

## IDENTYFIKACJA DROBNOUSTROJÓW WYSTĘPUJĄCYCH W CUKRZE, MELASIE, WYSŁODKACH PLANTATORSKICH I SUSZONYCH

**Małgorzata Kowalska, Ewelina Małczak**

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego

Zakład Cukrownictwa

ul. Inżynierska, 405-084 Leszno

malgorzata.kowalska@ibprs.p

### Streszczenie

Celem niniejszej pracy była identyfikacja drobnoustrojów występujących w cukrze buraczanym, cukrze trzcinowym, melasie oraz wysłodkach. Do badań wykorzystano próbki pochodzące z cukrowni z różnych rejonów Polski oraz próbki cukru trzcinowego z Ameryki Południowej, rafinowanego w polskich cukrowniach. Próbki analizowano zgodnie z odpowiednimi metodykami w kierunku drobnoustrojów mezofilnych, bakterii tworzących śluzu, bakterii termofilnych tlenowych i beztlenowych, *Enterobacteriaceae*, bakterii z grupy coli, *Salmonella* sp., *Escherichia coli* oraz paciorkowców kałowych. Drobnoustroje wyrosłe na odpowiednich podłożach klasyfikowano na podstawie morfologii kolonii, a następnie identyfikowano z wykorzystaniem testów API. Drobnoustroje wyhodowane z próbek cukru z buraków cukrowych oraz z wysłodków plantatorskich to przede wszystkim ziarniaki, natomiast w próbkach cukru z trzciny cukrowej, melasu oraz wysłodków suszonych występowały głównie pałeczki. Główną mikroflorę badanych produktów stanowiły *Aerococcus viridans*, *Aneurinibacillus aneurinilyticus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus* sp. I *Rhodotorula mucilaginosa*. W badanych próbkach nie wykryto bakterii chorobotwórczych. Niektóre spośród zidentyfikowanych drobnoustrojów mogą wywoływać oportunistyczne zakażenia u ludzi.

**Słowa kluczowe:** mikrobiologiczne zanieczyszczenie, cukier buraczany, cukier trzcinowy, wysłodki, melas

## IDENTYFICATION OF MICROORGANISMS OCCURED IN SUGAR, MOLASSES AND PRESSED AND DRIED SUGAR BEET PULP

### Summary

The aim of the study was to identify microorganisms in beet sugar, cane sugar, molasses and sugar beet pulp. Object of study were samples from the sugar mills from different regions of Poland and samples of cane sugar from South America, refined in the Polish sugar factories. The samples were analyzed in accordance with the relevant methodologies in the direction of mesophilic microorganisms, slime-forming bacteria, thermophilic aerobic and anaerobic bacteria, *Enterobacteriaceae*, coliforms, *Salmonella* sp, *Escherichia coli* and faecal streptococci. The microorganisms grown on suitable media were classified according to colony morphology and were identified using the API test. Cocci were isolated from samples of beet sugar and pressed sugar beet pulp samples, while micro-organisms found in samples of sugar cane, molasses and dried sugar beet pulp belonged mainly to rod-shaped bacteria. Slime-forming bacteria, morphologically mostly also belonged to the rod-shaped bacteria. It was found that microorganisms occurred in the samples were mainly represented by *Aerococcus viridans*, *Aneurinibacillus aneurinilyticus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Rhodotorula* sp and *Micrococcus mucilaginosus*. No pathogenic bacteria occurred in the all test samples. Some of the identified micro-organisms may cause opportunistic infections in humans.

**Key words:** microbiological contamination, beet sugar, cane sugar, sugar beet pulp, molasses

### WSTĘP

Liczne badania wykazały, że cukier jest produktem bezpiecznym dla konsumentów [Kowalska 2006; Kowalska 2007; Kowalska 2009; Kowalska 2010; Kowalska, Kacprzak 2011]. O stabilności mikrobiologicznej tego produktu decyduje m.in. niska aktywność wody, parametry procesu technologicznego (wysokie pH i temperatura), wysoka zawartość suchej substancji. Drobnoustroje pochodzące z surowca są w większości eliminowane w procesie technologicznym. Mikroorganizmy obecne w wyrobie gotowym są zanieczyszczeniem wtórnym, którego źródłem jest mikrobiologicznie zanieczyszczone powietrze stykające się z cukrem podczas jego suszenia, chłodzenia, segregacji i pakowania. Na końcową liczbę drobnoustrojów w produkcie może mieć więc wpływ czystość aparatury, przestrzeganie właściwego ruchu pracowników (ze strefy czystej do brudnej), czystość powietrza w otoczeniu maszyn i urządzeń, dbałość o stan higieniczny pomieszczeń oraz warunki magazynowania [Kunicka-Styczyńska; Żakowska 2008].

Mikroorganizmy występujące w cukrze opisywane są zazwyczaj w odniesieniu do grup bakterii, aniżeli konkretnych gatunków drobnoustrojów. Najczęściej podawana jest średnia liczba bakterii mezofilnych, pleśni, drożdży, bakterii wytwarzających śluzy, bakterii termofilnych tlenowych oraz tzw. „płasko-kwaśnych”, bakterii termofilnych beztlenowych redukujących i nieredukujących siarczany. Na podstawie tych grup drobnoustrojów analizowana jest jakość mikrobiologiczna cukru i w stosunku do nich podawane są wymagania ilościowe czy standardy jakościowe [Kowalska, Małczak 2013]. Informacji na temat gatunków reprezentujących poszczególne grupy mikroorganizmów w cukrze, melasie i wysłodkach jest niewiele.

### MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Materiały do badań stanowiły próbki cukru białego z buraków cukrowych (18), cukru białego i brązowego z trzciny cukrowej (13), melasu (7), wysłodków suszonych (10) oraz wysłodków plantatorskich (6).

Analizy mikrobiologiczne obejmowały następujące oznaczenia: bakterie mezofilne w cukrze i melasie według ICUMSA GS2/3 – 41(2011), pleśnie i drożdże w cukrze i melasie według ICUMSA GS2/3 - 47(1998), bakterie mezofilne w wysłodkach według PN-EN ISO 4833(2004), pleśnie i drożdże w wysłodkach według PN-ISO 21527-1(2009), bakterie wytwarzające śluzy według ICUMSA GS 2/3 – 45(2002), bakterie termofilne tlenowe ogółem i tzw. „płasko-kwaśne” według PN-91/A-74855/12, przetrwalniki bakterii mezofilnych według PN-91/A-74855/12, bakterie mezofilne i termofilne beztlenowe redukujące i nieredukujące siarczany (IV) według PN-ISO 15213(2005), *Salmonella* sp. według PN-ISO 6579(2003), *Enterobacteriaceae* według PN-ISO 21528-2(2005), bakterie z grupy *coli* według PN-ISO 4832(2007) i PN-ISO 4831(2007), *Escherichia coli* według PN-ISO 16649-2(2004) i PN-ISO 7251(2006), paciorkowce kałowe – pożywka Slanetza Bartley, filtracja membranowa, warunki inkubacji: 48 h temperatura 36°C, gronkowce koagulazo-dodatnie PN-EN ISO 6888-2(2001), *Clostridium perfringens* według PN-EN ISO 7937(2005), *Listeria monocytogenes* według PN-EN ISO 11290-2:2000+ Ap1(2005).

Bakterie chorobotwórcze oznaczono w pierwszej fazie badań według podanych norm. Analizy wykazały brak ww. drobnoustrojów. W związku z tym zwiększono dziesięciokrotnie masę próbek i zmodyfikowano metody, stosując filtrację membranową w przypadku *Enterobacteriaceae*, bakterii z grupy *coli*, *Escherichia coli*, paciorkowców kałowych, gronkowców koagulazo-dodatnich, *Clostridium perfringens* i *Listeria monocytogenes*. Posiewy każdej próbki przeprowadzono w dwóch powtórzeniach.

W celu doboru odpowiedniego testu API przeprowadzono badania mikroskopowe

wyrosłych kolonii, po czym określano ich morfologię, a także wykonywano: barwienie Grama (testy paskowe do wykrywania aminopeptydazy L-alaniny w drobnoustrojach Bactident® Aminopeptydaza (Merck Millipore), a w przypadku kolonii barwnych – test z 3% KOH, test na obecność oksydazy (testy paskowe Bactident® Oksydaza) oraz test na wytwarzanie katalazy (3% nadtlenek wodoru). Identyfikację gatunkową danego drobnoustroju przeprowadzano za pomocą komputerowej bazy danych – programu APIWEB.

## WYNIKI I DYSKUSJA

### *Cukier buraczany i cukier trzcinowy*

Przeprowadzone analizy wykazały, że liczba drobnoustrojów w cukrze z buraków cukrowych i trzciny cukrowej była zbliżona. W próbkach cukru nie wykryto przetrwalników bakterii mezofilnych i bakterii termofilnych beztlenowych. Nie stwierdzono również obecności bakterii chorobotwórczych. W tabeli 1. przedstawiono wyniki analiz mikrobiologicznych próbek cukru białego z trzciny cukrowej i buraków cukrowych.

**Tabela 1.** Liczba drobnoustrojów w próbkach cukru białego z buraków cukrowych i trzciny cukrowej  
*Total counts of micro-organisms in samples of white sugar from sugar beets and sugar cane*

| Rodzaj cukru                     | Bakterie mezofilne | Pleśnie | Drożdże | Bakterie tworzące śluzu | Przetrwalniki bakterii termofilnych tlenowych ogółem |
|----------------------------------|--------------------|---------|---------|-------------------------|--|
| jtk w 10 g próbki (min. – max.)  |                    |         |         |                         |  |
| Cukier biały z buraków cukrowych | 5–200              | 0–2     | 0–2     | 0–8                     | 0–33   |
| Cukier trzcinowy biały           | 2–5                | 0       | 0       | 2                       | 2–4  |
| Cukier trzcinowy brązowy         | 35–155             | 0       | 0       | 15–60                   | 1–10   |

Przeprowadzona wstępna identyfikacja kolonii wyrosłych z posiewu cukru białego trzcinowego wykazała, że 100% bakterii mezofilnych to pałeczki Gram+. W cukrze brązowym 29% stanowiły ziarniaki, spośród których 50% była Gram+, 71% to pałeczki Gram+. Przetrwalniki bakterii mezofilnych i termofilnych to pałeczki Gram+ wytwarzające katalazę. Na pożywce dla drobnoustrojów tworzących śluzu wyrosły tylko pałeczki Gram+, wytwarzające katalazę. Identyfikacja kolonii z wykorzystaniem testów API wykazała obecność w cukrze trzcinowym białym: *Staphylococcus warneri*, *Bacillus circulans*, *Kocuria*

*varians/rosea*, *Brevibacillus non reactive*, *Bacillus lentus*; z kolei w cukrze trzcinowym brązowym: *Aerococcus viridans* 1, *Bacillus subtilis/amyloliquefaciens*, *Leuconostoc* spp., *Bacillus megaterium*, *Geobacillus stearothermophilus* i *Bacillus pumilus*.

Według nielicznych danych literaturowych w cukrze surowym trzcinowym najczęściej występują *Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus vulgaris*, *Aerobacter aerogenes* oraz gatunki *Actinomyces*, *Saccharomyces*, *Penicillium*, *Mucor* i *Aspergillus*. Spośród bakterii termofilnych izolowano *Clostridium nigrifii*, *Bacillus stearothermophilus* oraz *Clostridium thermoputrificum* [Chen, Chung Chi Chou 1988]. Badania przeprowadzone w 37 cukrowniach w Tajlandii wykazały, że z cukru w największej liczbie izolowano bakterie należące do rodzaju *Bacillus*. Bakterie termofilne wytwarzające przetrwalniki to głównie: *Bacillus coagulans*, *Bacillus circulans*, *Bacillus brevis* i *Bacillus marcerans*. Spośród 48 próbek w 71,43% znajdowano bakterie *Bacillus coagulans* [Chittrepol i in. 2008]. W cukrze rafinowanym badanym w Turcji wykryto drożdże należące do *Candida guilliermondii*, *Candida intermedia*, *Candida parapsilosis*, *Cryptococcus albidus*, *Rhodotorulla glutinis* oraz *Saccharomyces cerevisiae* [Senses-Ergul, Ozbas 2006]. W kubańskim trzcinowym cukrze surowym najczęściej identyfikowano szczepy *Torulla*, *Monilia*, a z bakterii pałeczki. Z cukru trzcinowego produkowanego w Indiach wyizolowano bakterie, które rosły w postaci dużych matowych białych kolonii. Bakterie te zidentyfikowano jako laseczki z rodzaju *Bacillus*. Drugi typ bakterii rósł w postaci dużych złocistych kolonii. Przypisano je do ziarniaków z rodzajów *Staphylococcus* i *Micrococcus* [Ashok i in. 2011]. Badania innych indyjskich badaczy wykazały, że w cukrze dostępnym w sklepach znajduje się *Alcaligenes eutrophus*, *Alcaligenes faecalis*, *Leuconostoc mesenteroides*. Wśród pleśni wyizolowano *Aspergillus niger*, *Culvularia lunata*, *Cladosporium cladosporioides*, a także pleśnie z rodzaju *Rhizopus* i *Penicillium*. Autorzy podają także, że do typowej mikroflory zanieczyszczającej cukier należą *Micrococcus*, *Leuconostoc*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Enterobacter*, *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Bacillus stearothermophilus*, *Clostridium thermosaccharolyticum*, *Clostridium nitrificans* [Vimala, Kalyanasundaram 1998].

Badania identyfikacyjne wykazały, że dominującymi bakteriami mezofilnymi występującymi w cukrze białym z buraków cukrowych są ziarniaki (63%), pałeczki stanowiły 37% populacji ww. mikroorganizmów. Wśród ziarniaków 90% to ziarniaki Gram+ wytwarzające katalazę. 91% pałeczek było Gram+. Na pożywce dla drobnoustrojów tworzących śluzę, 67% bakterii to były pałeczki, z których 75% stanowiły Gram+. Ziarniaki były Gram- i wytwarzały katalazę. Testy API wykazały obecność: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus lentus*, *Micrococcus* spp., *Rhodotorulla mucilaginosus* 2,

*Rhodotorula minuta*, *Pseudomonas luteola*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus hominis*, *Paenibacillus lautus*, *Bacillus firmus*, *Leuconostoc* spp., *Gemella haemolysans*, *Streptococcus equinus*, *Lactobacillus* spp. albo *Streptococcus mitis* 1, *Cryptococcus albidus*, *Candida glabrata*, *Aerococcus viridans* 2.

Kunicka-Styczyńska i Żakowska [2008] podają, że bakterie mezofilne występujące w cukrze z buraków cukrowych możemy podzielić na bakterie mlekowe oraz bakterie tlenowe przetrwalnikujące. Bakterie mlekowe reprezentuje głównie *Leuconostoc* sp., a wśród bakterii tlenowych przetrwalnikujących można odnaleźć *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus polimyxa* oraz inne gatunki z rodzaju *Bacillus*. Do bakterii termofilnych przetrwalnikujących tlenowych i względnie tlenowych należą *Geobacillus stearothermophilus*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, do bakterii termofilnych beztlenowych: *Clostridium sporogenes*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium butyricum*, a także *Clostridium nitrificans*. Wśród grzybów najważniejszą grupę stanowią drożdże osmotolerancyjne, z gatunkami: *Saccharomyces cerevisiae* *Kluyveromyces fragilis*, *Candida* sp. oraz *Rhodotorula* sp. Pleśniami najbardziej charakterystycznymi dla cukru są *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., a także *Cladosporium* sp. Januszewicz podaje [1972], że w naszym klimacie spośród mikroorganizmów wykrywanych w cukrze największe niebezpieczeństwo stanowią *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus*, a z bakterii beztlenowych *Clostridium perfringens*, *Clostridium sporogenes*, *Clostridium putrificum* i *Clostridium butyricum*. Jako przedstawiciel bakterii termofilnych tlenowych tzw. „płasko-kwaśnych” podawany jest także *Bacillus coagulans* oraz *Bacillus pumilus*, wśród bakterii termofilnych względnie tlenowych można również znaleźć *Bacillus polimyxa* oraz *Bacillus asterosporus* [Żakowska i in. 2000].

### *Melas*

W badanych próbkach melasu nie wykryto obecności bakterii chorobotwórczych. Dominującą grupą drobnoustrojów były bakterie mezofilne. Liczba drobnoustrojów w pozostałych grupach była zbliżona. W tabeli 2. przedstawiono wyniki analiz mikrobiologicznych próbek melasu.

**Tabela 2.** Liczba drobnoustrojów w próbkach melasu

*Total counts of micro-organisms in the molasses samples*

| Bakterie mezofilne                            | Pleśnie | Drożdże | Bakterie tworzące śluzę    | Przetrwalniki bakterii mezofilnych | Bakterie termofilne tlenowe ogółem |
|---|---------|---------|----------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| Liczba drobnoustrojów jtk w 1 g (min. – max.) |         |         |                            |                                    |                                    |
| 65–3x10 <sup>3</sup>                          | < 10–20 | < 10–75 | < 10 - 1,3x10 <sup>2</sup> | 45–4,8x10 <sup>2</sup>             | 15–3,5x10 <sup>2</sup>             |

Grupę drobnoustrojów mezofilnych w melasie w 73% reprezentowały pałeczki, w większości Gram+. Tylko nieliczne pałeczki były Gram-. 27% bakterii to ziarniaki głównie Gram+ i katalazododatnie. Na pożywce dla bakterii tworzących śluzę wyrosły przede wszystkim (91%) pałeczki Gram+ wytwarzające katalazę. Za pomocą testów API zidentyfikowano następujące drobnoustroje: *Micrococcus* spp., *Candida lusitanae*, *Rhodotorula mucilaginosa* 2 i 1, *Bacillus subtilis/amyloliquefaciens*, *Candida magnolia*, *Bacillus pumilus*, *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus sciuri* i *Aneurinibacillus aneurinilyticus*.

Todorow i Dicks [2005, 2008] podają, że ogólna liczba drobnoustrojów w 1 g melasu waha się w granicach 10<sup>3</sup>–10<sup>5</sup> jtk. Obecność w melasie tlenowych bakterii przetrwalnikujących *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* oraz *Bacillus coagulans* jest niekorzystna ze względu na redukcję azotanów (V) do azotynów. Niepożądane jest także zanieczyszczenie melasu bakteriami z rodzaju *Leuconostoc*, *Proteus* sp., *Pseudomonas*, a także drożdżami dzikimi z rodzajów *Candida* i *Torulopsis*. Z melasu izolowano także *Lactobacillus plantarum*. Badania przeprowadzone przez zespół badaczy [Anu i in. 2013, Pillai i in. 2011] wykazały, że w melasie z cukrowni w Indiach występują *Pseudomonas putida*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* oraz *Micrococcus* sp. Wyizolowano także *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulopsis glabrata*, *Candida glabra* i *Candida albicans*, a z pleśni *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* oraz *Aspergillus terreus*, a także pleśnie z rodzajów *Penicillium*, *Fusarium* i *Rhizopus*. W melasie trzcinowym z cukrowni w Meksyku wykryto następujące drożdże: *Torulopsis delbrueckii*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Cryptococcus albidus* var. *Albidus*, *Saccharomyces cerevisiae* oraz *Schizosaccharomyces pombe* [Bonilla-Salinas i in. 2008]. Xing i in. [2005] z melasu wyizolowali *Clostridium leptum*. Wśród termotolerancyjnych drożdży wyizolowanych z melasu w cukrowni Queensland (Australia) przerabiającej trzcinę cukrową znalazły się

*Kluyveromyces marxianus* var. *Marxianus*, *Hansenula polymorpha*, *Geotrichum capitatum*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida* spp. oraz *Debaromyces* spp. [Anderson i in. 1988]. Z melasu trzcinowego izolowano także bakterie kwasu mlekowego, termofilne kwasolubne bakterie z rodzaju *Bacillus* oraz *Lactobacillus plantarum*. W melasie pochodzącym z cukrowni Kom Ombo (Egipt) wyizolowano *Bacillus subtilis* KO [Younis i in. 2010].

#### Wysłodki plantatorskie oraz wysłodki suszone

W tabelach 3. i 4. przedstawiono wyniki analiz mikrobiologicznych wysłódków plantatorskich i suszonych.

**Tabela 3.** Liczba drobnoustrojów w próbkach wysłódków plantatorskich

*Total counts of micro-organisms in pressed sugar beet pulp samples*

| Bakterie mezofilne                            | Pleśnie                      | Drożdże                      | Bakterie tworzące śluzę      | Przetrwalniki bakterii mezofilnych | Bakterie termofilne tlenowe ogółem |
|---|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| Liczba drobnoustrojów jtk w 1 g (min. – max.) |                              |                              |                              |                                    |                                    |
| 1,7x10 <sup>5</sup> –<br>6,4x10 <sup>8</sup>  | < 10–<br>8,2x10 <sup>2</sup> | < 10–<br>3,4x10 <sup>6</sup> | < 10–<br>1,4x10 <sup>4</sup> | < 10–40                            | < 10–<br>2,0x10 <sup>2</sup>       |

W próbkach wysłódków plantatorskich nie wykryto obecności bakterii chorobotwórczych.

Morfologicznie wszystkie bakterie mezofilne obecne w wysłódkach plantatorskich były ziarniakami, w 67% Gram+, wytwarzającymi katalazę. Wśród bakterii mezofilnych termoopornych pałeczki Gram+ wytwarzające katalazę stanowiły 67%. Drobnoustrojami tworzącymi śluzę były ziarniaki Gram+ (67%), z czego 50% było katalazododatnich. Testy API wykazały obecność: *Kocuria kristinae*, *Bacillus non reactive*, *Aneurinibacillus aneurinilyticus*, *Aerococcus viridans* 1, *Candida famata*, *Candida kefyri*, *Cryptococcus humicola*, *Bacillus megaterium*, *Enterococcus avium*, *Rhodotorula mucilaginosa* 2, *Rhodotorula mucilaginosa* 1, *Acinetobacter baumannii/calcoaceticus* i *Cryptococcus laurentii*.

Poziom mikrobiologicznego zanieczyszczenia wysłódków suszonych był niski, dominowały bakterie mezofilne. Pleśnie i drożdże wystąpiły sporadycznie. W próbkach wysłódków suszonych nie stwierdzono obecności bakterii chorobotwórczych.

**Tabela 4.** Liczba drobnoustrojów w próbkach wysłodków suszonych

*Total counts of micro-organisms in dried sugar beet pulp samples*

| Bakterie mezofilne                            | Pleśnie | Drożdże | Bakterie tworzące śluzę | Przetrwalniki bakterii mezofilnych | Bakterie termofilne tlenowe |
|---|---------|---------|-------------------------|------------------------------------|-----------------------------|
| Liczba drobnoustrojów jtk w 1 g (min. – max.) |         |         |                         |                                    |                             |
| 1,4x10 <sup>2</sup> –3,5x10 <sup>3</sup>      | ≤ 10    | < 10    | < 10                    | 15–1,3x10 <sup>2</sup>             | 5–1,0x10 <sup>2</sup>       |

Bakterie mezofilne obecne w próbkach wysłodków suszonych miały kształt pałeczek, wszystkie wytwarzały katalazę i 90% spośród nich zawierało aminopeptydazę (Gram+). Wszystkie bakterie termooporne były także pałeczkami Gram+ wytwarzającymi katalazę. W wysłodkach suszonych stwierdzono również obecność bakterii wytwarzających śluz. Bakterie te należały do pałeczek katalazo-dodatnich i w 86% były Gram+. Wyniki testów API były następujące: *Bacillus subtilis/amyloliquefaciens*, *Geobacillus stearothermophilus*, *Bacillus lentus*, *Bacillus megaterium*, *Aneurinibacillus aneurinilyticus*.

#### WNIOSKI

Analizy mikrobiologiczne wykazały niskie zanieczyszczenie cukru białego, melasu i wysłodków suszonych drobnoustrojami mezofilnymi i termofilnymi. Próbkę wysłodków plantatorskich były silnie zanieczyszczone bakteriami mezofilnymi i drożdżami.

Przeprowadzona identyfikacja drobnoustrojów występujących w cukrze z buraków cukrowych i trzciny cukrowej, melasie oraz wysłodkach plantatorskich i suszonych nie wykazała obecności drobnoustrojów niebezpiecznych dla zdrowia konsumenta. Zidentyfikowane drobnoustroje w większości przypadków to występujące w środowisku naturalnym saprofity. Niektóre z wykrytych gatunków mogą wywoływać oportunistyczne zakażenia u ludzi.

Wśród drobnoustrojów występujących w badanych produktach dominowały pałeczki Gram+.

Najczęściej wykrywanymi drobnoustrojami były: *Aerococcus viridans*, *Aneurinibacillus aneurinilyticus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus* sp. i *Rhodotorula mucilaginosa*.

Mikroflorę mezofilną reprezentowały: *Kocuria varians/rosae*, *Aerococcus viridans*, *Bacillus subtilis*, *Leuconostoc* sp., *Bacillus megaterium*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus lentus*, *Micrococcus* sp., *Pseudomonas luteola*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus xylosus*, *Gemella haemolysans*, *Streptococcus equinus*, *Bacillus pumilus*,

*Staphylococcus sciuri*, *Kocuria krystinae*, *Enterococcus avium*, *Bacillus lentus*, *Rhodotorula mucilaginosa*.

Mikroflorę termofilną reprezentowały: *Brevibacillus non reactive*, *Paenibacillus lautus*, *Bacillus firmus*, *Aerococcus viridans*, *Bacillus subtilis*, *Geobacillus stearothermophilus*.

W badanych próbkach występowały następujące gatunki drożdży: *Rhodotorula mucilaginosa*, *Rhodotorula minuta*, *Cryptococcus albidus*, *Candida lusitanae*, *Candida magnolia*, *Candida famata*, *Candida kefir*, *Candida glabrata* *Cryptococcus humicola*, *Cryptococcus laurentii*.

Wśród drobnoustrojów tworzących śluzę zidentyfikowano: *Bacillus circulans*, *Paenibacillus lautus*, *Bacillus firmus*, *Aerococcus viridans*, *Bacillus subtilis*, *Geobacillus stearothermophilus*.

### PIŚMIENNICTWO

1. Anderson P. J., McNeil's K. E., Watson K. (1988). Isolation and Identification of Thermotolerant Yeasts from Australian Sugar Cane Mills. *J. General Microbiol.*, 134, 1691-1698
2. Anu H., Abarna J., Devi A., Bharani M., Bharathi V., Karpagam T. (2013). Studies on decolourisation of molasses waste by various microorganisms. *Intern. J. Pharmaceutical Res. Develop.*, 5 (5), 1-13
3. Ashok K., Varun B., Shikha V., Gaurav S., Sushil K. (2011). Isolation and Characterization of Microorganisms Responsible for Different Types of Food Spoilages. *Intern. J. Res. Pure Applied Microbiol.*; 1 (2), 22-30
4. Bonilla-Salinas M., Lappe P., Ulloa M., Garcia-Garibay M., Gómez-Ruiz L. (2008). Isolation and identification of killer yeasts from sugar cane molasses. *Lett. Applied Microbiol.*, 21 (2), 115-116
5. Chen C. P., Chung Chi Chou (1988). Microbiological control in sugar manufacturing and refining. W: *Cane Sugar Handbook: A Manual for Cane Sugar Manufacturers and Their Chemists*, 650-651
6. Chittrepol S., Boonyaratanakornkit M., Sriro K. (2008). Enumeration and identification of microorganisms in plantation white sugar from factories in Thailand. *Kasetsart J. Nat. Sci.*, 42, 321-327
7. Januszewicz I. (1972). Gotowy produkt – cukier. Mikroorganizmy występujące w cukrze. W: Januszewicz I. *Mikrobiologia w przemyśle cukrowniczym*. WNT: Warszawa, 135-147
8. Kowalska M. (2006). Jakość mikrobiologiczna cukru wyprodukowanego podczas

- kampanii 2005. *Gazeta Cukrownicza*, 9, 272-274
9. Kowalska M. (2007). Jakość mikrobiologiczna cukru wyprodukowanego w czasie kampanii 2006. *Gazeta Cukrownicza*, 9, 296-297
  10. Kowalska M. (2009). Systemy zapewniania bezpieczeństwa żywności, a jakość mikrobiologiczna cukru i stan sanitarny cukrowni. *Gazeta Cukrownicza*, 10, 253-255
  11. Kowalska M. (2010). Stan sanitarny cukrowni i mikrobiologiczna jakość cukru wyprodukowanego podczas kampanii 2009/2010. *Gazeta Cukrownicza*, 6, 158-159
  12. Kowalska M., Kacprzak E. (2011). Mikrobiologiczna jakość cukru białego. *Gazeta Cukrownicza*, 5, 158-159
  13. Kowalska M., Małczak E. (2013). Badania mikrobiologiczne cukru w kontekście jego wykorzystania w różnych branżach przemysłu spożywczego. *Gazeta Cukrownicza*, 4, 153-157
  14. Kunicka-Styczyńska A., Żakowska Z. (2008). Ocena mikrobiologiczna cukru białego na przestrzeni ostatnich trzech lat 2005-2007 z zastosowaniem nowoczesnych metod analitycznych, [www.stc.pl/dhttp.php?co=zakowska\\_2008\\_06\\_24.pdf](http://www.stc.pl/dhttp.php?co=zakowska_2008_06_24.pdf)
  15. Metoda ICUMSA GS2/3-41(2011): Oznaczanie ogólnej liczby bakterii mezofilnych w produktach cukrowniczych wysokiej czystości metodą płytkową lub metodą filtracji membranowej – oficjalna
  16. Metoda ICUMSA GS2/3-47(1998): Oznaczanie drożdży i pleśni w produktach cukrowniczych wysokiej czystości metodą płytkową lub metodą filtracji membranowej – oficjalna
  17. Metoda ICUMSA GS2/3-45(2002): Oznaczanie bakterii tworzących śluzę w produktach cukrowniczych wysokiej czystości metodą płytkową lub metodą filtracji membranowej – oficjalna
  18. Pillai J. S., Danesh N., Puttaiah E. T, Girish. K. (2011). Microbial diversity in solid waste molasses of Sugar Industry, Aranthangi, Tamilnadu. *I. J. Environ. Sci.*, 2 (2), 723-730
  19. PN-ISO 21527-1(2009) Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda oznaczania liczby drożdży i pleśni – Część 1: Metoda liczenia kolonii w produktach o aktywności wody wyższej niż 0,95
  20. PN-EN ISO 4833(2004) – Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów – Metoda płytkowa w temperaturze 30 stopni
  21. PN-A-74855-12(1991) – Cukier – Metody badań – Badania mikrobiologiczne
  22. PN ISO 15213(2005) Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda oznaczania liczby bakterii redukujących siarczan(IV) rosnących w warunkach beztlenowych

23. PN-EN ISO 6579(2003)/A1:2007 – Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda wykrywania *Salmonella* spp.
24. PN-ISO 21528-2(2005) – Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda wykrywania i oznaczania liczby *Enterobacteriaceae* – Część 2: Metoda płytkowa
25. PN-ISO 4832(2007) – Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda oznaczania liczby bakterii z grupy coli – Metoda płytkowa
26. PN-ISO 4831(2007) – Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda wykrywania i oznaczania liczby bakterii z grupy coli – Metoda najbardziej prawdopodobnej liczby
27. PN-ISO 16649-2(2004) – Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda oznaczania liczby beta-glukuronidazo-dodatnich *Escherichia coli* – Część 2: Metoda płytkowa w temperaturze 44 stopni C z zastosowaniem 5-bromo-4-chloro-3-indolilo beta-D-glukuronidu
28. PN-ISO 7251(2006) – Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda wykrywania obecności i oznaczania liczby przypuszczalnych *Escherichia coli* – Metoda najbardziej prawdopodobnej liczby
29. PN-EN ISO 6888-2(2001)/A1:2004 – Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda oznaczania liczby gronkowców koagulazo-dodatnich (*Staphylococcus aureus* i innych gatunków) – Część 2: Metoda z zastosowaniem pożywki agarowej z plazmą króliczą i fibrynogenem
30. PN-EN ISO 7937(2005) – Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda oznaczania liczby *Clostridium perfringens* – Metoda liczenia kolonii
31. PN-EN ISO 11290-2:2000/A1(2005) – Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda wykrywania obecności i oznaczania liczby *Listeria monocytogenes* – Metoda oznaczania liczby
32. Senses-Ergul S., Ozbas Z. Y. (2006). Characterization of the yeast flora present in some Turkish high-sugar products. J. Gen. Appl. Microbiol., 52, 99-106
33. Todorow S. D., Dicks L. M. T (2005). *Lactobacillus plantarum* isolated from molasses produces bacteriocins active against Gram-negative bacteria. Enzyme and Microbial Technology, 36 (2–3), 318-326
34. Todorow S. D., Dicks L. M. T. (2008). Evaluation of lactic acid bacteria from kefir, molasses and olive brine as possible probiotics based on physiological properties. Annals of Microbiology, 58 (4), 661-667
35. Vimala P., Kalyanasundaram I. (1998). Microbiological quality of sugar – a preliminary

- study. *Journal of Food Science And Technology*, 35 (5), 438-440, [www.aseanfood.info/articles/11006669.pdf](http://www.aseanfood.info/articles/11006669.pdf)
36. Xing D., Ren N., Li Q., Lin M., Wang A., Zhao L. (2005). *Ethanoligenens harbinense* gen. nov., sp. nov., isolated from molasses wastewater. *I. J. Syst. Evolut. Microbiol.*, 56, 755-760
37. Younis M. A. M., Hezayen F. F, Nour-Eldein M. A., Shabeb M. S. A. (2010). Optimization of cultivation medium and growth condition for *Bacillus subtilis* KO strain isolated from sugar cane molasses. *American Eurasian J. Agric. Environ. Sci.*, 7 (1), 31-37
38. Żakowska Z., Piątkiewicz A., Oberman H. (2000): Mikroflora surowców dodatkowych. W: Żakowska Z., Stobińska H. *Mikrobiologia i higiena w przemyśle spożywczym*. Łódź: Wydawnictwo PŁ, 244-245