

Dr inż. Dorota DEC,
Mgr inż. Monika STEFANIAK
Dr inż. Sławomir OBIDZIŃSKI
Zakład Inżynierii Rolno-Spożywczej i Leśnej
Dr Jolanta PIEKUT
Zakład Chemii

Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska, Politechnika Białostocka

OCENA MIKROBIOLOGICZNA PRODUKTÓW ZBOŻOWYCH DOSTĘPNYCH NA RYNKU WOJEWÓDZTWA PODLASKIEGO®

Evaluation of microbial products available on the market cereal province of Podlasie®

Słowa kluczowe: mąka, podłoże Sabourauda, grzyby z rodzajów *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicilium*, mikotoksyny.

*Celem artykułu jest przedstawienie wyników badań dotyczących oceny mikrobiologicznej typów i rodzajów mąki dostępnej na rynku woj. podlaskiego na obecność grzybów pleśniowych. W dwunastu rodzajach i typach mąki dokonano identyfikacji grzybów pleśniowych z rodzajów *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicilium*, gdyż potencjalnie mogą stwarzać zagrożenie przez wytwarzanie szkodliwych dla ludzi i zwierząt mikotoksyn.*

Key words: flour, ground Sabouraud, fungi of the genera *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicilium*, mycotoxins.

*This article presents a study on the microbial assessment of the presence of fungi of different types and kinds of flour available on the market in the province of Podlasie. Twelve types of flour were identification for the presence of fungi of the genera *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, as can potentially produce harmful to humans and animals mycotoxins.*

WSTĘP

Ziarno zbóż użytkowane jest głównie w przemyśle spożywczym do przerobu na mąkę, do produkcji kasz, płatków śniadaniowych, piwa oraz jako surowiec z przeznaczeniem na paszę. W związku z dużym arealem uprawy zbóż ważna jest ochrona przed chorobami i patogenami. W zasadzie, wszystkie grzyby porażające zboża mogą być bezpośrednio lub pośrednio przyczyną znacznych strat w plonie oraz zmniejszać jakość surowca. [9]

Grzyby pleśniowe, które we wszystkich strefach klimatycznych porażają rośliny o podstawowym znaczeniu gospodarczym, powodują znaczne straty plonów. Związane jest to z ich rozpowszechnieniem w środowisku, wysoką patogennością i toksynotwórczością [8]. Patogeny należące do rodzaju *Fusarium* atakują rośliny zbożowe we wszystkich fazach ich rozwoju wywołując wiele chorób, jak m. in. przedwzrostową i powzrostową zgorzel siewek, fuzaryjną zgorzel podstawy źdźbła, korzeni oraz fuzariozę kłosów [14, 17]. W uprawach zbóż *Fusarium*, w zależności od fazy rozwojowej, obniżają plon ziarna od 7 do 70%, pogarszają jego jakość, zdolność kiełkowania a nawet parametry wypiekowe mąki [11]. Ziarna porażone przez grzyby patogenne nie można wykorzystać jako materiału siewnego ani przeznaczać do produkcji żywności czy paszy, ze względu na potencjalne zagrożenie mikotoksynami [10].

Rozwój toksykologii oraz rosnąca świadomość zagrożeń, jakie niosą mikotoksyny wytwarzane przez grzyby pleśniowe, spowodowały duże zainteresowanie badaczy tym

problemem. Powstają liczne prace naukowe traktujące zarówno o obecności w surowcach i produktach spożywczych pleśni oraz produkowanych przez nie toksyn, jak również o metodach ich wykrywania i zwalczania.

METODYKA BADAŃ

Materiałem badawczym były mąki: pszenna (6 typów), żytnia (3 typy), kukurydziana, gryczana i ryżowa dostępne na rynku woj. podlaskiego. Próbkę do badań zostały pobrane w ilości 10 g, zgodnie z normą PN-ISO 13690:2000 [18]. Badania mikrobiologiczne zostały wykonane zgodnie z normą PN-ISO 7954:1999 [19]. Posiewy wykonywano na podłożu selektywnym Sabourauda z chloramfenikolem do hodowli grzybów i drożdży. Inkubacja grzybów przebiegała w cieplarni w temperaturze 25°C, odczytów dokonywano po 4 dniach. Identyfikację grzybów pleśniowych co do rodzaju wykonano na podstawie cech makro- i mikroskopowych, uwzględniając struktury morfologiczne takie jak: budowa strzępek, zarodni i zarodników oraz trzonek konidialnych, zespołu konidialnego lub zarodników konidialnych. W mąkach wykonano również badania wilgotności, aktywności wody i składu granulometrycznego. Pomiar wilgotności przeprowadzono na wadze suszarce, do pomiaru pobierano 10g materiału, ważono z dokładnością do 0,001g (PN-ISO-712:2009) [20]. Aktywność wody w mące mierzono w aparacie Aqua Lab, o dokładności $\pm 0,003$ w temp. $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Pomiar przeprowadzono w 5 powtórzeniach.

WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA

W przeprowadzonych badaniach dokonano obliczeń ilości kolonii grzybów wyrosłych na podłożu selektywnym Sabourauda z chloramfenikolem do hodowli grzybów i drożdży. Następnie zidentyfikowano grzyby pleśniowe co do rodzajów: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicilium* (tab. 1). Po analizie wyników stwierdzono, że największą liczbę kolonii drobnoustrojów odnotowano w mące pszennej tortowej typ 450 (125 jtk/g), w mące orkiszowej razowej typ 2000 (119 jtk/g) i w żytniej razowej typ 2000 (109 jtk/g), zaś najmniejsza ilość kolonii była w mące żytniej typ 1200 (54 jtk/g) i w mące gryczanej (57 jtk/g). Po rozpoznaniu grzybów z rodzajów *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicilium* w badanych mąkach zaobserwowano najwięcej kolonii pleśni należących do rodzaju *Penicilium*. Konidiofor grzybów tego rodzaju składa się z rami, ramuli, mutuli i fialidów, na których osadzone są konidia, struktury widoczne pod mikroskopem (fot. 1, 2). Z grzybni wyrastają pionowo wzniesione strzępki, które na szczycie rozwidlają się wielokrotnie. Na końcach strzępek powstają zarodniki tworzące łańcuszki. Sporadycznie zaś występowały kolonie pleśni z rodzaju *Alternaria*. Konidia tych grzybów są stożkowate, przypominające maczugi i często tworzą łańcuszki (fot. 3 i 4). Pleśń z rodzajów *Aspergillus*, *Fusarium* występowały w małych ilościach we wszystkich badanych mąkach. Konidiofor grzybów rodzaju *Fusarium* składa się z fialidów, a także dużych, sierpowatych, wrzecionowatych, podzielonych makrokonidiów oraz małych, kulistych mikrokonidiów. Są to struktury wyraźnie widoczne pod mikroskopem (fot. 5, 6). Konidiofor grzybów rodzaju *Aspergillus* składa się z pęcherzyka, osadzonych na nim mutuli, a następnie fialidów, na których znajdują się okrągłe konidia. Zarodnia oraz zarodniki są dobrze widoczne pod mikroskopem (fot. 7 i 8). Konidiofor tworzy strukturę, która przypomina kropidło. Twarużek i współautorzy (2013) [16] zwracają uwagę na coraz większe znaczenie grzybów z rodzaju *Fusarium*. Podkreślają, że grzyby te w poddanym analizie ziarnie żyta stanowiły prawie połowę średniego udziału wszystkich pleśni.

Tabela 1. Ilość grzybów pleśniowych w analizowanych mąkach [jtk/g]

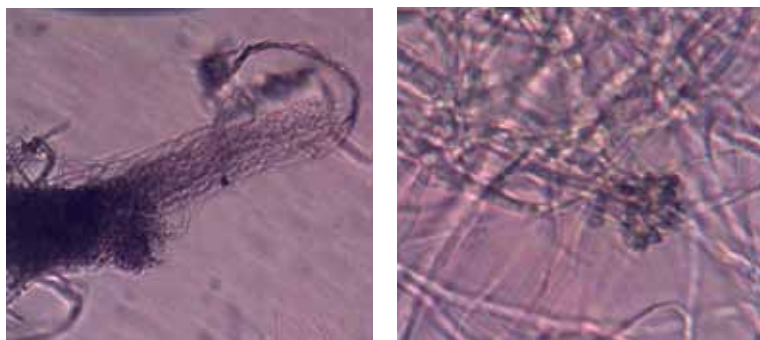
Table 1. Number of fungi in the analyzed flours [cfu/g]

Typ mąki	Ogólna liczba kolonii grzybów [jtk/g]	Liczba kolonii grzybów wytwarzających mikrotoksyny [jtk/g]	Grzyby pleśniowe z rodzajów
Mąka pszena tortowa typ 450	125	1	<i>Alternaria</i>
		18	<i>Aspergillus</i>
		2	<i>Fusarium</i>
		48	<i>Penicilium</i>
Mąka pszena typ 500	66	-	<i>Alternaria</i>
		7	<i>Aspergillus</i>
		2	<i>Fusarium</i>
Mąka pszena krupczatka typ 500	76	22	<i>Penicilium</i>
		-	<i>Alternaria</i>
		5	<i>Aspergillus</i>
		1	<i>Fusarium</i>
		9	<i>Penicilium</i>

Mąka pszena typ 550	97	-	<i>Alternaria</i>
		7	<i>Aspergillus</i>
		-	<i>Fusarium</i>
		34	<i>Penicilium</i>
Mąka pszena z ziarnem słonecznika	79	-	<i>Alternaria</i>
		9	<i>Aspergillus</i>
		-	<i>Fusarium</i>
		23	<i>Penicilium</i>
Mąka pszena razowa typ 2000	84	-	<i>Alternaria</i>
		5	<i>Aspergillus</i>
		-	<i>Fusarium</i>
		23	<i>Penicilium</i>
Mąka orkiszowa razowa typ 2000	119	-	<i>Alternaria</i>
		5	<i>Aspergillus</i>
		-	<i>Fusarium</i>
		14	<i>Penicilium</i>
Mąka żytnia typ 720	76	-	<i>Alternaria</i>
		5	<i>Aspergillus</i>
		7	<i>Fusarium</i>
		32	<i>Penicilium</i>
Mąka żytnia typ 1200	54	2	<i>Alternaria</i>
		6	<i>Aspergillus</i>
		3	<i>Fusarium</i>
		25	<i>Penicilium</i>
Mąka żytnia typ 2000	109	-	<i>Alternaria</i>
		8	<i>Aspergillus</i>
		7	<i>Fusarium</i>
		26	<i>Penicilium</i>
Mąka gryczana	57	-	<i>Alternaria</i>
		12	<i>Aspergillus</i>
		3	<i>Fusarium</i>
Mąka kukurydziana	76	25	<i>Penicilium</i>
		2	<i>Alternaria</i>
		7	<i>Aspergillus</i>
		9	<i>Fusarium</i>
Mąka ryżowa	73	31	<i>Penicilium</i>
		5	<i>Alternaria</i>
		3	<i>Aspergillus</i>
		9	<i>Fusarium</i>
		18	<i>Penicilium</i>

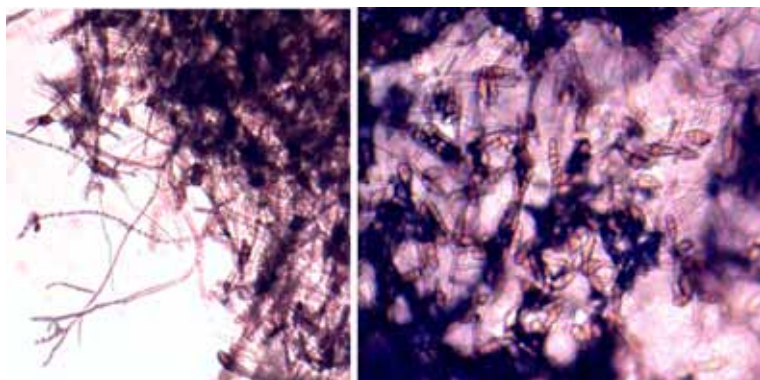
Źródło: Opracowanie własne

Source: The own study



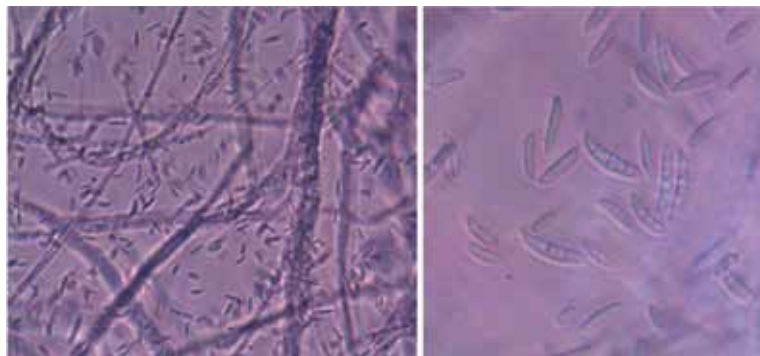
Fot. 1., 2. Obraz mikroskopowy grzybów z rodzaju *Penicillium*.
Fig. 1., 2. Microscopic picture of fungi of the genera *Penicillium*.

Źródło: Opracowanie własne / Source: The own study



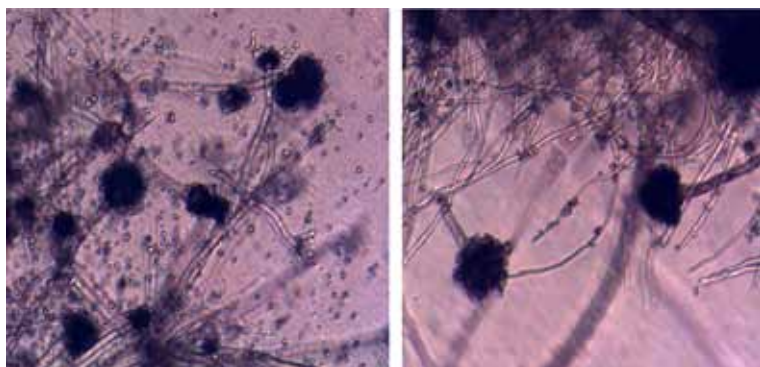
Fot. 3., 4. Obraz mikroskopowy grzybów z rodzaju *Alternaria*.
Fig. 3., 4. Microscopic picture of fungi of the genera *Alternaria*.

Źródło: Opracowanie własne / Source: The own study



Fot. 5., 6. Obraz mikroskopowy grzybów z rodzaju *Fusarium*.
Fig. 5., 6. Microscopic picture of fungi of the genera *Fusarium*.

Źródło: Opracowanie własne / Source: The own study



Fot. 7., 8. Obraz mikroskopowy grzybów z rodzaju *Aspergillus*.
Fig. 7., 8. Microscopic picture of fungi of the genera *Aspergillus*.

Źródło: Opracowanie własne/Own work / Source: The own study

W badanych mąkach wilgotność kształtowała się średnio na poziomie 14,3%, największą wilgotność odnotowano w mące żytniej typ 720 a najmniejszą w mące pszennej typu 450. Pomiary aktywności wody wynosiły średnio 0,72, są to warunki, przy których następuje rozwój grzybów pleśniowych m. in. z rodzajów *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* i *Penicillium* dochodzi do wytwarzania szkodliwych mikotoksyn w mąkach. Mikotoksyny obok działania toksycznego na ludzi i zwierzęta, wykazują również właściwości mutagenne, rakotwórcze, estrogenne a ich szkodliwe działanie stwierdza się już przy wystąpieniu niewielkich stężeń. Zanieczyszczenie mikotoksynami żywności i pasz w znacznym stopniu zależy od warunków środowiska, które mogą umożliwiać i przyspieszać rozwój pleśni. Mikotoksyny są związkami niskocząsteczkowymi, słabo polarnymi i nie ulegają rozkładowi podczas pasteryzacji czy sterylizacji w wyższych temperaturach, ale ulegają degradacji w środowisku alkalicznym oraz pod wpływem działania promieniowania UV [3, 7, 12]. Pod względem toksykologicznym w skali światowej istotne znaczenie ma 5 klas mikotoksyn: alfatoksyny, fumonizyny, zearaleon, ochratoksyny i trichoteceny [15]. Bartels i Rodemann (2003) [1] oraz Bhat i Vasanthi (2003) [2] duży nacisk kładą na możliwości ograniczenia występowania pleśni w produktach spożywczych poprzez działania prewencyjne takie jak stosowanie prawidłowego płodozmianu, a przede wszystkim utrzymanie odpowiedniej wilgotności podczas przechowywania ziarna po zbiorach.

Pocieszające jest to, że choć badania potwierdzają obecność mikotoksyn w zbożach, przetworach zbożowych oraz w mące, rzadko przekroczone zostają najwyższe dopuszczalne normy, a więc produkty żywnościowe dostępne na polskim rynku w większości spełniają obowiązujące wymagania dotyczące zanieczyszczeń żywności mikotoksynami [4, 5, 13].

WNIOSKI

1. Przeprowadzone badania wykazały obecność grzybów pleśniowych we wszystkich rodzajach i gatunkach mąki. Uzyskane wyniki potwierdzają problem występowania grzybów o potencjale toksynotwórczym.
2. Najczęściej i w największej ilości zaobserwowano w badanych mąkach grzyby z rodzaju *Penicillium* oraz *Aspergillus*.
3. Wpływu na ilość grzybów pleśniowych w mące nie miał stopień rozdrobnienia, ale miało użycie do przemiału całego ziarna z okrywą owo-cowo-nasienną. Im więcej okrywy, tym więcej pleśni.
4. Zachowanie czystości mikrobiologicznej jest istotnym wskaźnikiem jakości mąki. Ziarno należy przechowywać w odpowiednich warunkach, aby ograniczyć w nim rozwój szkodliwych drobnoustrojów.

LITERATURA

- [1] **BARTELS G., RODEMANN B. 2003.** *Strategien zur Vermeidung von Mykotoxinen im Getreide.* Gesunde Pflanzen, Vol. 55 (5), 125-135.
- [2] **BHAT, R.V., VASANTHI, S. 2003.** *Mycotoxin food safety risks in developing countries.* Food Safety in Food Security and Food Trade. Vision 2020 for Food, Agriculture and Environment, Focus 10, brief 3 of 17, pp. 1-2.
- [3] **BITTENCOURT A.B.F., OLIVEIRA C.A.F., DILKIN P., CORRÊA B. 2005.** *Mycotoxin occurrence in corn meal and flour traded in São Paulo, Brazil.* Food Control, 16, 117-120.
- [4] **CABAÑAS R., BRAGULAT M.R., ABARCA M.L., CASTELLÁ G., CABAÑES F.J. 2008.** *Occurrence of *Penicillium verrucosum* in retail wheat flours from the Spanish market.* Food Microbiology, 25, 642-647.
- [5] **CEGIELSKA-RADZIEJEWSKA R., SZABLEWSKI T., KAROLCZAK K., KACZMAREK A., KIJOWSKI J. 2009.** *Ocena zawartości mikotoksyn w zbożach paszowych i paszach metodą immunoenzymatyczną.* Nauka. Przyroda. Technologie, 3 (4), 1-9.
- [6] **DEC D. 2011.** *Aktywność wody w otrębach i śrutach zbożowych.* Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego, tom 21/38, nr 1/2011, 46-49.
- [7] **GHALI R., HMAISSIA-KHLIFA K., GHORBEL H., MAAROUFI K., HEDILI A. 2008.** *Incidence of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in tunisian foods.* Food Control, 19, 921-924.
- [8] **KHAN M.R., FISCHER S., EGAN D., DOOHAN F.M. 2006.** *Biological control of *Fusarium* seedling blight disease of wheat and barley.* Phytopathology 96: 386-394.
- [9] **KORBAS M. 2005.** *Ochrona zbóż po ukazaniu się liścia flagowego.* Ochrona Roślin 5: 29-32.
- [10] **KORBAS M. 2005.** *Wpływ grzybów chorobotwórczych na ilość i jakość ziarna pszenicy. Zboże wysokiej jakości.*, Agro-Serwis, Warszawa, 66-67.
- [11] **KORBAS M., HOROSZKIEWICZ-JANKAJ. 2007.** *Wpływ ochrony roślin na jakość plonu zbóż.* Wieś Jutra 4 (105): 29-32.
- [12] **ŁOZOWICKA B. 2009.** *Zanieczyszczenia chemiczne w żywności pochodzenia roślinnego.* Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin, 49 (4), 2071-2080.
- [13] **MRUCZYK K., JESZKA J. 2013.** *Ocena poziomu zanieczyszczeń mikotoksynami wybranych produktów spożywczych z terenu województwa lubuskiego.* Bromatologia i Chemia Toksykologiczna, nr XLVI, 1, 89-95.
- [14] **NOWAK W., SOWIŃSKI J., PIETR S.J., KITA W. 2005.** *Wpływ sposobów ochrony pszenicy ozimej na jakość ziarna konsumpcyjnego.* Pamiętniki Puławskie 139: 117-127.
- [15] **STĘPIEŃ M., SOKÓŁ-LESZCZYŃSKA B., ŁUCZAK M. 2007.** *Mykotoksyny, produkty spożywcze a zdrowie człowieka.* Postępy Mikrobiologii, 46, 167-177.
- [16] **TWARUŻEK M., GRAJEWSKA-WANAT N., BŁAJET-KOSICKA A., GRAJEWSKI J. 2013.** *Occurrence of *Fusarium* and major mycotoxins in cereal grains harvested in 2011-2012.* Progress in Plant Protection/Postępy w ochronie roślin, nr 53 (4), 801-806.
- [17] **WEBER R. 2007.** *Zagrożenie i sposoby ograniczania chorób fuzaryjnych pszenicy.* Postępy Nauk Rolniczych, 2: 19-31.
- [18] **PN-ISO 13690:2000** – *Ziarno zbóż, roślin strączkowych i przetwory zbożowe – Pobieranie próbek z partii statycznych.*
- [19] **PN-ISO 7954:1999** – *Mikrobiologia – Ogólne zasady oznaczania drożdży i pleśni – Metoda płytkowa w 25°C*
- [20] **PN-EN ISO-712:2012** - *Ziarno zbóż i przetwory zbożowe -- Oznaczanie wilgotności -- Metoda odwoławcza.*