

Određivanje mikrobne populacije zraka u različitim uvjetima

Katalinić, Zvonimir

Master's thesis / Diplomski rad

2015

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:109:723117>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-20**

REPOZITORIJ

PTF

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

Zvonimir Katalinić

**ODREĐIVANJE MIKROBNE POPULACIJE ZRAKA U RAZLIČITIM
UVJETIMA**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, listopad, 2015.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

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

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Nastavni predmet: Opća mikrobiologija

Tema rada je prihvaćena na III. sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek održanoj 16. 12. 2014.

Mentor: doc. dr. sc. Lidija Lenart

ODREĐIVANJE MIKROBNE POPULACIJE ZRAKA U RAZLIČITIM UVJETIMA

Zvonimir Katalinić, 255-DI

Sažetak:

Poznato je kako je atmosfera vrlo neprikladan medij za život mikroorganizama, jer oni u zraku niti rastu niti se razmnožavaju. Međutim, mikroorganizmi u zrak mogu dospjeti na različite načine. Primjerice, razna strujanja zraka mogu donijeti mnoštvo mikroorganizama u prostor. Ljudi svojim kapljičnim sekretima kihanjem, kašljanjem, pljuvanjem, pa čak i disanjem mogu znatno kontaminirati zračni prostor. Mikroorganizmi se u prostor mogu unijeti česticama prašine, odjećom, obućom i slično. Najviše prašine nastaje ljuštenjem i odbacivanjem ljudske kože, pa zajedno s njom u zrak dopijevaju i mikroorganizmi. Pogodna temperatura i vlažnost uvjetuju nakupljanje velikog broja mikroorganizama kako u krutim i tekućim medijima tako i u zraku. Stoga se u ovom radu nastojala usporediti brojnost bakterija i plijesni u zraku prostorija različitih veličina, u kojima dnevno boravi različit broj ljudi, a pod utjecajem pripadajuće dnevne temperature i relativne vlažnosti zraka. Mjerenja su provedena jednom mjesečno tijekom akademske godine 2014./2015. Utvrđene su značajne razlike između pojedinih rezultata mjerenja.

Ključne riječi: mikrobna populacija zraka, kontaminacija, aerobne bakterije, plijesni

Rad sadrži: 40 stranica
24 slika
2 tablice
0 priloga
18 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

- | | | |
|----|------------------------------------|---------------|
| 1. | prof. dr. sc. Drago Šubarić | predsjednik |
| 2. | doc. dr. sc. Lidija Lenart | član-mentor |
| 3. | izv. prof. dr. sc. Hrvoje Pavlović | član |
| 4. | doc. dr. sc. Đurđica Ačkar | zamjena člana |

Datum obrane: 01. listopada, 2015.

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 Food Science and Nutrition
Subdepartment of Biology and Microbiology
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food technology

Course title: General microbiology

Thesis subject was approved by the Faculty Council of the Faculty of Food Technology Osijek at its session no. III. held on December 16, 2015.

Mentor: *Lidija Lenart*, PhD assistant professor

EXAMINATION OF MICROBIOLOGICAL AIR POPULATION IN DIFFERENT CONDITIONS

Zvonimir Katalinić, 255/ DI

Summary:

It is known that the atmosphere is a very unsuitable medium for the life of microorganisms, because they neither grow nor reproduce in the air. However, they may enter the air in different ways. For example, various air currents can bring a multitude of microorganisms into the airspace. People can significantly contaminate the airspace by sneezing, coughing, spitting and even breathing, with their secretion droplets. Microorganisms can enter the airspace with dust particles, clothing, footwear etc. Most dust is generated by peeling and discarding of the human skin, so microorganisms enter the airspace along with it. Appropriate temperature and humidity of the medium cause accumulation of a large number of micro-organisms both on solid and liquid medium and in the air. Therefore, this study compared quantity of bacteria and molds in the air in differently sized rooms, daily populated by different number of people, all under the influence of an associated daily temperature and relative humidity. The measurements were carried out once a month during the academic year 2014./2015. Significant differences were found between the individual measurement.

Key words: microbiological population of air, contamination, aerobic mesophilic bacteria, molds

Thesis contains: 40 pages
24 figures
2 tables
0 supplements
18 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | |
|--|--------------|
| 1. <i>Drago Šubarić</i> , PhD, prof. | chair person |
| 2. <i>Lidija Lenart</i> , PhD, assistant prof. | supervisor |
| 3. <i>Hrvoje Pavlović</i> , PhD, associate prof. | member |
| 4. <i>Đurđica Ačkar</i> , PhD, assistant prof. | stand-in |

Defense date: October, 01, 2015.

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

Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. MIKROBIOLOGIJA ZRAKA	4
2.1.1. Bakterije u atmosferi	5
2.1.2. Mikroskopske gljivice u atmosferi	7
2.1.3. Virusi	9
2.1.4. Uzorkovanje i analiza mikroorganizama iz zraka.....	9
3. EKSPERIMENTALNI DIO	13
3.1. ZADATAK	14
3.2. MATERIJAL I METODE	14
3.2.1. Materijal	14
3.2.2. Metode	15
4. REZULTATI I RASPRAVA	17
4.1. BAKTERIJSKA POPULACIJA ZRAKA.....	18
4.2. POPULACIJA PLIJESNI U ZRAKU	27
5. ZAKLJUČCI	36
6. LITERATURA	39

Popis oznaka, kratica i simbola

PTF	Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
CFU	Colony forming units – broj živih stanica koje formiraju kolonije

1. UVOD

Mikroorganizmi su sveprisutni, drugim riječima oni obitavaju u vrlo širokom rasponu prebivališta od kojih su najvažniji: voda, tlo i zrak. Od navedenih staništa, u atmosferi je prisutno najmanje mikroorganizama zbog visokog svjetlosnog intenziteta, niske koncentracije organske tvari i vode, što čini atmosferu neprikladnu za mikrobni rast.

Iako nijedna mikrobna stanica ne može rasti i razmnožavati se u atmosferi, znatan broj mikroorganizama obitava u nižim slojevima atmosfere u obliku sitnijih ili krupnijih mikrokapljica ili čestica, u tzv. bioaerosolovima. Takvi bioaerosolovi, ovisno o mikroorganizmima koje sadrže se mogu naći na površini namirnica, tako kontaminirati hranu, a mogu izazvati i različite patološke učinke odnosno štete, kako na ljude tako i na životinje i biljke.

Najznačajniji mikroorganizmi koji obitavaju u atmosferi su:

- Gram-pozitivne (npr. *Corynebacterium*) bakterije,
- Gram-negativne bakterije (npr. *Achromobacter*, *Flavobacterium*),
- bakterijske spore (npr. *Bacillus*) i
- različite plijesni (npr. *Cladosporium* sp., *Alternaria* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp).

Cilj diplomskoga rada je bio odrediti mikrobnu populaciju zraka u 1 m³ prostora pet predavaonica različite veličine u kojima studenti Prehrambeno tehnološkog fakulteta Osijek svakodnevno borave tijekom predavanja. Osnovna namisao je bila kako na brojnost mikroorganizama u zraku utječe broj studenata u predavaonici, atmosferska temperatura i relativna vlažnost zraka. Izuzev u predavaonicama, radi usporedbe, mjerila se i populacija zraka u dvorišnom prostoru fakulteta, te u dvije prodavaonice kruha kao i u jednoj prodavaonici mesa.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. MIKROBIOLOGIJA ZRAKA

Grana biologije koja proučava različite biološke entitete prisutne u zraku naziva se aerobiologija, dok je mikrobiologija zraka područje unutar aerobiologije koja se bavi pojavom i izolacijom različitih mikroorganizama iz zraka kako u otvorenom tako i u zatvorenom prostoru (Pavić i sur., 2001.). Atmosfera kao stanište predstavlja izrazito neprijateljski okoliš za mikroorganizme zbog visokog svjetlosnog zračenja, velike razlike u temperaturi te niske koncentracije organske tvari i relativne vlažnosti (Duraković i Duraković, 2001.). Unatoč tome, značajan broj mikroorganizama se nalazi u atmosferi. U zraku su najčešće prisutne vegetativne stanice, spore bakterija i mikroskopske gljivice (**Tablica 1**) jer su spore gljiva i bakterija otpornije na Sunčevo zračenje, isušivanje u odnosu na ostale mikroorganizme (viruse, alge i protozoe).

Tablica 1 Mikroorganizmi koji obitavaju u atmosferi (Duraković i Duraković, 2001.)

Tip organizma	%
Bakterije	
Gram-pozitivne pleomorfni štapići (<i>Corynebacterium</i>)	20
Gram-negativni štapići (<i>Achromobacter</i> , <i>Flavobacterium</i>)	5
Tvorci endospora (<i>Bacillus</i>)	35
Gram-pozitivni koki (<i>Micrococcus</i>)	40
Mikroskopske gljivice	
<i>Cladosporium</i> spp.	80
<i>Alternaria</i> spp.	5
<i>Penicillium</i> spp.	2
Ostali (<i>Aspergillus</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Trichoderma</i> itd.)	13

Veliku ulogu u prijenosu mikroorganizama koji nisu prilagođeni životu u atmosferi imaju aerosoli tj. bioaerosoli. Bioaerosol predstavlja koloidnu suspenziju koja je sastavljena od kapljica tekućine i mikroorganizama reda veličine 0,3 do 100 μm (Srikanth i sur., 2008.). Njihov nastanak te prijenos i preživljavanje mikroorganizama kompleksan je proces na kojeg utječu brojni fizikalno-kemijski faktori od kojih su najvažniji:

- relativna vlaga,
- temperatura,
- koncentracija kisika i

- sunčevo zračenje (Pavić i sur., 2001.).

Relativna vlažnost predstavlja ključan čimbenik za preživljavanje mikroorganizama, njenim povećanjem raste i količina slobodne vode. Snižanjem količine slobodne vode tj. relativne vlažnosti dovodi do promjene konformacije fosfolipidnih membrana mikrobnih stanica, a na koncu do smanjene sposobnosti preživljavanja stanica. Relativna vlažnost zraka u izravnoj je vezi s temperaturom.

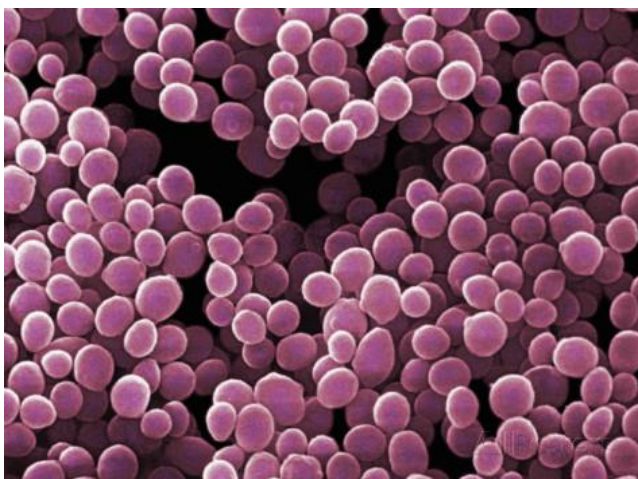
Na stabilnost bioaerosola još utječu koncentracija kisika i elektromagnetsko zračenje. Slično kao i za temperaturu, postoji negativna korelacija između koncentracije kisika u atmosferi i preživljavanja mikroorganizama. Kratkovalno elektromagnetsko zračenje (npr. gama zrake, rendgenske zrake) posjeduje više energije u odnosu na dugovalno, te oštećuje genetički materijal mikroorganizama smanjujući njihovu sposobnost preživljavanja (Mohr, 2007.).

2.1.1. Bakterije u atmosferi

Bakterije su jednostanični organizmi koji se razmnožavaju jednostavnim dijeljenjem stanice (binarno cijepanje) u dvije stanice kćeri od kojih svaka dobiva istu količinu udvostručenog genetičkog i staničnog materijala. Mogu se razmnožavati i spolnim načinom, koji obuhvaća prijenos genetičkog materijala iz jedne stanice u drugu (Goyer i sur., 2001.).

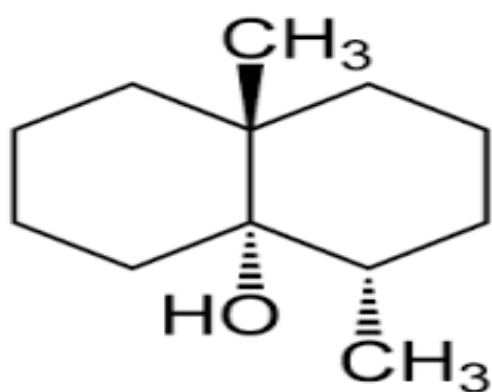
Većina bakterija prisutnih u zraku potječu od vode, tla, oceana, ljudi i životinja (Mancinelli i Shulls, 1978.) te su raspršene na česticama prašine i kapljicama vode (bioaerosol). Najznačajniji mehanizmi koji dovode do stvaranja bioaerosola su kašljanje i kihanje. Osim navedenog udaranje tekućine po površini i otvaranje boca predstavljaju još neke načine nastanka aerosola (Duraković i Duraković, 2001.). Opće je poznato da zagađeni vanjski zrak može biti opasan za zdravlje, ali je manje poznato kako zrak u zatvorenim prostorima može sadržavati daleko veće koncentracije bakterijskih stanica (Stryjawska-Sekulska i sur., 2007.). Izvori bakterija u zatvorenim prostorima mogu biti ljudi, različiti predmeti, zrak iz ventilacijskih sustava i klima uređaja (Salustiano i sur., 2003.).

Od bakterija u zraku, većinom dominiraju gram-pozitivne bakterije. Obojene kolonije često su bakterije roda *Micrococcus* ili *Corynebacterium* (**Slika 1**), a bijele obojene predstavljaju aerobne sporogene štapičaste bakterije roda *Bacillus*. Posjedovanje pigmenata bakterijama omogućuje zaštitu od Sunčevog zračenja (Duraković i Duraković, 2001.).



Slika 1 *Micrococcus* spp. (www.allposters.com, 2015.)

Većina bakterija koje su prirodno prisutne u zraku nisu štetne za zdravlje ljudi, čak su neke od njih značajne kako za ljude tako i za okoliš (Goyer i sur., 2001.). Međutim jako visoke koncentracije ne samo bakterija, već i ostalih mikroorganizama u zraku mogu djelovati alergenno, te u konačnici izazvati ozbiljne bolesti što je utvrđeno epidemiološkim studijama. Primjerice, zrak oko štagalja može sadržavati mnoštvo spora aktinomiceta te drugih vrsta poput *Thermoactinomyces vulgaris* i *Micropolispora faeni*. Preduga izloženost navedenim sporama s vremenom može dovesti do bolesti poznate pod nazivom „farmerska bolest pluća“, tj. preosjetljivosti osoba na utjecaj spora. Iako su aktinomicete vrlo rijetki uzročnici kvarenja namirnica, neki sojevi mogu sintetizirati organski spoj geosmin (**Slika 2**) koji daje zemljani miris pitkim vodama (Duraković i Duraković, 2001.).



Slika 2 Struktura geosmina (Duraković i Duraković, 2001.)

Nadalje neke bakterije koje se prenose putem aerosola mogu izazvati ozbiljne bolesti poput *Legionella pneumophila*, poznatog uzročnika „legionarske bolesti“ tj. upale pluća. *Legionella pneumophila* se pri povoljnim uvjetima razmnožava u vodoopskrbnim sustavima (vodovodi,

uređaji za hlađenje, grijanje, ovlaživanje zraka itd.) gdje se raspršivanjem vode stvara aerosol koji je infektivan za ljude. Od zdravstvenog interesa značajne su i bakterije roda *Mycobacterium* posebice vrsta *Mycobacterium tuberculosis* koja je klasificirana kao najveći etiološki uzročnik tuberkuloze. Glavno utočište su im tkiva toplokrvnih sisavaca, uključujući i ljude. Zaražena osoba kihanjem, pričanjem stvara aerosol putom kojega se navedene bakterije prenose na drugu osobu (Goyer i sur., 2001.).

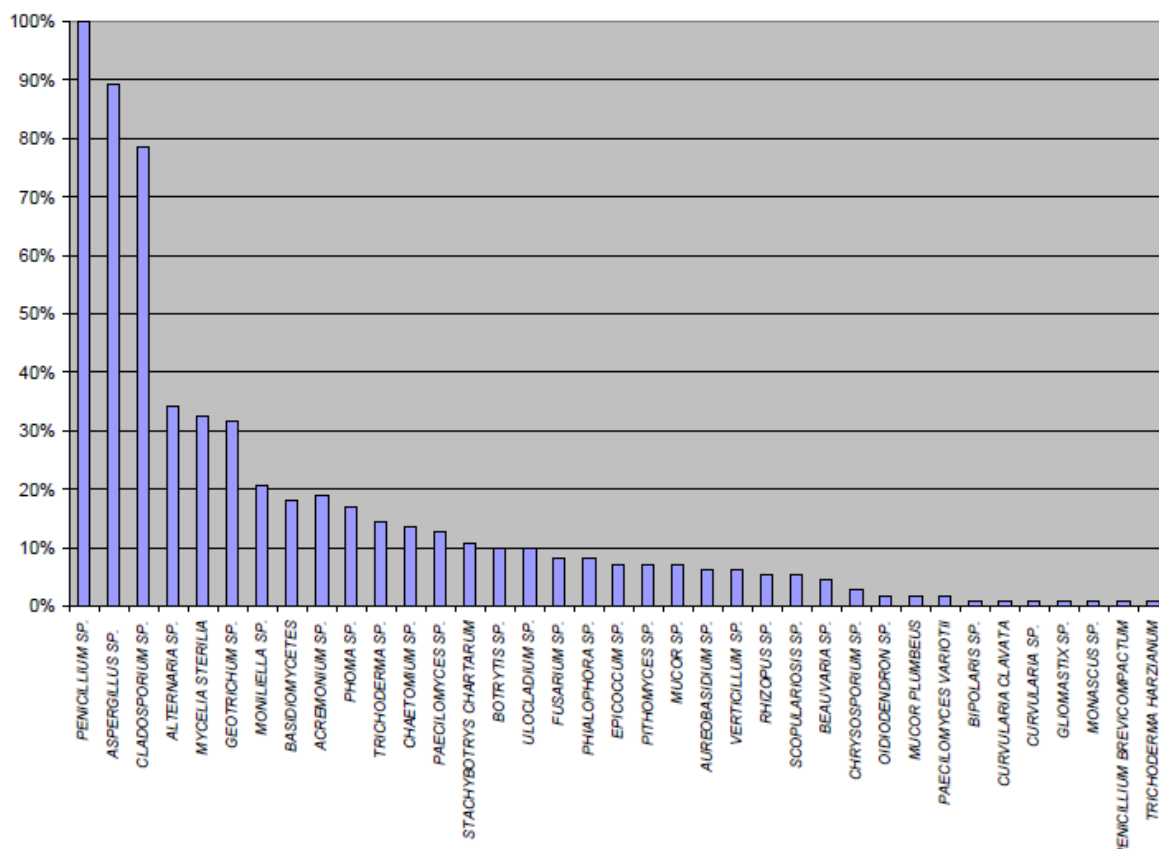
Endotoksini u aerosolu

Osim mikroorganizama, u zraku mogu biti prisutni i produkti njihovog metabolizma i produkti raspadanja poput endotoksina. Endotoksini (u literaturi poznati kao lipopolisaharidi, LPS) su otrovi, za razliku od egzotoksina, ne nastaju kao produkt izlučivanja bakterija, već su to strukturalni dijelovi stanične stijenke Gram negativnih bakterija koji nastaju raspadom bakterija (npr. *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Pseudomonas*) neovisno o tome da li je patogeni soj ili ne (Liebers i sur., 2006.). Endotoksini su dokazani u zraku iz područja bogatih prašinom organskog podrijetla, posebno s poljoprivrednih površina (Pavić i sur., 2001.).

2.1.2. Mikroskopske gljivice u atmosferi

Danas je poznato oko deset tisuća različitih vrsta plijesni i kvasaca. Kvasci su jednostanične mikroskopske gljivice koje se razmnožavaju jednostavnom diobom i pupanjem. Plijesni su višestanični organizmi koje se razmnožavaju pomoću spora iz kojih klijanjem nastaju stanice nalik nitima (hife) ili kidanjem hifa. Hife potom oblikuju koloniju tj. nakupinu hifa koja se naziva micelij (Goyer i sur., 2001.).

Zbog jajolikih i okruglih struktura spora koje im omogućuje jednostavno širenje zračnim strujama, plijesni roda *Penicillium* i *Aspergillus* su najzastupljenije u zraku (**Slika 3**) te su odgovorne za kvarenje velikog broja namirnica (Duraković i Duraković, 2001.).



Slika 3 Najčešće plijesni prisutne u zraku (Goyer i sur., 2001.)

Neke plijesni poput predstavnika iz roda *Fusarium* šire se zrakom u malim kapima vode (vlažne spore), udaranje kapi o površinu omogućuje njihovo raspršivanje na daleke udaljenosti. Ovakav način širenja predstavlja kratkotrajan, ali učinkovit način za širenje biljnih patogena. Spore plijesni *Cladosporium herbarum* preživljavaju i rasprostru se pri temperaturi od 0 °C i stvaraju crno obojene kolonije na površini namirnica kao što je smrznuto meso (Duraković i Duraković, 2001.).

Mikroskopske gljivice poput *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Cladosporium* koje su prisutne u zraku mogu biti potencijalni uzročnici alergijskih reakcija i respiratornih infekcija. Od navedenih najčešća je infekcija plijesnima roda *Aspergillus* (*A. fumigatus* ili *A. niger*), posebno kod imunokompromitiranih osoba ili se pojavljuje nakon liječenja neke druge infekcije (sekundarna infekcija). Simptomi aspergiloze mogu biti grčevi u mišićima, bol u zglobovima, prehlada, suženje očiju (Srikanth i sur., 2008.). Osim toga plijesni izlučuju sekundarne metabolite (mikotoksine) koji su jednako toksični za ljude i životinje. Mikotoksini se apsorbiraju kroz kožu, crijevnu sluznicu i kroz dišne puteve.

2.1.3. Virusi

Nasuprot bakterijama i plijesnima, virusima je potrebna živa stanica kako bi se mogli dalje razmnožavati, međutim virusi izvan stanice mogu vrlo uspješno preživjeti u okolišu. Uzorkovanje i analiza virusa je složenija u odnosu na bakterije i plijesni. Poznata je činjenica da se i virusi dosta često prenose zrakom. (Goyer i sur., 2001.)

2.1.4. Uzorkovanje i analiza mikroorganizama iz zraka

Istraživanja mikrobiološke kakvoće zraka počinju se razvijati početkom 20. stoljeća. Ova ispitivanja su od posebnog značaja u poljoprivredi, medicini, biotehnologiji, prehrambenoj industriji, itd. Prilikom uzorkovanja zraka glavni cilj je izdvojiti kapljice bioareosola sa što manjim štetnim utjecajem na mikroorganizme koji su prisutni u kapljicama (Pavić i sur., 2001).

Određivanje broja mikroorganizama u zraku nije jednostavan zadatak. Iz navedenog razloga postoje različite metode prebrojavanja, koje se općenito mogu podijeliti u četiri grupe:

- prebrojavanjem "colony forming units" po kubnom metru zraka (CFU/m³),
- određivanjem CFU na hranjivoj podlozi,
- mjerenjem kemijskih komponenata mikrobne stanice po m³ zraka i
- prebrojavanjem uz pomoć mikroskopa

Određivanje kemijskih spojeva mikrobne stanice kao što su ATP, DNK ili enzimi zbog nedovoljne osjetljivosti same metode još uvijek ima ograničenu primjenu u određivanju broja mikroorganizama u zraku. Slično vrijedi i za određivanje broja primjenom mikroskopa i fluorescentne "*in situ*" hibridizacije.

S obzirom na prethodno navedeno, prebrojavanje CFU predstavlja trenutno najučinkovitiju metodu za kvantificiranje mikroba u zraku. CFU označava onaj broj mikroorganizama koji svojim razmnožavanjem mogu oblikovati kolonije i određuje se kao broj živih stanica (Duraković i Duraković, 2001.). Uzorci zraka za mikrobiološku analizu mogu se prikupljati na dva načina:

- taloženjem mikroorganizma na krutu hranjivu podlogu (pasivno uzorkovanje zraka) i

- automatskim uzorkivačem zraka (aktivno uzorkovanje zraka) (Pasquarella i sur., 2000.)

Pasivno uzorkovanje zraka

Pasivno uzorkovanje zraka provodi se taloženjem mikroorganizma pod djelovanjem gravitacijske sile na otvorenu površinu Petrijeve zdjelice u kojoj se nalazi odgovarajuća hranjiva podloga (**Slika 4**). Nakon uzorkovanja i inkubiranja na 25 °C kroz 5 - 7 dana, rezultat se izražava kao broj poraslih kolonija na hranjivoj podlozi (CFU). Broj poraslih kolonija na hranjivoj podlozi upravo je proporcionalan broju mikroorganizma u zraku.

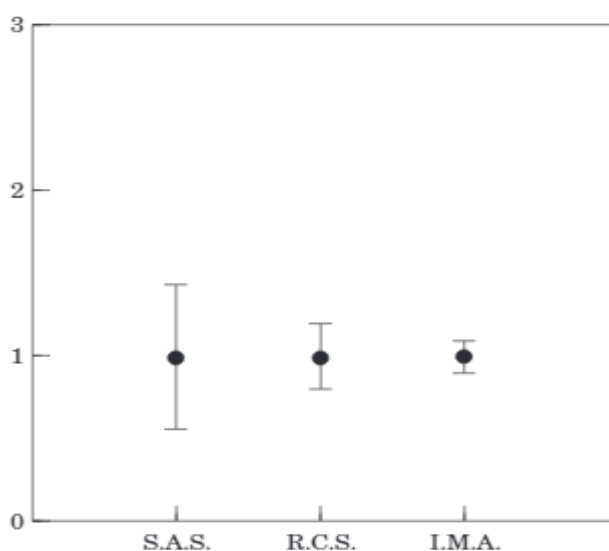


Slika 4 Hranjive podloge za pasivno uzorkovanje zraka (www.labbulletin.com, 2015.)

Glavni nedostatak koji se pripisuje ovakvom načinu uzorkovanja zraka je što rezultati mjerenja nisu u potpunosti ili uopće nisu u korelaciji sa drugim metodama uzorkovanja. Razlog tome je što se ovom metodom ne može uzeti točan volumen zraka kao uzorak za razliku od drugih metoda kao što je aktivno uzorkovanje zraka. Nadalje, ovom metodom se ne mogu odrediti veće čestice na koje djeluje gravitacijska sila dok manje čestice zajedno sa mikroorganizmima ostaju lebdjeti u zraku. Zbog prethodno navedenog ovakav način uzorkovanja zraka pod djelovanjem gravitacijske sile ne smatra se kvantitativnim. (Pasquarella i sur., 2000.).

Usprkos navedenim nedostacima ova metoda se još uvijek često koristi za mikrobiološku analizu zraka budući je jednostavna jer ne zahtijeva specijalnu opremu. Može se procijeniti

broj točno određene **vrste** mikroorganizama (npr. plijesni) u zraku primjenom odgovarajuće hranjive podloge. Dobiveni rezultati su pouzdani i ponovljivi i mogu se uspoređivati iako su mjerenja provedena na različitim mjestima. Uzorci se mogu uzeti s različitih mjesta. Mikrobiološka populacija zraka kao i strujanje zraka prilikom uzorkovanja nije narušeno. U prilog tome, Pasquarella i sur. (2000) navode u svome radu kako uzorkovanje zraka metodom taloženja pokazuje najmanju standardnu devijaciju u rezultatima mjerenja u usporedbi s aktivnim uzorkovanjem zraka (**Slika 5**).



Slika 5 Standardna devijacija rezultata mjerenja upotrebom tri različite metode uzorkovanja zraka (SAS i RCS: aktivno uzorkovanje zraka; IMA: pasivno uzorkovanje zraka)(Pasquarella i sur., 2000.)

Aktivno uzorkovanje zraka

Prilikom aktivnog uzorkovanja koristi se automatski uzorkivač koji uzima točno određeni volumen zraka, pri čemu taj volumen zraka upuhuje na hranjivu podlogu različitim postupcima ovisno od uređaja do uređaja (**Slika 6**). Rezultati mjerenja se izražavaju kao broj poraslih kolonija po m^3 (CFU/ m^3).

Unatoč tome što je prikupljanje uzoraka brže u odnosu na pasivno, aktivno uzorkovanje posjeduje brojne nedostatke. Pošto postoji velik broj različitih automatskih uzorkivača, svaki od njih će dati različite rezultate iako su mjerenja provedena na istome mjestu. Prema tome, vrlo je teško interpretirati, a još teže uspoređivati rezultate dobivene između njih. Štoviše,

velika odstupanja u mjerenjima se mogu dobiti primjenom istog uzorkivača. Ostali nedostaci ove metode tj. uređaja kojima se ona provodi su:

- skupoća,
- stvaranje buke prilikom rada,
- poteškoće u sterilizaciji uređaja nakon upotrebe,
- stvaranje nepoželjnih turbulencija prilikom uzorkovanja što može smanjiti broj živih mikroorganizama,
- zrak nakon uzorkovanja se mora ispustiti (Pasquarella i sur., 2000.).



Slika 6 Automatski uzorkivač zraka (www.innovationdiagnostics.com, 2015.)

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak ovog rada bio je odrediti koncentraciju aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni u m³ zraka (CFU/m³) u pet predavaonica. Predavaonice su označene brojevima i oznakama kao P₁, P₂, P₃, P₄ i P₈. Osim u predavaonicama broj navedenih mikroorganizama trebao se odrediti i u dvorištu PTF-a, zatim u dvije prodavaonice kruha i jednoj prodavaonici mesa. U predavaonicama su boravili studenti, a analize broja mikroorganizama su rađene pod pretpostavkom da je u P₁ predavaonici boravilo 150 studenata, u predavaonici P₂ 80 studenata, u predavaonici P₃ 40 studenata, u predavaonici P₄ 25 studenata i u predavaonici P₈ 20 studenata. Uzorci su se prikupljali jednom mjesečno tijekom jedne godine u svim navedenim prostorima u akademskoj godini 2014./2015. u 13 sati nakon izlaska studenata iz predavaonice. U isto vrijeme bilježene su i vrijednosti dnevne temperature i relativne vlažnosti atmosferskog zraka očitavanjem sa internetskih web stranica.

3.2. MATERIJAL I METODE

3.2.1. Materijal

Kao materijal u ovom radu korištene su hranjive podloge izlivena u Petrijevim zdjelicama. Za određivanje broja aerobnih mezofilnih bakterija u zraku korišten je Triptički agar s glukozom i ekstraktom kvasca (Biolife, Italija). Za određivanje broja plijesni u zraku korišten je Czapek-ov agar (Czapek dox agar, Biolife, Italija).

Mjerenja mikrobne populacije zraka su obavljena po danima prema **Tablici 2** pri različitim vrijednostima temperature i vlažnosti atmosferskog zraka.

Tablica 2 Temperatura i vlažnost atmosferskog zraka po danima u godini

Datum	Temperatura atmosferskog zraka (°C)	Vlažnost atmosferskog zraka (%)
19. 01. 2015.	0	93
27. 11. 2014.	2	62
20. 03. 2015.	10	47
19. 11. 2014.	12	64
01. 12. 2014.	13	65

30. 10. 2014.	15	93
21. 10. 2014.	19	40
05. 11. 2014.	20	34
02. 06. 2015.	23	60
16. 04. 2015.	26	30
05. 05. 2015.	30	37
19. 05. 2015.	32	40

3.2.2. Metode

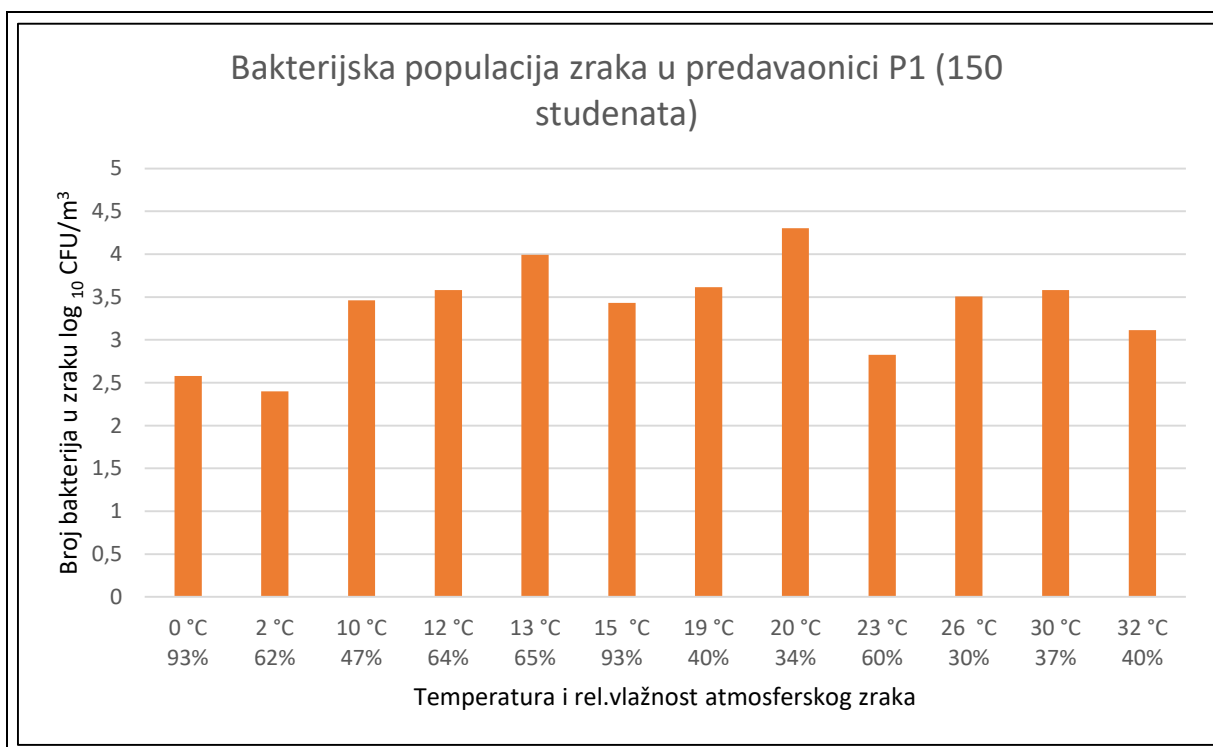
U radu je primijenjena metoda pasivne sedimentacije zraka. Uzorci zraka prikupljeni su sa četiri različita mjesta u svakom od navedenih prostora. Petrijeve zdjelice sa hranjivim podlogama ostavljene su otvorene za vrijeme od 5 minuta na predviđenim mjestima. Petrijeve zdjelice su postavljane na stolovima, na prvom i posljednjem stolu po dvije, te u sredini prostorije četiri, kako za bakterije tako i za plijesni. Nakon isteka od 5 minuta Petrijeve zdjelice su poklopljene i premještene na inkubaciju u termostate. Inkubacija plijesni na Czapek-ovu agaru (Czapek Dox Agar, Biolife, Italija) odvijala se 7 dana pri temperaturi 25 °C, dok su prikupljene aerobne mezofilne bakterije na Triptičkom agaru s glukozom i ekstraktom kvasca (Biolife, Italija) inkubirane 7 dana pri temperaturi 28 °C. Nakon inkubacije prebrojane su kolonije uzgojenih mikroba, određene su prosječne vrijednosti i izračunat je broj CFU/m³ zraka pomoću formule po Omeljanskij-u. Naime, prema toj formuli za vrijeme od 5 minuta na 100 cm² površine hranjive podloge, istaloži se onoliko mikroorganizama koliko ih sadržava 0,01 m³ zraka (Omeljanskij, 1940.; Wójcik i sur., 2010.).

Obrada podataka

Rezultati određivanja mikrobne populacije analiziranih uzoraka obrađeni su s pomoću računalnih programa Microsoft® Office Excel 2010 za Windows (Microsoft Corporation, Redmond, SAD) i GraphPad Prism verzija 5.00 za Windows (GraphPad Software, San Diego, SAD)

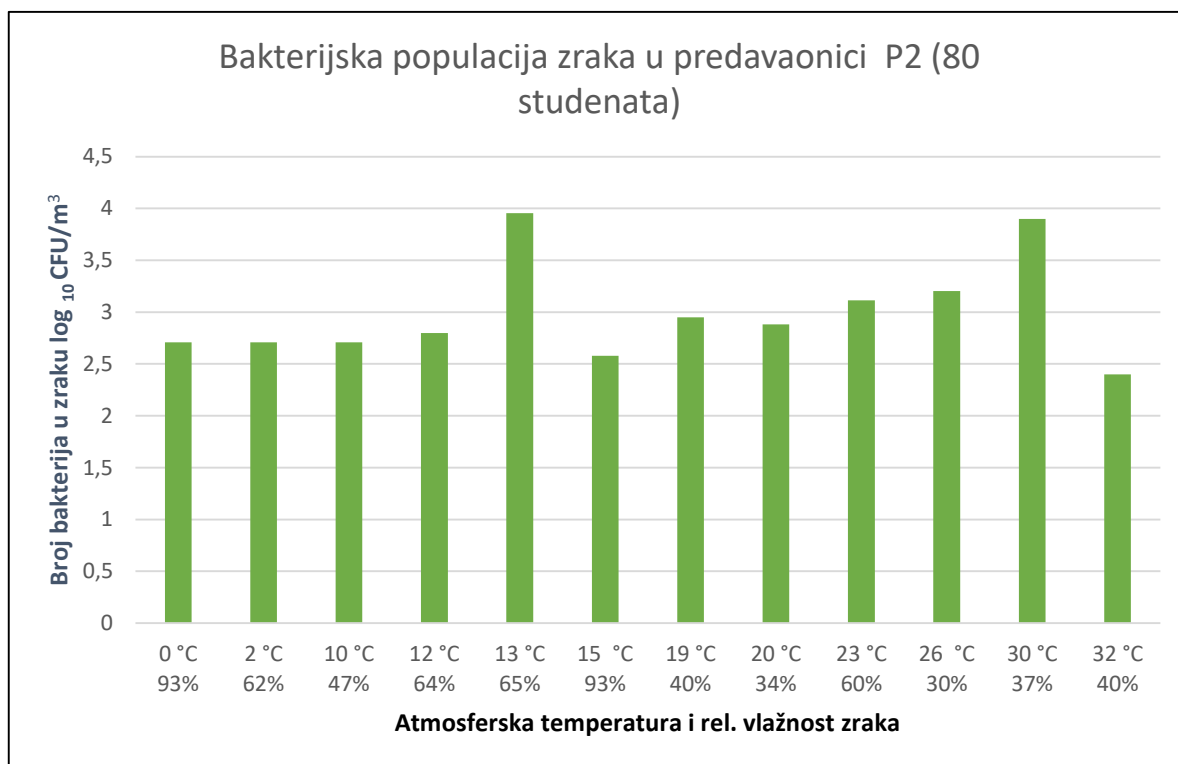
4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. BAKTERIJSKA POPULACIJA ZRAKA



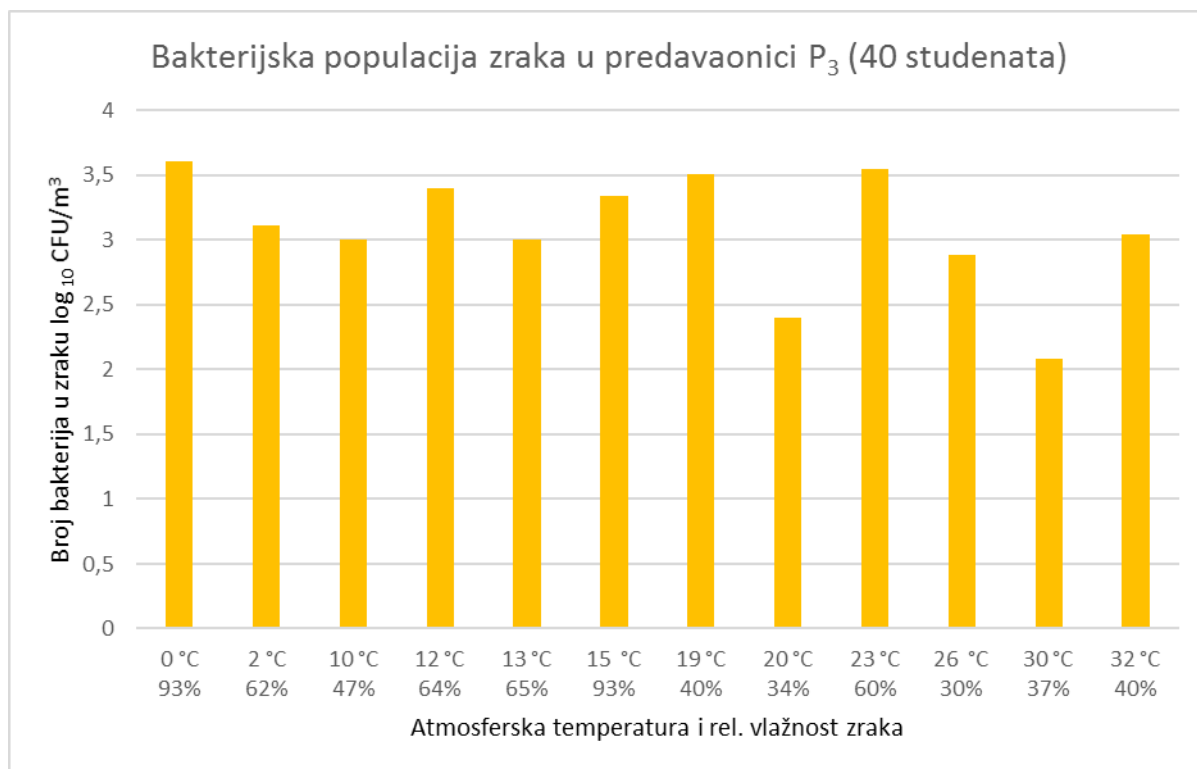
Slika 7 Brojnost bakterija u predavaonici P₁ pri različitoj temperaturi i vlažnosti atmosferskog zraka

Najveća koncentracija bakterija u zraku u predavaonici P₁ izmjerena je onoga dana kada je atmosferska temperatura zraka bila 20 °C, a relativna vlažnost zraka 34 %. Prosječna vrijednost CFU/m³ iznosila je $4,3 \times 10^4$. Najniža vrijednost izmjerena je pri temperaturi 2 °C i relativnoj vlažnosti zraka od 62 %. Ta vrijednost za CFU je bila reda veličine $4,8 \times 10^2$ /m³.



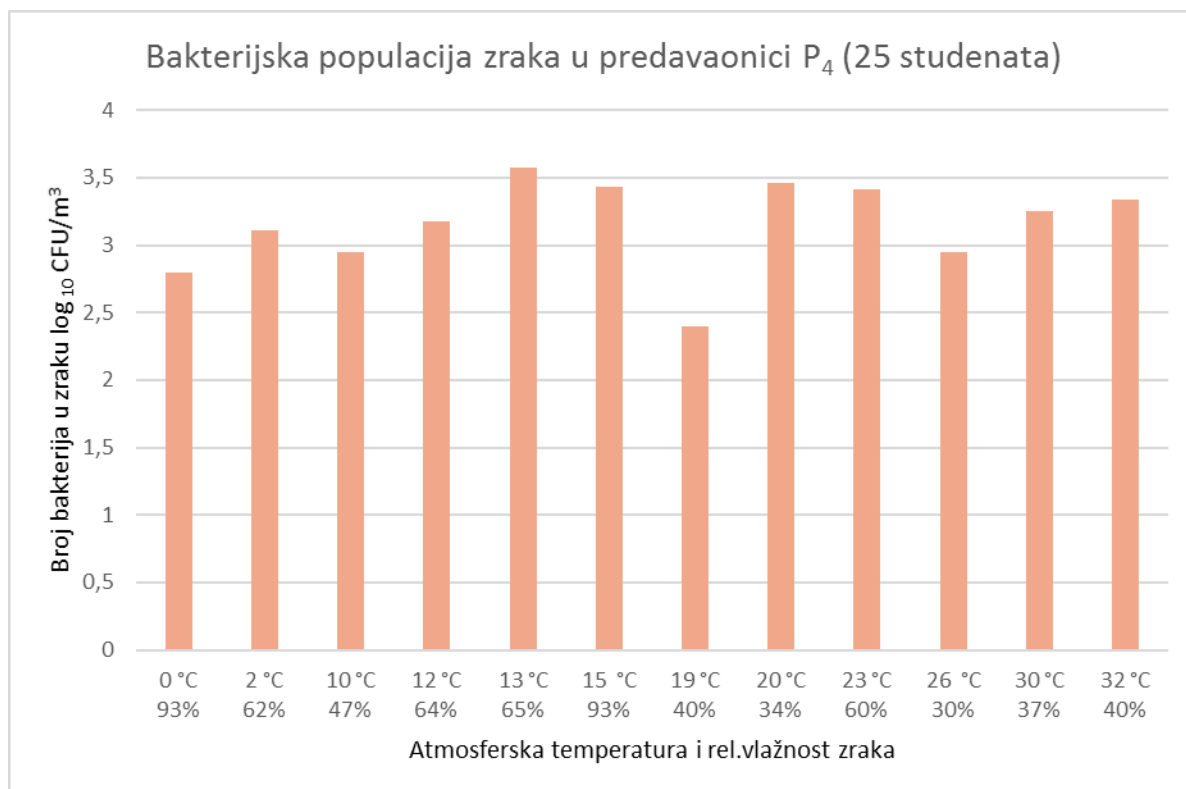
Slika 8 Brojnost bakterija u predavaonici P₂ pri različitoj temperaturi i vlažnosti atmosferskog zraka

Najveći broj bakterija u zraku u predavaonici P₂ izmjeren je onoga dana kada je atmosferska temperatura zraka bila 13 °C, a relativna vlažnost zraka 65 %. Prosječna vrijednost CFU/m³ iznosila je 9×10^3 . Najmanje bakterija u zraku (4×10^2 /m³) izmjereno je pri temperaturi zraka 32 °C i relativnoj vlažnosti 40 %.



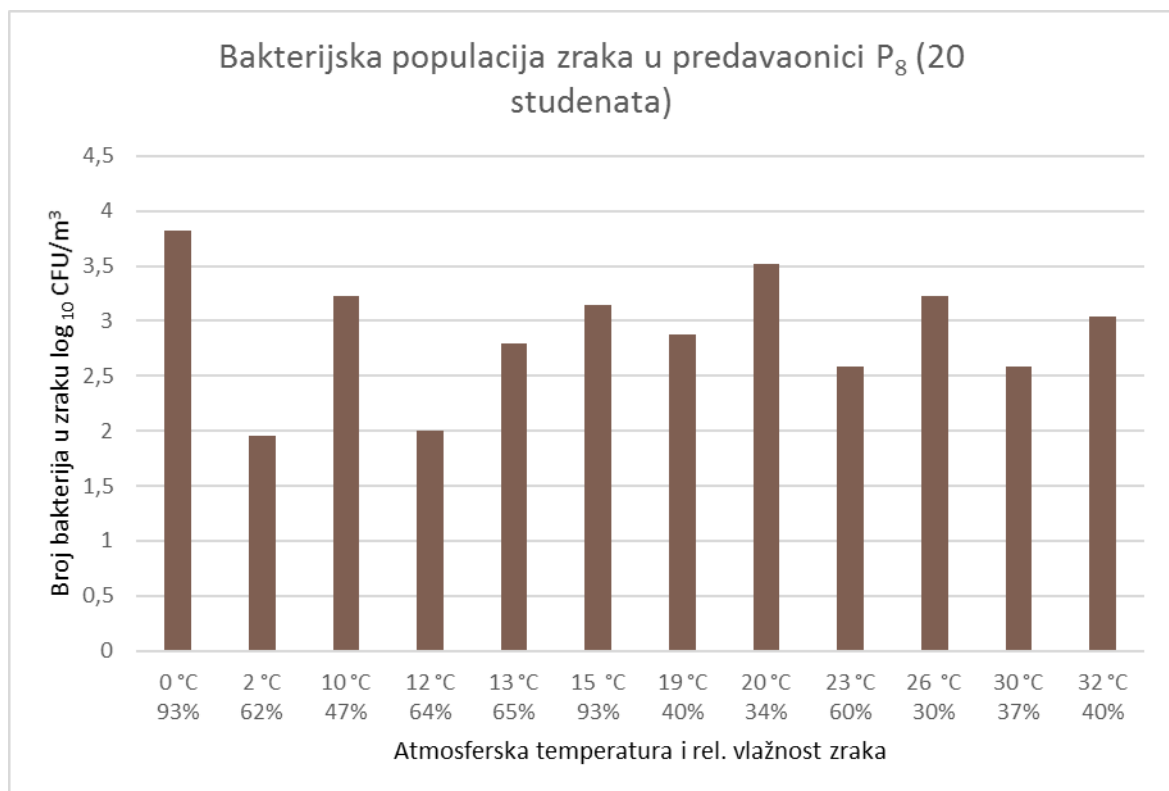
Slika 9 Brojnost bakterija u predavaonici P₃ pri različitoj temperaturi i vlažnosti atmosferskog zraka

Broj bakterija u zraku predavaonice P₃ bio je, za čudo, najveći pri temperaturi od 0 °C i relativnoj vlažnosti od 93 % dok je suprotno rezultatima za predavaonicu P₂ najniža vrijednost izmjerena pri atmosferskoj temperaturi od 30 °C i relativnoj vlažnosti zraka od 37 %. Najveća izračunata prosječna vrijednost za CFU iznosila je 6×10^3 /m³ zraka, a najmanja $1,2 \times 10^2$ /m³.



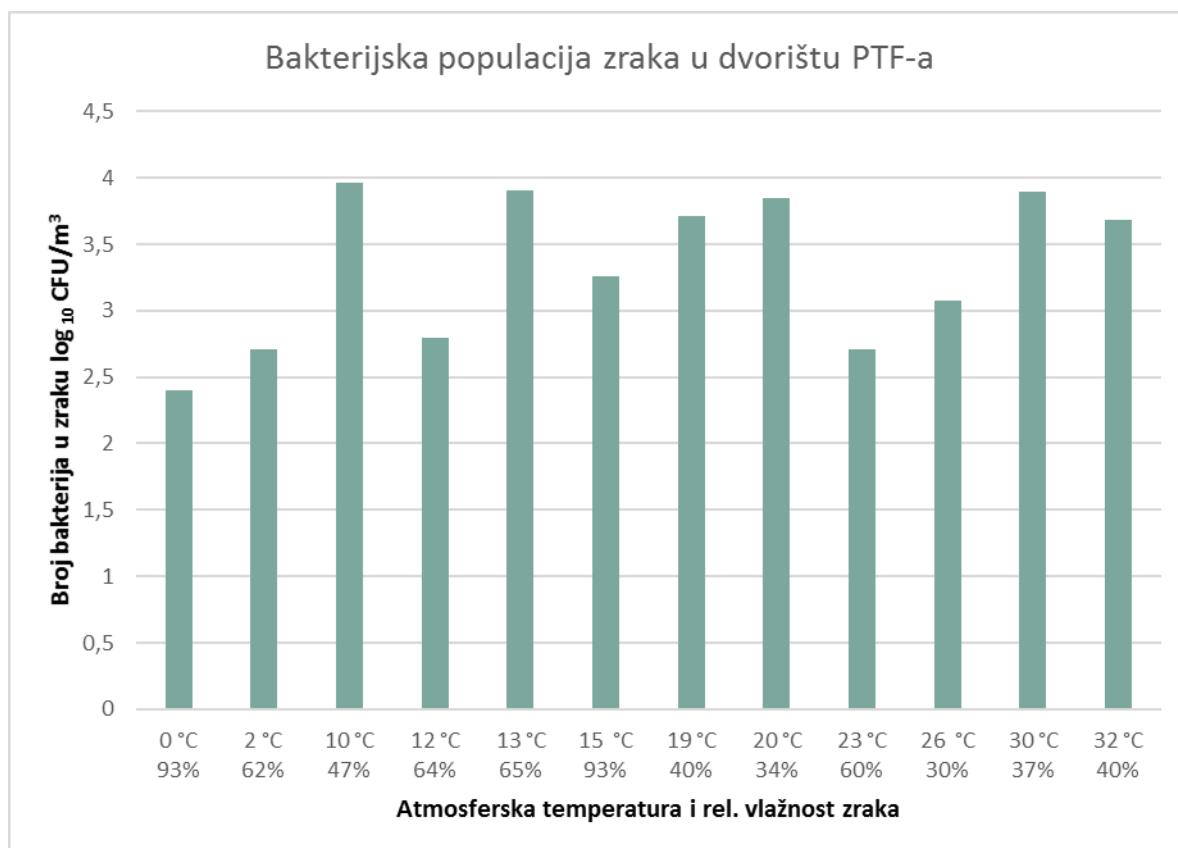
Slika 10 Brojnost bakterija u predavaonici P₄ pri različitoj temperaturi i vlažnosti atmosferskog zraka.

U predavaonici P₄ najveća brojnost bakterija zabilježena je pri temperaturi vanjskog zraka od 13 °C i pri 65 %-tnoj vlažnosti. CFU broj bio je prosječnih $5,2 \times 10^3$ živih bakterijskih stanica u kubičnom metru zraka. Najniža CFU vrijednost ($4 \times 10^2/\text{m}^3$) zabilježena je pri 19 °C i tadašnjom vlagom zraka od 40 %.



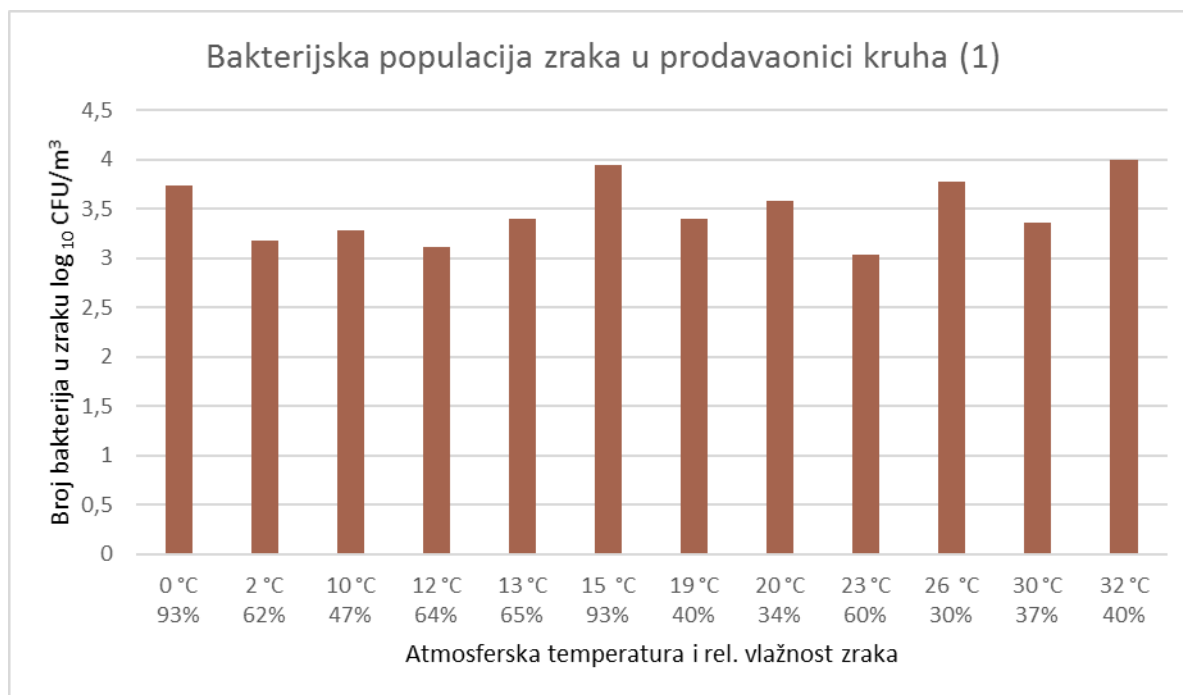
Slika 11 Brojnost bakterija u predavaonici P₈ pri različitoj temperaturi i vlažnosti atmosferskog zraka

Najveći broj bakterija u predavaonici P₈ izmjeren je pri 0 °C i 93%-tnoj vlažnosti zraka. Međutim, vrijednosti za CFU/m³ su bile podjednake (reda veličine 10² do 10⁴) s tim da je Najmanji CFU broj koji je uznosio 90/m³ izmjeren je pri temperaturi zraka od 2 °C i relativnoj vlažnosti zraka od 62 %.



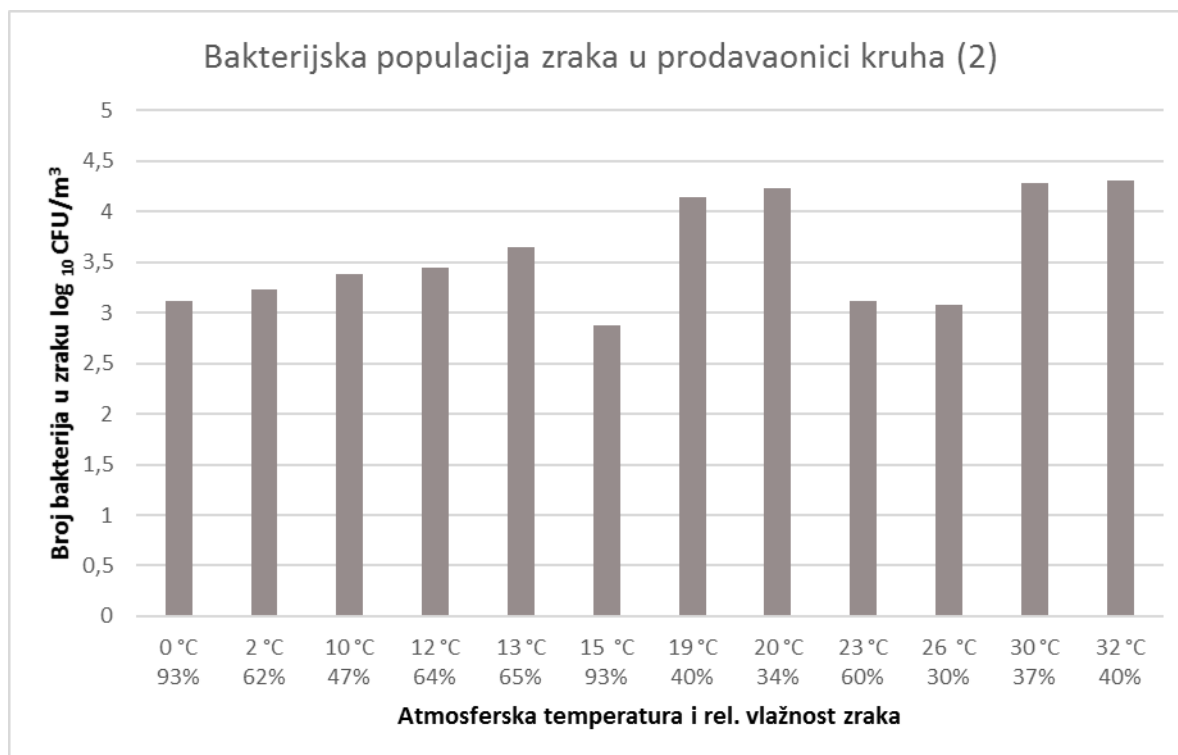
Slika 12 Brojnost bakterija u dvorištu PTF – a, pri različitoj temperaturi i vlažnosti atmosferskog zraka

U dvorišnom prostoru PTF-a izmjerene su CFU vrijednosti istog reda veličine kao i u prostorijama unutar zgrade PTF-a i to od $10^2/\text{m}^3$ do $10^4/\text{m}^3$. Najveći broj bakterija u kubičnom metru zraka izmjeren je pri temperaturi zraka 10 °C i toga dana pripadajućoj vlažnosti od 47 %. Najniža pak vrijednost bila je pri 0 °C i relativnoj vlažnosti atmosferskog zraka od 93 %.



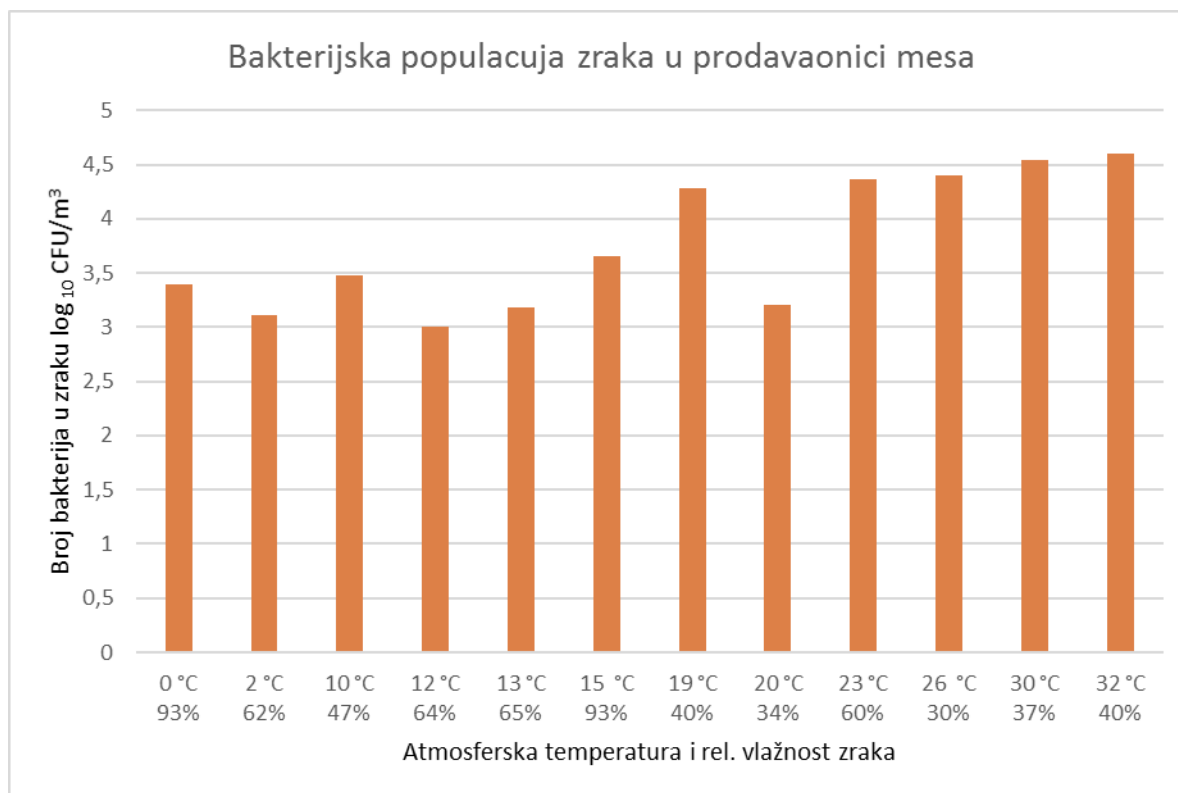
Slika 13 Brojnost bakterija u prodavaonici kruha (1) pri različitoj temperaturi i vlažnosti atmosferskog zraka

Prodavaonice kruha su zanimljive za proučavanje sa stanovišta prehrambene tehnologije. CFU vrijednosti su bile približno iste pri različitim vremenskim pokazateljima, reda veličine od 10^3 do $10^4/\text{m}^3$. Naime, najniža CFU vrijednost iznosila je za bakterije $1 \times 10^3/\text{m}^3$, a najviša $1 \times 10^4/\text{m}^3$. Očekivanja kako najveći broj bakterija obitava u zraku sa najvišom temperaturom u ovom slučaju su ostvarena, jer pri temperaturi atmosferskog zraka od visokih 32 °C i prosječnoj relativnoj vlažnosti od 40 % izmjereno je najviše (1×10^4) živih aerobnih mezofilnih bakterija u 1 m³ zraka prodavaonice.



Slika 14 Brojnost bakterija u prodavaonici kruha (2) pri različitoj temperaturi i vlažnosti atmosferskog zraka

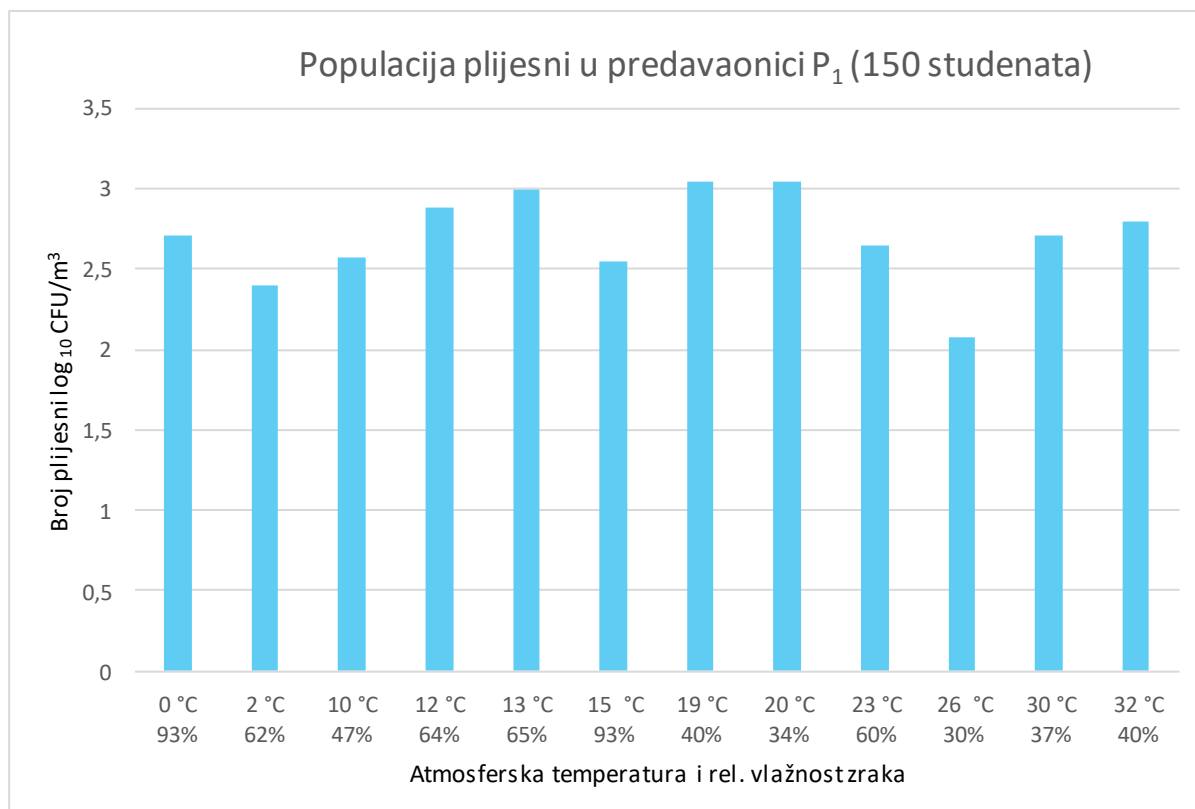
Bakterijska populacija u drugoj prodavaonici kruha bila je podjednake zastupljenosti kao i u slučaju prve prodavaonice kruha. CFU broj se znači kretao u istim granicama od 10^3 do 10^4 u m³ zraka otprilike. Najniži (4×10^2 /m³) je zabilježen pri temperaturi od 15 °C i visokih 93 % vlažnosti u zraku. Najviše bakterija je izmjereno i pri najvišim temperaturama kao i u prvoj prodavaonici. Dakle pri temperaturama od 30 °C i 32 °C i vlažnostima od 37 % i 40 % prebrojano je i preračunato na 1 m³, 3×10^4 živih bakterijskih stanica.



Slika 15 Brojnost bakterija u prodavaonici mesa pri različitoj temperaturi i vlažnosti atmosferskog zraka

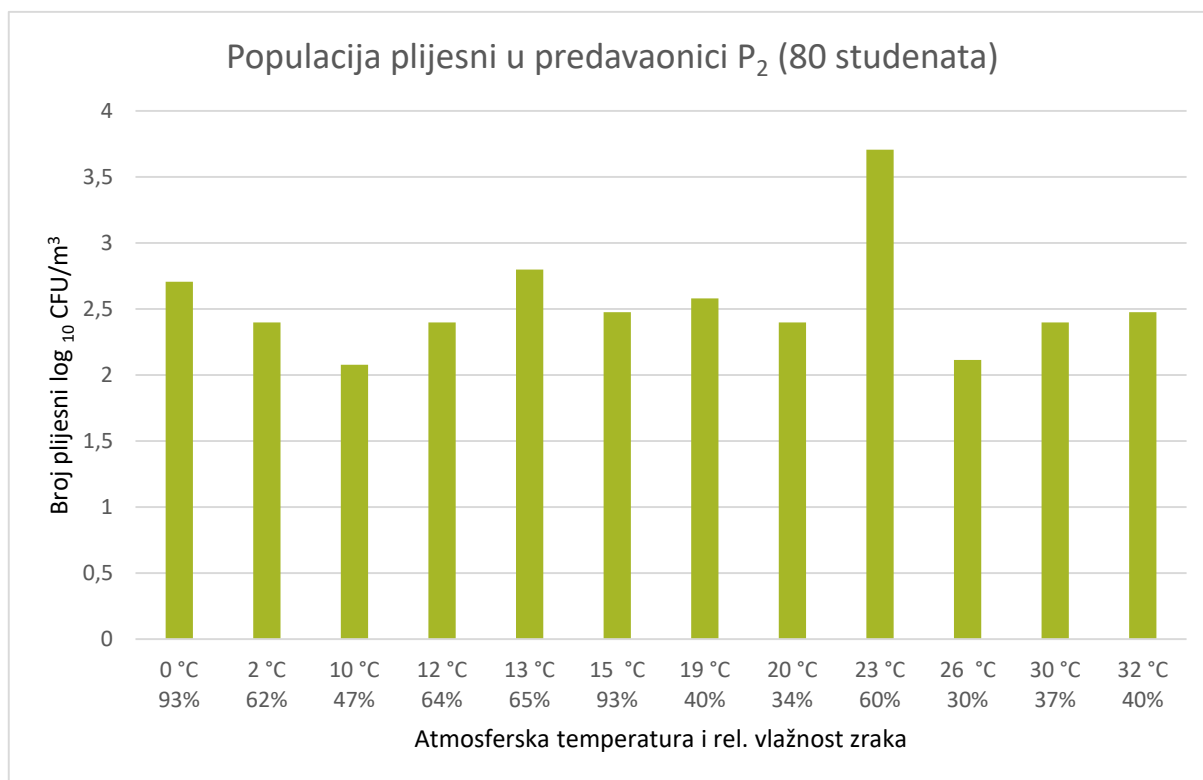
Broj bakterija u kubičnom metru prostora prodavaonice mesa bio je čak nešto i veći nego u prodavaonicama kruha. U uvjetima kada je vanjska temperatura zraka iznosila 32 °C izmjeren je najveći broj bakterija i to više od $6 \times 10^4/\text{m}^3$. Najmanji CFU broj pokazala su mjerenja pri atmosferskoj temperaturi zraka od 12 °C i 64%-tnoj vlažnosti zraka. Taj broj je bio točno $1 \times 10^3/\text{m}^3$.

4.2. Populacija plijesni u zraku



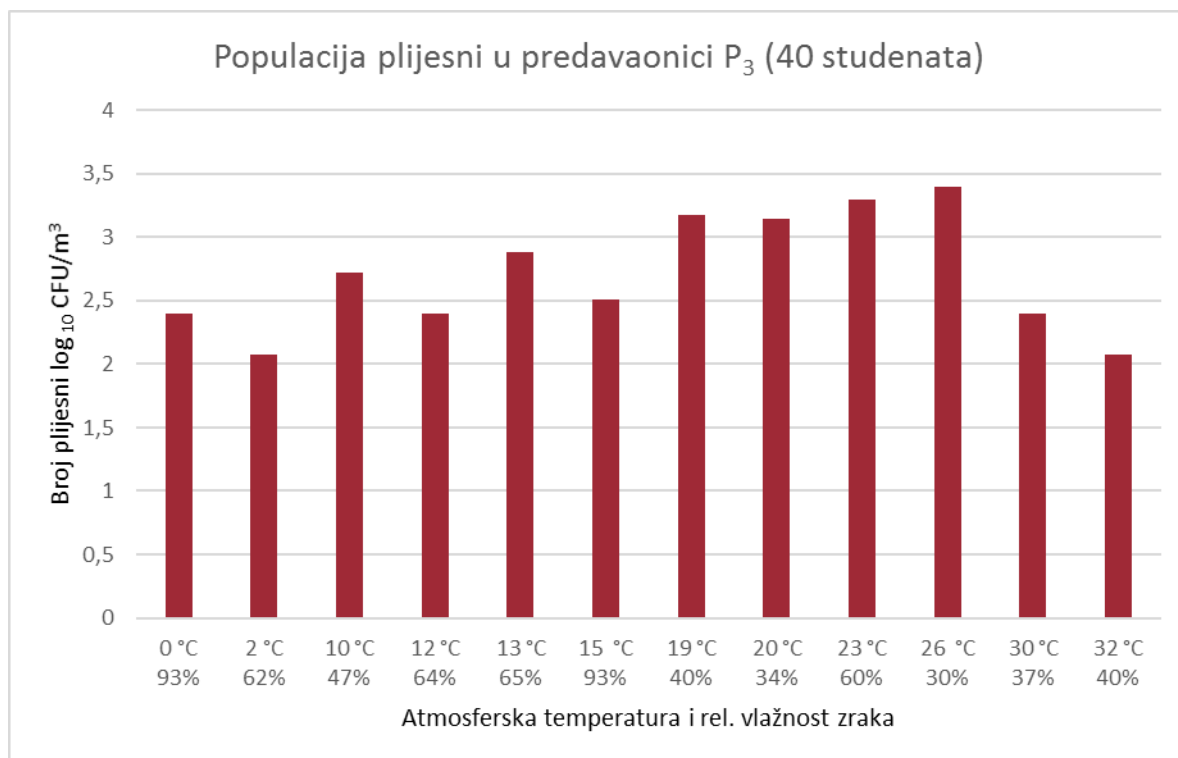
Slika 16 Brojnost plijesni u predavaonici P₁ pri različitoj temperaturi i vlažnosti zraka

Broj spora plijesni u zraku predavaonice P₁ kretao se od 10^2 do 10^3 što je red niže nego kod bakterija u istom prostoru. Najmanje plijesni u zraku je bilo onog dana kada je zabilježena temperatura iznosila 26 °C, a relativna vlažnost 30%. CFU je bilježio vrijednost $2 \times 10^2/\text{m}^3$. Najviše plijesni u zraku predavaonice P₁ bilo je tijekom dva dana koja su imala sličnu temperaturu i vlažnost zraka, 19 i 20 °C te 40 i 34 % vlažnosti zraka. Tada je u zraku bilo prisutno $1,5 \times 10^3/\text{m}^3$ plijesni.



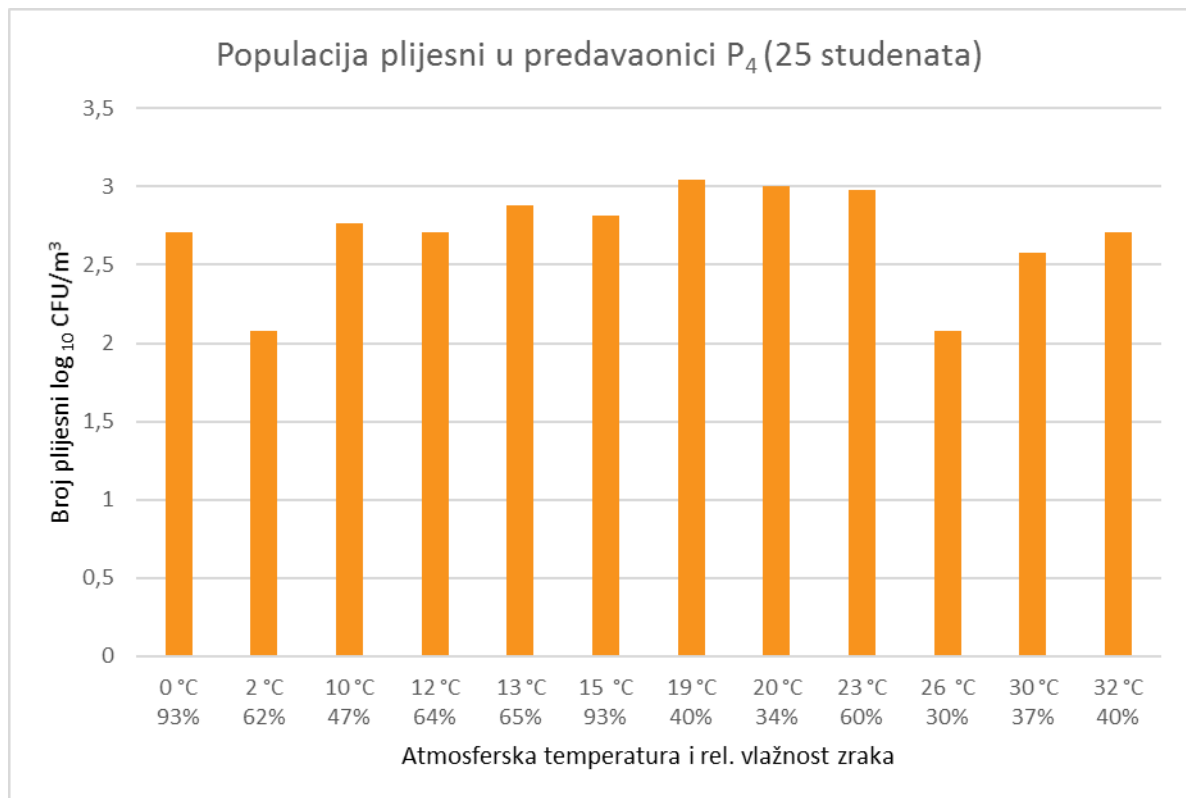
Slika 17 Brojnost plijesni u predavaonici P₂ pri različitoj temperaturi i vlažnosti zraka

Najviše plijesni u predavaonici P₂ prebrojano je pri atmosferskoj temperaturi od 23 °C i relativnoj vlažnosti zraka od 60% kada je vrijednost za CFU iznosila 7×10^3 . Najmanje plijesni izmjereno je pri atmosferskoj temperaturi od 10 °C i relativnoj vlažnosti od 47 %. Vrijednost CFU bila je $1,2 \times 10^2/\text{m}^3$.



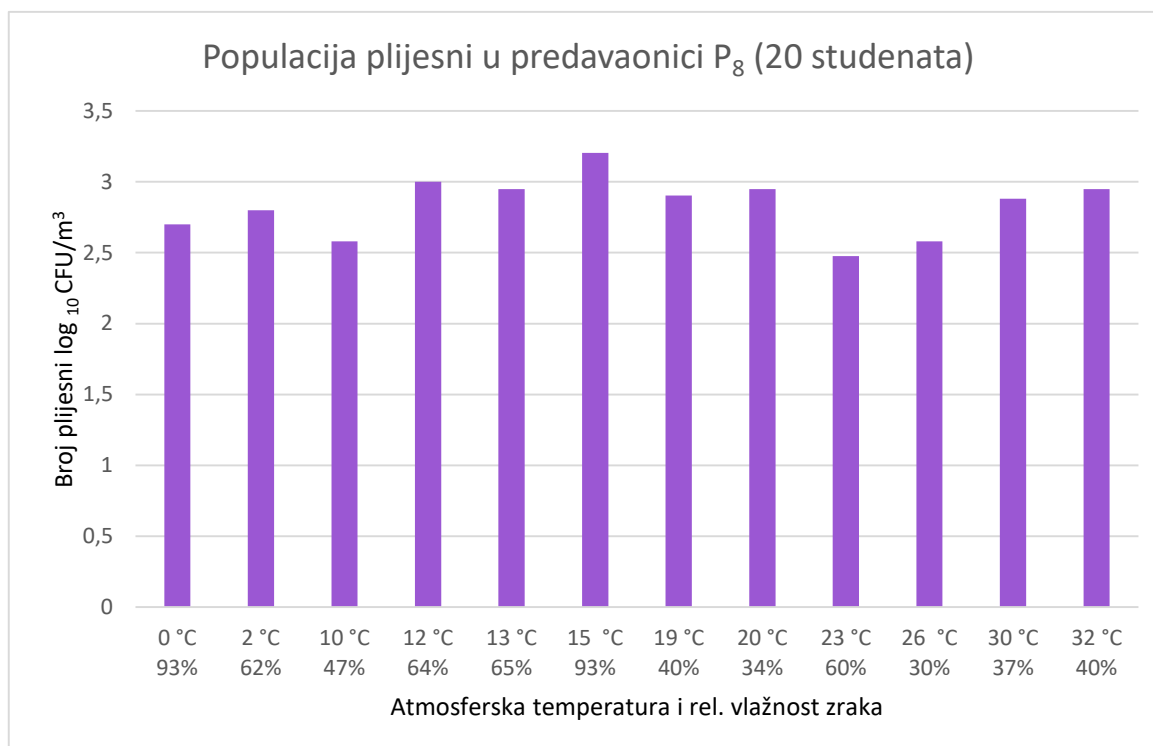
Slika 18 Brojnost plijesni u predavaonici P₃ pri različitoj temperaturi i vlažnosti zraka

U predavaonici P₃ gdje inače dnevno boravi cca 40 studenata najmanje plijesni je zabilježeno jednog hladnog i jednog toplog dana. CFU za plijesni u te dane iznosio je $2 \times 10^2/\text{m}^3$. U hladnom danu pri temperaturi od samo 2 °C relativna vlažnost zraka bila je 62%, dok je za toplog dana temperatura iznosila visokih 32 °C uz relativnu vlažnost zraka 40%. Najviše plijesni u zraku zabilježeno je pri 26 °C i 30 % vlage. CFU tada broji 4×10^3 po metru kubnom zraka.



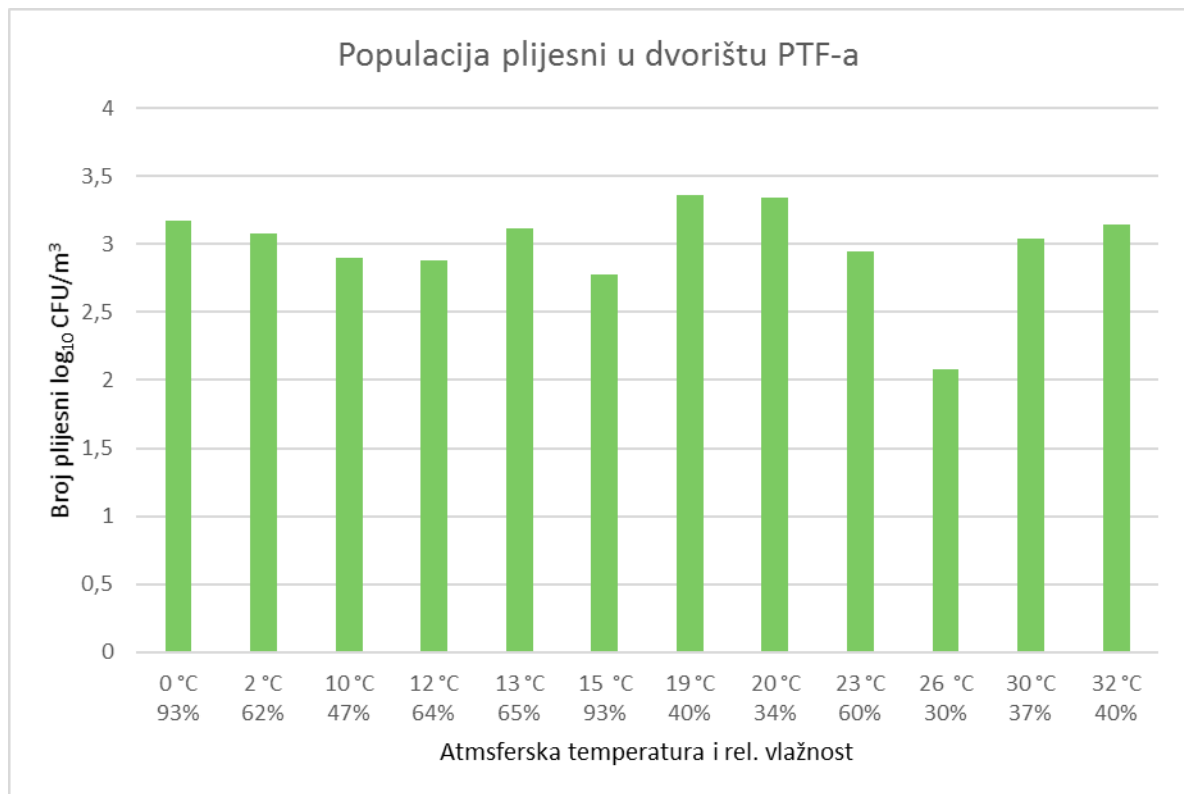
Slika 19 Brojnost plijesni u predavaonici P₄ pri različitoj temperaturi i vlažnosti zraka

Zastupljenost plijesni u zraku predavaonice P₄ bila je podjednaka u sve dane mjerenja. Broj plijesni u zraku se kretao oko vrijednosti 10^3 . Najmanji broj plijesni je zabilježen tijekom jednog hladnog (2 °C, 62% vl.) i jednog toplog dana (26 °C i 30 % vlažnosti). Taj broj plijesni je bio 2×10^2 .



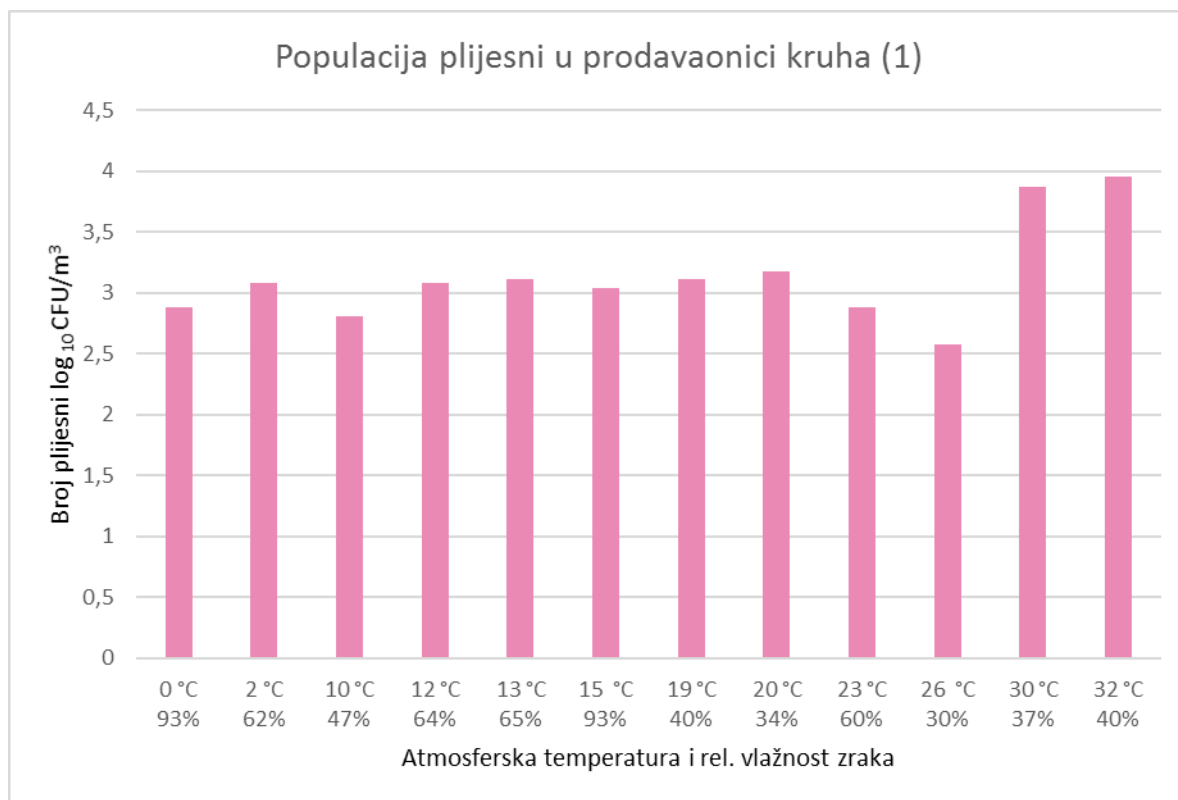
Slika 20 Brojnost plijesni u predavaonici P₈ pri različitoj temperaturi i vlažnosti zraka

U predavaonici P₈ u kojoj svakodnevno boravi cca 20 studenata, najmanje plijesni izmjereno je u zraku kada je temperatura zraka bila 23 °C, a relativna vlažnost zraka 60%. CFU za plijesni za taj dan imao je vrijednost $2,5 \times 10^2/\text{m}^3$. Najviše ($\text{CFU} = 3,2 \times 10^3/\text{m}^3$) plijesni bilo je u zraku pri atmosferskoj temperaturi 15 ° i relativnoj vlažnosti zraka od čak 93 %.



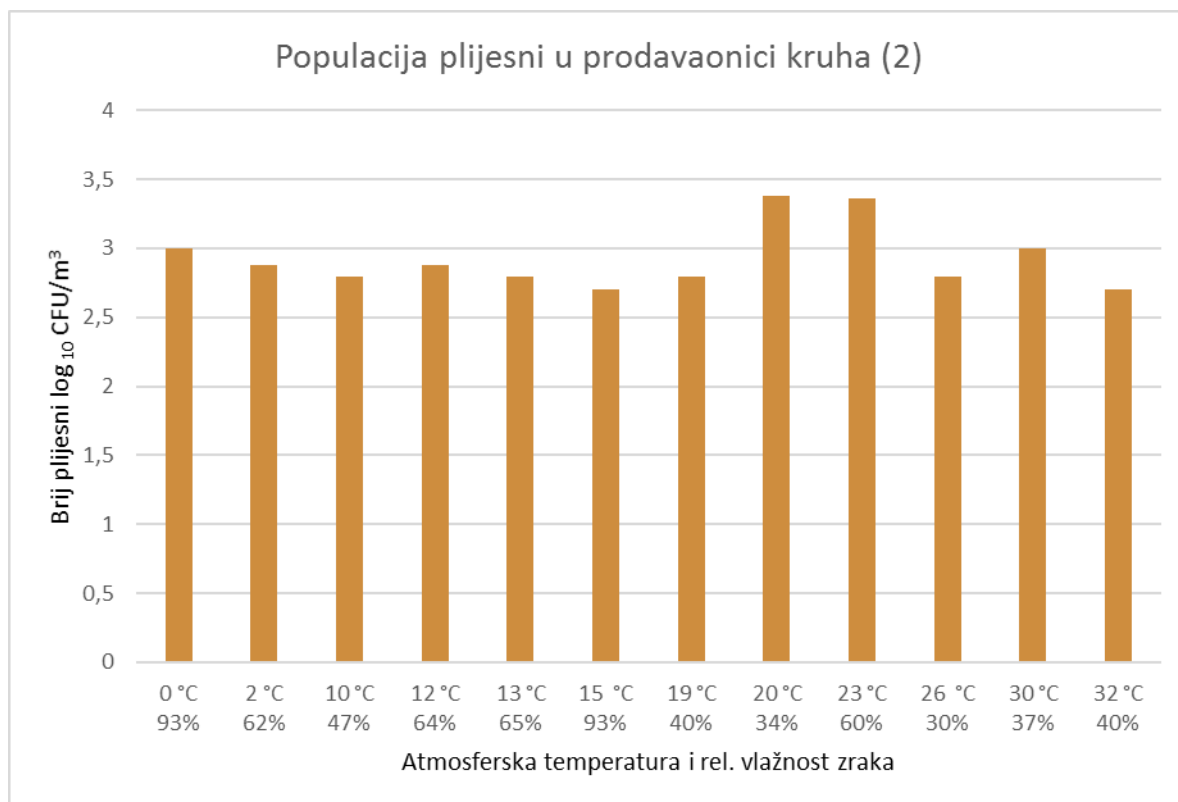
Slika 21 Brojnost plijesni u dvorištu PTF-a pri različitoj temperaturi i vlažnosti zraka

Najmanje plijesni u dvorišnom prostoru PTF-a izmjereno je pri temperaturi 26 °C i relativnoj vlažnosti zraka od 30 %. Taj dan vrijednost CFU iznosila je $1,5 \times 10^2/\text{m}^3$. Najveća vrijednost od CFU = $4 \times 10^3/\text{m}^3$ mjerila se dana kada je temperatura zraka iznosila 19 °C, a relativna vlažnost zraka 40 %.



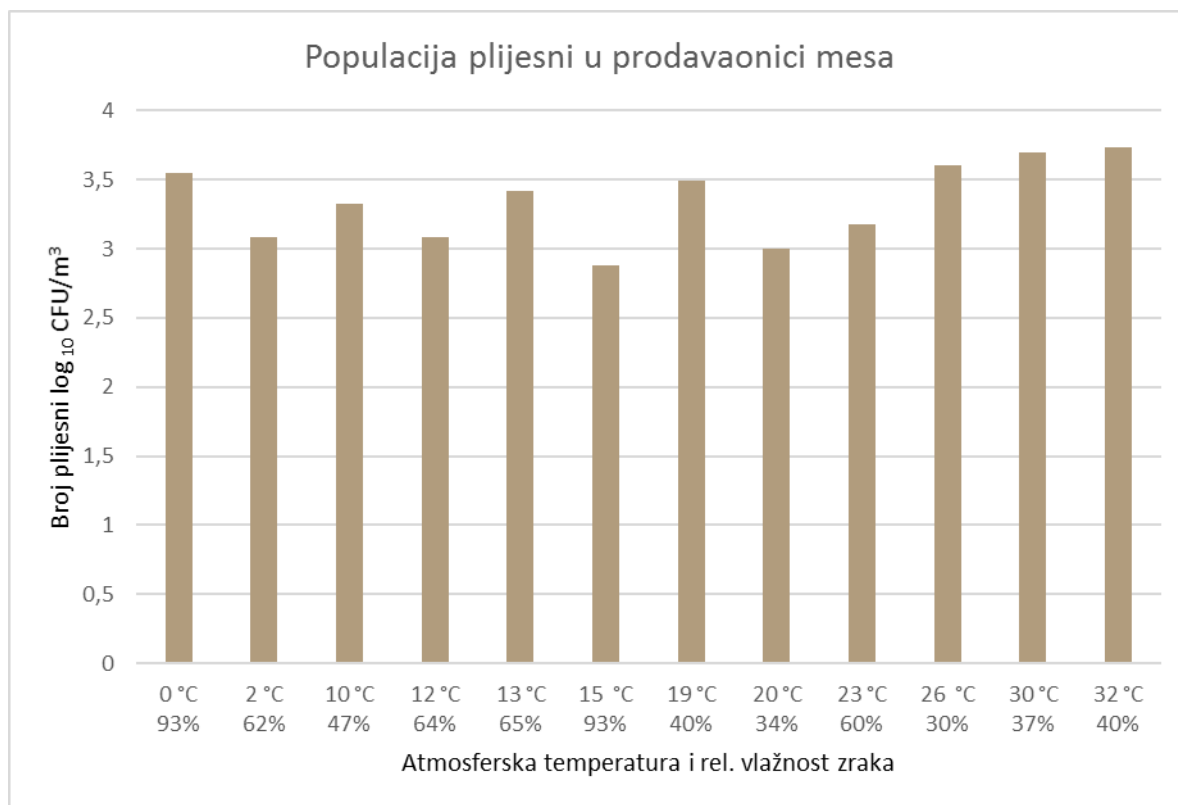
Slika 22 Brojnost plijesni u prodavaonici kruha (1) pri različitoj temperaturi i vlažnosti zraka

Za plijesni, jednako kao i za bakterije u prodavaonicama kruha, visok CFU broj ($9,8 \times 10^3/\text{m}^3$) zabilježen je u prodavaonici kruha (1) za najtoplijeg dana kada je atmosferska temperatura zraka iznosila 32 °C, a relativna vlažnost zraka bila 40 %. Najniži CFU broj ($5,5 \times 10^2 /\text{m}^3$) mjerio se pri temperaturi zraka od 26 °C i 30 %-tnoj relativnoj vlažnosti zraka.



Slika 23 Brojnost plijesni u prodavaonici kruha (2) pri različitoj temperaturi i vlažnosti zraka

U drugoj prodavaonici kruha gdje se mjerio broj plijesni u zraku zabilježena je najveća vrijednost za CFU od $4 \times 10^3 / \text{m}^3$ u danu kada je temperatura zraka iznosila 20 °C, a relativna vlažnost atmosferskog zraka 34 %. Sva mjerenja su bila istog ranga veličine što znači da nije bilo velikih odstupanja, tako da niti najniža CFU vrijednost nije bila znatno niža od najviše i iznosila je $\text{CFU} = 7 \times 10^2 / \text{m}^3$.



Slika 24 Brojnost plijesni u prodavaonici mesa pri različitoj temperaturi i vlažnosti zraka

Najniža CFU vrijednost za plijesni u prodavaonici mesa iznosila je $8,5 \times 10^2/\text{m}^3$ zraka u prostoriji, dok je temperatura zraka izvan prostorije bila 15 °C, a relativna vlažnost zraka visokih 93 %. Najviše plijesni u zraku prodavaonice mesa ($\text{CFU} = 7 \times 10^3/\text{m}^3$) bilo ja za najtoplijeg dana tijekom ovih mjerenja kada je temperatura zraka iznosila 32 °C, a relativna vlažnost zraka 40 %.

5. ZAKLJUČCI

Na osnovi rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Broj aerobnih mezofilnih bakterija u zraku u svim mjerenjima kretao se od najniže vrijednosti za CFU od $90/\text{m}^3$ zraka u predavaonici P₈, do najviše vrijednosti za CFU koja je iznosila $5 \times 10^4/\text{m}^3$ zraka u prodavaonici mesa.
2. Najveći CFU broj za plijesni iznosio je $9 \times 10^3/\text{m}^3$, a ta vrijednost je izmjerena u zraku prodavaonice kruha koja je označena brojem (1). Najmanje plijesni zabilježeno je tijekom svih mjerenja u dvorištu PTF-a. Tada je bilo samo 100 plijesni u kubičnom metru zraka, tj. CFU je iznosio $1 \times 10^2/\text{m}^3$.
3. Najveća vrijednost za CFU zabilježena je u predavaonici P₁ i to $\text{CFU} = 4 \times 10^4/\text{m}^3$. Toga dana u vrijeme mjerenja u 13:00 sati atmosferska temperatura zraka bila je 20 °C a relativna vlažnost zraka 43% .
4. Najmanji broj bakterija izmjeren je u predavaonici P₈ kada je u zraku bilo manje od 1×10^2 bakterija u 1 m^3 zraka, točnije CFU je bio $90/\text{m}^3$. Tadašnja temperatura zraka iznosila je 2 °C, a relativna vlažnost zraka 62%.
5. Najviše bakterija u ostalim istraživanim prostorima bilo je u zraku prodavaonice mesa najtoplijeg dana za vrijeme istraživanja. Temperatura zraka bila je visokih 32 °C, a relativna vlažnost zraka 40 %. CFU za broj bakterija u zraku iznosio je $5 \times 10^4/\text{m}^3$.
6. Najmanje bakterija izmjereno je u dvorištu PTF-a i to najhladnijeg dana ovog istraživanja, kada je temperatura zraka bila samo 0 °C, a relativna vlažnost zraka visokih 93%. Broj CFU za broj bakterija je bio $3 \times 10^2/\text{m}^3$ zraka.
7. Najviše plijesni bilo je u predavaonici P₂ gdje je CFU broj bio $5 \times 10^3/\text{m}^3$ zraka. Tadašnja atmosferska temperatura zraka bila je 23 °C, a relativna vlažnost zraka 60%.
8. Najmanje plijesni u predavaonicama izmjereno je u P₃ i P₄ jer u obje predavaonice mjerio se CFU broj od $1 \times 10^2/\text{m}^3$. Toga dana temperatura zraka bila je samo 2°C uz relativnu vlažnost zraka od 62%.

9. U ostalim prostorima u kojima se obavljalo istraživanje mikrobne populacije zraka najniža CFU vrijednost za plijesni izmjerena je u zraku dvorišnog prostora PTF-a i iznosila je $1 \times 10^2/\text{m}^3$.
10. Najviše plijesni određeno je u prodavaonici kruha (1) gdje je u zraku bilo 9×10^3 plijesni u 1 m^3 zraka.

6. LITERATURA

- Duraković S, Duraković L: *Mikrobiologija namirnica* osnove i dostignuća, knjiga prva, Kugler, Zagreb, 2001.
- Goyer N, Lavoie J, Lazure L, Marchand G: *Bioaerosols in the Workplace: Evaluation, Control and Prevention Guide*. IRSST, Montréal, 2001.
- Krzysztofik B: Microbiology o fair. *Wyd. Politechniki Warszawskiej*, Warszawa, 1992.
- Liebers V, Raulf-Heimsoth, Brüning T: Health effects due to endotoxin inhalation. *Archives of Toxicology* 82:203-210, 2008.
- Mancinelli R L, Shulls W A: Airborne bacteria in an urban envirnoment. *Applied and Envirnomental Microbiology* 35:1095-1101, 1978.
- Mohr A J: Fate and transport of microorganisms in air. U *Envirnomenal Microbiology*, str. 641-650. ASM Press, Washington DC, 2007.
- Pasquarella C, Pitzurra O, Savino A: The indeks of microbial air contamination. *Journal of Hospital Infection* 46:241-256, 2000.
- Omeljanskij A J: *Praktičeskoe rukovodstvo po mikrobiologii*. Moskva, 1940.
- Pavić S, Smoljanović M, Mijaković I, Ćurin K, Bedalov MP: Načela utvrđivanja mikrobiološke kakvoće zraka. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju* 52:355-365, 2001.
- Rylander R, Jacobs RR: Endotoxins in the environment: A criteria document. *International Journal of Occupational and Envirnomental Health* 3:1-48, 1997.
- Salustiano VC, Andrade NJ, Brandão SCC, Azeredo RMC, Lima SAK: Microbiological air quality of processing areas in a dairy plant as evaluated by the sedimentation technique and a one-stage air sampler. *Brazilian Journal of Microbiology* 34:255-259, 2003.
- Sekulska MS, Pająk AP, Szyszka A, Nowicki M, Filipiak M: Microbiological Quality of Indoor Air in University Rooms. *Polish Journal of Envirnomental Studies* 16:623-632, 2007.
- Srikanth P, Sudharsanam S, Steinberg R: Bio-aerosols in indoor evironment: compostiton, health effects and analysis. *Indian Journal of medical Microbiology* 26:302-312, 2008.
- Stetzenbach LD: Airborne infectious microorganisms. U *Encyclopedia of Microbiology*, str. 175-182. Academic Press, Oxford, 2009.
- Wójcik A, Chorazy L, Mituniewicz T, Witkovska D, Iwanczuk-Czernik K, Sowinska J: Microbial Air Contamination in Poultry House in the Summer and Winter. *Polish Journal of Envirnomental Studies* 19: 1045-1050, 2010.

www.allposters.com, (10. 09. 2015.)

www.labbulletin.com , (10. 09. 2015.)

www.innovationdiagnostics.com , (10.09.2015.)