Listeria monocytogenes -bakteeria esiintyy luonnossa maaperässä, luonnonvesissä ja jätevesissä. Elintarvikkeissa sitä esiintyy raakamaidossa, lihassa ja lihavalmisteissa, kaloissa ja kalavalmisteissa, äyriäisissä, kasviksissa ja eineksissä. (Pönkä, 1999.) Riskielintarvikkeita ovat tyhjiöpakatut, kylmäsavustetut ja graavisuolatut kalatuotteet ja mäti, koska tuotteiden valmistusprosesseissa *Listeria monocytogenes* ei tuhoudu, niillä on pitkä säilyvyysaika ja niitä syödään sellaisenaan. Myös pastöroimaton maito ja siitä valmistetut juustot ovat riskielintarvikkeita. (Evira, 2010.) Pastöroinnin katsotaan tuhoavan *Listeria monocytogenes* -bakteerin tai vähentävän sen määrää riittävästi (Pönkä, 1999).

Listerioosi on harvinainen tauti, mutta kuolleisuus siihen on 20-40 % (Evira 2010). Suomessa on todettu 2000-luvulla vuosittain keskimäärin 34 *Listeria monocytogenes* -bakteerin aiheuttamaa tartuntaa (Terveyden- ja hyvinvoinnin laitos 2010). *Listeria monocytogenes* -bakteeripitoisuuden ollessa alle 100 pmy/g, on sairastumisriski EFSA:n (European Food Safety Authority) mukaan pieni (Evira, 2010).

5.4 Salmonella

Salmonella on gram-negatiivinen sauvabakteeri, joka pystyy lisääntymään sekä aerobisissa että anaerobisissa olosuhteissa. Sen optimi pH on 6,6-8,2, mutta se pystyy lisääntymään pH-alueella 4-9. Lämpötilaoptimi Salmonellalla on 37 °C, kuumuus tappaa sen helposti, mutta Salmonellat kestävät hyvin kylmiä ja kuivia olosuhteita. Salmonella-suvun bakteereja elää lämpötila-alueella 6-48 °C. Salmonella on maailmalla yksi merkittävimmistä suolistoinfektion aiheuttajista. (Pönkä, 1999.) Salmonellat voidaan jakaa kolmeen ryhmään. Vain ihmisellä tautia aiheuttaviin, *Salmonella typhi* (lavantauti) ja *Salmonella paratyphi* (pikkulavantauti). Isäntäeläimeen mukautuviin, *Salmonella gallinarum* siipikarjassa, *Salmonella dublin* nautakarjassa ja ei-isäntään mukautuviin, jotka ovat tautia aiheuttavia ihmisessä ja eläimessä. Kolmanteen ryhmään kuuluu suurin osa ravinnosta välittyvistä serotyypeistä. (Jay, 2000.)

Salmonella tarttuu yleisimmin eläimen tai ihmisen ulosteilla kontaminoituneen elintarvikkeen välityksellä. Salmonella on zoonoosi eli voi se tarttua ihmisestä ihmiseen tai eläimestä ihmiseen, mutta se kuitenkin harvoin leviää tällä tavalla. Yleisin tartuntareitti on Salmonellan pääseminen elintarvikkeeseen huonon WC-hygienian johdosta ja sen lisääntyminen elintarvikkeessa huonon säilytyksen ja riittämättömän kuumennuksen takia. Myös ristikontaminaatio on yleinen leviämistapa, esim. veitsien ja leikkuupintojen välityksellä. (Evira, 2010.)

Salmonella enterica -bakteerin aiheuttamaa salmonellainfektioita kutsutaan salmonelloosiksi. *Salmonella enterica* -bakteerin serotyyppejä tunnetaan yhteensä yli 2500 ja kaikki serotyypit ovat ihmiselle tautia aiheuttavia. (Evira 2011.)

2000-luvulla Suomessa on tilastoitu noin 2 300-3 000 Salmonellatapausta (Terveyden- ja hyvinvoinnin laitos 2010). Kuitenkin suurin osa, noin 80 %, tartunnoista on peräisin ulkomailta (Evira 2010). Tautia aiheuttaessa Salmonellan määrä on yleensä suuri yli, 1 000 000 pmy/g (Pönkä, 1999).

6 Käytettävien menetelmien periaatteet

6.1 Määrittämissä käytetty menetelmä

Työssä käytettiin työohjeena soveltaen standardia EN 13697:2001. Standardi on tehty kemiallisten desinfektioaineiden ja antiseptisten aineiden bakteereja ja/tai sieniä tappavan kyvyn määrittämiseen. Desinfektioaineiden ja antiseptisten aineiden tilalla käytettiin erilaisia pintamateriaaleja, myös käytetyt testikannat erosivat ohjeesta.

Työssä käytettiin pintoina kuparia, messinkiä sekä Nordic Royal -nimistä pintaa, joka on valmistettu kuparista, alumiinista ja sinkistä. Referenssipintana käytettiin ruostumatonta terästä. Pinnat olivat kooltaan noin 2x2 cm, palat leikattiin peltisaksilla isommista levyistä. Ennen työn aloittamista levyt kastettiin 70 %:een etanoliin, jotta niissä olevat mikrobit eivät vaikuttaisi testitulokseen.

Työ tehtiin liitteen 1 mukaisesti. Ensin valmistettiin mikrobinäyte peptoniveteen. Näytteestä tehtiin sopivat laimennokset, mikrobipitoisuuden mukaan, steriileihin koeputkiin. Sopivasta laimennuksesta pipetoitiin levyille 0,1 ml näytettä, kahdelle levyille jokaista metallilaatua. Lisäksi yhdelle levyille jokaista laatua pipetoitiin kontrolliksi 0,1 ml peptonivettä, jossa ei ollut mikrobeja. Laimennussarjasta pipetoitiin myös 0,1 ml kasvatusaljoille sellaisista laimennuksista, jotka vastaavat samoja laimennoksia kuin levyiltä tehdyistä laimennuksista saadaan. Näin saatiin näytteille vertailukohde, sekä tarkistettua, että mikrobinäyte oli oikein valmistettu. Vertailusta tehtiin rinnakkaismäärittäykset.

Metallilevyjen annettiin kontaminoinnin jälkeen olla laminaarikaapissa ½, 1, 2 ja 4 tuntia inkuboitumassa. Kun kyseinen inkubointiaika tuli täyteen, levyt nostettiin steriileillä pinseteillä 50 ml:n falcon-putkiin, joissa oli noin 5 g lasihelmiä ja 9 ml

peptonivettä. Lasihelmet auttavat irrottamaan solut levyistä peptoniveteen. Putkia ravistettiin noin 30 sekuntia ja tämän jälkeen niistä pipetoitiin 0,1 ml ja 1 ml kasvatusmaljoille ja 1 ml koeputkeen, jossa oli 9 ml peptonivettä. Koeputkista taas pipetoitiin 0,1 ml kasvatusmaljoille. Näin saatiin jokaisesta inkuboinnista tehtyä kolme eri laimennosta.

Kasvatusmaljoja inkuboitiin lämpökaapissa kullekin mikrobille optimaalisessa lämpötilassa optimaalisen ajan. Optimilämpötilat ja -ajat on esitetty kullekin mikrobille luvussa 6.3.

6.2 Määrittämiseen käytetyt mikrobit

Listeria monocytogenes ja *Salmonella enterica* kannat olivat Microbiolocs:n valmistamia. Ympä, josta *Candida* sp. ja *Bacillus cereus* määritettiin, oli Ruotsin elintarvikeviraston valmistama.

Listeria monocytogenes ATCC® 19111, $1,0-9,9 \cdot 10^3$ pmy/pelletti
Salmonella enterica subsp. *enterica* NCTC 6017, $1,0-9,9 \cdot 10^7$ pmy/pelletti

Ympä:

Aerobisia mikro-organismeja		$4,0 \cdot 10^6 - 2,0 \cdot 10^7$ pmy/ml
Koliformisia bakteereja 37 °C		$4,0 \cdot 10^4 - 6,3 \cdot 10^5$ pmy/ml
Koliformisia bakteereja 44 °C		$6,3 \cdot 10^3 - 7,9 \cdot 10^4$ pmy/ml
<i>Enterobacteriaceae</i>		$6,3 \cdot 10^4 - 7,9 \cdot 10^5$ pmy/ml
<i>Escherichia coli</i>		$6,3 \cdot 10^3 - 7,9 \cdot 10^4$ pmy/ml
<i>Clostridium perfringens</i>		$4,0 \cdot 10^3 - 3,2 \cdot 10^4$ pmy/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>		$2,5 \cdot 10^4 - 1,3 \cdot 10^5$ pmy/ml
Enterokokit,	manuaalisesti	$2,5 \cdot 10^5 - 1,6 \cdot 10^6$ pmy/ml
	silmukkalevityksellä	$1,3 \cdot 10^5 - 1,0 \cdot 10^6$ pmy/ml
<i>Bacillus cereus</i>		$2,0 \cdot 10^4 - 2,0 \cdot 10^5$ pmy/ml
<i>Candida</i> sp.		$2,0 \cdot 10^4 - 1,0 \cdot 10^5$ pmy/ml

6.3 Määrittämiseen käytetyt kasvatusmaljat

6.3.1 Naudanveriagar kasvatusalusta

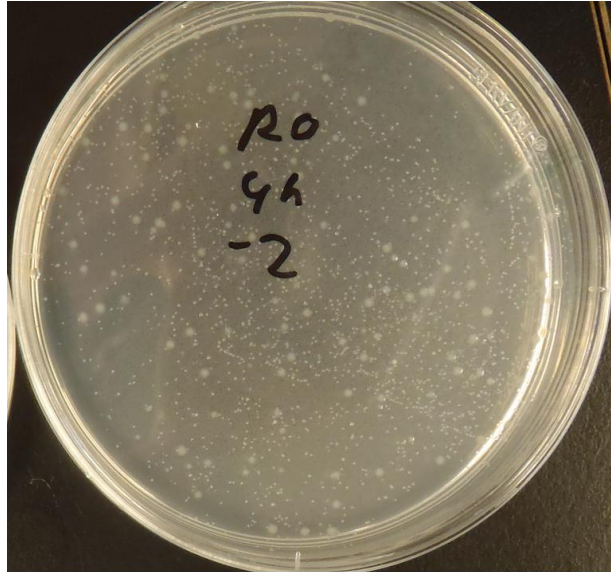
Bacillus cereus kasvaa veriagar-maljoilla isoina, epäsäännöllisinä harmaa-valkoisina pesäkkeinä. Pesäkkeiden ympärillä on selkeä hemolyyttinen vyöhyke. Inkubointi tehtiin NMKL:n standardin nro 67 4. painoksen 1997 mukaan, $30,0 \pm 1,0$ °C:ssa 24 ± 3 tunnin ajan. (Pohjoismainen elintarvikkeiden metodiikkakomitea, 1997.)



Kuva 1 *Bacillus cereus* -pesäkkeitä naudanveriagar-maljalla (Ville Reunanen)

6.3.2 PDA-kasvatusalusta (potato dextrose agar)

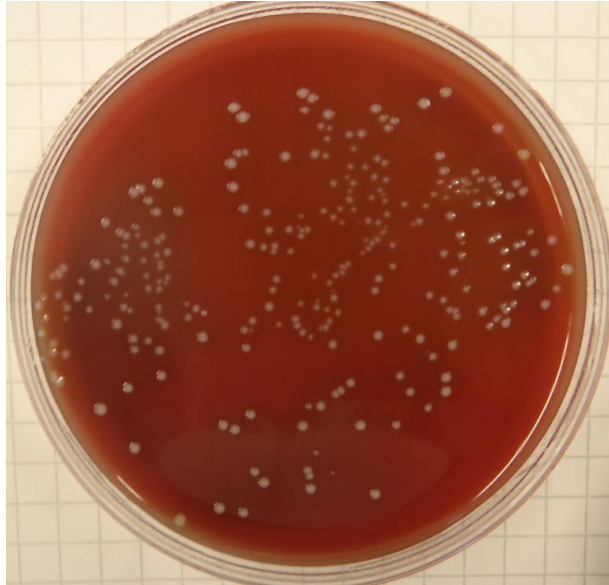
PDA-maljoja käytetään hiivojen ja homeiden määrittämiseen. Maljalle voidaan lisätä happoa tai antibiootteja bakteerien kasvun ehkäisemiseksi. Hiivat kasvavat maljoilla kermanvalkoisina pesäkkeinä. (Neogen, 2011). Maljoja inkuboiitiin $30,0 \pm 1,0$ °C:ssa 24 ± 3 tunnin ajan.



Kuva 2 Candida sp. pesäkkeitä PDA-maljalla (Ville Reunanen)

6.3.3 LMBA-kasvatusalusta (listeria monocytogenes blood agar)

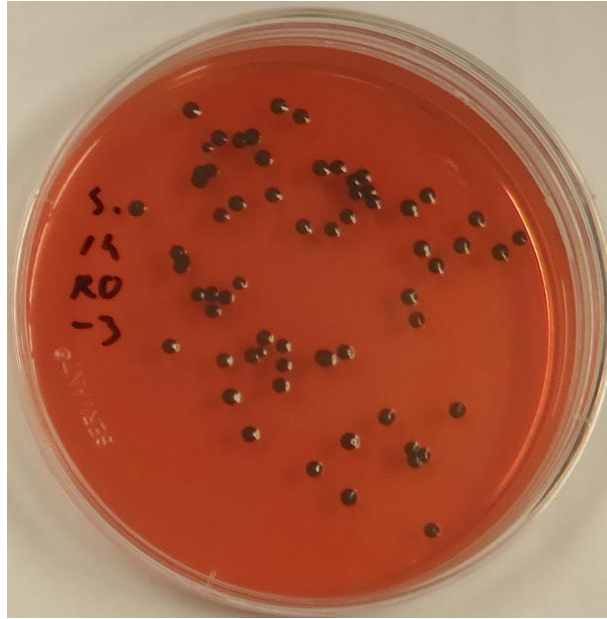
LMB-agar on *Listeria monocytogenes* -bakteerille spesifinen kasvatusalusta. Maljalla *Listeria* kasvaa pieninä vaaleina pesäkkeinä. Pesäkkeitä ympäröi kirkas, kapea β -hemolyysivyöhyke. (Evira, menetelmäohje 2009). Inkubointi tehtiin NMKL:n standardin nro 136:2007 mukaan, 37 ± 1 °C:ssa 48 ± 4 tunnin ajan.



Kuva 3 *Listeria monocytogenes* -pesäkkeitä LMBA-maljalla (Ville Reunanen)

6.3.4 XLDA-kasvatusalusta (Xylose Lysine Deoxycholate agar)

XLD-maljat ovat selektiivisiä Salmonellojen ja Shigellojen suhteen. Maljalla tyypillinen salmonellapesäke on punertava, läpinäkyvä ja sen keskusta on musta. Yleensä pesäkkeellä on nähtävissä oleva laajempi tai kapeampi vaaleanpunainen tai punainen vyöhyke. Rikkivetynegatiiviset Salmonella-bakteerit, kuten *Salmonella paratyphi*, kasvavat punertavina pesäkkeinä ja niillä on tummempi keskusta. Laktoposiitiviset, rikkivetypositiiviset salmonellat kasvavat keltaisina pesäkkeinä ja niillä voi olla musta keskusta. (Evira, menetelmäohje 2010). Inkubointi tehtiin NMKL:n standardin nro 71:1999 mukaan, $37,0 \pm 1$ °C:ssa 24 ± 3 tunnin ajan.



Kuva 4 *Salmonella enterica* -pesäkkeitä XLDA-maljalla (Ville Reunanen)

7 Laboratoriokokeet

7.1 *Candida* sp. ja *Bacillus cereus*

Antimikrobisuustutkimus hiivalle ja *Bacillus cereus* -bakteerille tehtiin käyttämällä Ruotsin elintarvikevirastolta tilattua bakteerireferenssimateriaalia.

Näyte valmistettiin valmistajan ohjeiden mukaan liuottamalla pelletti 100 ml:aan peptonivettä. Lisäksi purkki, jossa pelletti oli, huuhdeltiin 4 ml:lla peptonivettä. Valmis liuos sisälsi *Bacillus cereus* -bakteeria $2,0 \cdot 10^4$ - $2,0 \cdot 10^5$ pmy/ml ja *Candida* sp.:sta $2,0 \cdot 10^4$ - $1,0 \cdot 10^5$ pmy/ml. Liuoksesta pipetoitiin suoraan levyille. Varmistusta varten tehtiin laimennossarja siten, että kasvatusmaljoille tuli laimennokset 10^{-2} , 10^{-3} ja 10^{-4} , jotka vastasivat kokeen laimennoksia.

Samoista levyistä tehtiin sekä hiivamääritykset että *Bacillus cereus* määritykset. Kasvatusmaljoina käytettiin *Candida* sp.:lle hiivoille ja homeille spesifisiä PDA-maljoja sekä *Bacillus cereus* -bakteerille naudanveriagar-maljoja.

Levyjen inkubointien ja falcon-putkista maljoille pipetoinnin jälkeen maljoja inkuboitiin lämpökaapissa 37 °C:ssa 24 tuntia. Tämän jälkeen luettiin tulokset.

7.2 *Listeria monocytogenes*

Antimikrobisuustutkimus *Listeria monocytogenes* -bakteerille tehtiin käyttämällä Microbiolocs:n valmistamaa kantaa. Koska pelletti sisälsi valmistajan mukaan vain $4,1 \cdot 10^3$ pmy:ä, tuli mikrobeja rikastaa. Rikastus tehtiin ensin suspensoimalla pelletti 10 ml:aan peptonivettä (peptoni lihasta). Mikrobisuspensiota inkuboitettiin lämpökaapissa 37 °C:ssa 24 tuntia. Koska inkuboinnin jälkeistä mikrobipitoisuutta on vaikea arvioida, tehtiin laaja laimennossarja 10^{-2} - 10^{-6} koeputkiin ja pipetoitiin 0,1 ml duplikaattina LMBA-maljoille (maljoilla olevat laimennokset olivat tällöin 10^{-3} - 10^{-7}). Maljoja inkuboitettiin lämpökaapissa 37 °C:ssa 48 tuntia.

Tuloksia luettaessa kuitenkin havaittiin, että missään laimennoksessa ei kasvanut ainoatakaan pesäkettä. Tämän jälkeen rikastus päätettiin tehdä suspensoimalla kolme pellettiä samaan määrään peptonivettä (peptoni lihasta). Inkubointiaika ja laimennossarja pidettiin samana. Kasvatusalustojen toiminnan varmistamiseksi LMBA-maljojen lisäksi käytettiin naudanveriagar-maljoja. Naudanveriagar-maljoilla viljeltiin laimennoksia 10^{-2} - 10^{-4} alkuperäisestä näytteestä. Kaikkia maljoja viljeltiin lämpökaapissa 37 °C:ssa 48 tuntia. Tällä kertaa *Listeria monocytogenes* -bakteerit saatiin lisääntymään. Mikrobisuspensiossa oli bakteereja painotetulla keskiarvolla laskettuna $9,8 \cdot 10^7$ pmy/ml.

Varsinaista koetta varten *Listeria monocytogenes* -bakteerit rikastettiin samalla tavalla ja oletettiin mikrobipitoisuuden olevan likimain sama kuin aiemmassa rikastuksessa. Koska mikrobipitoisuus oli $9,8 \cdot 10^7$ pmy/ml, tehtiin suspensiosta 10^{-2} laimennos, josta pipetoitiin levyille. Levyille pipetoitu mikrobimäärä oli siis oletettu olevan $9,8 \cdot 10^4$ pmy/ml ja varmistuksen maljoilla olisi laimennokset 10^{-4} - 10^{-6} . Maljoja inkuboitettiin lämpökaapissa 37 °C:ssa 48 tuntia. Tämän jälkeen luettiin tulokset.

7.3 *Salmonella enterica*

Antimikrobisuustutkimus *Salmonella*-bakteerille tehtiin käyttämällä Microbiolocs:n valmistamaa kantaa *Salmonella enterica* subsp. *enterica*. Näyte valmistettiin suspensoimalla pelletti 10 ml:aan peptonivettä. Koska pelletissä oli valmistajan mukaan $6,2 \cdot 10^7$ pmy:ä, oli näytteessä $6,2 \cdot 10^6$ pmy/ml. Tämän takia näytteestä tehtiin yksi laimennus, josta pipetoitiin levyille. Levyille pipetoitu mikrobimäärä oli siis $6,2 \cdot 10^5$ pmy:ä ja varmistuksen maljoilla oli laimennokset 10^{-3} - 10^{-5} . Maljoja inkuboitiiin lämpökaapissa 37 °C:ssa 24 tuntia. Tämän jälkeen luettiin tulokset.

8 Tulokset

Taulukossa 5 on esitetty tulokset kokeissa tehdyistä elinkelpoisten mikrobien lukumäärien määrittämisistä testiliuoksissa. Näihin tuloksiin verrattiin inkubointien jälkeisiä mikrobimääriä antimikrobisuuden määrittämistä varten. Taulukoissa 6, 7, 8 ja 9 on esitetty tulokset kullekin mikrobille. Taulukkojen vasemmassa reunassa on esitetty laimennos ja jokaisen pinnan alla on duplikaattina viljellyiltä maljoilta lasketut pesäkkeet. Taulukkoihin on myös laskettu bakteerimäärien painotetut keskiarvot jokaiselta pinnalta, sekä kontrollimaljoilta lasketut pesäkkeet.

Taulukko 5. Elinkelpoisen mikrobien lukumäärä testiliuoksissa

<i>Bacillus cereus</i>							
Laimennus	-2		-3		-4		Painotettu keskiarvo
lkm	TNTC	TNTC	11	20	1	0	1,45E-04
<i>Candida sp.</i>							
Laimennus	-2		-3		-4		
lkm	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	47	75	6,10E-05
<i>Listeria monocytogenes</i>							
Laimennus	-4		-5		-6		
lkm	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	238	253	2,46E-08
<i>Salmonella enterica</i>							
Laimennus	-3		-4		-5		
lkm	TNTC	TNTC	353	325	39	43	3,45E-06

Taulukko 6. *Bacillus cereus* -pesäkkeet

Aika	30 min							
Laimennos/Pinta	Kupari		Messinki		Royal		Teräs	
-2	1		3		TNTC		TNCT	
-3	0		2		17		24	
-4	0		1		3		1	
Painotettu keskiarvo (pmy/ml)	9,01E+01		5,41E+02		1,82E+04		2,27E+04	
CTRL	0	0	0	0	0	0	0	0
Aika	60 min							
Laimennos/Pinta	Kupari		Messinki		Royal		Teräs	
-2	0	0	0	0	1	25	55	68
-3	0	0	0	0	2	10	11	29
-4	0	0	0	0	0	2	1	6
Painotettu keskiarvo (pmy/ml)	0,00E+00		0,00E+00		1,80E+03		7,66E+03	
CTRL	0	0	0	0	0	0	0	0
Aika	120 min							
Laimennos/Pinta	Kupari		Messinki		Royal		Teräs	
-2	0	0	1	kont	0	0	0	0
-3	0	0	0	0	0	0	0	0
-4	0	0	0	0	0	0	0	0
Painotettu keskiarvo (pmy/ml)	0,00E+00		4,50E+01		0,00E+00		0,00E+00	
CTRL	0	0	0	0	0	0	0	0
Aika	240 min							
Laimennos/Pinta	Kupari		Messinki		Royal		Teräs	
-2	0	1	0	0	0	0	1	10
-3	0	0	0	0	0	0	0	0
-4	0	0	0	0	0	0	0	0
Painotettu keskiarvo (pmy/ml)	4,50E+01		0,00E+00		0,00E+00		4,95E+02	
CTRL	0	0	0	0	0	0	0	6

Taulukko 7. Candida sp. -pesäkkeet

Aika	30 min							
Laimennos/Pinta	Kupari		Messinki		Royal		Teräs	
-2	TNTC		TNTC		TNTC		TNCT	
-3	139		TNTC		TNTC		TNCT	
-4	16		51		64		58	
Painotettu keskiarvo (pmy/ml)	1,26E+05		5,10E+05		6,40E+05		5,80E+05	
CTRL	0	0	0	0	0	0	0	0
Aika	60 min							
Laimennos/Pinta	Kupari		Messinki		Royal		Teräs	
-2	10	10	73	38	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
-3	0	3	4	5	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
-4	0	0	1	0	69	28	60	65
Painotettu keskiarvo (pmy/ml)	1,04E+03		5,45E+03		4,85E+05		6,25E+05	
CTRL	0	0	0	0	0	0	0	0
Aika	120 min							
Laimennos/Pinta	Kupari		Messinki		Royal		Teräs	
-2	0	0	4	2	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
-3	0	0	4	2	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
-4	1	1	2	0	43	21	31	49
Painotettu keskiarvo (pmy/ml)	9,01E+01		6,31E+02		3,20E+05		4,00E+05	
CTRL	4	1	1	9	1	1	1	3
Aika	240 min							
Laimennos/Pinta	Kupari		Messinki		Royal		Teräs	
-2	0	1	1	0	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
-3	1	0	0	0	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
-4	1	1	0	1	31	29	37	40
Painotettu keskiarvo (pmy/ml)	1,80E+02		9,01E+01		3,00E+05		3,85E+05	
CTRL	1	0	0	0	1	2	0	2

Taulukko 8. *Listeria monocytogenes* -pesäkkeet

Aika	30 min							
Laimennos/Pinta	Kupari		Messinki		Royal		Teräs	
-4	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
-5	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
-6	83	159	183	149	207	150	222	159
Painotettu keskiarvo (pmy/ml)	1,21E+08		1,66E+08		1,79E+08		1,91E+08	
CTRL	0	0	0	0	0	0	0	0
Aika	60 min							
Laimennos/Pinta	Kupari		Messinki		Royal		Teräs	
-4	1	0	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
-5	1	0	214	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
-6	4	0	53	36	TNTC	148	135	168
Painotettu keskiarvo (pmy/ml)	2,70E+04		2,53E+07		1,48E+08		1,52E+08	
CTRL	0	0	1	0	5	0	1	0
Aika	120 min							
Laimennos/Pinta	Kupari		Messinki		Royal		Teräs	
-4	0	0	0	0	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
-5	0	0	0	0	61	127	TNTC	TNTC
-6	0	0	0	0	15	44	28	103
Painotettu keskiarvo (pmy/ml)	0,00E+00		0,00E+00		1,12E+07		6,55E+07	
CTRL	0	0	0	0	0	0	0	0
Aika	240 min							
Laimennos/Pinta	Kupari		Messinki		Royal		Teräs	
-4	0	0	0	0	TNTC	49	TNTC	TNTC
-5	0	0	0	0	2	3	36	18
-6	0	0	0	0	2	0	5	0
Painotettu keskiarvo (pym/ml)	0,00E+00		0,00E+00		4,59E+05		2,68E+06	
CTRL	0	0	0	0	0	0	0	0

Taulukko 9. *Salmonella enterica* -pesäkkeet

Aika	30 min							
Laimennos/Pinta	Kupari		Messinki		Royal		Teräs	
-3	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNCT	TNTC
-4	31	50	53	161	197	199	279	270
-5	2	6	6	13	22	28	39	55
Painotettu keskiarvo (pmy/ml)	4,05E+05		1,06E+06		2,03E+06		2,92E+06	
CTRL	0	0	0	0	0	0	0	0
Aika	60 min							
Laimennos/Pinta	Kupari		Messinki		Royal		Teräs	
-3	TNTC	0	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
-4	0	0	1	5	65	193	336	246
-5	0	6	0	0	12	29	37	43
Painotettu keskiarvo (pmy/ml)	2,73E+04		2,73E+04		1,36E+06		3,01E+06	
CTRL	0	0	0	0	0	0	0	0
Aika	120 min							
Laimennos/Pinta	Kupari		Messinki		Royal		Teräs	
-3	0	0	0	0	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
-4	0	0	0	0	5	143	83	284
-5	0	0	0	0	0	20	17	21
Painotettu keskiarvo (pmy/ml)	0,00E+00		0,00E+00		7,64E+05		1,84E+06	
CTRL	0	0	0	0	0	0	0	0
Aika	240 min							
Laimennos/Pinta	Kupari		Messinki		Royal		Teräs	
-3	0	1	0	0	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
-4	0	0	0	0	2	2	134	110
-5	0	0	0	0	15	0	17	13
Painotettu keskiarvo (pmy/ml)	4,50E+02		0,00E+00		1,90E+04		1,25E+06	
CTRL	0	0	0	0	0	0	0	6

Taulukoista 5 ja 6 puuttuu ensimmäisen (30 min) inkubointiajan kohdalta toisen rinnakkaismäärityksen tulokset. Tämä sen takia, koska *Bacillus cereus* ja *Candida* sp. määritys tehtiin samanaikaisesti ja ajan puutteen vuoksi rinnakkaismääritystä ei ehditty tehdä. Jos kaikki määritykset olisi tehty, se olisi siirtänyt seuraavan inkubointiajan (60 min) tuloksia eteenpäin. Tällöin ei olisi saatu luotettavia tuloksia tästä määrityskohdasta.

Painotetut keskiarvot on laskettu kaikista maljoilta lasketuista tuloksista pois lukien ylikasvaneet maljat. Taulukossa 7 inkubointiajan 240 min kohdalla Nordic Royalin pinnalla laimennoksessa 10^{-5} on todennäköisesti tapahtunut kontaminoituminen (merkitty punaisella taulukkoon). Pesäkkeiden lukumäärä on rinnakkaiseen määritykseen nähden paljon suurempi. Lisäksi lukumäärä on suurempi kuin pienemmissä laimennuksissa, kun tuloksen pitäisi olla pienempi. Tätä tulosta ei ole otettu huomioon painotettua keskiarvoa laskettaessa.

Koska mikrobit kuolevat pinnoilla jonkin verran myös itsestään ulkoisten vaikutteiden takia, taulukoissa 10, 11, 12 ja 13 on esitetty mikrobien vähenemät sekä alkuperäisen mikrobipitoisuuden että ruostumattoman teräksen suhteen. Vähenemät on esitetty prosentuaalisen vähenemän lisäksi myös logaritmuodossa. Taulukoissa on aukkoja logaritmiarvoissa, koska tilanteissa, joissa mikrobipitoisuus on laskenut nolnaan, ei voi määrittää logaritmiarvoa.

Taulukko 10. *Bacillus cereus* -pesäkkeiden vähenemät pinnoilla

Alkuperäisen mikrobipitoisuuden suhteen					
Pinta/Aika		30 min	60 min	120 min	240 min
Kupari	prosentteina	99,38 %	100,00 %	100,00 %	99,69 %
	log	2,21			2,51
Messinki	prosentteina	96,28 %	100,00 %	99,69 %	100,00 %
	log	1,43		2,51	
Royal	prosentteina	-25,00 %	87,61 %	100,00 %	100,00 %
	log	-0,1	0,91		
Teräs	prosentteina	-56,25 %	47,35 %	100,00 %	96,59 %
	log	-0,19	0,28		1,47
Teräksen suhteen					
Pinta/Aika		30 min	60 min	120 min	240 min
Kupari	prosentteina	99,60 %	100,00 %		90,91 %
	log	2,40			1,04
Messinki	prosentteina	97,62 %	100,00 %		100,00 %
	log	1,62			
Royal	prosentteina	20,00 %	76,47 %		100,00 %
	log	0,10	0,63		

Taulukko 11. *Candida sp.* -pesäkkeiden vähenemät pinnoilla

Alkuperäisen mikrobipitoisuuden suhteen					
Pinta/Aika		30 min	60 min	120 min	240 min
Kupari	prosentteina	79,28 %	99,83 %	99,99 %	99,97 %
	log	0,68	2,77	3,83	3,53
Messinki	prosentteina	16,39 %	99,11 %	99,90 %	99,99 %
	log	0,08	2,05	2,99	3,83
Royal	prosentteina	-4,92 %	20,49 %	47,54 %	50,82 %
	log	-0,02	0,10	0,28	0,31
Teräs	prosentteina	4,92 %	-2,46 %	34,43 %	36,89 %
	log	0,02	-0,01	0,18	0,20
Teräksen suhteen					
Pinta/Aika		30 min	60 min	120 min	240 min
Kupari	prosentteina	78,21 %	99,83 %	99,98 %	99,95 %
	log	0,66	2,78	3,65	3,33
Messinki	prosentteina	12,07 %	99,13 %	99,84 %	99,98 %
	log	0,06	2,06	2,80	3,63
Royal	prosentteina	-10,34 %	22,40 %	20,00 %	22,08 %
	log	-0,04	0,11	0,10	0,11

Taulukko 12. *Listeria monocytogenes* -pesäkkeiden vähenemät pinnoilla

Alkuperäisen mikrobipitoisuuden suhteen					
Pinta/Aika		30 min	60 min	120 min	240 min
Kupari	prosentteina	50,71 %	99,99 %	100,00 %	100,00 %
	log	0,31	3,96		
Messinki	prosentteina	32,38 %	89,71 %	100,00 %	99,998 %
	log	0,17	0,99		
Royal	prosentteina	27,29 %	39,71 %	95,43 %	99,81 %
	log	0,14	0,22	1,34	2,73
Teräs	prosentteina	22,40 %	38,29 %	73,32 %	98,91 %
	log	0,11	0,21	0,57	1,96
Teräksen suhteen					
Pinta/Aika		30 min	60 min	120 min	240 min
Kupari	prosentteina	36,48 %	99,98 %	100,00 %	100,00 %
	log	0,20	3,75		
Messinki	prosentteina	12,86 %	83,33 %	100,00 %	99,83 %
	log	0,006	0,78		
Royal	prosentteina	6,30 %	2,31 %	82,86 %	82,88 %
	log	0,03	0,01	0,77	0,77

Taulukko 13. *Salmonella enterica* -pesäkkeiden vähenemät pinnoilla

Alkuperäisen mikrobipitoisuuden suhteen					
Pinta/Aika		30 min	60 min	120 min	240 min
Kupari	prosentteina	88,29 %	99,21 %	100,00 %	99,99 %
	log	0,93	2,1		3,88
Messinki	prosentteina	69,34 %	99,21 %	100,00 %	100,00 %
	log	0,51	2,10		
Royal	prosentteina	41,32 %	60,66 %	77,89 %	99,45 %
	log	0,23	0,41	0,66	2,26
Teräs	prosentteina	15,39 %	12,89 %	46,71 %	63,95 %
	log	0,07	0,06	0,27	0,44
Teräksen suhteen					
Pinta/Aika		30 min	60 min	120 min	240 min
Kupari	prosentteina	86,16 %	99,09 %	100,00 %	99,96 %
	log	0,86	2,04		3,44
Messinki	prosentteina	63,76 %	99,09 %	100,00 %	100,00 %
	log	0,44	2,04		
Royal	prosentteina	30,64 %	54,83 %	58,52 %	98,47 %
	log	0,16	0,35	0,38	1,82

9 Tulosten tarkastelu

Standardin EN 13697 mukaan desinfektio- ja antiseptisten aineiden pitää saada aikaan bakteereille vähintään log3 vähenemä. Standardissa ISO 22196 mikrobi vähenemän tulee olla vähintään log2. Standardissa EN 13697 kontaktiaika aineilla on bakteereille 5 ja sienille 15 min. Standardi ISO 22196 on tehty muoveille ja kontaktiaika on 24 tuntia.

9.1 *Bacillus cereus*

Testiliuoksen alkuperäinen mikrobipitoisuus oli tulosten mukaan $1,45 \cdot 10^4$ pmy/ml. Valmistajan mukaan pitoisuuden olisi pitänyt olla $2,0 \cdot 10^4$ - $2,0 \cdot 10^5$ pmy/ml. Tulosten kannalta pitoisuus olisi saanut olla ainakin valmistajan ilmoittamalla ylärajalla, koska kuparin pinnalta ensimmäisen inkubointiajan jälkeen löytyi vain yksi pesäke pienimmästä laimennoksesta. Myös messingin pinnalla oli havaittavissa vain muutamia pesäkkeitä kaikissa laimennoksissa. Tuloksissa tuskin on virhettä, koska Nordic Royalin sekä teräksen pinnoilta löytyi pesäkkeitä ja pienemmissä laimennoksissa niitä oli liikaa laskentaa varten.

Pipetoinneissa on havaittavissa hiukkastilastollisia heittoja, koska Nordic Royalin ja teräksen pinnoilla oli ensimmäisen inkubointiajan jälkeen enemmän bakteeria kuin alkuperäisessä liuoksessa. Tämä voi selittyä myös sillä, että levyjen tai ulkoisten tekijöiden vaikutuksesta bakteerit eivät olleet alkaneet vielä kuolla vaan olivat vielä päässeet lisääntymään.

Liitteessä 2 olevasta kuvioista huomaa, miten *Bacillus cereus* -pitoisuus lähtee ajan kuluessa laskuun ja kuparin ja messingin pinnoilla ei ole havaittavissa bakteereja enää 60 min kohdalla. Alkuperäisen liuoksen pienestä pitoisuudesta johtuen käyriin tulee nousuja jo yhdenkin pesäkkeen löytymisestä. Näin on käynyt kaikkien paitsi Nordic Royalin kohdalla. Kuparin pinnalla mikrobipitoisuus

oli nollassa 60 min ja 120 min kohdalla, mutta 240 min kohdalla yhden pesäkkeen löytyminen pienimmästä laimennoksesta heilauttaa käyrää.

Kun tuloksia tarkastelee logaritmisina vähenemänä, kuparin pinnalta bakteeripitoisuus on vähentynyt jo 30 min jälkeen standardin ISO 22196 vaatiman määrän. Messingissä tähän vähenemään päästään 60 min jälkeen. Royalin ja teräksen pinnoilta mikrobipitoisuus on laskenut melkein samaa tahtia.

9.2 Candida sp.

Testiliuoksen mikrobipitoisuus Candida sp.:n osalta oli $6,1 \cdot 10^5$ pmy/ml, joka taas on paljon suurempi kuin valmistajan ilmoittama luku; $2,0 \cdot 10^4$ - $1,0 \cdot 10^5$ pmy/ml. Tulosten kannalta määrä oli riittävä, sillä kaikilla pinnoilla oli ensimmäisen inkubointiajan jälkeen pienemmässä laimennoksessa liikaa mikrobeja laskettavaksi ja suurimmassa laimennoksessa pienimmilläänkin 16 pesäkettä. Mikrobeja oli riittävästi, jotta vielä viimeisimmän inkubointiajan jälkeen oli kaikilta pinnoilta löydettävissä pesäkkeitä.

Ensimmäisen inkubointiajan jälkeiset tulokset näyttävät melko luotettavilta, vaikka niistä ei rinnakkaismääryksiä saatukaan tehtyä. Mikrobipitoisuus oli ainoastaan Royalin pinnalla kasvanut ja muiden pinnalla laskenut, kuparin pinnalla selvästi enemmän kuin muiden. Kun ensimmäisen inkubointiajan tuloksia vertaa seuraaviin 60 min jälkeen tehtyihin määryksiin, huomaa mikrobipitoisuuksien lähtevän laskuun. Ainoastaan teräksen pinnalla oli suurempi mikrobipitoisuus 60 min jälkeen kuin 30 min jälkeen. Liitteessä 2 olevasta kuviosta näkee miten mikrobipitoisuudet laskevat teräksen ja Royalin pinnoilla lähes yhtä loivasti, mutta kuparin ja messingin pinnoilla selvästi jyrkemmin.

Candida sp.:n pitoisuus laskee 120 min jälkeen ainoastaan messingin pinnalla. Tähän voi olla syynä se, että ilmasta on kulkeutunut hiiva- ja/tai homesoluja testipintojen päälle, sillä PDA-maljoilla kasvaa sekä hiiva- että homesolut. Vielä 240 minuuttiakin pidempi inkubointiaika olisi näyttänyt laskeeko pesäkkeiden pitoisuus pinnoilla vai pysyisivätkö pitoisuudet samoissa arvoissa.

Logaritmisina vähenemänä kupari ja messinki saavuttavat log₂ vähenemän jo 60 min jälkeen. 240 min jälkeen kyseiset pinnat saavuttavat jo log₃ vähenemänkin. Nordic Royal taas ei näytä toimineen juurikaan terästä paremmin antimikrobisena pintana.

9.3 *Listeria monocytogenes*

Valmistajan mukaan pelletti, josta liuos valmistettiin, sisälsi vain $4,1 \cdot 10^3$ pmy. Tämä olisi ollut liian pieni pitoisuus pipetoitavaksi levyille. Tämän takia liuosta piti rikastaa, jolloin mikrobipitoisuus saatiin nousemaan $2,48 \cdot 10^8$ pmy/ml testiliuoksessa.

Ensimmäisen inkubointiajan jälkeen kaikilla pinnoilla on tapahtunut pientä vähenemää mikrobipitoisuuksissa, mutta mikään pinta ei näytä olevan toistaan antimikrobisempi. Suurimman vähenemän on saanut aikaan kupari, jonka pinnalta mikrobit ovat prosentuaalisesti teräkseen verrattuna vähentyneet 36,48 %.

Toisen inkubointiajan, 60 min, jälkeen kuparin pinnalta mikrobit ovat jo selvästi vähentyneet. Myös messingin pinnalta on vähenemä havaittavissa. Kuitenkin 120 min jälkeen sekä kuparin että messingin pinnoilta ei ole enää havaittavissa pesäkkeitä. Nordic Royalin ja teräksen pinnoilta *Listeria monocytogenes* -pitoisuudet ovat myös laskeneet, mutta vain hyvin vähän. Liitteessä 2 olevasta kuviosta pintojen eron huomaa selvästi.

Tuloksia logaritmisesti tarkastellessa kupari on saavuttanut log₃ vähenemän teräkseen nähden jo 60 min jälkeen ja messinkikin jo 120 min jälkeen. Taulukosta 12 ei selviä logaritmista eroa messingin ja teräksen välillä, koska mikrobipitoisuus messingin pinnalla on laskenut nolnaan. Tällöin logaritmista erotusta ei voi laskea. Nordic Royalin ja teräksen välillä on selvä ero, mutta suurimmillaankin ero on logaritmisesti vain 0,77.

9.4 *Salmonella enterica*

Testiliuoksessa oli tulosten mukaan *Salmonella enterica* -bakteeria $3,45 \cdot 10^6$ pmy/ml, joka on valmistajan ilmoittaman määrän haarukassa. Ensimmäisen inkubointiajan jälkeen kaikilta pinnoilta on havaittavissa mikrobipitoisuuksien vähenemää. Teräksen pinnalla vähenemä ei kuitenkaan ole koko testin aikana kovinkaan suurta. 60 min jälkeen pitoisuus on jopa kasvanut verrattuna 30 min jälkeisiin tuloksiin. Nordic Royalin pinnalta mikrobipitoisuus on laskenut teräkseen verrattuna koko ajan enemmän ja on 240 min jälkeen lähellä log₂ rajaa tuloksella 1,82.

Kuparin ja messingin pinnoilla, muiden tulosten tavoin, pitoisuudet ovat vähentyneet selvemmin kuin teräksen tai Royalin pinnoilla. Kuparin ja messingin välillä ei ole tuloksissa juurikaan eroa. Kummankaan pinnalla ei ole *Salmonella enterica* -bakteeripesäkkeitä 120 min jälkeen. Kuparin pinnalta löytyi yksittäinen pesäke pienimmästä laimennoksesta 240 min jälkeen. Tämä näkyy liitteen 2 kuviossa selvänä hyppäyksenä. Koska pitoisuus oli nollassa 120 min jälkeen, on todennäköistä, että pesäke on tullut ristikontaminaationa muualta. Tuloksiin yksittäisellä pesäkkeellä ei juurikaan ole merkitystä, sillä vähenemä teräkseen nähden on 240 min jälkeenkin logaritmisena 3,44.

Kuparin ja messingin pinnoilla mikrobipitoisuudet ovat saavuttaneet log₂ rajan jo 60 min kohdalla. Log₃ raja olisi molemmilla pinnoilla saavutettu 120 min viimeistään 420 min jälkeen. Taulukossa 13 ei kuitenkaan tuloksia tästä kohdasta ole, koska mikrobimäärät ovat nollassa.

10 Johtopäätökset

Tuloksissa suurimmat mittausepävarmuudet ovat tulleet pesäkelukumäärän hiukkastilastollisesta jakaumasta ja tulosten lukemisen epävarmuudesta. Pipetointiin liittyvät epävarmuudet taas ovat samoja kaikissa kokeissa. Mittausepävarmuuksista huolimatta kaikkien tulosten suunta on ollut samanlainen. Kaikkien käytettyjen mikrobien osalta voidaan kuparia ja messinkiä pitää antimikrobisena pintana teräkseen verrattuna, jos oletetaan,

että teräksen pinnalla mikrobit eivät kuole teräksen vuoksi vaan ainoastaan ulkoisten tekijöiden seurauksena. Viimeistään 120 min jälkeen molemmat pinnat ovat saavuttaneet standardin ISO 22196 log₂ rajan. Desinfektio- ja antiseptisillä aineilla kontaktiaika on paljon lyhyempi, mutta antimikrobisilla pinnoilla pystyttäisiin takaamaan hygienia siivousten välissäkin.

Nordic Royal ei tulosten mukaan osoittautunut antimikrobiseksi kupariin verrattuna. Nordic Royalin pinnalla mikrobit vaikuttivat kuitenkin tuhoutuvan hieman nopeammin kuin teräksen pinnalla. Tulokset olisivat voineet olla täysin erilaiset, jos Nordic Royal -pintaa olisi ennen koetta käsitelty laimealla sitruunahappoliuoksella. Nordic Royalin pintaan muodostuu ajan kuluessa alumiinioksidikerros, joka estää kupari-ionien vaikutuksen soluihin. Sitruunahapon avulla alumiinioksidin saa poistettua pinnalta.

Kesällä 2011 Yhdysvaltalainen riippumatonlaboratorio testasi Nordic Royal -pinnan vaikutusta *Enterobacter aerogenes* ja *Staphylococcus aureus* -bakteereihin kahden ja neljän tunnin kontaktiajoilla, käyttäen Environmental Protection Agency:n (EPA) määrittämiä protokollia. Tulosten mukaan kahden tunnin vaikutuksen jälkeen Nordic Royalilla saatiin *Enterobacter aerogenes* pitoisuuteen >log_{6,3} vähenemä teräkseen verrattuna ja *Staphylococcus aureus* pitoisuuteen log_{2,33} vähenemä. (Juhola, 2011b.) Näiden tulosten perusteella myös Nordic Royal vaikuttaisi olevan antimikrobinen pinta.

Jos elintarvikealan yritys haluaisi parantaa yrityksensä hygieniaa, kuparimetallit olisivat hyvä keino siihen. Vaikka kuparia ei voikaan käyttää suorassa kontaktissa elintarvikkeiden kanssa sen värjäävän ominaisuuden takia, voi sen avulla parantaa huomattavasti työntekijöiden hygieniaa vaihtamalla esimerkiksi saniteetti- ja taukutilojen kosketuspinnat teräksestä kupariin. Tällöin voisi minimoida mikrobit, joita työntekijät kuljettavat elintarvikkeisiin. Lisäksi kuparimetallit ovat parempia kuin esimerkiksi antimikrobiset pinnoitteet, koska pinnoitteet voivat käytössä kulua pois toisin kuin täyskupariset tuotteet. Kuparimetalleja voisi hyvin käyttää elintarviketeollisuuden lisäksi myös muilla aloilla, joissa mikrobit voivat olla haitallisia, esimerkiksi terveydenhuollon tai biotekniikan laitoksissa.

LÄHTEET

Adam, M. & Moss, M. 2000. Food Microbiology. Second edition. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, s. 33-34, 48-49.

Antimicrobialcopper 2011a Viitattu 19.5.2011 Saatavilla <http://www.antimicrobialcopper.com>

Antimicrobialcopper 2011b. Viitattu 19.5.2011. Saatavilla <http://www.antimicrobialcopper.com/us/scientific-proof/antimicrobial-efficacy.aspx>

Antimicrobialcopper 2011c. Products. Viitattu 19.5.2011 Saatavilla <http://www.copperinfo.co.uk/antimicrobial/products>

Antimicrobialcopper 2011d. The Science behind Antimicrobial Copper. Viitattu 19.5.2011. Saatavilla <http://www.antimicrobialcopper.com/us/scientific-proof/how-it-works.aspx>

Aurubis, 2011. Viitattu 31.8.2011 Saatavilla <http://www.aurubis.com/en/corporate-group/>

Biomed 2011. Kupari. Viitattu 06.09.2011 Saatavilla <http://www.biomed.fi/artikkelit/181>

EPA 2011. Pesticides: Topical & Chemical Fact Sheets. Viitattu 7.9.2011 Saatavilla <http://www.epa.gov/pesticides/factsheets/copper-alloy-products.htm>

Evira 2010a. Bacillus cereus. Viitattu 08.11.2010 Saatavilla http://www.evira.fi/portal/fi/elintarvikkeet/hygieniaosaaminen/tietopaketti/ruokamyrkytykset/ruokamyrkytyksia_aiheuttavia_bakteereja/bacillus_cereus/

Evira 2010b. Listeria. Viitattu 08.11.2010 Saatavilla http://www.evira.fi/portal/fi/elintarvikkeet/tietoa_elintarvikkeista/elintarvikevaarat/ruokamyrkytykset/ruokamyrkytyksia_aiheuttavat_mikrobit/listeria/

Evira 2010c. Salmonella. Viitattu 15.11.10 Saatavilla http://www.evira.fi/portal/fi/elintarvikkeet/hygieniaosaaminen/tietopaketti/ruokamyrkytykset/ruokamyrkytyksia_aiheuttavia_bakteereja/salmonella/

Evira 2011. Mikrobin kasvu edistävät tekijät. Viitattu 8.9.2011 Saatavilla http://www.evira.fi/portal/fi/elintarvikkeet/hygieniaosaaminen/tietopaketti/ruokamyrkytykset/mikrobin_kasvu_edistavat_tekijat/

Evira 2011. Viitattu 12.2.2011 Saatavilla http://www.evira.fi/attachments/julkaisut/eela_2006_4_riskinarviointi_salmonella.pdf

Evira 2011. *Listeria monocytogenes* –bakteerin määrittäminen. Pesäkelaskentatekniikka. Menetelmäohje 3477/2

Evira 2011. Salmonellan osoittaminen elintarvikkeista, rehuista, komposteista, orgaanisista lannoitteista ja biologisista torjunta-aineista. Menetelmäohje 3542/6

Jay, M. 2000. Modern Food Microbiology. Sixth edition. Aspen Publishers, Inc., Maryland, s. 35-50, 511.

Juhola, J. 2011a. Aurubis finland Oy. Suullinen tiedonanto 25.8.2011. Sähköpostiviesti 19.9.2011

Juhola, J. 2011b. Luvata Pori Oy. Sähköpostiviesti 23.6.2011

Kuhn, P.J. 1983. Doorknobs: a source of nosocomial infection? Diagnostic Medicine, Nov/Dec, 1983

Mäkelä, O. Tiilikainen, A.S. Vaara, M. Vaheeri, A. & Valtonen, V. 1993. Lääketieteellinen mikrobiologia. 6. uudistettu painos. Gummerus Kirjapaino Oy. Jyväskylä, s. 159-160.

Neogen 2011. Viitattu 14.6.2011. Saatavilla
http://www.neogen.com/acumedia/pdf/ProdInfo/7149_PI.pdf

Outokumpu 2011. Ruostumaton teräs. Viitattu 18.7.2011 Saatavilla
<http://www.outokumpu.fi/Internet-Multisites/3879/Startpage-Outokumpu-Distribution-Oy/Tuotteet-ja-palvelut-/Ruostumaton-teras/>

Pohjoismainen elintarvikkeiden metodiikkakomitea 1997. *Bacillus cereus*. Määrittäminen elintarvikkeissa. No 67. 4. painos

Pönkä, A. 1999. Ruokamyrkytykset ja elintarvikehygienia. 1. painos. Gummerus Kirjapaino Oy. Jyväskylä, s. 26-64, 248.

Reilly, C. 2008. Metal Contamination of Food: Its Significance for Food Quality and Human Health. Third edition. Wiley, Chichester, s. 162, 165.

Salkinoja-Salonen, M. 2001. Mikrobiologian perusteita. Gummerus Kirjapaino Oy, Jyväskylä, s. 667-671.

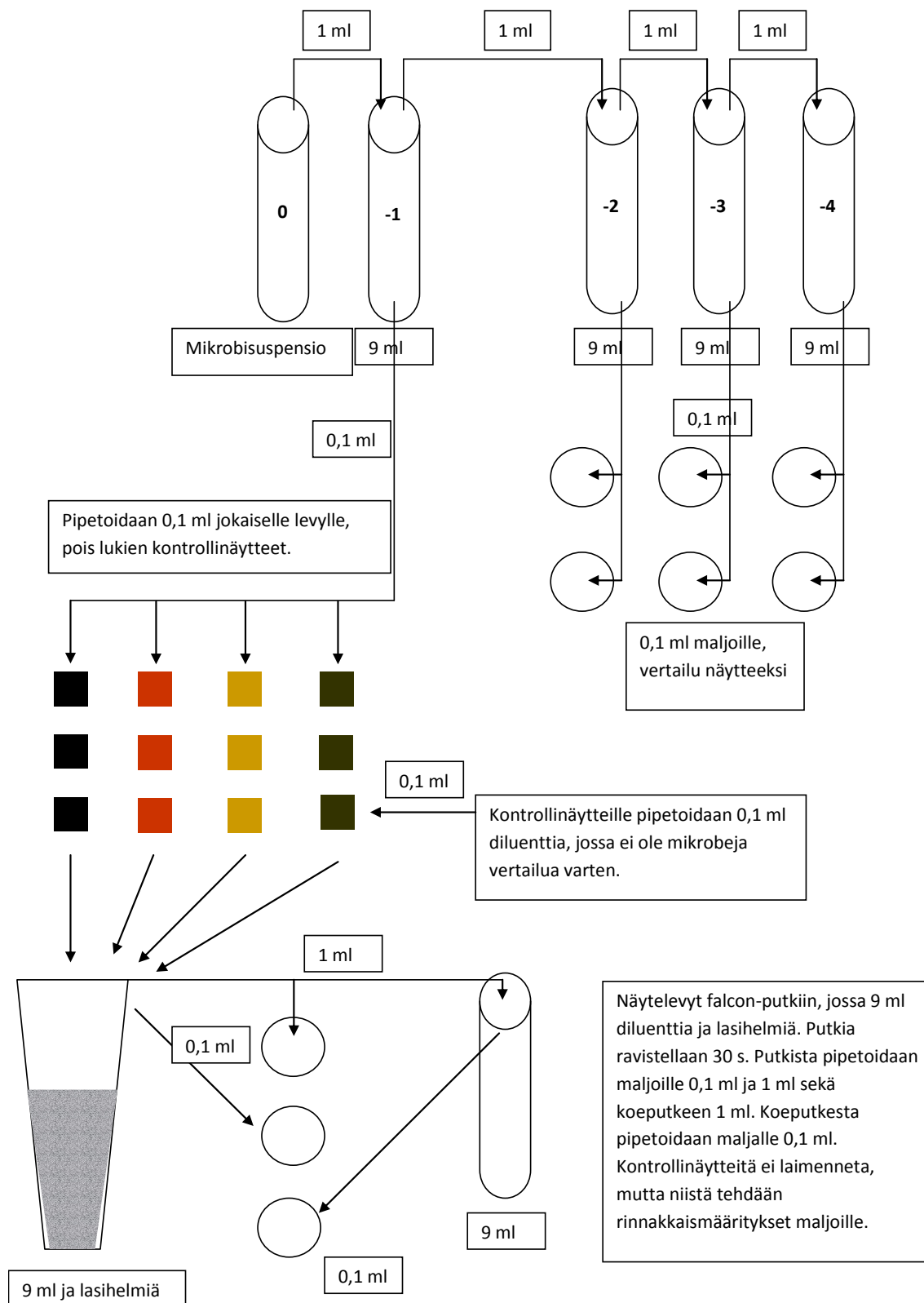
Scandinavian Copper Development Association, 2011. Kupari. Viitattu 30.6.2011. Saatavilla
<http://www.scda.com/kupari/kupari.html>

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos 2010. Viitattu 08.11.2010 ja 15.11.2010 Saatavilla
<http://www3.ktl.fi/>

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos 2010. Talousveden valvonta ja laatu vuonna 2008. Yliopistopaino, s. 14.

Työn suoritus

Sopiva laimennussarja:



Mikrobipesäkkeiden pitoisuudet ajan suhteen

