

## 2nd WORKSHOP ON MICROBIOLOGY OF STORED GRAINS

A round table on microbiological aspects of post-harvest grains and by-product preservation was held on Monday evening. A two hours discussion between many of the microbiologists attending the Conference and also some entomologists was only sufficient to properly ask actual questions in grain mycology and to analyse some recent advances in modified atmosphere storage of grains. The main points of discussion first proposed by the moderators (Dr. D. RICHARD-MOLARD (FR) and Dr. J. LACEY (UK)) at the beginning of the workshop were progressively extended by urgent questions arising from the audience and were finally divided into four main groups as follow :

- 1) **Methods for quantitative measurement of mold growth**, especially in solid substrates such as cereal grains and related products.
- 2) **Grain preservation by modified atmosphere storage** : microbiological limits of these technologies depending on water activity and tolerance to anoxia of yeasts and molds; relevant methods to study microbial growth under anoxic conditions.
- 3) **Mycotoxins in general and possible occurrence in grains stored under modified atmosphere**.
- 4) **Alternative methods of preservation for humid grains** (i.e. organic acid for wet grain stabilization, microbiological effects of fumigation, role of gamma-irradiation, etc.

It is not easy to properly summarize the discussions which were of great interest for many participants as they said after. Numerous valuable and direct contributions were given on the different topics and the quality of the exchanges was very high and some comments and recommendations of particular interest can be underlined.

For example, it was firmly claimed that coming studies on mycotoxic species and mycotoxicology should be conducted only on well established taxonomic data in order to avoid further confusions and misinterpretations concerning toxinogenic species.

In the field of modified atmosphere storage, the protective effect of anoxic atmospheres against known mycotoxins, even with intermediate moisture grains bearing toxigenic molds, was confirmed by several speakers and some simple ways to rapidly obtain very low levels of oxygen in hermetic structures were discussed. It was nevertheless pointed out that modified atmospheres cannot be efficient when leaks in the silos allow measurable level of oxygen, even below 0,5 or 1%. The partial inhibitory effect of high concentrations of CO<sub>2</sub> on mold growth was also discussed.

Concerning methods for estimation of qualitative and quantitative mycological quality of grains, the particular value of some specific media with reduced aw, for isolation of xerotolerant species was recalled.

Comparisons between methods of mold and yeast enumeration and fungal biomass estimation by ergosterol determination in grain led to new comments and discussions. The value of the ergosterol method was confirmed, and its relevancy for grains stored under low level of available oxygen was established by recent french experiments. Up to now, ergosterol level of fungal biomass appear to remain reasonably constant in the fungal biomass, at least during the first steps (i.e. logarithmic phase) of mold and yeast growth. It was nevertheless pointed out that

further confirmation and experiments coming from other researchers in grain mycology are urgently needed.

Concerning alternative methods for wet or intermediate moisture grain preservation, the relative efficiency of different organic acids against mold growth came under discussion. The greater value of propionic acid was generally recognized, compared to other short-chain organic acids such as acetic or formic acids or mixtures of them. The concentrations to be used range from about 0.5 to 1.5% (w/w basis), depending on grain moisture content, the highest the  $a_w$  the highest the concentration of acid. As an evidence, organoleptic properties of treated grain become strongly modified and the grain must be use only for animal feeding.

It appeared that very few experiments had been conducted on grain stabilization by irradiation but it is generally admitted that due to non-remanent effect of the treatments which can be applied, gamma-irradiation is of little interest for preservation of humid grain from the microbiological point of view.

To conclude it must be said that the success of this workshop was mainly due to the enthusiasm and the contributions of the participants and to the facilities provided by the Organizing Committee. No doubt that everyone greatly appreciated such an opportunity to discuss freely in a friendly circle of very high scientific competences. No doubt that such short working session are to be encouraged in the coming conferences.

**Moderator : Dr Daniel RICHARD-MOLARD (F)**

## WORKSHOP SUR LA MICROBIOLOGIE DES GRAINS STOCKES (2)

Une table ronde sur les aspects microbiologiques concernant les grains stockés et produits dérivés s'est tenue le lundi dans la soirée. La plupart des microbiologistes participant à la Conférence étaient présents et quelques entomologistes distingués se sont même montrés intéressés. Les deux heures de cette session de travail ont tout juste été suffisantes pour clairement poser les questions d'actualité qui se posent dans le domaine et tout particulièrement en ce qui concerne l'application des atmosphères modifiées à la préservation des grains. Seuls quelques avancées récentes ont pu être un peu approfondies.

Aux questions initialement proposées par les modérateurs de cette table ronde (D. RICHARD-MOLARD (FR) and J. LACEY (UK)), se sont rapidement ajoutées des questions complémentaires proposées à la discussion par les participants. L'ensemble peut se ranger en quatre domaines principaux:

### 1) Méthodes quantitatives de mesure de la croissance des moisissures

en particulier sur milieux solides comme les grains et graines

2) **Stockage sous atmosphères modifiées:** limites théoriques et pratique de ces techniques, influence de l'activité de l'eau, de la tolérance à l'anoxie de la microflore des grains, méthodes d'étude de la croissance en conditions limitées en oxygène etc.

3) **Mycotoxines:** Aspects généraux, risques de formation en stockage sous atmosphères modifiées.

4) **Méthodes alternatives de protection** et de stabilisation des grains humides; stabilisation par les acides organiques, effets des fumigations sur la microflore des grains, techniques d'irradiation etc.

Il est bien difficile de résumer proprement en quelques lignes, l'ensemble des discussions dont l'intérêt a été confirmé après la table ronde par plusieurs participants. La possibilité d'avoir des interventions courtes de haut niveau, très directes, à des questions pertinentes a été très appréciée. Quelques points forts de la discussion doivent être rappelés:

On a beaucoup insisté sur les précautions d'ordre taxonomiques qui doivent être prises lorsqu'on travaille sur les mycotoxines et leur formation. Il faut faire en sorte qu'à l'avenir de telles études portent sur des espèces indiscutablement identifiées pour éviter des confusions et interprétations erronées comme on en a vu dans le passé.

Dans le domaine du stockage sous atmosphères modifiées, différents intervenants ont insisté sur l'effet protecteur des atmosphères anoxiques contre la formation des principales mycotoxines, même pour des grains humides contaminés par des espèces potentiellement toxigènes. Des méthodes simples d'obtention d'atmosphères anoxiques ont été évoquées et il a été clairement rappelé qu'aucune protection sérieuse n'est obtenue si l'oxygène reste mesurable et à plus forte raison si des teneurs résiduelles de l'ordre de 0,5 ou 1 % sont tolérées. L'effet inhibiteur partiel et complémentaire exercé par les fortes concentrations de CO<sub>2</sub> a été également discuté.

En ce qui concerne les méthodes de détermination de la qualité mycologique des produits céréaliers et des produits dérivés, produits à faible activité de l'eau le plus souvent, l'intérêt tout particulier des milieux rendu semi-sélectifs par activité de l'eau

abaissée, pour la mise en évidence des espèces xérophiles et xérotolérantes a été largement confirmé. On a aussi comparé de manière critique les techniques classiques de dénombrement de germes et les méthodes de détermination de la biomasse fongique développée sur des substrats solides, en confirmant la validité de l'approche par mesure de la teneur en ergostérol. Des expériences françaises récentes ont d'ailleurs étendu le domaine d'application de cette technique aux atmosphères modifiées très appauvries en oxygène. Il semble que même dans ces conditions, les taux mycéliens d'ergostérol restent constants chez levures et moisissures de stockage, au moins pendant les premières phases du développement. Des confirmations venant d'autres laboratoires sont cependant nécessaires.

Parmi les méthodes alternatives de stabilisation de grains humides, l'efficacité comparée de différents acides organiques a été étudiée. La plus grande efficacité relative de l'acide propionique par rapport aux autres acides organiques à chaîne courte ou leurs mélanges a été réaffirmée. Les concentrations à utiliser varient en général de 0,5 à 1,5 % en poids, suivant la teneur en eau des grains à stabiliser. Dans ces conditions les qualités organoleptiques des grains sont considérablement modifiées et seule l'utilisation en alimentation animale reste possible.

Très peu d'études ont été récemment consacrées à l'irradiation des grains dans un but de stabilisation microbiologique. Il est généralement admis que l'absence de toute rémanence des traitements représente un obstacle incontournable pour des produits stockés en conditions de recontamination permanente.

En guise de conclusion on peut faire observer que le succès de cette table ronde a tenu essentiellement à l'enthousiasme des intervenants et à la qualité de leurs contributions. Les conditions matérielles faites par le Comité d'Organisation ont été bien sûr très appréciées. Aucun doute que de telles sessions de travail, en petit cercle amical regroupant de fortes compétences, soient à encourager lors des prochaines Conférences.

**Animateur : Dr Daniel RICHARD-MOLARD (F)**