

Molekularna metoda određivanja opsega zaraženosti uskladištenog pšeničnog brašna kestenjastim brašnarom (*Tribolium castaneum* (Herbst))

SAŽETAK

Pozadina istraživanja. Prisutnost dijelova insekata u namirnicama jedno je od glavnih ograničenja pri njihovom skladištenju, te uzrokuje velike gubitke u kvaliteti proizvoda. Suzbijanje štetnika predstavlja velik izazov u prehrambenoj industriji. Tradicionalno se prisutnost kestenjastog brašnara (*Tribolium castaneum*) u prehrambenim proizvodima utvrđuje kiselinskom hidrolizom i metodom bojanja, koje su dugotrajne i neprecizne.

Ekperimentalni pristup. Uzevši u obzir potrebu za primjenom brze i učinkovite metode određivanja prisutnosti *T. castaneum* u brašnu, u radu je razvijena i opisana kvantitativna metoda koja se temelji na lančanoj reakciji polimerazom u stvarnom vremenu (qRT-PCR). Kao ciljani gen odabran je mitohondrijski gen za podjedinicu 1 citokrom c oksidaze (*mtCOI*) zbog njegove rasprostranjenosti u nametniku. Pomoću kompjuterskog softvera Primer Premier izrađene su početnice za umnožavanje DNA ciljane vrste metodom qRT-PCR.

Rezultati i zaključci. Ovom se metodom može identificirati kestenjasti brašnar (*T. castaneum*) u svim fazama ontogeneze u uskladištenom brašnu. Prijašnji su eksperimenti pokazali da se iz 2,2 mg kukaca može izdvojiti otprilike 20 µg DNA. Za utvrđivanje opsega zaraze provedena je regresijska analiza broja ciklusa (Ct-vrijednost) potrebnih za određivanje poznatih uzoraka, a rezultati su izraženi kao broj odraslih kukaca. U nepoznatim je uzorcima izračunat stupanj zaraze od 1,74 odnosno 0,046 odraslih insekata u 5 g pšeničnog brašna. Prema regulativi Američke agencije za hranu i lijekove (engl. U.S. Food and Drug Administration (FDA)), najveći dopušteni broj dijelova insekata u brašnu je 75, odnosno otprilike 3 odrasla kukca u 50 kg brašna. Pomoću ove nove metode voditelji skladišta mogu donijeti odluku o tome gdje skladištiti brašno, te učinkovito provoditi plan suzbijanja ovog nametnika. Također, državne agencije koje posreduju u međunarodnom poslovanju mogu temeljem ove metode utvrditi zadovoljava li kakvoća proizvedenog pšeničnog brašna standarde zemalja kojima se ono isporučuje.

Novina i znanstveni doprinos. Ovo je prvo istraživanje u kojem je utvrđena količina kestenjastog brašnara *T. castaneum* u mljevenim žitaricama. Dosad su korištene samo konvencionalne metode utvrđivanja prisustva nametnika u brašnu, a opseg zaraze je određivan ručnim brojanjem dijelova insekata. Nova qRT-PCR metoda je brža, pouzdanija i može se koristiti u mlinarskoj i pekarskoj industriji, pogonima za preradu hrane i pri međunarodnoj trgovini za utvrđivanje opsega zaraze kestenjastim brašnarom.

Ključne riječi: određivanje broja insekata, pšenično brašno, *Tribolium castaneum*, qRT-PCR, kestenjasti brašnar