

## KVIEČIŲ IR MIEŽIŲ MIKOTOKSIKOLOGINIS IR MIKROBIOLOGINIS ĮVERTINIMAS SANDĖLIAVIMO METU

Violeta Baliukonienė, Bronius Bakutis

Lietuvos veterinarijos akademija, Zoohigienos ir maisto produktų sanitarijos katedra,

Tilžės g. 18, LT-3022 Kaunas, tel. 36 32 08

**Santrauka.** Mes apžvelgėme trijų tipų žemės ūkio grūdų saugyklas: mažas, vidutines, dideles, kuriose buvo skirtingos grūdų sandėliavimo sąlygos.

Įvertintas atsitiktinės atrankos būdu atrinktų kviečių ir miežių užterštumas mikroskopiniais grybais ir nustatytas mikotoksinų kiekis. Nustatytas bendras bakterijų skaičius grūduose. Iš tyrimų rezultatų matyti, kad didžiausias grūdų užterštumas buvo mėginiuose, paimtuose iš mažų ūkių saugyklų. Juose nėra gerai įrengtų sandėlių, grūdai prieš sandėliavimą neišdžiovinami.

Nustatyta patikimas skirtumas ( $p < 0,05$ ) tarp mažų ir vidutinių, tarp vidutinių ir didelių saugyklų.

**Raktažodžiai:** kviečiai, miežiai, mikroskopiniai grybai, mikotoksinai, bendras bakterijų skaičius.

## MYCOTOXICAL AND MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF WHEAT AND BARLEY IN GRANARIES DURING THE STORAGE PERIOD

**Summary.** Three types of agricultural granaries (small, average and big) with different storing conditions were investigated.

Randomly taken wheat and barley samples were analysed for the degree of contamination with moldy fungi spores and mycotoxines. The results obtained indicate that highest levels of contamination are found in small farm granaries lacking good storing and drying equipment.

A reliable correlation ( $p < 0.05$ ) between small and average as well as average and big granaries has been established.

**Keywords:** wheat, barley, microscopical fungi, mycotoxins, total count of bacteria.

**Įvadas.** Grūdų laikymo sąlygos turi įtakos jų kokybei. Nesilaikant sandėliavimo reikalavimų grūdai gali pradėti gesti. Šeriant gyvulius tokiais grūdais galimi susirgimai ir apsinuodijimai [8]. Mikroorganizmų gyvybinės veiklos metabolitai (mikotoksinai) toksiški žmonėms ir gyvuliams [10].

Pagrindinės priežastys, sukeliančios grūdų gedimo protrūkius yra didelis pradinis saugyklų užterštumas ir nepakankamas grūdų paruošimas sandėliavimui [2]. Tačiau, netgi sandėliuojant tinkamai paruoštus grūdus, po ilgesnio sandėliavimo laiko gali pakisti saugomų grūdų parametrai: padidėti drėgmė ir pakilti temperatūra. Šie parametrai gali kisti dėl nepakankamos ventiliacijos, vandens kondensacijos ant saugyklos sienelių, biologinio grūdų kaitimo ir grūdų cheminės sudėties pokyčių [13]. Susidarius kritiniams grūdų saugyklų veiksniams, pasireiškia taip vadinamas "ydingas" grūdų gedimo ratas, greitinantis grūdų pelėjimą ir bakterinį pažeidimą [3]. Šį procesą galima sustabdyti tikrai užtikrinant geras saugyklų sanitarines sąlygas, o taip pat tinkamai paruošiant grūdus sandėliavimui. Europos bendrijos paruoštose rekomendacijose nurodoma, kad didžiausia rizika grūdų gedimui sandėliavimo metu atsiranda šalyse, kuriose aukšta santykinė oro drėgmė. Be to, siūloma atkreipti ypatingą dėmesį į ūkininkų ūkiuose išaugintų grūdų apsaugojimą nuo gedimo.

Gendant grūdams kinta ir įvairių mikroorganizmų procentinė sudėtis, todėl vertinant pašarų kokybę yra svarbu atsižvelgti į patogeninių mikroskopinių grybų bei bakterijų buvimą juose [13].

Įvairiose pasaulio šalyse grūdų kokybė yra vertinama skirtingai: pagal sporų kiekį arba mikotoksinų kiekį ir bendrą bakterinį užterštumą. Mikrobiologinis ir mikotoksikologinis grūdų įvertinimas atliekamas laboratorijose pagal atitinkamas metodikas [1, 5].

Esant atitinkamoms sąlygoms, apie 30-40 % visų mikroskopinių grybų gali gaminti mikotoksinus [9]. Trys pagrindinės mikotoksinus gaminančios gentys yra *Aspergillus*, *Fusarium* ir *Penicillium* [8]. Kiekybiniam mikotoksinų kiekiui nustatyti naudojamas imunofermentinės analizės metodas. Metodo esmė yra antikūno – antigeno sąveika [9].

Mikotoksiną zearalenoną gamina *Fusarium* genties mikroskopiniai grybai. Šio mikotoksino didžiausios koncentracijos dažniausiai nustatomos Vidurio Europos šalyse (Austrijoje, Vokietijoje, Prancūzijoje). Grūduose, išaugintuose šiuose kraštuose, zearalenonas nustatytas apie 90 % tirtų mėginių. Zearalenono aptikimas grūduose priklauso nuo metų laiko bei šalies geografinės padėties ir svyruoja nuo 0,002-0,30 mg/kg. Zearalenonas yra fitohormonas, kuris be anabolitinių savybių pasižymi ir estrogeniniu efektu. Dėl savo estrogeninių savybių zearalenonas gali sukelti vaisingumo sutrikimus arkliams, karvėms, avims. *Penicillium verucosum* ir *Aspergillus ochraceus* mikroskopiniai grybai dažniausiai išskiria ochratoksiną. [13]. Ochratoksinai dažniau ir didesnėmis koncentracijomis yra randami Vidurio ir Šiaurės Europos dalyje (Danijoje, Vokietijoje, Lenkijoje) [7,12]. Grūdai yra pagrindinis ochratoksino A šaltinis. Danijoje, ištyrus 33 pašarų mėginius, ochratoksinas A rasta 19-oje mėginių. Daugiau negu pusėje pašarų, kuriuose buvo

rastas ochratoksinas, jo koncentracija buvo didesnė negu 0,2 mg/kg. Danijos mitybos specialistų pateiktoje apžvalgoje parodomas žemės ūkio produktų užsikrėtimas šiuo toksinu - kiaulienoje šio toksino rasta nuo 0,1µg/kg iki 1,3µg/kg [4].

Nustatyta, kad ochratoksinai pasižymi nefrotoksininiu, kancerogeniniu ir imunosupresiniu veikimu[13].

**Darbo tikslas** – palyginti skirtingomis sąlygomis sandėliuotų grūdų kokybę, nustatant mikrobiologinius ir mikotoksikologinius pokyčius kviečiuose ir miežiuose.

**Tyrimų metodai ir sąlygos.** Kviečių ir miežių mėginiai paimti kovo - balandžio mėnesiais iš Kauno, Alytaus, Pasvalio skirtingų kategorijų žemės ūkio saugyklų, atsitiktinės atrankos būdu pagal standartinio mėginio paėmimo metodiką. Iš kiekvienos saugyklos paimta po vieną mėginį. Viso ištirti 55 mėginiai.

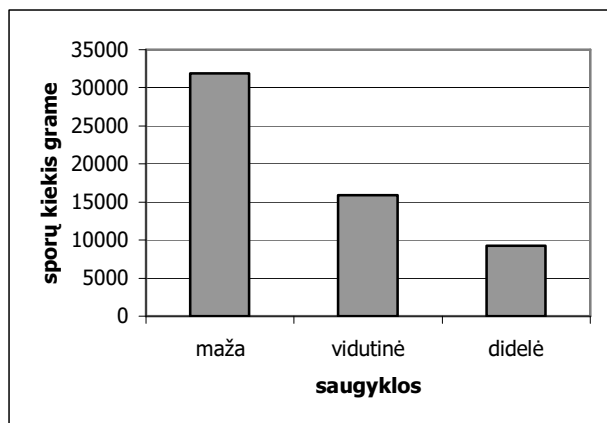
Sporų kiekis ir bendras bakterijų skaičius 1 g mėginio nustatytas LVA Zoohigienos ir maisto produktų sanitarijos katedros Mikotoksikologijos laboratorijoje.

Sporų kiekis nustatytas, sėjant kiekvieną mėginio ekstraktą (1:10<sup>3</sup>) į Petri lėkšteles su Čapeko terpe, pagal Kurasovos ir kt. parengtą metodiką [15].

Bendras bakterijų skaičius nustatytas pagal LST ISO 4833: 1999 nuorodas.

Mikotoksinų kiekis grūduose nustatytas imunofermentinės analizės metodu (ELISA), panaudojus komercinius RIDASCREEN® Zearalenon ir RIDASCREEN® Ochratoxin A (Vokietija) rinkinius.

Statistinis duomenų patikimumas įvertintas Exel 97 ir daugianarės regresijos Start 1 programa. Tyrimų rezultatai statistiškai patikimi, kai  $p < 0,05$ .



1 pav. Kviečių mikologinis tyrimas

Pagal gautus mikologinius tyrimų rezultatus, kurie pavaizduoti 1,2 paveiksluose, matyti, kad didžiausias grūdų užterštumas mikroskopiniais grybais yra mažų ūkių saugyklose: kviečių vidutiniškai – 31,87 tūkst. vnt./1g ( $p < 0,05$ ), miežių vidutiniškai – 32 tūkst. vnt./1g ( $p < 0,05$ ). Nustatyta, kad kai kuriuose kviečių mėginiuose iš mažų ūkių saugyklų, išaugusių sporų kiekis (76 – 79 tūkst. vnt./1g) viršijo nustatytas leistinas normas. Miežiuose išaugusių mikroskopinių grybų kolonijų skaičius siekė iki 74 - 77 tūkst. vnt./1 g.

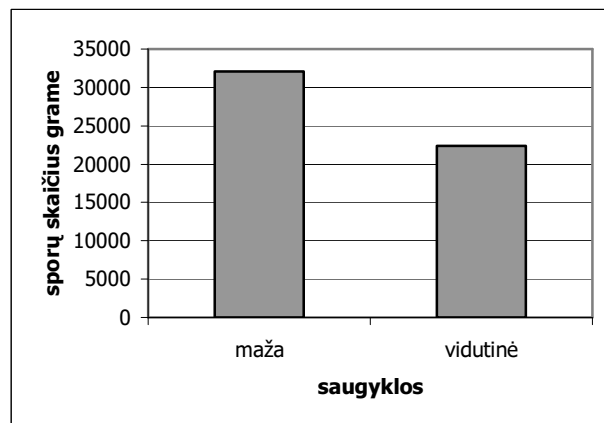
**Tyrimų rezultatai.** Lietuvoje yra įvairių kategorijų ūkių, turinčių skirtingas derliaus nuėmimo, apdorojimo, laikymo ir kitas sąlygas. Tirta grūdų kokybė iš trijų tipų žemės ūkio grūdų saugyklų, kuriose buvo skirtingos grūdų sandėliavimo sąlygos.

Lietuvoje yra nemažai ūkininkų turinčių 3 ha žemės. Šiuose ūkiuose išauginti grūdai dažniausiai sunaudojami ūkio reikmėms, grūdai saugomi nepritaikytose patalpose, pažeidžiant sanitarinius reikalavimus. Juose nėra įrangos grūdų džiovimui ir valymui. Tokiais grūdais šeriami ūkyje laikomi gyvuliai, kurių produktai suvartojami savo reikmėms.

Žemės ūkio bendrovės, auginančios grūdines kultūras, turi geriau įrengtas grūdų saugyklas, tačiau nekreipiamas pakankamas dėmesys į sandėliavimo sanitarinius reikalavimus. Šiose bendrovėse sukaupti grūdai sunaudojami gyvulių šėrimui.

Grūdų perdirbimo kombinatai turi geras sandėliavimo sąlygas ir gerą įrangą grūdų apdorojimui, grūdai tiekiami tiek žmonių maistui, tiek gyvulių pašarui.

Buvo tirti atsitiktinai atrinkti kviečių ir miežių mėginiai. Grūdų užkrėstumą mikroskopiniais grybais ir bakterijomis vertinome iš jų išaugindami kolonijas. Tyrimų metu nustatyta, kad grūdų mėginiai pakenkti *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* genčių mikroskopiniais grybais. Nepažeistuose grūduose mikroskopinių grybų kiekis paprastai neviršija 1000. Leistina norma – 40.000 sporų/g pašaro, bakterijų skaičius 1 g dažniausiai nesiekia 1 milijono (leistina norma – 500.000 bakterijų/g).



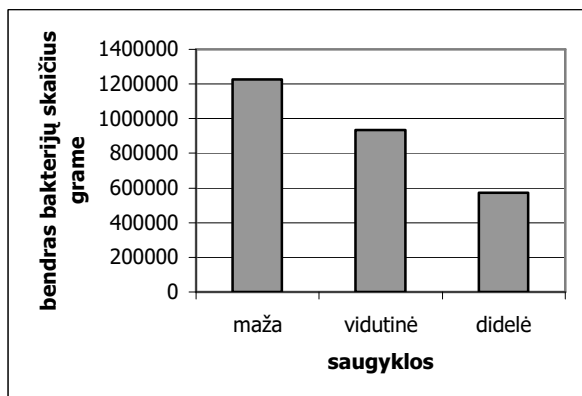
2 pav. Miežių mikologinis tyrimas

Grūdai, saugomi vidutinio dydžio saugyklose, buvo užkrėsti mikroskopiniais grybais: kviečių vidutiniškai - 15,93 tūkst. vnt. /1 g ( $p < 0,05$ ), miežių vidutiniškai - 22,3 tūkst. vnt. /1 g ( $p < 0,05$ ).

Mažiausias mikroskopinių grybų kolonijų skaičius išaugo kviečių mėginiuose, paimtuose iš perdirbimo kombinatų saugyklų vidutiniškai - 9,25 tūkst. vnt. /1 g.

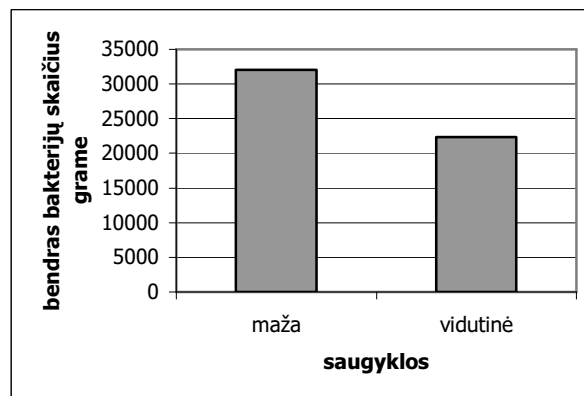
Kaip matyti iš 3 ir 4 paveikslų didžiausias grūdų bendras bakterinis užterštumas nustatytas mėginiuose iš mažų saugyklų: kviečių vidutiniškai - 1227 tūkst. vnt. /1 g

( $p < 0,025$ ) ir miežių vidutiniškai - 2191 tūkst. vnt. /1 g ( $p < 0,05$ ).



3 pav. Kviečių bakteriologinis tyrimas

Rezultatai apie mikotoksinų analizę grūduose pateikti lentelėje. Kviečių mėginiuose, paimtuose iš mažų ūkių saugyklų, zearalenono vidutiniškai nustatyta - 5,01  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Lyginant nustatytą vidutinį zearalenono kiekį kviečiuose iš mažų ūkių saugyklų su grūdų perdirbimo kombinatų saugyklomis - 1,77  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , zearalenono aptikta 64,6 % daugiau kviečiuose, laikytuose mažuose saugyklose ( $p < 0,025$ ) ir 57,6 % - lyginant su vidutinio tipo saugyklomis ( $p < 0,2$ ). Ochratoksino A vidutiniškai nustatyta 1,78



4 pav. Miežių bakteriologinis tyrimas

$\mu\text{g}/\text{kg}$  kviečiuose iš mažų saugyklų, tai yra 63,5 % daugiau negu grūdų perdirbimo kombinatų saugyklose ( $p < 0,025$ ).

Kviečiuose iš vidutinio dydžio saugyklų vidutinis ochratoksino A kiekis nustatytas - 3,19  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 34 % didesnis lyginant su vidutiniu ochratoksino A kiekiu - 1,13  $\mu\text{g}/\text{kg}$  kviečiuose iš grūdų perdirbimo kombinatų ( $p < 0,05$ ).

lentelė. Mikotoksinų kiekiai grūduose

Grūdų rūšis	Tirta mėginių	Zearalenonas $\mu\text{g}/\text{kg}$			Ochratoksinas $\mu\text{g}/\text{kg}$		
		Saugyklų tipas			Saugyklų tipas		
		maža	vidutinė	didelė	maža	vidutinė	didelė
kviečiai	33	5,01	2,89	1,77	1,78	3,19	1,13
miežiai	17	0,58	0,34	-	0,92	0,37	-

Nedideli vidutiniai mikotoksinų kiekiai nustatyti miežiuose: zearalenono - 0,58  $\mu\text{g}/\text{kg}$  iš mažų saugyklų, - 0,34  $\mu\text{g}/\text{kg}$  iš vidutinio dydžio saugyklų ( $p < 0,05$ ), ochratoksino A nustatyta - 0,92  $\mu\text{g}/\text{kg}$  iš mažų saugyklų, - 0,37  $\mu\text{g}/\text{kg}$  iš vidutinio dydžio saugyklų ( $p < 0,05$ ).

Kaip matyti iš paveikslų, kviečių ir miežių didžiausias užterštumas mikroskopiniais grybais ir bakterijomis yra mažų ūkių saugyklose, kur nėra gerai įrengtų sandėlių, bloga sandėlių sanitarinė būklė, prieš sandėliavimą grūdai nepakankamai gerai išdžiovinoti.

**Rezultatų aptarimas.** Taikant tam tikras grūdų sandėliavimo sąlygas, atsižvelgiant į pradinį saugyklų užterštumą, temperatūrą, santykinę drėgmę, ventiliaciją, saugyklų dezinfekciją, grūdų užterštumas mikroskopiniais grybais ir bakterijomis žymiai sumažėja. Tai nustatyta vidutinio ir didelio tipo gūdų saugyklose.

Pagal tyrimų rezultatus matyti, kad esant dideliame grūdų užterštumui mikroskopiniais grybais mažų ūkių saugyklose, nustatomos ir didesnės mikotoksinų zearalenono ir ochratoksino A koncentracijos, lyginant su grūdais saugotais didelėse saugyklose.

Siekiant efektyviai apsaugoti grūdus nuo gedimo sandėliavimo metu, grūdų saugyklose reikia sudaryti tinkamas sanitarines sąlygas. Būtina atsižvelgti į grūdų savybes, vandens aktyvumą ( $a_w$ ), pH, dujų

sudėtį saugykloje, sąveiką su vabzdžiais ir bendrą saugyklų sanitarinį stovį [2, 3].

Mūsų tyrimais nustatytas patikimas skirtumas tarp kviečių ir miežių mažų ir vidutinių, tarp kviečių vidutinių ir didelių saugyklų ( $p < 0,05$ ), silpnai patikimas skirtumas tarp kviečių mažų ir didelių saugyklų ( $p < 0,2$ ). Kviečių mėginiuose iš mažų ūkių saugyklų išaugusių sporų kiekis (76 - 79 tūkst. vnt./1g) viršijo nustatytas leistinas normas. Miežiuose išaugusių mikroskopinių grybų kolonijų skaičius siekė iki 74 - 77 tūkst. vnt./1 g.

Grūdai, saugomi vidutinio dydžio saugyklose, buvo užkrėsti mikroskopiniais grybais: kviečių - 15,93 tūkst. vnt. /1 g ( $p < 0,05$ ), miežių - 22,3 tūkst. vnt. /1 g ( $p < 0,05$ ).

Mažiausias mikroskopinių grybų kolonijų skaičius išaugo kviečių mėginiuose, paimtuose iš perdirbimo kombinatų saugyklų grūdų - 9,25 tūkst. vnt. /1 g.

Didžiausias grūdų bendras bakterinis užterštumas nustatytas mėginiuose iš mažų saugyklų: kviečių - 1227 tūkst. vnt. /1 g ( $p < 0,025$ ) ir miežių - 2191 tūkst. vnt. /1 g ( $p < 0,05$ ).

Pigiausias ir efektyviausias grūdų užterštumo mikroskopiniais grybais profilaktikos būdas yra grūdų apsauga nuo pelėjimo. Norint apsaugoti grūdus nuo užterštumo reikalingas pažangių grūdų technologijų

įdiegimas, reguliarūs grūdų kokybės tyrimai ir cheminių konservantų panaudojimas [14].

**Išvados:** 1. Didžiausias kviečių ir miežių užterštumas mikroskopiniais grybais ir bakterijomis yra mažų ūkių saugyklose.

2. Mikotoksinų – zearalenono ir ochratoksino A didžiausi kiekiai nustatyti kviečiuose iš mažų saugyklų.

3. Didžiausias bendras bakterinis užterštumas nustatytas grūduose, paimtuose iš mažų saugyklų.

#### Literatūra

Banks J.N. Rapid detection of mould contamination. Annual Science Review 1997-1998. 1999. New York. P. 44-47.

Hamilton P.B. Factors influencing activity of fungi and antifungal agents in poultry feed // Trichothecenes and other mycotoxins. JOHN wiley and sons, Ltd. New York. 1985. P.207-218.

Holeberg T. Ochratoxin A in cereal grain and potential effects on animal health. Disertation Uppsala. 1992. P. 23-25.

Jorgensen K., Rasmusen G. et all. Ochratoxin in Danish cereals 1986-1992 and daily intake by danish population. Food additives and contaminants. Vol. 13. No.1. 1996.

P. 95-104.

Keblys M., Bakutis Br., Janulis P. Įvairių konservantų palyginamieji tyrimai.

// Veterinarija ir zootechnika. Kaunas: Candela, 1998. T. 6 (28). P.19-22.

Kuiper-Goodman T. et all. Risk assessment of the mycotoxin zearalenone. Regulat. Toxicol. and Pharmacol. 1987. P. 253-306.

Kuiper-Goodman T. Risk assessment to humans of mycotoxins in animal – derivated food products. Vet. hum toxicol 32. 1990. P. 6 – 14.

Niyo K.A. et all. Mycotoxins economic and health risk. Council for agricultural science and technology. Task force report. No. 116. November. 1989. P. 1-10.

Notermans S. et. All. Detection of mould in food by the enzyme-linked immunosorbent assay.// J. Food Prot. 1986. 49 (10). P.786-791.

Ostry V., Ruprich J. Mycotoxins in foods. Occurance and determination of mycotoxins // J. Veterinary. 1994. 44. 5. P 216-227.

Radostitis O.M. et all. Veterinary medicine. A textbook of the diseases of cattle, pigs, goats and horses. Bailiere Tindal. London, Philadelphia, Sydney, Tokyo, Toronto. 1994. P. 28-35.

Scot P.M. Penicillium and Aspergillus toxins. In Miller J.O. Trewnholm H.L. (eds). Mycotoxins in grain compounds another than aflatoxins Eagan press St. Paul, Minesota, USA, 1994. P. 261-268.

Smith J.E. et all. Mycotoxin in humans nutrition and health. EC. Directorate-General XII Science research and development EUR 16048 EN 1994. P. 5-23.

Trenholm H.L., Peelusky D.B. et all. Reducing mycotoxins in animal feeds. Agriculture Canada Publication 1827 E, Communications Branch, Agriculture Canada, Ottawwa. 1988. P.128-134.

Курасова В. В., Костин В. В., Шаловская Л. С. Методы исследования ветеринарной микологии. М. 1971. P. 194-195.