

WPLYW WILGOTNOŚCI NA PRZEŻYWALNOŚĆ DROŻDŻY I PLEŚNI W FILTRACH WŁÓKNINOWYCH

EWA SZTOMPKA, EWA KARWOWSKA, EWA MIAŚKIEWICZ-PĘSKA

Politechnika Warszawska, Instytut Systemów Inżynierii Środowiska,
Zakład Biologii Środowiska, ul. Nowowiejska 20, 00-653 Warszawa

KOMUNIKAT

Keywords: yeast, moulds, humidity, fiber filters.

EFFECT OF HUMIDITY ON YEAST AND MOULDS VIABILITY IN FIBER FILTERS

The aim of this research work was determination of humidity impact on yeast and moulds survival in fibrous filters. It was revealed that water content of about – 53–113% stimulated growth of fungi, especially in case of moulds. In stable filters humidity conditions (50% of weight), a number of fungi reached 10^4 CFU/cm² after 84 days, with the most intensive growth during first 7 days of the experiment. In the case of very low humidity (13% and less), the growth of fungi was not observed.

Streszczenie

Celem niniejszej pracy było określenie wpływu wilgotności na wzrost i rozwój drożdży i pleśni w materiale filtracyjnym. Stwierdzono, że wilgotność na poziomie 53–113% sprzyjała rozwojowi grzybów, zwłaszcza pleśni. W warunkach stałej wilgotności, około 50%, liczebność grzybów w filtrach osiągnęła wartość 10^4 JTK/cm², zaś najintensywniejszy wzrost miał miejsce w ciągu pierwszych 7 dni doświadczenia. Przy niskiej wilgotności (13% i poniżej) nie stwierdzono namnażania się grzybów w filtrach.

WSTĘP

Jednym z głównych składników aerozoli biologicznych są grzyby. Zarodniki grzybów pleśniowych, głównie z rodzajów: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium* i *Rhizopus* [7] a także *Stachybotrys* i *Trichoderma* [9], stanowią około 70% mikroflory powietrza.

Strzępki i zarodniki ponad 100 spośród występujących w powietrzu grzybów są przyczyną różnego rodzaju infekcji, alergii i objawów astmatycznych [2]. 20–80%

chorych z astmą atopową wykazuje reakcje alergiczne na grzyby z gatunku *Penicillium notatum*, *Aspergillus fumigatus* i *Cladosporium herbarum* [4].

Liczne gatunki grzybów zdolne są do wytwarzania mykotoksyn – niskocząsteczkowych związków, stanowiących wtórne produkty przemiany materii, o silnym działaniu toksycznym [5]. Na przykład aflatoksyny wywołują zaburzenia wątroby, trichoteceny – przewodu pokarmowego a zearalenon – układu rozrodczego. W wyniku działania mykotoksyn może dochodzić ponadto do uszkodzeń w obrębie centralnego układu nerwowego, układu krwiotwórczego i immunologicznego. Niektóre z nich wykazują działanie nowotworowe, mutagenne i teratogenne [5, 9].

Mykotoksyny obecne są w grzybni oraz w zarodnikach grzybów; zawartość toksyn w konidiach może dochodzić do 650 ng/g. Wykazują one oporność na biodegradację i utrzymują się w środowisku w stałych stężeniach nawet po śmierci komórek grzybów [3].

Kontakt człowieka z mykotoksynami jest możliwy między innymi przez drogi oddechowe. Efektem ich oddziaływania może być zapalenie spojówek, pieczenie w kanałach nosowych, kaszel, zapalenie gardła i krtani, ostre podrażnienia kontaktowe a po dłuższym okresie oddziaływania – gorączka i krwawienie z nosa. Tajemnicze zgony archeologów po wejściu do egipskich grobowców były spowodowane wdychaniem przez nich ochratoksyny A. Ta sama toksyna mogła być odpowiedzialna za serię wypadków ostrej niewydolności nerek [5].

Jedną z metod eliminacji z powietrza drobnoustrojów, w tym grzybów jest filtracja, między innymi z wykorzystaniem filtrów włókninowych. Ubocznym efektem tego procesu jest kumulowanie się mikroorganizmów w materiale filtracyjnym, a przy sprzyjających warunkach może dochodzić do ich namnażania i wtórnego uwalniania do powietrza za filtrem. Ponieważ grzyby obecne w powietrzu należą do organizmów oligotroficznych, do ich wzrostu mogą wystarczać niewielkie ilości materii organicznej gromadzące się w filtrze podczas jego pracy – m.in. okruchy, wydzieliny, cząstki drewna i tkanin, kał roztoczy [1]. W dłuższym okresie czasu może dochodzić również do rozkładu materiału, z którego sporządzono filtr, przy udziale zasiedlających go mikroorganizmów, co dodatkowo wpływa niekorzystnie na efektywność procesu uzdatniania powietrza [7].

Na wzrost i namnażanie się mikroorganizmów w materiałach filtracyjnych mają wpływ głównie temperatura i wilgotność. Względna wilgotność podłoża odgrywa również rolę przy produkcji mykotoksyn przez grzyby. Nikulin i wsp. [6] zaobserwowali, że produkcja toksyn grzybowych przez szczep *Stachybotrys atra* miała miejsce przy wilgotności względnej rzędu 89–100%.

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu wilgotności materiału filtracyjnego na rozwój i przeżywalność wybranych gatunków pleśni i drożdży.

METODYKA BADAŃ

Bioaerazol uzyskiwano poprzez splukanie zarodników pleśni jałową wodą wodociągową z dodatkiem 0,1 cm³/dm³ TWEEN 80. Zarodniki otrzymano z hodowli pleśni na podłożu wg Sabouraud'a. Równolegle przygotowano zawiesinę komórek

drożdży w wodzie jałowej. W badaniach wykorzystano pleśnie: *Aspergillus niger* i *Penicillium sp* oraz dwa gatunki drożdży z rodzaju *Candida*. Ilość mikroorganizmów w zawiesinie, określona metodą bezpośredniego liczenia w komorze Helbera wynosiła $10^5 - 10^6$ kom/cm³.

Aerozol grzybowy wytwarzano z użyciem nawilżacza powietrza i pobierano na filtry włókninowe, umieszczone na 20 sekund na wysokości 15 cm od źródła emisji. Następnie filtry układano w jałowych płytkach Petriego i przetrzymywano w termostacie w temperaturze 26°C, utrzymując określoną wilgotność, w zależności od wariantu doświadczenia.

Wymywanie mikroorganizmów z filtrów prowadzono poprzez wytrząsanie filtru w 0,1% roztworze pirofosforanu sodowego. Analizę zawartości mikroorganizmów wykonywano metodą posiewu powierzchniowego uzyskanej zawiesiny na podłożu wg Sabouraud'a. Inkubację prowadzono przez 5 dni w temperaturze 26°C. Oznaczenia wykonywano w 4 powtórzeniach.

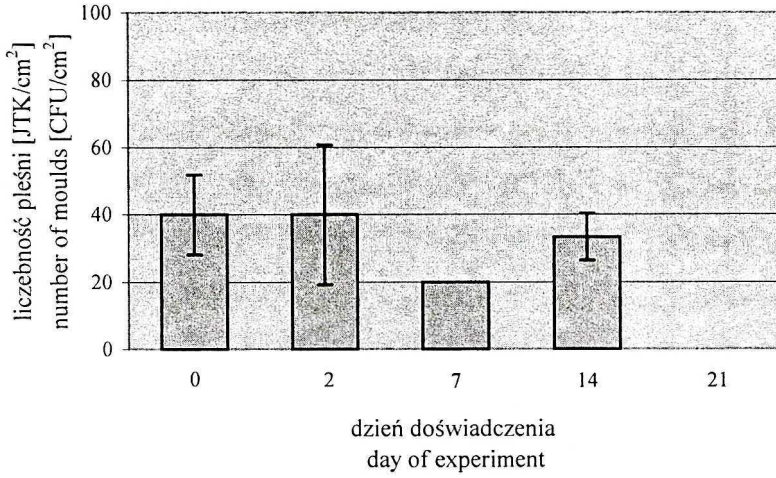
WYNIKI

Pierwszy wariant doświadczeń dotyczył określenia przeżywalności grzybów w filtrze włókninowym, którego wilgotność wynikała jedynie z ilości wody dostarczonej podczas napyłania aerozolu (to jest około 13% wagowych w stosunku do masy filtru). W miarę upływu czasu wilgotność filtru zmniejszała się, co powodowało do 21 dni zahamowanie namnażania się mikroorganizmów w materiale filtracyjnym.

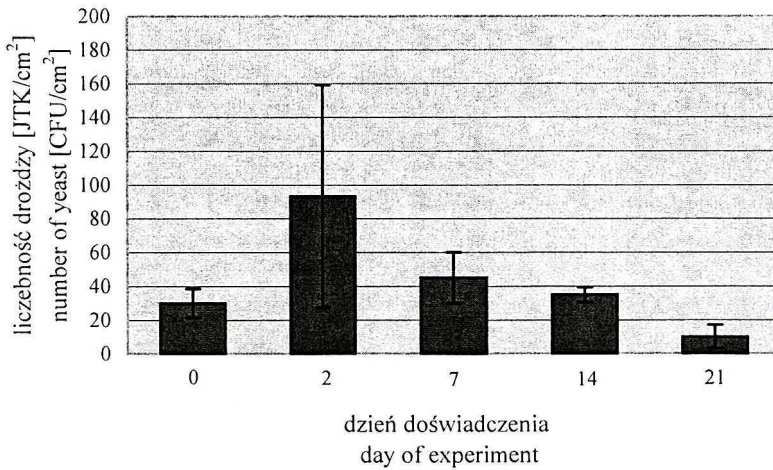
Wyniki ilustrują rysunki 1 i 2.

Kolejne doświadczenie dotyczyło wpływu różnej wilgotności początkowej filtru na rozwój i namnażanie się w nim drożdży i pleśni. Inkubacja filtrów trwała 7 dni, zaś ich wilgotność wynosiła odpowiednio: 13, 53, 93 i 133% wagowych w stosunku do masy filtru. Nie stosowano uzupełniania zawartości wody podczas doświadczenia. Stwierdzono, że w miarę wzrostu początkowej wilgotności, następował wzrost ilości grzybów – zarówno pleśni jak i drożdży. Wyniki przedstawiono na rysunkach 3 i 4.

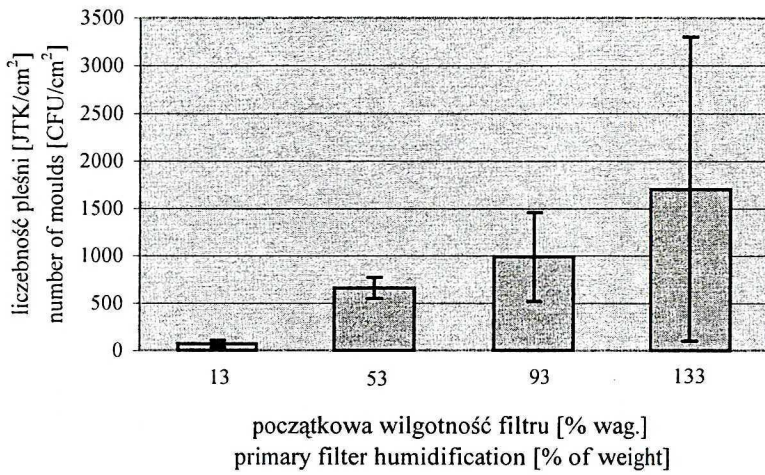
W ramach niniejszej pracy określono również wpływ utrzymywania stałego poziomu nawilżenia filtrów (około 50% objętościowych) na rozwój w nich mikroflory grzybowej. Stwierdzono, że w czasie trwania eksperymentu (do 114 dnia) miało miejsce namnażanie się pleśni w filtrze, przy czym zachodziło ono najintensywniej w czasie pierwszych 7 dni. W ciągu 7 dni ilość pleśni zwiększyła się 100-krotnie, aby po 84 dniach osiągnąć poziom niemal 500-krotnie wyższy aniżeli bezpośrednio po napyleniu. W przypadku drożdży uzyskane wyniki nie były jednoznaczne. Obserwowano okresy „zanikania” i ponownego „pojawiania” się tych mikroorganizmów w materiale filtra cyjnym, jednak i w tym przypadku stwierdzono 10–100-krotny wzrost ich liczby na cm² filtru w ciągu pierwszych 7 dni i utrzymywanie się tej liczebności do około 21 dnia doświadczenia. Szczegółowe wyniki przedstawiają rysunki 5 i 6.



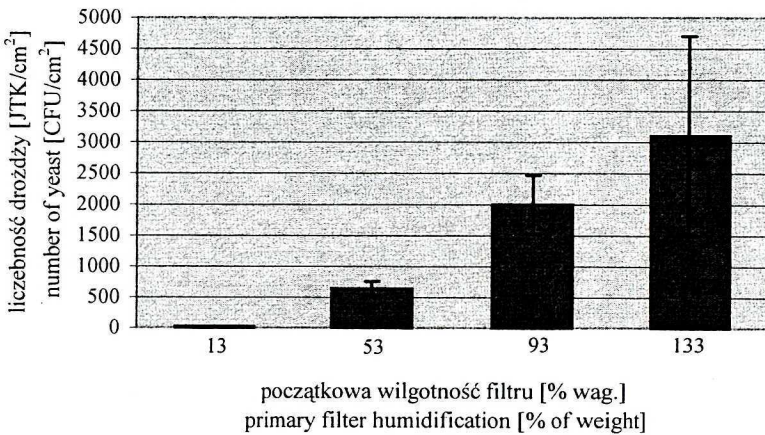
Rys. 1. Zmiany średniej liczebności pleśni w filtrach nie nawilżanych w czasie trwania doświadczenia
Changes in average quantity of moulds in filter media without additional humidification



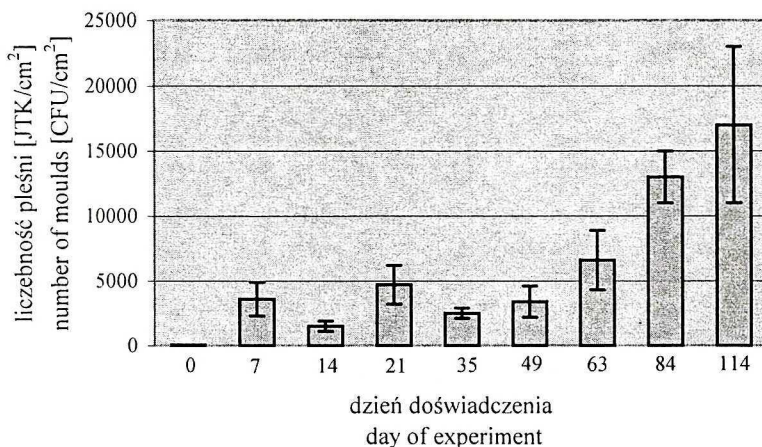
Rys. 2. Zmiany średniej liczebności drożdży w filtrach nie nawilżanych w czasie trwania doświadczenia
Changes in average quantity of yeast in filter media without additional humidification



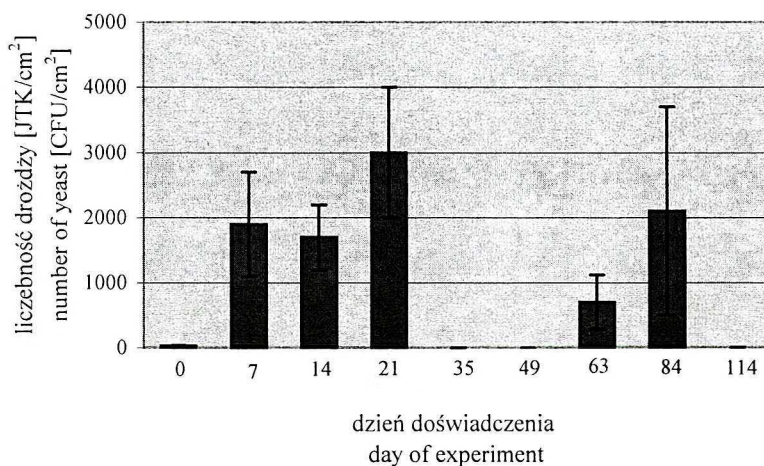
Rys. 3. Średnia liczebność pleśni w materiale filtracyjnym w zależności od początkowej wilgotności
Average number of moulds in filters depending on primary filter humidification



Rys. 4. Średnia liczebność drożdży w materiale filtracyjnym w zależności od początkowej wilgotności
Average number of yeast in filters depending on primary filter humidification



Rys. 5. Zmiany średniej liczebności pleśni w filtrach o stałej wilgotności (ok. 50%)
Average number of moulds in filter media with the constant filters humidity (50% of weight)



Rys. 6. Zmiany średniej liczebności drożdży w filtrach o stałej wilgotności (ok. 50%)
Average number of yeast in filter media with the constant filters humidity (50% of weight)

WNIOSKI

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że zwiększona wilgotność podłoża – w tym przypadku materiału filtracyjnego – sprzyja rozwojowi zarówno pleśni, jak i drożdży, powodując ich intensywne namnażanie, zwłaszcza w ciągu pierwszych kilku dni od momentu napylenia bioaerozolu. Początkowa wilgotność 133% powodowała ukształtowanie liczebności grzybów 100-krotnie wyższej aniżeli przy wilgotności 13% wagowych w stosunku do masy filtru.

Stała wilgotność materiału filtracyjnego, 50%, powodowała początkowo intensywny, a później wolniejszy wzrost liczebności grzybów, która utrzymywała się do 114 dnia trwania doświadczenia.

Brak wprowadzenia dodatkowego nawilżania filtrów w trakcie inkubacji powodował zahamowanie wzrostu drobnoustrojów – ich ilość w filtrze nie ulegała zmianie przez 21 dni.

Dane uzyskane w niniejszej pracy potwierdzają doniesienia z piśmiennictwa na temat roli wilgotności dla rozwoju grzybów w środowisku filtrów [6, 7]. Zjawisko to stanowi istotny problem, ze względu na możliwość wtórnej emisji tych drobnoustrojów z filtrów i zanieczyszczenia powietrza pomieszczeń komórkami grzybów i produkowanymi przez nie mykotoksynami. Stąd też istotne jest opracowanie parametrów eksploatacji urządzeń wentylacyjnych zaopatrzonych w filtry w celu zapobiegania niekorzystnym zjawiskom związanym z rozwojem w nich grzybów, zwłaszcza pleśniowych.

LITERATURA

- [1] Barabasz W., M. Jaśkowska: *Aspekty Zdrowotno-toksikologiczne występowania grzybów pleśniowych w budynkach mieszkalnych i inwentarskich*, [w:] Materiały Konferencyjne: Rozkład i Korozja Mikrobiologiczna Materiałów Technicznych, Łódź 2001.
- [2] Cvetnic Z., S. Pelplanjak: *Distribution and mycotoxin – producing ability of some fungal isolates from the air*, Atmospheric Environment, **31**, 491–495 (1997).
- [3] Flannigan B.: *Microbial aerosols in buildings: origins, health implications and controls*, [w:] Materiały Konferencyjne: Rozkład i Korozja Mikrobiologiczna Materiałów Technicznych, Łódź 2001.
- [4] Gutarowska B., A. Jakubowska: *Ocena zanieczyszczenia pleśniami powietrza pomieszczeń na uczelni*, [w:] Materiały konferencyjne VI Ogólnopolskiej Konferencji „Problemy Powietrza Wewnętrznego w Polsce”, Warszawa, listopad 2001.
- [5] Kluczek J. P., A. Kojder: *Mikotoksyny w zarysie*, Wydawnictwa Uczelniane Akademii Techniczno-Rolniczej, Bydgoszcz 2000.
- [6] Nikulin M., A.-L. Pasanen, S. Berg, E.-L. Hintikka: *Stachybotrys atra Growth and Toxin Production in Some Building Materials and Fodder under Different Relative Humidities*, Appl. Environ. Microbiol., **9**, 3421–3424 (1994).
- [7] Stobińska H., A. Skrzycka: *Bioaerol sal wykładowych i laboratoryjnych*, [w:] Materiały Konferencyjne: Rozkład i Korozja Mikrobiologiczna Materiałów Technicznych, Łódź 2001.
- [8] Szostak-Kotowa J.: *Mikrobiologiczny rozkład tkanin*, [w:] Materiały Konferencyjne: Rozkład i Korozja Mikrobiologiczna Materiałów Technicznych, Łódź 2001.
- [9] Zyska B.: *Mikologia powietrza wewnętrznego budynków*, [w:]. Materiały konferencyjne: Problemy Jakości Powietrza Wewnętrznego w Polsce '99. Wyd. Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, Warszawa 2000.