

Ocena mikrobiologiczna pszenicy wysuszonej w silosie metalowym pod kontrolą sterownika procesu

Streszczenie:

Celem badań była ocena mikrobiologiczna pszenicy wysuszonej niskotemperaturowo w silosie metalowym. Suszenie odbywało się pod kontrolą komputerowego sterownika procesu. Materiał doświadczalny stanowiło ziarno pszenicy ozimej, odmiany Sakwa, świeżo zebrane z pola i wysuszone niskotemperaturowo w silosie metalowym od wilgotności 19% do 13%. Suszenie warstwy wylotowej dla powietrza suszącego o grubości ok. 3 m zakończono po 254 godzinach. Jako odniesienie wybrano próbki ziarna świeżo zebrane z pola nie poddane suszeniu i ziarno wysuszone szybko powietrzem o temperaturze 30°C przez okres 6 godzin. Badania przeprowadzono poprzez oznaczanie ergosterolu. Jest to najczęściej wykorzystywany sposób spośród metod stosowanych dla oceny stopnia rozwoju grzybów na podłożach stałych. Ergosterol jest najważniejszym sterolem tworzonym przez większość grzybów w wyższych roślinach i jest stosowany jako chemiczny wskaźnik obecności zasiedlających grzybów.

Słowa kluczowe Suszenie ziarna pszenicy, suszenie niskotemperaturowe, późniwna konserwacja zbóż, pleśnie, mikotoksyny, jakość:

Wprowadzenie

Ziarno poprzez zawartość w nim składników odżywczych stanowi doskonałą pożywkę do wzrostu mikroflory. Dotyczy to w szczególności grzybów pleśniowych, spośród których do najistotniejszych należy zaliczyć grzyby rodzajów *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium* oraz *Paecilomyces*.

Straty będące efektem obecności grzybów przedstawionych powyżej w środowisku są niebagatelne, a przejawiają się głównie spadkiem jakości ziarna. Prowadzi to w konsekwencji m.in. do obniżonej zdolności kiełkowania ziarna, jak i zagrzewania masy ziarna. Następuje dyskoloracja ziarna i obniżenie jego masy. Efektem końcowym są zmiany w wartości żywieniowej, wytwarzanie związków lotnych o stęchłym zapachu oraz wytwarzanie w ziarnie niebezpiecznych dla zdrowia ludzi i zwierząt mikotoksyn. Wymienione wyżej straty zachodzą przede wszystkim w okresie niewłaściwego, trwającego kilka miesięcy przechowywania.

Suszenie metodą niskotemperaturową, będące przedmiotem naszych badań trwa od kilku do kilkunastu dni, w zależności od potencjału suszącego powietrza atmosferycznego w okresie późniwnym, w różnych latach. W tym czasie warstwa ziarna - wylotowa dla powietrza - oczekując na nadejście

frontu suszenia, pozostaje mokra [Ryniecki, 2002]. Jej wilgotność jest zbliżona do wilgotności początkowej ziarna. Zachodzi więc obawa, że ziarno w tej warstwie może pogorszyć swoją jakość. Dlatego jako cel badań przyjęto określenie wpływu suszenia niskotemperaturowego na obecność grzybów mikroskopowych i mikotoksyn. Pomiar stężenia ergosterolu zaproponowany przez Seitza i in. w 1977 roku daje możliwość oznaczania biomasy grzybowej substancji stałych. Dodatkową zaletą stosowania tej metody jest istotne skorelowanie (w przypadku występowania w środowisku grzybów toksynotwórczych) jej wyników z obecnością mikotoksyn w ziarnie. Podanie przez Müllera i Schwadorfa [1990] i Müllera [1991] średnich zawartości ergosterolu w różnych produktach umożliwia porównanie tych danych z otrzymanymi wynikami przeprowadzonego doświadczenia. Wyliczone średnie na podstawie badań przeprowadzonych w południowych Niemczech w latach 1983-1989 wynosiły dla pszenicy, jęczmienia oraz owsa odpowiednio (w mg/kg): $5,9 \pm 2,8$; $5,6 \pm 2,4$; $12,3 \pm 7,6$. Jest oczywistym, iż dane te mają jedynie charakter orientacyjny, gdyż zasiedlanie ziarniaków przez grzyby mikroskopowe uzależnione jest w znacznym stopniu od czynników klimatycznych, środowiskowych oraz warunków atmosferycznych.

Cel i zakres pracy

Celem badań była ocena mikrobiologiczna pszenicy wysuszonej niskotemperaturowo w silosie metalowym. Suszenie w silosie odbywało się pod kontrolą sterownika komputerowego. Parametry powietrza podczas prowadzenia doświadczenia zmieniały się w sposób stochastyczny i były uzależnione od warunków pogodowych w okresie zbioru pszenicy.

Ocenę mikrobiologiczną przeprowadzono poprzez oznaczanie stężenia ergosterolu będącego miernikiem określającym obecność mikroflory grzybowej w badanym materiale.

Stanowisko badawcze

Doświadczenie przeprowadzono w Złotnikach w gospodarstwie rolnym należącym do Akademii Rolniczej w Poznaniu. Stanowisko badawcze zbudowano na bazie 28 tonowego silosu o średnicy 3,2 m typu „BIN”, który wyposażono w komputerowy sterownik procesu suszenia niskotemperaturowego typu „BIT” z kompletem sond pomiarowych, wentylator oraz elektroniczny podgrzewacz powietrza. Sterownik mierzył i przysyłał do komputera 21 parametrów procesu między innymi temperaturę i wilgotność powietrza atmosferycznego, powietrza wdmuchiwanego do masy nasion i powietrza wylotowego z warstwy pszenicy oraz temperaturę ziarna w górnej i dolnej warstwie silosu. Podczas trwania doświadczenia „BIT” sterował pracą podgrzewacza powietrza tak aby powietrze wdmuchiwane do silosu posiadało odpowiedni potencjał suszący.

Materiał i metody

Materiał doświadczalny stanowiło ziarno pszenicy ozimej, odmiany *Sakwa*, o wilgotności 19% pochodzące ze zbiorów w 2002 roku. Zbioru dokonano w Zakładach Doświadczalnych w Złotnikach należących do Akademii Rolniczej w Poznaniu. Ziarno wysuszone niskotemperaturowo w silosie metalowym płaskodennym z podłogą perforowaną umożliwiającą przepływ powietrza przez całą warstwę ziarna o grubości ok. 3 m [Ryniecki i Gawrysiak- Witulska, 2002]. Do badań wyodrębniono dwie próby materiału i dwie kolejne przygotowano jako odniesienie dla porównania:

1. ziarno pobrane z górnej warstwy o grubości 2,85m – wysuszone po 254 h,
2. ziarno pobrane z dolnej warstwy o grubości 0,25 m – wysuszone w ciągu 20h (temperatura i wilgotność powietrza suszącego zbliżona do temperatury i wilgotności powietrza suszącego),
3. ziarno świeżo zebrane z pola nie poddane suszeniu jako odniesienie,
4. ziarno wysuszone szybko w laboratorium w warstwie 0,1 m przez 6 h powietrzem o temperaturze ok. 30°C, wilgotności względnej ok. 30% – jako odniesienie.

Oznaczanie ergosterolu: próbki zawierające 100 mg zmielonego ziarna pszenicy ozimej, odmiany *Sakwa*, umieszczono w probówce do kultur o pojemności 17 ml, zawieszano w 2 ml metanolu, dodawano 0,5 ml wodnego roztworu wodorotlenku sodu o stężeniu 2 M i szczelnie zamykano. Następnie próbki umieszczono w plastikowych butelkach o pojemności 250 ml szczelnie zamykano i umieszczono we wnętrzu kuchenki mikrofalowej (Whirpool model AVM 401/1/WH) generującej promieniowanie mikrofalowe o częstotliwości 2450 MHz i maksymalnej mocy 900 W. Próbki poddawano działaniu promieniowania mikrofalowego o mocy 370 W przez okres 20 s i po ok. 5 min przerwy przez kolejne 20 s. Po ok. 15 minutach schłodzone próbki neutralizowano 1M wodnym roztworem kwasu solnego, dodawano 2 ml metanolu i ekstrahowano pentanem (3 x 4 ml). Połączone warstwy pentanowe odparowywano do sucha w strumieniu azotu. Przed analizą próbki rozpuszczano w 4 ml pentanu i przepuszczano przez filtry 13 mm o średnicy porów 0,5 μm (Fluoropore Membrane Filters), odparowywano do sucha w strumieniu azotu i rozpuszczano w 1ml metanolu. Tak przygotowane próbki poddawano analizie metodą HPLC. Rozdział chromatograficzny prowadzono na kolumnie 150 x 3,9 mm Nova Pak C-18, 4 μm , stosując jako fazę ciekłą mieszaninę acetonitryl / metanol (90:10) przy przepływie 0,6 ml/min. Detekcję ergosterolu prowadzono wykorzystując detektor Waters 486 Tunable Absorbance Detector przy długości fali 282 nm. Ilościowe oznaczenie ergosterolu prowadzono metodą wzorca zewnętrznego przez porównanie powierzchni piku z powierzchnią piku standardu zewnętrznego. Potwierdzenie obecności ergosterolu w analizowanej próbce prowadzono porównując czas retencji z czasem retencji standardu lub poprzez równoczesne nastryknięcie standardu.

Wyniki i dyskusja

W otrzymanych do analizy próbach ziarna przeprowadzono analizę ergosterolu (ERG). Otrzymane wyniki przeliczono na zawartość ergosterolu w suchej masie po uwzględnieniu wilgotności ziarna (ERG S.M.). Pomiar zawartości ergosterolu w ziarnie służący do oceny stopnia rozwoju grzybów w ziarnie przeprowadzono każdorazowo w pięciu niezależnych powtórzeniach, a wyniki przedstawiono w zbiorczej tabeli.

Tabela 1: Zawartość ergosterolu w próbach ziarna - sierpień 2002
Table 1: Ergosterol content in grain specimens – August 2002

Próba	Wilgotność	ERG	ERG S.M.*	
			Średnia	Odchylenie Standardowe
	[%]	[mg/kg]	[mg/kg]	
Ziarno suszone w silosie przez 254 h – pobrane z górnej warstwy o grubości 2,85 m; (temperatura i wilgotność powietrza suszącego zbliżona do temp. i wilgotn. powietrza atmosf.)	13,3	0,60 0,24 0,46 0,88 0,44	0,433	0,076
Ziarno wysuszone w silosie przez 20 h - pobrane z dolnej warstwy o grub. 0,25 m (temperatura i wilgotność powietrza suszającego zbliżona do temp. i wilgotn. powietrza atmosf.)	11,8	0,16 0,20 0,24 0,05 0,05	0,120	0,072
Ziarno świeżo zebrane z pola	19,0	0,36 0,48 0,41	0,337	0,050
Ziarno wysuszone "szybko" w laboratorium w warstwie 0,1 m przez 6 h (dane o powietrzu suszącym: temperatura ok. 30°C; wilgotność względna ok. 30%; prędkość pozorna 0,9 m/s)	13,7	0,36 0,44 0,26 1,42 1,12	0,553	0,360

* wartości średnie i odchylenia standardowe liczone po odrzuceniu dwóch skrajnych wyników.

Uzyskane wyniki charakteryzują się niewielkim stężeniem tego metabolitu. Zawartość ERG S.M. wynosząca poniżej 1mg/kg jest istotnie niższa, niż postulowane maksymalne stężenie (w przypadku ziarna zbóż używanego w żywieniu ludzi) wynoszące poniżej 3 mg/kg [Schnürer, Jansson 1992]. Równocześnie upoważniają one do sformułowania wniosku, iż wszystkie przebadane próby były w niewielkim stopniu zanieczyszczone mikroflorą grzybową. Oznaczone średnie stężenie ERG S.M. w próbie ziarna

świeżo zebranego z pola, a wynoszące 0.337 mg/kg jest tego najlepszym świadectwem. Jest to tym bardziej pocieszające, iż niewiele prac, które ukazały się w literaturze światowej podaje podobne wartości [Majunder 2001]. W większości z nich zawartość ergosterolu w ziarnie jest wyższa niż postulowane 3 mg/kg [Maupetit i in. 1993, Müller i Schwadorf 1990].

W próbach suszonych zauważyć można tendencje do ich zróżnicowania. Najniższe (trzykrotnie) stężenie ERG S.M. wyznaczono dla ziarna wysuszonego w silosie – dolna warstwa – wartość średnia 0,12 mg/kg przy odchyleniu standardowym 0,072 mg/kg. Dla próby tej wilgotność była równocześnie najniższa i wynosiła 11,8%. W próbie ziarna dla której wilgotność była wyższa i wynosiła 13,7% stężenie tego metabolitu było podobne jak dla próby zebranej z pola. Najwyższe stężenie dwukrotnie wyższe (średnia 0,553 mg/kg przy odchyleniu standardowym 0,36 mg/kg), niż dla ziarna zebranego z pola stwierdzono w próbie ziarna wysuszonego "szybko" w cienkiej warstwie przez kilka godzin w temperaturze czynnika suszącego około 30°C. Z dużą ostrożnością można wysnuć wniosek, iż taki sposób suszenia poprzez możliwość swobodnego oddziaływania czynników środowiskowych spowodował wzrost zawartości mikroflory grzybowej.

Jest oczywistym, iż ze względu na niewielką ilość przebadanych prób otrzymane wyniki można traktować jako wstępne, pilotażowe dotyczące określonego doświadczenia. Wyznaczone średnie zawartości ERG S.M. w ziarnie obarczone są nieuniknioną w tego typu badaniach biologicznych (gdzie mamy do czynienia z tak znacznymi masami ziarna) dużą miarą rozrzutu - tym niemniej stanowią cenną informację o przebiegu procesu kontrolowanego suszenia ziarna, a wyznaczone stężenie poniżej 1mg/kg ERG S.M. jest dowodem na skuteczność stosowanej technologii. Na bardziej uprawnione uogólnienia będzie można sobie pozwolić po przebadaniu bardziej reprezentatywnej ich ilości.

Wnioski

Ziarno pszenicy ozimej odmiany Sakwa, świeżo zebrane z pola w okolicach Poznania w 2002 roku, suszone od wilgotności 19% do wilgotności 13,3% w górnej warstwie silosu metalowego przez 254 godziny metodą niskotemperaturową pod kontrolą sterownika komputerowego, było w niewielkim stopniu zanieczyszczone mikroflorą grzybową - znacznie poniżej poziomu dopuszczalnego (średnia zawartość ergosterolu w suchej masie wynosiła 0,433 mg/kg przy odchyleniu standardowym 0,076 mg/kg). Równocześnie nie stwierdzono obecności mikotoksyn w badanych próbkach ziarna.

Niski poziom ergosterolu w badanych próbach wskazuje, iż suszenie niskotemperaturowe jest skuteczną metodą późniejszej konserwacji pszenicy.

Bibliografia

Majumder S. K. Approaches to assessment of food losses. <http://www.unu.edu/unupress/food/8F042e/8F042E06.htm>,

Maupetit P., Gatel F., Cahagnier B., Botorel G., Charlier M., Collet B., Dauvillier P., Laffiteau J., Roux G. 1993. Quantitative estimation of fungal infestation of feedstuffs by determining ergosterol content. 44th Annual Meeting of the EAAP Aarhus, Denmark.

Müller H. M., Schwadorf K. 1990. Ergosterol-A parameter for the quantitative determination of fungal infestation in feedstuffs. *Animal Res. Developm.*, 31: 71-81.

Müller H. M., 1991 Ergosterin in Futtermitteln. Proceedings des VII International Kongresses für Tierhygiene of the 7th International Congress on Animal Hygiene. Vol. III, 1151-1159, Leipzig, Niemcy.

Ryniecki A. 2002. Pielęgnacja ziarna mokrego. W: *Dobrze przechowane zboże* (red. A. Ryniecki, P. Szymański). Wyd. MR INFO, Tow. Umiejętn. Roln. Poznań.

Ryniecki A., Gawrysiak-Witulska M. 2002. Test wskaźnika zakończenia suszenia pszenicy w silosach typu BIN. *Przeegl. Zboż.-Młyn.* Nr 10: 36-37.

Gawrysiak-Witulska M., Ryniecki A., Rudzińska M. 2004. Analiza procesu niskotemperaturowego suszenia rzepaku w silosie typu „BIN”. *Postępy techniki przetwórstwa spożywczego.* Tom 14/25: 46 – 48.

Seitz I.M, Mohr H.E., Rurroughs R., Sauer D.B. 1977. Ergosterol as an indicator of fungal invasion in grains. *Cereal Chem.* 54: 1207-1217.

Schnürer J., Jansson A. 1992. Ergosterol levels and mould colony forming units in Swedish grain of food and feed grade. *Acta Agric. Scand., Sect. B. Soil and Plant Sci.*, 42: 240-245.

Microbiologic evaluation of wheat dried in a metal silo monitored by process controller

Summary:

This work is aimed at the microbiologic evaluation of the wheat dried at low temperature in a metal silo. Drying was monitored using a computer-assisted process controller. Material designed for tests included the winter crop of wheat, Sakwa modification, directly harvested and dried at low temperature in a metal silo from 19% to 13% humidity. Air-drying the outlet layer about 3 m in

thickness was completed after 254 hours. Grains directly harvested without any drying and subjected to fast air drying at the temperature of 30°C within 6 hours were used as reference material. Tests were carried out through ergosterol determination. It is the most often used method among the methods designed for the evaluation of the degree of fungi development on solid substrates. Ergosterol is the most important sterol generated by a majority of fungi and it is applied as a chemical index of the existence of the implanted fungi.

Keywords:

Wheat grain drying, low-temperature drying, after-harvest preservation of cereals, mould, micotoxins, quality