

## IZOLOVANJE I DETERMINACIJA PLESNI IZ SIROVOG MLEKA

Mr Marija ŠKRINJAR, prof. dr Radivoj ŽAKULA, Tehnološki fakultet  
Novi Sad, Emilija STOJANOVIĆ, dipl. biol., »Odžačanka« Odžaci

### Sažetak

U radu su prikazani rezultati ispitivanja nalaza plesni i prisustva aflatoksina u sirovom mleku nekih otkupnih stanica s područja SAP Vojvodine.

### Uvod

Izvori kontaminacije mleka mogu da budu veoma različiti, pa zbog toga, i mikroorganizmi koji se nađu u njemu.

O bakterijskoj mikroflori mleka ima u stručnoj i naučnoj literaturi obilje podataka, dok to nije slučaj i sa plesnima. Iz tih razloga, smatrali smo, da bi bilo interesantno, da se u uzorcima sirovog mleka ispita prisustvo plesni i prisustvo aflatoksina.

### Materijal i metod

Ukupan broj plesni u 1 ml sirovog mleka određivan je prema Žakuli i Todorović (1969).

U toku izolovanja i determinacije plesni korišćene su Sabouraud podloga, Czapek-Dox agar (s 3% saharoze) i PDA. Determinacija vrsta izvršena je prema Thomu i Raperu (1945), Boothu (1971), Ellisu (1971), Pidopličku i Miljku (1971) i von Arxu (1974). U deset uzoraka sirovog mleka ispitano je prisustvo aflatoksina po metodu Eppleya (1978).

### Rezultati rada

U toku ovog rada ispitivano je prisustvo plesni i aflatoksina u većem broju uzoraka sirovog mleka, uzetih sa 34 otkupne stanice SAP Vojvodine.

Kao što se iz tabele 1 može videti, svi uzorci mleka bili su kontaminirani plesnima u manjoj ili većoj meri. Ukupan broj plesni u 1 ml uzorka kretao se od  $7,73 \times 10^2$  do  $4,88 \times 10^6$ . Prema Pravilniku o uslovima u pogledu mikrobiološke ispravnosti kojima moraju odgovarati životne namirnice u prometu (Službeni list SFRJ, jan. 1980., član 18), sirovo mleko ne sme sadržavati više od 3,000.000 mikroorganizama u 1 ml. Prema tome, na osnovu dobijenih rezultata moglo bi se mleko nekoliko otkupnih stanica okarakterisati kao suviše zagađeno i nepodesno za dalju upotrebu.

Iz tih uzoraka mleka izolovan je veći broj plesni koje su posle pažljivog pregleda svrstane u 10 rodova s 22 vrste i to: *Acremonium strictum* Gams, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler, *A. tenuissima* (Kunze ex Pers.) Wiltshire, *Aspergillus flavus* Link, *A. niger* van Tiegh., *Cladosporium cladosporioides* (Fr.) de Vries, *C. herbarum* (Pers.) Link ex Gray, *Dactylella minuta* Grove, *Fusarium graminearum* Schwabe, *F. moniliforme* var. *subglutinans* Wr. and Reink., *F. oxysporum* Schlecht, *F. tricinctum* (Corda) Sacc., *Geotrichum candidum* Link ex Pers., *G. sp.*, *Mucor dimorphosporus* Lendn., *M. hiemalis* Wehmer, *M. jansseni* Lendn., *M. lamprosporus* Lendn., *M. pusillus* Lindt, *M. racemosus* Fres., *Ramularia sp.* i *Trichoderma viride* Pers. ex Fr.

U tabeli 2 prikazana je učestalost plesni izolovanih iz sirovog mleka. *Geotrichum candidum* bio je izolovan iz svih ispitivanih uzoraka. Nadalje, vrste roda *Fusarium* predstavljale su kontaminente 35,29% uzoraka, a *Mucor spp.* čak 64,64%. *M. hiemalis* bio je izolovan iz 50% uzoraka mleka i na taj način predstavljao najzastupljeniju vrstu ovog roda.

**Tabela 1**

**Ukupan broj plesni u uzorcima sirovog mleka**

Otkupna stanica	Broj plesni/1 ml	Otkupna stanica	Broj plesni/1 ml
1	$3,48 \times 10^3$	18	$4,12 \times 10^2$
2	$1,57 \times 10^2$	19	$2,09 \times 10^2$
3	$1,73 \times 10^2$	20	$0,73 \times 10^2$
4	$3,50 \times 10^2$	21	$1,07 \times 10^2$
5	$3,49 \times 10^2$	22	$3,04 \times 10^2$
6	$3,40 \times 10^2$	23	$1,90 \times 10^2$
7	$4,40 \times 10^2$	24	$1,36 \times 10^2$
8	$4,48 \times 10^2$	25	$1,62 \times 10^2$
9	$1,74 \times 10^2$	26	$1,57 \times 10^2$
10	$1,70 \times 10^2$	27	$1,02 \times 10^2$
11	$3,39 \times 10^2$	28	$2,56 \times 10^2$
12	$2,46 \times 10^2$	29	$3,36 \times 10^0$
13	$1,04 \times 10^0$	30	$2,08 \times 10^2$
14	$4,88 \times 10^0$	31	$2,04 \times 10^3$
15	$2,20 \times 10^3$	32	$2,20 \times 10^3$
16	$3,68 \times 10^3$	33	$3,67 \times 10^0$
17	$1,74 \times 10^2$	34	$3,21 \times 10^0$

Nalaz relativno visokog ukupnog broja plesni u mleku, kao i zastupljenost nekih izolovanih vrsta, zaslužuje posebnu pažnju. Naime, *Geotrichum candidum*, koji je izolovan iz svih uzoraka otkupljenog sirovog mleka, patogen je za čoveka (Koch 1973). Zatim, spore *Alternaria alternata* (Johnson i dr. 1957, Schumacher i dr. 1975, 1976), *Cladosporium herbarum* (Tomiskova i dr. 1973) i *Mucor spp.* (Černelč 1971) uzročnici su različitih alergijskih oboljenja ljudi, uključujući bronhijalnu astmu, hipersenzibilizaciju kože i slično. Vrste roda *Mucor* su, pored toga, i izazivači mukormikoze, poznatog oboljenja čovjeka. *Aspergillus flavus* proizvođač je aflatoksina (Allcroft i dr. 1961, Carnagham i Sargeant 1961), a *Fusarium* vrste proizvoda zearalenon, trihotecene i druge metabolite, štetne za zdravlje ljudi i životinja (Mirocha i dr. 1967, Eppley 1968, Ciegler 1975. i dr.).

Kako je već napred navedeno, u deset uzoraka otkupljenog mleka ispitivano je i prisustvo aflatoksina. Međutim, ni u jednom od ispitivanih uzoraka mleka nije ustanovljen ovaj mikotoksin.

**Tabela 2**

**Učestalost plesni izolovanih iz uzorka otkupnog mleka**

Otkupna stanica	Vrsta plesni	Otkupna stanica	Vrsta plesni
1	<i>Fusarium tricinctum</i> <i>Geotrichum candidum</i> <i>Mucor hiemalis</i>	2	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Fusarium graminearum</i> <i>F. moniliforme</i> var.

Otkupna stanica	Vrsta plesni	Otkupna stanica	Vrsta plesni
	<i>subglutinans</i>	18	<i>Cladosporium herbarum</i>
	<i>Geotrichum candidum</i>		<i>Geotrichum candidum</i>
	<i>Mucor hiemalis</i>		<i>Mucor hiemalis</i>
3	<i>Ramularia</i> sp.		<i>M. racemosus</i>
	<i>Aspergillus flavus</i>	19	<i>Acremonium strictum</i>
	<i>Geotrichum candidum</i>		<i>Fusarium moniliforme</i> var. <i>subglutinans</i>
4	<i>Mucor hiemalis</i>		<i>Geotrichum candidum</i>
	<i>Geotrichum candidum</i>		<i>G. sp.</i>
	<i>G. sp.</i>	20	<i>Acremonium strictum</i>
5	<i>Mucor hiemalis</i>		<i>Fusarium moniliforme</i> var. <i>subglutinans</i>
	<i>Alternaria tenuissima</i>		<i>Geotrichum candidum</i>
	<i>Fusarium moniliforme</i> var. <i>subglutinans</i>	21	<i>Geotrichum candidum</i>
	<i>Geotrichum candidum</i>		<i>G. sp.</i>
6	<i>Geotrichum candidum</i>		<i>Mucor dimorphosporus</i>
7	<i>Dactylella minuta</i>	22	<i>Geotrichum candidum</i>
	<i>Fusarium oxysporum</i>		<i>G. sp.</i>
	<i>Geotrichum candidum</i>		<i>Mucor lamprosporus</i>
	<i>G. sp.</i>		<i>Trichoderma viride</i>
	<i>Mucor hiemalis</i>	23	<i>Geotrichum candidum</i>
8	<i>Fusarium oxysporum</i>		<i>G. sp.</i>
	<i>Geotrichum candidum</i>		<i>Mucor hiemalis</i>
9	<i>Alternaria alternata</i>	24	<i>Geotrichum candidum</i>
	<i>Aspergillus niger</i>		<i>G. sp.</i>
	<i>Cladosporium cladosporioides</i>		<i>Mucor racemosus</i>
	<i>Fusarium graminearum</i>	25	<i>Geotrichum candidum</i>
	<i>Geotrichum candidum</i>		<i>Trichoderma viride</i>
	<i>Ramularia</i> sp.	26	<i>Geotrichum candidum</i>
10	<i>Fusarium moniliforme</i> var. <i>subglutinans</i>	27	<i>Geotrichum candidum</i>
	<i>Geotrichum candidum</i>		<i>G. sp.</i>
	<i>Mucor jansseni</i>		<i>Mucor hiemalis</i>
11	<i>Alternaria tenuissima</i>		<i>M. pusillus</i>
	<i>Fusarium moniliforme</i> var. <i>subglutinans</i>	28	<i>Geotrichum candidum</i>
	<i>Geotrichum candidum</i>	29	<i>Geotrichum candidum</i>
	<i>G. sp.</i>		<i>Mucor hiemalis</i>
	<i>Mucor hiemalis</i>	30	<i>Fusarium tricinctum</i>
12	<i>M. jansseni</i>		<i>Geotrichum candidum</i>
	<i>Geotrichum candidum</i>		<i>G. sp.</i>
13	<i>Cladosporium herbarum</i>	31	<i>Geotrichum candidum</i>
	<i>Geotrichum candidum</i>		<i>Mucor hiemalis</i>
	<i>G. sp.</i>	32	<i>Cladosporium cladosporioides</i>
	<i>Mucor hiemalis</i>		<i>Geotrichum candidum</i>
	<i>M. racemosus</i>		<i>G. sp.</i>
14	<i>Geotrichum candidum</i>		<i>Mucor racemosus</i>
	<i>Mucor hiemalis</i>	33	<i>Cladosporium cladosporioides</i>
15	<i>Geotrichum candidum</i>		<i>Fusarium moniliforme</i> var. <i>subglutinans</i>
	<i>G. sp.</i>		<i>Geotrichum candidum</i>
	<i>Mucor hiemalis</i>		<i>G. sp.</i>
	<i>M. lamprosporus</i>	34	<i>Alternaria alternata</i>
16	<i>Geotrichum candidum</i>		<i>Aspergillus flavus</i>
	<i>Mucor dimorphosporus</i>		<i>Geotrichum candidum</i>
	<i>M. hiemalis</i>		<i>G. sp.</i>
	<i>M. lamprosporus</i>		<i>Mucor hiemalis</i>
17	<i>Alternaria alternata</i>		<i>M. lamprosporus</i>
	<i>Geotrichum candidum</i>		
	<i>G. sp.</i>		
	<i>Mucor dimorphosporus</i>		
	<i>M. hiemalis</i>		

## Zaključak

Na osnovu ovih istraživanja može se zaključiti sledeće:

- svi uzorci otkupljenog sirovog mleka bili su kontaminirani plesnima;
- izolovane plesni svrstane su u 10 rodova i 22 vrste;
- *Geotrichum candidum* predstavljao je najučestaliju vrstu;
- među plesnima, kontaminantima mleka, ustanovljene su i vrste koje, prema literaturi, mogu da štetno utiču na zdravlje čoveka;
- prisustvo aflatoksina nije utvrđeno u deset pregledanih uzoraka mleka.

## Summary

The samples of examined raw milk were contaminated with moulds in low and greater extent, respectively. Isolated moulds were classified into 10 genus and 22 species. The most frequently isolated mould was *Geotrichum candidum*.

In the raw milk samples the presence of the aflatoxin was not proved.

## Literatura

- ALLCROFT, R., CARNAGHAM, R. B. A., SARGEANT, K., O KELLY, J. (1961): *Vet. Record* **73**, 428—431.
- EPPLEY, M. B. (1978): *J. A. O. A. C.* **61**, 3, 584—585.
- von ARX, J. A. (1974): *The Genera of Fungi Sporulating in Pure Culture*. Vaduz, Germany.
- BOOTH, C. (1971): *The Genus Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
- CARNAGHAM, R. B. A., SARGEANT, K. (1961): *Vet. Record* **73**, 726—729.
- CIEGLER, A. (1975): *Lloydia* **38**, 21—24.
- ČERNELČ, D. (1971): Alergija in alergijske bolezni v otroški dobi. Založba Centralnega zavoda za napredek gospodinjstva, Ljubljana.
- ELLIS, M. B. (1971): *Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
- EPPLEY, R. M. (1968): *J. AOAC* **51**, 74—78.
- JOHNSON, M. C., HAMPTON, S. F. (1975): *J. Allergy* **28**, 170—174.
- KOCH, H. (1973): *Leitfaden der Medizinischen Mykologie*. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena.
- MIROCHA, C. J., CHRISTENSEN, C. M., NELSON, G. H. (1967): *Apol. Microbiol.* **15**, 497—499.
- PIDOPLIČKO, N. M., MILJKO, A. A. (1971): *Atlas mukoraljnih gribov*. Naukova dumka, Kiev.
- THOM, C., RAPER, K. B. (1945): *A Manual of the Aspergilli*. The Williams Wilkins Co., Baltimore.
- TOMSIKOVA, A., DURA, J., NOVACKOVA, D. (1973): *Sabouraudia* **11**, 251—255.
- SCHUMACHER, J. M., F. R. A. C. P., FARR, R. S., MINDEN, P. (1975): *J. of Allergy and Clin. Immun.* **56**, 1, 39—53.
- SCHUMACHER, J. M., F. R. A. C. P., JEFFERY, E. S. (1976): *J. of Allergy and Clin. Immun.* **58**, 2, 263—277.
- ŽAKULA, R., TODOROVIĆ Miroslava (1969): *Praktikum za vežbe iz mikrobiologije hrane sa higijenom proizvodnje*. Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- Pravilnik o uslovima u pogledu mikrobiološke ispravnosti kojima moraju odgovarati životne namirnice u prometu. Službeni list SFRJ, br. 2, 1980.