

Baktériumok szaporodása különböző anyagokon.

Dipl.-Ing. Eckhard Voß , Wendel GmbH.

Dipl.-Ing. Christian Störch, Herborn

(Email-Mitteilungen, 2/2008)

(Fordította: Dr Való Magdolna)

1. Bevezetés

Az előadás az ezüsttartalmú zománc hatásosságával foglalkozik. Az ezüsttartalmú zománcot a nemesacéllal, a kerámiával és a műanyaggal hasonlítjuk össze. Emellett megvizsgáljuk egy nano-bevonat hatását a zománcra. („Crystal Guard” a Chemetall cégtől) Ezeket az anyagokat a háztartásban különösen mosogatókhoz és nyilvános berendezésekhez alkalmazzák. Jelentős alkalmazási területe a zománcnak a bojler is, amelyek ivóvíz felmelegítésre szolgálnak. Különösen ezen a területen lehet előnye a baktérium-szaporodás meggátlásának. Az ivóvíz, amely az ellátási hálózatban szerepel, éppen bakteriológiailag ugyan nem kifogásolható, de mégis a vezetékekben, illetve a bojlerben való hosszabb tartózkodás által, mikroorganizmusokban szaporodik. Az ezeken képződő biofilmekben felraktározódnak a baktériumok, és a szokásos fertőtlenítő szereknek ellenállnak. A kísérletekhez két jelzőcsírat alkalmaztunk: *Enterococcus faecium*/ *Escherichia Coli*, valamint egy tipikus vízcsírat, a *Pseudomonas aeruginosa*-t.

2. Mikroorganizmusok

2.1 Csíraredukció

Alapjában véve az eljárást a mikroorganizmusokra való káros hatásukra vonatkoztattuk. Annak érdekében, hogy a módszerrel teljes csíramentességet érjünk el, azt sterilizációként jellemeztük. A dezinfekcióval csíraszám csökkenés van összekapcsolva, ami gátolja a fertőzést. Különbséget kell tenni a baktericid intézkedések, amelyek a csírák elpusztulásához vezetnek, és a baktériumgátló eljárások között, amely csak a szaporodást akadályozza meg. Ezeket túlnyomóan az élelmiszerek konzerválásánál és a kozmetikában alkalmazzák.

Egy módszer hatásosságát az „RF” rövidítéssel jelzik, és a végkoncentráció csökkent sebességfokozatának számával adják meg. Tisztítással 0,4-től 1 RF-ig tartó redukciós hatás érhető el. Egyes esetekben ez az eljárás már kielégítő. Tisztítást kell alkalmazni fertőtlenítés illetve sterilizáció előtt.

A mikroorganizmusok fizikai behatásokra olyan mértékben károsodhatnak, hogy többé nem reprodukálhatók illetve elpusztulnak.

A termikus eljárásokhoz számítjuk a száraz meleg alkalmazását meleg levegős szekrényben, vagy túlhevített gőz használatát autoklávban. Az említett módszerek olyan hatásosak, hogy redukciós hatással számolhatunk, amely a sterilizáció előírásának megfelel. Ha a fertőtlenítés elegendő, az anyagot ki kell főzni vagy 100°C -ú gőznek kitenni. Élelmiszereknél többnyire a pasztörizálási eljáráshoz fordulnak, amelynél a hőmérséklet a választott módszernek megfelelően $62\text{-}150^{\circ}\text{C}$, különböző hosszúságú időtartammal. Ezek a módszerek kompromisszumok a csíra mentesség és az élelmiszer eredeti tulajdonságainak megtartása között.

Emellett lehetőség van energiagazdag sugárzással eliminálni a mikroorganizmusokat. Ez lehet UV sugárzás különleges lámpa által, vagy radioaktív anyag ionizáló sugárzásának alkalmazása.

Folyadékokat lehet szűréssel és ozmosis berendezéssel megszabadítani a mikroorganizmusoktól. Ezeket az eljárásokat is a fizikai módszerekhez számítjuk.

A kémiai fertőtlenítőkhez soroljuk az oxidálószerket, mint az ózon, káliumpermanganát és a hidrogén-peroxid. Ezek a szerkezeti- és az enzimprotein oxidációja által hatnak toxikusan a sejtekre. Ennél különösen az enzimprotein SH-csoportjai oxidálódnak, és így a sejtek már nem állnak rendelkezésre.

A klór és a többi halogének az oxidálószernek különleges csoportját alkotják. Ezen túlmenően a lúgok, mint pl. a káliklór és a nátronlúg, fertőtlenítőként hatnak.

Felületek és eszközök fertőtlenítéséhez alkalmasak az aldehidek és az alkohol.

2.2 Az ezüst hatása.

Már 2500 éve alkalmazzák az ezüstöt betegségekkel szembeni küzdelemben és az ivóvíz konzerválásához. Ismeretes, hogy Cyrus perzsa király a felforralt vízkészletét ezüsthordókban szállította, hogy a romlástól megvédje. Kb. 100 évvel ezelőtt kezdték el Európában az ivóvizet bakteriológiailag ezüsttel előkészíteni. A költségek miatt azonban eltértek attól, hogy a nagy ivóvíztartályoknál ezt a módszert alkalmazzák. Ma többnyire ezüstadagolást csak az ivóvíz mobil alkalmazásánál használják, pl. tropikus országokban való utazásnál, vagy tartályokba töltött ivóvíznél vonatokon, vagy hajón. Időközben olyan készítményeket fejlesztettek ki, amelynél a klór gyors hatását az ezüst konzerváló hatásával kombinálták. Az ezüst baktériumölő befolyása már

nagyon kis koncentrációban is érvényesül. A mikroorganizmusok meggátlása illetve elpusztítása az által jön létre, hogy szabad ezüstionok képződnek. Ezek adszorbeálódnak a sejtek felületén, és az enzimek és a proteinek SH csoportjával reagálnak. A proteinek ezzel denaturálódnak. A megzavart enzim tevékenység által az anyagcsere lefékeződik, ilyen állapotban visszafordíthatatlan károsodás lép fel.

Feng nagyon hatásosan mutatta ki az ezüst második hatását az *E. coli* és az *S. aureus* mikroorganizmusra. A nemesfém befolyására a sejtfal citoplazma membránja feloldódik, és látható lyuk keletkezik. A sejt közepe majdnem transzparenssé válik, és láthatóvá lesz a közepén lévő DNA. A bakteriális sejtek megkísérlik kivédeni az ezüst hatását, de ebben a helyzetben nem képesek magukat reprodukálni. Az ezüst mellett még a réz, a higany és a kadmium mutatja ezt a képességet. Ezeknek azonban megvan az a hátrányuk, hogy az ember számára mérgezőek, illetve hatásuk nem olyan erős, mint a nemesfémé. Az ezüst ionok általában alkalmazott koncentrációja mellett még semmiféle káros hatás nem lép fel az emberi szervezetre.

Az ezüstnek a klórozottsággal szemben megvan az az előnye, hogy a víz ízét és illatát nem rontja le, és alkalmazásánál semmi melléktermék nem keletkezik, amely az ember egészségét befolyásolná.

A víz előkészítésénél lehetséges a nemesfémeket szűrővel vagy ioncserével adagolni, ez történik, pl. a Katadyn® filternél.

Emellett megvan a lehetőség arra, hogy feszültség forrással szabad ezüst ionokat állítsunk elő.

Mint ahogyan más kémiai és bakteriális folyamatnál, itt is gyorsítható a hatás a hőmérséklet növelésével. A közeg szerves anyagai viszont csökkenthetik a fém hatássűrűségét.

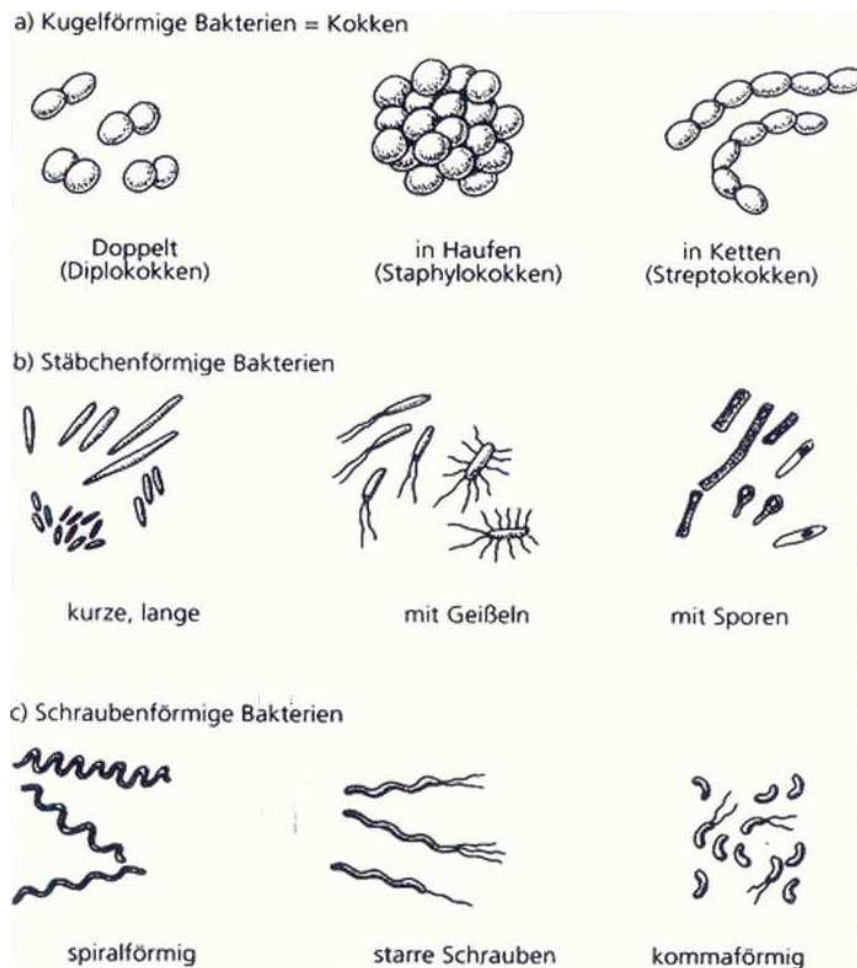
2.3 Általános mikrobiológia

A baktériumok egysejtű élőlények, amelyek nagysága 0,5 – 5 µm. Ezeket a prokariotok közé sorolják, azaz egy valódi sejtmag helyett, amelyik membránnal van körülvéve, ezeknek nukleoidjuk van. Ez szabadon helyezkedik el a citoplazmában, és nem fogadja be a genetikai információkat. Hiányoznak a sejtorganellek, mint pl. a mitochondriumok, amelyek az emberi sejtben léteznek

2.4 Morfológia

A sejtek alakja lehet gömbforma, ekkor coccusokról, ha hosszúkasak, akkor pálcikákról beszélünk. Lehetnek csavarosak (spirochéták) vagy vesszőalakúak.

Ha a gömbformájú baktériumok halmazzá alakulnak ezeket staphylococcusoknak nevezik. Ezzel szemben a streptococcusok gyöngyszerűen sorakoznak egymás mellé.



1. ábra

2.5 Mikroorganizmusok és az ivóvíz kapcsolata

Emberi és állati ürülékkel kerülhetnek a betegség kórokozói a környezetbe. Ezek különböző ellenállóképességgel viseltetnek a körülvevő közeg pH értékével, az uralkodó hőmérséklettel és az UV sugárzással szemben. Ha a talaj szűrőképessége nem kielégítő, a csírák a talajvízbe kerülhetnek és ezzel az ivóvíznyerő berendezésbe. Az ivóvíz által terjedő betegségek közé soroljuk a kolerát, a tífuszt és a coli törzsek általi fertőzést.

2.6 Biofilmek

3. Anyagok és módszerek

3.1 Baktériumtörzsek

3.2 Vizsgálati edények

Fehér zománc ezüsstel

A vizsgálati edényt (lásd 2. ábra) 1 mm-es acéllemezből állítottuk elő, belső átmérője 73 mm. Így a fenék felülete 4190 mm^2 . A beletöltött folyadék mennyisége 20 ml, amely betölti a teljes felületet, a baktérium szuszpenzióval érintkező felület így 5290 mm^2 . A vizsgált felület fehérre zománcozott.



2.ábra
Vizsgálati edény ezüstartalmú zománccal

Fehér zománc ezüst nélkül

Az edény mérete nem különbözik az ezüst tartalmú zománccal bevont edény méretétől. Az érintkező felület itt is 5290 mm^2 . Az alkalmazott fehér zománc a mosogatókra használt zománc.

Fehér zománc ezüsstel és „Crystal Guard” bevonattal

Ez az edény optikailag nem különbözik a fent említettektől, ezért nem szerepel az ábrán. A fehér zománc a mosogatók zománca..

Fehér zománc ezüst nélkül és „Crystal Guard” bevonattal

Ez a zománc is a mosogatók zománca., optikailag nem látszik különbség az előzőtől.

Nemesacél

A nemesacél edény (lásd **3. ábra**) méretei azonosak, eltérően attól a csekély változástól, amit a hiányzó zománcfelület okoz. Az anyag jele ST 4301, ennek az anyagnak krómtartalma 18%, nikkeltartalma 8,9% és mangántartalma 1%.



3. ábra
Vizsgálati edény nemesacélból ST 4301

Műanyag

A sötétszürke anyagot (lásd **4. ábra**) egy horvát gyártó készíti „Kerrock” néven. Ez az anyag a német hatósági vizsgálatok szerint alkalmas élelmiszerekhez. Méretei az előzőekkel azonosak.



4. ábra
Vizsgálati edény műanyagból

Kerámia

Negyedik anyagnak a kerámiát választottuk (**lásd 5. ábra**) Méretei azonosak az előzőekkel, felülete mázzal bevont.



5. ábra
Vizsgálati edény kerámiából

4. Módszerek

4.1 A vizsgálati edények előkészítése

A vizsgálatok elvégzése előtt az edények forró vízzel, végül desztillált vízzel öblítettük le.

Steril körülmények elérés érdekében a fém és a kerámia edényeket 2 órára 180°C hőmérsékletű szekrényben tartottuk. A korlátolt hőstabilitása miatt a műanyag edényt autoklávba helyeztük. 1 bar túlnyomás mellett 30 perc alatt 121°C hőmérsékletet ért el. A levegőben lévő csírák kivédése miatt mindegyik edényt üveg petricsészével fedtük le. A fedőt minden alkalmazás után leöblítettük és 180°C-on sterilizáltuk. Az edényeket megvédtük a csírák és a por hozzáférésétől.

4.2 A vizsgáló szuszpenzió betöltése

Annak érdekében, hogy mindegyik kísérletnél azonos kezdeti koncentrációt érjünk el a tápközeg kolóniát egy steril tamponnal vettük fel, és 4,5 ml standard keménységű vízzel, egy reagens üvegbe vezettük. A szuszpenziót Vortex rázóeszközzel homogenizáltuk, és szükség szerint hígítottuk a kívánt 0,5 McFarland – standard beállításához. Erre szolgált a Becton Dickinson cég eszköze. A baktériumok koncentrációját, amely az előkísérletek során alkalmasnak bizonyult, további hígítással értük el, és egy üvegedénybe töltöttük. Ez az anyagok számának megfelelően 600 illetve 900 ml volt. Ezzel biztosított volt, hogy a baktérium szuszpenzió minden próbaedényben

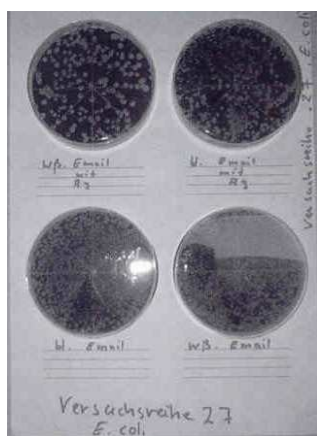
azonos koncentrációjú, az üvegedényt minden kivétel előtt alaposan összeráztuk. Ezután steril üvegpipettával 20 ml-t kivettünk, az edény üvegtetejét könnyedén megemeltük és a folyadékot beletöltöttük. Miután minden edényt megtöltöttünk, ezeket 20°C-os termosztátba helyeztük.

4.3 Próbavétel

Konstans körülmények között eltöltött 24 óra után az edényeket rázókészülékbe tettük a szuszpenzió homogenizálására. A rázógép 125 perc⁻¹ fordulatszámmal dolgozott, emellett az egyes edényekben egyértelműen meg lehetett figyelni a hullámmozgást. A napfény UV sugárzása nem befolyásolhatta az eredményt, az edények a homogenizálás alatt fedve voltak. Pontosan 10 perc után az első edényt a laborasztalra helyeztük. Az üvegfedőt csak kissé leemeltük, és az esetleg még rátapadt baktériumot 200 µl-es Eppendorf pipetta steril csúcsával leválasztottuk. Ehhez a szuszpenziót felszívtuk és újra visszafolyattuk. Ezt az eljárást 3-4-szer megismételtük. Végül az edényből kétszer 200 µl folyadékot kivettünk, a próbákat egy DST agar lapra helyeztük, és egy steril nemesacél spatulával szétosztottuk. A táptalajokat 24 órára 37°C hőmérsékleten tartottuk. A próbavétel után a megmaradt vizsgálati szuszpenziót Erlenmeyer lombikban fertőtlenítettük, a megmaradt organizmusok eliminálására.

4.4 A táptalajok osztályozása.

A 37°-os inkubátorban töltött 24 óra után a táptalajokat kivettük, és sötét alpra helyeztük, ami megkönnyítette a megnövekedett kolóniák leolvasását. A kolónia gyarapodását a teljes táptalajon megszámoltuk.

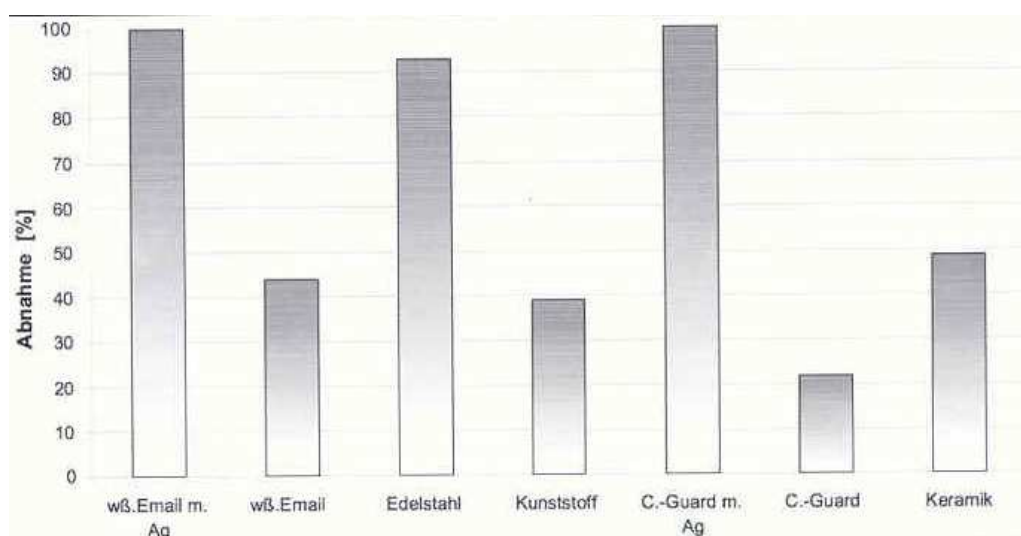


6. ábra

5. Eredmények

5.1 Escherichia coli 48 órás tartózkodási idő után (7. ábra)

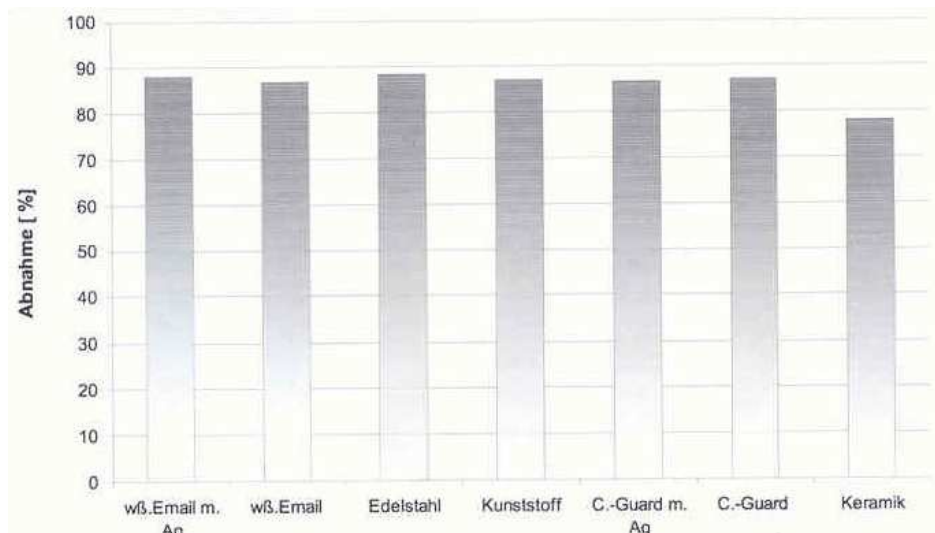
Az ezüstartalmú zománcnál megállapítottuk, hogy 2 nap után a csírák 98 %-a elpusztult. Az ezüst nélküli zománcnál ez 44,2% volt. A nemesacél edényben 48 óra után a csírák 93 %-a már nem volt tenyészthető. A műanyag edényben az érték 39 % volt. A második ezüstartalmú anyagnál, „Crystal-Guard”, a kezdeti koncentráció csökkenése 100 % volt, ezüstadalék nélkül ez csak 22,0 %. A kerámia edényben a csökkenés 48,8 % volt.



7. ábra
Escherichia coli sejtsűrűségének csökkenése 48 óra után

5.2 Enterococcus faecium 48 órás tartózkodási idő után. (8. ábra)

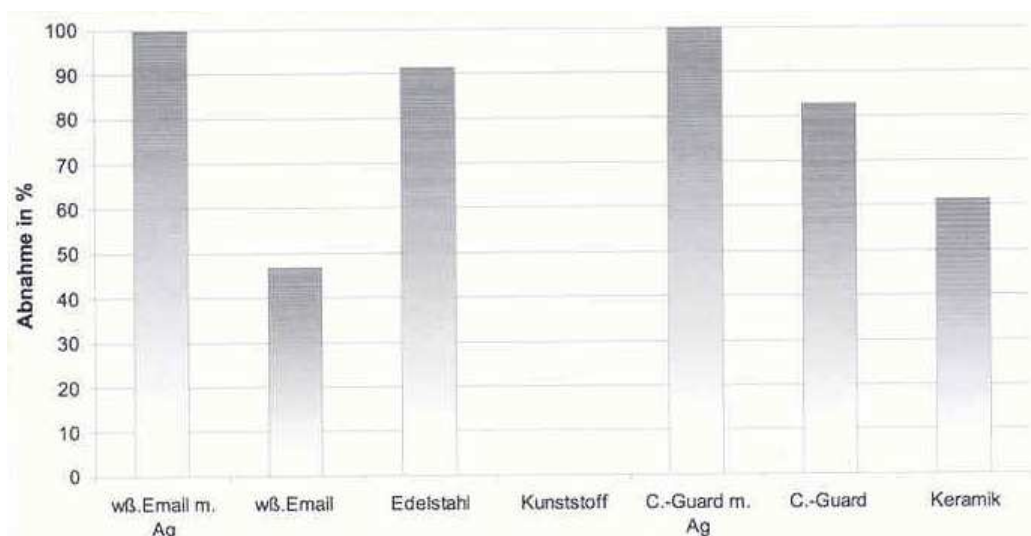
A sejtsűrűség csökkenése az ezüstartalmú zománcedényben 48 óra után 88,1 %. A fehér zománcfelületű edénynél 86,8 %-ot értünk el., a nemesacél felületnél 88,5 %, műanyagnál 87 %-ot. Csak jelentéktelen mértékben csökkent az érték az ezüst adagolású Crystal-Guard zománcnál. Ugyanez az anyag ezüst nélkül 87,1%-ot ért el. Kerámia edénynél a csökkenés csak kevéssé alacsonyabb. A baktériumok minden felületnél csak csekély túlélési képességet mutattak. Az ezüstartalmú zománc nem vezetett nagyobb koncentráció- csökkenéshez.



8. ábra
***Enterococcus faecium* sejtsűrűségének csökkenése 48 óra után**

5.3 Pseudomonas aeruginosa 48 órás tartózkodási idő után (9. ábra)

Az ezüsttartalmú zománc edényében a mikroorganizmusok száma 99,7%-kal csökkent. A fehér zománcnál hasonló idő alatt 46,1 %-kal. A nemesacél edényben ez az érték 91,3 % volt. A műanyag edényen minden kísérletnél feltűnő növekedés történt, számszerűen kiértékelhetetlen volt. A két ezüsttartalmú anyag 100 %-os csökkenést mutatott, a legtöbb esetben nem volt lehetséges a kolónia tenyésztése. A „Crystal-Guard”jelzésű anyagnál 82,8 % volt megállapítható. A kerámia edényben 61,3 % volt. Különösen ez az emberre veszélyes csíra mutatta az ezüsttartalmú zománc pozitív hatását.



9. ábra
***Pseudomonas aeruginosa* sejtsűrűségének csökkenése 48 óra után**

6. Összefoglalás

Ha abból lehet kiindulni, hogy az ivóvíz a hálózatba való betáplálásnál a határértékeknek megfelel, mégis egy bizonyos öregedésnek van kitéve, amíg a fogyasztóhoz ér. Így pangás vagy a baktériumoknak és a szerves anyagoknak a biofilmből való felszabadulása által, a drága élelmiszerek károsítása léphet fel. Mivel a legcsekélyebb tápanyagnál is számolni kell biofilm képződéssel, helyes lehetne olyan anyag alkalmazása, amely legalább a baktériumok tapadását megnehezíti. Ezekben a vizsgálatokban, amelyekkel különböző anyagfelületekkel érintkező ivóvizet szimuláltunk, érdekes eredményeket kaptunk. Ezzel meg lehetett állapítani a baktériumok túlélő képességét néhány anyag esetén. Az eredmények minden zománcozott termékre vonatkozóan érdeklődésre tarthatnak számot.

A gramnegatív *Escheria coli* és a *Pseudomonas aeruginosa* baktériumnál az ezüst-tartalmú zománcnak erős csíragátló hatása van. A grampozitív *Enterococcus faecium*nak minden felületen csekély élettartama van, az ezüst lényegesen nem befolyásolja. A 4301 nemesacél csíragátló hatású, de ez mindenképpen kisebb, mint az ezüstartalmú zománcé. A műanyag jelentős mértékben növeli az emberre veszélyes *Pseudomonas aeruginosa* szaporodását. A mázas kerámia és a normál titánzománc nem mutat különös hatást a csírákra. Hidrofób nanobevonat nem mutat egységes viselkedést. Különös csíragátló hatás itt nem ismerhető fel.

Ezzel a munkával egy állami intézetben egyértelműen bizonyítást nyert az ezüst tartalmú zománc csíra redukáló hatása mindkét gramnegatív vizsgálati csírára vonatkozóan. A zománcozott felület pozitív tulajdonságai ezzel a lehetőséggel tovább javíthatók, és számos terméknel alkalmazhatók.