
JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE, BIOLOGY AND BIOECONOMY

wcześniej – formerly

Annales UMCS sectio EE Zootechnica

VOL. XXXVII(1)

2019

CC BY–NC–ND

DOI: 10.24326/jasbb.2019.1.3

¹Katedra Higieny Zwierząt i Zagrożeń Środowiska, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie,
ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin

²Katedra Biochemii i Toksykologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie,
ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin

³Katedra Ochrony Środowiska, Prawa Weterynaryjnego i Gospodarki, Uniwersytet Medycyny
Weterynaryjnej i Farmacji w Koszycach, Komenského 73, 041 81 Koszyce, Republika Słowacka
e-mail: bozena.nowakowicz@up.lublin.pl

ŁUKASZ WLAZŁO¹, BOŻENA NOWAKOWICZ-DĘBEK¹, ANNA CZECH²,
MATEUSZ OSSOWSKI¹, HANNA BIS-WENCEL¹, NAĎA SASÁKOVÁ³

Analiza jakości mikrobiologicznej podłoża popieczarkowego

Analysis of the microbiological quality of the substrate
after mushroom production

Streszczenie. Zagospodarowanie w rolnictwie podłoża powstającego po produkcji pieczarek wymaga ciągłych badań składu chemicznego i stanu sanitarnego. W celu eliminacji z podłoża popieczarkowego niekorzystnej mikroflory poddaje się je niekiedy obróbce termicznej. Celem badań było przeanalizowanie efektywności zabiegów termicznych, którym poddano podłoże popieczarkowe pod kątem mikrobiologicznym. Materiał badawczy stanowiły dwa podłoża: przed dezynfekcją termiczną oraz po niej. Analizą objęto następujące parametry: ogólną liczbę bakterii, ogólną liczbę grzybów, bakterie z grupy coli, beztlenowce z rodzaju *Clostridium*. Przeprowadzone wstępne badania wskazują, iż stosowanie termicznej dezynfekcji na zakończenie cyklu produkcji pieczarek jest zabiegiem bardzo bezpiecznym i powinno być standardem w procesie ich produkcji.

Słowa kluczowe: podłoże popieczarkowe, zagospodarowanie, stan sanitarny

WSTĘP

Uprawa pieczarek w ostatnich latach rozwija się bardzo intensywnie, a od kilku lat rozwój tej branży napędza wysoki popyt zagraniczny. Polska, obok Stanów Zjednoczonych, Chin i Holandii, jest wiodącym producentem pieczarek na świecie. Każdego roku w naszym kraju zbiera się ponad 250 tys. t tych grzybów. Tak duża uprawa pociąga za sobą potrzebę produkcji odpowiedniego podłoża wzrostowego. W skład takiego podłoża

wchodzą dobrej jakości słoma żytnia, pszenna lub z pszenżyta, a także nawóz koński czy pomiot drobiowy. Po ok. 6 tygodniach cyklu uprawowego do środowiska rocznie trafia ok. 1000–1300 tys. t zużytego podłoża. Ilość ta wymusza poszukiwanie sposobów jego zagospodarowania [Olewnicki i Jabłońska 2012, Becher 2013]. Podłoże po uprawie pieczarek jest klasyfikowane jako odpad i zamieszczone w wykazie pod kodem 020199 – Odpady z rolnictwa, ogrodnictwa, upraw hydroponicznych, rybołówstwa, leśnictwa, łowiectwa oraz przetwórstwa żywności. Z tego względu zagospodarowanie takiego podłoża jest utrudnione. Jednak zgodnie z art. 2 (ust. 1 lit. F) Dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady 2008/98/WE z dnia 19 listopada 2008 r. w sprawie odpadów oraz uchylającej niektóre dyrektywy [UE 2008, UE 2018] wyłącza się spod jej stosowania m.in. odchody i słomę niebędące niebezpiecznymi substancjami pochodzącymi z produkcji rolniczej lub leśnej. Mogą one być następnie wykorzystywane w rolnictwie, leśnictwie lub do produkcji energii z takiej biomasy za pomocą procesów lub metod, które nie są szkodliwe dla środowiska ani nie stanowią zagrożenia dla zdrowia ludzkiego. W przypadku gdy nie ma pewności, czy można odnieść się do powyższego przepisu, należy uwzględnić zapisy Ustawy o odpadach i innych powiązanych aktów prawnych [Dz.U. 2019 poz. 701]. Taki zapis daje możliwość zagospodarowania podłoża popieczarkowego w rolnictwie i ogrodnictwie, a nawet rekultywacji gruntów, co jest ważne zwłaszcza przy obecnym deficycie naturalnych nawozów. Przy wykorzystaniu tego podłoża należy dodatkowo uwzględnić zapisy Dyrektywy Azotanowej i Dobrych Praktyk Rolniczych [UE 1991, Kodeks Dobrej Praktyki Rolniczej 2004, Becher 2013]. Masa podłoża popieczarkowego zastosowanego jako nawozu na gruntach uprawnych zgodnie z zaleceniem nie powinna przekraczać 170 kg N/ha. Podłoże po uprawie pieczarek jest bogate w makro- i mikroskładniki, jednak jego rolnicze zagospodarowanie budzi wiele wątpliwości, ze względu na zawartość szkodników oraz drobnoustrojów, które mogą ograniczać jego zastosowanie w uprawach [Ranganathan i Selvaseelan 1997]. Dlatego celem podjętych badań była sanitarna ocena stanu mikrobiologicznego podłoża popieczarkowego.

MATERIAŁ I METODY

Badania oceniające stan sanitarny podłoża popieczarkowego przeprowadzono na próbkach materiału pozyskanego od producenta pieczarek w powiecie łosickim. Materiał badawczy stanowiło podłoże przed dezynfekcją termiczną oraz po tym zabiegu. Badaniom poddano po 6 losowo wybranych próbek. Próbki natychmiast po pobraniu dostarczono do laboratorium, gdzie z pobranego materiału przygotowano roztwory robocze oraz rozcieńczenia kolejne tych roztworów. Materiał z kolejnych rozcieńczeń posiano w powtórzeniach metodą posiewu powierzchniowego lub wgłębnego zgodnie z normami [PN-ISO 4831:2007, PN-EN ISO 7937:2005, PN-EN ISO 4833-1:2013, PN-ISO 21527-1:2009, PN-EN ISO 6579-1:2017-04]. Do badań wykorzystano podłoże agarowe, Sabourauda z chloramfenikolem, Endo Les, agar SS oraz TSC, a następnie inkubowano zgodnie z metodyką. Analizą objęto następujące parametry: ogólną liczbę bakterii, ogólną liczbę grzybów, bakterie z grupy coli, beztlenowce z rodzaju *Clostridium*. Po inkubacji zliczono wyrosłe kolonie i przeliczono na jtk/g podłoża. Wyniki zamieszczono w tabelach.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Zużyte podłoże pieczarkowe uznane za dobry materiał nawozowy i cenne źródło substancji organicznej o wysokiej zawartości makro- i mikroskładników może być jednak źródłem szkodników z rodziny grzybiarkowatych, grzybów chorobotwórczych oraz nasion chwastów. Wymienione składniki mogą być źródłami infekcji, zarówno dla człowieka, jak i zwierząt. Dlatego zagospodarowanie w rolnictwie tego materiału wymaga ciągłych badań składu chemicznego i stanu sanitarnego [Sochtig i Grabbe 1995]. W celu eliminacji z podłoża popieczarkowego niekorzystnej mikroflory poddaje się go niekiedy obróbce termicznej. U producentów może występować pewne zróżnicowanie warunków prowadzenia produkcji, co związane jest ze sposobem technologii produkcji i ze sposobem dezynfekcji. W badaniach własnych wykonano analizy dwóch rodzajów podłoży pozyskanych na zakończenie cyklu produkcji (tab. 1 i 2).

Tabela 1. Status mikrobiologiczny podłoża popieczarkowego przed dezynfekcją
Table 1. The microbiological state of champignon substrate prior to disinfection

Grupa Group	Rozcieńczenie Dilution										Liczebność Number
	-1		-2		-3		-4		-5		
Ogólna liczba bakterii Total plate count	np	np	np	np	np	np	167	174	26	26	$1,7 \times 10^7$
Ogólna liczba grzybów Total fungi number	np	np	238	298	98	75	23	20	2	1	$9,8 \times 10^5$
Bakterie z grupy coli Coliforms	np	np	np	np	97	111	28	31	10	14	$1,2 \times 10^6$
Beztlenowce z rodzaju <i>Clostridium</i> Anaerobic of the genus <i>Clostridium</i>	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb

np – niepoliczalne – non-quantifiable; nb – nieobecne – not present

W podłożu po dezynfekcji termicznej ogólna liczba mikroorganizmów wynosiła $2,7 \times 10^6$ jtk/g i była mniejsza w porównaniu z podłożem niepoddanym temu procesowi ($1,7 \times 10^7$ jtk/g). W próbkach podłoża dezynfekowanego termicznie nie odnotowano wzrostu grzybów oraz bakterii z grupy coli (tab. 2). Natomiast w podłożu bez dezynfekcji ogólna liczba grzybów wynosiła $9,8 \times 10^5$ jtk/g, a liczebność bakterii z grupy coli $1,2 \times 10^6$ jtk/g. W obu rodzajach podłoży nie stwierdzono obecności beztlenowców z rodzaju *Clostridium* (tab. 1 i 2).

Tabela 2. Status mikrobiologiczny podłoża popieczarkowego po dezynfekcji
 Table 2. The microbiological state of champignon substrate after disinfection

Grupa Group	Rozcieńczenie Dilution										Liczebność Number
	-1		-2		-3		-4		-5		
Ogólna liczba bakterii Total plate count	np	np	np	np	246	246	96	90	3	7	$2,7 \times 10^6$
Ogólna liczba grzybów Total fungi number	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb
Bakterie z grupy coli Coliforms	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb
Beztlenowce z rodzaju <i>Clostridium</i> Anaerobic of the genus <i>Clostridium</i>	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb

np – niepoliczalne – non-quantifiable; nb – nieobecne – not present

Isolacja w kierunku obecności pałeczek *Salmonella* prowadzona na standardowym podłożu SS wykazała wzrost mikroorganizmów makroskopowo zbliżonych do rodzaju *Salmonella*. Uzyskane izolaty zostały poddane dalszym badaniom analitycznym w celu określenia przynależności gatunkowej. Wykonane testy z wykorzystaniem techniki PCR wykluczyły możliwość występowania pałeczek *Salmonella* w analizowanym materiale. Uzyskane na podłożu agar SS izolaty zostały zidentyfikowane jako *Enterobacter cloase*, *Citrobacter freundii*.

Producenci najchętniej korzystają z dezynfekcji chemicznej, gdyż jak wskazują Uliński i in. [2014], zapobiega ona rozprzestrzenianiu się wielu szkodliwych mikroorganizmów i jest zgodna z zaleceniami zrównoważonego korzystania z pestycydów. Chemiczne środki dezynfekcyjne nie działają jednak na wiele istotnych patogenów grzybowych oraz bakteryjnych występujących w trakcie produkcji pieczarek. Ponadto cytowani autorzy wskazują, iż zdrowotność uprawy nie zależy od liczby wykorzystywanych preparatów dezynfekcyjnych. Zalecają podejmowanie wielu działań profilaktycznych podczas prowadzenia uprawy w monokulturze. Produkcja pieczarek trwa przez cały rok. Stąd też producenci borykają się z możliwością zagospodarowania takiej ilości zużytego podłoża, gdyż sami zazwyczaj nie posiadają użytków rolnych, gdzie mogliby je zagospodarować. Podłoże odpowiednio zabezpieczone, dezynfekowane i składowane nie będzie stanowiło zagrożenia sanitarnego, które mogłoby wiązać się z rozwojem mikroflory patogennej czy grzybiczej [Becher 2013]. Warto natomiast podkreślić, że właści-

wie przygotowane podłoże popieczarkowe może stanowić dobrą substancję organiczną, która wprowadza do gleby wiele korzystnych makroelementów w następujących dawkach: dla azotu 13,0–26,0 g/kg s.m., fosforu 1,0–10,0 g/kg s.m., potasu 5,0–25,0 g/kg s.m., magnezu 2,0–5,20 g/kg s.m., wapnia 60,0–150,0 g/kg s.m. i sodu 0,5–2,9 g/kg s.m. [Maszkiewicz 2010, Kalembasa i Wiśniewska 2001, Kalembasa i Majchrowska-Safaryan 2009, Uliński i in. 2014]. Ponadto jego wartość podnosi wysoka zawartość mikroelementów, zaś niska metali ciężkich.

Duża skala produkcji pieczarki odpowiada zapotrzebowaniu rynku, pozostawia jednak do zagospodarowania odpadowe podłoże. Produkcja taka często wymaga dodatkowych nakładów organizacyjnych związanych z jego zagospodarowaniem, składowaniem, zwłaszcza po sezonie, czyli w okresie od 1 grudnia do końca lutego, co często zwiększa koszt produkcji. Ponadto w tym okresie ten materiał nawozowy może stanowić zagrożenie dla środowiska poprzez uwalnianie gazowych zanieczyszczeń do atmosfery oraz wprowadzanie biogenów do gleby i wód powierzchniowych.

Wykorzystanie energetyczne podłoża w postaci biomasy stwarza pewne problemy, gdyż jest to surowiec o znacznej wilgotności w zakresie 60–70% [Marlière 2016]. Natomiast suszenie podnosi znacznie koszty pozyskania energii z tego źródła. Ze względu na zróżnicowanie warunków prowadzenia produkcji pieczarki zaleca się zwrócenie uwagi na stan sanitarny podłoża (zwłaszcza przed podjęciem decyzji o jego zagospodarowaniu) czy poszukiwanie innych niż wymienione wyżej metody.

PODSUMOWANIE

Przeprowadzone wstępne badania wskazują na konieczność stosowania dokładniejszych technik identyfikacji pałeczek *Salmonella*, gdyż metody hodowlane mogą dawać fałszywie dodatnie wyniki. Wykazano również, iż stosowanie termicznej dezynfekcji na zakończenie cyklu produkcji pieczarek jest zabiegiem bardzo bezpiecznym i powinno być standardem w procesie ich produkcji.

PIŚMIENNICTWO

- Becher M., 2013. Skład chemiczny podłoża po uprawie pieczarki jako odpadowego materiału organicznego. *Ekon. Środ.* 4(47), 207–213.
- Kalembasa D., Majchrowska-Safaryan A., 2009. Frakcje metali ciężkich w zużytych podłożach z pieczarkami. *Ochr. Środ. Zasob. Nat.* 41, 572–577.
- Kalembasa S., Wiśniewska B., 2001. Skład chemiczny podłoża po uprawie pieczarek. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* 475, 295–300.
- Kodeks Dobrej Praktyki Rolniczej, 2004. Fundacja Programów Pomocy dla Rolnictwa, Warszawa.
- Marlière H., 2016. Zagospodarowanie podłoży popieczarkowych. *Technol. Prod.* 1, 48–51.
- Maszkiewicz J., 2010. Zużyte podłoże popieczarkowe jako nawóz i paliwo. *Pieczarki. Biul. Prod. Pieczarek* 1, 59–60.
- Obwieszczenie Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej z dnia 15 marca 2019 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu ustawy o odpadach. *Dz.U.* 2019 poz. 701.

- Olewnicki D., Jabłońska L., 2012. Długookresowa analiza rozwoju sektora pieczarkarskiego w Polsce. Rocz. Ekon. Roln. Roz. Obsz. Wiej. 99(4), 127–132.
- PN-ISO 4831:2007. Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda wykrywania i oznaczania liczby bakterii z grupy coli – Metoda najbardziej prawdopodobnej liczby.
- PN-EN ISO 7937:2005. Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda oznaczania liczby *Clostridium perfringens* – Metoda liczenia kolonii.
- PN-EN ISO 4833-1:2013. Mikrobiologia łańcucha żywnościowego – Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów – Część 1: Oznaczanie liczby metodą posiewu wgłębnego w temperaturze 30 stopni C.
- PN-ISO 21527-1:2009. Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda oznaczania liczby drożdży i pleśni – Część 1: Metoda liczenia kolonii w produktach o aktywności wody wyższej niż 0,95.
- PN-EN ISO 6579-1:2017-04. Mikrobiologia łańcucha żywnościowego – Horyzontalna metoda wykrywania, oznaczania liczby i serotypowania *Salmonella* – Część 1: Wykrywanie *Salmonella* spp.
- Ranganathan D.S., Selvaseelan D.A., 1997. Effect of mushroom spent compost in combination with fertilizer application on nutrient uptake by potato in an Ultic Tropudalf. J. Ind. Soc. Soil Sci. 45(3), 515–519.
- Sochtig H., Grabbe K., 1995. The production and utilization of organic-mineral fertilizer from spent mushroom compost. Mushroom Sci. 14(2), 907–915.
- UE, 1991. Dyrektywa Rady z dnia 12 grudnia 1991 r. dotycząca ochrony wód przed zanieczyszczeniami powodowanymi przez azotany pochodzenia rolniczego (91/676/EWG). Dz.U. L375 z 31.12.1991, s. 1–8.
- UE, 2008. Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady 2008/98/WE z dnia 19 listopada 2008 r. w sprawie odpadów oraz uchylająca niektóre dyrektywy. Dz.U. L 312 z 22.11.2008 r., s. 3.
- UE, 2018. Zawiadomienie Komisji dotyczące wytycznych technicznych w sprawie klasyfikacji odpadów. Dz.U. C 124 z 9.04.2018 r., s. 1.
- Uliński Z., Ślusarski Cz., Szumigaj-Tarnowska J., 2014. Stan sanitarny pieczarkarni i stosowanie dezynfektantów a zdrowotność upraw. Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach, Skierniewice.

Źródło finansowania: Pracę sfinansowano ze środków na działalność statutową ZKH/DS-1.

Summary. The management of the champignon substrate created after the production requires constant testing of the chemical composition and sanitary conditions. To eliminate the unfavourable microflora from the bedding substrate, it is sometimes subjected to a thermal treatment. The aim of the study was to analyse the effectiveness of thermal treatments, which underwent a post-cultivation substrate in terms of microbiological quality. The research material consisted of the substrates before and after thermal disinfection. The analysis covered the following parameters: total number of bacteria, total number of fungi, coli bacteria, anaerobes of the genus *Clostridium* and the presence of *Salmonella* rods. Preliminary studies indicate that the use of thermal disinfection at the end of the mushroom production cycle is a very safe procedure and should be a standard in the production process.

Key words: champignon, substrate, utilisation, sanitary condition

Otrzymano:/ Received: 15.03.2019
Zaakceptowano:/ Accepted: 29.04.2019