

Aktivita vody kôrky nebaleného a baleného chleba

LUBOMÍR VALÍK—FRIDRICH GÖRNER—ZDENKA JESENSKÁ—ALŽBETA FABRICIOVÁ

Súhrn. Aktivita vody (a_v) kôrky vychladnutého Slovenského výberového chleba (v miestnosti pri $t = 23—26^\circ\text{C}$ a $RV = 50—60\%$) bola 15 h po jeho upečení v rozsahu $a_v = 0,816—0,877$ ($n = 10$). Jej priemerná hodnota bola $a_v = 0,840 \pm 0,006$ ($p = 0,05$).

Aktivita vody kôrky rovnako vychladnutého a 5 h po upečení do polyetylénovej fólie zabaleného chleba bola o tri dni za rovnakých podmienok v rozsahu $a_v = 0,939 \pm 0,003$ ($p = 0,05$).

Na kôrke nebaleného chleba rástli vo vlhkej komôrke za 3 dni pri 30°C iba kolónie rodu *Aspergillus* (83,6 %) a kolónie rodu *Mucor* (15,5 % zo 116 kolónií).

V práci sa prezentuje originálny postup stanovenia minimálnej a_v hodnoty pre rast mikromycét na chlebovej kôrke a diskutujú sa možnosti ich rastu na kôrke nebaleného a baleného chleba z hľadiska ich minimálnych a_v hodnôt.

Chlieb je ihneď po upečení vystavený kontaminácii spórami plesní z ovzdušia pekárne. Tieto môžu za vhodných podmienok vyklíčiť a rásť, čím ho v konečnom dôsledku znehodnotia. Jednou z nevyhnutných podmienok klíčenia a rastu plesní je vhodná rovnovážna vlhkosť chlebovej kôrky a ovzdušia, čiže aktivita vody (a_v) chlebovej kôrky a relatívna vlhkosť vzduchu, ktorý ho obklopuje. Znehodnotenie sa navonok môže prejavovať zjavným plesnivením, v chuti, pachu a aj tvorbou toxických metabolitov. Podľa viacerých autorov [1—4] vyklíčením a rastom mycélií v priaznivých podmienkach zapríčiňujú plesne časté poškodenie pekárenských výrobkov, ktoré vysoko prekračuje straty spôsobené baktériami a kvasinkami, ako napr. nitkovitosť a hnidovitosť.

V literatúre je podrobne spracovaná problematika plesnivenia krájaného a baleného chleba [5—7]. Okrem kontaminácie nakrájaného chleba spórami z ovzdušia, náradia a zariadenia majú pri jeho plesnivení významnú úlohu:

Ing. Lubomír Valík, MUDr. Zdenka Jesenská, DrSc., Výskumný ústav preventívneho lekárstva, Limbová 14, 833 01 Bratislava.

Prof. Ing. Dr. Fridrich Görner, DrSc., Ing. Alžbeta Fabriciová, Katedra technickej mikrobiológie a biochémie, Chemickotechnologická fakulta SVŠT, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

veľká styčná plocha, vyššia vlhkosť striedky a vznik rovnovážnej vlhkosti medzi chlebom a obalom vhodnej pre klíčenie spór. Vyklíčenie a rast mycélií sa inhibuje aj konzerváciou chleba fungistatickými a fungicídnymi látkami, napr. kyselinou sorbovou alebo kyselinou propiónovou.

Aby sa zvýšila hygiena pri manipulácii a predĺžilo uchovanie čerstvosti výrobkov, využíva sa balenie aj celého nekrájaného chleba do plastických obalov z polypropylénu, vysokotlakového a nízkotlakového polyetylénu a celofánu. Pre vodné pary je pri 25°C a 90 % relatívnej vlhkosti najpriepustnejší celofán ($7,53 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot 24 \text{ h}$) a najmenej priepustný polypropylén ($0,06 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot 24 \text{ h}$), medzi nimi leží priepustnosť polyetylénov ($0,68$ a $0,62 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot 24 \text{ h}$) [8].

Cieľom práce bolo zistiť vplyv balenia chleba do obalu z polyetylénu za prevádzkových podmienok na aktivitu vody povrchu kôrky zabaleného chleba v porovnaní s chlebom nebaleným a stanovenie minimálnej hodnoty a_w , pri ktorej spóry vybraných mikromycét klíčia a tvoria viditeľné mycélium. Na doplnenie údajov sa robili aj merania množstva a rodov plesní v ovzduší pekárne za prevádzkových podmienok.

Materiál a metóda

Aktivita vody (a_w) kôrky baleného chleba (Slovenský výberový chlieb) sa stanovovala na základe jej sorpčných vlastností v hlavných bodoch podľa Landrocka a Proctora, ktorá je založená na ustálení rovnováhy medzi a_w vzorky a relatívnou vlhkosťou vzduchu nad definovanými roztokmi za 24 h [9]. Kôrky na stanovenie ich a_w hodnoty sa získali odrezaním dvojmilimetrovej vrstvy a ich orezaním na plochu $20 \times 20 \text{ mm}$ ostrým skalpelom.

Stanovenie minimálnej hodnoty aktivity vody pre klíčenie a rast vybraných mikromycét (plesní) sa robilo rovnakou metódou vystavením sterilnej chlebovej kôrky štandardne kontaminovanej spórmi vybraných plesní ovzdušia so známou relatívnou vlhkosťou. Rast plesní sa kontroloval denne vizuálne lupou (päťnásobné zväčšenie).

Počet spór plesní, kvasiniek a baktérií sa meral v priestore na chladnutie chleba sedimentačnou metódou a udával sa na plochu jednej Petriho misky (PM) za 10, 30 a 60 minút so Sabouraudovým agarom (SBA) (Imuna, š. p.) po inkubácii pri 30°C počas troch dní.

Rody plesní zachytených na chlebe v rovnakom prostredí a ploche sa zisťovali na chlebovej kôrke po jej inkubácii vo vlhkej komore pri 30°C.

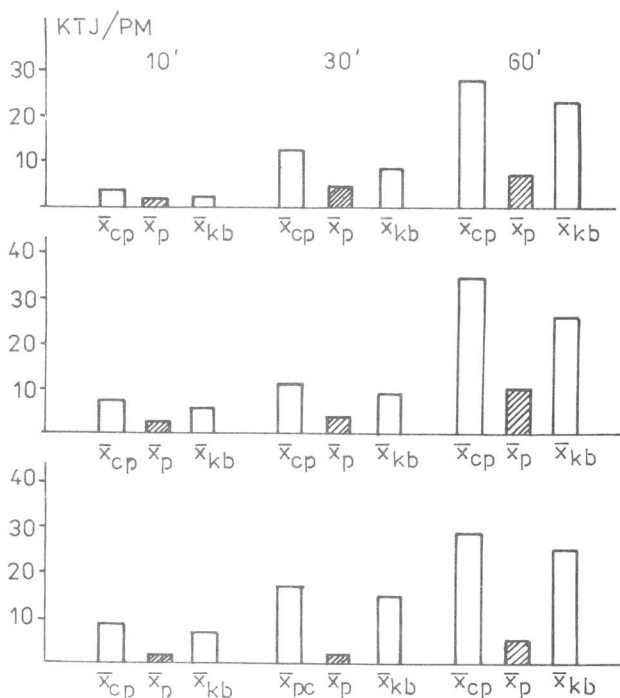
Rody plesní zo Sabouraudovho média a z chlebovej kôrky sa identifikovali

podľa ich charakteristických fruktifikačných štruktúr mikroskopicky v laktofenole v predchádzajúcom svetle a 400-násobnom zväčšení.

Kvantitatívne výsledky sme podľa potreby podrobili matematickoštatistickému hodnoteniu.

Výsledky a diskusia

Počet a rody plesní na ploche PM (63,6 cm²) v priestore na chladenie chleba. Priemerné výsledky z troch meraní znázorňuje obr. 1. Na základe týchto hodnôt bolo možno potvrdiť známu skutočnosť, že aritmetické priemery počtu kolónií



Obr. 1. Priemerný počet mikroorganizmov z ovzdušia pekárne v závislosti od času a dňa vzorkovania. \bar{x}_{cp} — celkový počet kolónií mikroorganizmov, \bar{x}_p — počet kolónií plesní, \bar{x}_{kb} — počet kolónií kvasiniek a baktérií ($n = 4$, SBA, 63,6 cm²).

Fig. 1. Average number of microorganisms from the atmosphere in the bakery in dependence on time and day of sampling. \bar{x}_{cp} — total number of microorganism colonies, \bar{x}_p — number of mould colonies, \bar{x}_{kb} — number of both yeast and bacteria colonies ($n = 4$, SBA, 63.6 cm²).

plesní, kvasiniek a baktérií na PM so SBA ($n = 4$) rastú s časom expozície; rast ale nebol v závislosti od času lineárny. To možno vysvetliť nepravidelnou sedimentáciou prachu so spórmi plesní v dôsledku prúdenia vzduchu. Ďalej vidieť, že na médiu bolo menej plesní ako spolu kvasiniek a baktérií. Na ploche PM bolo po 60 min expozície 10,25—34,00 KTJ plesní/PM, t. j. medzi 17,8—30,3 % z celkového počtu kolónií.

Zo všetkých PM so SBA bolo izolovaných 567 kolónií plesní, ktoré boli mikroskopicky identifikované v laktófenole podľa ich charakteristických fruktifikačných štruktúr pri 400-násobnom zväčšení. Tabuľka 1 zhrňa početnosť ich rodov vyrastených na SBA za tri dni pri 30 °C. Prevládali rody: *Penicillium* (36,9 %), *Cladosporium* (32,1 %), *Aspergillus* (22,1 %); menej boli zastúpené rody *Stemphylium* (3,9 %) a *Rhizopus* (3,5 %) a ojedinele sa zistili rody *Mucor*, *Geotrichum* a *Fusarium*. Ak porovnáme tieto kvalitatívne nálezy s údajmi iných autorov [2, 3, 10, 11], môžeme konštatovať, že naše sa zhodujú s citovanými v tom, že aj u nich prevládali rody *Penicillium* a *Aspergillus*; rod *Cladosporium* sa ale u nich vyskytoval menej často.

Tabuľka 1. Početnosť rodov plesní z 567 kolónií izolovaných z SBA a zo 116 kolónií izolovaných z chlebovej kôrky (ovzdušie v priestore pre chladnutie chleba)

Table 1. Number of mould genera isolated from SBA and from bread crust (atmosphere in the room for bread cooling)

| Rod ¹ | SBA | | Chlebová kôrka ² | |
|---------------------|--------------------|------|-----------------------------|------|
| | Počet ³ | % | Počet ³ | % |
| <i>Penicillium</i> | 209 | 36,9 | — | |
| <i>Cladosporium</i> | 182 | 32,1 | — | |
| <i>Aspergillus</i> | 125 | 22,1 | 97 | 83,6 |
| <i>Stemphylium</i> | 22 | 3,9 | — | |
| <i>Rhizopus</i> | 20 | 3,5 | — | |
| <i>Mucor</i> | 3 | 0,5 | 18 | 15,5 |
| <i>Fusarium</i> | 3 | 0,5 | — | |
| <i>Geotrichum</i> | 3 | 0,5 | — | |
| <i>Paecilomyces</i> | — | | 1 | 0,9 |
| Σ | 567 | 100 | 116 | 100 |

¹ Genus; ² Bread crust; ³ Number.

Kvantitatívne výsledky nemožno porovnávať s údajmi literatúry, lebo nie sú v nich vždy presne udané experimentálne podmienky stanovenia.

Počet a rody plesní vyrastených priamo na chlebovej kôrke plochy 63,6 cm². Chlieb bol odobraný priamo z pece a uložený spolu s PM so SBA v priestore na chladenie chleba. Teplota povrchu chleba bola na začiatku expozície Petriho

misiek a jeho kôrky asi 75 °C a na konci mala teplotu okolia. Priemerné počty kolónií plesní ($n = 4$) vyrastených na 63,6 cm² plochy kôrky po jej inkubácii pri 30 °C vo vlhkej komore boli významne nižšie ako na rovnakej ploche so SBA. Bez ohľadu na deň stanovenia a čas expozície bol ich počet v rozmedzí 1,75—4,50 KTJ/63,6 cm². Tieto počty boli asi jednou desatinou počtu kolónií plesní na SBA za rovnakých podmienok.

Zo všetkých vyšetrovaných chlebových kôrok sa izolovalo 116 kolónií plesní, ktoré sa rodovo identifikovali mikroskopickou metódou. Ako z hodnôt zhrnutých v tab. 1 vidieť, bola identifikovaná škála rodov plesní rastúcich na zvlhčenej chlebovej kôrke podstatne nižšia ako na SBA. Zo 116 identifikovaných kolónií vysoko prevládal rod *Aspergillus* (83,6 %), ďaleko za ním nasledoval rod *Mucor* (15,5 %) a identifikovaný bol aj rod *Paecilomyces* (0,9 %), ktorý sa na SBA nevyskytol. Možno namietat, že z chlebovej kôrky izolovaných a identifikovaných kolónií plesní bolo podstatne menej (116 kolónií) ako izolovaných zo SBA (567 kolónií), čo znižuje porovnateľnosť výsledkov. Výrazná prevaha aspergilov na chlebovej kôrke bola však taká nápadná, že s najväčšou pravdepodobnosťou možno tieto výsledky považovať za dôveryhodné. Auerman a kol. [12] tiež uvádzajú, že na chlebe všeobecne prevládajú plesne rodu *Aspergillus*.

Aktivita vody (a_v) kôrky nebaleného a baleného chleba. Chleby použité na skúmanie a_v ich kôrky boli nebalené i balené do polyetylénovej fólie. Počas pokusov boli uložené v laboratóriu na bezprašnom mieste pri teplote 23—26 °C a relatívnej vlhkosti 50—60 % miestnosti.

Aktivitu vody kôrky nebaleného chleba sme merali 15 h po jeho upečení. Namerané hodnoty ($n = 10$) boli v rozmedzí 0,816–0,877 s priemernou hodnotou ($p = 0,05$) $a_v = 0,840 \pm 0,006$.

Aktivita vody kôrky chleba baleného do polyetylénovej fólie sa merala tri dni po jeho upečení. Balenie chleba do fólie sa robilo 5 h po upečení a ochladení na teplotu miestnosti. Namerané hodnoty ($n = 10$) boli v rozmedzí 0,925—0,965 s priemernou hodnotou ($p = 0,05$) $a_v = 0,939 \pm 0,003$.

Rozdiel medzi priemernými hodnotami a_v kôrky nebaleného a baleného chleba bol približne 0,1 jednotky a_v (0,099), čo po rešpektovaní chýb merania je nielen zo štatistického, ale aj mikrobiologického hľadiska významný rozdiel.

Vysoká priemerná a_v hodnota kôrky baleného chleba $a_v = 0,939 \pm 0,003$ upozorňuje na vytvorenie vhodných podmienok pre rozvoj plesní na chlebe. Napr. podľa [13] väčšina plesní nerastie až pri hodnotách $a_v = 0,87—0,80$ (xerofilné plesne až pri $a_v = 0,75—0,65$). Kôrka nebaleného chleba s jej priemernou a_v hodnotou $0,840 \pm 0,006$ je asi uprostred intervalu inhibície rastu bežných plesní.

Minimálna hodnota aktivity vody potrebná pre rast niektorých plesní. Na overenie možnosti rastu plesní na kôrke chleba baleného do polyetylénovej fólie sme robili pokusy na stanovenie minimálnej a_v hodnoty niektorých zbierkových

mikromycét z rodu *Aspergillus*: *A. flavus*, *A. niger*, *A. glaucus* (skupina), *A. terreus*, *Mucor fuscus* a *Paecilomyces* sp. Pripravili sme škálu roztokov NaCl s hodnotami a_v 0,98—0,80 s odstupňovaním po 0,01 jednotky a_v do hermeticky uzavierateľných nádob. Ako médium pre rast plesní sme použili kôrku zo Slovenského výberového chleba, na ktorej podľa skúseností dobre rástli kmene plesní rodu *Aspergillus*. Kôrky sme 60 min sterilizovali pri 105 °C, rovnako veľké a tenké kúsky položili na nosič v mernej nádobe a 24 h sme ich v nich nechali na vyrovnanie aktivity vody s a_v príslušného roztoku NaCl. Takto upravené rovnaké vzorky kôrok sme potom naočkovali dobre vysporulovanými plesňami najskôr pasážovanými cez chlebové kôrky a potom pestovanými na SBA. Kôrky sme očkovali vždy rovnako, aby sme dosiahli čo najuniformnejšie inokulum. Nádobu s príslušnými roztokmi NaCl a vzorkami naočkovanvej chlebovej kôrky sme hermeticky uzavreli a uložili pri teplote miestnosti, ktorá kolísala v rozmedzí 23 až 26 °C. Rast plesní sme kontrolovali voľným okom a lupou pri päťnásobnom zväčšení. Tabuľka 2 zhŕňa minimálne a_v hodnoty, pri ktorých bol ešte v udanom čase badateľný rast plesne. Súčasne sú v tabuľke uvedené aj počty dní, keď sa dal pozorovať rast plesne pri $a_v = 0,94$, ktorá zodpovedá priemernej a_v hodnote kôrky baleného chleba tri dni po jeho zabalení ($a_v = 0,939 \pm 0,003$). Literatúra uvádza aj minimálne hodnoty a_v pre rast rôznych plesní. Podľa údajov Corryovej [14] pre *Paecilomyces variotii* min. $a_v = 0,84$; *Aspergillus flavus* — min. $a_v = 0,78$; *A. niger* — min. $a_v = 0,78$; *A. terreus* — min. $a_v = 0,78$; skupina *A. glaucus* — min. $a_v = 0,75$ —0,71. Minimálne a_v hodnoty stanovené pri našich pokusoch sa s týmito približne zhodovali pre mikromycétu *Paecilomyces* sp. (inkubácia 21 d) a so skupinou *Aspergillus glaucus* (inkubácia 12 d). U ostatných aspergilov, ktoré sme testova-

Tabuľka 2. Minimálne hodnoty a_v , pri ktorých za daný čas (d) bol badateľný rast plesne na chlebovej kôrke, minimálne hodnoty a_v podľa Corryovej (1988) a čas, za ktorý bol badateľný rast pri priemernej a_v hodnote baleného chleba ($a_v = 0,94$)

Table 2. Minimal a_w values at which the growth of moulds was recognizable in the bread crust in the given time (d), minimal a_w values according to Corry (1988) and the time when the growth was recognizable at the mean a_w value of packed loaf of bread ($a_w = 0.94$)

| Plesen ¹ | Čas pri min. a_v ² | min. a_v (Corry, 1988) | Čas pri ³ $a_v = 0,94$ |
|--------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|
| <i>Paecilomyces</i> sp. | 21 d 0,83 | 0,84 | 2 d |
| <i>Aspergillus flavus</i> | 13 d 0,85 | 0,78 | 3 d |
| <i>A. niger</i> | 6 d 0,86 | 0,78 | 2 d |
| aspergil sk. <i>A. glaucus</i> | 12 d 0,77 | 0,75—0,71 | 1 d |
| <i>A. terreus</i> | 6 d 0,87 | 0,78 | 2 d |
| <i>Mucor fuscus</i> | 13 d 0,85 | — | 2 d |

¹ Mould; ² Time at minimal a_w ; ³ Time at.

li, boli minimálne hodnoty a_v pre rast vyššie, čo by mohol spôsobovať aj kratší čas ich inkubácie pri príslušných a_v hodnotách (14 d).

Výsledky nášho vyšetrovania aktivity vody poukázali na významné rozdiely medzi baleným a nebaleným chlebom. Rozdiel nameraných hodnôt a_v kôrky baleného a nebaleného chleba 0,1 jednotky je z mikrobiologického hľadiska aj po rešpektovaní chýb merania rozdiel významný. Tento fakt sa potvrdil počas sledovania rastu 6 vybraných mikromycét na chlebovej kôrke pri a_v hodnotách 0,99—0,80. Kým na kôrke nebaleného chleba pri a_v hodnote 0,84 sme z testovaných mikromycét pozorovali rast najskôr po 7. dni v jednom prípade (mikromycéta zo skupiny *Aspergillus glaucus*), pri priemernej hodnote a_v kôrky baleného chleba 0,94 5 zo 6 testovaných plesní tvorili mycélium po 1, resp. 2 dňoch.

Literatúra

1. HAMPL, B.: Potravinárska mikrobiologie. Praha SNTL 1968. 276 s.
2. GEMEINHARDT, H.—BERGMANN, I., Zbl. Bakt. Abt. II, 132, 1977, s. 49.
3. JESENKÁ, Z.: Mikroskopické huby v požívatinách a v krmivách. Bratislava, Alfa 1987. 320 s.
4. TICHÁ, J.: Mikroorganismy a jini škůdci v mlýnsko-pekárenském průmyslu a ochrana proti nim. Praha, SNTL 1988. 152.
5. SPICHER, G., Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B, 170, 1980, s. 508.
6. KAČEŇÁK, I., Bäcker u. Konditor, 27, 1979, s. 354.
7. KAČEŇÁK, I., Mlýnsko-pekárenský Prům., 24, 1978, s. 274, 371.
8. KAČEŇÁK, I., Mlýnsko-pekárenský Prům., 24, 1978, s. 246.
9. BEM, Z.—LEISTNER, L., Fleischwirtschaft, 1970, s. 1412.
10. TYLLIEN, H. a kol., Nord. Vet.-Med., 29, 1977, s. 546.
11. REISS, J.: Schimmelpilze und Mykotoxine in Mahlprodukten und Backwaren. In: J. Reiss, Mykotoxine in Lebensmitteln. Stuttgart—New York, Gustav Fischer Verlag 1981. s. 381.
12. AUERMAN, L. J.: Technologija chlebopekarnogo proizvodstva. Moskva, Piščevaja promyšlennost' 1972, s. 407.
13. MOSSEL, D. A. A.: Microbiology of Foods. The University of Utrecht 1977. 165 s.
14. CORRY, J. E. L.: Relationships of water activity to fungal growth. In: L. R. Beuchat, Food and Beverage Mycology. Westport, CT, AVI Publ. Co. 1988, s. 45.

Do redakcie došlo 14. 2. 1990

Активность воды (a_w) корки неупакованного и упакованного хлеба

Резюме

Активность воды (a_w) корки остывшего «Словацкого отборного хлеба» (в комнате при температуре 23—26 °C и относительной влажности ОВ = 50—60 %) была 15 часов после его выпечки в диапазоне $a_w = 0,816—0,877$ ($n = 10$). Ее средняя величина была $a_w = 0,840 \pm 0,006$ ($p = 0,05$).

Активность воды корки одинакового остывшего хлеба и 5 часов после выпечки упакованного в полиэтиленовую пленку, была через 3 дня в одинаковых условиях в диапазоне $a_w = 0,939 \pm 0,003$ ($p = 0,05$).

На корке неупакованного хлеба росли во влажной камере в течение 3 дней, при температуре 30 °C только колонии штамма *Aspergillus* (83,6 %) и колонии штамма *Mucor* (15,5 % из 116 колоний).

В работе рассматривается особый процесс определения минимальной a_w величины для роста микромицет на корке хлеба и обсуждаются возможности их роста на корке неупакованного и упакованного хлеба с точки зрения их минимальной a_w величины.

Water activity in crust of unpacked and packed loaves of bread

Summary

Water activity (a_w) in crust of Slovak special bread cooled in a room with the temperature from 23 to 26 °C and relative humidity about 50—60%, ranged from 0.816 to 0.877 ($n = 10$) after 15 hours since the bread have been baked. The average value of water activity was $a_w = 0.840 \pm 0.006$ ($p = 0.05$).

In that case the bread was cooled under the same conditions as above, and it was covered with the polyethylene foil; the water activity in crust ranged round the value of 0.939 ± 0.003 ($p = 0.05$) after 3 days.

In the crust of unpacked bread, there only the colonies of *Aspergillus* (83.6%) and *Mucor* genera (15.5% from 116 colonies) were grown there. The conditions were as follows: the humid room, temperature 30 °C, period 3 days.

In this paper, the original way of determination of minimal a_w value for the growth of micromycetes in bread crust is presented. In addition, the possibilities of their growth in crust of packed and unpacked loaves of bread were discussed according to the minimal a_w values.