

## **Prežívanie mikroorganizmov v skladovaných amarantových sušienkach vyrobených z radiačne ošetrovaného zrna amarantu**

BERNADETTA HOZOVÁ - LADISLAV DODOK - LUBOMÍR VALÍK

**SÚHRN.** V práci sa uvádzajú výsledky mikrobiologickej kontroly (celkový počet, koliformné baktérie, aeróbne sporujúce baktérie, kvasinky a plesne) amarantových sušienok vyrobených zo zrna ožiareného rôznymi dávkami ionizujúceho žiarenia (1,5; 3 a 5 kGy) a skladovaných 6 mesiacov pri laboratórnej teplote (20 - 25 °C). Doplnkovým parametrom bola hodnota av. Počty mikroorganizmov v sušienkach sa pohybovali v závislosti od stupňa ošetrovania východiskovej suroviny (zrno). Podiel aeróbných sporujúcich mikroorganizmov (*Bacillus subtilis*, *B. brevis*) prežívajúcich skladovací proces najmä vo vzorkách ošetrovaných nižšími dávkami ionizujúceho žiarenia (1,5 a 3 kGy) tvoril 30 až 100 % z celkového počtu mikroorganizmov. Dávka ionizujúceho žiarenia 5 kGy zabezpečila maximálnu hygienickú akosť sušienok až do konca 6 mesačného skladovania.

V rámci dlhodobej spolupráce s firmou Bohemia Amaranth, s. r. o. (Olomouc, ČR), ktorá je výrobcom asi 40 druhov cereálnych výrobkov na báze amarantu sme sa zamerali na skúmanie možností predĺženia ich hygienickej akosti a trvanlivosti. Keďže z našich predchádzajúcich skúseností [1] vyplynula zhoršujúca sa mikrobiologická kvalita počas skladovania, za účelom dekontaminácie mikroorganizmov prechádzajúcich zo suroviny do polotovaru (cesto) a následne čiastočne prežívajúcich v hotových výrobkoch vo forme spór, sme zrno amarantu, v súhlase s platnou legislatívou [2], ožiarili rôznymi dávkami ionizujúceho žiarenia (1,5; 3 a 5 kGy).

S cieľom zistiť stupeň kontaminácie sme v práci sledovali mikrobiologickú akosť (celkový počet, koliformné baktérie, aeróbne sporujúce baktérie, kvasinky a plesne) vo vzorkách vstupných surovín (zrno, múka) a polotovarov (cesto) - bez skladovania a vo vzorkách hotových modelových výrobkov (sušienky) - počas 6-mesačného skladovania (v trojmesačných intervaloch) v laboratórnych podmienkach (20 - 25 °C). Uvedené mikrobiologické ukazovatele nám umožnili posúdiť účinok aplikovaných technolo-

---

RNDr. Bernadetta HOZOVÁ, CSc., Ing. Lubomír VALÍK, CSc., Katedra mlieka, tukov a hygieny požívatín, Doc. Ing. Ladislav DODOK, CSc., Katedra sacharidov a konzervácie potravín, Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

gických procesov na celkovú hygienickú akosť ako jeden z možností predĺženia skladovateľnosti na trhu ešte zatiaľ málo známych amarantových komodít.

V analyzovaných vzorkách sušienok sme merali aj hodnotu  $a_v$  ako jeden z faktorov podmieňujúcich mikrobiologickú akosť.

## **Materiál a metódy**

### *Suroviny:*

- a) zrno amarantu
  - 1. neožiarené (kontrola),
  - 2. ožiarené dávkou 1,5; 3; 5 kGy (zdroj žiarenia  $^{60}\text{Co}$ , ožarovacie zariadenie RCH-gama-30) [3],
- b) múka
  - 1. pšeničná T 650,
  - 2. amarantová - z neožiareného zrna,
  - 3. amarantová - z ožiareného zrna.

### *Polotovary:*

- 1. cesto - pšeničné (100 % hladkej múky T 650),
- 2. amarantové (80 % pšeničnej + 20 % amarantovej múky) - z neožiareného zrna,
- 3. amarantové (80 % pšeničnej + 20 % amarantovej múky) - z ožiareného zrna.

### *Výrobky:*

- 1. sušienky - amarantové - z neožiareného zrna (kontrola),
- 2. sušienky - amarantové - z ožiareného zrna,
- 3. Club sušienky (z pšeničného cesta - kontrola),  
pečenie: 10 min 200 °C v laboratórnych podmienkach,
- 4. sušienky od výrobcu (Bohemia Amaranth, s. r. o. - kontrola).

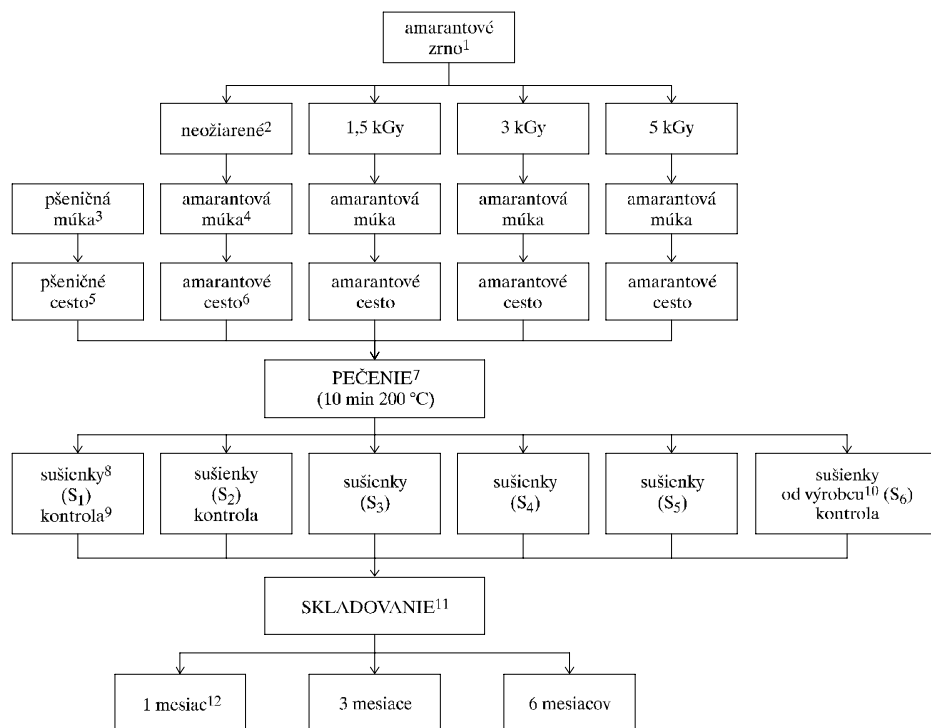
### *Zloženie amarantových sušienok:*

Pšeničná múka, amarantová múka (20 %), cukor, tuk, vajcia, aromatické prísady.

Obalový materiál: celofánové vrecká umiestnené v papierových krabiciach.

Technologický postup prípravy vzoriek je znázornený na obr. 1.

Na mikrobiologickú analýzu sme odobrali vždy dve vzorky (po 10 g) (homogenizáciu sme urobili v sterilnej trecej miske) a analyzovali v troch



OBR. 1. Technologický postup prípravy vzoriek.

FIG. 1. Technological procedure of the samples preparation.

1 - amaranth grain, 2 - non-irradiated, 3 - wheat flour, 4 - amaranth flour, 5 - wheat dough, 6 - amaranth dough, 7 - baking, 8 - biscuits, 9 - control, 10 - biscuits from manufacturer, 11 - storage, 12 - month.

paralelných stanoveniach (n = 6) týmito metódami:

1. Stanovenie aeróbných mezofilných a aeróbných spórotočných baktérií - platňovou metódou na GTK (glukóza-tryptón-kvasničný autolýzát) agare (Imuna, Šarišské Michaľany, SR) [4].
2. Stanovenie koliformných baktérií - platňovou metódou na VČŽL (violet - neutrálna červená - žltové soli - laktóza) agare (Imuna, Šarišské Michaľany, SR) [5].
3. Stanovenie kvasiniek a plesní - platňovou metódou na GKCH (glukóza - kvasničný autolýzát - chloramfenikol) agare (Imuna, Šarišské Michaľany, SR) [6].
4. Meranie  $a_w$ : prístroj Thermoconstanter, Defensor AG- Novasina (Švaj-

čiarsko) [7]; princípom merania je komparácia elektrickej vodivosti rovnovážnej relatívnej vlhkosti nad vzorkou a elektrickej vodivosti senzora pri teplote 25 °C.

5. Identifikácia vegetatívnych buniek a spór rodu *Bacillus* (makroskopicky a mikroskopicky, farbenie spór) [8].

## Výsledky a diskusia

V tabuľke 1. sa nachádzajú výsledky priemerného počtu ( $n=6$ ) [9] vybraných skupín mikroorganizmov nachádzajúcich sa v surovine (zrno, múka), v polotovaroach (cesto) a v hotových výrobkoch (sušienkach) rozdielného pôvodu a použitého technologického postupu (pšeničné a amarantové, ožiarené rôznymi dávkami ionizujúceho žiarenia i neožiarené kontrolné vzorky). Tabuľka 2. uvádza percentuálny podiel sporulujúcich baktérií, identifikovaných ako *Bacillus subtilis* a *B. brevis* z celkovej mezofilnej mikroflóry, prežívajúcich v sušienkach počas skladovania a tabuľka 3. zahŕňa výsledky merania hodnôt  $a_v$  v priebehu 6-mesačného skladovania.

Ako vyplýva z výsledkov zhrnutých do tabuľky 1., aktuálna mikroflóra neožiarených vzoriek amarantových surovín a polotovarov bola evidentne vyššia ako ožiarených a znižovala sa úmerne so zvyšujúcou sa dávkou ionizujúceho žiarenia (z východiskových  $10^6$  KTJ.g<sup>-1</sup> na  $10^{2-3}$  KTJ.g<sup>-1</sup>). Najmä koliformné baktérie, kvasinky a plesne boli citlivejšie na ožiarenie ako iné, hlavne sporulujúce mikroorganizmy, ktoré, ako je známe, sú omnoho rezistentnejšie [10].

V sušienkach vyrobených sólovo z pšeničnej múky (S<sub>1</sub>) sa mikroorganizmy nevyskytovali ani po upečení (10 min 200 °C) a ani v priebehu skladovania, čo indikuje dostatočnú účinnosť procesu pečenia vzhľadom na východiskovú hygienickú akosť suroviny (múka) a polotovaru (cesto) -  $10^4$  KTJ.g<sup>-1</sup>.

Počty mikroorganizmov v amarantových sušienkach (tabuľka 1.) sa pohybovali v závislosti od stupňa ošetrenia východiskovej suroviny. Vo výrobkoch z neožiareného zrna dosahovali  $10^3$  KTJ.g<sup>-1</sup> (po 1. a 3. mesiaci, po 6 mesiacoch skladovania -  $10^2$  KTJ.g<sup>-1</sup>), z čoho sporulanty (najmä *Bacillus subtilis* a *B. brevis*) [8] tvorili 30 až 100 % podiel (tabuľka 2.). Už pri použití dávky 1,5 kGy a tiež 3 kGy sa na začiatku skladovania mikroorganizmy vyskytli len ojedinele (menej ako  $10$  KTJ.g<sup>-1</sup>), pri aplikácii 5 kGy a v kontrolných vzorkách (vyrobených len z pšeničnej múky a od výrobcu) boli nálezy negatívne. Taktiež ostatné sledované skupiny mikroorganizmov (koliformné baktérie, kvasinky a plesne) neboli prítomné v žiadnej vzorke až do konca 6-

TABULKA 1. Súhrnný prehľad priemerného počtu mikroorganizmov ( $n=6$ ) v sledovaných vzorkách počas 6 mesačného skladovania pri 20 - 25 °C.  
TABLE 1. Total survey of the average numbers of microorganisms ( $n=6$ ) in samples during the six-month storage at 20 - 25 °C.

Vzorka a označenie <sup>1</sup>		Skladovanie <sup>2</sup>									
		1 mesiac					3 mesiace				
		CPM	AES	KFB	Kvasinky <sup>3</sup>	Plesne <sup>4</sup>	CPM	AES	KFB	Kvasinky	Plesne
		[KTJ g <sup>-1</sup> ] <sup>5</sup>					[KTJ g <sup>-1</sup> ]				
pšeničné <sup>6</sup>	múka <sup>7</sup>	5,7.10 <sup>4</sup>	3,4.10 <sup>3</sup>	5,2.10 <sup>4</sup>	7,1.10 <sup>3</sup>	2,9.10 <sup>2</sup>	-	-	-	-	-
	cesto <sup>8</sup>	5,8.10 <sup>4</sup>	1,6.10 <sup>2</sup>	6,3.10 <sup>3</sup>	1,1.10 <sup>2</sup>	< 10	-	-	-	-	-
	sušenky <sup>9</sup> (S <sub>1</sub> )	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
amarantové neožiarené <sup>10</sup>	zrno <sup>11</sup>	2,9.10 <sup>6</sup>	2,7.10 <sup>5</sup>	2,4.10 <sup>5</sup>	2,7.10 <sup>4</sup>	1,8.10 <sup>3</sup>	-	-	-	-	-
	múka	1,1.10 <sup>6</sup>	1,3.10 <sup>4</sup>	8,4.10 <sup>4</sup>	8,2.10 <sup>3</sup>	4,4.10 <sup>2</sup>	-	-	-	-	-
	cesto	2,8.10 <sup>5</sup>	3,6.10 <sup>3</sup>	1,8.10 <sup>4</sup>	1,8.10 <sup>3</sup>	4,4.10 <sup>2</sup>	-	-	-	-	-
amarantové ožiarené <sup>12</sup> 1,5 kGy	sušenky (S <sub>2</sub> )	1,5.10 <sup>3</sup>	4,5.10 <sup>2</sup>	0	0	0	1,9.10 <sup>3</sup>	1,7.10 <sup>3</sup>	0	0	9,0.10 <sup>2</sup> 4,7.10 <sup>2</sup>
	zrno	4,9.10 <sup>3</sup>	1,1.10 <sup>3</sup>	0	0	4,3.10 <sup>2</sup>	-	-	-	-	-
	múka	1,3.10 <sup>4</sup>	3,2.10 <sup>3</sup>	1,8.10 <sup>3</sup>	< 10	2,0.10 <sup>2</sup>	-	-	-	-	-
amarantové ožiarené 3 kGy	cesto	3,6.10 <sup>4</sup>	1,8.10 <sup>3</sup>	6,5.10 <sup>3</sup>	7,0.10	4,1.10 <sup>2</sup>	-	-	-	-	-
	sušenky (S <sub>3</sub> )	< 10	< 10	0	0	0	7,0.10 <sup>2</sup>	< 10	0	0	3,2.10 <sup>2</sup> 3,1.10 <sup>2</sup>
	zrno	2,5.10 <sup>3</sup>	8,7.10 <sup>2</sup>	0	0	< 10	-	-	-	-	-
amarantové ožiarené 5 kGy	múka	6,5.10 <sup>3</sup>	1,3.10 <sup>2</sup>	< 10	< 10	< 10	-	-	-	-	-
	cesto	2,1.10 <sup>4</sup>	6,3.10 <sup>2</sup>	7,6.10 <sup>3</sup>	< 10	1,7.10 <sup>2</sup>	-	-	-	-	-
	sušenky (S <sub>4</sub> )	< 10	< 10	0	0	0	< 10	< 10	0	0	1,2.10 <sup>2</sup> 6,0.10 <sup>1</sup>
amarantové ožiarené 5 kGy	zrno	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
	múka	< 10	< 10	0	< 10	< 10	-	-	-	-	-
	cesto	1,4.10 <sup>4</sup>	2,4.10 <sup>2</sup>	2,4.10 <sup>3</sup>	< 10	< 10	-	-	-	-	-
od výrobcu <sup>13</sup>	sušenky (S <sub>5</sub> )	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	sušenky (S <sub>6</sub> )	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

CPM - celkový počet mikroorganizmov, AES - aeróbne sporujúce mikroorganizmy, KFB - koliformné baktérie, - - neanalyzované.

1 - sample and identification, 2 - storage [month], 3 - yeasts, 4 - moulds, 5 - microorganisms [CFU g<sup>-1</sup>], 6 - wheat samples, 7 - flour, 8 - dough, 9 - biscuits, 10 - non-irradiated amaranth samples, 11 - grain, 12 - irradiated amaranth samples, 13 - samples from the manufacturer, CPM - total count of microorganisms, AES - aerobic sporogenic microorganisms, KFB - coliforms, - - non-analyzed,

mesačného skladovania. Postupujúcim časom skladovania sa však vo vzorkách vyrobených zo zrna ošetrovaného nižšími dávkami ionizujúceho žiarenia (1,5 a 3 kGy) vyskytli mikroorganizmy a sporulanty v denzitách  $10^1$  až  $10^2$  KTJ.g<sup>-1</sup> (netesnosť obalu, variabilita vzoriek). Vzhľadom na skutočnosť, že po 3. mesiaci, už v letnom období (jún - august) boli vzorky skladované pri teplotách nad 20 °C (do 25 °C), ktoré sú vhodnejšie pre rast a rozmnožovanie mezofilných mikroorganizmov, dosiahnuté výsledky sú uspokojivé a podľa Hygienických predpisov MZ ČR [11] neprekračujú limity požiadaviek mikrobiologickej akosti pre tento druh trvanlivých výrobkov (maximálne  $10^3$  KTJ.g<sup>-1</sup> celkového počtu,  $2 \cdot 10^2$  KTJ.g<sup>-1</sup> plesní a menej ako  $10^2$  KTJ.g<sup>-1</sup> koliformných baktérií). Bolo by iste žiadúce presvedčiť sa o vhodnosti aplikovaných technologických procesov aj po dlhšie trvajúcim,

TABUĽKA 2. Percentuálne vyjadrenie podielu aeróbných spórotvorných mikroorganizmov (n=6) z celkového počtu mezofilných mikroorganizmov v amarantových sušienkach počas 6-mesačného skladovania.

TABLE 2. Percentual share of aerobic sporogenic microorganisms (n=6) from the total count of mesophilic microorganisms in amaranth biscuits during the six-month storage.

Vzorka a označenie <sup>1</sup>		Skladovanie <sup>2</sup>								
		1 mesiac			3 mesiace			6 mesiacov		
		CPM [KTJ.g <sup>-1</sup> ] <sup>3</sup>	AES [KTJ.g <sup>-1</sup> ]	% spór z CPM <sup>4</sup>	CPM [KTJ.g <sup>-1</sup> ]	AES [KTJ.g <sup>-1</sup> ]	% spór z CPM	CPM [KTJ.g <sup>-1</sup> ]	AES [KTJ.g <sup>-1</sup> ]	% spór z CPM
pšeničné <sup>5</sup>	S <sub>1</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
amarantové (neožiarené zrno) <sup>6</sup>	S <sub>2</sub>	$1,5 \cdot 10^3$	$4,5 \cdot 10^2$	30,0	$1,9 \cdot 10^3$	$1,7 \cdot 10^3$	89,5	$9,0 \cdot 10^2$	$4,7 \cdot 10^2$	52,2
amarantové (zrno ožiarené <sup>7</sup> 1,5 kGy)	S <sub>3</sub>	<10	<10	100	$7,0 \cdot 10^2$	<10	0	$3,2 \cdot 10^2$	$3,1 \cdot 10^2$	96,9
amarantové (zrno ožiarené 3 kGy)	S <sub>4</sub>	<10	<10	100	<10	<10	100	$1,2 \cdot 10^2$	$6,0 \cdot 10^1$	50,0
amarantové (zrno ožiarené 5 kGy)	S <sub>5</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
od výrobcu <sup>8</sup>	S <sub>6</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0

CPM - celkový počet mikroorganizmov, AES - aeróbne sporujúce mikroorganizmy.

1 - sample and identification, 2 - storage [month], 3 - microorganisms [CFU.g<sup>-1</sup>], 4 - percentual share of spores from the total count of microorganisms, 5 - wheat samples, 6 - non-irradiated amaranth grain, 7 - irradiated amaranth grain, 8 - samples from the manufacturer, CPM - total count of microorganisms, AES - aerobic sporogenic microorganisms.

TABULKA 3.  $a_w$  hodnoty sušienok počas skladovania.TABLE 3.  $a_w$  value of the biscuits during the storage.

Vzorka <sup>1</sup>	$a_w$ <sup>2</sup>		
	Skladovanie <sup>3</sup>		
	1 mesiac	3 mesiace	6 mesiacov
S <sub>1</sub>	0,30	0,30	0,40
S <sub>2</sub>	0,30	0,30	0,36
S <sub>3</sub>	0,44	0,35	0,40
S <sub>4</sub>	0,41	0,29	0,39
S <sub>5</sub>	0,44	0,33	0,39
S <sub>6</sub>	0,21	0,25	0,29

S<sub>1</sub> - sušienky Club (100 % pšenič. múky), S<sub>2</sub> - sušienky vyrobené z neožiareného amarantového zrna, S<sub>3</sub> - sušienky vyrobené z amarantového zrna ožiareného dávkou 1,5 kGy, S<sub>4</sub> - sušienky vyrobené z amarantového zrna ožiareného dávkou 3 kGy, S<sub>5</sub> - sušienky vyrobené z amarantového zrna ožiareného dávkou 5 kGy, S<sub>6</sub> - sušienky od výrobcu, firmy Bohemia Amaranth, s. r. o. Olomouc.

1 - sample, 2 -  $a_w$  value, 3 - storage [month], S<sub>1</sub> - biscuits Club (100 % wheat flour), S<sub>2</sub> - biscuits produced from the irradiated amaranth flour, S<sub>3</sub> - biscuits produced from the amaranth grain irradiated with dose of 1.5 kGy, S<sub>4</sub> - biscuits produced from the amaranth grain irradiated with dose of 3 kGy, S<sub>5</sub> - biscuits produced from the amaranth grain irradiated with dose of 5 kGy, S<sub>6</sub> - biscuits from the manufacturer (Bohemia Amaranth, Ltd., Olomouc).

napr. jednoročnom skladovaní (ako deklaruje výrobca na obale výrobku) a na základe toho optimalizovať podmienky úchovy amarantových výrobkov.

Hodnoty  $a_w$  v sušienkach počas skladovania mierne kolísali - na začiatku v intervale 0,21 - 0,44, po 3 mesiacoch skladovania 0,28 - 0,35 a na konci skladovania 0,29 - 0,40, nedosiahli však kritické limity hodnôt potrebných pre rast a rozmnožovanie mikroorganizmov (tabuľka 2.).

Z našich výsledkov vyplynul praktický záver, že výrobcovia trvanlivých cereálnych výrobkov by mohli pôsobenie povolených dávok ionizujúceho žiarenia (všeobecne platí do 10 kGy) účinne využiť na eventuálnu dekontamináciu aj silnejšie znečisteného zrna, samozrejme pri zohľadnení aj iných, najmä ekonomických aspektov aplikovaného technologického procesu.

## Literatúra

1. HOZOVÁ, B. - ZEMANOVIČ, J. - CHORVÁTOVÁ, R.: Evaluation of the microbiological and sensory quality of amaranth-based biscuits. Food Technol. Biotechnol. Rev., 33, 1996, č. 4, s. 155-159.
2. LOAHARANU, P.: Status and prospects of food irradiation. Food Technol., 48, 1994, č. 5, s. 124-131.
3. VARGA, Š. - TÖLGYESSY, J.: Základy radiačnej chémie a radiačnej technológie. ALFA,

- Bratislava 1982. 295 s.
4. STN ISO 4833:1991. Mikrobiológia. Všeobecné pokyny na stanovenie počtu mikroorganizmov. Metóda počítania kolónií kultivovaných pri 33 °C. Bratislava 1997.
  5. STN ISO 4832:1991. Mikrobiológia. Všeobecné pokyny na stanovenie počtu koliformných baktérií. Metóda počítania kolónií. Bratislava 1997.
  6. STN ISO 7954:1987. Mikrobiológia. Všeobecné pokyny na stanovenie počtu kvasiniek a plesní. Metóda počítania kolónií kultivovaných pri 25 °C. Bratislava 1997.
  7. NOVASINA, Švajčiarsko: Thermoconstanter TH 200. Návod na použitie. 1995. 58 s.
  8. ARPAI, J. - BARTL, V.: Potravinárska mikrobiológia. ALFA, Bratislava 1997. 280 s.
  9. ECKSCHLAGER, K. - HORSÁK, I. - KODEJŠ, Z.: Vyhodnocování analytických výsledků a metod. SNTL, Praha 1980. 220 s.
  10. KYZLINK, V.: Teoretické základy konzervace potravin. SNTL, Praha 1980. 513 s.
  11. Hygienické předpisy MZ ČR, sv. 68. Avicenum, Praha 1990. 67 s.

Do redakcie došlo 12.11.1997.

#### **Survival of microorganisms in stored amaranth biscuits produced from irradiated amaranth grain**

HOZOVÁ, B. - DODOK, L. - VALÍK, L.: Bull. potrav. Výsk., 36, 1997, p. 249-256.

SUMMARY. Results of the microbiological evaluation (total counts, coliforms, aerobic sporegenic bacteria, yeasts and moulds) of amaranth biscuits produced from the amaranth grain irradiated by various doses of the ionizing radiation (1,5; 3 and 5 kGy) and stored for six months at the room temperature (20 - 25 °C) are presented. The  $a_w$ -values was a supplementary parameter. Counts of microorganisms in the biscuits depended on the treatment of the raw material (grain). The share of aerobic sporegenic microorganisms (*Bacillus subtilis*, *B. brevis*) surviving the storage, especially in the samples treated with lower doses of the ionizing radiation (1.5 and 3 kGy), constituted 30 to 100 % of the total count of microorganisms. The dosage of the ionizing radiation of 5 kGy provided the maximum hygienic quality of the biscuits up to end of the 6-month storage.