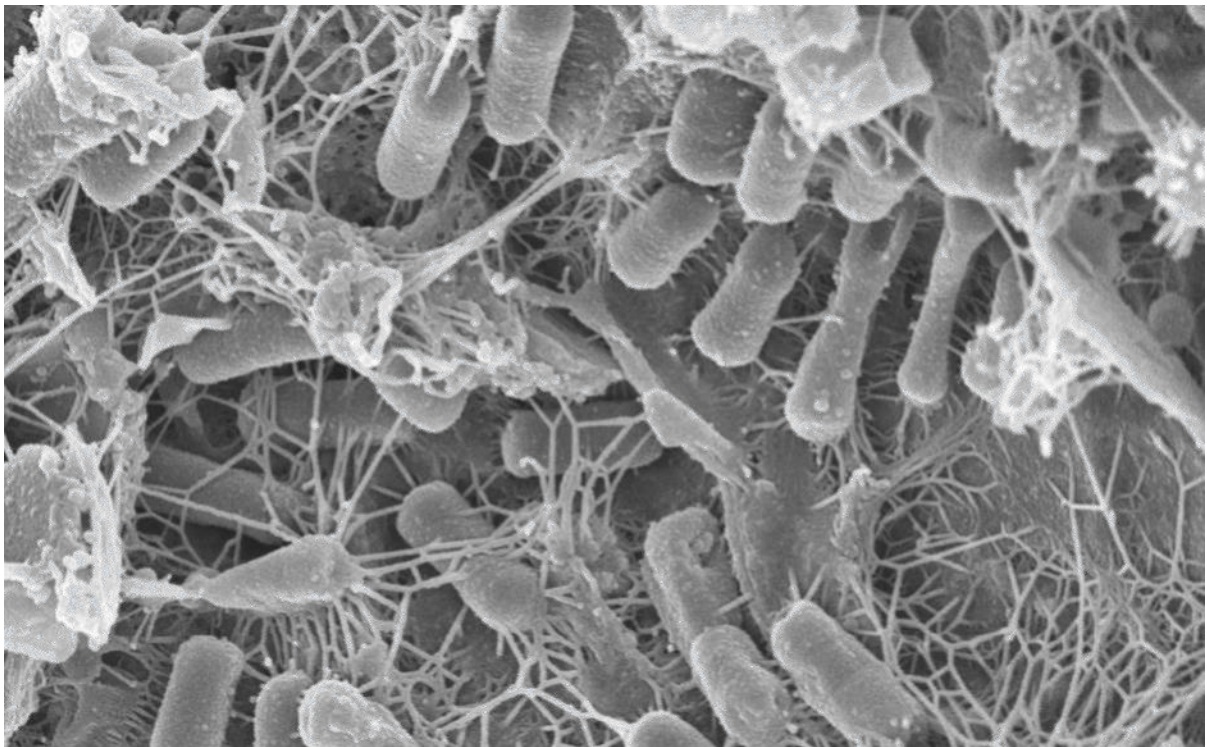




UNIVERSITAT
ROVIRA I VIRGILI

DETECCIÓ I ELIMINACIÓ DE POSSIBLES FOCUS DE CONTAMINACIÓ MICROBIOLÒGICA D'UN PRODUCTE COSMÈTIC



Treball de final de grau

Dirigit per: Rosa Maria Solé Cartaña

Autora: Aina Fort Morro

Data: 07/06/2019

Agraïments

Moltes gràcies a l'empresa Roval Cosmética per donar-me l'oportunitat de realitzar el treball a la seva empresa.

A la meva tutora l'Àngels per introduir-me i guiar-me en el món de la microbiologia.

A la Carol per proporcionar-me tota l'ajuda i informació necessària per realitzar la part experimental.

Als companys del laboratori : Alfredo, Joan Carles, Marta i Yoli pel vostre suport moral i per compartir els vostres coneixements amb mi.

Al Xavi i a l'Antonio per ajudar-me a entendre el funcionament del circuit d'aigua.

A la Raquel per la seva experiència i informació dels proveïdors.

Finalment, a la meva tutora acadèmica, la Rosa Maria pels seus consells

1 ÍNDEX

2	Resum.....	6
3	Abstract.....	6
4	Objectiu.....	6
5	Introducció.....	7
5.1	UNE-EN-ISO 22716:2008 (BPF).....	7
5.1.1	Instal·lacions.....	7
5.1.2	Ventilació.....	7
5.1.3	Equips.....	8
5.1.4	Higienització.....	8
5.1.5	Matèries primeres: l'aigua.....	9
5.2	Biofilms.....	11
5.2.1	Que els causa.....	11
5.2.2	Problemàtica.....	11
5.2.3	Detecció.....	12
5.2.4	Eliminació.....	12
5.3	Característiques del circuit de neteja.....	12
6	Part experimental.....	14
6.1	Preparació de medis de cultiu TSA.....	15
6.1.1	Composició del TSA(g/l):.....	15
6.1.2	Preparació:.....	15
6.2	Control de superfícies amb laminocultius per bacteris aerobis mesòfils.....	15
6.2.1	Punts de mostreig.....	15
6.2.2	Material i equipament:.....	15
6.2.3	Procediment.....	15
6.3	Control de superfícies amb laminocultius per bacteris aerobis mesòfils i enterobacteris.....	16
6.3.1	Procediment.....	16
6.3.2	Superfície boca auxiliar dels mescladors DM30, DM31 i DM33.....	16
6.4	Control d'entorn o ambiental.....	18
6.4.1	Punts de mostreig.....	18
6.4.2	Equipament:.....	18
6.4.3	Material, Medis i reactius:.....	18
6.5	Anàlisi microbiològica d'aigües mitjançant filtració.....	19
6.5.1	Mostreig.....	19
6.5.2	Equipament.....	20

6.5.3	Medis i reactius:	21
6.5.4	Procediment	21
6.6	Reunions i tria de procediments per la desinfecció	22
6.7	Necessitat de neteja i desinfecció	22
6.7.1	-Mètodes proposats	23
6.7.2	Mètodes adaptats a les necessitats de l'empresa	24
7	Resultats i discussió	30
7.1	Control de superfícies amb laminocultius per bacteris aerobis mesòfils	30
7.2	Control de superfícies amb laminocultius per bacteris aerobis mesòfils i enterobacteris 33	
7.2.1	Superfície punt mort del mesclador	34
7.3	Control ambiental	36
7.4	Anàlisi microbiològica d'aigües mitjançant filtració	40
7.5	Conductivitat respecte la concentració del desinfectant mip sca	41
7.6	Resultat de les tires reactives d'àcid peracètic	42
7.7	Procediment resultant	43
8	Conclusions	44
9	conclusions.....	45
10	Bibliografia	46
11	ANNEXOS.....	47
11.1	ANNEX 1: PLÀNOL I ZONES DE L'EMPRESA.....	47
11.1.1	Plànol general de les zones.....	47
11.1.2	ZONA C i D.....	47
11.1.3	ZONA DE PRODUCCIÓ I ENVASAT (G).....	48
11.1.4	ZONA DE LABORATORI I FABRACIÓ	48
11.2	ANNEX 2: Punts de mostreig de l'aigua de l'anell de recirculació: P1 i P2.....	49

2 RESUM

Aquest treball tracta de l'estudi microbiològic de diferents zones d'una planta de fabricació de productes cosmètics. S'han fet servir diferents mètodes com el control ambiental per sedimentació, el control de superfícies per contacte i la filtració d'aigües.

També s'ha dut a terme una investigació de diferents mètodes i productes per dur a terme la higienització del dipòsit principal d'aigua osmotitzada i el seu anell de distribució i recirculació.

Finalment, s'ha fet una proposta d'una higienització amb la capacitat de desinfectar en superfícies sense acció mecànica degut a la hipòtesi de la possible existència de biofilms a la superfície interior del circuit d'aigua. Aquesta hipòtesi no ha pogut ser demostrada degut a que no hi ha mètodes concloents per aquest tipus de contaminació microbiològica en sistemes tancats.

3 ABSTRACT

This project is about microbiological study from different areas of a manufacturing plant for cosmetic products. We used different methods, such as environmental control for sedimentation, surface contact control and water filtration.

An investigation of different methods and products has also been carried out to do the sanitization of the osmotitized water tank and its distribution and recirculation ring.

Finally, a sanitation proposal has been made with the ability to disinfect in surfaces without mechanical action due to the hypothesis of the possible existence of biofilms on the inner surface of the water circuit. This hypothesis could not be demonstrated because there are no conclusive methods for this type of microbiological contamination in closed systems.

4 OBJECTIU

- Trobar un mètode efectiu per la detecció i l'eliminació de biofilms en diverses condicions i superfícies de la zona d'envasat i fabricació de l'empresa.
- Millorar els processos de neteja, desinfecció i detecció d'una possible infecció microbiològica.

5 INTRODUCCIÓ

Aquest treball estarà enfocat a la neteja i desinfecció del dipòsit i sistema de distribució d'aigua purificada de l'empresa Roval Cosmética.

S'agafaran diverses mostres de tota la planta de fabricació amb diferents mètodes per determinar la possible procedència d'una possible contaminació del producte.

Es buscarà un mètode d'eliminació de microorganismes i biofilms en un circuit tancat amb aigua osmotitzada, ja que el producte que es feia servir en el mètode anterior ha estat discontinuat pel proveïdor.

Els biofilms són colònies de microorganismes adherits a les superfícies de treball en sistemes aquosos. Més endavant veurem la seva composició i comportament.

Per contextualitzar el treball, primer hem de saber que es considera un producte cosmètic. Segons el Reglament 1223/2009⁽¹⁾ un producte cosmètic és aquella substància o mescla destinada a posar-se en contacte amb les parts superficial del cos humà o amb les dents i les mucoses bucals, amb l'objectiu exclusiu o principal de netejar-los, perfumar-los, modificar el seu aspecte, protegir-los, mantenir-los en bon estat o corregir olors corporals.

En l'article 8 d'aquesta llei per a que els cosmètics siguin comercialitzats han d'adquirir un elevat nivell de protecció per la salut humana. Això vol dir que en primer lloc hem de treballar de manera adequada per garantir que el producte sigui segur per el consum humà, i en segon lloc hem de portar un control dels microorganismes que pugui contenir el producte per tal de complir les bones pràctiques de fabricació (BPF), i per això l'empresa s'haurà d'ajustar a les normes pertinentment harmonitzades publicades al *Diari oficial de la Unió Europea*.

La norma que ens garanteix complir les BPF és la norma UNE-EN-ISO 22716:2008 que s'explicarà a continuació.

5.1 UNE-EN-ISO 22716:2008 (BPF)

La norma ISO 22716⁽²⁾ que va ser adoptada pel CEN (Comitè Europeu de Normalització) i traduïda al castellà com UNE-EN ISO 22716:2008. Aquesta norma ens proporciona directrius sobre la producció, el control, l'emmagatzematge i l'expedició del producte.

En concret dels àmbits relacionats amb el personal, les instal·lacions, els equips, les matèries primeres (fonamental l'aigua), la producció, el producte acabat, el laboratori de qualitat, el tractament dels productes fora d'especificacions, els residus, les activitats subcontractades, les desviacions, les reclamacions i les retirades de producte, el control de canvis i la documentació. A continuació s'explicarà resumidament els apartats més rellevants per el desenvolupament del treball en concret i el més important l'apartat de la higienització.

5.1.1 Instal·lacions

Per començar hem de tenir en compte les instal·lacions. Les superfícies han de ser inerts, llises i que siguin resistents a la neteja i a la desinfecció. El terra ha de ser resistent per aguantar el pes de la maquinaria i hi ha d'haver suficients desaigües amb les dimensions adequades per la correcta evacuació de residus líquids. Les parets també han de ser resistents i compatibles amb els agents d'higienització per tal de facilitar la presència de microorganismes.

5.1.2 Ventilació

La ventilació ha de ser la suficient per evitar les condensacions d'aigua, la calor excessiva i l'acumulació de males olors. Per tant, les zones de producció hi hauria d'haver una pressió positiva per a que es mantingui net.

D'altra banda, s'hauria d'evitar tenir ventilacions directament connectades amb l'exterior, com podrien ser les finestres obertes, ja que hi hauria la possibilitat de contaminació per espores fúngiques.

5.1.3 Equips

El equip han de ser els adequats per realitzar correctament la seva funció i per poder ser netejats i desinfectats.

5.1.4 Higienització

La higienització és un procés que està constituït per dos processos consecutius: el de neteja i el de desinfecció.

5.1.4.1 Neteja

La neteja consisteix en l'eliminació de la brutícia mitjançant la combinació de l'acció mecànica i química, la temperatura i el temps. Perquè la neteja sigui efectiva s'ha de conèixer quin tipus de residu hem de tractar, fer servir un producte de neteja que no alteri la superfície que netegem i per últim que no sigui un vector de transferència de contaminació química ni microbiològica.

Tot i que la majoria de detergents que es fan servir són aniònics (sabons) també n'hi ha de catiònics, no iònics i amfòters.

En circuits tancats com a mètode físic⁽⁷⁾ podem augmentar la velocitat de flux per tal que generi una turbulència capaç d'arrancar part de la brutícia de la superfície (ens interessa pels biofilms).

5.1.4.2 Desinfecció

D'altra banda la desinfecció és la destrucció de microorganismes ja sigui per efectes químics o físics. Hem de saber que desinfectar no és eliminar per complet els microorganismes sinó que és reduir-los a nivells que es consideren segurs o insignificants. El millor desinfectant en el cas de la indústria cosmètica és l'aigua calenta a més de 70°C o el vapor d'aigua ja que no cal fer el pas de l'esbandit. Aquest procés moltes vegades no és possible ja sigui perquè el circuit no pot resistir altes temperatures i pressió com perquè no estigui adaptat per poder produir calor. Per això es fan servir els desinfectants químics o biocides.

Segons l'article 3 del "**Reglamento (UE) No 528/2012 del Parlamento Europeo y del Consejo de 22 de mayo de 2012 relativo a la comercialización y el uso de los biocidas.**"⁽⁸⁾ un biocida és aquell producte que tingui com a finalitat destruir, contrarestar o neutralitzar un organisme nociu per qualsevol medi que no sigui només l'acció física o mecànica.

A continuació veurem els diversos desinfectants que poden ser utilitzats i les seves capacitats i limitacions. Hem de saber que el desinfectant utilitzat ha de tenir un ampli espectre, ja que les instal·lacions poden tenir diversos tipus de microorganismes com bacteris, gram positius i negatius, llevats i espores. D'altra banda, hem de tenir en compte factors com el material amb el que tractem i l'exposició dels treballadors al producte.

5.1.4.2.1 Exemples de desinfectants^{(3),(11)}

En aquesta primera taula (Taula 1) podem veure diferents desinfectants que poden ser utilitzats per desinfectar i el seu camps d'actuació.

Taula 1: Desinfectants i el seu espectre d'actuació

Agents desinfectants	Efectius contra bacteris gram positius	Efectius contra bacteris gram negatius	Efectius contra llevats	Efectiu contra espores	Informació adicional
Aigua calenta/vapor	Sí	Sí	Sí	Poc efectiu	Pot condensar i crear humitat
Compostos de clor (hipoclorit de sodi)	Sí	Sí	Sí	Sí	Agent oxidant.
Compostos d'amoni quaternari	Sí	No	No	No	Interacciona amb els fosfolípids de la membrana cel·lular.
Bigudins (clorhexidina)	Sí	No	Sí	No	Trenquen la membrana citoplasmàtica
Agents fenòlics	Sí	No	Sí	No	Alta toxicitat i difícil degradació. Desnaturalització de les proteïnes
Peròxid d'hidrogen	Sí	Sí	Sí	En concentració >10%	Interacció amb alguns detergents
Àcid peracètic	Sí	Sí	Sí	Sí	Fort agent oxidant
Aldehids (formaldehid i glutaraldehid)	Sí	Sí	Sí	Sí	Agent alquilant
Alcohols	Sí	Sí	Si	No	Desinfectant de superfícies

Els formaldehids tot i ser bons agents desinfectants han estat declarats per l'OMS com agent cancerigen i això fa que no siguin bons candidats ja que si quedessin residus en els productes cosmètics després de la desinfecció seria altament nociu pel consumidor. Hi ha un altre tipus d'aldehids que s'utilitzen com el glutaral (glutaraldehid) que té l'avantatge que és un desinfectant i un tensioactiu no iònic. Per tant, ens fa alhora de detergent i de desinfectant

Com podem observar a la taula (Taula 1) tot i que sembla que hi ha productes són efectius en un ampli espectre de microorganismes, la majoria de productes desinfectants juguen amb la sinergia dels productes, és a dir, que es fan desinfectants amb dos o més productes que sumats tenen un major poder desinfectant.

Tots els desinfectants per ser utilitzats a l'empresa han d'estar inscrits en el "**Reglamento (UE) No 528/2012 del Parlamento Europeo y del Consejo de 22 de mayo de 2012 relativo a la comercialización y el uso de los biocidas.**"⁽⁸⁾

5.1.5 Matèries primeres: l'aigua

L'aigua és la matèria primera més important en la cosmètica ja que és el ingredient més abundant en la majoria de les fórmules del productes. Segons l'article 6.8 de la UNE-EN ISO 22716 l'aigua ha de tenir una qualitat definida i aquesta qualitat s'ha de verificar mitjançant assaig o supervisió

dels paràmetres. Per això l'empresa Roval Cosmética va definir els paràmetres que podem veure en la següent taula (Taula 2).

Taula 2: Paràmetres de l'aigua purificada destinada a la fabricació establerts per Roval Cosmética

Paràmetre	Especificació
Microorganismes aerobis	≤100 UFC/100ml
Transparència	Sí
pH	5-7
Conductivitat	<4.3μS/cm a 20°C

Per controlar aquests paràmetres farem dos controls: un fisicoquímic i un microbiològic.

5.1.5.1 Control fisicoquímic

5.1.5.1.1 Mostreig

S'obre la vàlvula i es deixa corre una estona l'aigua, s'esbandeix tres vegades el recipient de vidre amb l'aigua del mostreig i finalment omplim el vas d'aigua. Es comprova si l'aigua és transparent.

5.1.5.1.2 Laboratori

Temperem la mostra al bany a 20°C i mesurem la conductivitat i el pH.

5.1.5.2 Control microbiològic

S'explicarà a la part experimental

5.1.5.3 Obtenció aigua purificada

Per obtenir aigua purificada hem de tractar l'aigua potable que ens arriba de la xarxa municipal.

Li hem de fer pretractaments, tractaments fisicoquímics i microbiològics.

El pretractament consisteix en la filtració de partícules, l'eliminació del clor i la descalcificació.

En el tractament fisicoquímic s'ha de fer o bé una osmosi inversa o bé un intercanvi iònic o bé una electrodesionització per tant d'eliminar ions de sals presents en l'aigua i així augmentar la seva puresa. En aquest cas en concret es purifica fins que la conductivitat és 4.3μS o inferior.

Una vegada purificada aquesta aigua té un grau elevat de sensibilització a la contaminació de microorganismes ja que no conté cap conservant ni desinfectant. Hem de fer algun tractament⁽⁵⁾ per tal que una vegada emmagatzemada no hi hagi proliferació microbiana. Tenim quatre mecanismes per tal d'evitar-ho.

En primer lloc la radiació ultravioleta que produeix danys en l'ADN dels microorganismes i que és oxidant de la matèria orgànica. Tot i les seves limitacions és un mètode eficaç, segur i econòmic.

També es pot fer una desinfecció amb ozó generat *in situ* a partir d'aigua i oxigen amb una descàrrega elèctrica constant d'alt voltatge. Per eliminar l'ozó abans de que l'aigua s'utilitzi per a la fabricació s'hauria d'afegir una làmpada de UV com a l'apartat anterior.

Es pot afegir un filtre de 0.22μm de mida de porus però és fàcil que es trenqui o es rebleixi.

Finalment podríem mantenir l'aigua entre 60-85°C però això és car de mantenir i comporta perillositat pels treballadors que manipulin l'aigua.

5.1.5.3.1 Recirculació⁽⁵⁾

És important mantenir l'aigua en constant moviment per tal que no sigui sensible a contaminacions microbianes, per això, hem de tenir unes instal·lacions amb el material adequat i construir un loop perquè una vegada l'aigua estigui al tanc d'emmagatzematge estigui en constant moviment.

Tot i així, pot haver-hi l'aparició de microorganismes i conseqüentment la creació de biofilms. Per això periòdicament s'ha de dur a terme una higienització.

5.2 BIOFILMS

Els biofilms⁽⁴⁾ o biopel·lícules són comunitats complexes de microorganismes (bacteris, fongs, algues...) que en medis aquosos es queden adherits en les superfícies recoberts o envoltats de polímers extracel·lulars.

5.2.1 Que els causa

En aquest cas degut a la dificultat de neteja ja que és un circuit tancat pot ser que hi hagi acumulació de biofilms en els llocs més susceptibles com juntes parets irregulars de les canonades.

Tot hi haver-hi una higienització regular és possible que aquestes colònies es vagin acumulant.

Les higienitzacions rutinàries eliminen la brutícia i els microorganismes planctònics però es poden anar acumulant als llocs susceptibles.

La formació⁽⁹⁾ és causada per la col·lisió a l'atzar d'una primera cèl·lula amb la superfície causant la seva adhesió i afavorint la interacció d'aquesta primera cèl·lula amb altres planctòniques que s'hi aniran unint.

Com podem veure en la següent imatge (Figura 1) tenim tres fases: la formació, el creixement i la dispersió que veurem en el següent apartat.

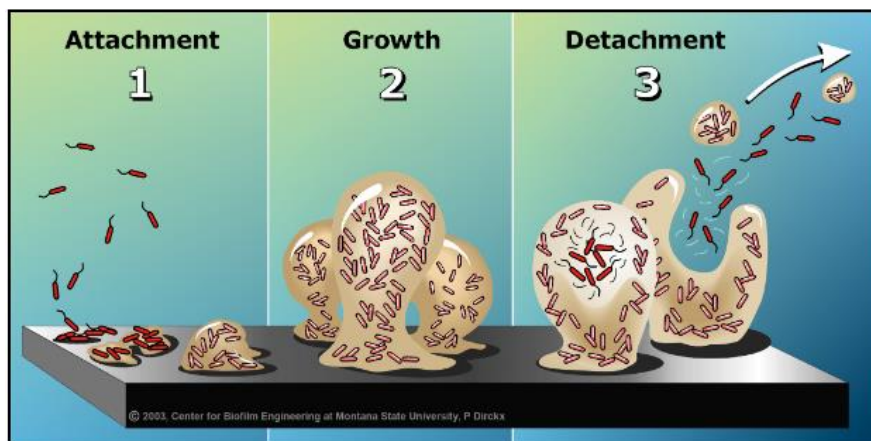


Figura 1: Evolució del desenvolupament del biofilm (Font: <http://www.biofilm.montana.edu/research-program/index.html>)

5.2.2 Problemàtica

Aquestes comunitats són força resistents principalment per dos factors. La penetració restringida del biocida i la disminució de la taxa de creixement.

La penetració restringida està causada per l'exopolímer (matriu de polisacàrids, proteïnes i àcids nucleics) creat al voltant de la comunitat. Aquesta matriu protegeix els microorganismes perquè dificulta l'efecte de dispersió evitant així que els biocides arribin als microorganismes.

En segon lloc ens trobem amb el problema de la disminució de la taxa de creixement que ens suposa un problema degut a que la majoria de antimicrobians són més eficients en l'eliminació dels microorganismes amb la taxa de creixement ràpid ja que actuen en el moment de la divisió cel·lular.

Un altre factor que dificulta la seva eliminació és que és un sistema heterogeni, és a dir, que tots aquells paràmetres que són objecte d'estudi com les característiques estructurals, químiques, elèctriques... són diferents a les cèl·lules planctòniques. Tot i semblar un sistema estàtic, és dinàmic degut a que es poden desprendre fragments d'aquestes biopel·lícules.

En la següent figura podem veure les diferents maneres de desprendiment dels biofilms.



Figura 2: Tipus de desprendiments dels biofilms (Font: <http://www.biofilm.montana.edu/research-program/index.html>)

Com podem observar en la Figura 2 poden alliberar-se fragments o dispersar-se cèl·lules individuals en cas que s'obrisin les parets del biofilm.

En el cas que es desprenguin fragments són difícils d'eliminar ja que continuen amb el mateix comportament dels biofilms adherits quedant de forma latent en el producte o en cas contrari hi pot haver una dispersió com a microorganismes que infecti les fórmules cosmètiques.

5.2.3 Detecció

En diverses empreses hi ha productes que tenyeixen la matriu del biofilm i fan que siguin visibles per l'ull humà cosa que facilita la seva eliminació. Només és efectiu en superfícies visibles.

5.2.4 Eliminació

Com hem vist a l'apartat anterior és difícil aquesta eliminació en sistemes tancats ja que al no poder tenir un sistema físic de neteja com el raspallat ens dificulta la desincrustació del biofilm.

Per aconseguir-ho podem establir un mètode que combini l'acció química i l'acció física⁽⁵⁾. Podem controlar el flux⁽⁷⁾ per tal que augmenti la turbulència com acció física i fer servir un agent químic com el glutaraldehid que com hem comentat és un tensioactiu no iònic i que ens ajudarà a desprendre les biopel·lícules. També es podria escalfar el líquid desinfectant o aigua calenta o fer servir vapor per tal de desnaturalitzar l'exopolímer del biofilm i fer possible la seva eliminació.

5.3 CARACTERÍSTIQUES DEL CIRCUIT DE NETEJA

Circuit compost d'un tanc d'aigua de 30 Tones de capacitat i un *loop* de recirculació i distribució.

El material de tot el circuit és acer inoxidable 316 que és resistent a la corrosió per àcids.

Com podem veure en la següent figura (Figura 3) hi ha un sistema de làmpades UV tant a l'entrada com a la sortida del tanc. És el mètode de desinfecció que manté l'aigua lliure de microorganismes. Aquestes torres són camises amb diverses làmpades UV connectades a un

software amb una pantalla que ens indica quantes hores han estat en funcionament. Per un òptim manteniment aquestes làmpades es canvien cada 9000 hores.

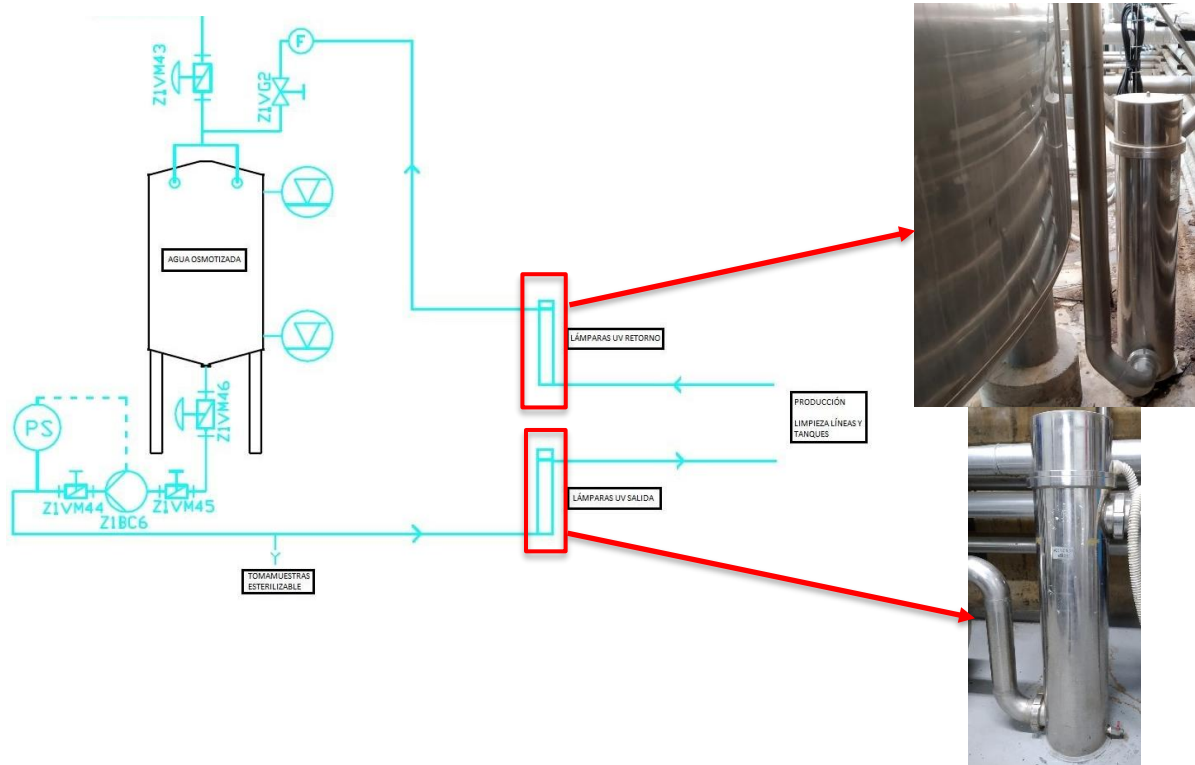


Figura 3: Disposició de les làmpades UV en el circuit d'aigua

Si la longitud d'ona, com en aquest cas és de 253,7 nm, és bactericida⁽¹⁰⁾.

El *loop* de recirculació és també l'encarregat de la distribució de l'aigua per tota la planta, ja sigui per a la fabricació com per a la neteja dels diferents llocs de la fàbrica que estan en contacte amb el producte.

6 PART EXPERIMENTAL

S'han fet diverses proves microbiològiques de la planta per saber quins poden ser els orígens d'una possible contaminació, tant de les matèries primeres com del producte final.

Tots els procediments experimentals s'han fet seguint els (PNT) procediments normalitzats de treball (PNT) de la documentació interna de l'empresa.

S'establiran diversos punts de mostreig per tota la planta. Tant ambiental com de superfícies com d'aigua. S'anirà a prendre mostra abillats amb un gorra, la bata i guants desinfectats per evitar la contaminació per contacte. S'evitarà manipular en excés el material que estigui desinfectat o esterilitzat.

Després es farà una avaluació de diferents mètodes plantejats per proveïdors per fer la desinfecció rutinària del sistema d'aigua osmotitzada

El laboratori de microbiologia disposa del següent equipament (Figura 4):

- Estufa d'incubació a 35°C (bacteris aerobis)
- Estufa d'incubació a 25°C (fongs i llevats)
- Autoclau per desinfectar medis i material.
- Nevera i congelador
- Campana d'extracció i treball amb llum UV i flux laminar.
- Agitador magnètic amb calefacció



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)

Figura 4: Equipament del laboratori: estufa d'incubació de bacteris aerobis(a), estufa d'incubació de fongs i llevats (b), autoclau (c), nevera i congelador (d), campana de flux laminar (e) i agitador magnètic (f).

6.1 PREPARACIÓ DE MEDIS DE CULTIU TSA

Aquest medi de cultiu és l'adequat segons la ISO 21149:2017⁽⁶⁾ per al recompte de bacteris aeròbics mesòfils.

6.1.1 Composició del TSA(g/l):

- Digerit de soja : 5 g
- Digerit pancreàtic de Caseïna: 15 g
- Clorur de sodi: 5 g
- Gelificant Agar: 15 g

6.1.2 Preparació:

Per preparar un 1 kg es necessita 40 g de TSA, 5 g de polisorbato, 1 g de lecitina d'ou i 954 g d'aigua osmotitzada.

En un got d'acer inoxidable que es pugui escalfar es pesen els tres ingredients i s'agiten amb un agitador magnètic fins a la completa dissolució.

Una vegada dissolt es tapa amb paper d'alumini i es deixa bullir entre 1 i 3 minuts.

Una vegada feta la mescla es posa en un flascó de vidre d'un litre es tanca i s'autoclava 15 minuts a 121°C.

S'extrau i es deixa refredar dintre de la campana amb la llum UV encesa fins que arribi a un 35-40°C.

Es plaqueja, tant en plaques de 90 mm Ø com de 55 mm Ø, dintre de la campana i es deixa solidificar. Finalment es guarden a la nevera fins a un màxim de 3 dies.

Aquestes plaques s'utilitzaran com a medi de cultiu en el control ambiental i en el mètode de filtració d'aigües que es veuran en els següents apartats

6.2 CONTROL DE SUPERFÍCIES AMB LAMINOCULTIUS PER BACTERIS AEROBIS MESÒFILS

En aquest apartat es podrà veure com es van fer els controls de superfícies seguint el PNT de control de superfícies i ambiental.

6.2.1 Punts de mostreig

Com podem observar en els plànols de l'ANNEX 1, l'empresa està dividida en diverses zones segons la seva funció dintre de la fabricació i logística.

En el cas del control de superfícies el mostreig es farà en diferents àrees de treball, mans del personal i utilitatge que estigui directament en contacte amb el producte.

Les zones més sensibles pel contacte directe de superfícies i personal amb matèries primeres, producte acabat i envasos, són les de presa de mostra i pre-pesat, que són les zones C2 i D segons el plànol; després la zona de fabricació i envasat del producte que són les zones I3 i G1. Per tant, en aquestes zones són en les que es realitzaran els controls de superfícies.

6.2.2 Material i equipament:

- Estufa d'incubació regulada a 35°C
- Laminocultius: PCA/PCA (plaques de cultiu d'agar) (superfície 12 cm²)

6.2.3 Procediment

Es van passar diferents laminocultius per superfícies que estan en contacte amb el producte i per les mans de diferents treballadors.

En total es van fer 19 mostres de tota la fàbrica (Figura 5).



Figura 5: Laminocultius totals PCA/PCA

Seguidament es va deixar incubar 2 dies a l'estufa i es van llegir els resultats.

6.3 CONTROL DE SUPERFÍCIES AMB LAMINOCULTIUS PER BACTERIS AEROBIS MESÒFILS I ENTEROBACTERIS.

- Estufa d'incubació regulada a 35°C
- Laminocultius: PCA/VRBG (plaques de cultiu d'agar/agar bilis glucosa lila i vermell) (superfície 12 cm²)

6.3.1 Procediment

Es repeteix el mateix procediment que en l'apartat anterior però amb el canvi de laminocultius.

6.3.2 Superfície boca auxiliar dels mescladors DM30, DM31 i DM33

També es farà en els punts morts dels mescladors de fabricació. En el següent cas ho s'ha fet en una boca auxiliar que és un sortint que normalment està tancat i que per les seves característiques pot ser un focus d'infecció.

En aquesta cas es faran servir laminocultius de PCA/VRBG per veure si hi ha tant bacteris aeròbics com enterobacteris (bacteris anaeròbics facultatius com l'E. coli).

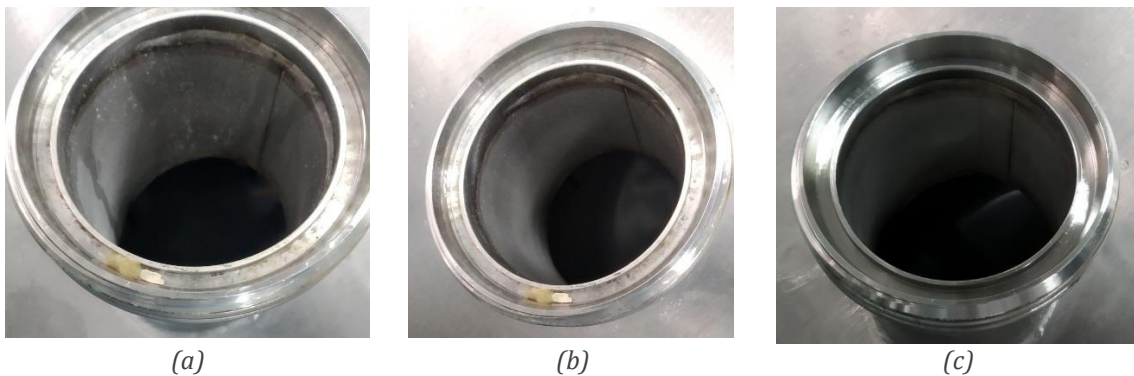
S'agafarà mostra abans de que es netegi el tanc, després de netejar-lo i una vegada s'hagi desinfectada amb alcohol la boca del tanc.

En les següents imatges (Figura 6) es pot veure l'estat de la tapa abans i després de la neteja i desinfecció del tanc.



(a) (b)
 Figura 6: Comparació de la tapa de la boca del mesclador abans (a) i després (b) de la neteja i desinfecció del tot el mesclador

La següent imatge (Figura 7) ens mostra la boca abans i després de la neteja general del tanc, i després de la neteja i desinfecció a mà amb una solució alcohòlica de l'operari



(a) (b) (c)
 Figura 7: Comparació de la boca dels tancs abans de la neteja del tanc (a), després de la neteja general del tanc (b) i depreés de la desinfecció a mà (c).

Es va passar el laminocultiu per les dues bandes recorrent tota la superfície interior de la boca com podem veure en la següent figura (Figura 8).



Figura 8: Presa de mostra laminocultiu PCA/VRBG

6.4 CONTROL D'ENTORN O AMBIENTAL

6.4.1 Punts de mostreig

Els punts de mostreig seran els mateixos que en control de superfícies però afegirem també plaques al laboratori, al laboratori de microbiologia i dintre de la campana de flux on es fan els cultius de microbiologia. Afegim aquests punts ja que si l'ambient no és l'adequat ens podria donar falsos positius de productes que realment estan bé.

6.4.2 Equipament:

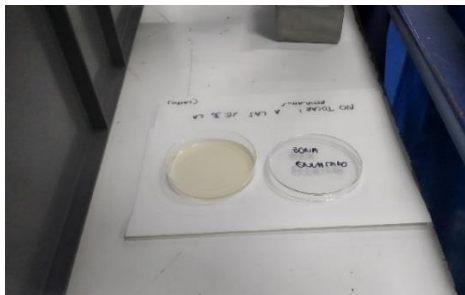
Estufa d'incubació regulada a 35°C

Autoclau

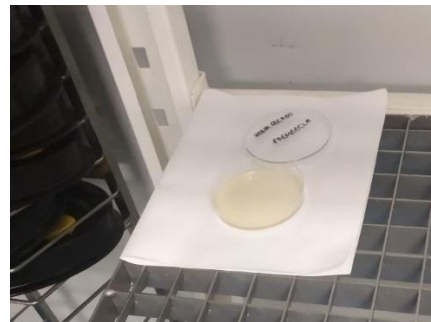
6.4.3 Material, Medis i reactius:

Plaques Petri 90 mm Ø amb medi TSA

Procediment: es van deixar diverses plaques obertes damunt d'un paper de filtre durant 4h en diferents zones de la fàbrica com es pot veure en el següent conjunt d'imatges (Figura 9).



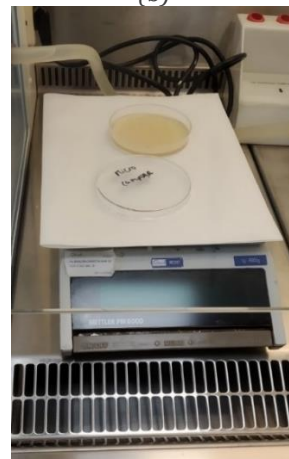
(a)



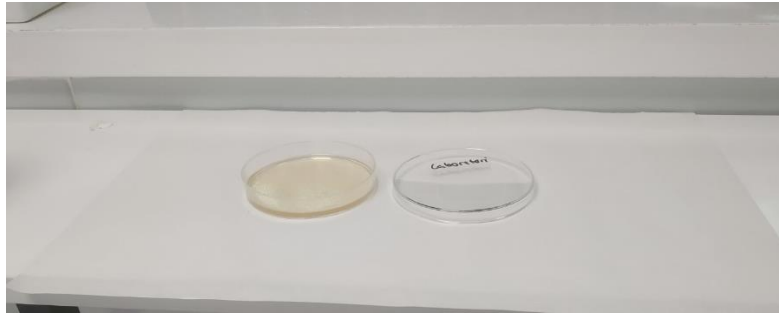
(b)



(c)



(d)



(e)

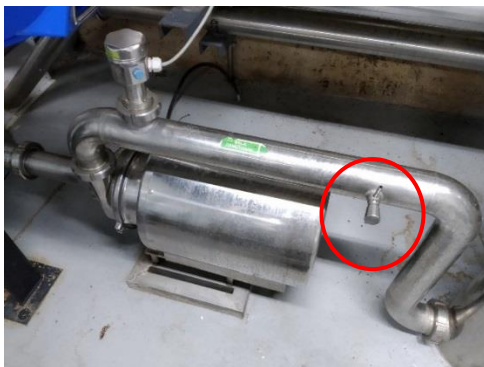
Figura 9: Plaques per el control ambiental ubicades a diferents zones de la planta: zona G (a), zona D (b), i laboratori (c), (d), (e).

Una vegada passades les 4 hores es deixen incubant 48 hores a una estufa a 35°C.

6.5 ANÀLISI MICROBIOLÒGICA D'AIGÜES MITJANÇANT FILTRACIÓ

6.5.1 Mostreig

Hi ha dos punts de mostreig establerts com podem veure en la figura 10 i en l'ANNEX 2 per l'anàlisi d'aigua del *loop* de distribució de l'empresa. Les altres aigües són recollides pels operadors després de les desinfeccions o abans de les fabricacions per comprovar que estiguin bé. En aquest treball només s'analitzaran les aigües les *loop* ja que és el nostre objecte d'estudi.



(a)



(b)

Figura 10: Punts de mostreig P1 (a) i P2 (b) indicats amb un cercle vermell. Especificada la distribució dels punts dintre del circuit d'aigua en l'ANNEX 2

En primer lloc, es desinfecta la vàlvula amb un desinfectant adequat. Es deixa córrer l'aigua durant una estona (per tal d'eliminar l'aigua estancada) i es recull amb un envàs estèril amb boca ampla de plàstic o de vidre d'uns 200 ml de capacitat en les condicions més asèptiques possibles com es pot veure a la Figura 11.

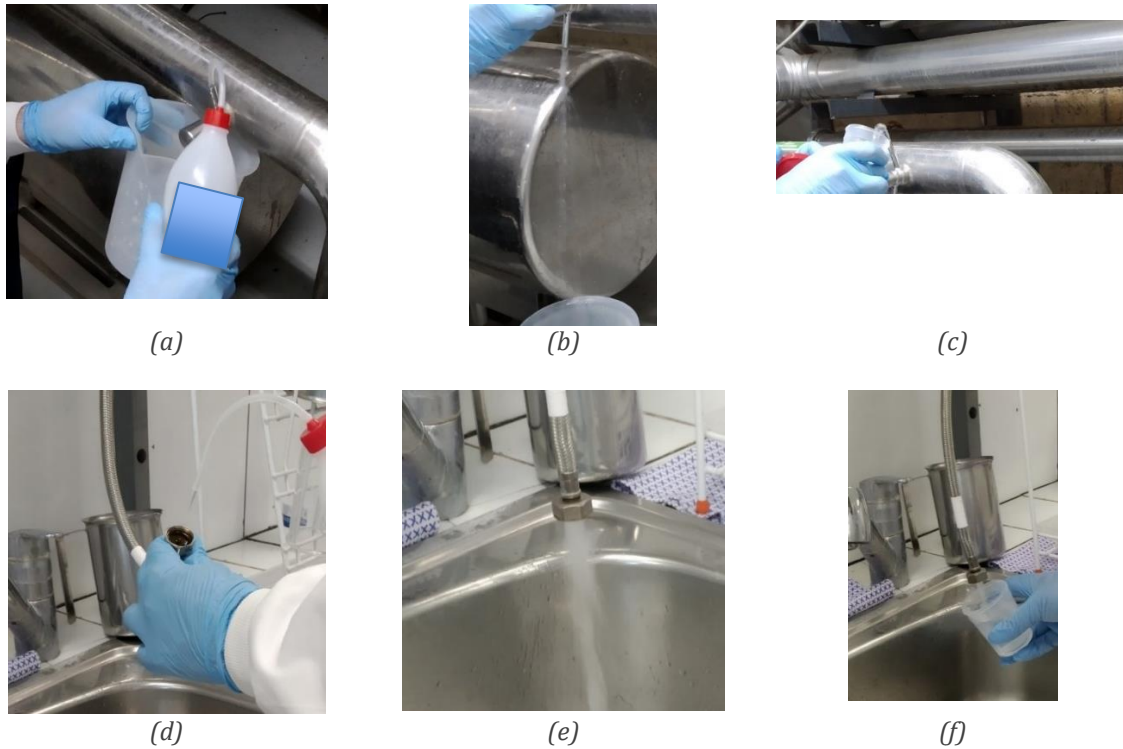


Figura 11: Presa de mostra en els dos punts de mostreig del l'anell de recirculació; desinfecció (a) i (d), purga d'aigua (b) i (e) i recollida en un recipient estèril (c) i (f).

6.5.2 Equipament

- En la següent figura (Figura 12) podem veure el material que es farà servir al laboratori de microbiologia per dur a terme el procediment de la filtració.

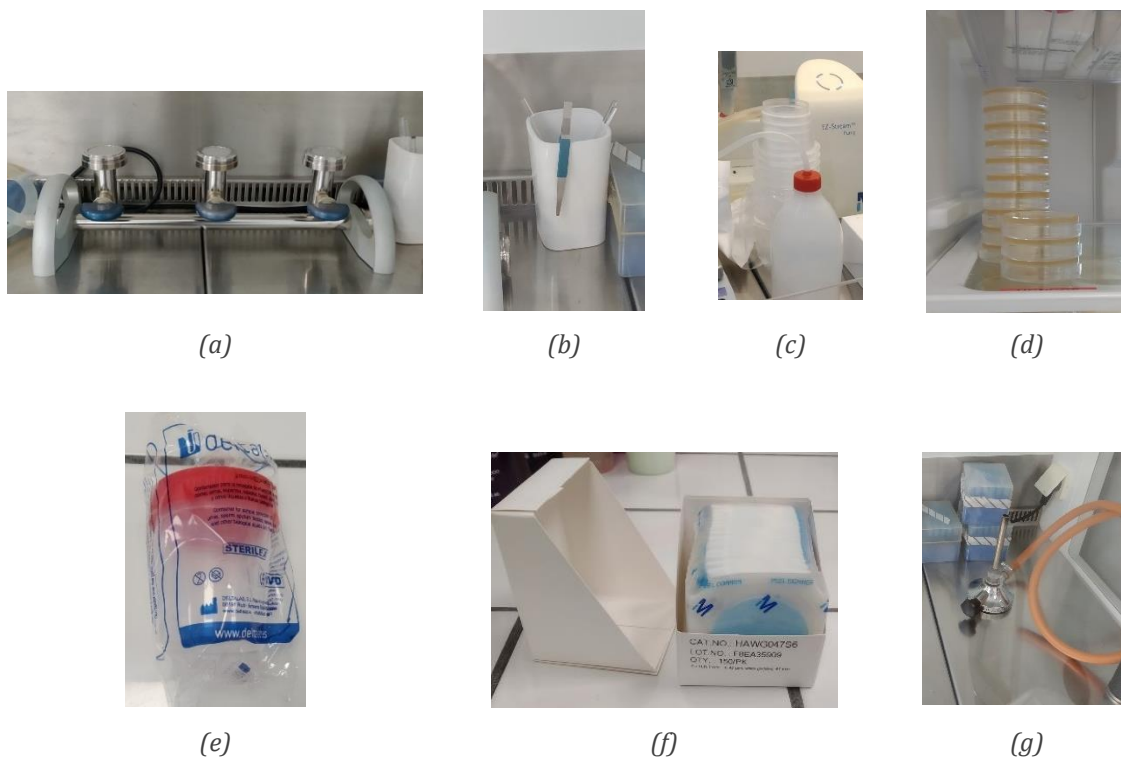


Figura 12: Material i equipament per la filtració d'aigües: rampa de filtració (a), pinces metàl·liques (b), embuts de filtració (c), plaques de TSA (d), envàs esteril de 100ml (e), filtres (f) i encenedor bunsen (g).

6.5.3 Medis i reactius:

- Plaques Petri 55 mm Ø amb medi TSA
- Solució d'etanol

6.5.4 Procediment

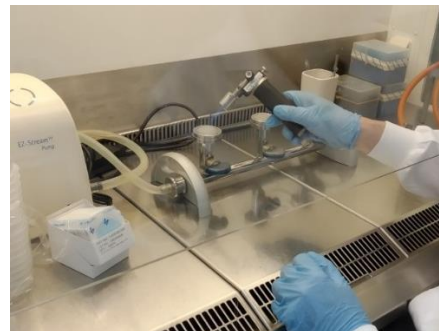
Si les mostres recollides no s'analitzen en el moment, es guardaran a la nevera durant menys de 12 hores a una temperatura d'entre 2 i 8°C.

Les anàlisis es realitzen diàriament per tal de portar un control de la matèria primera més abundant de la fàbrica.

Es fa el muntatge del sistema de filtració col·locant el suport a la rampa. Es polvoritza el capsal amb una solució alcohòlica i la es flameja durant 3s com podem veure en la figura 13.



(a)



(b)

Figura 13: Desinfecció de la rampa de filtrat: primer amb una solució alcohòlica (a) i després per flama (b)

Amb les pinces prèviament desinfectades s'agafa la membrana amb cura i la es col·loca damunt del capçal amb la quadrícula mirant cap a dalt (Figura 14).



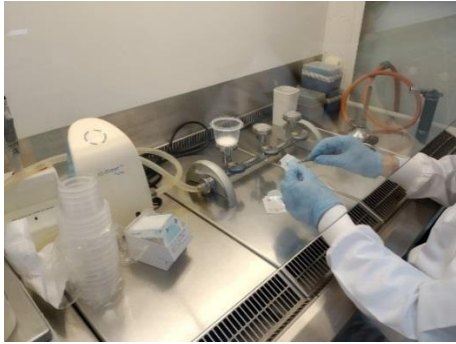
(a)



(b)

Figura 14: Posicionament del filtre a la rampa (b) amb les pinces desinfectades amb flama (a)

S'afegeixen els embuts, s'encén la bomba de buit i es dipositen en cada un la mostra d'aigua i s'espera a que es filtri tota (Figura 15).



(a)



(b)

Figura 15: Col·locació de l'embut (a) i filtració de la mostra (b)

Una vegada filtrat, es tanca la vàlvula de buit, es treu l'embut i, amb les pinces desinfectades, es sembra el filtre en un medi TSA evitant la formació de bombolles. Per aquest procediment, s'ha de col·locar quadrícula cap a dalt (Figura 16).



Figura 16: Sembra del filtre a les plaques de TSA

S'incuba la placa invertida a l'estufa a 35°C durant 48h.

6.6 REUNIONS I TRIA DE PROCEDIMENTS PER LA DESINFECCIÓ

S'han fet diverses reunions per saber quin procediment i productes es faran servir per a la higienització del sistema de l'aigua purificada.

D'aquestes reunions, hem seleccionat dues empreses que ens oferien solucions pel problema actual i, a continuació, es compararan els dos mètodes per tal de triar el més adequat pel nostre problema.

6.7 NECESSITAT DE NETEJA I DESINFECCIÓ

Com s'ha comentat en apartats anteriors el procediment que es farà una higienització. Sabent la naturalesa del tipus de brutícia que es sospita que hi ha, que són els biofilms, es triarà un procediment d'higienització.

Primer s'han de triar el producte o productes detergents per tal de fer la neteja.

De manera general els biofilms estan formats per un exoesquelet que té una composició de polisacàrid com s'ha indicat a la introducció. I hem de tenir en compte la composició dels diferents microorganismes.

Per a la naturalesa del nostre medi (l'aigua purificada) sabem quines microorganismes poden estar presents. Podem tenir una col·lecció de bacteris aeròbics mesòfils tant gram positius

(Staphylococcus aureus) com gram negatiu (E. Coli) i també podem tenir llevats (Candida albicans) i fongs (Aspergillus niger) tant en forma de biofilms com planctònica.

La membrana citoplasmàtica està formada per una membrana fosfolipídica. A més a més els bacteris gram positius i negatius tenen una paret cel·lular formada per peptidoglicans. El peptidoglicà, és un polisacàrid format per dos derivats de sucres: N-acetilglucosamina i l'àcid acetilmuràmic i alguns aminoàcids com la L-alanina, D-alanina, D àcid glutàmic i L-lisina.

Els fongs també tenen una coberta o paret cel·lular normalment formada per una substància anomenada quitina que és una polimerització de la N-acetilglucosamina.

De manera general, hi pot haver tant lípids, com proteïnes o com polisacàrids juntament amb àcids nucleics i fosfolípids en suspensió i incrustats a la superfície.

A continuació es veurà que ens ofereix cadascuna de les empreses amb les que s'han fet reunions i si els procediments que es proposen.

6.7.1 -Mètodes proposats

En les següents taules es poden veure el procediment i els productes proposats per l'empresa Ecolab (Taula 3 i 4).

Taula 3: Procediment plantejat per l'empresa Ecolab

Etapa	Producte	Percentatge(%)	Temperatura(°C)	Temps(min)
Neteja alcalina	Cosa CIP 96 +	5.00	70	180
	Cosa PUR 85	3.00		
Segona esbandida	Aigua	-	Ambient	-
Neteja àcida	COSA CIP 72	3.00	50	60
Tercera esbandida	Aigua	-	Ambient	-
Desinfecció	Cosa DES	1.00	20-30	60
Esbandida Final	Aigua	-	Ambient	-

Taula 4: Funció i principals principis actius dels productes utilitzats. Font: fitxes tècniques proporcionades per l'empresa Ecolab

Producte	Composició	Funció
Cosa CIP 96	Solució d'hidròxid sòdic	Neteja alcalina
Cosa PUR 85	Solució peròxid d'hidrogen	Oxidant
COSA CIP 72	Solució d'àcid cítric i àcid fòrmic	Neteja àcida
COSA® DES	Àcid peracètic	Desinfectant

Com es pot observar en aquestes taules (Taulas 3 i 4) la primera neteja consisteix en una neteja alcalina que és efectiva en el cas de tenir greixos i proteïnes i se li aniria afegint un detergent oxidant com és el peròxid d'hidrogen. Ambdós ajudarien en la disgregació de la matriu polisacàrida.

Després de l'esbandida amb aigua, es faria una neteja àcida que ajuda a eliminar restes minerals o inorgàniques. En el nostre cas, no seria tant necessari ja que s'està treballant amb una aigua osmotitzada i no hi ha perill de contaminació per calç o altres elements inorgànics.

Després d'aquest procés de neteja, es procediria a la desinfecció amb àcid peracètic que és un desinfectant d'ampli espectre. Tot i que és corrosiu i té una olor desagradable, donat que es fa la neteja en un sistema tancat, no hi ha d'haver problemes d'exposició per part dels operaris encarregats de la higienització.

Es va plantejar a una altra empresa, l'empresa Betelgeux, el mateix problema i van proposar el següent procediment (Taula 5) amb els següents productes (Taula 6).

Taula 5: Procediment plantejat per l'empresa Betelgeux

Etapa	Producte	Percentatge(%)	Temperatura(°C)	Temps(min)
Neteja	BETELCLEAN CIP180P	2	Ambient	20
Primera esbandida	Aigua	-	Ambient	-
Primera desinfecció	QUACIDE BF31EC	3-5	Ambient	Recirculació Fins a 6 hores
Segona esbandida	Aigua	-	Ambient	-
Segona desinfecció	QUACIDE PQ60EC	1-2	Ambient	Recircular mínim 25
Esbandida Final	Aigua	-	Ambient	-

Taula 6: Funció i principal principi actius dels productes utilitzats

Producte	Composició/principi actiu principal	Funció
BETELCLEAN CIP180P	Àcid fosfòric	Neteja oxidant
QUACIDE BF31EC	Clorur de benzalconi → 2.4%	Biocida/desinfectant
	Peròxid d'hidrogen → 15%	Biocida/desinfectant
QUACIDE PQ60EC	N-(3-aminopropil)-N-dodecilpropà-1,3-diamina → 1.5%	Biocida/desinfectant
	Hidroclorur de poli-hexametilè biguanida → 0.90%	Biocida/desinfectant

En aquest cas, es procediria directament a una neteja oxidant per passar a una desinfecció de superfícies amb la sinèrgies de dos productes desinfectants com les una amina quaternària i un peròxid d'hidrogen, i després una desinfecció per microorganismes planctònics o en suspensió amb una amina terciària i una biguanida.

Tots dos proveïdors ofereixen productes biocides d'ampli espectre amb uns efectes que produeixen la lisi de les cèl·lules.

D'altra banda els dos procediments inclouen desinfectants que tenen provades les capacitats biocides^{(12), (13), (14)} tant en cèl·lules planctòniques com adherides a superfícies, tot i seguint les directrius de les normes UNE-EN 13697:2015, UNE-EN 1276:2010, UNE-EN 1650:2008.

Quines principals diferències es troben en els dos procediments? Per començar en el de l'empresa Ecolab s'hauria de construir un *loop* extern per tal de poder instal·lar un intercanviador de calor. El de Betelgeux en canvi, es fa a temperatura ambient però tal i com està plantejat el procediment requeriria més temps d'actuació.

6.7.2 Mètodes adaptats a les necessitats de l'empresa.

A les dues empreses, se'ls han plantejat diversos dubtes que es tenien per a que ens fessin una avaluació més ajustada al nostre cas i d'aquesta manera poder decidir per quina ens decantem. En el cas de Betelgeux és el mateix procediment que ens havien proposat en primera instància

6.7.2.1 Empresa Ecolab

Ecolab ens ha plantejat una altre procediment sense haver d'aplicar calor.

S'ha eliminat el pas de la neteja àcida perquè en el circuit sempre ha circulat aigua osmotitzada i no hi ha risc d'incrustacions calcàries. La part de la neteja oxidant també s'ha eliminat ja que el producte que havien proposar només era efectiu amb calor. Per tant, s'hauria de dur a terme una neteja alcalina i una desinfecció amb un producte amb àcid peracètic (Taula 7).

Taula 7: Segon procediment proposat per Ecolab

Etapa	Producte	Percentatge (%)	Temps de contacte (min)	Temperatura	Notes
Neteja alcalina	MIP SCA	3	30	ambient	
Esbandida	Aigua	-	-	-	conductivitat
Desinfecció	P3-oxonia active o COSA® DES	1	30	ambient	
Esbandida	Aigua	-	-	-	Tires reactives

Ens quedarem amb aquest procediment ja que el temps de realització és més reduït i el número de passos i d'esbandides també, per tant ens estalviem temps i per haver de parar la fabricació durant més de tres hores. A més l'àcid peracètic és un desinfectant d'ampli espectre com vam poder veure a la introducció.

6.7.2.1.1 Característiques detergent i la determinació de la conductivitat respecte la concentració
El detergent que proposa aquest mètode, com l'anteriorment proposat per la mateixa empresa, és una solució alcalina d'hidròxid sòdic.

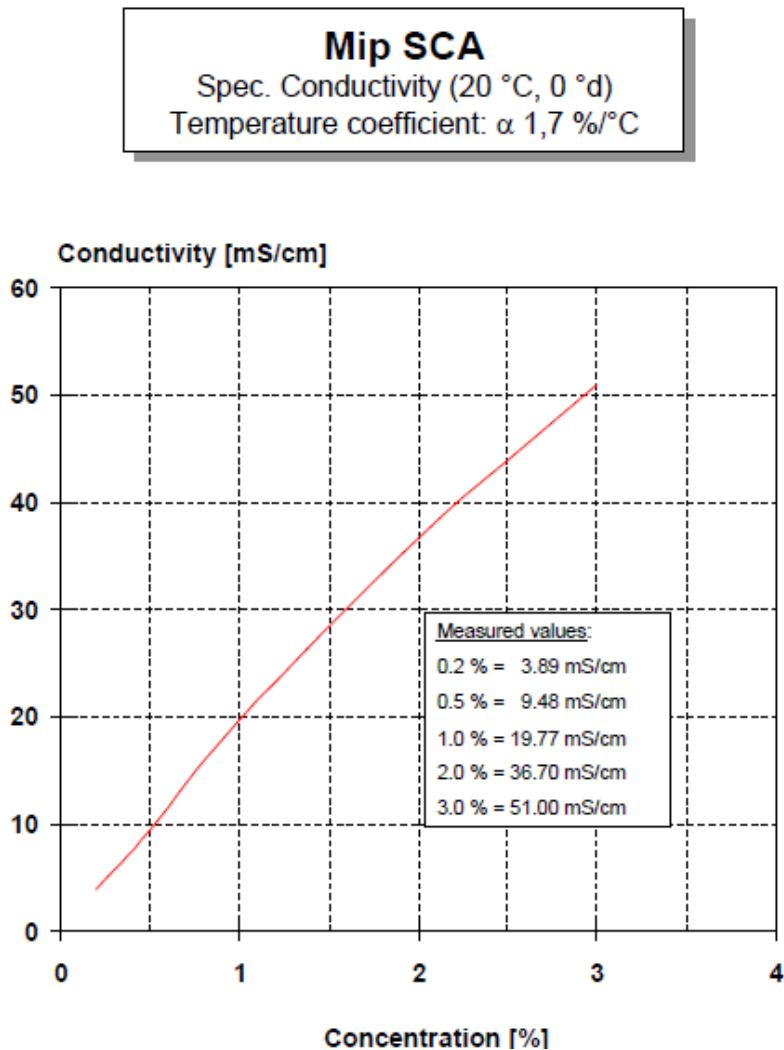


Figura 17: Canvi de la conductivitat de l'aigua segons la concentració del detergent alcalí Mip SCA (extracte de la fitxa tècnica del producte Mip SCA)

Segons la conductivitat de l'aigua es podrà saber la concentració de detergent que hi ha (Figura17).

Han arribat els productes i s'ha dut a terme un experiment per veure com es comporta el detergent en les condicions del l'anell d'aigua i en el laboratori.

Material:

- Pipetes aforades de 5, 10, 20 i 25 ml
- Matrassos aforats de 250, 500 i 1000 ml

Procediment:

- Preparar 5 solucions del detergent MIP SCA amb concentracions (%V/V) 0.5%, 1%, 2%, 2.5%, i 4%.

- Mesurem primer l'aigua sense cap additiu. Farem servir tan per mesurar el 0% de concentració i per preparar les dissolucions anteriors la sortida d'aigua del loop P2 ubicada al laboratori.
- Mesurarem la conductivitat de cada una de las dissolucions(Figura 18).

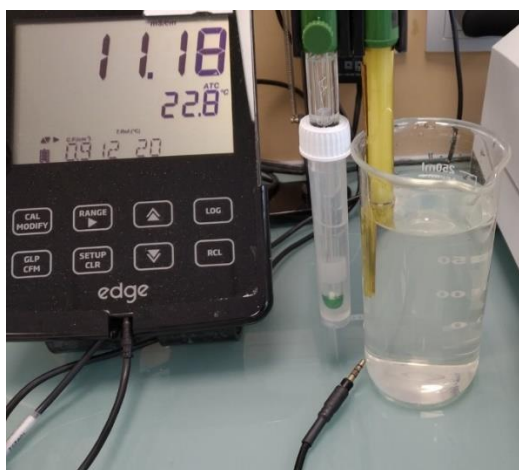


Figura 18: Mesura de la conductivitat

6.7.2.1.2 Característiques desinfectant

Tenim dos possibles desinfectants amb una composició molt similar. Com es pot veure a continuació (Taula 8).

Taula 8: Comparació de dos desinfectants amb base de peracètic segona la seva fitxa tècnica

COSA® DES	P3-OXONIA active
GMP	-
Compatible Acer AISO 316	Compatible Acer AISO 316
Normes 1276, 1650 i 13697	Norma 13697

Ens interessa que la fitxa tècnica especifiqui que compleix amb la norma UNE-EN 13697:2015 que és la de desinfeccions de superfícies sense acció mecànica. Ambdós productes la compleixen. En la següent figura (Figura 19) podem veure la compatibilitat del desinfectant amb el material de contacte podem veure que no hi ha cap efecte de corrosió.

Corrosion test			
Surface losses when using COSA DES in g/(m ² x h) at 20 °C and 16 °d			
Material	0.2 %	0.5 %	1.0%
Aluminium 99.5	0.00	0.00	0.00
Chrome nickel steel 1.4301	0.00	0.00	0.00
Chrome nickel steel 1.4401	0.00	0.00	0.00
Tinned iron	0.00	0.00	0.00
Galvanized iron	0.05	0.20	0.50
Iron steel St 37/2	0.70	1.10	1.60
Copper *	0.05	0.10	0.50

* Discolorations possible

(a)

Test de corrosión según DIN 50905			
Pérdida de peso (g/m ² /h) por efecto de P3-oxonia active			
Agua de 20°C y 29°F			
Material	0.2%	0.5%	1.0%
Aluminio 99.5	0.00	0.00	0.00
Acero Ni-Cr 1.4301 (AISI 304)	0.00	0.00	0.00
Acero Ni-Cr 1.4401 (AISI 316)	0.00	0.00	0.00
Acero Estañado	0.00	0.00	0.00
Acero Galvanizado	0.05	0.20	0.50
Acero St 37/2	0.70	1.10	1.60
Cobre*	0.05	0.10	0.50

* el cobre y sus aleaciones sufren decoloración

(b)

Figura 19: Compatibilitat del desinfectant COSA® DES (a) i el desinfectant P3-oxonia active (b) amb el material del tanc i el loop

Finalment s'ha triat el desinfectant COSA DES pel seu suport documental sobre la seva efectivitat com a desinfectant en superfícies i en partícules en suspensió.

Número de registre: **17-20/40-04330**

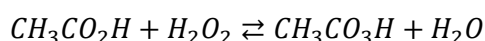
El significat de cadascuna de les parts del número de registre:

- **17** → any d'inscripció del producte
- **20/40** → activitat fungicida i bactericida
- **04330** → número de registre

Per tant el podem utilitzar com a desinfectant seguint les BPF.

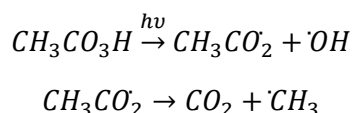
6.7.2.1.2.1 Estabilitat i reactivitat del producte

En solució l'àcid peracètic està estabilitzat amb peròxid d'hidrogen i àcid acètic.



Així s'evita la hidròlisi del producte que seria el procés a la inversa

Hem de tenir en compte que ens pot reaccionar l'àcid peracètic¹¹⁵⁾ amb les làmpades UV incorporades al circuit.



Tot i que és una possible reacció degut a la recirculació i al poc temps de contacte és poc probable que reaccionï ja que els estudis fets amb les làmpades UV estan fets en llocs d'aigües residuals on el peracètic està constantment en contacte amb la llum UV.

6.7.2.1.2.2 Tires reactives

Com s'ha comentat anteriorment va arribar el detergent i el desinfectant i es va decidir com reaccionaven les tires reactives a diferents concentracions. Es faran servir unes tires reactives per concentració d'àcid peracètic amb un rang de 50-500 mg/l d'àcid peracètic per comprovar la coloració de les tires preparem un seguit de dissolucions (Figura 20) amb diferents concentracions dintre del rang.

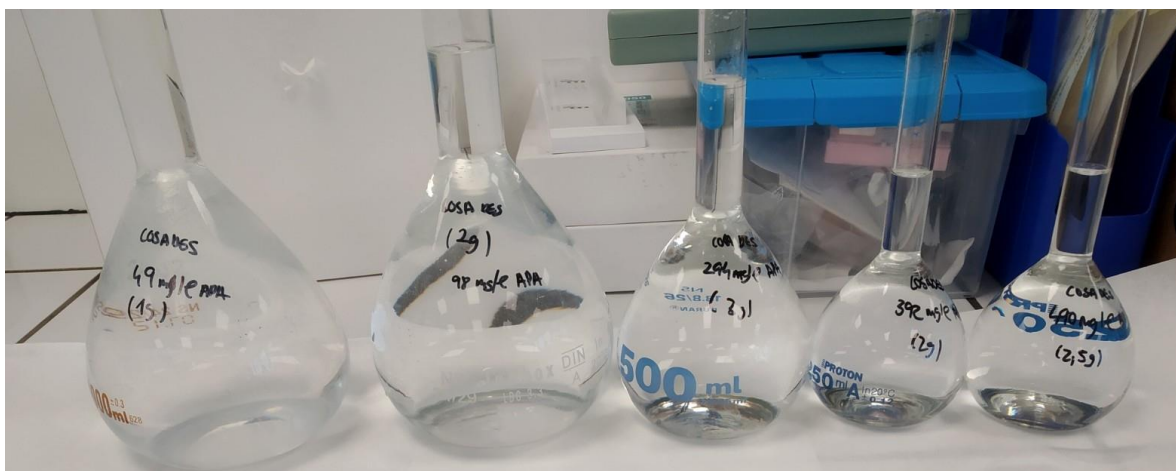


Figura 20: Dissolucions amb diferents concentracions d'àcid peracètic

Material:

- Pipetes aforades de 5, 10, 20 i 25 ml
- Balança analítica

Procediment:

- Preparar 5 solucions del desinfectant COSA DES amb concentracions d'àcid peracètic de : 49 mg/l, 98 mg/l, 294 mg/l, 392 mg/l i 490 mg/l.
- Mesurem primer l'aigua sense cap additiu. Farem servir tan per mesurar el 0% de concentració i per preparar les dissolucions anteriors la sortida d'aigua del loop P2 ubicada al laboratori.
- Després es submergiran les tires seguint les instruccions (Figura 21).



Figura 21: Instruccions de les tires reactives

7 RESULTATS I DISCUSSIÓ

7.1 CONTROL DE SUPERFÍCIES AMB LAMINOCULTIUS PER BACTERIS AEROBIS MESÒFILS

A la taula 9, podem veure els límits establerts per l'empresa per comparar els resultats obtinguts.

Taula 9: Límits establerts per Roval Cosmética

Límits microbiològics (UFC/12cm ²)	Classificació	Actuació resultant
0-10	NET	Mantenir procediment d'higiene i neteja habitual
10-50	ACEPTABLE	Mantenir procediment higiene i neteja habitual
>50	NO ACEPTABLE	Acció correctora

Els resultats obtinguts han siguts els podem veure en les taules 10,11, 12 i 13. Com que tenim dos medis en cadascun dels laminocultius s'ha fet la mitjana entre els dos per tal d'expressar els resultats.

Taula 10: Dades extretes del control microbiològic. Zona D

ZONA D. SALA PREMESCLA				
		PUNTS DE MOSTREIG	RESULTATS (UFC/12 cm ²)	AVALUACIÓ
CONTROL DE SUPERFÍCIES	EQUIPS	CANYA D'ASPIRACIÓ	0	NET
		TAULA PREMESCLA	1	NET
	UTILLATGE	RECIPIENT 10L	1	NET
		PRESA MOSTRES	0	NET
	PERSONAL	TR1	4	NET

En aquesta primera taula (Taula 10) es pot veure que el control de superfícies que s'ha obtingut a la zona de premescles és adequat. Els controls es van fer a la canya d'aspiració que es fa servir per agafar matèries primeres i evitar abocar-les directament al recipient per fer la premescla. Conjuntament amb la taula de treball són el lloc de treball amb les matèries primeres i com es pot observar també a donat un resultat molt baix.

El recipient analitzat i el presa mostres que també entraran en contacte amb la fase inicial del producte cosmètic és l'adequat.

Per últim els resultats de les mans del treballador d'aquesta zona estan suficientment netes com per no ser un risc amb el contacte amb el producte.

Taula 11: Dades extretes del control microbiològic. Zona C2

ZONA C2. ZONA PRESA DE MOSTRA				
		PUNTS DE MOSTREIG	RESULTATS (UFC / 12 cm ²)	AVALUACIÓ
CONTROL DE SUPERFÍCIES	EQUIPS	TAULA DE TREBALL	1	NET
	UTILLATGE	PRESA MOSTRES	1	NET
	PERSONAL	TR2	2	NET

La zona de presa de mostra és una sala amb sobrepressió per tal de poder recollir les mostres en unes condicions òptimes pel producte i el seu posterior anàlisi.

És important que la zona de treball i les mans dels treballadors estiguin netes ja que podrien contaminar el producte i el presa mostres ha de ser adequadament desinfectat perquè la seva introducció dintre dels recipients no suposi un risc microbiològic.

En aquest cas concret (Taula 11) es pot veure com amb aquest control s'han obtingut uns resultats favorables i adequats per la zona de treball.

Taula 12: Dades extretes del control microbiològic. Zona G

ZONA G. ZONA ENVASAT				
		PUNTS DE MOSTREIG	RESULTATS (UFC/12 cm ²)	AVALUACIÓ
CONTROL DE SUPERFÍCIES	EQUIPS/ TANCS	T5	0	NET
		T20	0	NET
		Cubeta desinfecció (Superfície)	1	NET
	UTILLATGE	BROQUET L-3	0	NET
		BROQUET L-4	1,5	NET
	PERSONAL	TR3	>50	ACCIÓ CORRECTORA
		TR4	3	NET

A la zona d'envasat (Taula 12) ha sigut on més mostres s'han extret ja que hi ha moltes superfícies en contacte amb el producte final. En primer lloc podem observar les boques dels tancs on el producte tindrà contacte quan hi hagi la desviació a les línies d'envasat en aquest cas es van seleccionar dues per l'anàlisi microbiològic i les dues van sortir sense cap mena de contaminació microbiològica.

Després es va fer també el control a la cubeta de desinfecció ja que part de l'utillatge utilitzat pels treballadors de l'empresa es desinfecta allí. Tot i ser una solució amb aigua i desinfectant, si es contaminés s'hauria de canviar immediatament per evitar treballar amb eines contaminades

Als broquets d'envasat estan en contacte amb el producte i els resultats per aquesta superfície els adequats.

Finalment, es va fer al personal de la zona d'envasat i el mostreig es va centrar en els treballadors que manipulaven l'embalatge. El mostreig es va realitzar en les mans dels d'aquests treballadors amb les condicions que estaven treballant, en aquest cas amb guants. Es pot observar que un dels resultats (Taula 12) va ser molt elevat.

Hi ha molts factors que podem influir en la contaminació d'uns guants. En primer lloc els guants no són estèrils per tant es recomanaria al personal desinfectar-se les mans abans de manipular l'embalatge i la substitució dels guants en el cas que es canvi de funció o de zona de treball o del contacte dels guants amb la cara o altres zones externes o del cos alienes a l'embalatge manipulat.

Taula 13: Dades extretes del control microbiològic. Zona I

ZONA I. ZONA DE FABRICACIÓ					
CONTROL DE SUPERFÍCIES		PUNTS DE MOSTREIG	RESULTATS (UFC/12 cm ²)	AVALUACIÓ	
	EQUIPS/ TANCS		DM30	0	NET
			DM31	1	NET
	UTILLATGE		PRESA MOSTRES	0	NET
	PERSONAL		TR5	0	NET

La última zona analitzada va ser la sala o zona de fabricació (Taula 13) que és on el producte és més susceptible degut a la exposició sense conservants del producte. El mostreig es va realitzar a la boca dels tancs per on s'aboquen les matèries primeres. També com a la sala de presa de mostres es va posar en contacte un laminocultiu al presa mostres i a les mans d'un dels treballadors de fabricacions.

A continuació podem veure, en la figura 22, l'aspecte d'un laminocultiu net i d'un amb més de 50 UFC.

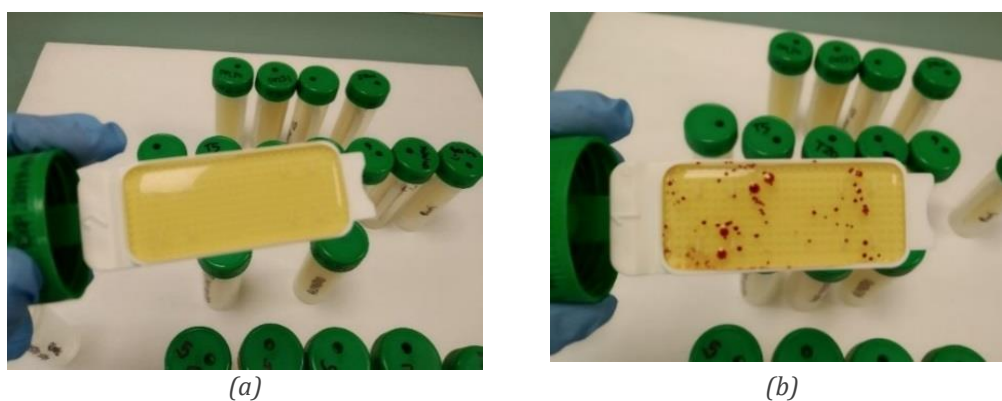


Figura 22: A les tres figures podem veure: un amb 3 mostres dels laminocultius obtinguts, un amb cap colònia (a) i un amb més de 50 UFC (b).

7.2 CONTROL DE SUPERFÍCIES AMB LAMINOCULTIUS PER BACTERIS AEROBIS MESÒFILS I ENTEROBACTERIS

Es va realitzar un mostreig semblant a l'anterior però els resultats, a diferència de l'apartat anterior, com que els dos medis del laminocultiu són diferents s'han anotat els dos resultats.

Taula 14: Dades extretes del control microbiològic. Zona D

ZONA D. SALA PREMESCLA				
		PUNTS DE MOSTREIG	RESULTATS (UFC / 12 cm ²) PCA/VRBG	AVALUACIÓ
CONTROL DE SUPERFÍCIES	EQUIPS	CANYA D'ASPIRACIÓ	1/0	NET
		TAULA PREMESCLA	0/0	NET
	UTILLATGE	RECIPIENT 10L	3/0	NET
		PRESA MOSTRES	2/0	NET
	PERSONAL	TR1	2/0	NET

S'han obtingut uns resultats molt semblants ((Taula 14) a l'anterior anàlisi pel laminocultius de PCA i cap colònia en el cas dels medis per enterobacteris.

Taula 15: Dades extretes del control microbiològic. Zona C2

ZONA C2. ZONA PRESA DE MOSTRA				
		PUNTS DE MOSTREIG	RESULTATS (UFC/12 cm ²) PCA/VRBG	AVALUACIÓ
CONTROL DE SUPERFÍCIES	EQUIPS	TAULA DE TREBALL	3/0	NET
	UTILLATGE	PRESA MOSTRES	2/0	NET
	PERSONAL	TR2	1/0	NET

En zona de presa de mostra (Taula 15) tampoc s'ha obtingut cap colònia d'enterobacteris.

Taula 16: Dades extretes del control microbiològic. Zona I

ZONA I. ZONA DE FABRICACIÓ				
		PUNTS DE MOSTREIG	RESULTATS (UFC/12 cm ²) PCA/VRBG	AVALUACIÓ
CONTROL DE SUPERFÍCIES	EQUIPS/ TANCS	DM32	0/0	NET
		DM33	0/0	NET
	UTILLATGE	PRESA MOSTRES	0/0	NET
	PERSONAL	TR5	2/0	NET

La zona de fabricació igual que les anteriors ha donat negativa en colònies d'enterobacteries i les superfícies de treball també han donat resultats negatius en la presència de de bacteris aeròbics mesòfils (Taula 16).

Taula 17: Dades extretes del control microbiològic. Zona G

ZONA G. ZONA ENVASAT				
		PUNTS DE MOSTREIG	RESULTATS (UFC/12 cm ²) PCA/VRBG	AVALUACIÓ
CONTROL DE SUPERFÍCIES	EQUIPS/ TANQCS	T6	INFECTAT	ACCIÓ CORRECTORA
		T7	0/0	NET
		Cubeta desinfecció (Superfície)	0/0	NET
	UTILLATGE	BROQUET L-3	0/0	NET
		BROQUET L-4	0/0	NET
	PERSONAL	TR3	2/0	NET
		TR4	1/0	NET



Figura 23: Laminocultius resultants del control de superfícies del tanc 6

La figura 23 ens mostra el laminocultiu del control de superfície del tanc 6, indicat en la taula 17, com a infectat. En aquest cas no s'ha pogut fer el recompte degut a que no tot el laminocultiu va estar en contacte amb la boca del tanc per les dimensions d'aquests sortints.

S'hauria de tenir en compte que les boques dels tancs estan en contacte tant amb el producte com amb els operaris i analistes. En aquestes situacions, s'han d'extremar les mesures d'higiene i desinfectar les boques dels tancs abans i després, tant de prendre mostra, com d'enviar el producte a les línies d'envasat.

Els laminocultius són un mètode ràpid i fàcil d'utilitzar, però per superfícies irregulars o no suficientment grans poden no ser el millor mètode ja que ens dificulten tant el mostreig com la lectura posterior.

7.2.1 Superfície punt mort del mesclador

En aquest subapartat es veuran els resultats que es van fer en un punt conflictiu i dels mescladors DM30, DM31 i DM33 ja que és una boca auxiliar que no es fa servir per tant es podria considerar un punt mort on hi podria haver l'acumulació de microorganismes.

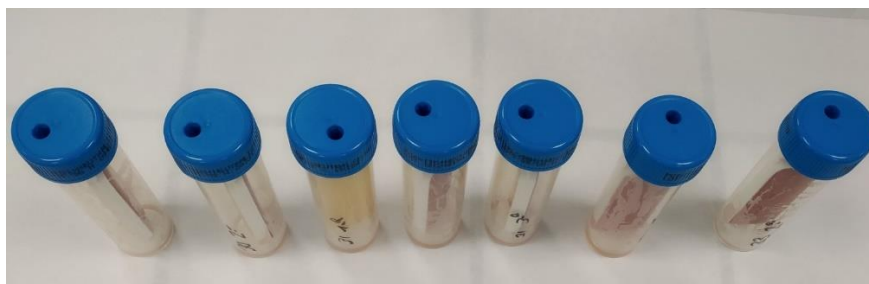


Figura 24: Mostres de les boques del tancs auxiliars abans i després de la desinfecció manual

Es van agafar mostres abans i després de la desinfecció manual d'aquest punt. La primera mostra va ser agafada després de la desinfecció general del mesclador (Figura 24).

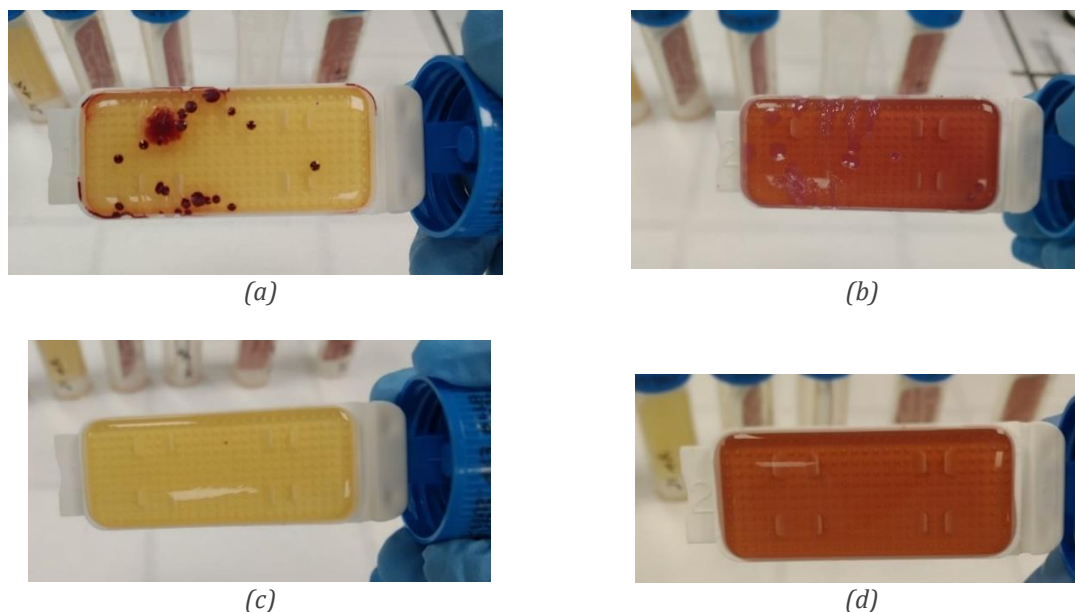


Figura 25: Comparació dels laminocultius de la boca del mesclador DM33 abans, (a) i (b), i després, (c) i (d), de la desinfecció a mà

Només un dels tancs (DM33) va sortir contaminat i abans de la neteja manual, com podem veure en la taula 18 en la figura 25 va sortir contaminada tant la placa de bacteris aerobis mesòfils (a) com la d'enterobacteris (b). Com a conseqüència, es va establir una neteja rutinària manual de cada divendres per tal d'evitar aquest possible focus de contaminació del producte.

Taula 18: Resultats control de superfícies boca auxiliar 29/04/2019

mesclador	ABANS DE LA DESINFECCIÓ		DESPRÉS DE LA DESINFECCIÓ	
	UFC/12 cm ² AEROBIS	UFC/12 cm ² ENTEROBACTERIS	UFC/12 cm ² AEROBIS	UFC/12 cm ² ENTEROBACTERIS
DM30	Absència	Absència	Absència	Absència
DM31	Presència	Absència	Absència	Absència
DM33	Presència	Presència	Absència	Absència

En la figura 26 podem veure que la boca del mesclador DM33 és més susceptible d'acumular residus ja que, a diferència dels altres dos té uns punts de soldadura que fan que els microorganismes siguin més difícils d'eliminar únicament amb la neteja del mesclador.

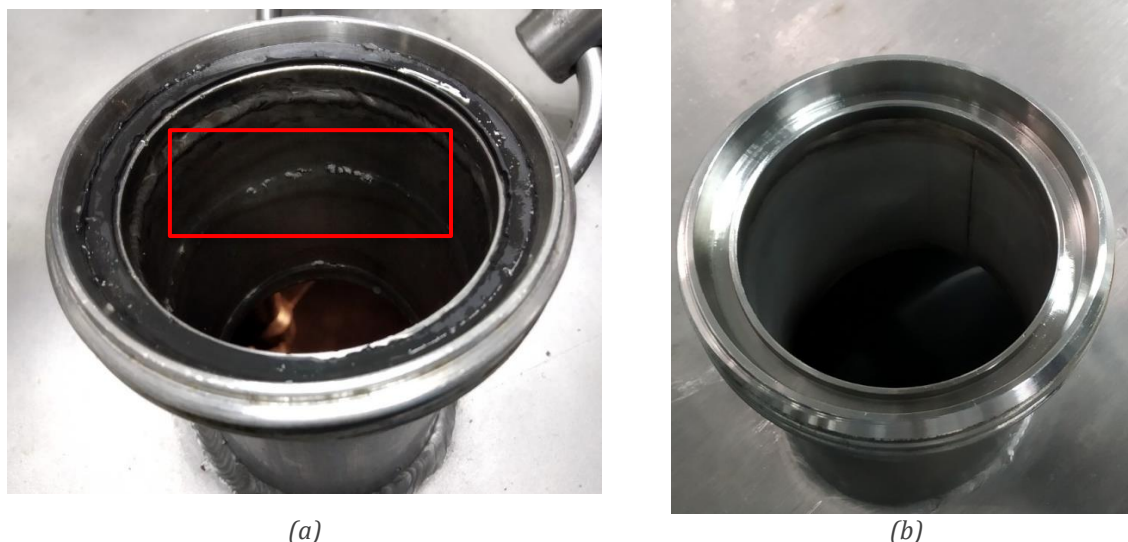


Figura 26: Boca del tanc DM33 amb punts de soldadura (a) i el tanc DM31 llis (b)

Al cap de dues setmanes es va tornar a prendre mostra. I els resultats els podem veure a la taula 19.

Taula 19: Resultats control de superfícies boca auxiliar 13/05/2019

mesclador	ABANS DE LA DESINFECCIÓ		DESPRÉS DE LA DESINFECCIÓ	
	UFC/12 cm ² AEROBIS	UFC/12 cm ² ENTEROBACTERIS	UFC/12 cm ² AEROBIS	UFC/12 cm ² ENTEROBACTERIS
DM31	Absència	Absència	Absència	Absència
DM33	Absència	Absència	Absència	Absència

En aquest cas els dos mescladors analitzats han sortit nets, tant abans com després de la desinfecció manual. Tan sols s'han analitzat dos dels tres tancs ja que només es fa quan es realitza la neteja dels mescladors els divendres.

7.3 CONTROL AMBIENTAL

Ens basarem en els valors del PNT per comparar amb els nostres resultats (Taula 20).

Taula 20: Límits establerts per Roval Cosmética

Límits microbiològics	Classificació	Actuació resultant
≤100 UFC/ 4H	Acceptable	Mantenir procediment higiene i neteja habitual
>100 UFC/ 4H	No acceptable	Acció correctora

Hi ha sales com la de pre-pesat (Zona D), la de fabricació (Zona I) i la de presa de mostra (Zona C2) que es troben en un estat de sobrepressió per evitar l'entrada de contaminació ambiental.

A la següent taula podem veure els resultats de cada una de les zones on s'ha fet el control ambiental (Taula 21).

Taula 21: Resultats del control ambiental del dia 17/04/2019

ZONA D. SALA PREMESCLA		
PUNTS DE MOSTREIG	RESULTATS (UFC/4H)	EVALUACIÓ
TAULA PREMESCLA	3	NET
ZONA D'ASSECAT	56	NET
ZONA C2. ZONA PRESA DE MOSTRA		
PUNTS DE MOSTREIG	RESULTATS (UFC/4H)	EVALUACIÓ
TAULA DE TREBALL	1	NET
ZONA G. ZONA ENVASAT		
PUNTS DE MOSTREIG	RESULTATS (UFC/4H)	EVALUACIÓ
ESTANTERIA	-	NET
ZONA I. ZONA DE FABRICACIÓ I ZONA L1. LABORATORI		
PUNTS DE MOSTREIG	RESULTATS (UFC/4H)	EVALUACIÓ
ZONA FABRICACIÓ	51	NET
LABORATORI	15	NET
CAMPANA LABORATORI MICROBIOLOGIA	0	NET

Podem observar que la zona d'assecat de premescla és elevada. Aquests resultats poden ser deguts a un contacte amb l'aigua de l'ambient degut que està a la mateixa zona de neteja on es neteja amb aigua calenta. Al anar a recollir la mostra el paper de filtre un estava dipositada i la placa de cultiu estava lleugerament humida. Com que el mètode utilitzat és per sedimentació, la humitat de l'ambient podria afavorir i accelerar aquest procés.

No s'han pogut establir resultats de la zona d'envasat (Taula 21) ja que com es pot observar en la figura 27 (a), remarcat dintre del quadre vermell hi ha un creixement que no correspon a una UFC i que ocupa una bona part de la placa.

Finalment, cal destacar que la zona de fabricació va sortir el resultat una mica elevat. Això pot ser degut a possibles estones sense sobrepressió per l'apertura de les portes o per la l'acumulació d'humida com en el cas de la sala d'assecat.

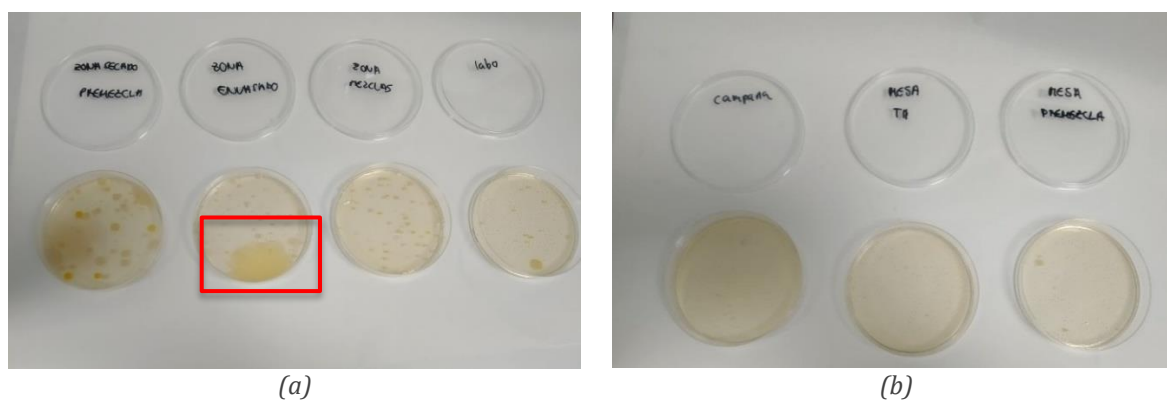


Figura 27: Fotografia de les plaques després de dos dies d'incubació: plaques amb més colònies (emmarcat un creixement sense forma de UFC)(a), plaques amb poques colònies (b).

Es va repetir el control ambiental tres setmanes després degut al canvi de filtres d'aire per comprovar si va suposar una milloria envers els resultats anteriors.

Taula 22: Resultats del control ambiental del dia 10/05/2019

ZONA D. SALA PREMESCLA		
PUNTS DE MOSTREIG	RESULTATS (UFC/4H)	EVALUACIÓ
TAULA PREMESCLA	2	NET
ZONA D'ASSECAT	5	NET
ZONA C2. ZONA PRESA DE MOSTRA		
PUNTS DE MOSTREIG	RESULTATS (UFC/4H)	EVALUACIÓ
TAULA DE TREBALL	3	NET
ZONA G. ZONA ENVASAT		
PUNTS DE MOSTREIG	RESULTATS (UFC/4H)	EVALUACIÓ
ESTANTERIA	89	NET
ZONA I. ZONA DE FABRICACIÓ I ZONA L1. LABORATORI		
PUNTS DE MOSTREIG	RESULTATS (UFC/4H)	EVALUACIÓ
ZONA FABRICACIÓ	19	NET
LABORATORI	13	NET
LABORATORI MICROBIOLOGIA	20	
CAMPANA LABORATORI MICROBIOLOGIA	0	NET

Si es comparen els resultats de les dues taules (Taula 21 i 22) podem veure una milloria significativa en les sales amb sobrepressió com a la zona d'assecat. Es pot veure també que es va fer un control ambiental de més, ja que es volia comprovar la importància de treballar dintre de la campana al laboratori de microbiologia per evitar contaminacions ambientals quan es fan els controls microbiològics. Com es pot observar (Taula 22) els resultats de la placa ubicada al laboratori de microbiologia no són molt elevats però els de dintre de la campana són nuls. A la zona d'envasat obtenim els resultats més elevats. Tot i això, d'entre zones analitzades, és on el producte és menys susceptible perquè està poca estona en contacte amb l'ambient.

Les fotos de les plaques resultants després de la incubació de dos dies ens mostren que la placa amb més UFC és la d'envasat com hem comentat anteriorment (Figura 28 (c)).

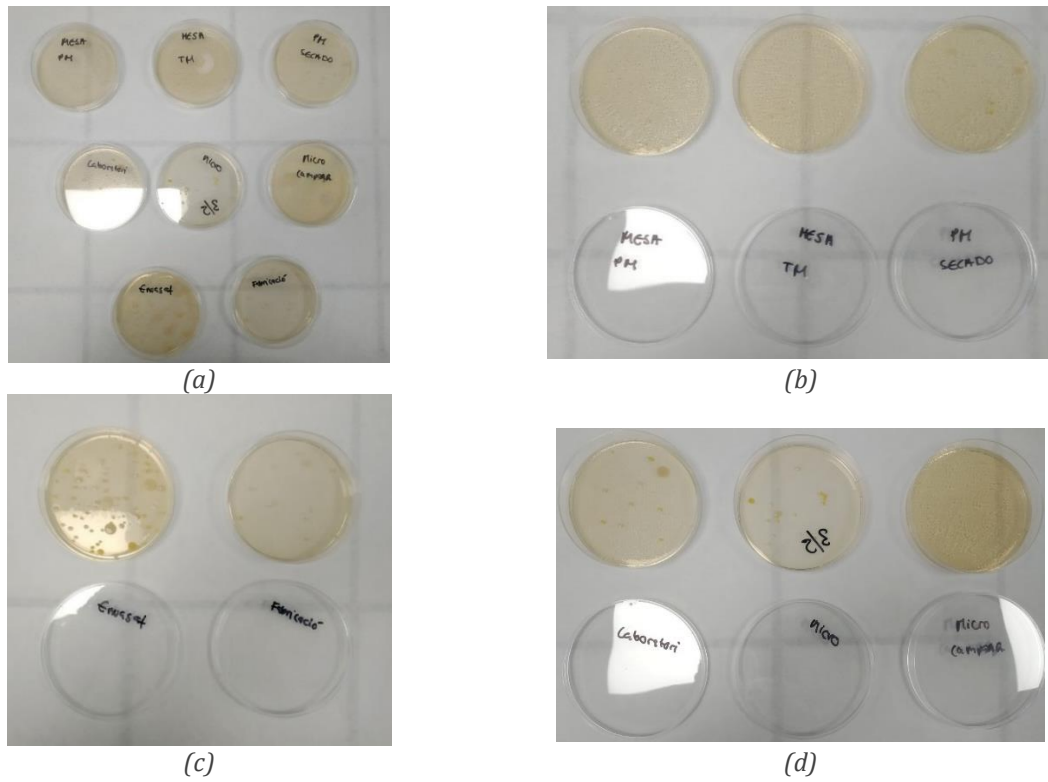


Figura 28: Fotografia de les plaques després de dos dies d'incubació: plànol general de totes les plaques (a), plaques zona D i C2 (b), plaques zona G i I (c) i plaques zona L1.

7.4 ANÀLISI MICROBIOLÒGICA D'AIGÜES MITJANÇANT FILTRACIÓ

Els valors hauran de ser inferiors a 100 UFC/100ml que tenim de cada mostra. En el cas que hi hagi valors entre 50 UFC/100ml i 100 UFC/100ml estarem en estat d'alerta i s'haurà de comparar amb els altres valors obtinguts a d'altres dies, tant anteriors com posteriors.

Taula 23: Resultats del mètode de filtració d'aigües expressats amb UFC/100ml

Setmana	Dilluns		Dimarts		Dimecres	
	Punt mostreig	Resultat	Punt mostreig	Resultat	Punt mostreig	Resultat
15	P2	1	P1	1	P2	<1
	P2	2	P1	<1	P2	1
16	P2	<1	P1	33	P2	4
	P2	36	P1	45	P2	5
17			P2	<1	P1	<1
			P2	<1	P1	<1
18	P2	<1	P1	1		
	P2	2	P1	1		
19					P2	<1
					P2	<1
20	P2	<1	P1	<1	P2	<1
	P2	<1	P1	<1	P2	<1
Setmana	Dijous			Divendres		
	Punt mostreig	Resultat		Punt mostreig	Resultat	
15	P1	<1		P2	<1	
	P1	<1		P2	<1	
16	P1	<1				
	P1	<1				
17	P1	2		P2	<1	
	P1	3		P2	<1	
18	P1	<1		P2	47	
	P1	<1		P2	52	
19	P1	2		P2	<1	
	P1	1		P2	<1	
20	P1	<1		P2	<1	
	P1	<1		P2	<1	

Com es pot observar a la taula 25 dels resultats dels dos punts de mostreig no hi ha cap dels valors que superi el límit establert per l'empresa. Però això no vol dir que no tinguem presència de biofilms, ja que aquests podrien estar incrustats a les parets de la instal·lació. Aquest mètode no és conclouent perquè només podem observar les contaminacions que estan en suspensió a l'aigua. La presència de biofilms ens pot donar positius aleatoris i falsos negatius degut a la seva naturalesa.

Per això tenim altres paràmetres que podem observar per veure la qualitat a l'aigua com la conductivitat o el pH. Perquè la contaminació microbiològica canviaria també els aspectes fisico-químics de l'aigua degut a la presència de molècules orgàniques contingudes pels microorganismes.

7.5 CONDUCTIVITAT RESPECTE LA CONCENTRACIÓ DEL DESINFECTANT MIP SCA

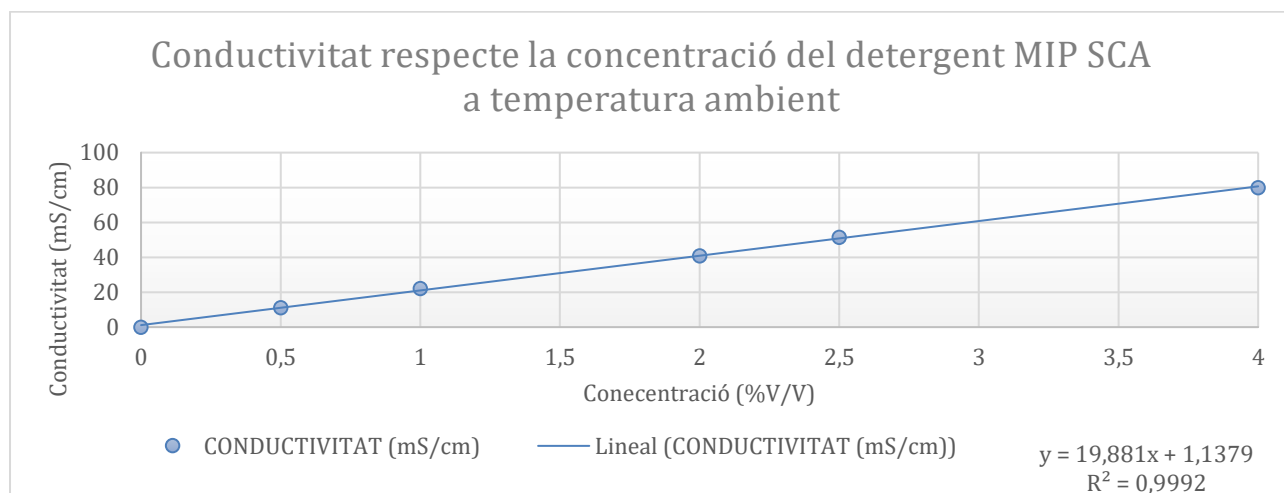


Figura 29: Conductivitat de les dissolucions del detergent MIP SCA a diferents concentracions

Com podem veure en el gràfic (Figura 29) i en la taula (Taula 24) la conductivitat que ens resulta al laboratori és més elevada que la de la fitxa del MIP SCA (Figura 17 part experimental) i podria ser per diferents factors. Primer la temperatura de les nostres dissolucions era temperatura ambient (22,8°C) i en la fitxa no indica si el percentatge és en pes o en volum i com que la densitat del producte no és igual a 1 podria ser la variació que s'obté.

Taula 24: conductivitat respecte al percentatge de MIP SCA

MIP SCA (%)	CONDUCTIVITAT (mS/cm)
0	0,003
0,5	11,170
1	22,160
2	40,80
2,5	51,500
4	80,000

7.6 RESULTAT DE LES TIRES REACTIVES D'ÀCID PERACÈTIC

Es pot veure a la següent figura (Figura 30) la comparació de les diferents dissolucions amb els colors de l'envàs.

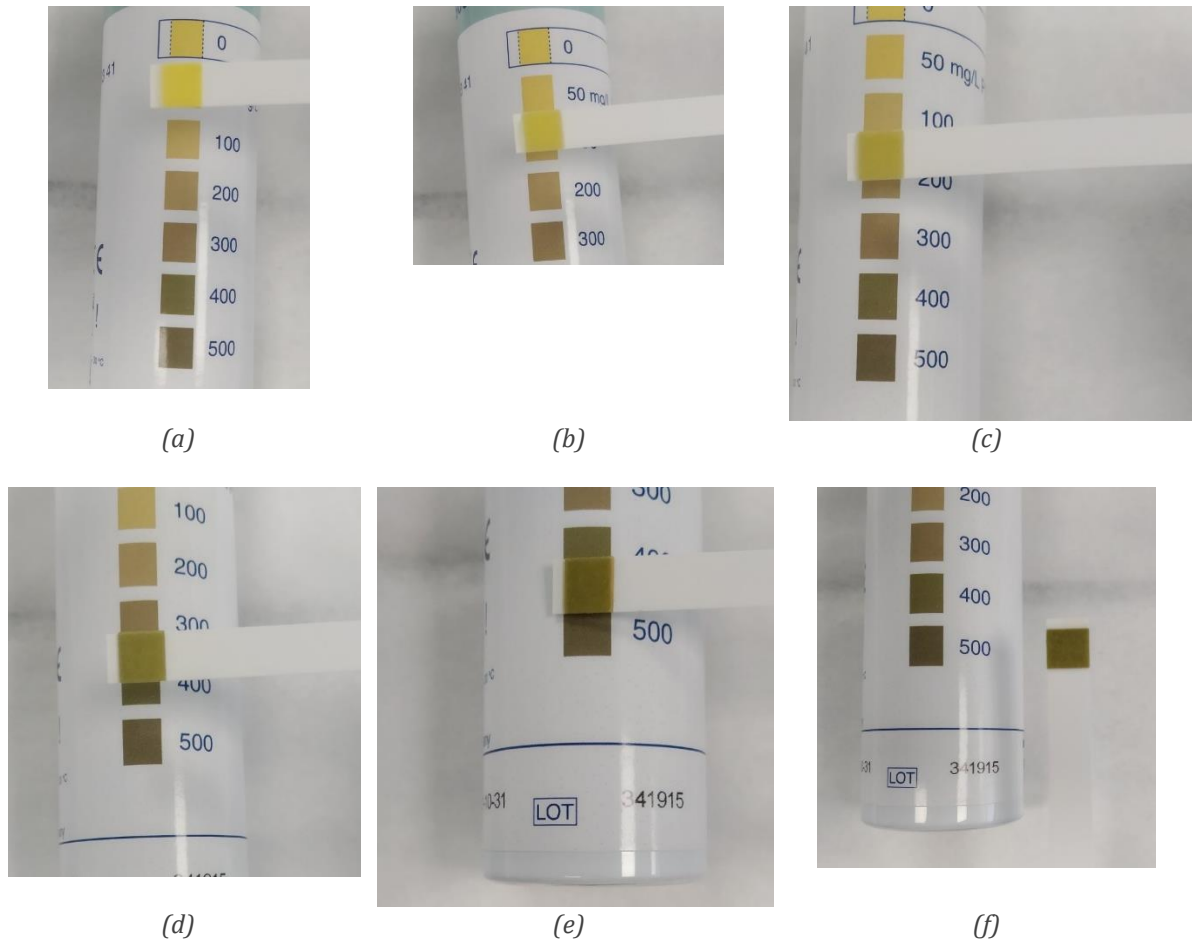


Figura 30: Tires reactives submergides en diferents dissolucions d'àcid peracètic. Només amb aigua (a), una concentració aproximada de 50 mg/l (b), una d'aproximadament 100 mg/l (c), una d'aproximadament 300 mg/l (d), una d'aproximadament 400 mg/l (d) i finalment una amb la concentració esperada en el circuit d'aigua.

Es pot veure que és una mica difícil saber la concentració exacte però ens serveix com un rang orientatiu per saber que la concentració ha arribat al nivell adequat dintre del *loop* i quan s'arriba a l'absència del producte. De totes maneres com que és l'últim pas de la higienització s'haurien de comprovar els paràmetres de l'aigua (conductivitat i pH) per donar per finalitzada aquesta etapa.

7.7 PROCEDIMENT RESULTANT

Una vegada discutits els mètodes i revisats els productes em plantejat un guió pel procediment:

1. Primer de tot omplirem el tanc MP20 amb aproximadament 3 m³ d'aigua osmotitzada
2. Agafarem mostra de l'aigua tan al P1 com al P2 de mostreig per mirar pH, conductivitat i dos anaclins per fer control microbiològic.
3. Afegirem els 90 kg del detergent MIP SCA.
4. Tornarem a agafar mostra al cap de 10 minuts per comprovar que la concentració és l'adequada mirant la conductivitat.
5. Deixarem en recirculació 30 minuts
6. Buidarem tot el circuit i esbandirem amb aigua fins a que la conductivitat de l'aigua torni a ser l'adequada.
7. Comprovarem que el dipòsit MP20 està en el volum adequat i li afegirem els 30 kg de COSA DES.
8. Al cap de 10 minuts, comprovarem, amb les tires reactives, que tenim la concentració del producte.
9. Deixarem recirculant 30 minuts.
10. Esbandirem i comprovarem, amb les tires reactives que no queda producte.
11. Tornarem a agafar aigua per comprovar que tots els paràmetres són els correctes.

8 CONCLUSIONS

Pels resultats obtinguts del control de superfícies i ambiental no es pot establir una relació directa amb la contaminació d'un producte cosmètic, degut a que, tot i que podrien ser una font de contaminació, els resultats han estat, en la seva majoria, per sota dels límits establerts. Si es segueixen unes normes d'higiene tant del personal com de les superfícies de treball, i un canvi regular dels filtres d'aire, en aquest sentit no hauria d'haver-hi problemes.

D'altra banda, el circuit d'aigua és una de les parts més susceptibles de la fàbrica que, tot i estar en continua recirculació i equipat amb làmpades UV, pot ser susceptible a contaminacions perquè no té incorporat cap sistema conservant. Per això, ni que no s'hagi demostrat la hipòtesi de la presència de biofilms en el conducte, és recomanable la higienització rutinària del circuit per poder evitar problemes, ja que és la matèria primera més abundant en els productes produïts per l'empresa Roval Cosmètica. Per fer una higienització completa també s'haurien d'obrir totes les derivacions connectades al *loop* ja que aquestes, no recirculen i si es queden restes d'aigua estancada podrien afavorir l'aparició de colònies microbianes.

Es podria proposar, com una millora del circuit, adaptar un intercanviador de calor per tal que, si en el futur hi hagués problemes, poder fer un tractament més de xoc, com el que va proposar l'empresa Ecolab en primera instància o fer un procediment amb més temps de contacte com el de Betelgeux.

No hem obtingut resultats de la desinfecció ja que per falta de temps no s'ha pogut realitzar abans d'acabar l'estada a l'empresa. Tot i això tampoc hauríem vist resultats immediats ja que com hem pogut veure pel mètode de filtració no obtenim resultats concloents. Es veurien resultats en menys problemes de contaminacions en productes finals o en altres zones de la planta connectats al circuit d'aigua osmotitzada.

Finalment, tot i que els objectius marcats no s'han pogut realitzar en la seva totalitat, s'ha proporcionat un mètode d'higienització perquè es pugui realitzar en un futur proper. Pel que fa el tema de la detecció de biofilms es van trobar diversos mètodes per detecció de biofilms en superfícies però no va ser possible trobar cap mètode per poder detectar-los en sistemes de circuit tancar ja que són mètodes visuals.

9 CONCLUSIONS

For the results obtained from surface and environmental control, a direct relationship with the contamination of a cosmetic product can't be established, since, although they could be a source of contamination, the results have been, for the most part, below the established limits. If hygiene standards are followed by both personnel and work surfaces, and a regular change of air filters, in this sense there should be no problems.

On the other way, the water circuit is one of the most susceptible parts of the factory which, despite being constantly recirculated and equipped with UV lamps, can be susceptible to contamination because it has no built-in preserving system. Therefore, even if the hypothesis of the presence of biofilms in the duct has not been demonstrated, it is recommended the routine sanitization of the circuit to avoid problems, since it is the most abundant raw material in the products produced by the company Roval Cosmetics. In order to do a complete sanitization, all pipelines connected to the loop should be opened as these, they do not recirculate, and if there are remains of stagnant water they could favor the emergence of microbial colonies.

It could be proposed, as an improvement in the circuit, to adapt a heat exchanger so that if there were problems in the future, it could be more shock-free, as proposed by the Ecolab company in the first instance or a procedure with more contact time than Betelgeux's.

We have not obtained disinfection results because it was not possible to complete it before finishing the stay in the company. However, we would not have seen any immediate results since, as we have seen through the filtration method, we do not obtain conclusive results. There would be results in less contamination problems in end products or in other areas of the plant connected to the osmotized water circuit.

Finally, although the stated objectives have not been fully realized, a sanitation method has been provided so that it can be carried out soon. About the subject of biofilm detection, several methods were found to detect biofilms on surfaces, but it was not possible to find any method to detect them in closed circuit systems as they are visual methods.

10 BIBLIOGRAFIA

- (1). REGLAMENTO (CE) No 1223/2009 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO sobre los productos cosméticos. *Diario oficial de la unión europea*. 30 nov. 2009
- (2). UNE-EN-ISO 22716:2008. Productos cosméticos. Guía para las Buenas Prácticas de Fabricación (BPF)
- (3). Cerra María, H.; Fernández, C.; Horak, C.; Lagomarsino, M.; Torno, G.; Zarankin, E. MANUAL DE MICROBIOLOGÍA APLICADA A LAS INDUSTRIAS FARMACÉUTICA, COSMÉTICA Y DE PRODUCTOS MÉDICOS. pp. 40-51
- (4). Lewis, K. Riddle of Biofilm Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2001. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.4.999-1007.2001> . pp 999–1007
- (5). *Industrial Hygiene in the Cosmetic Sector*; German Society for Scientific and Applied Cosmetics e.V. (DGK), Ed.; 2010; pp 90-92
- (6). UNE-EN ISO 21149:2017. Cosmètics. Microbiologia. Recompte i detecció de bacteris aerobis mesòfils.
- (7). Areny-Joval, R.; Cubí Vilarrasa, J. BIOFILMS: Eliminación y Prevención En Instalaciones de Producción de Industrias Cosméticas. *NCP(Noticias cosmética y Perfum*. 2004, pp 5-15
- (8). Reglamento (UE) No 528/2012 del Parlamento Europeo y del Consejo de 22 de mayo de 2012 relativo a la comercialización y el uso de los biocidas.
- (9). Madigan, M. T.; Martinko, J. M.; Bender, K. S.; Buckley, D. H.; Stahl, D. A. *Brock. Biología de Los Microorganismos*; 2015. <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>. pp.648-651
- (10). Madigan, M. T.; Martinko, J. M.; Bender, K. S.; Buckley, D. H.; Stahl, D. A. *Brock. Biología de Los Microorganismos*; 2015. <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>. p.714
- (11). Madigan, M. T.; Martinko, J. M.; Bender, K. S.; Buckley, D. H.; Stahl, D. A. *Brock. Biología de Los Microorganismos*; 2015. <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>. p.185
- (12). UNE-EN 13697:2015. Activitat bactericida i/o fungicida sobre superfícies no poroses. Assaig quantitatiu de superfície no porosa per l'activitat bactericida i/o fungicida dels desinfectants químics utilitzats en productes alimentaris, en la industria... Mètode d'assaig sense acció mecànica i requisits
- (13). UNE-EN 1276:2010. Assaig quantitatiu de suspensió per l'avaluació de l'activitat bactericida de los antisèptics i desinfectats químics utilitzats a l'àrea alimentària, industrial, domèstica i institucional.
- (14). UNE-EN 1650:2008. Assaig quantitatiu de suspensió per l'avaluació de l'activitat fungicida de los antisèptics i desinfectats químics utilitzats a l'àrea alimentària, industrial, domèstica i institucional.
- (15). Sun, P.; Zhang, T.; Mejia-Tickner, B.; Zhang, R.; Cai, M.; Huang, C. H. Rapid Disinfection by Peracetic Acid Combined with UV Irradiation. *Environ. Sci. Technol. Lett*. 2018. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.8b00249> .pp. 400-404

11 ANNEXOS

11.1 ANNEX 1: PLÀNOL I ZONES DE L'EMPRESA

11.1.1 Plànol general de les zones

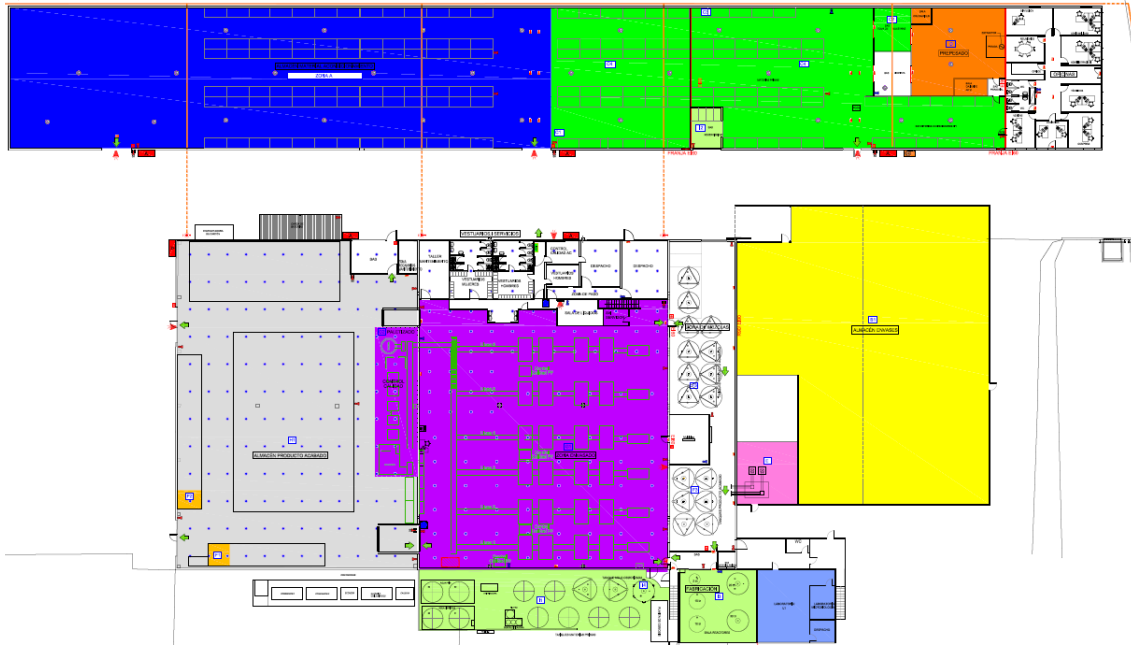


Figura 29: Plànol general de la planta: Zona blau fosc (Zona A), zona verda (Zona C), zona taronja (Zona D), zona lila (Zona G), Zona verd clar (Zona I) i zona blau clar (Zona L)

11.1.2 ZONA C i D

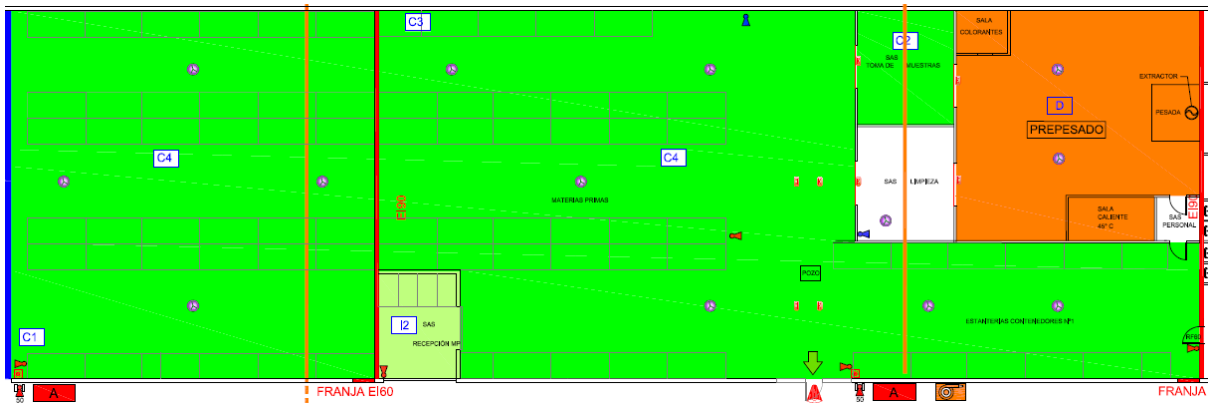


Figura 30: Magatzem de matèries primeres (Zona C) i zona de premescla i pesat de matèries primeres (Zona D)

11.1.3 ZONA DE PRODUCCIÓ I ENVASAT (G)

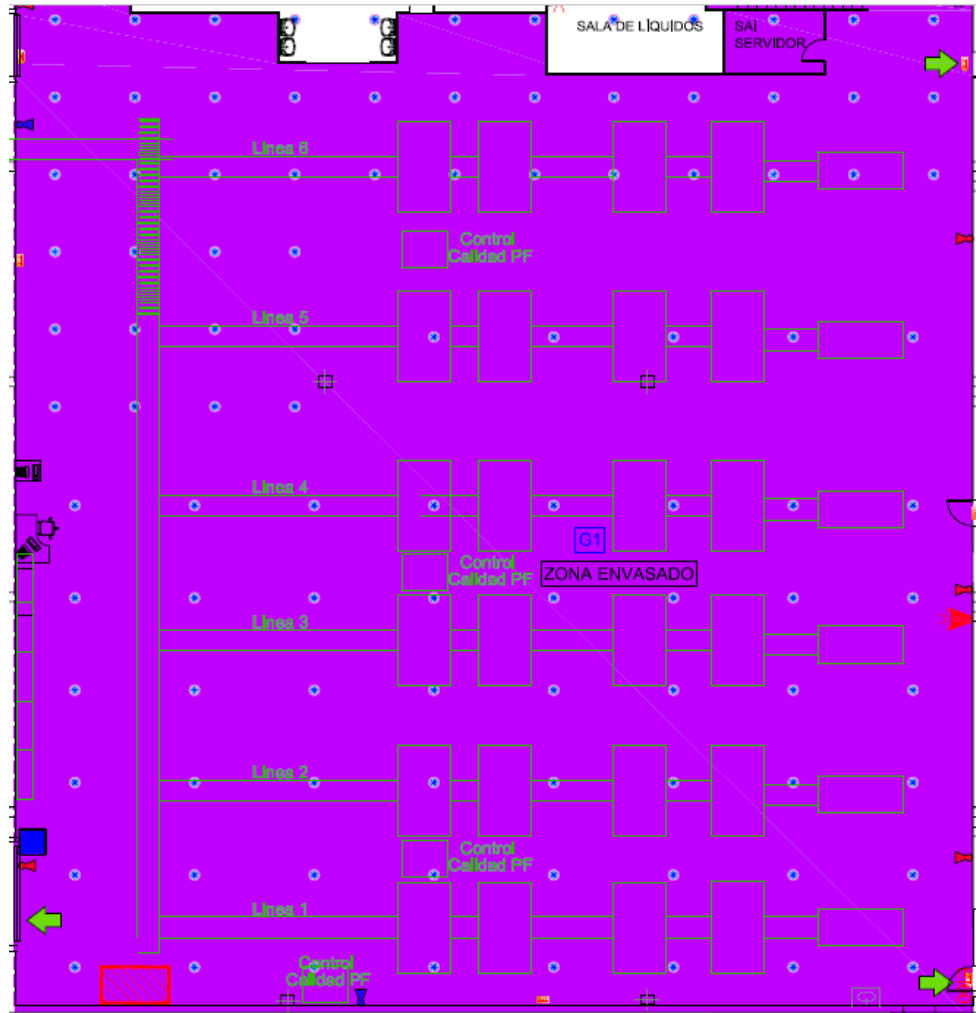


Figura 31: Zona d'envasat del producte final (Zona G)

11.1.4 ZONA DE LABORATORI I FABRACIÓ

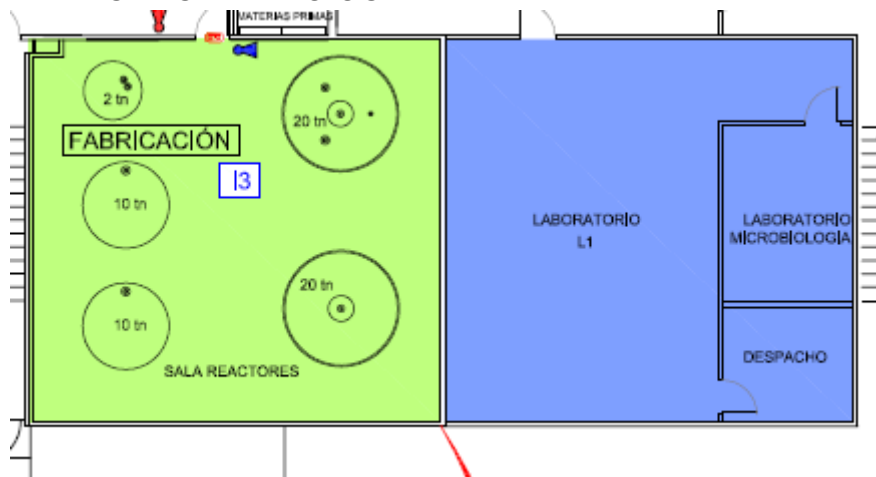


Figura 32: Zona de fabricació (Zona I3) i zona del laboratori físic químic i de microbiologia.

11.2 ANNEX 2: PUNTS DE MOSTREIG DE L'AIGUA DE L'ANELL DE RECIRCULACIÓ: P1 I P2

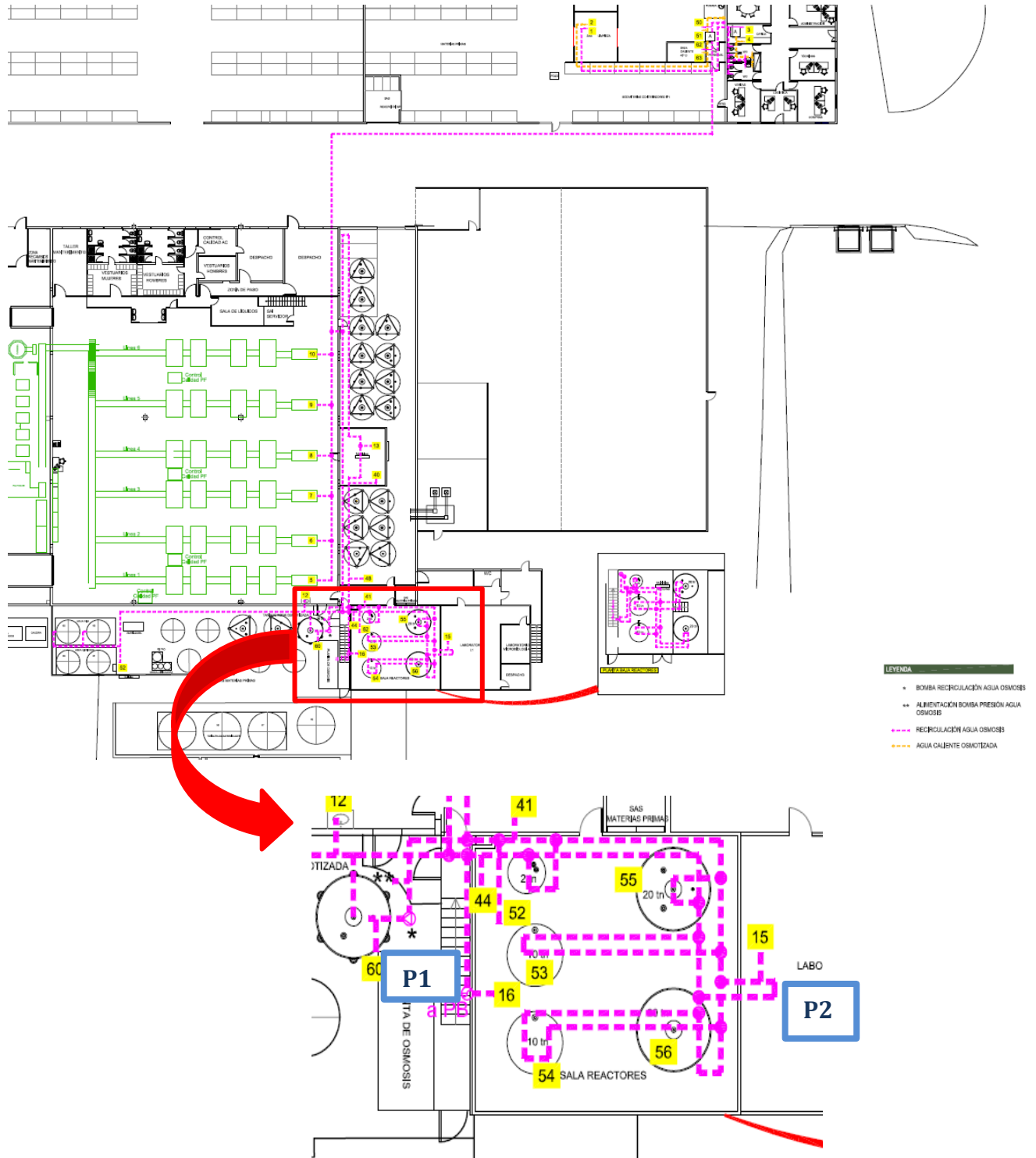


Figura 33: Punts de mostreig (P1 i P2) indicats dintre d'un requadre blau. Puntejat de color rosa circuit d'aigua osmotitzada dintre de la planta (loop)