

DIN 10124

ICS 07.100.30

**ATP-Messung –
Grundlagen zur Erfassung des Hygienestatus mittels Biolumineszenz**

ATP measuring –

Fundamentals for the measuring of the hygienic status with bioluminescence-method

Mesurage ATP –

Fondements à l'enregistrement du statut d'hygiene par bioluminescence

Gesamtumfang 20 Seiten

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN

Inhalt

	Seite
Vorwort	3
1 Anwendungsbereich	4
2 Normative Verweisungen	4
3 Begriffe	4
4 Kurzbeschreibung	6
5 Chemikalien und Reagenzien	6
6 Geräte	8
7 Durchführung	8
8 Kalibration und Qualitätskontrolle	11
9 Untersuchungsbericht	12
Anhang A (informativ) Aufnahme einer Standardkurve, Berechnung der Präzisionsdaten und Prüfung der Linearität	13
Anhang B (informativ) Verfahren zur Prüfung auf Temperatureinflüsse	17
Anhang C (informativ) Verfahren zur Prüfung auf chemische beziehungsweise physikalische Wechselwirkungen	18
Literaturhinweise	20

Vorwort

Diese Norm wurde vom Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL), Arbeitsausschuss NA 057-01-06 AA „Mikrobiologische Lebensmitteluntersuchung einschließlich Schnellverfahren“, erarbeitet.

1 Anwendungsbereich

Diese Norm legt die Grundlagen zur Reinheitsüberwachung und zur Kontrolle des Reinigungserfolges durch Erfassung des mikrobiellen und somatischen Adenosintriphosphats (ATP) mit dem Luciferin-Luciferase-System (Biolumineszenz) im Bereich der Herstellung und Distribution von Lebensmitteln und Futtermitteln fest.

2 Normative Verweisungen

Das folgende zitierte Dokument ist für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

DIN 10113-1, *Bestimmung des Oberflächenkeimgehaltes auf Einrichtungs- und Bedarfsgegenständen im Lebensmittelbereich — Teil 1: Quantitatives Tupfverfahren*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1

Adenosintriphosphat

ATP

in allen Zellen niederer und höherer Lebewesen vorhandenes Stoffwechselfmolekül

3.2

Biolumineszenz

durch biologische Ursachen hervorgerufenen Lichtsignal

BEISPIEL Ein Beispiel sind Glühwürmchen.

3.3

Biomasse

Gesamtmasse des organischen Materials biologischen Ursprungs

3.4

Desinfektion

Verfahren zur Abtötung von Mikroorganismen auf ein Niveau, das weder gesundheitsschädlich ist noch die Qualität der Lebensmittel beeinträchtigt

3.5

extrazelluläres ATP

ATP außerhalb biologischer Zellen

3.6

Desinfektionsmittel

chemisches und physikalisches Mittel, das dazu beiträgt, eine Desinfektion zu erzielen

3.7

Gesamt-ATP

Summe aus intrazellulärem und extrazellulärem ATP

3.8

Inhibition

Abschwächung des Lichtsignals durch chemische oder physikalische Interferenz der Lumineszenzreaktion

3.9**interner Standard**

Vergleichsmenge ATP in einer Lumineszenzprobe zur Quantifizierung der ATP-Menge in der Probe

3.10**intrazelluläres ATP**

ATP in mikrobiellen und/oder somatischen Zellen

3.11**Linearität**

Grad der Konformität mit einer Regressionsgeraden zwischen der Menge an Biomasse oder ATP und der Stärke des Lichtsignals

3.12**Lumineszenzreagenz**

Enzymmischung, die aus Luciferin und Luciferase besteht und die in Verbindung mit ATP zur Biolumineszenz führt

3.13**Luminometer**

Gerät zur Messung von Licht

3.14**mikrobielles ATP**

ATP von Mikroorganismen

3.15**Mikroorganismen**

einzelige prokaryotische und eukaryotische Organismen wie Bakterien, Hefen und Schimmelpilze

3.16**Reinigung**

Entfernung unerwünschter Substanzen von Räumen, Anlagen und Einrichtungen

ANMERKUNG Unerwünschte Substanzen sind zum Beispiel Lebensmittelreste, Beläge usw.

3.17**Reinigungsmittel**

chemische Verbindungen, die zur Reinigung verwendet werden

3.18**relative Lichteinheiten****RLE****RLU (en: Relative light units)**

Maßeinheit für die Lichtemission in Luminometern

3.19**somatisches ATP**

nicht mikrobielles ATP in somatischen Zellen

4 Kurzbeschreibung

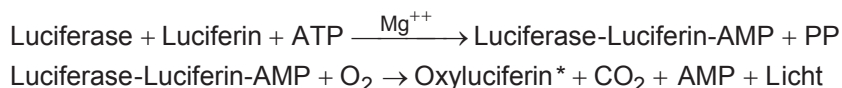
4.1 Allgemeines

In Bakterien, Hefen und Schimmelpilzen sowie in allen tierischen und pflanzlichen Materialien einschließlich Lebensmitteln und Lebensmittelresten ist Adenosintriphosphat (ATP) enthalten. Aus der ATP-Menge kann die Menge an Biomasse mit Hilfe der Luciferin-Luciferase-Reaktion geschätzt werden.

4.2 Erfassung des Gesamt-ATP-Gehaltes

Eine Oberfläche wird mit einem Tupfer oder durch Sammlung einer Waschwasserprobe beprobt. Die ATP-Menge in der Probe spiegelt die Menge an ATP bzw. der Biomasse auf der Oberfläche wider.

Die ATP-Menge in der Probe wird mit dem Luciferin-Luciferase-Enzymkomplex der Glühwürmchen bestimmt, siehe nachfolgende Reaktionen. Das Reaktionsprodukt ist Licht, das mit einem Luminometer gemessen wird. Die bei der Enzymreaktion entstehende Lichtmenge ist proportional zur ATP-Menge in der Probe.



* *instabiler angeregter Zustand*

Die Messdaten werden in relativen Lichteinheiten (RLE) ausgedrückt. Der RLE-Wert einer Probe ist daher ein Maß für die Reinheit der beprobten Oberfläche.

4.3 Erfassung des mikrobiellen ATP-Gehaltes

Für die alleinige Erfassung des ATP aus Mikroorganismen wird zuvor durch geeignete Verfahren das somatische ATP beseitigt.

Zur Beseitigung des somatischen ATP wird das in dem jeweiligen Test-Kit hierfür vorgesehene Reagenz verwendet.

ANMERKUNG Es können vom Hersteller zur Verfügung gestellte Reagenziensätze verwendet werden.

5 Chemikalien und Reagenzien

5.1 Allgemeines

Falls nicht anders angegeben, sind analysenreine Chemikalien und Reagenzien zu verwenden.

5.2 Wasser

Alle Reagenzien und Verdünnungen müssen mit ATP-freiem Wasser zubereitet werden.

ANMERKUNG 1 Adenosintriphosphat ist eine sehr stabile Verbindung, die durch Autoklavieren nicht entfernt werden kann. Lokale Wasserreinigungssysteme (Umkehrosmose oder Ionenaustausch) neigen zu biologischer Kontamination und sind keine sichere Quelle ATP-freien Wassers.

ANMERKUNG 2 Frisches zweifach in Glasapparaturen destilliertes Wasser kann als ATP-frei angesehen werden, sofern die Auffangbehälter ATP-frei sind. Alternativ wird die Verwendung von Wasser pharmazeutischer Qualität wie pyrogen-freies Wasser für Injektionszwecke empfohlen.