

MARIA BOJANKIEWICZ

BADANIE STANU ZAKAŻENIA PIECZYWA PODCZAS CYKLU PRODUKCYJNEGO

Z Zakładu Badania Żywności i Przedmiotów Użytku PZH

Autorka ustaliła metodykę badania mikrobiologicznego cyklu produkcyjnego w przemyśle piekarniczym oraz wskazała na udział poszczególnych surowców w zakażeniu produktu końcowego.

Pewne gatunki pieczywa ulegają, zwłaszcza w porze letniej, charakterystycznemu zepsuciu, którego objawem jest śluzowacenie miękiszu połączone z występowaniem zmienionego, nieprzyjemnego zapachu. Czasem występuje tylko zmieniony zapach.

Niepożądane te zmiany powodowane są przez tlenowe bakterie przetrwalnikujące, które w cieście wytrzymują temperaturę pieczenia i podczas przechowywania pieczywa w warunkach sprzyjających ich rozwojowi wywołują zepsucie miękiszu.

Zagadnieniem, tym zainteresował się *Laurent* (1), który w 1885 r. w Belgii wyizolował ze śluzowatego pieczywa drobnoustrój przetrwalnikujący, nazywając go *Bacillus panificans*. Dalsze wyodrębnienie tych bakterii z ziarna i gleby wykazało źródło zakażenia. W rok później *Flügge* (2) opisuje drobnoustrój znany jako laseczka ziemniaczana pod nazwą *Bac. mesentericus vulgatus*. Następni badacze jako przyczynę psucia się pieczywa uznali następujące bakterie: *Kratschmer* i *Niemilowicz* — *Bac. mesentericus vulgatus* (1), *Vogel* — *Bac. mesentericus panis viscosus* I i II (1), *Fuhrman* — *Bac. panis* (1). Doświadczenia *Russela* (1) i *Ecklesa* (1) dowiodły wytrzymałości *Bac. mesentericus vulgatus* na temperaturę pieczenia chleba. Doświadczenia *Allena* (1), który 15 tlenowymi laseczkami przetrwalnikującymi o cechach zbliżonych do *Bac subtilis* zaszczerpił ciasto i wykazał, że wszystkie powodowały w określonych warunkach zepsucie miękiszu, skierowały uwagę na udział tych bakterii w powstawaniu choroby chleba. Na laseczkę sienną zwrócili również uwagę *Amos* i *Kent Jones*, wskazując na częstą obecność w mące *Bac subtilis*, drobnoustroju prawie identycznego z drobnoustrojami powodującymi śluzowacenie, który jednak wg nich śluzowacenia nie wywołuje (1). Natomiast *Streuli* i *Staub* (3) twierdzą, że wszystkie szczepy *Bac. subtilis* powodują zepsucie chleba, a tylko niektóre z nich wywołują zmiany chemiczne prowadzące do śluzowacenia.

Obecnie wg *Bergeya* (4) grupa drobnoustrojów typu *Bac. mesentericus* zaliczana jest do gatunku *Bac subtilis* i opisane przez różnych autorów następujące gatunki uważane są za identyczne z *Bac. subtilis*, bądź też stanowią jego odmiany: *Bac. mesentericus fuscus* *Flügge*, *Bac. mesentericus Trevisan*, *Bac. vulgatus* *Flügge*, *Bac. vulgatus* *Trevisan*, *Bac.*

ruber Kruze, *Bac. mesentericus panis viscosi* II, *Bac. mesentericus varietas flavus*, *Bac. hydrolyticus*.

Metody oznaczania w mące drobnoustrojów wywołujących śluzowacenie pieczywa opierają się bądź na posiewach płytkowych, bądź na określeniu miana. Początkowe metody jak Watkinsa, Kornautha czy Voitkevicha (5) są tylko orientacyjnymi, raczej jakościowymi metodami.

Metody Lloyda i Brahma (5) są już ilościowymi metodami; opierają się one na posiewach płytkowych. Polecają sporządzenie zawiesiny 100 g mąki w 300 ml wody, zaszczepienie nią stopionego agaru w próbkach, pasteryzację we wrzącej wodzie, wylanie na płytki Petriego, inkubację w temp. 38° przez 24 godz.; po tym czasie liczy się kolonie *Bac. mesentericus*. Brahm podaje, że ilość mniejsza niż 12 kolonii z 1 ml zawiesiny mąki wskazuje na mąkę zadowalającą, a wynik 12—50 kolonii wskazuje na mąkę nieodpowiednią do celów piekarniczych.

Dalsze metody oparte są na określeniu miana. Hoffman, Schweitzer i Dalby (5) za miano drobnoustrojów przetrwalnikujących wywołujących zepsucie pieczywa uważają najmniejszą ilość posianej mąki, dającą na bulionie wzrost z kożuszkim. Za pomocą tej metody można oznaczyć ilość 10—100 000 przetrwalników.

Metoda Amosa i Kent — Jonesa (5) jest modyfikacją metody poprzedniej; pozwala oznaczyć ilość przetrwalników z większą dokładnością, lecz w daleko węższym zakresie, bo od 10 do 120.

Askałonow (6) przy oznaczaniu ilości *Bac. mesentericus* w mące posiewa bulion 1 ml zawiesiny z rozcieńczeń 1 : 10, 1 : 100 i 1 : 1000; pasteryzację przeprowadza się w temp. 100° przez 20 min., inkubację — w temp. 35—37° przez 48 godz. Następnie tymi hodowlami, które wykazują na powierzchni kożuszek, zaszczepia się sterylizowane bułki i po 48 godz. obserwuje się, jaka najmniejsza ilość posianej mąki spowodowała śluzowacenie, uznając tę ilość za miano *Bac. mesentericus*.

Poza tym Askałonow proponuje technologiczną ocenę stopnia zakażenia mąki. Z badanej mąki zagniatą się ciasto, formuje 3 bochenki, wypieka a po ostudzeniu zawija w szelny papier i wstawia do termostatu o temp. 37°. Po 24 godz. rozkrawa się pierwszy bochenek i sprawdza miękisz na wystąpienie ciągliwości. Podobnie postępując, bada się po upływie 48 godz. drugi bochenek, a po 72 godz. — trzeci. Jeżeli chleb wykazuje zmiany charakterystyczne w pierwszym dniu, wskazuje to na mąkę silnie zakażoną (miano 1 : 1000), jeżeli w drugim dniu — mąka średnio zakażona (miano 1 : 100), jeżeli w trzecim dniu — mąka normalna (miano 1 : 10).

CZEŚĆ DOŚWIADCZALNA

Celem wyodrębnienia drobnoustrojów, wywołujących zepsucie pieczywa, zakupione w sklepie bułki pszenne przechowywano w warunkach jak najbardziej korzystnych do rozwoju tej mikroflory. Bułki umieszczono w słojach typu Wecka i trzymano je w termostacie w temp. 37° przez 48 godz. Po tym czasie we wszystkich bułkach występowały zmiany polegające na ciągliwości miękiszu w nitki i obecności nieprzyjemnego, charakterystycznego zapachu. Drobnoustroje wyizolowane z ciągliwego miękiszu różniły się bardzo wyglądem kolonii na płytkach ze zwykłym agarem odżywcym. Były wśród nich kolonie: a) pomarszczone, o nieregularnych konturach, wzniesione pośrodku, ciągnące się przy po-

braniu materiału oczkiem, b) płaskie białawe, matowe, o brzegach pofalowanych w kształcie rozetki, c) drobno pomarszczone, silnie przywierające do podłoża, ze śluzowatymi kropelkami na brzegach, d) podobne do wymienionych w punkcie c) lecz bez śluzu, e) śluzowate, wzniesione pośrodku, o brzegach płaskich, jaśniejszych, f) pomarszczone promieniście z „maczugowatymi” zakończeniami promieni, g) z krzewiastymi rozgałęzieniami.

Wykaz ten zapewne nie obejmuje wszystkich form kolonii drobnoustrojów, wywołujących zepsucie pieczywa, niemniej jednak wskazuje na dużą ich różnorodność. Przy tym bywało, że drobnoustroje dające na agarze bardzo do siebie zbliżone wyglądem kolonie różnie oddziaływały na sterylizowaną bułkę, jedne dając ciągliwość mięksizu, inne — tylko mazistość mięksizu, jeszcze inne dawały rozluźnienie konsystencji mięksizu przy braku charakterystycznego zapachu. Wobec wielkiej różnorodności form drobnoustrojów wywołujących zepsucie pieczywa określenie ich ilościowe z posiewów płytkowych napotykało na duże trudności. Przy posiewach płytkowych można co najwyżej mówić o ogólnej ilości drobnoustrojów w przypadku posiewów z materiału niepasteryzowanego lub o ogólnej ilości przetrwalników tlenowych, posiewając materiał pasteryzowany. Toteż przy badaniu cyklów produkcyjnych równoległe z posiewami płytkowymi zastosowano posiewy w kierunku określenia miana.

Do badań obrano cykl produkcyjny bułki paryskiej, ponieważ doświadczenie naszego Zakładu z lat ubiegłych wykazywało, że zepsuciu typu *Mesentericus* najczęściej ulegają bułki paryskie. Związane to jest z warunkami rozwoju *Bac. mesentericus*, który nie rozwija się w środowiskach o znacznej kwasowości (8), a zatem w pieczywie pszennym prowadzonym na drożdżach znajduje on najdogodniejsze warunki rozwoju. Dane dotyczące granicznego stężenia jonów wodorowych, według różnych badaczy, wahają się od poniżej pH 5,0 do 5,5 (7).

Próby do badań pobierano z piekarni, gdzie cykl produkcyjny bułki paryskiej przebiegał w następujący sposób: między godziną 12—13 nastawiano rozczyń. Do dzieży wyskrobanej z poprzedniej zawartości wrzucono drożdże i po wlaniu niewielkiej ilości ciepłej wody rozdrabniało je ręcznie. Następnie z rury, której wylot znajdował się nad dzieżą wlewano ciepłą wodę w takiej ilości jakiej używano do rozczyń oraz dodawano mąkę. Mąka znajdująca się w magazynie na piętrze sypana była na odsiewacz, z którego spadała rurą do dzieży. Od początku dodawania mąki zawartość dzieży mieszano przy pomocy mechanicznego mieszadła, kontynuując tę czynność po wsypaniu całej ilości mąki jeszcze przez kilkanaście minut. Następnie po zasypaniu powierzchni rozczyń mąką odstawiano dzieżę na przeciąg około 3 godzin. Po tym czasie, w którym następowało rozmnożenie drożdży, fermentacja i wyrośnięcie rozczyń, dzieżę podstawiano ponownie pod mieszadło, przy czym dodawano znowu mąkę i wodę oraz sól i cukier i całość dokładnie mieszano. Po krótkim czasie „odpoczynku” z ciasta tego formowano bułki, które następnie układano na deskach, gdzie jeszcze wyrastały (tzw. garowanie pieczywa), po czym wstawiano do pieca o temp. 220° na około 20—25 minut. Po wyjęciu z pieca pieczywo przewożono wózkami do izby ekspedycyjnej, gdzie układano je na półkach i rano rozwożono do sklepów.

Badaniu mikrobiologicznemu poddano następujące surowce oraz etapy produkcji:

- | | | |
|--|---|--|
| 1. Drożdże. | } | surowce wchodzące w skład rozczyynu. |
| 2. Woda. | | |
| 3. Mąka I | | |
| 4. Rozczyn po fermentacji. | | |
| 5. Mąka II. | } | surowce dodawane przy wyrabianiu ciasta. |
| 6. Sól. | | |
| 7. Cukier. | | |
| 8. Ciasto po wyrośnięciu przed wstawieniem do pieca. | | |
| 9. Gotowy produkt. | | |

POBIERANIE PRÓB

Próbe mąki pobierano do 500 ml słoika szklanego z doszlifowanym korkiem, wypełniając mniej więcej połowę jego pojemności tak, aby w dalszym toku przygotowywania próby można było mąkę swobodnie wymieszać przez obracanie słoikiem. Pobranie odbywało się w ten sposób, że słoik zbliżano kilkakrotnie do wylotu rury doprowadzającej mąkę z odsiewacza do dzieży.

Próbe wody pobierano w ten sam sposób do flaszki z doszlifowanym korkiem.

Próbe drożdży pobierano szczypczykami do słoika szklanego z doszlifowanym korkiem.

Próbe rozczyynu po fermentacji pobierano łyżką do słoika z szerokim wlotem. Nie był to wygodny sposób, ponieważ materiał pobierany był bardzo ciągliwy.

Próbe soli pobierano do słoika w trakcie sypania jej do dzieży, bądź ze skrzyni drewnianej, odkrytej, stojącej w bliskim sąsiedztwie dzieży.

Cukier pobierano do słoika w trakcie sypania go do dzieży.

Ciasto przed wstawieniem do pieca pobierano do słoika szklanego z szerokim wlotem, odzielając od uformowanej bułki jej część za pomocą łyżeczki lub szpadelka.

Gotową wypieczoną bułkę pobierano bezpośrednio po wypieku, starając się w końcowych cyklach pobrać tę sztukę, z której uprzednio pobrano próbe ciasta.

Wszystkie naczynia i przyrządy służące do pobrania próby były uprzednio wyjałowione. Należy zaznaczyć, że wszystkie te próby zostały pobierane w miarę rozwoju procesu technologicznego. Mąka pierwsza, woda, drożdże pobierane były w czasie pierwszej bytności, za drugim razem pobierano rozczyn po fermentacji oraz mąkę drugą, sól i cukier. Trzecia kontrola obejmowała pobranie ciasta przed wstawieniem do pieca, a następnie — gotowego produktu.

PRZYGOTOWANIE PRÓBY

W y m i e s z a n i e. Mąkę, wodę, sól, cukier mieszano przez obracanie słoikiem, natomiast wymieszanie rozczyynu po fermentacji czy ciasta było niemożliwe ze względu na specyficzny charakter tych materiałów.

R o z c i e ń c z e n i e w y j ś c i o w e. Ustalono jako najbardziej odpowiednie rozcieńczenie wyjściowe 1 : 25. Do wysterylizowanego wraz z perełkami szklanymi (warstwa około 1,5 cm grubości) słoika

szklanego pojemności 250 ml ze szczelnie dopasowanym korkiem szklanym odważano 5 g badanego materiału (prócz wody, którą badano bez rozcieńczenia oraz w rozcieńczeniu 1:10), i dodawano 120 ml płynu fizjologicznego.

R o z d r a b n i a n i e m a t e r i a ł ó w b a d a n y c h. Po wypróbowaniu różnych sposobów ostatecznie zdecydowano się na wytrząsanie ręczne przez 5 minut przy około 150 ruchach ręki na minutę, jako najbardziej odpowiednie dla wszystkich badanych materiałów.

P a s t e r y z a c j a. Wszystkie próby (prócz wypieczonych bułek) były pasteryzowane. Początkowo stosowano pasteryzację w temperaturze 80° w ciągu 20 minut, później starano się warunki pasteryzacji upodobnić do istniejących w czasie pieczenia. Temperatura wewnątrz pieczywa w czasie pieczenia jest uzależniona od wielkości bochenka (7); ponieważ w bułkach wynosi około 100°, zastosowano pasteryzację we wrzącej wodzie. Próbę po rozdrobnieniu przelewano do kolbki stożkowej pojemności 500 ml, celem oddzielenia płynu od perełek i wstawiano do wrzącej kąpieli wodnej. Po 4—5 minutach płyn wewnątrz kolby osiągał temperaturę 95—96°. W tych warunkach bez przerwy mieszając trzymano próbę jeszcze 15 minut, łącznie minut 20.

D a l s z e r o z c i e ń c z e n i a i p o s i e w y. Po spasteryzowaniu próbę studzono i sporządzano rozcieńczenia do posiewów. Przyjęto ostatecznie system rozcieńczeń dwukrotnych. Po wymieszaniu próby pobierano pipetą 5 ml z rozcieńczenia wyjściowego 1:25 i dodawano do 5 ml płynu fizjologicznego, otrzymując rozcieńczenia 1:50. Otrzymano kolejno następujące rozcieńczenia: 1:100, 1:200, 1:400, 1:800, 1:1600, 1:3200, 1:6400, 1:12800 a w razie potrzeby i dalsze. Z każdego rozcieńczenia pobierano po 1 ml i posiewano rząd probówek z bulionem zwykłym, zmieniając pipetę za każdym rozcieńczeniem. Probówki z bulionem wstawiano na 48 godz. do termostatu o temp. 37°. Po tym czasie odczytywano w jakim najwyższym rozcieńczeniu występował wzrost i jakie cechy towarzyszyły hodowli: czy bulion był mętny, czy klarowny oraz czy występował kożuszek, czy tylko obrączka na granicy zetknięcia się powierzchni bulionu z probówką.

Ponieważ metody badania ilościowego na drobnoustroje służotwórcze opierają się na wzroście z kożuszkiem, a w moich badaniach ten kożuszek był różny, a nieraz nie występował wcale, starano się powiązać cechy charakterystyczne hodowli bulionowych z rodzajem zepsucia pieczywa. W tym celu hodowlą bulionową zakażano sterylizowane pieczywo. Małe bułeczki zakupione w sklepie przekrawano, cokolwiek wydrążano, skrapiano wodą, umieszczano w słoju szklanym typu Wecka i sterylizowano w autoklawie przez 20 minut, w temperaturze 121°. Następnie zakażano je całą zawartością probówek z porośniętym bulionem i razem ze słojem wstawiano do termostatu o temperaturze 37°. Jednocześnie nastawiano zawsze próbę kontrolną — bułkę „zakażoną” jałowym bulionem. Po 48 godz. sprawdzano zapach, konsystencję miększu oraz występowanie ciągliwości w nitki. Wyniki tych doświadczeń podaje tabela I.

Umieszczono w niej cechy hodowli bulionowych i charakter zepsucia bułek sterylizowanych zaszczepionych tymi hodowlami. Okazało się, że hodowle o cechach podobnych mogły różnie oddziaływać na sterylizowane pieczywo. Na przykład na 68 hodowli charakteryzujących się obecnością mocnego pomarszczonego kożucha na klarownym bulionie część

T a b e l a I

Charakter zepsucia bułek sterylizowanych, zaszczepionych odnośnymi hodowlami bulionowymi			Cechy hodowli bulionowych								Łączna liczba przypadków zepsucia o podobnych cechach		
			Kožuch obecny				Kožucha brak						
			mocny, pomarszczony		błoniasty, gładki		obrączka na granicy zetknięcia bulionu z próbką		błonka wznosząca się po ściankach próbówki			osad na dnie	
			bulion klarowny	bulion mętny	bulion klarowny	bulion mętny	bulion mętny	bulion mętny	bulion mętny	bulion klarowny			
Zmieniony charakt. dla zepsucia typu <i>Mesentericus</i>	zmieniona	występuje	57	15	17	9					98		
„	„	nie występuje	11	2	4	6		2	1		26		
Zmieniony niecharakt. (kwaśny, mysi, serowy, amoniakalny, fermentacyjny)	„	„		1		1	4			3	9		
B. słabo zmieniony niecharakt. dla zepsucia typu <i>Mesentericus</i>	nie zmieniona	„				3				11	14		
Nie zmieniony	„	„									1	1	
Ogólna ilość hodowli o podobnych cechach			68	18	21	19		4	2	15	1		

z nich (57) wywołała zepsucie charakterystyczne dla typu *Mesentericus* z ciągliwością miękiszku w nitki wyłącznie, lecz w pozostałej ilości przypadków (11) ciągliwość nie wystąpiła. Podobne dwojakie zmiany dawały hodowle, w których bulion był również klarowny, ale kożuch — błoniasty i gładki (odnośna ilość przypadków 17 i 4). Ogólnie biorąc obecność kożucha przy klarownym bulionie była związana z zepsuciem typu *Mesentericus* zaszczepionych bułek. Jednak już obecność kożucha na mętym bulionie nie zawsze oznaczała zepsucie typu *Mesentericus*; bywało, że zakażone pieczywo nie wykazało zmian charakterystycznych

dla tego zepsucia. Różnorodność te zmiany mogły być wynikiem obecności w posiewanym materiale różnorodnej mikroflory, która wzrastając na bulionie dawała zapewne mieszane hodowle.

Z tabeli widać również, że zmiany zapachu i konsystencji charakterystyczne dla zepsucia typu *Mesentericus* (bez ciągliwości) były w 3 przypadkach na 26 wyników zaszczepienia hodowlą bulionową bez kożucha.

Z powyższych doświadczeń wynikałoby, że oznaczanie miana drobnoustrojów wywołujących zepsucie pieczywa tylko na podstawie posiewu na bulion bez dalszego przesiewu na bułki nie jest miarodajne, szczególnie w przypadku kożucha na mętnym bulionie, a tym bardziej przy braku kożucha.

Posiewy na bulion przedstawiały duże trudności w interpretacji wyników. Zaznaczyło się to szczególnie wtedy, gdy właśnie dla uzyskania pewności wyników posiewano równolegle na dwa rzędy bulionów. Mimo zachowania ostrożności, jak zmiany za każdym razem pipety i dokładnego mieszania — wzrost często w obu rzędach nie przebiegał równolegle, a w obrębie jednego rzędu zdarzały się często luki we wzroście, zwłaszcza w końcowych rozcieńczeniach. Za miano drobnoustrojów wywołujących zepsucie miększu przyjęto najmniejszą ilość posianego materiału dającą równolegle nieprzerwany wzrost w obu rzędach bulionów, przy czym w przypadku wzrostu o cechach innych niż kożuch na klarownym bulionie należało hodowlę bulionową dla sprawdzenia przesiać na sterylizowane bułki.

Ogółem badania objęły 10 cykli produkcyjnych: 4 obejmowały tylko badania mąki do rozczywnu, mąki do ciasta i gotowej bułki, 6 następnym — wymienione na początku opisu — surowce i poszczególne fazy cyklu aż do gotowego produktu. Wielokrotnie zmieniano metodykę usiłując dojść do najwygodniejszej i najdokładniejszej. Trzy ostatnie cykle zostały zbadane ustaloną i możliwie udoskonaloną metodyką. Interpretacja wyników napotyka jednak na duże trudności. Wyniki podaje tabela II.

T a b e l a II

Zestawienie stanu zakażenia 1 g surowców, faz przejściowych i produktu gotowego w cyklu produkcyjnym bułki paryskiej

Materiał badany	Miano przetrwalników bakterii tlenowych wywołujących zepsucie miększu		
	Cykl Nr 8	Cykl Nr 9	Cykl Nr 10
Mąka I	1 : 800	1 : 800	1 : 800
Woda	1	1	1
Drożdże	1 : 200	1 : 200	1 : 200
Rozczyn po ferm.	1 : 200	1 : 3200	1 : 400
Mąka II	1 : 800	1 : 100	1 : 400
Sól		powyżej 1 : 50	powyżej 1 : 50
Cukier		„ 1 : 50	„ 1 : 50
Ciasto	1 : 800	1 : 400	1 : 800
Bułka paryska	1 : 50*)	1 : 200*)	1 : 100**)

*) Bułka badana w dniu wypieku.

***) Bułka badana w kilkanaście godzin po wypieku, następnego dnia.

Są to wartości bezpośrednie, które należy odpowiednio przeliczyć. Zaczynjmy od rozczyну; składają się nań: mąka, woda i drożdże. Każdy z tych składników wnosi pewne zakażenie, co sprawia, że zakażenie 1 g rozczyну w chwili nastawiania wyniesie:

$$Z_r = \frac{Z_{mI} \cdot M_{mI} + Z_w \cdot M_w + Z_d \cdot M_d}{M_{mI} + M_w + M_d}$$

gdzie: — Z_r oznacza zakażenie 1 g rozczyну
 — Z_{mI} „ „ 1 g mąki użytej do rozczyну
 — Z_w „ „ 1 ml wody
 — Z_d „ „ 1 g drożdży
 — M_{mI} „ „ masę mąki użytej do rozczyну w gramach
 — M_w „ „ wody „ „ „ „ „ „
 — M_d „ „ drożdży użytych do rozczyну w gramach

Po zarobieniu rozczyну podlega fermentacji. Wskutek wytworzenia się gazów następuje ubytek suchej substancji mąki. Zależny jest on od czasu trwania fermentacji rozczyну i ciasta oraz od ilości drożdży. Średnio wynosi on 2—4% w stosunku do ciężaru całej mąki użytej do przerobu (8). Jeżeli w tych orientacyjnych obliczeniach nie weźmie się tych strat pod uwagę, to błąd nie będzie duży ponieważ: 1) do rozczynu daje się mniej niż połowę ogólnej ilości mąki, 2) ilość mąki odmierzana jest z małą dokładnością, np. w przypadku zużycia dwóch i pół worka mąki te „pół” odmierzane jest oczywiście w przybliżeniu. Zatem praktycznie możemy uważać masę rozczynu przed i po fermentacji za jednakową, równą sumie masy mąki, wody i drożdży składających się na rozczynek. Do rozczynu po fermentacji dodaje się jeszcze mąkę, wodę, sól i cukier, zatem zakażenie 1 g ciasta po zamieszeniu wynosi:

$$Z_c = \frac{Z_{rI} \cdot M_r + Z_{mII} \cdot M_{mII} + Z_w \cdot M_w + Z_s \cdot M_s + Z_c \cdot M_c}{M_r + M_{mII} + M_w + M_s + M_c}$$

gdzie: Z_c — oznacza zakażenie 1 g ciasta po zamieszeniu
 Z_{rI} — „ „ 1 g rozczynu po fermentacji
 Z_{mII} — „ „ 1 g mąki użytej do ciasta
 Z_s — „ „ 1 g soli
 Z_c — „ „ 1 g cukru
 M_r — „ masę rozczynu
 M_{mII} — „ „ mąki żytniej do ciasta
 M_s — „ „ soli
 M_c — „ „ cukru

Dalej ciasto po wyrośnięciu zostaje wstawione do pieca, gdzie następuje zmniejszenie jego masy wskutek parowania wody, ale okazuje się, że strata ta powstaje zasadniczo w zewnętrznej warstwie ciasta w okresie tworzenia się skórki. Miększy w czasie wypieku nie traci wody; jego wilgotność w stanie gorącym nie jest niższa od wilgotności ciasta (8). Zatem zakażenie ciasta może być wprost porównywane z zakażeniem bułki, tym bardziej, że bułki badane były jeszcze często gorące, a próby z miększu starano się pobrać z miejsc możliwie oddalonych od skórki.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Na tle tych rozważań ogólnych starano się zinterpretować wyniki badań, celem przekonania się, jaki jest stopień udziału poszczególnych surowców w zakażeniu rozczywnu i ciasta, a tym samym również produktu końcowego, oraz czy w procesie technologicznym zachodzą istotne zmiany w wysokości zakażenia drobnoustrojami przetrwalnikującymi, wywołującymi zepsucie pieczywa. Okazało się, że ze wszystkich surowców główną rolę odgrywa zakażenie mąki. Zestawienie zakażenia 1 g badanych mąk bułkowych typ 850 podaje tabela III. Interpretacja zmian stopnia zakażenia poszczególnych faz cyklu napotyka na pewne trudności.

T a b e l a III

Zestawienie zakażenia 1 g mąk bułkowych typu 850 oznaczonego metodą posiewów

Nr cyklu	Nr mąki	Ilość elementów pleśni	Ogólna ilość drobnoustrojów tlenowych	Ilość przetrwalników tlenowych	Miano przetrwalników wywołujących zepsucie pieczywa
		Podłoże: agar z brzezką 8° Błg. Temp. 30° Czas 48 godz.	Podłoże: agar zwykły 2% Temp. 37° Czas 48 godz.	Podłoże: agar zwykły 2% Temp. 37° Czas 48 godz.	Podłoże: Buflon zwykły. Temp. 37° Czas 48 godz.
1	1	1 766	254 500	3 290	1: 1600
	2 ¹⁾	2 500	340 500	400	1: 1600
	3	8 000	616 000	1 560	1: 1600
2	4	2 010	93 333	1 760	1: 1600
	5 ¹⁾	460	333 000		>1: 200
	6	1 800	18 500	7 475	≤1: 12800
3	6 ²⁾		86 500	12 107	1: 12800
	7	320	121 500	5 280	1: 3200
	8	660	96 000	11 000	≤1: 12800
4	8 ²⁾		40 000	8 107	1: 12800
	9	220	560 000	3 313	1: 3200
	10	320	83 000	6 266	1: 3200
5	11	270	67 000	2 210	1: 1600
	12	145	71 666	4 533	1: 12800
6	13	900	57 500	5 150	1: 6400
	14	1 000	82 900	1 925	1: 3200
7	15	200	88 833	2 317	1: 5000
	16	225	130 200	11 766	1: 50000
8	17				1: 800
	18				1: 800
9	19				1: 800
	20				1: 100
10	21				1: 800
	22				1: 400

1) Mąka używana do zasypywania na wierzch rozczywnu

2) Badania ilościowe powtórzone ze względu na niepewny wynik miana

Jako przykład niechaj posłużą liczby dotyczące cyklu Nr 8. Na rozczywnu składały się:

2 $\frac{1}{2}$ worka mąki = ca 160 kg o zakażeniu 800 drobnoustrojów w 1 g
90 litrów wody o zakażeniu 1 drobnoustrój w 1 ml

4 kg drożdży.

Wysokość zakażenia drożdży nie była sprawą jasną: przy wysianiu na dwa rzędy bulionów otrzymano wprawdzie nieprzerwany wzrost do rozcieńczenia 1 : 200, ale w jednym rzędzie bulionów był w tym rozcieńczeniu mocny, pomarszczony kożuch na prawie klarownym bulionie i hodowla tą sprawdzona na bułkach sterylizowanych wywołała zepsucie typu *Mesentericus* z ciągliwością włącznie, natomiast w równoległym rozcieńczeniu drugiego rzędu bulionów kożucha nie było wcale, a bulion był lekko mętny. W celu zorientowania się, jak dalece drożdże wpływają na zakażenie, zrobiono dwa obliczenia, w jednym z nich biorąc zakażenia drożdży pod uwagę w ogóle, w drugim — przyjmując za równe 200. W pierwszym przypadku zakażenie początkowe 1 g rozczyну wynosiłoby 504, w drugim przypadku otrzymano liczbę 507.

Widać z tego, że zakażenie, które wnoszą z sobą drożdże, w znikomym stopniu przyczynia się do zakażenia początkowego rozczyну. Co więcej, nawet znaczny stopień zakażenia drożdży drobnoustrojami wywołującymi zepsucie miękiszu przy użyciu ich małej ilości w stosunku do ilości łącznej składników, w niewielkim stopniu wpływałby na zakażenie rozczyну, wobec dominującej roli, jaką odgrywa w tej sprawie ilość mąki i jej zakażenie.

Rozczyn po fermentacji wykazywał miano 1 : 200, ale byłoby ryzykowne twierdzić, że w czasie fermentacji ilość przetrwalników uległa zmniejszeniu, chociaż fermentacja powinna raczej wpłynąć na zmniejszenie ilości przetrwalników z następujących przyczyn: 1) w rozczyne panuje znaczna wilgotność; 2) rozczyn ma podwyższoną temperaturę, bo dodaje się do niego ciepłą wodę i w hali fermentacyjnej jest ciepło; 3) fermentacja trwa około 3 godzin. W sumie powyższe warunki mogłyby przyczynić się do wykiełkowania przetrwalników.

Do rozczyну po fermentacji dodano:

4 worki mąki = 260 kg o zakażeniu 800 drobnoustrojów w 1 g
90 litrów wody o zakażeniu 1 drobnoustrój w 1 ml

sól
cukier } łącznie około 10 kg

Zakażenia cukru i soli w tym cyklu nie oznaczano, bowiem doświadczenia z poprzednich oznaczeń wykazały, że jest ono bardzo niewielkie i wobec użycia małych ilości tych produktów nie odgrywa w zakażeniu ogólnym praktycznej roli. Zatem po podstawieniu odpowiednich wartości do wzoru, zakażenie 1 g ciasta po zamieszeniu wynosiłoby 422, natomiast miano ciasta przed wstawieniem do pieca wynosiło 1 : 800. I znowu trudno powiedzieć, że ilość przetrwalników zwiększyła się, bo w ilości określanej mianem jest to mniej więcej ten sam rząd wielkości, tym bardziej, że w systemie rozcieńczeń dwukrotnych liczby 400 i 800 ze sobą sąsiadują. Dalej zakażenie z 800 w cieście spada do 50 w bułce.

W podobny sposób rozpatrywano udział zakażenia wody w ogólnym zakażeniu. W wyniku obliczeń przekonano się, że zakażenie, które wnosi z sobą woda wobec małego stopnia zakażenia, nawet przy użyciu jej w dużej ilości do rozczyну i ciasta nie wpływa na zakażenie ogólne i w porównaniu z zakażeniem, które wnosi z sobą mąka, jest praktycznie biorąc bez znaczenia. Zatem główną i decydującą rolę w zakażeniu za-

równy rozczyń jak i ciasta, a zatem również i produktu końcowego, odgrywa mąka.

Ogólnie biorąc interpretacja wyników byłaby sprawą bardzo trudną, składa się na to wiele przyczyn:

1. Przy pobieraniu prób w piekarni bierze się właściwie próbę przypadkową, a nie próbę średnią, odzwierciedlającą przeciętny stan produktu. Przykład: mąka z jednej partii (cykl Nr 9) raz pobrana w momencie dodawania do rozczyń wykazywała miano 1:800, drugi raz pobrana w momencie dodawania jej do ciasta — wykazywała miano 1:100.

2. Przy porównywaniu poszczególnych surowców oraz etapów produkcji bardzo istotną rolę może odgrywać rozdrobnienie, które przy systemie wytrząsania z perełkami w przypadku mąki jest dostateczne, ale w przypadku innych stadiów produkcji jest już znacznie gorsze i stąd, być może, pochodzą te znaczne różnice w zakażeniu ciasta i bułki.

Szczególnie na przykładzie porównania zakażenia ciasta i bułki widać, że przyjęta metodyka nie jest dostateczna, bo teoretycznie wskutek tego, że miękisz w czasie pieczenia nie traci wody, zakażenie ciasta powinno być takie samo jak zakażenie bułki. Jeżeli zakażenie ciasta we wszystkich badaniach było większe niż zakażenie bułki, to znaczy, że albo rozdrobnienie bułki jest za grube w porównaniu z rozdrobnieniem ciasta, albo, że ciasto w badaniach laboratoryjnych uległo zbyt łagodnej „obróbce” termicznej, czyli, że pasteryzacja była zbyt łagodna w stosunku do warunków, jakie przechodzi pieczywo w okresie pieczenia.

WNIOSKI

1. Ze względu na duży polimorfizm kolonii bakterii przetrwalnikujących tlenowych, wywołujących zepsucie miękiszu, określenie ich ilościowe na podstawie posiewów płytkowych napotyka na duże trudności.

2. Bakterie, które przy oznaczaniu miana przetrwalników tlenowych wywołujących zepsucie miękiszu rosły w postaci kożuszka na klarownym bulionie, powodowały zawsze zepsucie sterylizowanego pieczywa typu *Mesentericus*. Przy czym, jak zaznaczono, zepsucie typu *Mesentericus* obejmuje zmiany zapachu i konsystencji związanej lub nie związanej z ciągliwością miękiszu w nitki.

3. Bakterie, które przy oznaczaniu miana przetrwalników tlenowych wywołujących zepsucie miękiszu rosły w postaci kożuszka na mętym bulionie, nie zawsze, ale w większości badanych przypadków powodowały zepsucie typu *Mesentericus* sterylizowanego pieczywa.

4. Zepsucie typu *Mesentericus* sterylizowanych bułek mogło być również spowodowane przez bakterie, które przy określeniu miana przetrwalników tlenowych wywołujących zepsucie miękiszu nie wytwarzały na powierzchni bulionu kożuszka.

5. Zastosowana metodyka ilościowego oznaczania przetrwalników tlenowych, wywołujących zepsucie miękiszu, zarówno z posiewów płytkowych jak i określania miana, napotyka przy interpretacji wyników na duże trudności. Przy równoległych posiewach na agar i na bulion, ilości drobnoustrojów były różne, przy czym trudno było ustalić między nimi zależność. W przyszłości należałoby zastosować metodykę nasuwającą mniej zastrzeżeń. Mogłaby ona opierać się np. na właściwościach bio-

chemicznych wspólnych wszystkim szczepom będącym przyczyną zepsucia.

6. Biorąc pod uwagę wszystkie składniki wchodzące w skład pieczywa — głównym źródłem zakażenia była mąka. Przebadanie większej ilości mąk polskich jest konieczne ze względu na potrzebę określenia maksymalnego stopnia zakażenia. Równoległe z badaniem mąki należałoby przeprowadzić obserwacje nad trwałością wypieczonego z niej pieczywa.

M. Боянкевич

ИССЛЕДОВАНИЯ НАД КАРТОФЕЛЬНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ХЛЕБА ВО ВРЕМЯ ПРОДУКЦИОННОГО ЦИКЛА

Содержание

Сырию как: мука, вода, дрожжи, поваренная соль, проходные периоды — тесто после бродильного процесса, тесто и готовый продукт („парижская булка“) исследовали бактериологически.

Обращено было внимание на количество аэробных скорообразующих бактерий, вызывающих порчу мякиша типа „Mesentericus“.

Определение титра — в бульонной среде самых малых количеств посеянного материала, проверяли на стерилизованных булках. Определение титра на основании возраста пенки не всегда было надёжным. Бывали случаи что картофельная болезнь была вызвана в стерильных булках посевом типа Mesentericus выращивающего без пенки.

Учитывая всё сырию употребляемое для приготовления „парижских“ (крупных) булок — главным источником поражения надо считать муку. Поражения дрожжами не было так опасно как описывают некоторые авторы.

M. B o j a n k i e w i c z

EVALUATION OF BACTERIAL CONTAMINATION IN BREAD MAKING INDUSTRY

S u m m a r y

Raw products: flour, water, yeasts, salt and sugar and the dough from different production stages and the wheat bread after baking were evaluated for bacterial contamination. The spores of aerobic species Bacillus Mesentericus were taken in consideration.

For the estimation of the index, the cultures of highest dilutions were inoculated on sterile bread. It was shown, that the growth on sterile bread (with typical desintegration of structure) occurred even the cultures did not formed pellicle.

The flour appeared to be the main source of contamination. The yeasts were not so frequently contaminated as it was shown by some other workers.

PIŚMIENNICTWO

1. *Tanner F. W.*: The Microbiology of Foods. Gerrard Press, Champaign, Illinois, 1944. — 2. *Topley, Wilson*: Principles of Bacteriology and Immunology. Edward Arnold, London, 1948. — 3. *Steuli H., Staub M.*: Mitteilungen aus dem Ge-

biete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene, 46, 312, 1955. — 4. *Bergey: Manual of Determinative Bacteriology*. Baillière, Tindal, Cox, London, 1948. — 5. *Tanner F. W.: Laboratory Manual and Work Book in Microbiology of Foods*. Gerard Press, Champaign, Illinois, 1950. — 6. *Askatonow S. P., Dobrier I. B., Gordin B. L.: Mikrobiologičeskoe issledowanie i sanitarnaja ekspertiza piščezewych produktow*. Gosmedizdat, Kiew, 1955. — 7. *Kent — Jones D. W., Amos A. J.: Modern Cereal Chemistry*. The Northern Publishing Co., Liverpool 1950. — 8. *Krauze S.: Artykuły Żywności i Przedmioty Użytku*. Lekarski Instytut Naukowo-Wydawniczy, Warszawa, 1947. — 9. *Machnicki J., Rabinowicz J., Śliwa S.: Piekarnictwo*. Państw. Wyd. Techn., Warszawa 1954.

N. Kulagina: „METODYKA OZNACZANIA TIURAMU W MLEKU”. (Moloczna Promyślność, Nr 12, str. 27, 1960).

Przy produkcji gumy stosowane są substancje przyspieszające proces wulkанизacji. Niektóre z nich są szkodliwe dla organizmu człowieka. Dlatego istnieje konieczność sanitarno-higienicznego badania gumy przeznaczonej dla przemysłu spożywczego.

Szkodliwą, z punktu widzenia higieniczno-sanitarnego, substancją jest tiuram (dwusiarczek czterometylotiuamu). W wypadku wykrycia w gumie chociażby śladów tiuramu, nie może ona pozostawać w kontakcie z mlekiem i innymi artykułami żywnościowymi.

W piśmiennictwie brak jest opisu metody oznaczania tiuramu w mleku, które pozostawało w kontakcie z gumą. W związku z tym wynikła konieczność opracowania takiej metody. Podstawą była metoda oznaczania tiuramu, polecana w instrukcji Państwowej Inspekcji Sanitarnej, która zajmuje się badaniem nowych rodzajów naczyń do żywności, opakowań i innych wyrobów sporządzonych z zastosowaniem materiałów syntetycznych (Nr 250-A-57). Czulość metody $1 \cdot 10^4$.

Opracowana metoda została sprawdzona na różnych próbkach gumy, w skład której wchodził tiuram.

Opis metody

Próbkę gumy o masie 10 g, starannie przemytą gorącą wodą, umieszcza się w zlewce pojemności 0,5 litra, dodaje 50 ml mleka, ogrzewa do wrzenia, chłodzi i pozostawia w lodówce na 1 dobę. Następnie wyjmuje się gumę szczypcami lub pincetą, rozcieńcza mleko 200 ml ciepłej wody (o tem. 42°), splukując resztki mleka z gumy, po czym dodaje 20 ml roztworu octanu sodu (3,4%owego). Następnie wlewa się ostrożnie, mieszając wciąż bogietką, 10 ml 10%owego roztworu kwasu octowego i po dokładnym zmieszaniu pozostawia na 1 godzinę. Po upływie tego czasu mieszaninę sączy się przez karbowany sączek. W przypadku otrzymania mętnego przesączu, sączy się ponownie przez ten sam sączek.

150 ml przesączu umieszcza się w rozdzielaczu i poddaje trzykrotnej ekstrakcji chloroformem, każdorazowo po 15 ml. Wyciągi chloroformowe łączy się, sączy przez karbowany sączek i odparowuje chloroform pod wyciągiem w temperaturze pokojowej.

Pozostałość w parownicze rozpuszcza się w 5 kroplach alkoholu (96°) i wykonuje próbę jakościową na tiuram. W tym celu przenosi się roztwór alkoholowy na bibułę nasyconą 5%owym roztworem siarczynu miedziowego. W obecności tiuramu zjawia się po pewnym czasie żółta plama.

R.Kalinowska