Određivanje mikološke populacije u prostorima i kućanstvima poplavljenih područja Gunje

Markoljević, Ivana

Master's thesis / Diplomski rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:549960

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

REPOZITORIJ PTFOS PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology Osijek

zir.nsk.hr

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Ivana Markoljević

ODREĐIVANJE MIKOLOŠKE POPULACIJE U PROSTORIMA I KUĆANSTVIMA POPLAVLJENIH PODRUČJA GUNJE

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan, 2017.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za ispitivanje hrane i prehrane
Katedra za mikrobiologiju
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski sveučilišni studij Procesno inženjerstvo

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Nastavni predmet: Opća mikorbiologija
Tema rada je prihvaćena na III. izvanrednoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2016./2017. održanoj 3. Srpnja 2017.
Mentor: doc. dr. sc. *Lidija Dujmović*
Komentor: izv. prof. dr. sc. *Maja Šegvić*

Određivanje mikološke populacije u prostorima i kućanstvima poplavljenih područja Gunje

Ivana Markoljević, 401-DI

Sažetak: Dvije godine nakon što su katastrofalne poplave pogodile Gunju i Posavinu u Istočnoj Hrvatskoj, velika većina kuća je obnovljena. Međutim, tragovi poplave su još uvijek vidljivi, a neke kuće još uvijek nisu obnovljene. Cilj ovoga rada je istražiti post-poplavne mikološke prilike u Gunji u usporedbi sa nepogođenim područjem (Gornji Stupnik) u uzorcima zraka, prašine i hrane te promatrati razlike u kvalitativnom i kvantitativnom sastavu plijesni u obnovljenim i neobnovljenim kućama poplavljenog područja. Zaključeno je da je koncentracija pljesni u zraku mnogo viša nego u nepoplavljenom području. Neobnovljene kuće predstavljaju značajan izvor sekundarnih i tercijarnih kolonija. Visoka koncentracija plijesni koje se prenose zrakom ili pomoću prašine predstavlja značajnu prijetnju za ljude zbog izloženosti dišnih puteva potencijalnim proizvođačima mikotoksina.

Ključne riječi: poplava, plijesni, hrana, prašina, zrak

Rad sadrži: 48 stranica
27 slika
0 tablica
31 literaturnih referenci

Jezik izvornika: Hrvatski

Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

1.	doc. dr. sc. *Tihana Marček*	predsjednik
2.	doc. dr. sc. *Lidija Dujmović*	član-mentor
3.	izv. prof. dr. sc. *Maja Šegvić*	Član-komentor
4.	prof. dr. sc. *Vedran Slačanac*	zamjena člana

Datum obrane: 27. rujna 2071.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Process engeneeri
Subdepartment of Mikrobiology
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

Graduate program of Process engenering

Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology
Course title: General Microbiology
Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. III held on July 3, 2017
Mentor: *doc. dr. sc. Lidija Dujmović*
Comentor: *izv. prof. dr. sc. Maja Šegvić*

Determening the mycological population of spaces and households in flooded areas in Gunja

Ivana Markoljević, 401-DI

Summary: Two years after catastrophic floods hit Gunja and the Posavina region in eastern Croatia, the vast majority of houses have been rebuilt. However, some traces of flooding are still visible and there are some houses which have not been reconstructed yet. The aim of this paper was investigated post-flood mycological patterns in Gunja compared to an unaffected area (Gornji Stupnik) in air, dust and food samples and observe the differences in fungal quantitative and qualitative composition in repaired and unrepaired houses in the flooded area. Conclusions are that concentration of airborne fungi is much higher compared to unflooded area. Unrepaired houses represent significat source of secondary and tertiary colonizers. High concentration of airborne and dustborne fungi represent significant treath to humans due to inhalatory exposure to potential mycotoxin producers.

Key words:

Thesis contains: 48 pages
27 figures
0 tables
0 supplements
31 references

Original in: Croatian

Defense committee:

1. *Tihana Marček*, PhD, associate prof. — chair person
2. *Lidija Dujmović*, PhD, assistant prof. — Supervisor
3. *Maja Šegvić*, PhD, associate prof. — Member
4. *Vedran Slačanac*, PhD, associate prof. — stand-in

Defense date: September, 27. 2017.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

Zahvaljujem mentoricama, doc. dr. sc. Lidiji Dujmović i prof. dr. sc.Maji Šegvić Klarić na ukazanom povjerenju, stručnoj pomoći i savjetima tijekom izrade diplomskog rada.

Zahvaljujem asistentici mag.nutr. Dijani Podravac na pomoći tijekom izrade, obrade podataka i pisanja diplomskog rada.

Također se zahvaljujem svojim roditeljima koji su vjerovali u mene i bili mi podrška tijekom studiranja

Sadržaj

1. UVOD 7
2.TEORIJSKI DIO 11
2.1. Poplava 2014 11
2.2. Sindrom bolesne zgrade (Sick Building Syndrome, SBS) 13
2.3. Plijesni 15
2.3.1. Fiziologija plijesni (razmnožavanje plijesni) 16
2.3.2. Značaj plijesni u svakodnevnom životu 18
2.3.3. Klasifikacija plijesni 18
2.3.4. Pojedine vrste plijesni 19
2.3.5. Vrste plijesni koje rastu na vlažnim zidovima 27
3.EKSPERIMENTALNI DIO 30
3.1. ZADATAK 31
3.2. MATERIJAL I METODE 31
3.2.1. ZRAK 31
3.2.2. PRAŠINA 33
3.2.3. HRANA 34
3.2.4 HRANJIVE PODLOGE ZA UZORKOVANJE PLIJESNI U ZRAKU I PRAŠINI I HRANI 35
4. REZULTATI I RASPRAVA 37
4.1. MIKOLOŠKA POPULACIJA PRAŠINE 38
4.2.1. Prašina zatvorenih prostora 38
4.2. MIKOLOŠKA POPULACIJA ZRAKA 41
4.2.1. Vanjski zrak 41
4.2.2. Zrak zatvorenih prostora 43
4.3. MIKOLOŠKA POPULACIJA HRANE 46

4.3.1. Zastupljenost plijesni u hrani 46
5.ZAKLJUČCI 51
5.LITERATURA 53

1. UVOD

Sve biološke vrste u prirodi postoje u obliku populacija, pri čemu je svaka vrsta predstavljena određenim brojem. Populacija je grupa jedinki iste vrste koja nastanjuje određeni prostor i može se međusobno razmnožavati i imati podmladak. Mikološka populacija podrazumijeva određeni broj gljiva u okolini. U kategoriju gljiva pripadaju plijesni, kvasci i mesnate gljive. Plijesni su velika skupina gljiva kojih je tijelo građeno od gustog sustava cjevastih stanica bez klorofila, obično bezbojnih. Nitaste su građe, a niti rastu kao isprepletena masa – micelij. On se kao prašnjava ili paučinasta prevlaka rasprostire po podlozi. Općenito, plijesni dijelimo na plijesni s polja, plijesni u skladištima i plijesni uznapredovalog kvarenja. Spore mnogih plijesni mogu inficirati ljude i uzrokovati opasne infektivne bolesti (Duraković, 2003).

U ovom radu ispitivane su vrste plijesni i njihova brojnost na poplavom pogođenom području istočne Hrvatske u mjestu Gunja. Naime, dana 17. svibnja 2017.godine, nakon skoro tjedan dana obilnih kiša, popustio je nasip na rijeci Savi pokraj Rajevog Sela. Većina izlivene vode završila je u Gunji koja je bila potpuno poplavljena, sa razinama vode i do 4m. Iz nekih se kuća voda vrlo brzo povukla (nakon tjedan dana), dok se u nekima zadržala tjednima. Posljedice ovog događaja bile su očite, ali voda za sobom ne ostavlja samo one odmah vidljive posljedice. Vlaga koja se ostala u zidovima kuća pokazala se kao plodno tlo za razvoj pljesni.

S obzirom na to da je Gunja selo u koje su se obitelji nedugo nakon poplave vratile i danas tamo žive, rade i pohađaju školu svrha ovog rada je istražiti okoliš sa naglaskom na brojnosti mikološke populacije prisutne u zraku, hrani i prašini Određujući vrstu, brojnost i rasprostranjenost plijesni prepoznaje se koja je kuća „bolesna“ te će po završetku istraživanja koje traje do 2020.godine biti moguće odrediti najbolji način za tretiranje tih kuća, a samim time, povećati kvalitetu života u ovom području.

Ovaj rad predstavlja dio rezultata znanstvenog projekta (IP-09-2014-5982, MycotoxA) kojeg financira Hrvatska zaklada za znanost.

Obavljena su ispitivanja hrane, prašine i zraka uzorkovanih unutar i izvan nekoliko kuća koje su vlasnici sami obnovili, nekoliko kuća koje su obnovljene uz pomoć države i nekoliko još uvijek neobnovljenih kuća te različitih prostorija zgrade OŠ

Antuna i Stjepana Radića u Gunji. Uz svesrdnu pomoć stanovnika i poljoprivrednika Gunje prikupljeni su i uzorci različitih poljoprivrednih kultura (pšenica, zob, ječam, kukuruz i tritikale) koji su uzgojene na različitim oranicama, manje ili više pogođenih poplavom. Radi usporedbe na isti način analizirani su i uzorci hrane, prašine i zraka iz kontrolnog područja, koje nije zahvatila poplava, u selu Gornji Stupnik, nedaleko od Zagreba, koje se također nalazi uz rijeku Savu.

2.TEORIJSKI DIO

2.1. Poplava 2014.

Prema podacima Državnog hidrometeorološkog zavoda (DHMZ, 2014), vrijeme u središnjem svibanjskom tjednu 2014. godine obilježio je višednevni utjecaj ciklone Donat. Meteorološka zbivanja započela su s dolaskom hladne fronte u noći od nedjelje 11. na ponedjeljak 12. svibnja. Ta je fronta bila vezana uz duboku ciklonu nad Sjevernim morem, koja je donijela osjetno hladniji zrak. Sjeverozapadne je krajeve unutrašnjosti zahvatila u večernjim satima nedjelje 12. svibnja, a potom se brzo premjestila prema istoku i jugu Hrvatske. Nad sjevernom se Italijom formirala sekundarna ciklona Donat, koja se u noći s utorka 13. na srijedu 14. svibnja preko hrvatskoga Jadrana premjestila nad istok Jugoistočne Europe. U Bosni i Hercegovini, Srbiji, kao i na istoku Hrvatske pale su vrlo velike količine kiše.

U Bosni i Hercegovini u 10 dana pale su ekstremne količine oborina od 200 do 250 litara kiše po kvadratnom metru, mjestimično i više. Protoci rijeka, južnih pritoka rijeke Save, iznosile su rekordne količine kubnih metara u sekundi (Una 1750 m^3/s, Vrbas 2000 m^3/s, Bosna 3500 m^3/s i Drina4000 m^3/s) i ulijevaju se u svojim povijesnim maksimumima u Savu te je zbog toga i rijeka Sava dostigla dosad nezabilježene protoke i vrijednosti vodostaja. U normalnim okolnostima prosječni protok rijeke Save kod Županje iznosi 1000-1100 m^3/s, a na mjerodavnom vodomjeru u Županji dana 16. svibnja 2014. izmjeren je protok od 5500 m^3/s.

Dana 17. svibnja, 2014. godine puknuo je nasip u Rajevom Selu te je svih 3206 hektara površine koju zauzima općina Gunja završilo pod vodom. Razina vode u kućama mjerila se od par centimetara do 4m. Voda se na tom prostoru zadržala i do nekoliko tjedana te uzrokovala pogodnu podlogu za razvoj različitih organizama, između ostalog i plijesni.



Slika 1 Zemljopisni položaj poplavljenog (Gunja) područja.

(http://www.weather-forecast.com/locations/Gunja , 2017.)



Slika 2 Zemljopisni položaj nepoplavljenog (Gornji Stupnik) područja

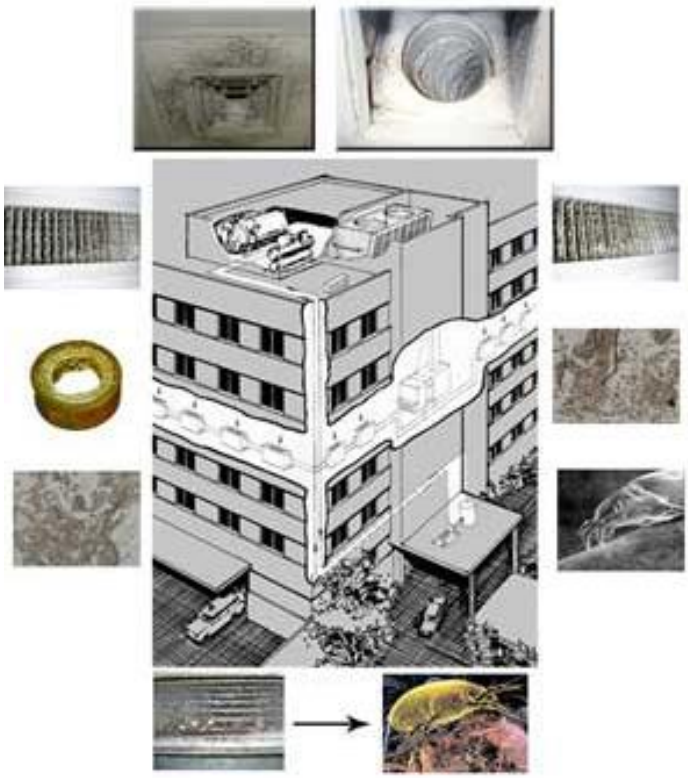
(http://invest-croatia-zg-county.com/invest-hr/zagreba-ka-upanija/op-ine , 2017.)

2.2. Sindrom bolesne zgrade (Sick Building Syndrome, SBS)

Izraz „Sindrom bolesne zgrade“ koristi se za opis situacije gdje stanovnici i korisnici te zgrade osjećaju akutne zdravstvene probleme koji su direktno vezani sa vremenom provedenim u objektu.

Čimbenici koji ukazuju na sindrom bolesne zgrade mogu se podijeliti u tri skupine:

1. čimbenici zatvorenog prostora,
2. biološki čimbenici,
3. individualni čimbenici.



Slika 3 Slikoviti prikaz sindroma bolesne zgrade (http://www.gradjevinarstvo.rs/tekstovi/972/820/%C5%A1ta_je_sindrom_bolesne_zgrade_-_sbs,_i_kako_ga_izbe%C4%87 , 2017.)

U čimbenike zatvorenog prostora ubraja se:

- temperatura veća od 23°C,

- slaba ventilacija,
- nemogućnost kontrole osvjetljenja i temperature
- sustavi klimatizacije i njihovo loše održavanje,
- vlažni zidovi

Biološki čimbenici su:

- bakterije roda *Legionella*,
- virusne infekcije dišnog sustava,
- plijesni, bakterije i njihovi produkti (toksini),

dok se u individualne čimbenike ubrajaju:

- spol (češće kod žena),
- rutinski poslovi,
- pušenje,
- zaprašenost prostora,
- kompjuteri.

Postojanje ovih čimbenika, tj. sama bolesna zgrada kod ljudi izaziva zdravstvene probleme koji se očituju kroz sljedeće simptome:

- iritacija očne i nosne sluznice te grla,
- suha iritirana koža,
- glavobolja i umor,
- kašalj, groznica, prehlada,
- stezanje u grudima.

Sindrom bolesne zgrade još uvijek nije prepoznat kao bolest koju liječnik može dijagnosticirati, ali postoje načini za njegovo umanjenje ili čak potpuno uklanjanje, a to su:

1. uklanjanje izvora zagađenja što podrazumijeva održavanje svih ventilacijskih kanala, zamjenu materijala na kojima se razvijaju mikroorganizmi, sprječavanje prodora vanjskih zagađivača (ispušni plinovi motornih vozila, kanalizacije, kuhinjski odvodi) te pažnja pri odabiru i održavanju kemijskih zagađivača u zgradama (boje, lakovi, ljepila, fotokopirni aparati, pesticidi, kemikalije za higijenu);

2. poboljšanje kvalitete ventilacije i provjetravanja kroz poštivanje standarda (standrad 62.2-1989) nedavno postavljenih od strane ASHERAE-a (American Society of Heating, Refrigenerating and Air-conditioning Enineers) koji podrazumijeva minimalno 25,5 m^3 /h svježeg zraka po osobi, odnosno 34 m^3/h za uredske prostorije i 102 m^3/h u prostorima za pušače (ASHRAE Journal, 1993);
3. pročišćavanje zraka.

2.3. Plijesni

Plijesni su velika skupina gljiva, kod kojih je tijelo građeno od gustog sustava cjevastih stanica bez klorofila (Duraković, 1996.). Zato što ne sadrže klorofil, plijesni su heterotrofi, uglavnom aerobi (Pinter, 2010). Nitaste su građe, a niti (hife) se isprepliću i tvore micelij. Većina vrsta plijesni ima dužinu od 5 do 50 µm, a širinu od 2 do 5 µm. Hife su končaste stanice, tj. tanke i razgranate niti. Hife svojim ispreplitanjem stvaraju micelij koji se kao paučinasta prevlaka širi preko agarne ploče. Plijesni mogu formirati vrlo otporne tvorevine od gusto isprepletenih hifa u vidu crnkastih zrna promjera nekoliko milimetara koji se nazivaju sklerociji. Hife mogu biti nepodijeljene (neseptirane) i podijeljene (septirane).

Septirane hife imaju pregrade (septe) koje nisu nepropusne nego imaju pore koje omogućuju strujanje citoplazme i brojnih staničnih organela. Hife su najčešće bezbojne, ali mogu biti i obojane (crno, crveno, zeleno žuto, plavo ili sivo) (Duraković, 1996).

Plijesni su ubikvitarne mikromicete, permanentno prisutne u okolišu na različitim supstratima, bilju, u tlu i zraku. Njihove spore mogu se naći u zraku otvorenih i zatvorenih prostora, pri čemu njihova brojnost ovisi o više čimbenika: dobu dana, meteorološkim, sezonskim klimatskim uvjetima (temperatura, relativna vlažnost, strujanje zraka), tipu vegetacije, vrsti proizvodnih industrijskih pogona, prometu i dr. Spore velikog broja vrsta plijesni (više od 80 rodova) su aeroalergeni, primjerice vrste rodova *Alternaria, Cladosporium, Fusarium, Penicillium, Aspergillus*. One u osjetljivih

osoba mogu prouzročiti različite infekcije (mikoze), trovanja (mikotoksikoze) te alergije i upale dišnog sustava: rinitis, bronhitis, hipersenzibilni pneumonitis, astmu i aspergilozu. U zraku vanjskog okoliša brojnije su alternarije, kladosporije pa i fuzarije, dok su u zatvorenim prostorima više zastupljene *Aspergillus* i *Pencillium* vrste. Spore plijesni u zraku zatvorenih prostora potječu iz unutarnjih izvora (hrana, zapuštene smočnice, kućno bilje, prašina, vlažni pljesnivi zidovi) i vanjskog okoliša (prašina, raslinje, vjetar, insekti i dr.). Na osnovu aerobioloških mjerenja u različitim dijelovima svijeta, predloženo je da paleta ekstrakata za kožne testove i karakterizacija alergena plijesni minimalno uključuje vrste *Alternaria alternata, Aspergillus fumigatus, Cladosporium herbarum, Epicoccum nigrum, Fusarium solani* i *Penicillium chrysogenum* (Pepeljnjak i Šegvić, 2002).

2.3.1. Fiziologija plijesni (razmnožavanje plijesni)

Nespolno razmnožavanje podrazumijeva:

1. fragmentaciju - svaki otkinuti dio micelija, kada se prenese na hranjivu podlogu može se dalje razmnožavati i formirati nove kolonije plijesni.
2. sporulaciju - postoje dva načina sporulacije i oba su jako zastupljena kod plijesni:
    - formiranje sporangiofora se odvija kod nižih plijesni (*Rhizopus* spp., *Mucor* sp.). Na kraju plodonosnih hifa, tj. sporangiofora dolazi do nastajanja posebnih proširenja, tj. sporangija. Sporangij je naziv za vrećicu sa sporama. Unutar sporangija nalaze se spore koje se nazivaju sporangiospore. Pucanjem zrelog sporangija iz njega izlazi više tisuća spora. Sporangiospore su unutarnje spore ili endospore. One su u pravilu neopasne za ljude, ali povremeno inficiraju osobe sa smanjenom otpornošću i mogu uzrokovati bolesti.
    - formiranje konidiospora (grč. konia=prašina) se odvija kod viših plijesni (*Penicillium* sp.). najveći broj spora plijesni pripada konidiosporama. Na kraju plodonosnih hifa, tj. konidiofora na posebnim stanicama (sterigmama) dolazi do nastajanja konidiospora, tj. konidija. Konidiospore su vanjske spore ili

egzospore. Konidiospore velikog broja plijesni mogu inficirati ljude i uzrokovati opasne infektivne bolesti.

Širenje sporangiospora i konidiospora vrši se zračnim strujanjima. Kada ove spore dođu u pogodnu sredinu, npr. hranu, najprije bubre, a zatim klijaju u hifu koja nastavlja rasti i razmnožavati se uz ponovno formiranje organa za razmnožavanje. Zato plijesni mogu uzrokovati ogromne štete u prehrambenoj industriji i u domaćinstvima.

Spolno razmnožavanje plijesni izvodi se:

- pomoću zigospora - hife se dodiruju i na mjestu dodira spoje. Pri tom dolazi do nastajanja zigospore koja se odvoji
- pomoću bazidiospora - one nastaju iz hifa sa stanicama koje imaju dvije jezgre. Ove dvije jezgre se spajaju, zatim dolazi do diobe i na kraju formiranja bazidiospora.

Plijesni su vrlo rasprostranjeni mikroorganizmi. Najviše naseljavaju vlažno tlo i biljke, odakle dospijevaju na plodove voća i povrća, ratarskih kultura, a tako i u namirnice. Plijesni mogu rasti na kruhu, voću, siru te na vlažnome tekstilu, koži, bojama, drvetu, papiru i dr.

Iako se plijesni mogu upotrijebiti u raznim granama industrije, u medicini i dr., neke mogu ugroziti zdravlje ljudi i životinja (Duraković, 1996).

Plijesni proizvode mnoštvo različitih enzima tako što koriste ugljik iz supstrata te enzimima razgrađuju molekule supstrata u manje molekule koje stanica tada može apsorbirati. Mogu se nastaniti (kolonizirati) i rasti na različitim tipovima hrane.

Postoje četiri kritična uvjeta za rast plijesni: dostupnost spora plijesni, dostupnost hrane, odgovarajuća temperatura i udio vlage. Uklanjanje bilo kojeg od navedenog, spriječit će rast plijesni. Većina plijesni raste pri sobnim temperaturama (Nujić, 2011).

Plijesni se mogu klasificirati kao plijesni sa polja, plijesni u skladištima i plijesni uznapredovalog kvarenja. Rodovima koji najčešće rastu u uskladištenim namirnicama pripadaju *Penicillium, Aspergillus i Mucor* (Duraković i Duraković, 2001). Ujedno su ti rodovi plijesni najčešći proizvođači mikotoksina.

Mikotoksini su toksični sekundarni produkti metabolizma nekih vrsta plijesni. Najpovoljniji uvjeti za rast toksikotvornih plijesni i proizvodnju njihovih toksina prisutni

su u tropskim predjelima zbog prikladnih klimatsko-okolišnih uvjeta, temperature i vlage. Plijesni posjeduju sposobnost proizvodnje različitih kemijskih spojeva, od jednostavnih kiselina do složenih makromolekula. Većina plijesni opasnih za zdravlje podrijetlom je iz skladišta, iako su neki biološki aktivni produkti metabolizma plijesni s prirodnih staništa pokazali toksičan učinak na zdravlje ljudi i životinja (Šarkanj i sur., 2010).

Ovisno o tome nalaze li se toksikotvorne plijesni u polju ili u skladištima, na sintezu mikotoksina utječu vremenski uvjeti, odnosno uvjeti skladištenja (Pitt i Hocking, 2009).

2.3.2. Značaj plijesni u svakodnevnom životu

Plijesni s pozitivnim značenjem:

- proizvodnja antibiotika (npr. penicilin - *Penicillium notatum*)
- proizvodnja organskih kiselina (npr. limunska kiselina - *Aspergillus niger*)
- proizvodnja sireva (npr. camambert - *Penicillium camemberti* (bijele plijesni); roquefort - *Penicillium roqueforti* (sivo-zelene plijesni)

Plijesni s negativnim značenjem

- biološka razgradnja (truljenje) papira, drveta, tekstila, plodova voća i povrća
- plijesni koje izazivaju bolesti mikoze (uglavnom kožene bolesti, ali mogu napasti želudac i mozak)
- biološka sinteza mikotoksina (npr. aflatoksini - *Aspergilu flavus*)

2.3.3. Klasifikacija plijesni

Taksonomija i nomenkatura plijesni provodi se prema pravilima Međunarodnog koda botaničke nomenklature (International Code of Botanical Nomenclature-ICBN) za taksonomiju gljiva, biljaka i algi. Klasificirane su u tri divizije: *Zygomycota*, *Ascomycota* i *Basidiomycota.* Do nedavno se za plijesni koristila tzv. dualna nomenklatura. Naime, plijesni mogu biti pleomorfne, odnosno imaju spolni-savršeni stadij (teleomorf) i/ili nespolni-nesavršeni stadij (anamorf). Npr. rod *Penicillium* ima dva teleomorfa,

Eupenicillium i *Talaromyces*, dok *Aspergillus* kao anamorf ima deset teleomorfa (npr. *Eurotium, Emericella, Neosartorya*). Kad plijesan na fertilnom miceliju razvija spolne i nespolne plodne stanice naziva se holomorf. Prema ICBN od 2011. godine uvedene su promjene u nomenklaturi prema načelu „jedan naziv za jednu plijesan“. Prema tom načelu koristi se naziv pod kojim je plijesan prvi put opisana. Kod većine pleomorfnih plijesni anamorfni oblici (npr. *Aspergillus*) su opisani prije njihovih teleomorfa. Unutar jednog roda vrste mogu pripadati različitim podskupinama ili sekcijama.

Među zigomicetama medicinski značajne vrste i najčešći kontaminanti hrane pripadaju redu *Mucorales* (npr. rodovi *Mucor, Absidia, Rhizopus*). Nespolno se razmnožavaju sporangiosporama, a spolno zigosporama.

Askomicete se spolno razmnožavaju askosporama, a nespolno konidijama. Medicinski značajne askomicete, odnosno mikotoksinotvorne vrste i kontaminantni hrane pripadaju rodovima *Aspergillus*, *Fusarium* i *Penicillium*. U askomicete se ubrajaju i dermatofitne plijesni (npr. *Trychophyton, Epidermophyton, Microsporum*).

Bazidiomicetama većinom pripadaju jestive gljive te snijeti i rđe koje parazitiraju na biljkama, a razmnožavaju se spolno pomoću bazidiospora (Antolović i sur., 2016).

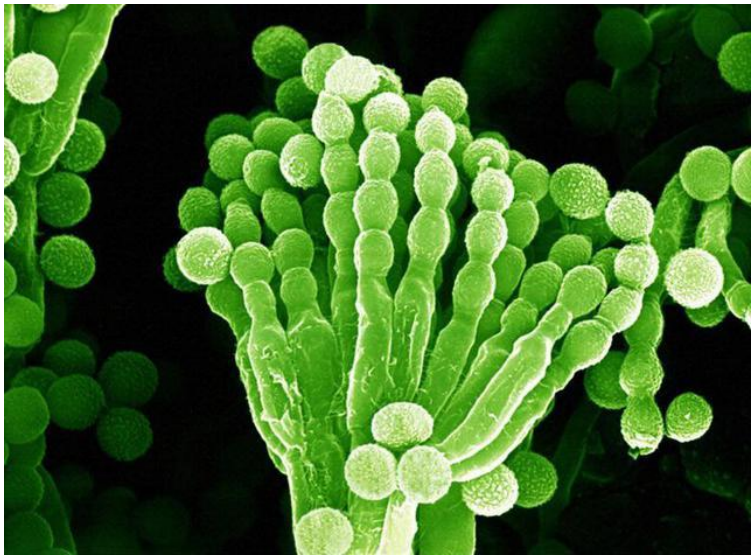
2.3.4. Pojedine vrste plijesni

Plijesni roda *Penicillium*

U rod *Penicillium* svrstano je oko 50-tak vrsta plijesni. Bolest kod čovjeka najčešće uzrokuju vrste *P. marneffei, P. chrysogenum i P. citrinum.* Ove se plijesni nespolno razmnožavaju fijalokonidijama. Kod nekih vrsta otkriven je spolni način razmnožavanja.

Vrste roda *Penicillium* mogu uzrokovati različite bolesti čovjeka. Mogu kolonizirati kožu ili nekrotično tkivo pluća, uzrokovati hipersenzibilni pneumonitis ili penicilozu. Vrste roda *Penicillium* rasprostranjene su širom svijeta. Izolirane su iz tla, zraka, otpadnih tvari i biljaka.

Neke vrste ovih plavo-zelenih plijesni stvaraju mikotoksine na nepravilno uskladištenom krmivu i uzrokuju teške mikotoksikoze životinja hranjenih takvom hranom (Kalenić i Mlinarić-Missoni, 1995.).



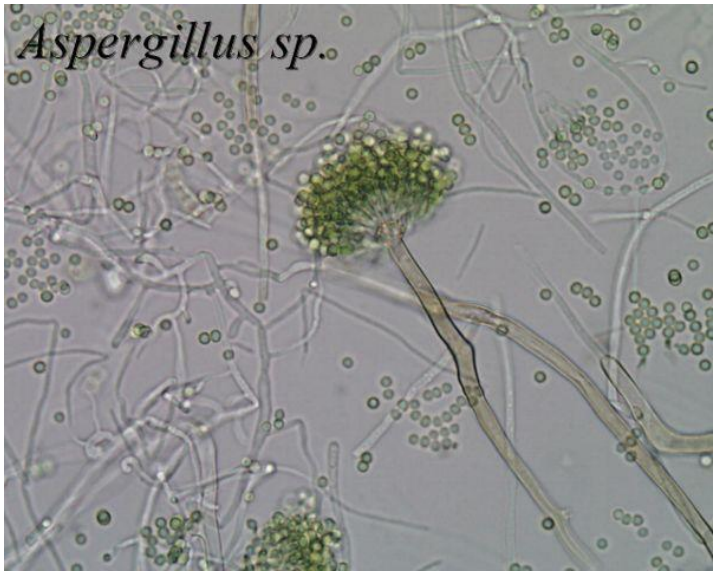
Slika 4 Mikroskopska slika plijesni roda *Pencillium* (https://www.drthrasher.org/penicillium , 2017.)

Plijesni roda *Aspergillus*

U rod *Aspergillus* svrstano je oko 200 vrsta od kojih je tek 20-tak patogeno za čovjeka. Najčešći uzročnici aspergiloze čovjeka jesu: *A. fumigantus, A. niger, A. flavus, A. candidus* i dr. Ove se plijesni razmnožavaju nespolno fijalokonidijama. Kod nekih vrsta otkriven je i spolni način razmnožavanja, a neke vrste istovremeno imaju spolnu i nespolnu fazu.

Vrste roda *Aspergillus* mogu uzrokovati različite bolesti čovjeka. Mogu kolonizirati sluznicu dišnih putova ili šupljina stvorenih drugim bolestima, uzrokovati bolesti uslijed preosjetljivosti na gljivične antigene te invadirati stijenke krvnih žila i krvlju se širiti u pluća ili druge unutarnje organe. Rastom u vanjskoj sredini neke vrste ovih plijesni stvaraju mikotoksine (aflatoksin, sterigmatocistin, okratoksin).

Konzumiranjem hrane zagađene mikotoksinima čovjek može razviti kliničku sliku akutnog trovanja hranom ili toksičnog oštećenja jetre, bubrega i drugih organa. Konidije ovih plijesni nalaze se u zraku, zemlji, vodi, na uskladištenoj hrani i lišću biljaka. Konidije vrsta roda *Aspergillus* čine četvrtinu svih konidija u zraku. U jednom kubnom metru nalazi se prosječno 2-15 konidija neke od vrsta ovog roda (Kalenić i Mlinarić-Missoni, 1995).



Slika 5 Mikroskopska slika plijesni roda *Aspergillus* (https://www.emlab.com/app/fungi/Fungi.po?event=fungi&type=primary&species=5 , 2017.)

Aspergillus flavus

Najznačajnije vrste toksinotvornih aspergila su *A. flavus* i *A. parasiticus*. *A. flavus* može proizvoditi aflatoksine B1 i B2 i ciklopiazoničku kiselinu, ali je sami mali broj izolata kadar proizvoditi toksine (Duraković i Duraković, 2000.).

A. parasiticus proizvodi aflatoksine B1, B2, G1 i G2, ali ne i ciklopiazoničnu kiselinu,a gotovo su svi izolati toksični. *A. flavus* i *A. parasiticus* srodne su plijesni sa *A. oryzae* i *A. sojae*, vrstama koje se upotrebljavaju za proizvodnju fermentiranih namirnica,a ne proizvod toksine (Egel i sur., 1994).

Aflatoksin B1 je najsnažniji kancerogen,a prema opadajućoj kancerogenosti slijede G1, M1 pa B2 (Heatchote i Hibbert, 1984). Aflatoksin B1 obično je prisutan u najvećoj količini dok su B2 i G2 zastupljeni u relativno malim količinama. Iznimno toksičan kemijski spoj, citopiazonička kiselina po strukturi je indol tetramička kiselina koja se pojavljuje u prirodno kontaminiranim poljoprivrednim proizvodima i u krmnim smjesama.

Plijesni roda *Alternaria*

Kod plijesni roda *Alternaria* na septiranom se miceliju proizvodi velik broj smeđih konidija. Konidije imaju uzdužna i poprečna septa i razlikuju se po obliku. Vrste iz roda *Alternaria* uzrokuju smeđe ili crno truljenje plodova smokava i jabuka, truljenje stabljike i crno truljenje plodova limuna i naranče. Plijesni roda *Alternaria* također se nalaze i na mesu, te je važno naglasiti da se i ovaj rod nalazi među vrstama plijesni koje, kao proizvođači mikotoksina kontaminiriaju uskladištenu pšenicu, kukuruz i rižu. (Duraković i Duraković, 2003). Kulture *Alternaria* koje su rasle na kukuruzu i riži, a kojim su žitaricama bili hranjeni štakori, pilići, purići i pačići, pokazale su se kao vrlo toksične. Jedan od *Alternaria* toksina bio je povezan sa alimentarnom toksičnom aleukijom u Rusiji i 1940-im godinama (Kellerman i sur., 1990).



Slika 6 Mikroskopska slika plijesni roda *Alternaria*

(http://www.mycology.adelaide.edu.au/descriptions/hyphomycetes/alternaria/ ,2017.)

Plijesni roda *Rhizopus*

Plijesni roda *Rhizopus* pripadaju zigomicetama koje na hranjivim podlogama rastu znatno brže od ranije spomenutih plijesni jer imaju neseptirane hife što im omogućava brzu izmjenu tvari. *Rhizopus* vrste uglavnom stvaraju veoma obilan zračni micelij, hife su najčešće ne pigmentirane, a čitava kolonija je sivkaste boje na kojoj se ističu crne glavice sporangija posebice prema rubovima kolonije. Za razliku od mukora, *Rhizopus* vrste na bazi sporangiofore imaju rizoide (Antolović i sur., 2016).

Iako je izloženost konidijama ovih plijesni opća, samo mali broj ljudi oboljeva. Smatra se da su ove plijesni slabo virulentne gljive i da uzrokuju bolest poglavito u osoba oštećenog imuniteta, dijabetičara i teško ozlijeđenih osoba (opekline, ozljede trbuha i glave). Zigomikozu čovjeka mogu uzrokovati vrste *R. arrhizus i R. mikrosporus*. Vrste roda *Rhizopus* vrlo su raširene u prirodi i rasprostranjene širom svijeta. Kako od sustavne i diseminirane zigomikoze oboljevaju osobe s dugotrajnom neutropenijom (npr. osobe nakon transplatacije koštane moždine), potrebno je ove bolesnike zaštiti od infektivnih sporangiokonidija smještanjem u prostorije s filtriranim zrakom (Kalenić i Mlinarić-Missoni, 1995).



Slika 7 Mikroskopska slika plijesni roda *Rhizopus* (http://www.medical-labs.net/?s=rhizopus&x=0&y=0 , 2017.)

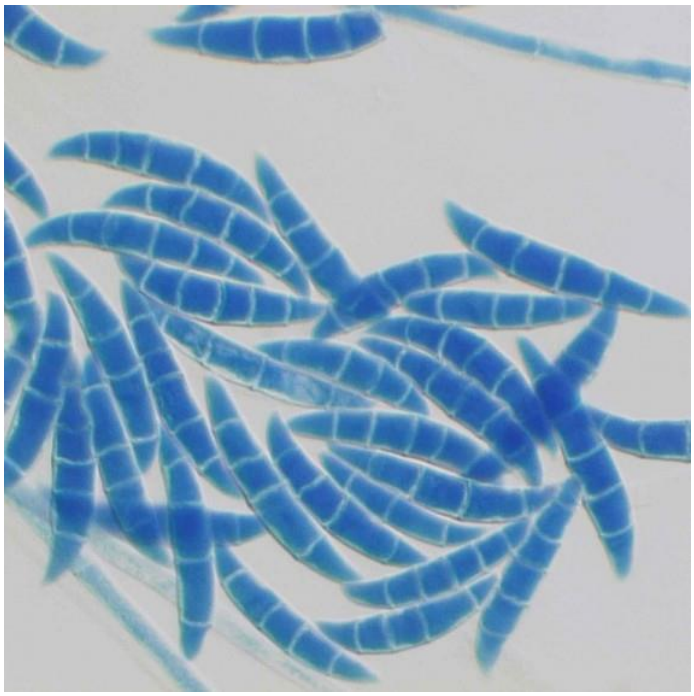
Plijesni roda *Fusarium*

Najznačajnija osobina vrsta roda *Fusarium* je proizvodnja dugačkih srpolikih spora koje se nazivaju makrokonidije koje pri vrhu imaju oblik kljuna, a neke pak vrste proizvode male jednostanične ili dvostanične konidije koje se nazivaju mikrokonidije.

Toksinotvorne vrste plijesni iz roda *Fusarium* nalaze se često kao kontaminanti na biljnim namirnicama, najčešće onima na osnovi žitarica.

Plijesni iz roda *Fusarium* u namirnicama se susreću kao kontaminanti zrnja žitarica, sjemenja uljarica i grahorica, a najčešće kontaminiraju kukukruz i pšenica.

Bolesti ljudi koje se povezuju s vrstama plijesni iz roda *Fusarium* su alimentarna toksična aleukija (ATA), urov ili Kashin-Bekova bolest koja uzrokuje osteoartrozu (spajanje kostiju), „Pijani kruh“ (Hayes, 1981) čiji su simptomi glavobolja i vrtoglavica koji traju 1 do 2 dana,te Akababi-byo bolest zvana otrovanje uzrokovano šugavim zrnom ili bolest crvene plijesni (Duraković i Duraković, 2000).



Slika 8 Mikroskopska slika plijesni roda *Fusarium* (http://www.medical-labs.net/fusarium-species-colony-and-microscopic-description-3138/ , 2017.)

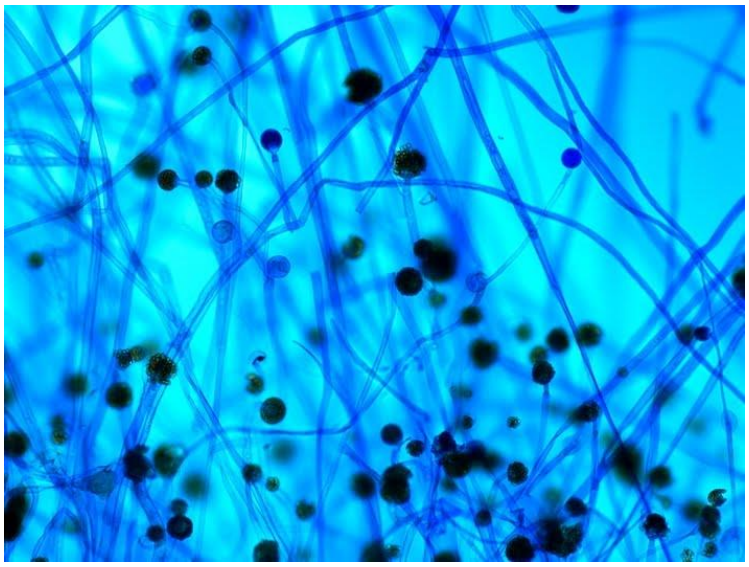
Plijesni roda *Mucor*

Plijesni roda *Mucor* kao i roda *Rhizopus* pripadaju zigomicetama te im je građa vrlo slična (sporangiofori s crnim sporangijima za nespolno razmnožavanje).

Često se stvaraju pamučaste kolonije, a neke vrste uzrokuju stvaranje „dlakavosti“ na goveđem mesu i „crne pjege“ na smrznutom ovčjem mesu. Samo jedna vrsta *M. miehei,* proizvodi lipazu. Ona dolazi u fermentiranim namirnicama i mnogim vrstama povrća.

Neke vrste plijesni roda *Mucor* upotrebljavaju se zajedno sa sojom u zemljama Orijenta za proizvodnju sira.

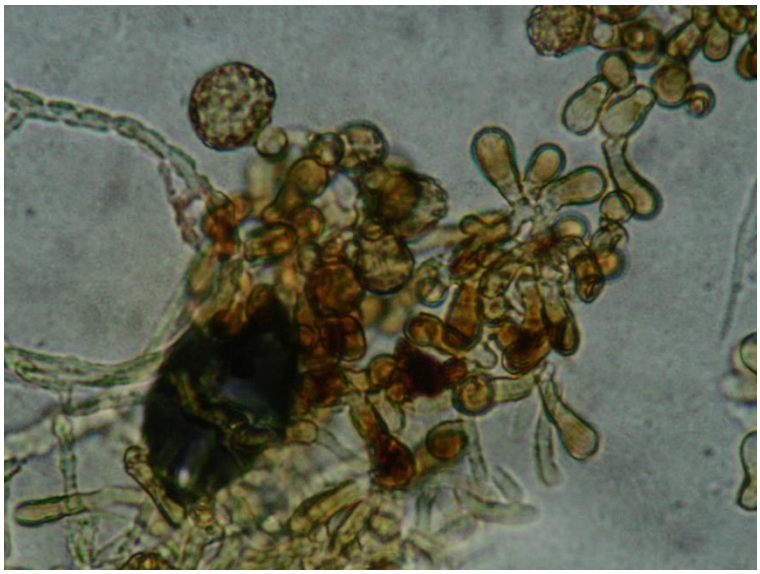
U pravilu te su gljive neškodljive, ali povremeno mogu uzrokovati niz bolesti u dijabetičara i ostalih sa smanjenom otpornosti. Plijesan tala, *Mucor sp.* uzrokuje mukor-mikoze koje su niz, često pogubnih, bolesti dišnih putova, krvnih žila, mozga i ostalih organa. (Duraković i Duraković, 2003).



Slika 9 Mikroskopska slika plijesni roda *Mucor* (http://thunderhouse4-yuri.blogspot.hr/2011/04/mucor-species.html , 2017.)

Plijesni roda *Epicoccum*

Rast kultura može biti problematičan jer treba više od sedam dana da se proizvedu spore. Rast je bolji na krumpirovom agaru (PDA) i malt ekstrakt agaru (MEA) nego na podlozi s dikloranom i 18% glicerolom (DG-18). Boja je promjenjiva od žute i crne do narančaste i crne. Obično se nalazi u prašini tepiha i na povišenim površinama u uredima.



Slika 10 Mikroskopska slika plijesni roda *Epicoccum* (http://sustainablemycology.blogspot.hr/2012/12/epicoccum-spp.html , 2017)

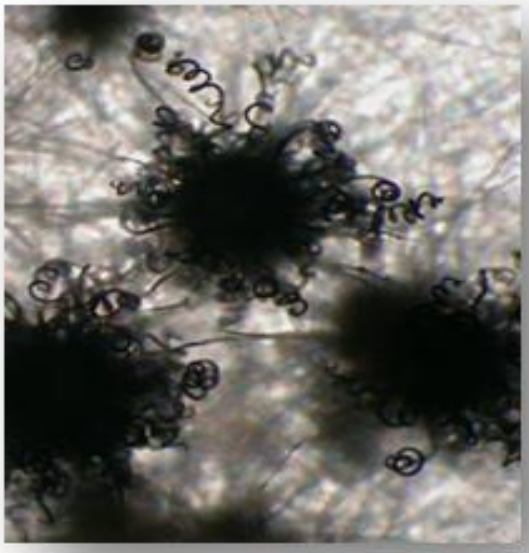
2.3.5. Vrste plijesni koje rastu na vlažnim zidovima

Plijesni su aerobi i fakultativni anaerobi, a za njihov razvoj neophodna je vlažnost te će njihov rast ovisiti o aktivitetu vode (a_w) u supstratu. S obzirom na a_w plijesni mogu rasti na građevinskom materijalu što dovodi do povećanja koncentracije njihovih spora u zatvorenim prostorima. Na temelju potrebe za slobodnom vodom u supstratu dijele se na primarne, sekundarne i tercijarne kolonizatore.

Primarni kolonizatori ($a_w < 0.8$) : *Penicillium* vrste i *Aspergillus* vrste

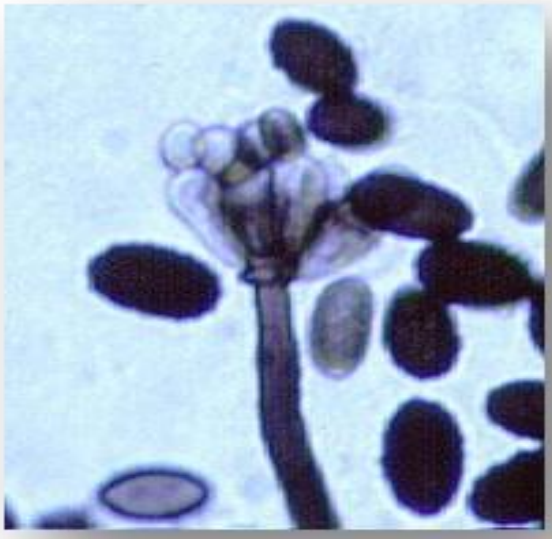
Sekundarni kolonizatori (a_w 0.8-0.9): neke *Aspergillus* vrste i *Cladosporium* vrste

Tercijarni kolonizatori ($a_w > 0.9$): *Alternaria, Chaetomium, Stachybotrys*, *Trichoderma* i *Fusarium*.



Slika 11 Mikroskopska slika plijesni roda *Chaetomium*

(http://www.survivingtoxicmold.com/what_is_toxic_mold_ , 2017.)



Slika 12 Mikroskopska slika plijesni roda *Stachybotrus*

(http://www.etandt.com/news/516/, 2017.)

3.EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak ovog rada bio je odrediti mikološku populaciju u prostorima i kućanstvima na prostorima poplavljenog područja Gunje, te ih usporediti sa nepoplavljenim područjem naselja Gornji Stupnik koji ima sličan zemljopisni položaj kao poplavljena Gunja, a nalazi se i u blizini rijeke Save.

Mikološka analiza obavljena je na uzorcima zraka, hrane i prašine unutar i izvan nekoliko obnovljenih kuća i nekoliko još uvijek neobnovljenih kuća te različitih prostorija zgrada škole. Kao kontrolni uzimani su uzorci hrane, zraka i prašine u mjestu Gornji Stupnik koje poplava nije zahvatila.

3.2. MATERIJAL I METODE

3.2.1. ZRAK

Uzorci zraka uzeti su s pomoću Air Sampler MAS 100 Eco (Merck, Germany) uzorkivača zraka (**Slika 13**). Za uzgoj uzorkovanih mikoloških vrsta upotrebljene su hranjive podloge Malt extrakt agar i DG-18 agar (Merc, Germany).



Slika 13 Air Sampler MAS 100 Eco (Merck, Germany) uzorkivač zraka

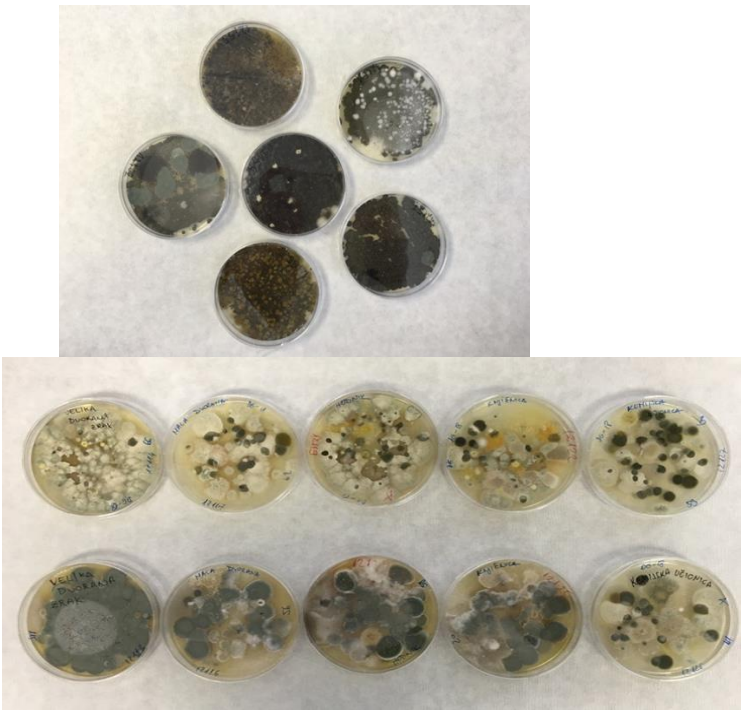
(http://www.mbv.ch/mas-100-eco_29-en.html , 2017)





Slika 14 Uzimanje uzorka zraka za određivanje broja i sastava plijesni (mikološka analiza)

Kroz uređaj za sedimentaciju zraka propusti se 50 dm^3 (litara) zraka za koji volumen je uređaj i predodređen i metodom sedimentacije na ploču s hranjivom podlogom-propuste mikroorganizmi koji se nalaze u tom volumenu. Nakon inkubacije 5-7 dana pri temperaturi od 25 °C prebroje se porasle kolonije na podlogama i preračuna broj plijesni na 1 m^3 zraka pomoću formule za CFU = broj kolonija × 20 plijesni/m^3.



Slika 15 Plijesni iz zraka porasle na hranjivim podlogama

Uzorci zraka sakupljeni u Gunji

- 5 uzoraka vanjskog zraka uz obnovljene kuće,
- 5 uzoraka vanjskog zraka uz neobnovljene kuće,
- 25 uzoraka zraka iz 5 obnovljenih kuća,
- 25 uzoraka zraka iz 5 neobnovljenih kuća,
- 10 uzoraka zraka u osnovnoj školi.

Broj i lokacije uzoraka zraka u Gornjem Stupniku (kontrolno, nepoplavljeno područje):

- 25 uzoraka zraka iz 5 kuća,
- 10 uzoraka zraka u osnovnoj školi
- 5 uzoraka vanjskog zraka.

3.2.2. PRAŠINA

Uzorci prašine u Gunji:

- 5 uzoraka uzorkovanih u obnovljenim kućama,
- 5 uzoraka uzorkovanih u neobnovljenim kućama,
- 2 uzorka uzorkovana u školi.

Uzorci prašine u Gornjem Stupniku:

- 5 uzoraka uzorkovanih u kućama,
- 2 uzorka uzorkovana u osnovnoj školi.

Uzorci su sakupljeni pomoću kućanskog usisavača i odvagani (po 1 gram), a potom su obrađeni prema proceduri za određivanje broja plijesni i kvasaca u hrani (CFU/g) metodom razrjeđenja prema ISO 7954. Za određivanje broja plijesni u prašini korištene su hranjive podloge DG-18 i DRBC.

Uzorci su se homogenizirali uz dodatak 10 mL peptonske vode s tweenom 80 te iz pripravljenih odgovarajućih razrjeđenja nacjepljivali na hranjive podloge DG-18 i DRBC. Nakon inkubacije 5-7 dana pri 25 °C porasle kolonije se prebroje te se izračuna CFU vrijednost prema formuli:

$$\frac{\Sigma C}{V(n1 + 0{,}1n2)d}$$

ΣC- zbroj kolonija izbrojenih na svim pločama

V- volumen inokuluma, u mililitrima stavljen na svaku hranjivu podlogu

n1- broj ploča zadržanih za brojanje kod prvog razrjeđenja

n2- broj ploča zadržanih za brojanje kod drugog razrjeđenja

d- razrjeđenje iz kojeg su dobiveni prvi brojevi

3.2.3. HRANA

Analizirano je 10 uzoraka hrane iz Gunje te 5 kontrolnih uzoraka hrane iz Gornjeg Stupnika. Uzorci su samljeveni i sterilno odvagani u tikvice po Erlenmayeru. 10 grama uzorka pomiješano je sa 90 mL sterilne fiziološke otopine i sadržaj homogeniziran na laboratorijskoj tresilici. Uzorci prašine i hrane su obrađeni na isti način; prema proceduri za određivanje broja plijesni i kvasaca u hrani (CFU/g) metodom razrjeđenja prema ISO 7954, Dikloran 18%-tnom, glicerolnom agaru (DG18) i Dikloran rose bengal

kloramfenikol agaru (DRBC), odnosno kako je prethodno opisano u obradi uzoraka prašine. Plijesni su do nivoa roda, odnosno sekcije za *Aspergillus* vrste, determinirane na temelju makro- i mikroskopskih svojstava prema ključu Pitt and Hocking, 2009.

3.2.4 HRANJIVE PODLOGE ZA UZORKOVANJE PLIJESNI U ZRAKU I PRAŠINI I HRANI

Malt ekstrakt agar

Malt ekstrakt agar (MEA) ili sladni agar (Merck) priprema se prema uputi proizvođača:

- Otopiti sastojke u 500 mL vode i nadopuniti do 1L;
- Podloga se 15 minuta sterilizira u autoklavu na 121°C

Dikloran 18%, glicerolni agar (DG18)

Podloga je pogodna za izolaciju kserofila iz suhe hrane (*Aspergillus, Penicillim i Fusarium*) i kvasaca te za uzorkovanje plijesni iz zraka, a njezini sastojci su:

Pepton……5g

KH2PO4……..1g

MgSO4x7H2O……..0.5g

Agar…….15 g

Glicerol……..220g

Dikloran (0.2% w/v u EtOH, 1 ml)…..2 mg

Kloramfenikol……..100mg

Destilirana voda……..1L

DRBC i DG18 su podloge koje se koriste za izolaciju plijesni i njihovu kvantitativnu analizu. U izradi podloga koristi se antibiotik kloramfenikol koji sprječava rast bakterija. Rose bengal i dikloran smanjuju intenzitet propulzivnog rasta pripadnika reda *Mucorales.* DG18 podloga je pogodna za izolaciju kserofila iz suhe hrane i zraka (*Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium*).

Dikloran rose bengal kloramfenikol agar (DRBC)

Sastojci:

Glukoza ……..10 g

Pepton ……5g

KH2PO4……..1g

MgSO4x7H2O……0.5g

Agar……..15g

Rose bengal (5% w/v u H20, 0.5 ml)…25mg

Dikloran (0.2% w/v u EtOH, 1 ml)……..2mg

Kloramfenikol……100mg

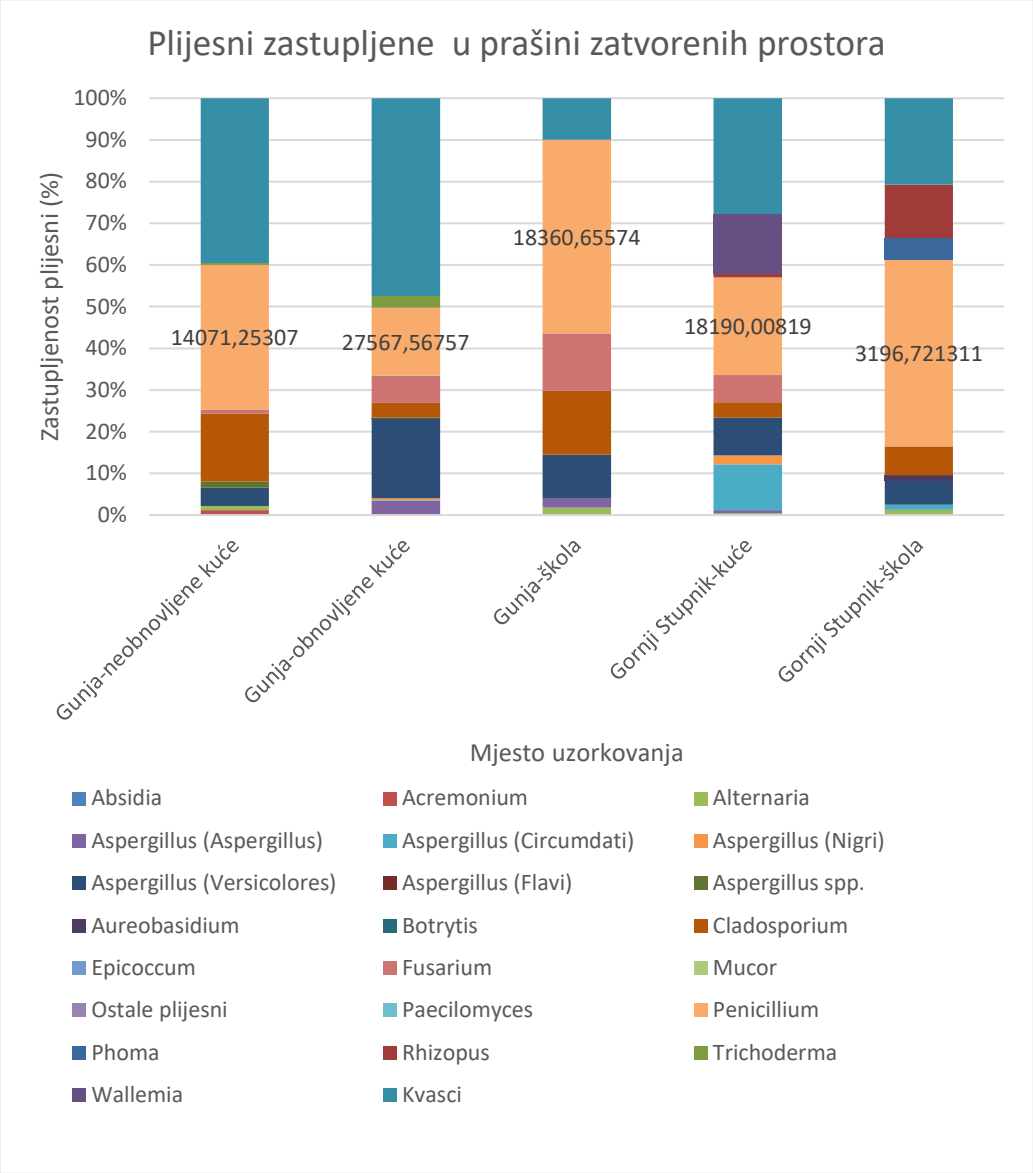
Destilirana voda……1L

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. MIKOLOŠKA POPULACIJA PRAŠINE

4.2.1. Prašina zatvorenih prostora

Najzastupljenije plijesni u prašini bile su *Penicillium* vrste (2,8 × 10^5 cfu/g) u obnovljenim kućama te u osnovnoj školi (1,8 × 10^5 cfu/g) u Gunji.

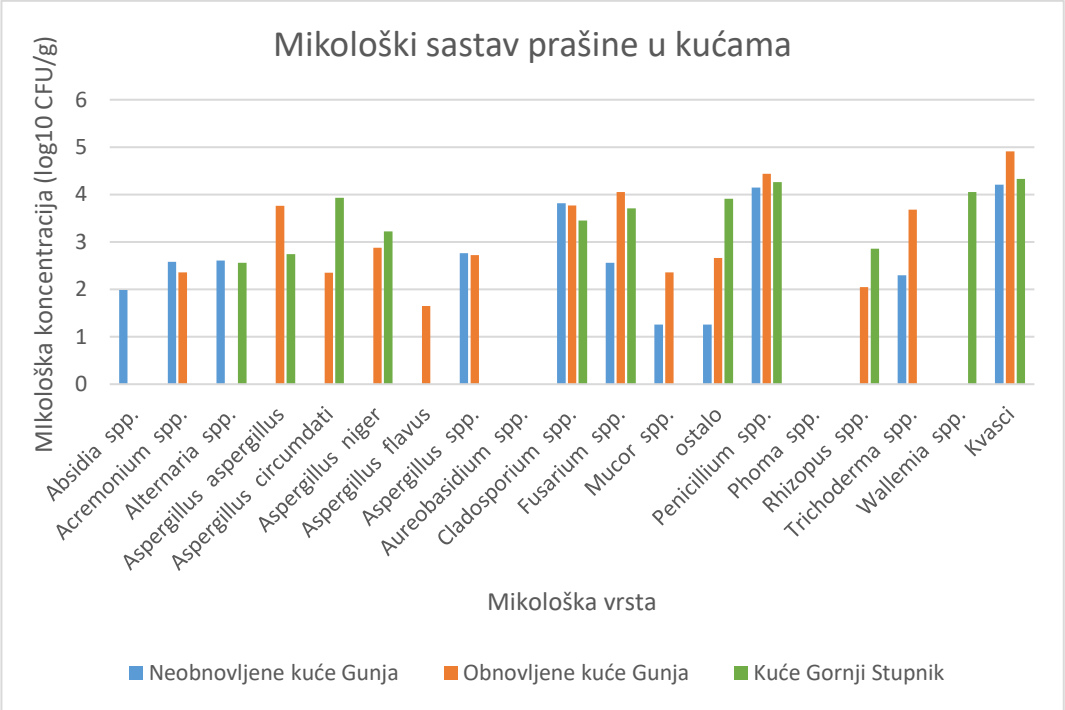


Slika 16 Mikrobiološka populacija uzoraka prašine

Prašina u kućama

U prašini obnovljenih i neobnovljenih kuća u Gunji dokazane su velike koncentracije *Penicillium*, *Cladosporium* i *Fusarium* vrsta (10^3 – 10^4) cfu/g. U usporedbi sa prašinom u kućama u nepoplavljenom području Gornji Stupnik te su vrijednosti bile za jednu potenciju niže (10^2 – 10^3 cfu/g).

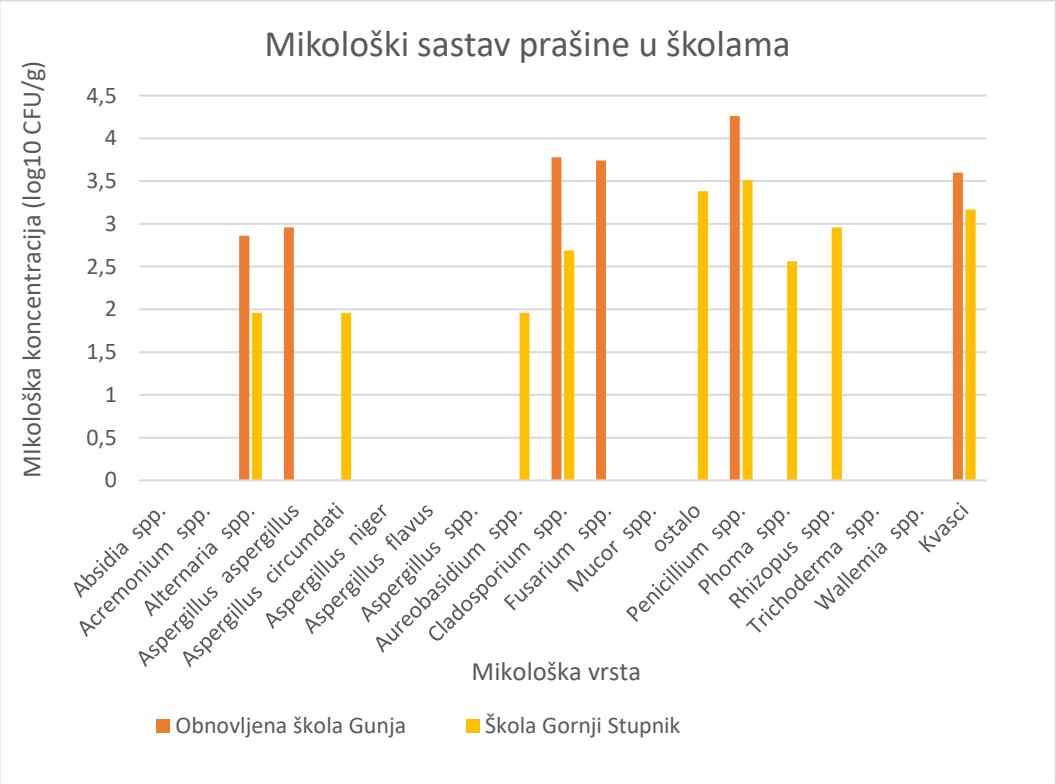
Najveća koncentracija plijesni zabilježena je u prašini obnovljenih kuća u Gunji i to uglavnom plijesni različitih vrsta roda Penicillium. A kretala se u vrijednostima od 10^3 do 10^4 cfu/g.



Slika 17 Mikološki sastav prašine u kućama

Prašina u školama

Uočena je veća koncentracija plijesni u prašini uzorkovanoj u školi u Gunji, nego u prašini iz Gornjeg Stupnika. Najviše je bilo plijesni iz roda *Penicillium* reda veličine 10^5 CFU/g zatim iz roda *Cladosporium* i *Fusarium* reda veličine 10^4 dok je istih plijesni u prašini uzorkovanoj u školi Gornjeg Stupnika brojčano bilo manje za jednu do dvije potencije.

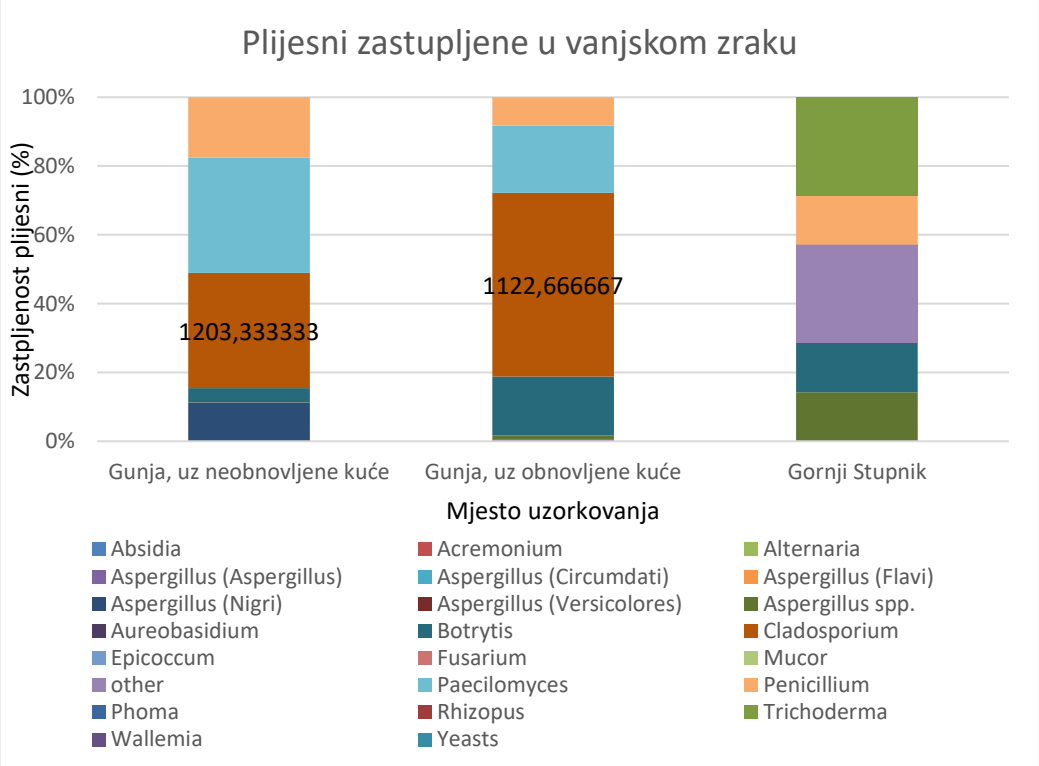


Slika 18 Mikološki sastav prašine u školama

4.2. MIKOLOŠKA POPULACIJA ZRAKA

4.2.1. Vanjski zrak

Najviše plijesni iz roda *Cladosprium* bilo je u vanjskom zraku obnovljenih ($1,1 \times 10^4$ cfu/g) i neobnovljenih kuća ($1,2 \times 10^4$ cfu/g) . U vanjskom zraku u Gornjem Stupniku ove plijesni uopće nije bilo.



Slika 19 Plijesni zastupljene u vanjskom zraku

Vanjski zrak kuća

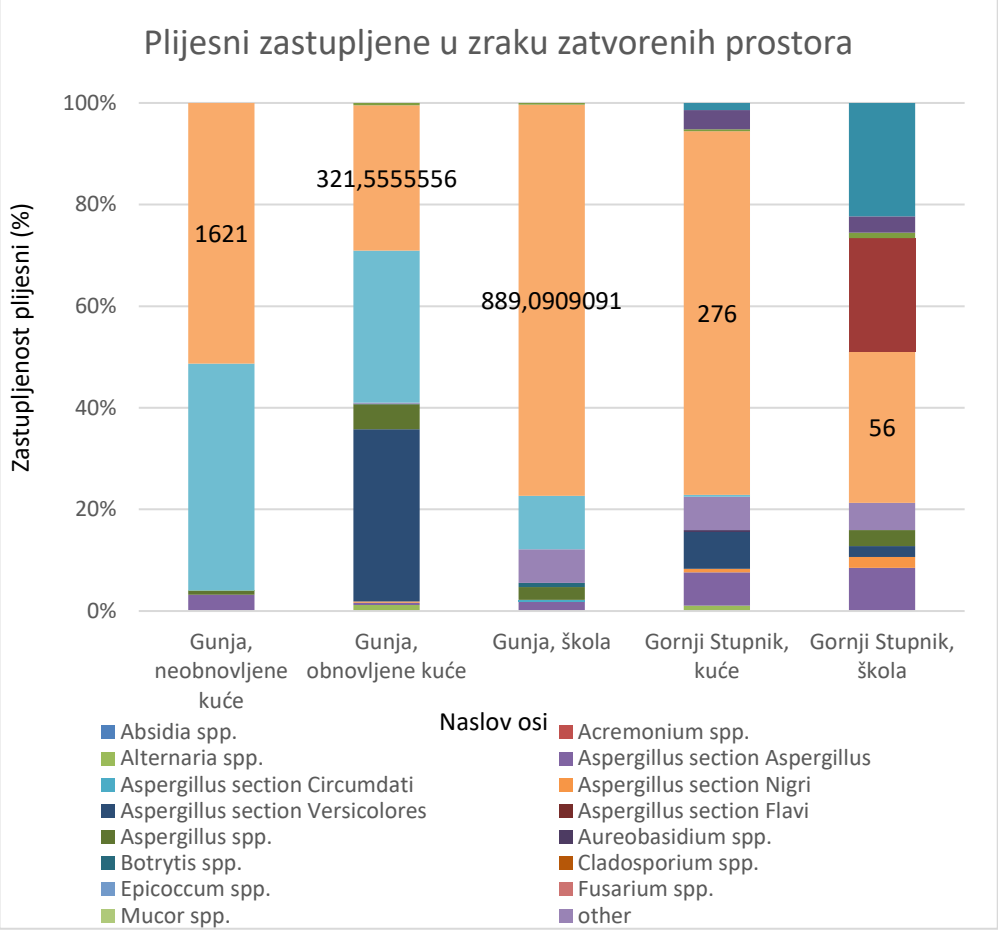
U usporedbi sa vanjskim zrakom u Gornjem Stupniku, zrak uzorkovan u Gunji je imao daleko veću kontaminaciju plijesnima. U jednom kubičnom metru vanjskog zraka Gunje izmjereno je $1{,}1\times10^3$ spora plijesni roda *Cladosporium*, kojeg uopće nije bilo u zraku Gornjeg Stupnika. Tu su još *Penicillium*, *Aspergillus* i *Botrytis* vrste kojih je bilo u redu veličine 10^2 do 10^3 cfu/m^3 te kao pojedinačna vrsta roda *Aspergillus* ističe se *Aspergillus niger* kojeg je u vanjskom zraku neobnovljenih kuća bilo 4×10^2 cfu/m^3.



Slika 20 Mikološki sastav vanjskog zraka

4.2.2. Zrak zatvorenih prostora

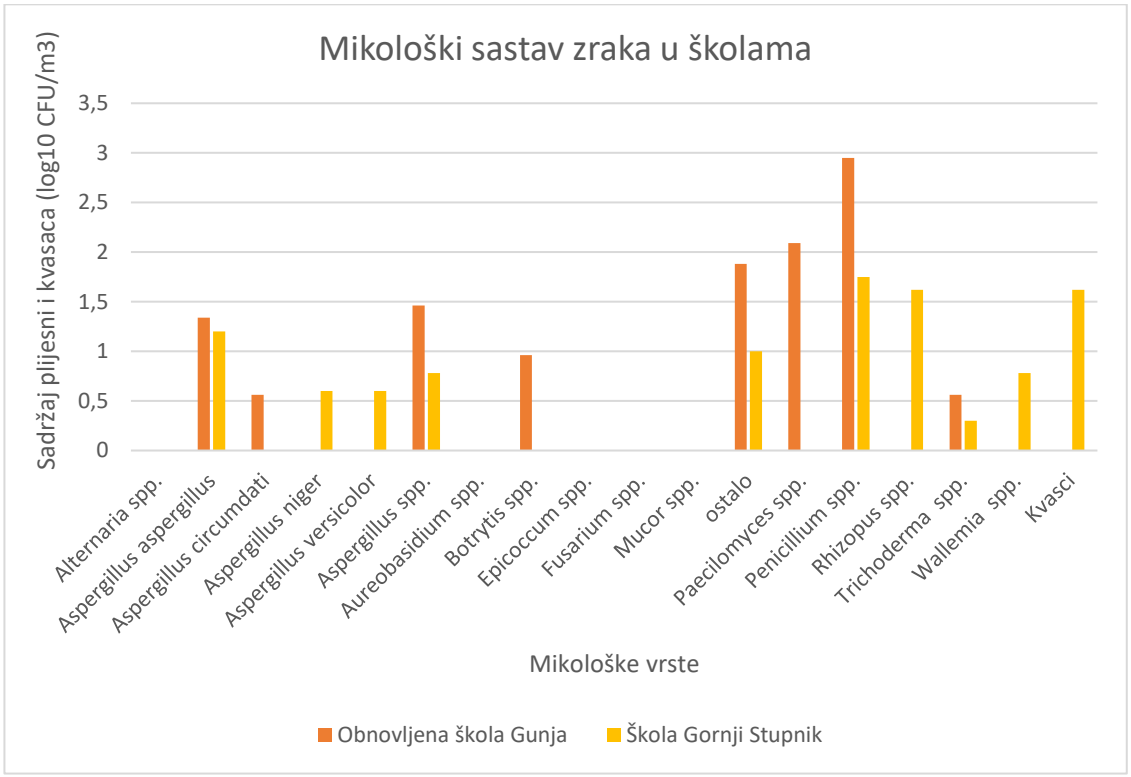
Najveći broj plijesni u zraku zatvorenih prostora zabilježen je u neobnovljenim kućama u Gunji i to iz roda *Penicillium* (1,6 × 10^3 cfu/m^3). U zraku škole u Gunji također je bila prilično velika koncentracija *Penicillium* spp (8,9 × 10^2 cfu/m^2), a uočljiv prizor je da je prema broju ostalih vrsta plijesni ista plijesan zauzimala oko 80 % zastupljenosti u odnosu na ostale vrste.



Slika 21 plijesni zastupljene u zatvorenim prostorima

Zrak u školama

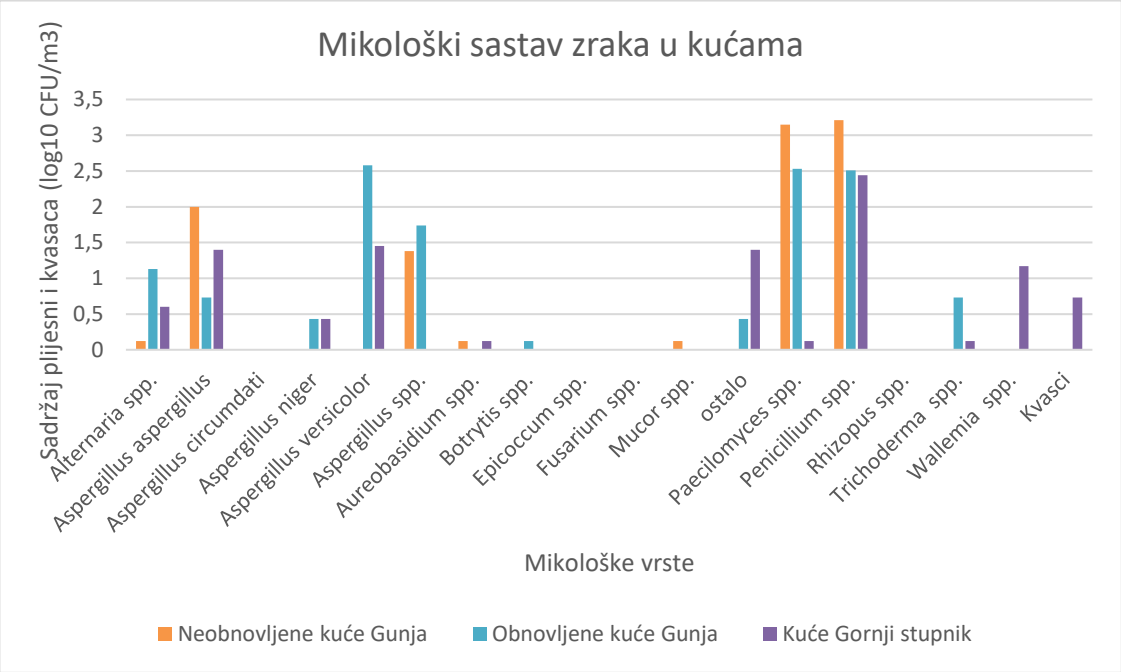
Za prethodni graf (**Slika 21**) je rečeno, a iz **Slike 22** ispod se još bolje vidi kolika odstupanja od ostalih vrsta plijesni broje *Penicilium* spp.



Slika 22 Mikološki sastav zraka u školama

Zrak u kućama

Najveća mikološka kontaminacija zraka izmjerena je u neobnovljenim kućama Gunje i to plijesni roda *Penicillium* (2×10^3 cfu/m^3)

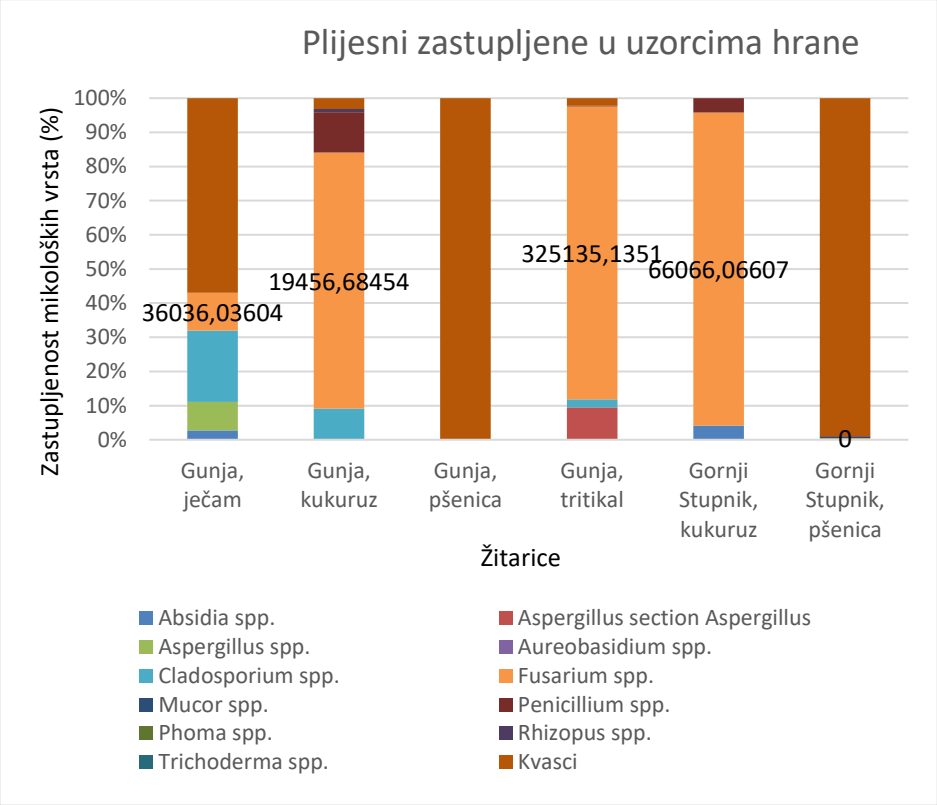


Slika 23 Mikološki sastav zraka u kućama

4.3. MIKOLOŠKA POPULACIJA HRANE

4.3.1. Zastupljenost plijesni u hrani

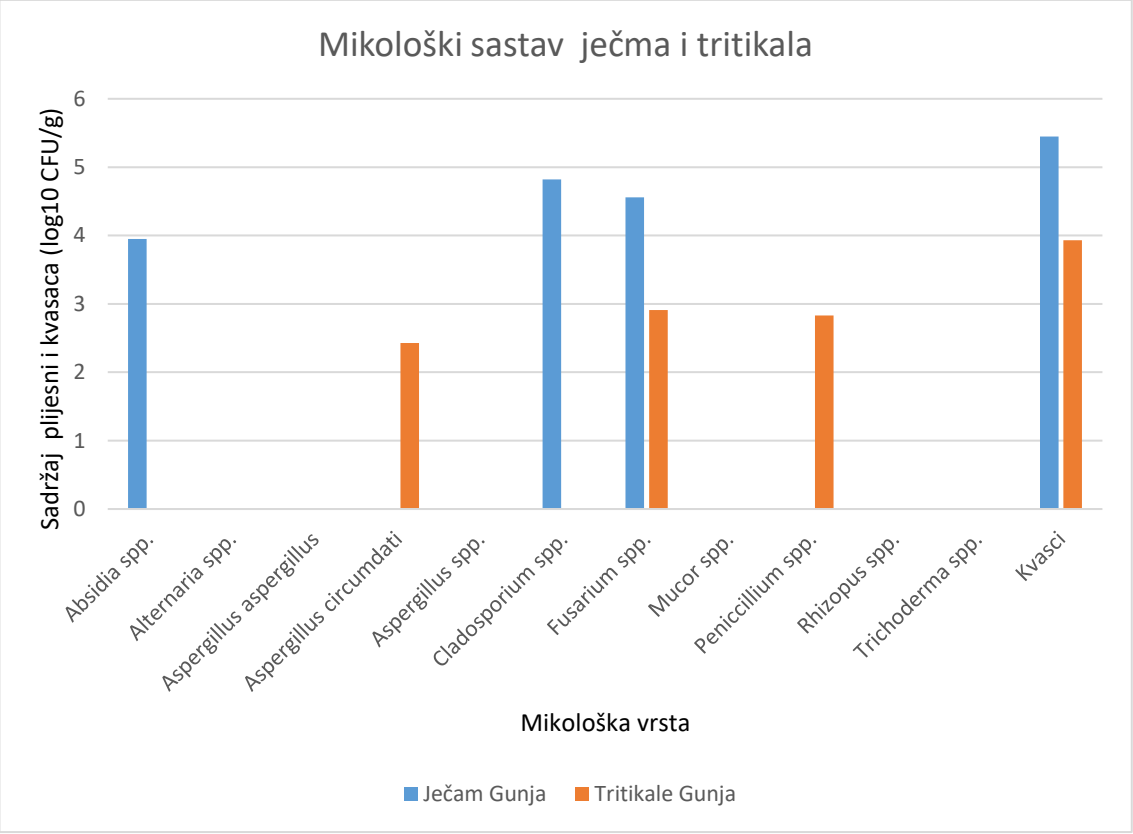
U hrani su najviše bile zastupljene plijesni roda *Fusarium* i to visokih 3,25 × 10^6 cfu/g u žitarici tritikale u Gunji, te 6,6 × 10^5 cfu/g u kukuruzu u Gornjem Stupniku. U uzorcima pšenice bilo je prisutno najviše kvasaca i to u Gunji 2,8 × 10^6 cfu/g, te u Gornjem Stupniku 1,7×10^5 cfu/g.



Slika 24 Plijesni zastupljene u uzorcima hrane

Mikološki sastav ječma i tritikala

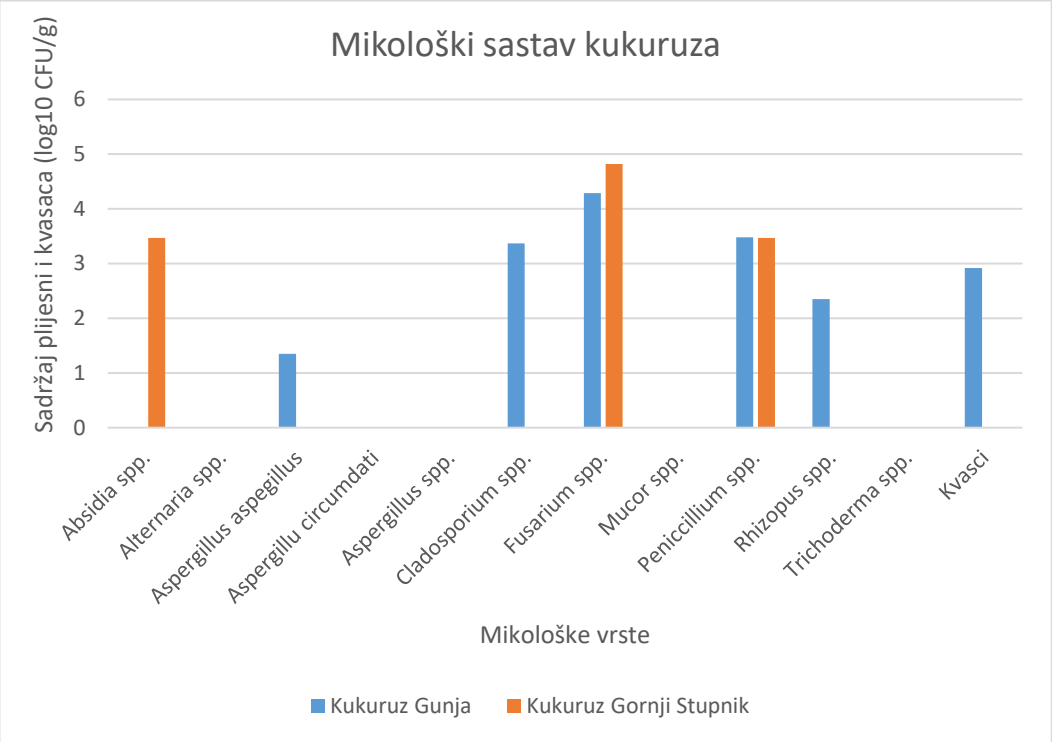
Ječam u Gunji bio je kontaminiran u najvećoj mjeri kvascima ($1,8\times10^6$ cfu/g) te plijesnima roda *Cladosporium* ($6,7 \times 10^5$ cfu/g), *Fusarium* ($3,6 \times 10^4$ cfu/g) i *Absidia* (9×10^3 cfu/g). Za dvije potencije niže zabilježene su kontaminacije žitarice tritikala. Kvasaca je bilo (9×10^3 cfu/g), plijesni iz rodova *Fusarium* (9×10^2 cfu/g) i *Penicillium* ($6,9 \times 10^2$ cfu/g), te plijesni vrste *Aspergillus circumdati* ($2,7\times10^2$ cfu/g). Ove dvije vrste žitarica uzorkovane su samo u Gunji.



Slika 25 Mikološki sastav ječma i tritikala

Mikološki sastav kukuruza

Kukuruz je uzorkovan i u Gunji i u Gornjem Stupniku. Analize su pokazale kako je kukuruz bio kontaminiran najviše plijesnima roda *Fusarium* i to čak nešto više kukuruz Gornjeg Stupnika (6,6 × 10^4 cfu/g), ali to je stoga što rod *Fusarium* pripada kategoriji „plijesni s polja“ tj. nije dospio na zrno sekundarnom kontaminacijom. Zanimljivo je što su plijesni roda *Penicillium* dokazane u istom broju i u Gunji i u Gornjem Stupniku (3 × 10^3 cfu/g).



Slika 26 Mikološki sastav kukuruza

Mikološki sastav pšenice

U pšenici je pronađeno najviše kvasaca (1,7 × 10^4 cfu/g) u Gornjem Stupniku te u Gunji (9 × 10^3). Ostale mikološke vrste (*Fusarium*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Mucor* i *Trichoderma* u Gunji, te *Aspergillus* i *Rhizopus* u Gornjrm Stupniku) bile su zastupljene u nešto manjem broju ali reda potencije oko 10^2 cfu/g.



Slika 27 Mikološki sastav pšenice

5.ZAKLJUČCI

Zaključci

1. Srednja koncentracija plijesni dokazanih u zraku bila je podjednaka u unutarnjem (2,1 × 10^3 CFU/m^3) kao i u vanjskom zraku (1,8 × 10^3 CFU/m^3) obnovljenih kuća u Gunji.
2. Kod neobnovljenih kuća bila je veća mikološka koncentracija u unutarnjem zraku (4,6 × 10^3 CFU/m^3) nego u vanjskom (3,6 × 10^3 CFU/m^3).
3. Ako se te vrijednosti usporede sa kontrolom, zrak u Gornjem Stupniku imao je znatno nižu srednju vrijednost za mikološki nalaz (4,6 × 10^2 CFU/m^3).
4. Slične pojave su uočene kod zraka u školama. Prosječna mikološka kontaminacija zraka u školi u Gornjem Stupniku (2,1 × 10^2 CFU/m^3) bila je znatno niža od one u školskom zraku Gunje (1,6 × 10^3 CFU/m^3).
5. Srednja mikološka koncentracija prašine u obnovljenim kućama (2,7 × 10^6 CFU/g) bila je znatno veća nego u neobnovljenim kućama u Gunji (1 × 10^5 CFU/g) kao i u prašini uzorkovanoj u kućama Gornjeg Stupnika (1,3 × 10^5 CFU/g).
6. Uočena je i veća koncentracija plijesni u prašini uzorkavanoj u školi u Gunji (1,2 × 10^5 CFU/g) nego u prašini iz Gornjeg Stupnika (4,8 × 10^4 CFU/g).
7. Jedino u čemu Gornji Stupnik prednjači u odnosu na Gunju su rezultati mikološke analize hrane. Zabilježene su vrijednosti od 2 × 10^6 CFU/g u žitaricama uzorkovanim u Gornjem Stupniku, dok je u žitaricama Gunje bilo prisutno nešto manje plijesni (5 × 10^5 CFU/g).
8. Sa gledišta zastupljenosti mikoloških vrsta prevladavali su plijesni rodova *Penicillium*, *Cladosporium* i *Aspergillus*, u vanjskom i unutarnjem zraku u Gunji, dok su u Gornjem Stupniku prevladavale plijesni roda *Rhizopus*.
9. U uzorcima prašine prevladavale su vrste plijesni iz roda *Aspergillus*, a u hrani su dominirale *Fusarium* vrste.
10. Generalni zaključak bi bio, uostalom kako se i očekivalo da su toksikogene plijesni daleko više zastupljene u vanjskom i unutarnjem zraku i prašini obnovljenih i neobnovljenih kuća u poplavljenoj Gunji nego u kontrolnom području Gornjeg Stupnika koje poplava nije zahvatila.

5.LITERATURA

Adams MR, Moss MO: *Food microbiology*. RSC Publishing, Cambridge, 2008.

Air Sampler MAS 100 Eco (Merck, Germany) uzorkivača zraka (http://www.mbv.ch/mas-100-eco_29-en.html , 2017)

Duraković S: *Opća mikrobiologija*. Prehrambeno-tehnološki inženjering, Zagreb, 1996.

Duraković S, Duraković L: *Specijalna mikrobiologija*, Zagreb 2000.

Duraković S, Duraković L: *Mikologija u biotehnologiji*, Zagreb 2003.

Duraković S: Toksični i kancerogeni metaboliti gljiva u namirnicama i krmivima. Hrana i ishrana, Zagreb, 1989.

Guidance for employers, building owners and building managers: *How to deal with sick building syndrome* (SBS), HSE 2000.

Mikroskopska slika plijesni roda *Pencillium* (https://www.drthrasher.org/penicillium ,2017.)

Mikroskopska slika plijesni roda *Aspergillus* (https://www.emlab.com/app/fungi/Fungi.po?event=fungi&type=primary&species=5 ,2017.)

Mikroskopska slika plijesni roda *Alternaria* (http://www.mycology.adelaide.edu.au/descriptions/hyphomycetes/alternaria/ ,2017.)

Mikroskopska slika plijesni roda *Rhizopus* (http://www.medical-labs.net/?s=rhizopus&x=0&y=0 ,2017.)

Mikroskopska slika plijesni roda *Fusarium* (http://www.medical-labs.net/fusarium-species-colony-and-microscopic-description-3138/ ,2017.)

Mikroskopska slika plijesni roda *Mucor* (http://thunderhouse4-yuri.blogspot.hr/2011/04/mucor-species.html ,2017.)

Mikroskopska slika plijesni roda *Epicoccum* (http://sustainablemycology.blogspot.hr/2012/12/epicoccum-spp.html , 2017)

Mikroskopska slika plijesni roda *Chaetomium*

(http://www.survivingtoxicmold.com/what_is_toxic_mold_ ,2017.)

Mikroskopska slika plijesni roda *Stachybotrus*

(http://www.etandt.com/news/516/, 2017.)

Pitt, John I., Hocking, Ailsa D: *Fungi and Food Spoilage,* Springer 2009.

Slikoviti prikaz sindroma bolesne zgrade

(http://www.gradjevinarstvo.rs/tekstovi/972/820/%C5%A1ta_je_sindrom_bolesne_zgrade_-_sbs,_i_kako_ga_izbe%C4%87 ,2017.)

Šarkanj B, Kipčić D, Vasić-Rački Đ, Galić K, Katalenić M, Dimitrov N, Klapec T: Kemijske i fizikalne opasnosti u hrani. Hrvatska agencija za hranu (HAH), Grafika d.o.o., Osijek, 2010.

Zemljopisni položaj poplavljenog (Gunja) područja.

(http://www.weather-forecast.com/locations/Gunja ,2017.)

Zemljopisni položaj nepoplavljenog (Gornji Stupnik) područja

(http://invest-croatia-zg-county.com/invest-hr/zagreba-ka-upanija/op-ine ,2017.)