

Analýza mykoflóry sladovníckeho jačmeňa a sladu

II. Skladiskové mikromycéty

JUDITA ŠEPITKOVÁ — ZDENKA JESENSKÁ

Súhrn. Práca prináša výsledky vyšetrení vnútornej mykoflóry zŕn sladovníckeho jačmeňa a sladu. Pozornosť sa zamerala na výskyt tzv. skladiskových vlákniatých húb.

Výskyt zŕn kontaminovaných skladiskovými mikromycétami z úrody obilia roku 1984 a skladovacieho obdobia od októbra 1984 do konca júna 1985 bol pomerne vysoký a bohato zastúpený jednotlivými rodmi. Vzorky sladovníckeho jačmeňa boli najčastejšie kontaminované kmeňmi aspergilov skupiny *A. glaucus*, *A. flavus*, *A. versicolor*, *Alternaria* sp. a *Penicillium* sp.

Vzorky sladu mali dominantnú mykoflóru zastúpenú rodmi *Penicillium* sp., *Mucor* sp., *Rhizopus* sp. a *Absidia* sp. Menej často až ojedinele sa vyskytovali *A. candidus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. wentii*, *Aureobasidium* sp., *Circinella* sp., *Epicoccum* sp., *Stemphylium* sp. a iné.

Výsledky poukazujú na potrebu sledovať aj mykologicko-mykotoxikologické kritériá kvality sladovníckeho jačmeňa a sladu.

Mykoflóra obilných zŕn a v tejto súvislosti i mykoflóra sladovníckeho jačmeňa je veľmi pestrá, ale má svoje osobitné zákonitosti.

V čase zberu úrody sú zrná kontaminované tzv. poľnými mikromycétami, niektoré z nich saprofytnú na povrchu obilky, alebo parazitujú iba v povrchových vrstvách tkaniva. Iné, napríklad z rodu *Fusarium*, sú vážnymi patogénmi obiliek a producentmi významných toxických metabolitov — mykotoxínov [1, 2].

V porovnaní s poľnými mikromycétami, ktoré napadajú cereálie väčšinou už počas vegetácie a sú teda väčšinou hydrofilné fytopatogény, skladiskové mikromycéty tvoria najväčšiu a najnebezpečnejšiu skupinu toxinogénnych plesní, prevažne saprofytického charakteru.

RNDr. Judita Šepitková, CSc., Výskumný ústav potravinársky, Trenčianska 53, 825 09 Bratislava.

MUDr. Zdenka Jesenská, CSc., Výskumný ústav preventívneho lekárstva, Limbova 14, 833 01 Bratislava.

Skladiskové mikromycéty osídľujú obilné zrná počas ich skladovania. Sú viac xerofilné i xerotolerantné. Tieto tzv. skladiskové huby oveľa častejšie kontaminujú zrná mechanicky poškodené a zdrojom kontaminácie bývajú mikromycéty na rastlinných zvyškoch vo vreciach, v skladovacích priestoroch, v zásobníkoch prepravných automobilov, v silách a pod. [3].

Ku skladiskovým hubám sa najčastejšie priradujú kmene rodov *Aspergillus* a *Penicillium*, ale aj iné rody, ako sú napríklad *Botrytis* sp., *Scopulariopsis* sp., *Trichoderma* sp., *Mucor* sp., *Absidia* sp., *Rhizopus* sp., *Paecilomyces* sp. a ďalšie [4].

Tak ako niektoré z poľných mikromycét obilných zŕn, i niektoré zo skladiskových mikromycét sú potenciálnymi producentmi mykotoxínov [5].

Ukazuje sa, že niektoré z mykotoxínov skladiskových mikromycét by mohli cestou sladovníckych surovín prenikať, aj keď pravdepodobne v malom množstve, do hotových výrobkov, t. j. do piva [6, 7].

Sladovnícky jačmeň a slad sú významnou surovinou nášho národného hospodárstva [8]. V našej práci sme preto študovali výskyt vláknitých mikromycét v sladovníckom jačmeni zo žatvy roku 1984, skladovanom od októbra 1984 do júna 1985, a v slade, aby sme tak prispeli k objasneniu rizika prenikania niektorých toxických metabolitov vláknitých mikromycét do výrobkov sladovníckeho a pivovarského priemyslu.

Materiál a metodika

Výšetrenie mykoflóry v 51 vzorkách sladovníckeho jačmeňa a v 51 vzorkách sladu, ktoré odoberali pracovníci sladovní SSR v čase od októbra 1984 do júna 1985, bolo zamerané na izoláciu a identifikáciu mikroskopických vláknitých húb spadajúcich do skupiny skladiskových mikromycét.

Zrná jačmeňa a sladu sme povrchovo sterilizovali v 5 % vodnom roztoku chlórnanu sodného 5 min a potom trikrát za sebou prepláchli sterilnou destilovanou vodou.

Dvesto zrníek z každej vzorky sme rozdelili a po 20 zrnkách rozložili na povrch Sabouraudovho agaru (Imuna) s prídavkom 7,5 % NaCl v 10 Petriho miskách.

Naočkované sústavy sme inkubovali 10—14 dní pri laboratórnej teplote, potom stanovili počet mikromycétami kontaminovaných zŕn a reprezentatívne kolónie mikroskopických vláknitých húb sme preočkúvali na ďalšie diagnostické pôdy a potom sme ich identifikovali na základe ich morfológie.

Počet mikromycétami kontaminovaných zŕn sme prepočítali na relatívne hodnoty v percentách.

Výsledky

Vyšetrované vzorky sladovníckeho jačmeňa boli najčastejšie kontaminované zárodkami kmeňov aspergilov skupiny *A. glaucus* (96 % pozitívnych vzoriek (tab. 1) a 43 % vyšetrovaných vzoriek malo 81—100 % kontaminovaných zŕn (tab. 2)), *Penicillium* sp. (94,1 % pozitívnych vzoriek a 64,7 % vzoriek malo 1—20 % kontaminovaných zŕn), *Alternaria* sp. (82,3 % pozitívnych vzoriek a 67,2 % vzoriek malo 1—20 % kontaminovaných zŕn), *A. flavus* (49 %

Tabuľka 1. Mikromycétami kontaminované vzorky sladovníckeho jačmeňa a sladu: Mikromycéty izolované z povrchovo sterilizovaných zŕn po inokulácii zŕn na Sabouraudovom agare so 7,5 % NaCl (Vzorky odoberané v sladovniach od októbra 1984 do júna 1985)

Table 1. The samples of malt barley and malt contaminated by micromycetes; Micromycetes isolated from the surface-sterilized grains after inoculation of grains on a Sabouraud agar with 7.5 % Na Cl (The samples were taken from malt plants in the period October 1984—June 1985)

Mikromycéty ¹	Počet kontaminovaných vzoriek ²			
	sladovnícky jačmeň ³		slad ⁴	
	absol. ⁵	relat. v % ⁶	absol.	relat. v %
<i>Absidia</i> sp.	5	9,8	11	21,5 (1.)
<i>Alternaria</i> sp.	42	82,3 (3.)	28	54,9 (5.)
<i>A. candidus</i>	8	15,5	5	9,8
<i>A. flavus</i>	25	49,0 (4.)	38	75,4 (3.)
<i>A. sk. A. glaucus</i>	49	96,0 (1.)	51	100,0 (1.)
<i>A. sk. A. niger</i>	2	3,9	—	—
<i>A. ochraceus</i>	2	3,9	—	—
<i>A. versicolor</i>	21	41,1 (5.)	4	7,8
<i>A. wentii</i>	14	27,4	2	3,9
<i>Aureobasidium</i> sp.	—	—	1	1,9
<i>Circinella</i> sp.	2	3,9	—	—
<i>Cladosporium</i> sp.	10	19,6	2	3,9
<i>Epicoccum</i> sp.	2	3,9	—	—
<i>F. culmorum</i>	7	13,7	1	1,9
<i>F. equiseti</i>	1	1,9	—	—
<i>F. graminearum</i>	10	19,6	—	—
<i>F. oxysporum</i>	5	9,8	—	—
<i>F. poae</i>	2	3,9	—	—
<i>F. sambucinum</i>	1	1,9	—	—
<i>F. sporotrichioides</i>	2	3,9	—	—
<i>Mucor</i> sp.	—	—	25	49,0 (6.)
<i>Penicillium</i> sp.	48	94,1 (2.)	50	98,0 (2.)
<i>Rhizopus</i> sp.	8	15,6	30	58,8 (4.)
<i>Stemphylium</i> sp.	—	—	1	1,9
sterilné mycélium ⁷	15	29,5	2	3,9
Spolu	51 (100 %)		51 (100 %)	

¹Micromycetes; ²Number of contaminated samples; ³Malt barley; ⁴Malt; ⁵Absol.; ⁶Relat. in %;

⁷Sterile mycelium.

Tabuľka 2. Mikromycétami kontaminované zrná vzoriek sladovníkeho jačmeňa (51 vzoriek = 100 %) a sladu (51 vzoriek = 100 %). Pôvod vzoriek a spôsob inokulácie uvádza tabuľka 1

Table 2. The grains of malt barley (51 samples = 100%) and malt (51 samples = 100%) contaminated by micromycetes. The origin of samples and the inoculation see in Table 1

% kontaminovaných zrn vo vzorke ¹	Mikromycétya, ²								
	AG	PNC	ALT	AF	AV	AG	PNC	AF	AL
	sladovníčky jačmeň ³					slad ⁴			
	Počet vzoriek v % ⁵								
0	3,9	5,8	17,6	50,9	58,8	—	1,9	25,4	45,0
1—20	11,7	64,7	67,2	43,1	35,2	33,3	39,2	74,6	55,0
21—40	7,8	19,6	11,7	1,9	3,9	15,6	27,4	—	—
41—60	19,6	5,8	3,9	1,9	—	21,5	7,8	—	—
61—80	17,6	—	1,9	—	1,9	5,8	5,8	—	—
81—100	42,1	2,0	1,9	1,9	—	22,5	17,6	—	—

pozitívnych vzoriek a 43,1 % vzoriek malo 1—20 % kontaminovaných zŕn) a *A. versicolor* (41,1 % pozitívnych vzoriek a 35,2 % vzoriek malo 1—20 % kontaminovaných zŕn).

V porovnaní so vzorkami sladovníkeho jačmeňa mali vzorky sladu zrná častejšie kontaminované zárodkami *Penicillium* sp. (17,6 % vyšetrených vzoriek malo 81—100 % kontaminovaných zŕn), zárodkami *A. flavus* (74,6 % vyšetrených vzoriek malo 1—20 % kontaminovaných zŕn) i kmeňmi *Absidia* sp., *Mucor* sp., *Rhizopus* sp. Menej často až ojedinele boli zo vzoriek izolované kmene *A. candidus*, aspergily skupiny *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. wentii*, *Aureobasidium* sp., *Circinella* sp., *Epicoccum* sp., *Stemphylium* sp. a iné.

Zriedkavý bol aj výskyt kmeňov rodu *Fusarium* sp., *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. oxysporum*, *F. poae*, *F. sambucinum* a *F. sporotrichoides*. Výsledky uvádzajú tabuľky 1 a 2.

Diskusia

Pivo je jedným z obľúbených nápojov v ČSSR a veľmi dobré meno majú naše výrobky aj v zahraničí. S tým ale súvisí veľa problémov týkajúcich sa kvality surovín, z ktorých najmä sladovnícky jačmeň a slad predstavujú významný podiel československého exportu [8].

Neodmysliteľnou sprievodnou organickou súčasťou sladovníkeho jačmeňa a sladu sú rozličné mikroorganizmy a medzi nimi prevládajú najmä mikroskopické vlákňité huby. Niektoré z týchto mikromycét sú producentmi toxických metabolitov, preto sa od subjektívneho hodnotenia kvality zŕn sladovníkeho jačmeňa a sladu v tomto zmysle prechádza k objektívnemu stanoveniu mikrofóry in vitro, stupňa kontaminácie zŕn a k určovaniu pôvodcov kontaminácie. V kapitalistických štátoch sa stáva, že napr. samostatne hospodáriaci farmári môžu odmietnuť a pre sladovníctvo nevhodný sladovnícky jačmeň ošetriť, vysušiť a znovu ponúknuť, ako to uvádza Flannigan a Healy [9]. „Históriu“ obilia počas skladovania však verne odzrkadľuje obraz mykotickej kontaminácie zŕn, ako ju opisuje Chelkowski a kol. [10].

V našich predchádzajúcich publikáciách sme sa zaoberali problematikou sladovníkeho jačmeňa a sladu z aspektu tzv. poľných mikromycét a potom osobitne problematikou mikromycét rodu *Fusarium* sp. [1, 2]. Naše výsledky potvrdili, že výskyt fuzáriami kontaminovaných zŕn bol v sladovníckom jačmeni úrody roku 1984 pomerne nízky, najviac bolo 14 % fuzáriami kontaminovaných zŕn v jednej zo vzoriek. Preto sa pravdepodobne nebolo potrebné obávať opatrení výrobcov, resp. dovozcov, ktoré by súviseli s prípadnou kontamináciou týchto surovín toxickými metabolitmi mikromycét rodu *Fusarium* sp.

V tejto práci sme sa zamerali na skupinu tzv. skladiskových húb. Je to ekologická skupina mikromycét, ktorá mimoriadne citlivo reaguje na zmeny vlhkosti a teploty skladovaných obilných zŕn. Ich problematike sa venovalo veľa odborníkov.

Je veľmi ťažko urobiť hraničné rozdelenie medzi tzv. poľnými a skladiskovými hubami. Typické skladiskové huby, ako sú penicíliá a aspergily, možno izolovať z obilných zŕn aj pred žatvou, zvyčajne ale iba v malom množstve a vtedy, ak je vlhká a teplá klíma a ak sú zrná poškodené hmyzom.

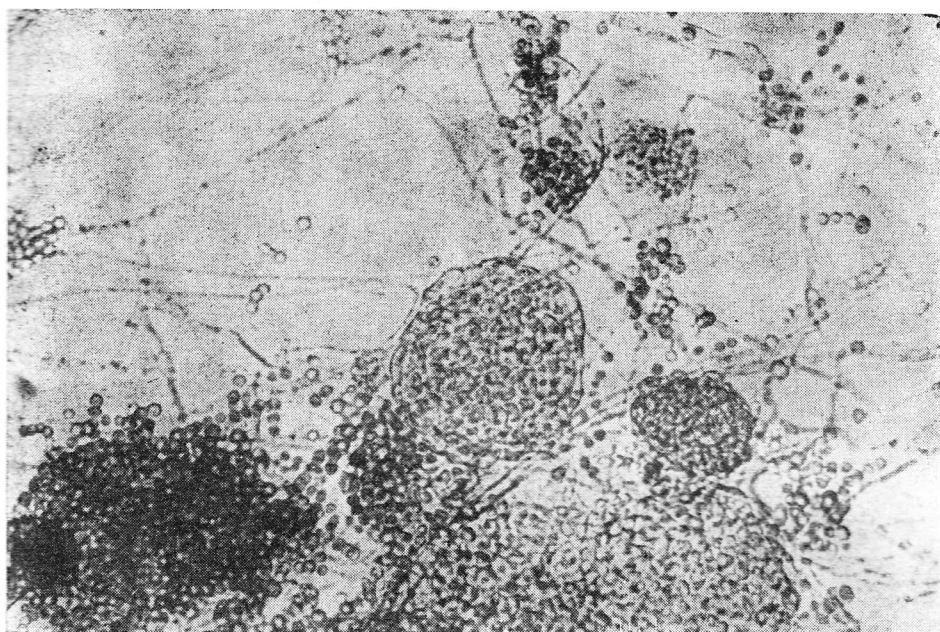
Naopak zase, poľné huby, napr. *Fusarium* sp., môžu sa rozrastať na skladovanom zrne, ak je toto nedostatočne vysušené [11]. V našich vzorkách sme izolovali z poľných húb kmene rodu *Fusarium* sp., *Alternaria* sp. a *Epicoccum* sp.

Niektorí odborníci rozdeľujú mikromycéty na obilných zrnách až do piatich osobitných skupín. Do prvej fázy kolonizácie obilných zŕn je zaradená skupina typických poľných húb, počas druhej fázy počet zárodkov poľných húb klesá. V tretej fáze sa zvyšuje počet zárodkov kvasiniek a *Penicillium roqueforti*. V štvrtej fáze sa na kolonizácii zŕn zúčastňuje skupina typických mezofilných skladiskových húb, ktoré majú malý alebo nijaký sklon k samozohrievaniu. Počas piatej fázy skladovania zŕn sa zvyšuje počet termofilných a termotolerantných druhov mikromycét a dochádza k samozohrievaniu skládky. Vznik, priebeh, resp. zakončenie každej z týchto fáz možno ovplyvniť vonkajšími podmienkami, napr. okrem iného aj prevzdušňovaním skládky obilných zŕn, dokonalejším vysušením a pod. [11].

Na kontaminácii jedného obilného zrna sa môžu často zúčastňovať súčasne 2 až 3 rôzne druhy mikromycét [12]. Frekvencia výskytu rozličných druhov môže byť veľká, napr. Flannigan [13] izoloval a identifikoval zo suchých zŕn jačmeňa až 55 rozličných druhov mikroskopických vláknitých húb.

Skladiskové huby sa z ekologického hľadiska hodnotia ako „konzumenti“ [14].

K najznámejším a najrozšírenejším skladiskovým hubám patria aspergily skupiny *A. glaucus* (obr. 1). Tieto aspergily sú v prírode veľmi rozšírené. Ich výskyt sa osobitne intenzívne študoval v súvislosti s obilnými zrnami. Význam týchto aspergilov je v tom, že sú osmoofilné — sú schopné rasti na substrátoch s nižším obsahom vlhkosti. Uvádza sa, že vyklíčia a rastú pri 13,5 % vlhkosti, ale pomnožujú sa až do hranice vlhkosti zrna 20,0—22,3 % ($a_w = 0,90$ až 0,93). Na obilných zrnách sa hodnotia ako predchodcovia menej xerofilných druhov, ako sú *A. candidus*, *A. versicolor*, *A. flavus* a niektoré *Penicillium* sp. Najčastejšie bývajú izolované druhy *A. amstelodami*, *A. repens*, *A. chevalieri*, *A. ruber* [9, 11, 15]. Podľa údajov literatúry niektoré z nich sú síce producentmi toxických metabolitov [16], ale o vplyve ich metabolitov na organizmus človeka, napriek značnému rozšíreniu aspergilov skupiny *A. glaucus* v potravinách a potravinárskych surovinách, nie je zatiaľ nič známe. Kmene bývajú izolova-



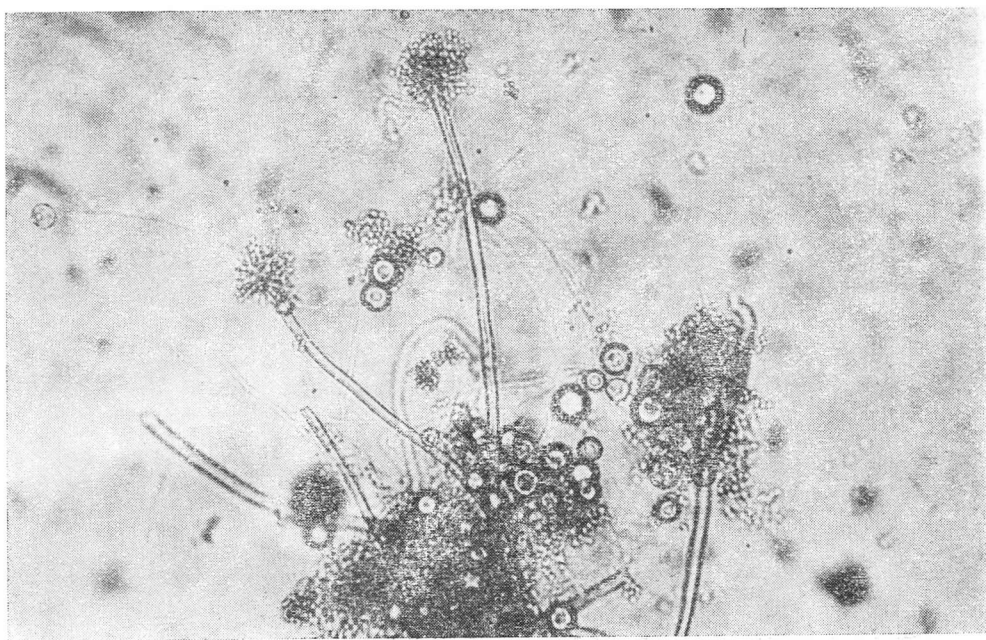
Obr. 1. *Aspergillus* skupiny *A. glaucus* — kleistotécia (plodníčky).
 Fig. 1. *Aspergillus* of the group *A. glaucus* — cleistothecii.

né z 30 %, z 50 %, ale aj zo 100 % vyšetrených vzoriek sladovníckeho jačmeňa. V súbore vzoriek, ktoré sme vyšetrovali, patrili kmene aspergilov skupiny *A. glaucus* k najčastejšie sa vyskytujúcim kontaminantom zŕn jačmeňa a sladu.

Zárodoky kmeňov druhu *A. flavus* si vyžadujú na svoje pomnoženie na zrnách obilia vyššiu hodnotu vlhkosti substrátu, $a_w = 0,90$ až $0,95$ (20—25,3 % vlhkosti) a v obilných skládkach sú prítomné v lokalitách samozohrievania zŕn pri teplote 50°C . Často sa vyskytujú spolu so zárodkami *Penicillium piceum* [15, 17]. Niektoré kmene *A. flavus* sú schopné produkovať za priaznivých podmienok toxický metabolit — aflatoxín [18]. V prípade, že sú kontaminované aflatoxínom suroviny na výrobu piva, môže sa určité množstvo toxínu dostať aj do piva [19]. V pive európskeho pôvodu však zatiaľ aflatoxín nebol detegovaný [20, 21].

V našej práci sme kmene *A. flavus* izolovali zo 49 % vzoriek sladovníckeho jačmeňa a zo 74,5 % vzoriek sladu. Jedna zo vzoriek sladovníckeho jačmeňa mala až 85 % zŕn kontaminovaných zárodkami kmeňov *A. flavus*. Toxickosť izolovaných kmeňov sme však v tejto práci neoverovali.

Aj *A. candidus* je v prírode veľmi rozšírený, osobitne často sa vyskytuje na obilných zrnách a cereálnych produktoch, ako je napríklad múka [22]. Na obilných zrnách sa pomnožuje pri hodnotách vodnej aktivity $a_w = 0,85$ až $0,95$



Obr. 2. *Aspergillus versicolor*.

Fig. 2. *Aspergillus versicolor*.

(17,2—25,3 % vlhkosti). Je primárnym agensom aktívneho samozohrievania vlhkého zrna. Za týchto podmienok invaduje embryo zrna počas 30—35 dní, pričom sa zvyšuje teplota až na 55 °C a dochádza k odumretiu a rozkladu zrna [11, 14, 15]. Sekundárnym metabolitom kmeňov *A. candidus* je napr. citrinín [23], ale citrinín sa počas výroby piva degraduje [6]. *A. candidus* treba preto hodnotiť zatiaľ iba ako technologicky závažný druh, ktorý môže znižovať klíčivosť zŕn sladovníkeho jačmeňa. V našej práci sa *A. candidus* vyskytoval iba v 15,5 % vzoriek sladovníkeho jačmeňa a iba v 9,8 % vzoriek sladu.

Na skladovaných obilných zrnách sa môže pravidelne vyskytovať *A. versicolor* (obr. 2). Zrná kolonizuje pri hodnotách vodnej aktivity $a_w = 0,85$ až 0,90 (17,2—20 % vlhkosti), spolu s kmeňmi *P. verrucosum* var. *cyclopium* [11, 13, 15]. Pri diagnostike sa ich kultúry často navzájom prekrývajú. Kmene *A. versicolor* sú producentmi mykotoxínu sterigmatocystínu [24]. Tento toxín bol už detegovaný v našich obilných zrnách [25]. Doteraz nie je jasné, či sa tento mykotoxín dostáva z kontaminovaných zŕn aj do piva. V súbore našich vzoriek bolo kmeňmi *A. versicolor* kontaminovaných 41,1 % vzoriek sladovníkeho jačmeňa a 7,8 % vzoriek sladu.

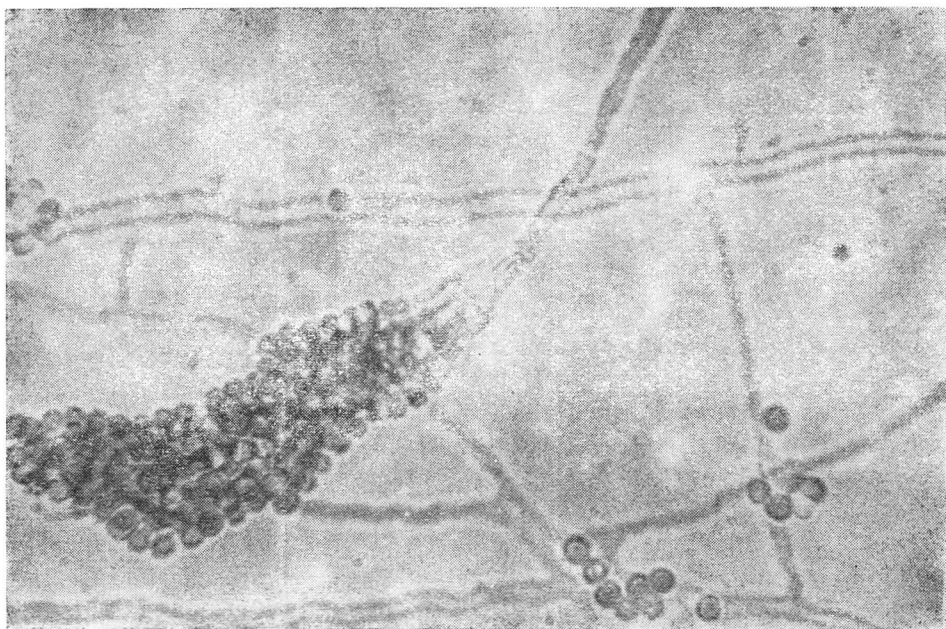
Kmene *A. ochraceus* prenikajú do zrna pri 15—15,5 % vlhkosti pomaly, oveľa rýchlejšie však pri vlhkosti 16 %. Pri vlhkosti zrna 17 % sú schopné už

za 2 týždne prerásť všetky zrná. Vyrastajú najmä do embrya zŕn, ktoré usmrťia a rozkladajú. Zárodky tohto druhu sú však v mykoflóre obilných zŕn relatívne zriedkavé. Príčinou zriedkavého výskytu je pravdepodobne to, že *A. flavus* a aspergily skupiny *A. glaucus* majú v zrnách oproti *A. ochraceus* určité antagonistické vzťahy [26]. V našich vzorkách sa *A. ochraceus* vyskytoval iba vo dvoch vzorkách sladovníckeho jačmeňa. Kmene *A. ochraceus* sú známe ako potenciálni producenti ochratoxínu A [27, 28]. Pokiaľ boli ochratoxínom A kontaminované suroviny na výrobu piva, bolo možné detegovať tento mykotoxín vo finálnom výrobku [6, 19]. Za prirodzených podmienok bol vo vzorkách európskeho piva detegovaný ochratoxín A v množstve 110, 75, 35, resp. 5 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ [20].

V našej práci sa nám nepodarilo izolovať kmene *Aspergillus nidulans*, *A. fumigatus*, ani *A. restrictus*. *A. nidulans* a *A. fumigatus* sa pomnožujú na zrnách s hodnotou vodnej aktivity $a_w = 0,90$ až $0,95$ (20,0—25,3 % vlhkosti) a pri teplote 50 °C [11, 29].

Pre selektívnu izoláciu kmeňov *A. fumigatus* by bolo potrebné upraviť inkubačnú teplotu až na 50 °C [30], pre selektívnu izoláciu kmeňov *A. restrictus* kultivačné prostredie, a to pôdy s 20—40 % sacharózy alebo chloridu sodného. Kmene *A. restrictus* sú prítomné v zrne s vlhkosťou 13,5—15,0 % a často spôsobujú straty na uskladnenom obilí pri vlhkosti okolo 14 %. Zistilo sa, že môžu kontaminovať až 54 % zŕn vo vzorke [31]. Na izoláciu tohto druhu sme nemohli vytvoriť vhodné laboratórne podmienky.

K významným producentom ochratoxínu A, prípadne iných nefrotoxických mykotoxínov patria aj niektoré druhy rodu *Penicillium* (obr. 3). Penicília sú najznámejšie ekologické skupiny, ktoré kolonizujú obilné zrná. Hill a Lacey [11] izolovali zo vzoriek sušeného jačmeňa 31 druhov a variet penicílií. Kmene rozličných druhov penicílií majú pre svoje množenie na obilných zrnách svoje osobitné požiadavky. Ako prvý zástupca penicílií pri hodnote vodnej aktivity $a_w = 0,87$ (18 % vlhkosť zrna) bol izolovaný *P. brevicompactum*, často aj *Penicillium verrucosum* var. *verrucosum*, var. *cyclopium*, var. *corymbiferum*, zriedkavejšie var. *ochraceus*. Zistilo sa, že spolu s *P. verrucosum* var. *cyclopium* kolonizuje zrno *A. versicolor*. Ak stúpala hodnota vodnej aktivity, boli v prvom štádiu samozohrievania časté kmene *P. citrinum*, *P. janthinellum*, *P. variable*, *P. funiculosum* a aj *P. hordei*. So zvyšujúcou sa teplotou boli kmene týchto druhov vystriedané kmeňmi *P. capsulatum*, potom *P. piceum*. *P. piceum* bolo často sprevádzané kmeňmi *A. flavus*. *Penicillium roqueforti* rastie najviac na zrne pri vodnej aktivite $a_w = 1,0$ (40 % vlhkosti) [11, 17]. Flannigan [13] izoloval vo Veľkej Británii kmene *Penicillium* sp. z 10 % vyšetrených vzoriek sladovníckeho jačmeňa a v jednej vzorke bolo priemerne 60,5 % penicíliami kontaminovaných zŕn. V našej práci sme *Penicillium* sp. izolovali z 94,1 % vzoriek sladovníckeho jačmeňa a z 98 % vzoriek sladu, pričom vzorky jačmeňa



Obr. 3. *Penicillium* sp.

Fig. 3. *Penicillium* sp.

mali priemerne 18,7 % a v slade priemerne 35,8 % penicíliami kontaminovaných zŕn. Krogh a kol. [6] uvádzajú, že ak pridávali ochratoxín A do surovín na výrobu piva, do konečného výrobku sa dostalo najviac 2—7 % pôvodného množstva. Treba však upozorniť, že penicíliá sú producentmi rozličných iných chemicky neanalyzovateľných mykotoxínov a ďalších toxických metabolitov, ktoré zatiaľ neboli presne definované, ale ktoré svoje toxické vlastnosti prejavovali v pokusoch na zvieratách [32].

Chelkowski a kol. [10] zaradili obilné zrná, ktoré mali viac ako 31 % zŕn kontaminovaných kmeňmi *Penicillium* sp., do III. a IV. stupňa kvality. Ide o obilie, ktoré mení svoju farbu, začína zapáchať po plesniach, na povrchu zŕn sa rozrastajú kolónie plesní, najprv viditeľné iba stereomikroskopom, neskôr už aj voľným okom. V takto postihnutých vzorkách zŕn bolo možné takmer vždy detegovať ochratoxín A.

Fykomycéty, ako sú *Mucor* sp., *Rhizopus* sp., *Absidia* sp. a iné, nepatria striktne ani do skupiny poľných, ani do skupiny skladiskových húb. V porovnaní so zrnami nemajú patogénne vlastnosti, ale ich prítomnosť svedčí o tom, že životaschopnosť zŕn je znížená alebo celkom zredukovaná. Najčastejšie bývajú izolované zo zŕn, kde prebieha pri vyššej teplote proces samozohrievania. Napríklad pre *Rhizopus pusillus* vyhovuje hodnota vodnej aktivity a_w

vyššia ako 95 (viac ako 25,3 % vlhkosti zrna) a teplota 63 °C, pre *Absidia co-rymbifera* $a_w = 0,90$ až 0,95 (20,0—25,3 % vlhkosti) [11, 29, 33].

V našej práci sme izolovali zástupcov fykomycét častejšie zo sladu ako zo sladovníkeho jačmeňa, čo je v úplnom súlade s uvedenými poznatkami.

Pre samozohrievanie zrna sú charakteristické ďalšie mikromycéty, ako napr. *Humicola lanuginosa*, ktoré sa pomnožujú na zrnách obilia pri hodnote vodnej aktivity a_w nad 0,95 (viac ako 25,3 %) a pri teplote 65 °C [11]. Z našich vzoriek sme kmene tohto druhu neizolovali. Jednou z možných príčin je pravdepodobne nízka inkubačná teplota, pre termofilné druhy treba používať termostaty s vyššou teplotou.

Okrem uvedených druhov mikromycét môžu byť zo zrn jačmeňa a sladu izolované ďalšie mikroskopické vláknité huby. V našich vzorkách sa vyskytovali i kmene *A. wentii*, aspergily skupiny *A. niger*, *Aureobasidium* sp., *Cladosporium* sp., *Stemphylium* sp. a kmene so sterilným mycéliom.

Mikromycéty z povrchu zrn jačmeňa pri premývaní a máčaní zrn môžu byť celkom spláchnuté alebo sa môžu zachytiť na inom zrne. Počas prípravy zeleného sladu sa zvyčajne dormantné spóry a mycélium na povrchu zrna i v jeho tkanive aktivizujú. Uvádza sa, že maximum počtu vláknitých mikromycét sa dosahuje na 6. deň skladovania a že kontaminácia sladu kmeňmi *Mucor* sp. a *Rhizopus* sp. stúpa. Pri zrnách jačmeňa i sladu patria k najčastejším kontaminantom najmä aspergily skupiny *A. glaucus* a *Penicillium* sp., a vo väčšine prípadov môže byť takáto kontaminácia vyššia v slade ako v jačmeni. Pokiaľ sa slad neskladuje za optimálnych podmienok, mikromycéty sa môžu zúčastňovať na kazení hotového výrobku. Aspergily skupiny *A. glaucus* môžu znehodnotiť i slad, skladovaný na hranici „bezpečnej vlhkosti zrna“. *Penicillium* sp., prežíva v slade v dormantnom štádiu a aktívne sa prejaví až pri 98—100 % relatívnej vlhkosti. Pri 88,5 % relatívnej vlhkosti sa na slade pomnožuje *A. candidus* a *A. versicolor* [9, 34].

Uviedli sme výsledky mykologického vyšetrenia skladiskových húb pri sladovníckom jačmeni a slade z úrody roku 1984 v Slovenskej socialistickej republike. Niektoré z izolovaných mikromycét sú známe ako producenti významných toxických metabolitov. Výsledky našej práce sme doplnili podľa údajov literatúry poznatkami o ekologických podmienkach, ktoré umožňujú rozvoj určitých skupín mikromycét v týchto surovinách, ktoré sú také dôležité pre pivovarnícky priemysel. V súlade so súčasnými poznatkami sme toho názoru, že k všeobecnému hodnoteniu kvality sladovníkeho jačmeňa a sladu bude potrebné pristupovať i z aspektu objektívneho zistenia stavu kontaminácie zrn vláknitými mikromycétami a objektívne zistiť stav kontaminácie zrn mykotoxínmi. Ide o to, aby sa kontaminované suroviny nedostali do ďalšieho stupňa výrobného procesu.

Literatúra

1. ŠEPITKOVÁ, J. — JESENSKÁ, Z.: Bull. PV (Bratislava), 24, (4), 1984, č. 2—3, s. 143.
2. ŠEPITKOVÁ, J. — JESENSKÁ, Z.: Bull. PV (Bratislava) (v tlači).
3. FLANNIGAN, B.: Trans. Brit. mycol. Soc., 71, 1978, č. 1, s. 37.
4. PELHATE, J.: INSERM, 46, 1975, s. 15.
5. REISS, J.: Mykotoxine in Lebensmitteln. Stuttgart, Gustav Fischer Verlag 1981, 549 s.
6. KROGH, P. — HALD, B. — GJERTSEN, P. — MYKEN, F.: Appl. Microbiol., 28, 1974, č. 1, s. 31.
7. CHU, F. S. — CHANG, C. C. — ASHOOR, S. H. — PRENTICE, N.: Appl. Microbiol., 29, 1975, č. 3, s. 313.
8. ŘEHÁK, J.: Kvasný Prům., 30, 1984, č. 12, s. 268.
9. FLANNIGAN, B. — HEALY, R. E.: J. Inst. Brew., 89, 1983, č. 5, s. 341.
10. CHELKOWSKI, J. — TROJANOWSKA, K. — WIEWIÓROWSKA, M.: Nahrung, 27, 1983, č. 4, s. 311.
11. HILL, R. A. — LACEY, J.: Ann. appl. Biol., 102, 1983, č. 3, s. 467—483.
12. KWELLA, M. — WEISSBACH, F.: Zbl. Mikrobiol., 139, 1984, č. 6, s. 453.
13. FLANNIGAN, B.: Trans. Brit. mycol. Soc., 53, 1969, č. 3, s. 371.
14. SINHA, R. N.: Ann. Technol. Agric., 28, 1979, č. 2, s. 191.
15. RAPER, K. B. — FENNELL, D. I.: The genus *Aspergillus*. Baltimore, Wilkins and Wilkins Company 1965, 686 s.
16. JESENSKÁ, Z. — POLÁKOVÁ, O.: Prům. Potravin, 29, 1978, č. 1, s. 52.
17. HILL, R. A. — LACEY, J.: Trans. Brit. mycol. Soc., 82, 1984, č. 2, s. 297.
18. JESENSKÁ, Z. — POLSTER, M.: Z. ges. Hyg., 29, 1983, č. 9, s. 515.
19. CHU, F. S. — CHANG, C. C. — ASHOOR, S. H. — PRENTICE, N.: Appl. Microbiol., 29, 1975, č. 3, s. 317.
20. PAYEN, J. — GIRARD, T. — GAILLARDIN, M. — LAFONT, P.: Microbiology — Aliments — Nutrition, 1, 1983, č. 2, s. 143.
21. WOLLER, P. — MAJERUS, P.: Mschr. Brauwiss., 35, 1982, č. 4, s. 88.
22. JESENSKÁ, Z. — HAVRÁNEKOVÁ, D. — ŠAJBIDOROVÁ, I.: Bull. PV (Bratislava), 23 (3), 1984, č. 1, s. 41.
23. JESENSKÁ, Z. — POLÁKOVÁ, O.: Prům. Potravin, 31, 1980, č. 11, s. 655.
24. VESELÝ, D. — VESELÁ, D. — JESENSKÁ, Z.: Čs. Hyg., 26, 1981, č. 2, s. 104.
25. BARTOŠ, J. — MATYÁŠ, Z.: Vet. Med., 28, 1983, č. 3, s. 189.
26. CHRISTENSEN, C. M.: Cereal Chem., 39, 1962, č. 2, s. 100.
27. JESENSKÁ, Z. — VESELÝ, D. — VESELÁ, D.: Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. B., 177, 1983, č. 1—2, s. 108.
28. VASZILKOVÁ, A. — JESENSKÁ, Z.: Čs. Hyg., 28, 1983, č. 3, s. 155.
29. CLARKE, J. H. — HILL, S. T.: Trans. Brit. mycol. Soc., 77, 1981, č. 2, s. 557.
30. KOTHARY, M. H. — CHESE, T., Jr. — MACMILLAN, J. D.: Environ. Pollut., 34, 1984, č. 1, s. 1.
31. CHRISTENSEN, C. M. — GASEM, S. A.: Cereal Chem., 39, 1960, č. 1, s. 68.
32. JESENSKÁ, Z. — ŠEPITKOVÁ, J.: Bull. PV (Bratislava), 23 (3), 1984, č. 3, s. 197.
33. GYLLANG, H. — MARTINSON, E.: J. Inst. Brew., 82, 1976, č. 6, s. 350.
34. FLANNIGAN, B. — OKAGBUE, R. N. — KHALID, R. — TEOH, C. K.: Brewing Distill. int., 12, 1982, č. 6, s. 31, 37.

Анализ микрофлоры пивоваренного ячменя и солода

II. Хранилищные микромицеты

Резюме

Работа приводит результаты исследования внутренней микрофлоры зерен пивоваренного ячменя и солода. Внимание сосредоточилось на наличии так называемых хранилищных волокнистых грибов.

Встречаемость зерен, зараженных хранилищными микромицетами из урожая зерна 1984 года и периода хранения от октября 1984 до конца июня 1985 г. была сравнительно высокой и богато представлена отдельными родами. Образцы пивоваренного ячменя были чаще всего заражены штаммами аспергиллов группы *A. glaucus*, *A. flavus*, *A. versicolor*, *Alternaria* sp. и *Penicillium* sp.

Образцы солода обладали доминантной микрофлорой, представленной родами *Penicillium* sp., *Mucor* sp., *Rhizopus* sp. и *Absidia* sp. Менее часто, прямо в единичных случаях, встречались *A. candidus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. wentii*, *Aureobasidium* sp., *Circinella* sp., *Epicoccum* sp., *Stemphylium* sp. и другие.

Результаты показывают, что необходимо наблюдать так же за микологическими и микотоксикологическими критериями качества пивоваренного ячменя и солода.

Analysis of the mycoflora in malt barley and malt

II. Store — room micromycetes

Summary

Investigation results of the internal mycoflora of grains of malt barley and malt are presented. The authors have concentrated on the incidence of the so-called store-room fibre fungi.

The incidence of grains contaminated by store-room micromycetes in the grain crop of 1984 and during its storing-period (October 1984—June 1985) was relatively high, being richly represented by individual micromycete genera. The samples of malt barley were most often contaminated by the strains of aspergilli of the group *A. glaucus*, *A. flavus*, *A. versicolor*, *Alternaria* sp. and *Penicillium* sp.

The samples of malt contained the dominant mycoflora represented by the genera *Penicillium* sp., *Mucor* sp., *Rhizopus* sp. and *Absidia* sp. The occurrence of *A. candidus*, *A. niger*, *A. Ochraceus*, *A. wentii*, *Aureobasidium* sp., *Circinella* sp., *Epicoccum* sp., *Stemphylium* sp. and others was less frequent or even rare.

The results suggest the necessity to follow the mycological as well as mycotoxical criteria of the quality of malt barley and malt.