

Izvorni znanstveni rad  
Original scientific paper

## **METODE USTANOVLJIVANJA OŠTEĆENOSTI ZRNA ŽITARICA SKLADIŠNIM ŠTETNICIMA**

Darija LEMIĆ, Marija Andrijana GALEŠIĆ\*

Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za poljoprivrednu zoologiju,  
Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb

\*Izvod iz završnog rada, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet  
dlemic@agr.hr

Prihvaćeno: 31-10-2019

### **SAŽETAK**

Zaraza skladišta štetnim kukcima učestala je pojava te uzrokuje mnogobrojne neželjene posljedice. Svojom ishranom te ekskrementima koje ostavljaju na proizvodima skladišni štetnici smanjuju vrijednost uskladištenog proizvoda. Skladišni štetnici u određenim zemljama dovode do gubitka cjelokupnog uskladištenog proizvoda i do 10 %. Kako bi se na vrijeme uočila zaraza i provele potrebne mjere za saniranje i smanjivane štete, potrebno je pravovremeno provesti metode ustanovljivanja zaraze uskladištenih proizvoda. Cilj ovoga rada bio je provesti pet metoda ustanovljivanja zaraženosti zrna žitarica skladišnim štetnicima, usporediti dobivene rezultate te odrediti koja je od provedenih metoda najučinkovitija i najekonomičnija. Istraživanje je provedeno na 48 uzoraka zrna četiriju vrsta žitarica (jari ječam, kukuruz, pir i pšenica). Provedene i uspoređene metode jesu: vizualni pregled zrna, metoda bojenja kiselim fuksinom, metoda bojenja kalijevim permanganatom, metoda flotacije i kolorimetrijska metoda ustanovljivanja oštećenja na zrnu. Rezultati provedenih metoda dali su uvid u postotak oštećenja pojedinog uzorka. Najveće oštećenje zrna u ovom istraživanju ustanovljeno je u uzorcima pira i jarog ječma. Najbrža i najekonomičnija metoda ustanovljivanja oštećenja na uskladištenom zrnu žitarica bila je metoda flotacije, međutim potrebno je provesti analizu isplivanog zrna da bi se ustanovila priroda oštećenja ili ju nadopuniti nekom od metoda bojenja. Ekonomski najisplativija metoda u ovom istraživanju bila je metoda bojenja kalijevim permanganatom. Svim provedenim metodama ustanovljena su veća oštećenja zrna od onih ustanovljenih vizualnim pregledom. Glavni je zaključak ovoga istraživanja da vizualni pregled uskladištenog zrna nije dostatna metoda za ustanovljivanje zaraze skladišnim štetnicima te treba biti nadopunjena drugim metodama radi pravovremene detekcije zaraze i provedbe zaštite.

**Ključne riječi:** skladištenje zrna, skladišni štetnici, metode ustanovljivanja zaraze, bojenje zrna, flotacija

## METHODS FOR DETERMINING GRAIN INFESTATION

### SUMMARY

Infestation of food storages with storage insect pests is a common occurrence that leads to numerous unwanted consequences. By feeding on the products and leaving their excrements behind, insect pests lead to degradation of the product's value. In some countries, infestation of stored products with insect pests can lead to losing up to 10 % of the complete annual production. In order to prevent possible damages, it is crucial to detect the infestation on time. The aim of this paper was to use five different methods for determining grain infestation with insect pests and to compare the results in order to conclude which used method is the most efficient and financially viable. There were 48 examined samples containing seeds from four different grain species (spring barley, corn, spelt and wheat). Used and compared methods were: visual inspection, staining method with acid fuchsin, staining method with potassium permanganate, flotation method and colorimetric determination of grain damage. Results of the completed techniques were used to determine the percentage of damage on the analyzed grain samples. In this investigation the highest damage was determined in the grain of spelt and spring barley. Out of all of the used methods one that needed minimum time for completing was the flotation method. Also, it is one of the most financially viable methods. The most inexpensive method was the staining method with potassium permanganate. All of the used methods proved more damages than the results given by the visual inspection of the grain. The main conclusion of this paper is that the visual inspection of the damaged grain is an insufficient method that needs to be supplemented with other methods in order to detect the infestation in reasonable time and prevent more losses.

**Key words:** grain storage, stored product pests, damage determining methods, grain staining, flotation

### UVOD

Skladištenje je završni zahvat u cjelokupnom procesu proizvodnje pojedinog poljoprivrednog proizvoda, a njegovi osnovni zadatci jesu očuvanje i/ili povećanje kvalitete proizvoda te očuvanje težine proizvoda. Najčešće se skladište zrnati proizvodi (Rozman i Liška, 2019). Zrno mora biti uskladišteno zato što vrijeme njegove proizvodnje nije jednako vremenu konzumacije, a

potrebno je smanjiti svaku mogućnost pada kvalitete proizvoda do njegova korištenja (Neethirajan i sur., 2007).

Jedan je od glavnih problema pri očuvanju kvalitete i kvantitete zrna u skladištu infestacija štetnicima. Izvori su zaraze različiti: od zaraze u polju u vrijeme vršidbe, preko nečistih vreća u koje se zrno sprema, do onog najčešćeg – nečistih i nepripremljenih skladišta (Ćosić i sur., 2008). Prema UN-ovoj Organizaciji za prehranu i poljoprivredu (FAO), herbivorni kukci godišnje su odgovorni za uništenje 1/5 ukupne svjetske proizvodnje usjeva (Sallam, 1999). Štetnici oštećuju zrno izvana i iznutra; hrane se na njemu te ga kontaminiraju svojim metaboličkim nusproduktima. Unutrašnja su oštećenja opasnija jer mogu proći nezapaženo pri kontroli zrna. Štetnici povisuju temperaturu, a posljedično i vlagu unutar mase zrna svojom metaboličkom aktivnošću što može dovesti do razvijanja neželjene mikroflore na proizvodu, tj. do razvoja različitih bakterija i gljivica. Oštećeno zrno nije upotrebljivo ni za razvoj biljaka, niti za antropogeno iskorištavanje (Neethirajan i sur., 2007). Dolazi do pada klijavosti koja je najbitnije biološko svojstvo sjemena (Maceljski i sur., 1999). Napad često uzrokuje i biokemijske promjene. Primjerice može doći do povećanja sadržaja dušika i slobodnih masnih kiselina u zrnu te zrno ima loš zadržavanje i vizualno je odbojno (Maceljski i sur., 1999). Najčešći štetnici zrna žitarica koji pričinjavaju velike štete u skladištima jesu pripadnici reda Coleoptera (tvrdokrilci): *Sitophilus granarius* (Linnaeus, 1758), *Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1763), *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855, *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792), (Rozman i Liška, 2019) i pripadnici reda Lepidoptera (leptiri): *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1789), *Nemapogon granella* (Linnaeus, 1758), *Ephestia kuehniella* Zeller, 1879 (Kalinović i Korunić, 2005). Uzrokujući pad kvalitete zrna, štetnici dovode i do pada vrijednosti istoga što proizvođače stavlja u nepovoljnu ekonomsku poziciju (Neethirajan i sur., 2007). Štetni kukci za tjedan dana pojedu veću količinu hrane od one koja odgovara težini njihova tijela. U razvojnom stadiju ličinke jedu mnogo više nego kao odrasli štetnici (Ritz, 1997). U svijetu ukupni godišnji gubitak uskladištenih poljoprivrednih proizvoda iznosi oko 4 do 10 % proizvedene hrane. Osobit problem s gubitcima uskladištenih proizvoda imaju zemlje u razvoju zbog vlažne i tople klime koja na tim područjima prevladava, a osigurava povoljne uvjete za razvoj skladišnih štetnika čime se propadanje zrna ubrzava. Gubitci u tim podnebljima mogu se kretati i do 40 % u razdoblju od pola godine kao što je primjerice situacija s uskladištenim zrnom kukuruza u Gani (Kalinović i Korunić, 2005). Rezultati prema istraživanju FAO-a govore da je otprilike jedna trećina u svijetu proizvedene hrane godišnje izgubljena zbog infestacije skladišnim štetnicima, što predstavlja materijalnu štetu od otprilike 1,3 bilijuna tona godišnje (Gustavsson i sur., 2011). Primjerice skladišni štetnici mogu uzrokovati gubitak zrna do 9 % u razvijenim zemljama (Yadav sur., 2018), a u zemljama u razvoju (poput afričkih) gubitak je od 12 % do 50 % sveukupnog proizvedenog zrna (Shiferaw, 2018). Prema podacima iz 1990. gubitci u Sjedinjenim Američkim

Državama godišnje iznose više od 500 milijuna dolara (Harein i Meronuck, 1991).

U Hrvatskoj su štetnici pronalazeni u 38 do 74 % uzoraka različitih uskladištenih proizvoda. U pojedinim velikim skladištima, silosima, mješaonicama stočne hrane i drugim sličnim objektima nađeno je 2816 kukaca po kilogramu uzorka prosječne robe. U 1 kilogramu pronađeno je i do 19 različitih vrsta štetnika. U otpadcima dobivenim pri prebacivanju robe gotovo redovito pronalaze se stotine, ponekad i više tisuća kukaca po kilogramu (Maceljki i sur., 1999). Postoje podatci da su u 74 % od ukupno 355 pregledanih uzoraka različite uskladištene robe na našem području pronađeni kukci (Kalinović i Korunić, 2005).

Za nadzor nad mogućom pojavom štetnika u skladištima potrebno je pravovremeno i često obavljati preglede objekata i uskladištenog zrna. Jedna od najčešće upotrebljivanih metoda jest vizualni pregled zrna uzorkovanog upotrebom sonde koja uzima uzorke iz različitih dubina spremnika. Uzorkovane količine sjemena podvrgnu se vizualnom pregledu kako bi se ustanovila prisutnost štetnika ili oštećenja izazvanih njihovom infestacijom (Sheetal Banga i sur., 2018). Za jednostavniju provedbu vizualnog pregleda preporuča se uporaba laboratorijskog aspiratora za odvajanje i koncentraciju oštećenog zrna (Sheetal Banga i sur., 2018). Pregled se može provesti i pomoću aspiratora oblika kutije koji ima ogledalo i svjetlo što omogućuje pregled zrna s obje strane bez potrebe za manualnim okretanjem zrna. Znakovi zaraze u obliku su ožiljaka na vanjskoj površini zrna, tamnije boje zrna uslijed razvoja kukaca unutar zrna, pojave paučine, izmeta, grizotina na zrnu i dr.

Osim vizualnim pregledom zaraze se detektiraju bojenjem zrna različitim kemikalijama kako bi se lakše uočila mjesta izgrizanja te ulazni otvori u zrno, flotacijom, radiološkim metodama, spektrofotometrijom i sl. (Neethirajan i sur., 2007). Bojenje zrna kemikalijama provodi se potapanjem uzorka zrna u bojilu i tekućinama koje pomažu apsorpciji boje na oštećene dijelove zrna. Nakon ispiranja zrna obojeni ostaju otkrhnuti dijelovi zrna te ulazni otvori koje su štetnici napravili izgrizanjem (Frankenfeld, 1948). Metoda flotacije temelji se na uporabi tekućina koje tvore odvojene slojeve na temelju različite gustoće. Oštećeno zrno ima manju težinu od zdravoga zbog čega u smjesi pluta u gornjim slojevima, dok ono zdravo potone na dno (Taylor, 2005). Radiološke metode podrazumijevaju uporabu rendgenskih zraka kako bi se dobile rendgenske slike i pomoću njih detektirale oku nevidljive zaraze zrna. Na rendgenskim slikama moguće je odrediti razvojnu fazu kukca unutar zrna (Sheetal Banga i sur., 2018). Spektrofotometrija se temelji na principu prijanjanja bojila na oštećene dijelove zrna. Višak se boje ispere kemikalijama te se pomoću spektrofotometra odredi koliki je dio boje ostao na zrnu, tj. u kojoj je mjeri zrno oštećeno (Chowdhury i Buchele, 1976). Problem je svih navedenih metoda što variraju u djelotvornosti te u tome što je dio preskup za čestu provedbu, a dio traži stručno osposobljeno osoblje ili mnogo utrošenog

vremena rada, što čini metode neisplativima (Neethirajan i sur., 2007). Kako bi zaraza bila na vrijeme ustanovljena, potrebno je definirati najbolju metodu otkrivanja zaraza koja bi, uz ekonomsku prihvatljivost, trebala biti vrlo brza i jednostavna za provedbu.

Cilj je ovoga rada bio na uskladištenom zrnu žitarica provesti neizravne metode otkrivanja skrivenih zaraza uskladištenih poljoprivrednih proizvoda te usporediti istraživane metode kako bi se ustanovile najučinkovitije i najekonomičnije metode.

## MATERIJALI I METODE RADA

### Uzorkovanja zrna

Uzorci uskladištenog zrna potrebni za provedbu istraživanja uzorkovani su sondiranjem u skladišnim objektima pokušališta Šašinovečki Lug. Proizvodi na pokušalištu uskladišteni su u podnom skladištu koje nema mogućnost grijanja i ventilacije. Skladište je otvorenog tipa i time je omogućeno prozračivanje proizvoda. Proizvodi se čuvaju godinu do dvije u vrećama koje su poslagane jedna do druge, mjestimice i po etažama. Težina je vreća 1 t i izrađene su od poliesterskog materijala. Na pokušalištu su uskladištene žitarice: kukuruz, pšenica, jari i ozimi ječam, zob i pir.

Za potrebe ovoga istraživanje uzorkovane susljedeće žitarice: kukuruz (*Zea mays* L.), pšenica (*Triticum aestivum* L.), pir (*Triticum spelta* L.) i jari ječam (*Hordeum vulgare* L.). Uzorci su uzeti sondom iz gornjeg, srednjeg i donjeg sloja uskladištene mase. Provedeno je odvagivanje uzoraka analitičkom vagom za svaku pojedinu metodu ustanovljivanja zaraze uzimajući u obzir sloj iz kojeg je uzorak uzet (gornji, srednji i donji sloj) i količinu potrebnu za pojedinu metodu istraživanja. Sveukupno je za istraživanje odvagano 48 uzoraka zrna žitarica.

### Metode ustanovljivanja zaraza

Istraživanje je provedeno na Zavodu za poljoprivrednu zoologiju Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Istraživanje je provedeno primjenom četiriju različitih metoda neizravnog ustanovljivanja zaraze zrna četiriju različitih vrsta žitarica. Svaka je metoda imala kontrolno ustanovljivanje zaraze koje je provedeno vizualnim pregledom zrna. Opis i provedba svake od metoda ustanovljivanja zaraza opisana je u nastavku.

#### *Vizualni pregled zrna*

Vizualno ustanovljivanje zaraze provedeno je pregledom svakog uzorka te odvajanjem oštećenog zrna. Oštećeni dio odvagan je analitičkom vagom te je određen postotak oštećenog zrna unutar cjelokupnog pojedinačnog uzorka.

#### *Metoda bojenja kiselim fuksinom*

Materijali potrebni za provođenje bojenja kiselim fuksinom jesu: kiselu fuksin, destilirana voda, octena kiselina, cjediljka, staklene posudice, uzorci četiriju

kultura po slojevima (ukupno 12 uzoraka). Pojedinačni uzorci za ovu metodu bojenja bili su težine 15 grama.

Metoda bojenja započinje pripremom otopine kiselog fuksina. Otopina se priprema stavljanjem 50 cm<sup>3</sup> octene kiseline i 0,5 grama kiselog fuksina u destiliranu vodu. Uzorak zrna stavljen je u cjediljku te je 5 minuta potopljen u vodovodnoj vodi temperature 30 °C. Nakon potapanja u vodi cjediljka s uzorkom uronjena je u posudu s otopinom za bojenje u trajanju od 2 do 5 minuta. Uzorak je izvađen iz boje te je višak bojila ispran pod mlazom vodovodne vode. Nakon ispiranja obojeni su ostali samo ulazni otvori nastali ishranom štetnika na zrnu (Frankenfeld, 1948) (Slika 1.). Provedena je vizualna analiza svakog pojedinačnog uzorka obojenog zrna. Oštećena i neoštećena zrna ponovno su izvagana analitičkom vagom kako bi se ustanovio postotak oštećenog zrnja u odnosu na cjelokupni pojedinačni uzorak.



**Slika 1.** Obojen ulazni otvor na zrnu pšenice nastao ishranom skladišnih štetnika (foto: Galešić, M. A.)

**Photo 1** Colored inlet on wheat grain formed by feeding pests (photo: Galešić, M.A.)

#### *Metoda bojenja kalijevim permanganatom*

Materijali potrebni za provođenje bojenja kalijevim permanganatom jesu: kalijev permanganat, destilirana voda, cjediljka, menzura, staklene posudice, sumporna kiselina, vodikov peroksid te uzorci četiriju kultura po slojevima (ukupno 12 uzoraka). Pojedinačni uzorci za ovu metodu bojenja bili su težine 15 grama.

Bojenje otopinom kalijevog permanganata traži pripremu dviju otopina. Prva se otopina koristi za bojenje zrna, a druga za ispiranje viška bojila sa zrna. Prva se otopina priprema otapanjem 5 grama kalijevog permanganata u 2 litre destilirane vode. Druga se otopina priprema dodavanjem 5,7 cm<sup>3</sup> sumporne kiseline i 1 cm<sup>3</sup> otopine vodikovog peroksida u posudu s destiliranom vodom. Bojenje započinje stavljanjem cjediljke s uzorkom zrna 1 minutu u toplu vodovodnu vodu. Nakon toga pojedinačni se uzorak potopa u otopinu kalijevog permanganata 20 do 30 sekunda. Obojeno se zrno zatim prenosi u posudu s otopinom sumporne kiseline i vodikovog peroksida kako bi se višak boje isprao.

Zrno se izvadi i procijedi (Kukovineti i sur., 2008). Obojeni ostaju samo ulazni otvori na zrnu nastali ishranom štetnika (Slika 2.). Provedena je vizualna analiza svakog pojedinačnog uzorka obojenog zrna. Oštećena i neoštećena zrna ponovno su izvagana analitičkom vagom kako bi se ustanovio postotak oštećenog zrnja u odnosu na cjelokupni pojedinačni uzorak.



**Slika 2.** Obojeni ulazni otvori na piru nastali ishranom štetnika (foto: Galešić, M. A.)  
**Figure 2** Colored inlets on the speltz formed by pest feeding (photo: Galešić, M.A.)

### *Metoda flotacije*

Kod metode flotacije upotrebljavaju se mješavine dviju tekućina različite specifične težine. Materijali potrebni za provođenje metode flotacije jesu: natrijev silikat, destilirana voda, trikloretan kerosenon - nema više dozvolu za primjenu (nije upotrijebljen), posuda volumena 1 litra, staklene čaše te uzorci četiriju kultura po slojevima (ukupno 12 uzoraka). Težina pojedinačnih uzoraka za ovu metodu bila je 100 grama.

Otopini natrijevog silikata dodana je voda dok nije postignuta gustoća od  $1,190 \text{ kg/m}^3$ . Kako se trikloretan kerosenon više ne upotrebljava u RH zbog negativnih djelovanja na čovjeka, ta se otopina nije upotrebljavala u istraživanju. Trikloretan kerosenon upotrebljavao se kako bi se pouzdanije razdvojili slojevi silikata i vode. Međutim u ovom su se istraživanju slojevi razdvojili temeljem gustoće te izuzetak trikloretan kerosenona nije utjecao na provedbu pokusa. U posudu od 1 litre ulivena je otopina natrijevog silikata i obične vode. Tekućine se nisu miješale već su ostale jedna iznad druge zbog razlike u specifičnim težinama. U posudu je uronjen pojedinačni uzorak od 100 grama zrna. Najmanju masu imala su ona zrna koja su napadnuta i u kojima se već nalazi odrasli kukac, kukuljica ili odrasla ličinka te su ta zrna isplivala na površinu vode. Zrna s manjim ličinkama plivala su na granici obiju tekućina, a ona zdrava s najvećom masom potonula su na dno posude (Slika 3.). Oštećena i neoštećena zrna ponovno su izvagana analitičkom vagom kako bi se ustanovio postotak oštećenog zrnja u odnosu na cjelokupni pojedinačni uzorak.



**Slika 3.** Metoda flotacije na primjeru zrna kukuruza (foto: Galešić, M. A.)

**Figure 3** Flotation method on corn grain example (photo: Galešić, M.A.)

#### *Kolorimetrijska metoda ustanovljivanja oštećenja zrna*

Materijali potrebni za provođenje kolorimetrijske metode jesu: 0,1 % - tna otopina FCF bojila, destilirana voda, cjediljka, staklene čaše, spektrofotometar, natrijev hidroksid, stakleni štapići za miješanje te uzorci četiriju kultura po slojevima (ukupno 12 uzoraka). Pojedinačni uzorci za ovu metodu bili su težine 50 grama.

Kolorimetrijska metoda funkcionira na principu određivanja apsorbancije otopine. Apsorbancija je veličina koja iskazuje udjel apsorbiranog elektromagnetnog zračenja u otopini, a ovisi o količini tvari (u ovom slučaju bojila) u otopini (Struna, 2019). Što je zrno više oštećeno, više se bojila za njega prima. Fast Green FCF je organska natrijeva sol zelene boje. Upotrebljava se kao kontrastno sredstvo za bojenje stanica i staničnog sadržaja pri mikroskopiranju, kao bojilo za hranu, za bojenje tkiva i drugih uzoraka organskog podrijetla (ChEBI, 2015).

Uzorak zrna potopljen je u otopinu bojila u trajanju od 10 minuta te je potom ispiran pod mlazom vodovodne vode 30 sekunda. Nakon ispiranja uzorak je potopljen u 300 mililitara 0,01 N natrijevog hidroksida (Slika 4.) i miješan 1 minutu. Ostavljen je u posudu da se smiri te je potom provedena spektrofotometrija i očitana apsorbancija tekućine u posudi u kojoj je zrno bilo potopljeno. Potapanje uzorka u natrijevom hidroksidu dovelo je do ispiranja viška bojila. Apsorbancija ispranog bojila sa zrna daje podatke o oštećenju uzorka. Udjel ispranog bojila veći je što je više bojila zrno primilo na sebe. Više ispranog bojila u natrijevom hidroksidu pokazuje veće vrijednosti apsorbancije (Chowdhury i Buchele, 1976). Pri provedbi ove metode upotrebljavan je spektrofotometar Zavoda za kemiju Agronomskog fakulteta. Postavka valne



duljine spektrofotometra iznosila je 610 nanometara, a referentna otopina bila je destilirana voda apsorbancije nula.



**Slika 4.** Potapanje obojenog zrna ječma u otopinu natrijevog hidroksida (foto: Galešić, M. A.)

**Figure 4** Immersion of colored barley grain in sodium hydroxide solution (photo: Galešić, M.A.)

Dobiveni rezultati svake pojedinačne metode neizravnog ustanovljivanja šteta na uskladištenom zrnju uspoređeni su s vizualnim očitavanjem istog uzorka. Provedena je financijska analiza i analiza vremena potrebnog za provedbu svih metoda. Izračunata je korelacija između postotka oštećenja i apsorbancije u kolorimetrijskoj metodi. Rangirane su metode prema učinkovitosti i ekonomskom aspektu (cijeni po uzorku).

## REZULTATI

### Ustanovljivanje šteta na zrnju bojenjem kiselim fuksinom

Rezultati metode bojenja kiselim fuksinom i rezultati vizualnog pregleda istih uzoraka prikazani su u tablici 1. Vidi se da su najviše zaraženi bili gornji slojevi uzoraka, dok je u donjim slojevima uzoraka vrlo mala zaraza ustanovljena s obje metode. Odstupanje je zabilježeno jedino kod uzoraka kukuruza gdje je situacija s oštećenjima suprotna (donji sloj je najoštećeniji). Rezultati pokazuju da je metoda bojenja zrna fuksinom višestruko bolja za otkrivanje zaraza uskladištenog zrna. Razlike u očitavanjima oštećenja kretale su se od 0,6 do 24,5 % po uzorku. Iz rezultata se vidi da su najveća odstupanja između dviju metoda bila kod zrna ječma.

**Tablica 1.** Oštećenja zrna ustanovljena vizualnim pregledom i metodom bojenja kiselim fuksinom

**Table 1** Grain damage determined by visual inspection and acid fuchsin staining method

Kultura	Varijanta (sloj)	Oštećenje utvrđeno vizualnim pregledom (%)	Oštećenje utvrđeno metodom bojanja kiselim fuksinom (%)	Razlika između dvije metode očitavanja (%)
Jari ječam	Gornji	15,3	39,8	+24,5
	Srednji	12	27,7	+15,7
	Donji	1,3	5,4	+4,1
Kukuruz	Gornji	0	5,1	+5,1
	Srednji	0	3,5	+3,5
	Donji	0	12,1	+12,1
Pir	Gornji	36,6	30,7	-5,9
	Srednji	13,3	16,6	+3,3
	Donji	6,6	11,1	+4,5
Pšenica	Gornji	0	1,7	+1,7
	Srednji	0	2	+2
	Donji	0	0,6	+0,6

#### Ustanovljivanje šteta na zrnju bojenjem kalijevim permanganatom

Rezultati bojenja kalijevim permanganatom i rezultati vizualnog pregleda uzoraka zrna prikazani su u tablici 2. Vidi se da su najviše zaraženi bili srednji slojevi uzoraka ječma i pira, dok je u donjim slojevima uzoraka vrlo mala zaraza ustanovljena s obje metode. Kukuruz i pšenica imali su vrlo mala oštećenja ustanovljena s obje metode. Iz tablice se vidi da su najveća odstupanja između rezultata dviju metoda bila u uzorcima ječma gdje je bojenjem ustanovljeno 16,1 % oštećenja zrna i 15,1 % više oštećenja na uzorcima pira od rezultata ustanovljenih vizualnom metodom.

**Tablica 2.** Oštećenja zrna ustanovljena vizualnim pregledom i metodom bojenja kalijevim permanganatom

**Table 2** Grain damage determined by visual inspection and potassium permanganate staining method

Kultura	Varijanta (sloj)	Oštećenje utvrđeno vizualnim pregledom (%)	Oštećenje utvrđeno metodom bojanja kalijevim permanganatom (%)	Razlika između dvije metode očitavanja (%)
Jari ječam	Gornji	14,6	30,7	+16,1
	Srednji	11,3	29,7	+18,4
	Donji	2	5,5	+3,5
Kukuruz	Gornji	2	0	-2
	Srednji	0	0	0
	Donji	0	0	0

Pir	Gornji	13,3	23,2	+9,9
	Srednji	10	25,1	+15,1
	Donji	4	6,3	+2,3
Pšenica	Gornji	0	1,1	+1,1
	Srednji	0	0,5	+0,5
	Donji	0	1,1	+1,1

### Ustanovljivanje šteta na znu metodom flotacije

Rezultati ustanovljivanja oštećenja zrna metodom flotacijom i rezultati vizualnog pregleda prikazani su u tablici 3. Vidi se da su najviše zaraženi bili gornji i srednji slojevi svih uzoraka. U ovom dijelu istraživanja ustanovljena je najveća razlika između dviju metoda. Rezultati ustanovljenih oštećenja bili su veći kod metode flotacije za 2,4 % do 92,3 % u odnosu na vizualne preglede zrna. Gotovo 100 %-tna oštećenja ustanovljena su metodom flotacije na uzorcima pira, dok su vizualnim pregledima ustanovljena vrlo mala oštećenja (maks. 8,5 %).

**Tablica 3.** Oštećenja zrna ustanovljena vizualnim pregledom i metodom flotacije

**Table 3** Grain damage determined by visual inspection and flotation method

Kultura	Varijanta (sloj)	Oštećenje utvrđeno vizualnim pregledom (%)	Oštećenje utvrđeno metodom flotacije (%)	Razlika između dvije metode očitavanja (%)
Jari ječam	Gornji	11,9	87,6	+75,7
	Srednji	4,4	70,5	+66,1
	Donji	2,3	38	+35,7
Kukuruz	Gornji	0,3	17,7	+17,4
	Srednji	0,4	23,8	+23,4
	Donji	0	18,7	+18,7
Pir	Gornji	8,5	100	+91,5
	Srednji	5	97,3	+92,3
	Donji	2,3	88,9	+86,6
Pšenica	Gornji	0,3	5,4	+5,1
	Srednji	0,1	13,5	+13,4
	Donji	0	2,4	+2,4

### Rezultati kolorimetrijske metode ustanovljivanja oštećenja

Rezultati kolorimetrijske metode ustanovljivanja oštećenja zrna prikazani su u tablici 4. Vizualnim pregledima i kolorimetrijskom metodom najveća su oštećenja ustanovljena u gornjim i srednjim slojevima svih vrsta zrna u istraživanju. Apsorbancija je veličina koja iskazuje udjel apsorbiranog elektromagnetnog zračenja u otopini, a ovisi o količini tvari (u ovom slučaju bojila) u otopini. Što je zrno više oštećeno, više se bojila za njega prima.

Sukladno vizualnim pregledima gdje je oštećenje na gornjem sloju ječma najveće i apsorbancija je upravo u tom uzorku bila najveća. Koeficijent korelacije između oštećenja ustanovljenih vizualnim pregledima i kolorimetrijskom metodom iznosi 0,95 te označava visoku pozitivnu korelaciju između navedenih mjerenja.

**Tablica 4.** Oštećenja zrna ustanovljena vizualnim pregledom i kolorimetrijskom metodom

**Table 4** Grain damage determined by visual inspection and colorimetric method

Kultura	Varijanta (sloj)	Oštećenje utvrđeno vizualnim pregledom (%)	Apsorbancija utvrđena na spektrofotometru
Jari ječam	Gornji	11,9	1,311
	Srednji	4,4	0,301
	Donji	2,3	0,148
Kukuruz	Gornji	0,3	0,049
	Srednji	0,4	0,041
	Donji	0	0,045
Pir	Gornji	8,5	0,562
	Srednji	5	0,354
	Donji	2,3	0,240
Pšenica	Gornji	0,35	0,068
	Srednji	0,1	0,073
	Donji	0	0,069

#### Ekonomska analiza provedenih metoda ustanovljivanja šteta

Ekonomska analiza najbolje metode ustanovljivanja šteta prikazana je u tablici 5.

**Tablica 5.** Analiza najbolje metode ustanovljivanja šteta (cijena i vrijeme određeni su za pojedinačni uzorak)

**Table 5** Analysis of the most optimal method of determining grain damages (price and implementation time are determined for each sample)

Metoda	Cijena materijala (kn)	Vrijeme provedbe (min/osobna procjena)	Rang optimalne metode (cijena/vrijeme)
Vizualni pregled	0	15	2.
Fuksin	23,34	20	5.
Kalijev permanganat	1,81	20	1.
Flotacija	3,32	15	3.
Kolorimetrija	3,56	20	4.

Analizom financijskog aspekta i vremenskog trajanja analiza ustanovljeno je da je najekonomičnija i vremenski prihvatljiva metoda bojenja kalijevim permanganatom za koju cijena materijala po uzorku iznosi 1,81 kunu, a traje 20 minuta. Najskuplji materijali po pojedinačnom uzorku zrna potrebni su za bojenje kiselim fuksinom i cijena je 23,34 kune po uzorku. Za kolorimetrijsku metodu cijena materijala po uzorku iznosi 3,56 kuna, a za provedbu je potrebna specijalizirana oprema u obliku spektrofotometra zbog čega je za njenu provedbu potreban specijalizirani laboratorij. Za vizualni pregled oštećenog zrna nisu potrebni specijalni materijali te je zbog toga cijena materijala 0 kuna po uzorku, ali dobiveni rezultati nisu vjerodostojni jer se vizualnim pregledom mogu ustanoviti isključivo vanjska oštećenja zrna, ne i unutrašnja. Cijena materijala za provedbu metode flotacije iznosi 3,32 kune po uzorku, a vrijeme trajanja je 15 minuta. Prema financijsko-vremenskom aspektu provedenih metoda, metoda flotacije ocijenjena je srednjom ocjenom, ali s obzirom na način provedbe i dobivene rezultate u ovom radu smatrana je najučinkovitijom.

## RASPRAVA

Zaraza uskladištenih proizvoda štetnim kukcima konstantna je prijetnja očuvanju kvalitete i kvantitete zrna. U većini slučajeva ustanovljivanje zaraze teško je provedivo zbog sitne građe kukaca i zbog njihovog penetriranja u zrno te razvijanja unutar njega što ih čini oku nevidljivima bez detaljnije analize. Zaraza se najčešće potvrdi kada je šteta već učinjena i broj jedinka se povećao, pa je stoga i šteta veća. Procjenjuje se da štete uzrokovane skladišnim štetnicima mogu zahvatiti 5 – 10 % uskladištenih proizvoda u umjerenoj klimi, a čak 20 – 30 % u tropskoj klimi (Rozman, 2010). Iz navedenih razloga proizlazi da je nužno pravovremeno i kontinuirano provoditi metode ustanovljivanja zaraženosti uskladištenog zrna kako bi se zaraze na vrijeme primijetile i gubitci na vrijeme spriječili.

Istraživanje je provedeno s glavnim ciljem da se usporedi učinkovitost neizravnih metoda otkrivanja skrivenih zaraza uskladištenih poljoprivrednih proizvoda s učinkovitošću vizualne metodom te u konačnici ustanoviti najučinkovitiju i najekonomičniju metodu otkrivanja šteta uskladištenog zrna.

Najveće oštećenje ustanovljeno je na uzorcima ječma, i to u gornjem uzorkovanom sloju. Vizualnim pregledima uzoraka ustanovljena su oštećenja na 10,2 do 15,3 % zrna ječma. Najmanje oštećenje vizualnim pregledima otkriveno je na kukuruзу i pšenici čiji su uzorci imali 1 - 2 % oštećenja u svim uzorcima i svim varijantama. Za provedbu vizualne metode upotrebljavano je vrlo malo laboratorijskog posuđa te nije bila potrebna kupnja dodatnih laboratorijskih materijala, stoga je ova metoda gotovo besplatna. Istovremeno je vizualno očitavanje vrlo temeljit i dugotrajan posao koji traži velik angažman

osobe koja pregledava. U ovom istraživanju detaljan pregled jednog uzorka trajao je 15 minuta.

Metoda bojenja kiselim fuksinom pokazala je oštećenja od 0,6 % (pšenica) do 39,8 % (ječam) zrna. U svim uzorcima (osim gornjeg uzorka pira) metodom bojenja fuksinom ustanovljena su veća oštećenja nego vizualnim pregledom. Razlog tome jest nemogućnost uočavanja vrlo malih oštećenja nastalih aktivnošću kukaca i karakteristika ženke žižaka da zatvori ulazne otvore u zrno pri odlaganju jaja (Frankenfeld, 1948; Neethirajan i sur., 2007). Ulazni otvori na zrnu nastali od strane štetnika mogu biti začepljeni želatinoznom masom koju štetnici izlučuju kako bi zaštitili jajašca umetnuta u zrno. Želatinozna masa otežava vizualnu detekciju oštećenja. Kiseli fuksin ima afinitet prema sastojcima želatinozne mase kojom su otvori na zrnu začepljeni zbog čega se nakon bojenja začepljeni otvori lakše uočavaju (Frankenfeld, 1948). Bojenjem fuksinom oboje se ti otvori, pa je i rezultat puno precizniji od vizualnog pregleda. Bojenje fuksinom vrlo je poznata i raširena metoda otkrivanja skrivenih zaraza, stoga se osobito upotrebljava za ustanovljivanje postotka šteta uzrokovanih žitnim moljcima (*Sitotroga cerealella* Olivier) (Saikia i sur., 2014) te žitnim žiščima (*Sitophilus granarius* L.) (Frankenfeld, 1948). Za provedbu bojenja zrna fuksinom bilo je potrebno stakleno laboratorijsko posuđe te kemikalije u vrijednosti 23,34 kn po uzorku. Vrijeme po uzorku potrebno za provedbu analize u ovom istraživanju bilo je 20 minuta. Konačno, možemo zaključiti da je bojenje fuksinom vrlo skupa i dosta dugotrajna metoda, ali vrlo učinkovita.

Metodom bojenja kalijevim permanganatom ustanovljena su oštećenja od 0,5 % (pšenica) do 30,7 % (ječam). Razlog je, kao i kod bojenja fuksinom, detekcija skrivenih zaraza nevidljivih golom oku (Frankenfeld, 1948). Kukovinets i sur. (2008.) preporučuju metodu bojenja kalijevim permanganatom kako bi obojili želatinozne mase kojima žišci začepljuju ulazne otvore u zrnu nakon polaganja jajašaca. Ovim je istraživanjem uočeno kako se bojenjem kalijevim permanganatom ne oboji samo želatinozna masa, već i sva oštećenja koja štetnici naprave na zrnu (ishrana, ulazak i izlazak iz zrna i dr.). U svim uzorcima metodom bojenja kalijevim permanganatom ustanovljen je viši postotak oštećenja nego vizualnim pregledom, osim kod kukuruza. Međutim te su razlike bile manje nego kod bojenja fuksinom. Osim manje učinkovitosti od metode bojenja fuksinom, bojenje kalijevim permanganatom traži primjenu opasnijih kemikalija (sumporna kiselina) za što je potrebna i veća stručnost osobe koja provodi bojenje i više laboratorijskog materijala. Cijena materijala za jedan uzorak bila je 1,81 kuna, a vrijeme potrebno za analizu jednog uzorka jest 20 minuta. Sve navedeno metodu bojenja kalijevim permanganatom svrstava među optimalne metode kad je riječ o cijeni i utrošenom vremenu, ali s nešto manje učinkovitosti. Također treba napomenuti da je metoda zahtjevnija kad je riječ o provedbi pokusa zbog karakteristika kemikalija, što za srednje opremljene laboratorije ne bi trebalo predstavljati problem.

Kolorimetrijska metoda također podrazumijeva bojenje zrna s ciljem otkrivanja oštećenja zrna, a funkcionira na principu određivanja apsorbancije otopine. Vrijednosti apsorbancija veće su što je zrno više oštećeno jer se više bojila za njega prima. Ova metoda podrazumijeva primjenu uređaja spektrofotometra kako bi se mogla očitati količina ispranog bojila koje je prvotno obojilo oštećeno zrno. Kolorimetrijska metoda pokazala je isti trend kao i vizualni pregledi, odnosno uzorci za koje je vizualno ustanovljeno da imaju veća oštećenja, rezultirali su većom apsorbancijom. Vrlo je vrijedan podatak da su postotci oštećenja u vrlo visokoj korelaciji s apsorbancijom (0,95) te bi se detaljnijim istraživanjima mogao definirati postotak oštećenja koji odgovara točno određenoj apsorbanciji za svaku vrstu uskladištenog zrna. Kolorimetrijska metoda određivanja oštećenja zrna može se primjenjivati kao metoda za određivanje mehaničkog oštećenja uzrokovanog pri agrotehničkim zahvatima sa zrnom prije njegova skladištenja (Chowdhury i Buchele, 1976), a ne samo kao metoda određivanja štete nastale od strane skladišnih štetnika. Ova metoda traži veliku laboratorijsku opremljenost (spektrofotometar, pribor), međutim cijena utrošenih kemikalija vrlo je niska i iznosi 3,56 kuna po uzorku. Vrijeme potrebno za provedbu ove metode jest 20 minuta. Ako se otkrivanje šteta provodi u dobro opremljenom laboratoriju, ova metoda ima parametre po kojima se može preporučiti za detekciju šteta nastalih ishranom kukaca i za otkrivanje abiotskih uzročnika oštećenja (agrotehničkih zahvata).

Osim metoda koje podrazumijevaju bojenja istraživanje je uključilo i metodu flotacije koja se temelji na uporabi tekućina koje tvore odvojene slojeve na temelju različite gustoće. Oštećeno zrno ima manju težinu od zdravog zbog čega u smjesi pluta u gornjim slojevima, dok ono zdravo potone na dno (Taylor, 2005). Metodom flotacije dobiveni su rezultati koji su najviše odstupali od rezultata dobivenih vizualnim pregledom. Oštećenja ustanovljena vizualnim pregledom kretala su se od 0,1 do 11,9 %, dok je metodom flotacije ustanovljeno oštećenje od 2,4 do 100 % uzorka. Metodu flotacije Dogan i sur. (2015.) predlažu kao metodu za odvajanje primjesa iz zrna žitarica. Xingwei i sur. (1999.) metodu flotacije upotrijebili su na zrnu pšenice, riže i leguminoza kako bi zrno koje pluta zbog manje mase podvrgnuli desikaciji i analizirali prisutnost štetnika unutar pojedinog zrna. Kako u ovom istraživanju nije analizirano zrno koje je plutalo, ne možemo zaključiti je li do ovakvih rezultata došlo zbog niske kvalitete zrna (posebno pira) koja se očitovala vrlo malom težinom ili zbog izgrizene unutrašnjosti. Financijski gledano metoda flotacije iznosi 3,32 kune po uzorku, a vrijeme potrebno za analizu jednog uzorka jest 15 minuta. Sve to svakako preporučuje metodu flotacije za početnu analizu kvalitete zrna te kao prvi pokazatelj mogućih unutrašnjih oštećenja. Svakako bi ju trebalo kombinirati s nekom od navedenih metoda.

Usporedbe svih provedenih metoda s izuzetno detaljnim vizualnim pregledima idu u korist činjenici da se vizualnim pregledom ne može odrediti

cjelokupno oštećenje (Beck i Cotton, 1922), nego se zrno mora podvrgnuti daljnjim pregledima.

## ZAKLJUČCI

Temeljem rezultata dobivenih provedbom usporedbe metoda otkrivanja zaraze na uskladištenom zrnu žitarica doneseni su sljedeći zaključci:

1. Primjenom svih pet metoda, najveće oštećenje zrna u ovom istraživanju ustanovljeno je u uzorcima pira (*Triticum spelta* L.) i jarog ječma (*Hordeum vulgare* L.).
2. Vizualni pregled uskladištenog zrna nije dostatna metoda za otkrivanje zaraze skladišnim štetnicima te treba biti nadopunjena drugim metodama.
3. Najbrža i najekonomičnija metoda određivanja oštećenja na uskladištenom zrnu žitarica, od pet provedenih u ovom istraživanju, jest metoda flotacije. Međutim potrebno je provesti analizu zrna kako bi se odredila priroda oštećenja ili ju nadopuniti nekom od metoda bojenja.
4. Od pet provedenih metoda u ovom istraživanju ekonomski je najisplativija metoda otkrivanja oštećenja na uskladištenom zrnu metoda bojenja kalijevim permanganatom.

## LITERATURA

BACK, E. A., COTTON, R. T. (1922). Stored-grain pests. United States Department of agriculture.

ChEBI (2015). Fast green FCF, <https://www.ebi.ac.uk/chebi/searchId.do?chebiId=CHEBI:82468> (pristupljeno: 3.6.2019.)

CHOWDHURY, M. H., BUCHELE, W. F. (1976). Colorimetric Determination of Grain Damage. Iowa State University.

ĆOSIĆ, J., IVEZIĆ, M., ŠTEFANOVIĆ, E., ŠAMOTA, D., KALINOVIĆ, I., ROZMAN, V., LIŠKA, A., RANOGAJEC, LJ. (2008). Najznačajniji štetnici, bolesti i korovi u ratarskoj proizvodnji. Poljoprivredni fakultet u Osijeku. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.

DOGAN, H., SUBRAMANYAM B., PEDERSEN J. R. (2015). Analysis for Extraneous Matter. Department of Grain Science. Kansas State University, USA.

FARANKENFELD, J.C. (1948). Staining methods for detecting weevil infestation in grain. Bureau of Entomology and Plant Quarantine. United States Department of Agriculture, <http://ufdc.ufl.edu/AA00023165/00001> (pristupljeno: 3.6.2019.)

GUSTAVSSON, J., CEDERBER, C., SONESSON, U. (2011). Global food losses and food waist. Swedish Institute for Food and Biotechnology. Food and agriculture organization of the United Nations, <http://www.fao.org/3/a-i2697e.pdf> (pristupljeno: 31.5.2019.)

HAREIN, P., MERONUCK, R. (1991). Stored Grain Losses Due to Insects and Molds and the Importance of Proper Grain Management. University of Minnesota, <http://ctechcorporation.com/pdf/grainlos.pdf> (pristupljeno: 3.6.2019.)



KALINOVIĆ, I., KORUNIĆ, Z. (2005). Insekti – gospodarski štetnici uskladištenih poljoprivrednih proizvoda i hrane. DDD radionica – Štetnici hrane, uskladištenih poljoprivrednih proizvoda i predmeta opće uporabe te muzejski štetnici. Zbornik predavanja.

KUKOVINETS, O. S., ABDULLIN, M. I., ZAINULLIN, R. A., KUNAKOVA, R. V. (2008). Chemical and Physical Methods for Protecting Biopolymers against Pests. Nova Scienc Publishers, Inc. 210.

MACELJSKI, M., IVEZIĆ, M., IGRC BARČIĆ, J., MAČEK, J. (1999) Poljoprivredna entomologija. Čakovec: Zrinski d.d.

NEETHIRAJAN, S., KARUNAKARAN, C., JAYAS, D. S., WHITE, N. D. G. (2007). Detection techniques for stored-product insects in grain. Food Control, 18: 157-162.

RITZ, J. (1997). Uskladištavanje ratarskih proizvoda, Knjiga I. Znanstveno stručna biblioteka, Zagreb.

ROZMAN, V. (2010). Prepoznavanje insekata u skladištima prema nastalim štetama. Poljoprivredni fakultet u Osijeku. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.

ROZMAN, V., LIŠKA, A. (2019). Skladištenje ratarskih proizvoda; priručnik za vježbe. Poljoprivredni fakultet u Osijeku. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.

SAIKIA, J., GOSWAMI, M. M., BHATTACHARYYA, B. (2014). Biology and detection technique of angoumois grain moth, *Sitotroga cerealella* Olivier (Lepidoptera: Gelechiidae) on stored rice and maize grains. Journal of Entomology and Zoology Studies, 2(6): 9-11.

SALLAM, M. N. (1999). Insect damage: Damage on Post-harvest. International Centre for Insect Physiology and Ecology (ICIPE). Food and Agriculture Organization of the United Nations.

SHEETAL BANGA, K., KOTWALIWALE, N., MOHAPATRA, D., GIRI, S. K. (2018). Techniques for insect detection in stored food grains: An overview. Food Control, 94: 167-176.

SHIFERAW, T. (2018). Occurrence of Stored Grain Insect Pests in Traditional Underground Pit Grain Storages of Eastern Ethiopia. Agricultural Research and Technology 13(2). doi: 10.19080/ARTOAJ.2018.13.555879

STRUNA (2019). Apsorbancija. Hrvatsko strukovno nazivlje, <http://struna.ihjj.hr/naziv/apsorbancija/10491/> (pristupljeno: 3.6.2019.)

TAYLOR. S. L. (2005). Advances in food and nutrition research, Elsevier Academic Press, San Diego, California, USA, 49: 177-179.

XINGWEI, H., XIANCHANG, T., JUANCHUN, W. (1999). The comparison of five determination methods for hidden insect infestation. Proceedings of the 7th International Working Conference on Stored-product Protection, <http://spiru.cgahr.ksu.edu/proj/iwcspp/pdf2/7/1537.pdf> (pristupljeno: 4.6.2019.)

YADAV, J. L., SAINI, R. K., DEVI, M. (2018). Stored Grain Pests Incidence in Wheat with Particular Reference to Khapra Beetle, *Trogoderma granarium*. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 7(3).