

Gıda Sanayiinde Kullanılan End-Bac'ın Bakterisidal ve Fungusidal Aktivite Tayini Üzerine Bir Araştırma

Nur YÜKSEK* Ersin YEMNİ* Ertan GÜNEŞ*

Geliş Tarihi: 30.11.2000

Özet: Bu çalışmada gıda sanayiinde kullanılan bir Kuaterner Amonyum Bileşiği (KAB) olan End-Bac'ın bakterisidal ve fungusid etkisi araştırıldı.

Araştırmada dezenfektan maddeler için; AOAC süspansiyon test ve Carrier test kullanılarak fenol katsayıları hesaplandı. Bu amaçla End-Bac'ın etkili olduğu bilinen 4 adet test suşu (Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Salmonella typhi), 1 adet küf (Aspergillus niger) ve 1 adet maya (Candida albicans) kullanıldı. End-Bac'ın % 0.5 konsantrasyondaki çözeltilerde 5-10 dakika içerisinde ilgili mikroorganizmalar üzerine etkili olduğu saptandı.

Anahtar Kelimeler: Gıda endüstrisi, dezenfektanlar, bakterisidal ve fungusidal aktivite.

Studies on the Bactericidal and Fungucidal Activity of End-Bac In Food Industry

Summary: In this study, bactericidal and fungucidal activity of End-Bac, a Quarternary Ammonium Compound (QAC) in disinfectans, phenol coefficient methods were calculated by using the AOAC suspension test and Carrier test. In this experimental work strains of bacteria namely Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Salmonella typhi and mould Aspergillus niger and yeast Candida albicans were used. All the test bacteria and fungi used in the study were destroyed in End- Bac solution prepared in 0.5 % concentration in 5 to 10 minutes.

Key Words: Food Industry, disinfectans, bactericidal and fungucidal activity.

Giriş

Gıda endüstrisinde sanitasyon, insan yaşamının temelini teşkil eden beslenme ihtiyacının karşılanmasında, fiziksel, kimyasal ve biyolojik yönden güvenilir nitelikte gıda maddeleri üretimini ifade ettiği bildirilmektedir.

Gıda hijyeni, gıdanın üretimi, depolanması ve tüketiminin sağlığa uygun koşullarda yapılması olarak tanımlanmaktadır.^{2,6}

Hijyenik koşullarda ve sanitasyonun önemi bilinerek gerçekleştirilen üretim sonunda, gıda maddelerinin raf ömürlerinin uzatılacağı, sağlıklı ilgili risklerin oluşamayacağı ve gıda

işletmelerinin veriminin artacağı ileri sürülmektedir. Aksi takdirde, gıda kaynaklı mikrobiyal bozulma sonucu enfeksiyon ve intoksikasyonlar, insan sağlığını etkileyerek aynı zamanda ekonomik kayıplara yol açacağı bildirilmektedir.^{2,4,6,12}

Genellikle gıda işletmelerinde temizleme ve dezenfeksiyon işlemlerinin, 8-12 saatlik aralıklarla gerçekleştirilmesi önerilmektedir.²

Temizleme, dezenfeksiyon öncesi uygulanan bir dekontaminasyon yöntemidir. Bu aşamada organik materyal ile mikroorganizmaların % 90'ı giderilebilmektedir. Böylece dezenfektanların daha etkili olmaları

* Uludağ Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu, Gıda Teknolojisi Programı, BURSA.

sağlanmaktadır. Alkali ve asit karakterdeki temizlik maddeleri, kombine temizleyiciler, deterjan, sabunlar ile solvent içeren temizleyiciler bu amaçla kullanılabilirlerdir.^{2,6,10-12,15}

Temizlik işlemini takiben uygulanan dezenfeksiyon işleminde esas olarak, sağlığa zararlı olmayacak şekilde kimyasal ve fiziksel yöntemler uygulanarak mikroorganizma sayısını en aza indirmek amaçlanmaktadır.^{4,6,10,12}

Günümüzde gelişen teknolojiler ile birlikte oldukça etkili kimyasal dezenfektanlar gıda endüstrisinde kullanılmaktadır. Gıda endüstrisinde kullanılan kimyasal dezenfektanların başlıcaları şunlardır.^{6,10,12,14,15}

1. Kuaterner Amonyum Bileşikleri (KAB)
2. İyotlu ve klorlu bileşenler (Halojenler)
3. Fenol ve türevleri
4. Deterjan ve dezenfektan özelliklere sahip amfoterik bileşikler (Biquanidinler)

Optimum koşullarda dezenfektanların 2 dakika içinde etkili olduğu bilinmektedir. Olumsuz koşullar da göz önüne alınırsa, bu temas süresinin 10 dakika olacak şekilde ayarlanması önerilmektedir.

Dezenfektanların 21-38°C'ler arasında en yüksek aktiviteyi gösterdiği bilinmektedir. Bu yüzden dezenfektanların günlük olarak hazırlanması ve aktivite tayini yapılması gerekli görülmektedir.²

Klorlu dezenfektanlar, ucuz ve kullanımı kolay olmasından dolayı geniş kullanım alanı bulmaktadır. Fakat bunların gıdalarda renk değişimine neden olduğu ve metallerde korozyon yaptığı için dezavantajlı olabilmektedir. Bu nedenle temas süresinin 20-30 dakikayı geçmemesi önerilmektedir.^{2,6,10,14}

İyodoforlar, fosforik asitle aktivitesi arttığı için birlikte kullanılmaktadır. Klorlu bileşiklere göre organik madde varlığında daha stabil olduğu bilinmektedir. 50-70 ppm serbest iyot çözeltisinin uygun kullanım olduğu bildirilmektedir. 50°C üzerinde ise aktivite kaybı söz konusu olabilmektedir.^{2,6,14}

Son yıllarda biquanidinler, KAB ve amfoterik dezenfektanların kullanımı önem kazanmıştır.^{11,12} Sanitasyondan sonra kontaminasyonu önleme, düşük toksisite gibi özelliklere sahip olduğu ve ayrıca yüzeyleri % 0.5'lik KAB ile bütün bir gece bekletmek sureti ile başarılı sonuçlar alındığı bildirilmektedir. Özellikle Gr

(+) bakterilere karşı etkili, Pseudomonas aeruginosa'ya karşı ise hassasiyetinin az, virüslere inaktif, fakat bazı fungusid (Candida ve Aspergillus) türlerine ve protozalara karşı etkili olduğu bilinmektedir. Bu bileşikler çoğunlukla taban, döşeme ve ekipman dezenfeksiyonunda kullanılmaktadır. Gıda ile temas eden yüzeylerde kullanımı uygun değildir. Başlıca avantajları ise organik maddelerle reaksiyona girmemeleri, yüksek pH ve sıcakta etkinliklerini gösterebilmeleri, deri ve mukozalarda tahrişe neden olmamaları sayılabilirlerdir.^{2,6,12,14}

KAB bakteri hücre zarını tahrip ederek içeri girmekte ve etkisini göstermektedir.^{2,6,14}

Gıda endüstrisinde yerinde temizlik sistemi (Clean In Place = CIP) ile sanitasyon sağlanmaktadır. Uygun temizlik maddesi ile kapalı sistemlere ulaşmak mümkün olmaktadır.^{2,10}

Bu çalışmamızda gıda hijyeninde önemli olan Echerichia coli, Salmonella typhi, Bacillus cereus, Staphylococcus aureus, Candida albicans ve Aspergillus niger gibi bakterilere karşı etkili olduğu bilinen, bir KAB bileşiği olan ve gıda endüstrisinde kullanılan End-Bac'ın bakterisidal ve fungusidal aktivitelerini araştırmayı amaçladık.

Materyal ve Metod

Çalışmamızda Johnson firmasından sağlanan ve bir KAB bileşiği olan End-Bac'ın dezenfektan etkisi, AOAC Fenol Katsayısı Yöntemi¹ uygulanarak aşağıdaki test suşları üzerinde denenmiştir. Test suşları olarak kullanılan; Escheri-chia coli, Salmonella typhi, Bacillus cereus, Staphylococcus aureus, Candida albicans, Asper-gillus niger Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalından sağlanmıştır.

Bu amaçla; Nutrient Agar'daki her bir test suşundan 5'şer koloni alınmış 37°C'de 18-24 saat Nutrient Broth besiyerine pasajı yapılarak canlandırılmıştır. Bu süre sonunda 24 saatlik her bir test suşu için 4 ayrı deney tüpüne 9.9 ml Nutrient Broth ilave edilerek 0.1 ml'lik ekimler yapılmış ve 10⁻⁶-10⁻⁸ kob/ml olacak şekilde sulandırılmıştır.

Süspansiyon Testi

Deney standart koşullarda uygulanmıştır. Özet olarak deney şu şekilde yapılmıştır.

- Deney tüplerinde 20°C'deki steril distile suda 5'er ml olarak fenolün 1/95, 1/100, 1/110 ve 1/115'lik çözeltileri ve etkinliği tayin edilecek dezenfektanın da düşünülen etki şiddetine göre çeşitli sulandırılmaları (1/100, 1/200, 1/400, 1/800 ve 1/1600) yapılmıştır.
- Deney sırasında gerek fenolün gerekse deneye alınan dezenfektanın her sulandırımından besiyerlerine 4'er ekim yapılacağından her sulandırımın arkasına tüp taşıyıcısı deliklerine 4'er adet sıvı besiyeri konarak etiketlenmiştir. Etiketlerde ekimin fenol ve dezenfektana ait olduğu, hangi dakikaya ait bulunduğu yazılmıştır. Örneğin, fenolün 1/95'lik sulandırımından 5'inci dakikada ekim yapılacak besiyeri tüpü üzerine F/95/5, dezenfektanın 1/100'lük sulandırımından 2.5 dakikada ekim yapılacak besiyerine D/100/2.5 v.b. işaretler konmuştur.
- Test suşunun sıvı besiyerindeki 18-24 saatlik kültüründen birinci fenol sulandırımına (1/95'lik) 0.2 ml kültür konarak kronometreye basılmıştır. 30 saniye sonra ikinci tüpe (1/100'lük) 0.2 ml ve her 30 saniyede bir sıra ile diğer fenol sulandırım tüplerine aynı kültürden 0.2'şer ml kültür konmuştur. 5'inci tüpe kültür konulduğunda başlangıçtan itibaren 2 dakika süre geçmektedir.
- Her sulandırımdaki fenollü ortamdaki test suşlarından 2.5, 5, 7.5 ve 10'uncu dakikalarda ayrı besiyerlerine ayrı ekimler yapılarak bu süreler sonunda fenolün test suşlarına olan bakterisidal ve fungusidal etkisi araştırılmıştır. Ekimler çapı 4mm olan standart öze ile yapılmıştır. Zamanlamayı takip etmek için ara vermeksizin çalışılmıştır.
- Fenollü ekimler tamamlandıktan sonra etkinliği denenecek dezenfektanın uygun sulandırılmaları için aynı deney tekrarlanmıştır.
- Bu işlemlerin sonunda gerek fenolün gerekse dezenfektanın her sulandırımına konulan belli sayıdaki bakterilerin bu eriyiklerde 2.5, 5,7.5 ve 10 dakika bekletilmelerinden sonra alınan örnekler besleyici ortama aktarılmışlardır. Tüm ekimler çalkalandıktan sonra, buradan içinde 20 ml Nutrient Agar bulunan petri kutularına öze ile ekim yapılarak 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Üreme gösterenler (+),

göstermeyenler (-) olarak işaretlenerek çizelge halinde yazılmıştır.

- Fenol Katsayısının Hesaplanması: Dezenfektanın ve fenolün hangi sulandırılmalarında 2.5 ve 5 dakika bekletilmiş test suşlarında üremenin (+), 7.5 ve 10 dakikalarında bekletilmiş test suşlarının (-) oldukları yazılmıştır. Dezenfektanın bu nitelikteki sulandırım paydasının, aynı nitelikteki fenol sulandırım paydasına oranı fenol katsayısını vermektedir. (Örnek olarak Tablo I. de $200/110=1.81$) Uygulamada dezenfektanın bu katsayısının 20 kat sulandırımının uygun sonuç verdiği bildirilmektedir. Sonuç olarak bulunan fenol katsayısı 20 ile çarpılarak sulandırım oranı hesaplanmış olmaktadır. (Örnekte $20 \times 1.81=36$ yani 1/36 sulandırım)

Tablo I. Candida albicans için End-Bac fenol katsayısının hesaplanması

Dezenfektan	Sulandırım	Ekim Zamanları			
		2.5	5	7.5	10
END-BAC	1/100	-	-	-	-
	1/200	-	+	-	-
	1/400	-	-	-	-
	1/800	-	-	-	-
FENOL	1/95	-	-	-	-
	1/100	-	-	-	-
	1/105	-	-	-	-
	1/110	-	+	-	-
	1/115	-	-	-	-

Bulgular

Süspansiyon Testi: Çalışmada kullanılan End-Bac'ın hesaplanan fenol katsayısı sulandırma oranlarında ve temas sürelerinde test suşları üzerindeki bakterisidal-fungusidal etkisi ile ilgili bulgular Tablo II. de gösterilmektedir.

Tablo II. End-Bac'ın Test Suşları Üzerine Etkisi

Dezenfektan Madde	Test Suşu kob/ml	Sulandırma Oranı	Temas Süresi (dakika)
Kuaterner	S.aureus (10 ⁸)	1/36	10
Amonyum	E.coli (10 ⁸)	1/76	7.5
Bileşiği	B.cereus (10 ⁶)	1/84	7.5
End Bac	S.typhi (10 ⁶)	1/13	7.5
	Aspergillus niger(10 ⁸)	1/20	10
	C.albicans (10 ⁸)	1/36	5

Tartışma ve Sonuç

Ülkemizde gıda endüstrisinde sanitasyon amacı ile kullanılan bir KAB bileşiği olan End-Bac'ın, % 0.5 konsantrasyonda ilgili mikroorganizmalar üzerine bakterisidal ve fungusidal etkili olduğu tespit edilmiştir.

Berker,³ yaptığı çalışmada % 0.05'lik konsantrasyondaki KAB'ın 2.5 dakika içinde E. coli, P. mirabilis, S. aureus, S. faecalis ve B. subtilis'e karşı etkili olduğunu tespit etmiştir.

Cumbul⁵, ise 6 farklı test suşu'na KAB'ın etkisi üzerine yaptığı çalışmada % 0.01 konsantrasyondaki dezenfektanın 15 dakika temas süresinde tüm suşlar üzerine etkili olduğunu belirlemiştir.

Yine Van De ve ark.¹³, Listeria welshimeri'ye karşı dezenfektanların bakterisidal aktivitesi üzerine yaptıkları çalışmalarında, KAB'ın % 0.5 konsantrasyonda protein varlığında ve yokluğunda dirençli olduğunu saptamışlardır.

Yapılan çalışmaların bizim çalışmamızda tespit etmiş olduğumuz bulguları desteklediği görülmektedir. Diğer taraftan, Akier Assanta ve ark.⁹ Listeria monocytogenes'in imha edilmesi için sanitasyon maddelerinin etkinliği üzerinde yaptığı araştırmada, KAB'ın 4°C ve 20°C de Kritik Dezenfeksiyon noktasını (Critic Disinfection Point =CDP) 425-10.000 ppm olarak tespit etmişlerdir.

Lopes ve ark.,⁸ Salmonella typhimurium ve Listeria monocytogenes'e karşı gıda sanitasyonunda kullanılan KAB ve klor+hipoklorit kompleksinde her ikisinin de 100 ve 200 ppm konsantrasyonlarda etkili olduğunu göstermişlerdir.

Dezenfektanların etki şiddetinin ölçülmesi amacı fenol katsayısı yönteminin dışında farklı bir çok yöntem kullanılmaktadır. Bu amaçla yapılan bir çalışmada Ergin, Ü. ve ark.,⁷ dezenfektan aktivitesinin incelenmesinde kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması üzerine yaptıkları çalışmada, DGHM (Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Microbiologie) Kalitatif ve Kantitatif süspansiyon testlerini diğer testlerden daha başarılı, daha kolay ve malzeme gerektirmediğini ileri sürmektedirler.

Dezenfektanların mikroorganizmalara etki mekanizmalarının değişik olması ve zamanla yeni dezenfektanların ortaya çıkması ile fenol katsayısı deneyinin dezenfektan etkinliğinin tayinindeki

değerinin sınırlı kaldığını göz önünde bulundurmamak gerekmektedir.

Sonuç olarak bir KAB bileşiği olan End-Bac'ın bakterisidal ve fungusidal aktivite tayini yönünden etkinliği belirlenmiş, gıda endüstrisinde dezenfektan olarak kullanılabilmesi görüşüne varılmıştır.

Kaynaklar

1. ASSOCIATION of Official Analytical Chemists: Disinfectants. 14th ed. W. Hortwitz, Assoc. Ofic. Anal. Chem., Washington, DC, 65 (1984).
2. ARAN, N.: Gıda Sanayinde Mikrobiyoloji ve Uygulamaları, Marmara Araştırma Merkezi, Gıda ve Soğutma Teknolojileri Bölümü, Gebze, Kocaeli, 124, 200-206 (1993).
3. BERKER, A.: P3 Triquart'ın R'ın et işletmelerinde dezenfektan olarak kullanılabilme olanakları üzerine araştırmalar. U.Ü. Basımevi Özel Basım, Bursa, 1-8 (1989).
4. BİLGEHAN, H.: Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi, Barış Yayınları, Ankara, 200-204 (1989).
5. CUMBUL, D.: Ülkemiz koşullarında mezbaha ve kombinalardaki hijyenik durumun araştırılması. U. Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı (Doktora Tezi), Bursa, (1994).
6. DİNÇER, B.: Et Ürünleri Teknolojisinde Sanitasyon ve Sanitasyon Hizmetleri. Ders Notları. A. Ü. Vet. Fak. Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara (1985).
7. ERGİN, Ü.; GÜLEN, D.; JOHANSSON, C. B.; Dezenfektan Aktivitesinin İncelenmesinde Kullanılan Yöntemlerin Karşılaştırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg., 28, 117-122, (1998).
8. LOPES, J.A.: Evaluation of dairy and plant sanitizers against Salmonella typhimurium and Listeria monocytogenes. Journal of Dairy Science, 69, 2791-2796 (1986).
9. MAFU, A.A.; ROY, D.; GOULET, J.: Efficiency of sanitizing agents for destroying Listeria monocytogenes on contaminated surfaces. Journal of Dairy Science, 73, 3428-3432 (1990).
10. METİN, M.; ÖZTÜRK, G.F.; Süt işletmelerinde sanitasyon (temizlik ve dezenfeksiyon). E.Ü. Meslek Yüksek Okulu Yayınları, 17, 143-167 (1995).
11. ŞENEL, Y., BAŞOĞLU, F.: Gıda sanayiinde Dezenfektan Kullanımı. 2000'li Yıllarda Gıda Bilimi ve Teknolojisi Kongresi, İzmir. 60 (2000).
12. TOPAL, Ş.: Gıda güvenliği ve kalite yöntemi sistemleri, Gebze, Kocaeli, 172-177 (1996)

13. WEYER, A VAN DE.; Devleeschouwer, M. J.; Dony, J.: Bactericidal activity of disinfectants on listeria. *Journal of Applied Bacteriology*, 74, 480-483 (1993).
14. YILDIRIM, Y.: Et Endüstrisi, Ankara, 258-263 (1996).
15. YÜCEL, A.: İşletme Hijyeni, U.Ü. Ziraat Fak. Ders Notları, 36, Bursa, 78-88 (1984).