

LATVIJAS UNIVERSITĀTE  
BIOLOĢIJAS FAKULTĀTE  
MIKROBIOLOĢIJAS UN BIOTEHNOLOĢIJAS  
KATEDRA

KRĪTA SLIMĪBAS IZRAISĪTĀJU  
IDENTIFICĒŠANA MAIZES RAŽOŠANAS  
PROCESĀ

Bakalaura darbs

Autors: Sandra Jansone

Stud. apl. Nr. sj16024

Darba vadītājs: asoc. prof., Dr. sc. ing. Daiga Kunkulberga  
asoc. prof., Dr. biol. Vizma Nikolajeva

Rīga 2018

## SATURS

KOPSAVILKUMS.....	3
SUMMARY .....	4
IEVADS.....	5
1. Literatūras apskats.....	6
1.1 Graudu mikrobiota.....	6
1.2 Krīta slimība .....	10
1.4 Maizes izstrādājumu glabāšanas laiks .....	12
1.5 pH ietekme uz krīta slimības attīstību.....	14
1.6 Ūdens aktivitātes ietekme uz krīta slimības attīstību.....	16
2. Materiāli un Metodika .....	18
2.1 Paraugu ievākšana .....	18
2.2 Iekārtas un materiāli .....	19
2.3. Mikroorganismu kultivēšana un identificēšana.....	20
2.4. Fizikāli ķīmiskās analīžu metodes.....	21
2.5. Datu statistiskā apstrāde.....	22
3. Rezultāti un diskusija .....	23
4. Secinājumi .....	35
5. Pateicības .....	36
6. LITERATŪRAS SARAKSTS.....	37
PIELIKUMI .....	40

## KOPSAVILKUMS

Krīta slimība ir reāla problēma maizes ražošanā, rada agrīnu bojāšanos un zaudējumus - mīkstumā parādās balti pulverveidīgi ieslēgumi. Cēlonis ir milti, kuros atrodas raugi un pelējuma sēnes. Izejvielas, kuras izmanto maizes cepšanai satur barības vielas, kurām ir labvēlīga vide mikroorganismu attīstībai. Nevēlamie mikroorganismi uz maizes var nokļūt no gaisa, iekārtām, taras, transporta un personāla. Šis pētījums tika veikts, lai noskaidrotu vai maizes ražotnē SIA „xxx” sastopama krīta slimība un mikroorganismi, kas to izraisa, iegūstot paraugus no izejvielām un raksturīgākajām to atrašanās vietām. Veicot laboratorijas izmeklējumus, tika identificētas piecas maizes krīta slimības izraisītāju sēņu sugas: *Cyberlindnera jadinii*, *Diutina catenulata*, *Vanrija humicola*, *Cyberlindnera jadinii* un *Wickerhamomyces anomalus*. Tika konstatēts, ka eļļa, ko ražotnē izmanto maizes griezēja nažu eļļošanai, ir galvenais krīta slimības izraisītāju avots. Gaisa analīzēs identificētas arī maizi biežāk bojājošās pelējumsēnes: *Penicillium*, *Geotrichum*, *Paecilomyces*, *Aspergillus*, *Cunninghamella* un *Cladosporium* spp.

Atslēgas vārdi: Krīta slimība, raugi, maizes ražošana, ūdens aktivitāte, pH, mitrums, mikotoksīni, droša pārtika, pretsēnīšu aktivitāte, *Saccharomycopsis fibuligera*, *Wickerhamomyces anomalus*.

## SUMMARY

### IDENTIFICATION OF FUNGI CAUSING CHALK MOULD IN BREAD PRODUCTION PROCESS

Chalk mold is real problem in production of bread, it cause early deterioration and loss – in to flesh are appearing white powdery of inclusions. The reason is flour, that contain yeast and molds. The raw materials used for bread production contains nutrients that have a favourable environment for the development of microorganisms. Undesirable microorganisms on the bread can be get of the air, equipment, containers, transport and personnel. This research was made in order to clarify if in bread bakery SIA “xxx” is occurring chalk mould disease and microorganisms whouse are able to cause it, therefore were obtained samples from moust typical raw materials and locations. By doing laboratorical researching where identifide five pathogen species whose are causing of chalk mold: *Cyberlindnera jadinii*, *Diutina catenulata*, *Vanrija humicola*, *Cyberlindnera jadinii* and *Wickerhamomyces anomalus*. It was founded that the used oil for industry bread knife slicer, is the main source of isease formation. Air analysis identified more frequent damaging molds of bred: *Penicillium*, *Geotrichum*, *Paecilomyces*, *Aspergillus*, *Cunninghamella* and *Cladosporium* spp.

Keywords: Chalk mold defects, yeasts, bakery production, water activity, pH, moisture, mycotoxins, food safety, antifungal activity, *Saccharomycopsis fibuligera*, *Wickerhamomyces anomalous*.

## IEVADS

Viens no biežāk sastopamajiem maizes mikrobioloģiskās bojāšanās veidiem ir pelēšana. Pelējums var parādīties uz maizes garozas, maizes mīkstumā, bieži uz maizes, kas sagriezta šķēlēs. Maizes izstrādājumu bojāšanās iemesli galvenokārt koncentrējas uz pelējuma pētniecību, jo tā ir aktuāla problēma, visā pasaulē ar pelējumu bojāta maize veido 5% no uzņēmumos saražotā kopējā maizes daudzuma (Cauvain 2003). Mazāka uzmanība tiek pievērsta krīta slimībai, lai gan tā rada agrīnu bojāšanos, un ir reāla problēma maizes ražošanā, radot zaudējumus, bet šie raugi netiek uzskatīti par nozīmīgiem kaitējumu izraisītājiem sabiedrības veselībai.

Svarīgi atcerēties, ka pelējuma augšana ir lēnāka nekā rauga un baktēriju attīstība. Maizes mīkstumā parādās balti pulverveidīgi ieslēgumi. To cēlonis ir milti, kuros atrodas raugveida sēnes, piemēram, *Saccharomycopsis fibuligera*, *Hyphopichia burtonii*. Maizes krīta slimība nav bīstama cilvēkam, bet maize zaudē preces izskatu. Tomēr dažkārt tiek ziņots par gastroenterītu, ko izraisījuši pārtikas raugi, un daži raugi tiek minēti klīniskajā izpētē kā patogēni pacientiem ar imūndeficītu, tostarp *Wickerhamomyces anomalus*. Šo faktoru ietekmes apzināšana nākotnē ļaus izstrādāt atbilstošas stratēģijas pret krīta slimības ietekmi uz maizes kvalitāti (Deschuyffeleer, 2011)

Darba mērķis: identificēt krīta slimības izraisītājus maizes ražotnē.

Darba uzdevumi:

1. Iepazīties ar krīta slimības izraisītājiem un to identificēšanu,
2. Veikt paraugu ievākšanu no maizes ceptuves SIA „xxx”,
3. Veikt iegūto paraugu uzsēšanu uz attiecīgajām barotnēm,
4. Identificēt un raksturot izolētās kultūras,
5. Noskaidrot krīta slimības izcelsmi maizes ražošanas procesā.

Pētījums veikts Latvijas Lauksaimniecības universitātes Pārtikas tehnoloģijas fakultātes Mikrobioloģijas zinātniskajā laboratorijā, mikroorganismu identificēšana veikta Latvijas Universitātes Bioloģijas fakultātes Mikroorganismu kultūru kolekcijā.

# 1. LITERATŪRAS APSKATS

## 1.1 *Graudu mikrobiota*

Graudos sastopamas vairākas mikroorganismu grupas, tādas kā epifītiskie mikroorganismi, kas barojas ar augu audu organiskajiem izdalījumiem un augsnes mikroorganismi, kas nokļuvuši uz augiem kulšanas, ražas novākšanas laikā, vai nejaušā mikrobiota, piemēram, ar putekļiem, lietu vai kukaiņiem. Graudu mehāniski bojājumi un nezāļu sēklu piejaukums paaugstina graudu inficētības pakāpi, piemēram, 1 g miežu var saturēt 120 000 baktēriju un 4000 sēņu. Ja graudus samaļ, visi mikroorganismi saglabājas miltos. 1 g miltu var saturēt pat vairāk nekā 100 000 mikroorganismu, visvairāk baktērijas, bet arī raugus un pelējuma sēnes. Sausos miltos ( $\leq 14\%$  mitruma,  $a_w \sim 0,65$ ) visi mikroorganismi ir neaktīvi (Nikolajeva, 2014).

Ar graudaugu graudiem saistītā mikrobiota ietver mikrobiotu, kas bieži vien atspoguļo apkārtējās vides apstākļus, kuros audzē augus. Daži no šiem faktoriem var ietekmēt graudu drošību un kvalitāti, kas kavē globālo tirdzniecību vai lauksaimniecības preču galīgo izmantošanu. Mieži (*Hordeum vulgare*) ir nozīmīgi graudaugi, ko galvenokārt audzē barības un iesala izmantošanai. 2012. gadā pasaulē visās labības kultūrās tas bija ceturtais lielākais daudzums (132,35 miljoni metriski tonnu) un novāktā platība (49,3 miljoni hektāru) (Chena, 2016). Parastie kvieši (*Triticum aestivum* L.) ir viena no vissvarīgākajām kultūrām pasaulē, kuru pārsniedz tikai kukurūza un rīsi (FAOSTAT, 2015). Tomēr kviešu stādiem nepārtraukti tiek pakļauti patogēnām sēnītēm, baktērijām un kukaiņiem, kuriem ir milzīga ietekme uz produktivitāti un kvalitāti (Hertz, 2016).

Labības graudi tūlīt pēc novākšanas satur mikrobu piesārņojumu, kas nāk no vairākiem avotiem, piemēram, putekļi, ūdens, kaitīgie augi, insekti, augsne, mēslošanas līdzekļi un dzīvnieku ekskrementi. Atrastās baktērijas galvenokārt pieder dzimtām *Pseudomonadaceae*, *Micrococcaceae*, *Lactobacillaceae* un *Bacillaceae*, un pelējuma galvenokārt ir *Alternaria*, *Fusarium*, *Helminthosporium* un *Cladosporium*, koliformu baktērijas un enterokoki, lai gan var būt arī citas ģintis. Patogēni, kas piesārņo labības graudus un graudaugu produktus un rada problēmas, ir *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Salmonella* un *Staphylococcus aureus*. Koliformas un enterokoki

parādās nepietiekamas sanitārās gadījumā, iespējams arī fekālais piesārņojums (Bullerman, 2011).

Graudaugu mikrobiotas sastāvam ir liela nozīme graudu un miltu uzglabāšanā, jo augstā mitruma līmenī mikroorganismi var augt un mainīt produkta īpašības. 13% mitruma līmenis tiek uzskatīts par maksimālo vērtību kviešu, kukurūzas, miežu un rīsu uzglabāšanai īsos periodos, lai gan temperatūrai un skābekļa koncentrācijai arī ir svarīga nozīme. Uzglabājot graudus ar paaugstinātu mitrumu (virs 16%), var sākties mikroskopisko sēņu un pēc tam arī citu mikroorganismu darbība. Slapjš graudaugu maisījums cieš no skābes fermentācijas, ko rada piena un kolibaktēriju darbība. Pēc tam var sekot alkohola fermentācija ar raugu un, visbeidzot, pelējumu. Miltu galvenie mikrobioloģiskās bojāšanās veidi ir pelēšana, tā var notikt noliktavās, kur gaisa relatīvais mitrums pārsniedz 80%. Milti var saskābt, ja pienskābes baktērijas sarauzē miltu ogļhidrātus, veidojot skābes. Uz virsmas var attīstīties rauga plēves, lai gan, ja ir sastopamas etiķskābes baktērijas, tās var oksidēt spirtu ar etiķskābi, kavējot pelējuma augšanu (Frazier & Westhoff, 1967; ICMSF, 1980). Rūpniecisko miltu ražošanā pastāv divi galvenie mērķi: atdalīt klijas no endospermas un samazināt endospermas daļiņu izmēru (Laca, 2006).

Uzglabāšanas laikā graudi var saturēt saprofitos, fitogēnos – visviežāk sēnes (melnplaukas, melnos graudus, fuzārijas) un patogēnos mikroorganismus, kas uz graudiem nokļūst nejauši, slimi dzīvnieki vai nēsātāji pārnēs, piemēram, tularēmijas un brucelozes ierosinātājus. Pie saprofītiem pieskaitāmas endosporas veidojošās baktērijas, tādas kā pelējumsēnes, aktinobaktērijas un raugi (Nikolajeva, 2014).

Mikroorganismi uz graudiem visvairāk nokļūst kulšanas procesā. Mehāniski traumēti graudi, kuriem segaudos izveidojušās lielākas un mazākas spraugas, mikroorganismiem ir pieejamāki. Sēklu graudus pirms sējas apstrādā ar kodnēm, lai iznīcinātu uz to virsmas esošos fitopatogēnos mikroorganismus, bet šādā apstrādē iet bojā arī epifītiskie mikroorganismi, kas, iespējams, ir augu augšanas un attīstības stimulantāji. Graudu epifītiskajā mikrobiotā sugu skaits ir samērā pastāvīgs. Vairāk nekā 90% no epifītiem mikroorganismiem ir pūšanas baktērijas. No tām visvairāk (40 – 80%) sastop *Pseudomonas* ģints nūjiņas, kas neveido sporas. Tipiska nebojātu graudu mikrobiotā ir *Pantoea agglomerans*, kas uz cietām

agara barotnēm veido dzeltenas kolonijas. Šis mikroorganisms liecina par to, ka graudi ir labi uzglabājušies un tajos nav noticis termogēnēzes process. Lielā daudzumā atrod arī *Pseudomonas fluorescens*, mazāk mikrokokus, pienskābes baktērijas, raugus. Epifītiskā mikrobiota graudos parasti atrodas anabiozes stāvoklī, un, tikai mainoties mitruma un temperatūras režīmam, tā var uzsākt savu darbību (Klāsens, Šteinberga, 1987)

Labības graudos ir vairāk nekā 150 sugu pavedienu sēnītes un raugi, atkarībā no mitruma graudos dominē attiecīgā mikrobiota, ja graudi ir mitri (18 līdz 30%, augstā aw) un ar augstu relatīvo mitrumu (90 līdz 100%) - *Alternaria*, *Cladosporium*, *Fusarium* un *Helminthosporium* sugas. Graudos ar zemāku mitruma saturu (14 līdz 16%), zemāku aw un zemāku relatīvo mitrumu (65 līdz 90%) - *Eurotium*, *Aspergillus* un *Penicillium* sugas. Daži pelējumi, piemēram, *Eurotium glaucus*, var izraisīt augšanu zemā aw un mitruma saturā (15 – 16%), elpošanas procesā, tas paaugstinot mitruma saturu, veicinot pelējuma augšanu. (Bullerman, 2011).

Mitrums ir graudu kvalitātes rādītājs, ja graudiem ir liels mitruma rādītājs no tiem nevar iegūt miltus, jo tie ātri bojājas mikroorganismu ietekmē. Pēc mitruma graudus iedala:

- Sausi graudi līdz 14 %
- Vidēji sausi graudi 14 – 15,5 %
- Mitri graudi 15,5 – 17 %
- Ļoti mitri graudi ar mitrumu vairāk par 17 %

Pat tad, kad tiek izmantotas labākās prakses un kontroles metodes, daži pelējumi paliek uz novāktās ražas un var pieaugt piemērotos apstākļos. Tā kā pelējuma augšana un turpmākā mikotoksīna ražošana ir atkarīga no mitruma un temperatūras, šo divu parametru kontrole, kas ir nelabvēlīga sēnīšu dīgtspējai un izplatībai, novestu pie augstas kvalitātes produkta uzturēšanas. Graudu un graudu produktu ātra kaltēšana līdz mitruma līmenim zem 12% ( $A_w < 0,60$ ) un uzglabāšana vēsos un sausos apstākļos ar pietiekamu aerāciju ir būtiska, lai ražotu un saglabātu augstas kvalitātes graudus, kas ir droši cilvēku un dzīvnieku patēriņam (Tournas, 2017).

Graudu mikrobiotu ietekmē novākšanas un glabāšanas apstākļi. Temperatūras ietekme cieši saistīta ar graudu mitrumu. Novākšanas laikā tas ir 7 –

30%, bet nezāļu piemaisījuma mitrums – līdz 60%. Paaugstinātā mitrumā savairojas sēnes un baktērijas, sevišķi 25 – 30 °C, to attīstība apstājas zem 10 °C. Liela ietekme ir gaisa pieplūdei, jo sākumā graudos vairojas galvenokārt aerobie un aerotolerantie mikroorganismi – pelējumsēnes, baktērijas, raugi. Graudiem elpojot, skābeklis tērējas, un izdalās ogļskābā gāze. Kad CO<sub>2</sub> sasniedz apmēram 20%, baktēriju un pelējumsēņu augšana praktiski apstājas. Graudiem elpojot, izdalās arī siltums. Ja tas neizplūst vidē, sākas graudu karšana. To veicina paaugstināts mitrums un temperatūra. Karšanas procesā galvenā loma ir pelējuma sēnēm, jo tās attīstās zemā mitrumā, ne visai augstā temperatūrā un skābekļa klātbūtnē. Sēņu enzīmi noārda graudu segaudus, un paātrinās graudu bojāšanās. Biežāk sakarst tikko novākti graudi, karšanas posmi ir sekojoši:

- graudu masas temperatūra paaugstinās līdz 24 – 30 °C, pieaug baktēriju un sēņu daudzums, graudu krāsa paliek nemainīga;
- temperatūra paaugstinās līdz 40 °C, samazinās epifitisko mikroorganismu daudzums, bet vairojas sēnes un *Bacillus* spp.; graudi nosvīst, salīp, rodas iesala smaka, graudi kļūst tumšāki;
- temperatūra sasniedz 50 °C, samazinās mikroorganismu daudzums; uzkrājas termofilās endosporas, vairojas baktērijas, kā arī atsevišķas sēnes (*Aspergillus* spp u.c.); redzams melns un zaļš pelējums, jūtama sasmakuma un puvuma smaka;
- temperatūra paaugstinās līdz 70 – 75 °C, iet bojā gandrīz visi mikroorganismi. Pēc tam graudi atdziest. Lai graudi nesakarstu, tie jāvēdina un jāatdziest (Nikolajeva, 2014).

Baktērijas tiek klasificētas 3 dažādās grupās atkarībā no to augšanas temperatūras:

- Psihrofilo baktēriju temperatūras diapazons ir 5 °C – 30 °C. Dažas no tām ir aktīvas zem 0° C. Šīs baktērijas var augt uz pārtikas produktiem, pat ja tās tiek uzglabātas ledusskapī.
- Mezofilo baktēriju optimālā temperatūra ir 15 °C – 50 °C. Lielākā daļa baktēriju pieder šai grupai, ieskaitot patogēnās baktērijas, kuru optimālā temperatūra ir 35 °C – 40 °C.
- Termofilās baktērijas vislabāk aug starp 50 °C un 60 °C. Tās atrodamas geizeros, dažas no tām aug līdz pat 90 °C temperatūrai.

## 1.2 Krīta slimība

Maizes mīkstumā parādās balti pulverveidīgi ieslēgumi. To cēlonis milti, kuros atrodas mikroorganismi, kas ir izturīgi augstā temperatūrā un saglabā dzīvotspēju pēc izcepšanas, tādi kā *Wickerhamomyces anomalus*, *Hyphopichia burtonii* un *Saccharomycopsis fibuligera*, izraisot maizes produktu agrīnu bojāšanos (Dantigny, 2014). Šie organismi ir raugveida sēnes, kas rada vizuālus bojājumus maizē, augot mazām, baltām kolonijām, kas izskatās kā krīta putekļiem pārkaisīta produkta virsma, kuru 1898. gadā fiksēja P.Lindners (*Lindner*). Viņš to nosauca par *Monilia (Oospora) variabilis*, atzīmējot tā savdabību. Krīta pelējums ir viegli saredzams uz rudzu maizes un ir sastopams arī kviešu miltu izstrādājumos. Maize, kurai ir šis pelējums, iegūst specifisku spirta smaržu un garšu, šādu maizi uzturā nelieto, taču ar to ir iespējams barot dzīvniekus (Kunkulberga, 2015).

*H. burtonii* un *S. fibuligera* veido struktūras, kas atgādina pelējuma sēnes, jo tām ir tendence veidot hifas un micēliju. Šīs hifām līdzīgās struktūras sauc par pseidohifām, un tās patiesībā ir pumpurota rauga šūnu ķēde, kas pēc pumpurošanās neatdalās. Dēļ līdzības pelējumam un baltām, pulverveida kolonijām, kuras veido *H. burtonii* un *S. fibuligera*, šī raugiem pakļautā maizes bojāšanās tiek dēvēta par krīta slimību (Deschuyffeleer, 2011). Gan rauga, gan pelējuma sēņu attīstībai labvēlīgas vides pH ir 4,5 – 5,5, kas atbilst arī maizes skābumam.

Maizes izstrādājumi pieskaitāmi pie vidēja līdz augsta mitruma līmeņa produktiem un tādēļ tie ir pakļauti sēņu bojājumiem. Lai izvairītos no iespējamajiem zaudējumiem, maizes izstrādājumu ražotāji izmanto tradicionālos ķīmiskos konservantus, tādus kā sorbīnskābi, benzoātu un propionskābi, un to attiecīgos sāļus uzglabāšanas temperatūrā vai izvēloties atdzesētu uzglabāšanu. Tomēr patērētāju izvēle ir vērsta uz alternatīvu pieeju, kas saglabā maizes izstrādājumu svaigo un dabisko raksturu, neizmantojot tradicionālos ķīmiskos konservantus. Palielinoties cilvēku interesei par ieguvumiem veselības jomā, kļūst aktuāla tendence, kuru sauc arī par zaļo patēriņu (Giannone, 2016).

Lai kontrolētu kopīgo pelējumu sugu (*Eurotium* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium corylophilum*) bojājumus, tika pētīti vāju skābu konservantu iedarbība (kālija sorbāta, kālija propionāta un nātrija benzoāta, 0 – 0.3%), pH (4.5 – 5.5) un ūdens aktivitāte (0.80 – 0.90) dažādu līmeņu kombinācijās. Kālija sorbāts tika atzīts par visefektīvāko ar maksimālo koncentrāciju (0,3%) neatkarīgi no aw. Tāda

pati kalcijs propionāts un nātrijs benzoāts koncentrācija bija efektīva tikai zemā aw līmenī. Kālija sorbāta aktivitāte nedaudz samazinājās pie pH 5,5, 0,3% bija efektīva tikai pie 0,80 aw. Šie atklājumi liecina, ka kālija sorbāts var būt piemērots konservants ar nedaudz skābu pH (gandrīz 4,5) pret kserofilām sēnēm. Jāveic papildu pētījumi, lai pielāgotu minimālo inhibējošo koncentrāciju, kas vajadzīga, lai iegūtu produktu ar nepieciešamo glabāšanas laiku (Guynot, 2005).

Raugu izraisītā maizes bojāšanās ir reāla problēma maizes ražošanas nozarē lielo zaudējumu dēļ. Lielāko daļu no šiem mikroorganismiem pavada putekļu daļiņas un ūdens pilieni, kas suspendēti gaisā un veido tā saucamo bioaerosolu. Bioaerosola veidošanos ietekmē dažādi faktori, piemēram, augstspiediena ūdens strūkļa, kuru izmanto virsmu tīrīšanai, gaisa plūsma, relatīvais mitrums un temperatūra (Giannone, 2016).

*Saccharomyces fibuliger* pieder pie *Saccharomycopsidaceae* dzimtas *Saccharomyces* ģints. *Saccharomyces fibuliger* ir suga, kas izskatās kā pelējums, bet faktiski ir raugs, var attīstīties aerobos un anaerobos apstākļos. Izskatās kā mazas baltas kolonijas, kurām ir pseidohifas.

*Saccharomyces fibuliger* labi aug 30 °C temperatūrā un pie ūdens aktivitātes (aw) 0,976. Šim raugam ir zema spēja metabolizēt cukurus un ražot maltozi, gliukozi un etanolu. Raugs raksturīgs ar to, ka tas veido nelielas apaļas vai cilindriskas formas šūnas, kuras veido mazas, baltas kolonijām ar pseidomicēliju.

Millers (Millers, 1942) veica pētījumu par *Saccharomyces fibuliger* un secināja, ka ātrums, kādā tas attīstās, ir atkarīgs no maizes mitruma satura un sākotnējā piesārņojuma. Tas attīstās temperatūras intervālā 15 – 35 °C un pH diapazonā 4,2 – 5,0. *S. fibuliger* augšanu pilnībā pārtrauc, lietojot 0,20% kalcijs propionātu vai 0,05% sorbīnskābi. Tāpēc ir ļoti svarīgi strādāt higiēniskos apstākļos. Ir citi rauga veidi, kuriem raksturīga augšana ar pseidomicēliju, kad tie nonāk anaerobos apstākļos. Viens no tiem, piemēram, ir *Hyphopichia burtonii*. Ja maizē tiek kāds no šiem mikroorganismiem, tie attīstīsies aptuveni 4 dienu laikā (Smith, 2004).

Sākotnēji, 1907.gadā, šo sugu aprakstīja Linders, nodēvējot to par *Endomyces fibuliger* un 1924. gadā Klokers tās pārdēvēja par *Saccharomyces*. Citi autori dēvēja ģintis par *Endomycopsis* un *Pichia*, tomēr sākotnējais autors ir Linders. Pārējās minētās sugas (5 – 11) ir kļūdaini identificēti *S.fibuliger* celmi.

Pirms tika atzīts, ka tie ir savstarpēji saistīti ar *S. fibuligeru*, tika mainīta arī šo sugu taksonomija. *Saccharomycopsis fibuligera* Lindner (1907) Klocker (1924) agrākie nosaukumi:

1. *Endomyces fibuligera* Lindner (1907)
2. *Endomycopsis fibuligera* (Lindner) Dekker (Stelling – Dekker 1931)
3. *Pichia fibuligera* (Lindner) Boidin, Pignal, Lehodey, Vey & Abadie (1964)
4. *Endomyces lindneri* Saito (1914)
5. *Saccharomycopsis lindneri* (Saito) Klocker (1924)
6. *Endomycopsis fibuligera* (Lindner) Dekker var. *lindneri* (Stelling – Dekker 1931)
7. *Endomyces hordei* Saito (1914)
8. *Saccharomycopsis hordei* Saito (1914) Klocker (1924)
9. *Endomycopsis fibuligera* (Lindner) Dekker var. *hordei* (Saito) Dekker (Stelling – Dekker 1931)
10. *Candida lactosa* Dwidjosepuro & Wolf (1970) (Kutzman, 2011).

#### **1.4 Maizes izstrādājumu glabāšanas laiks**

Kaitīgo mikroorganismu iespējamie avoti ir izejvielas, tādas kā graudi, milti, ieraugs, gaiss, ūdens, aparatūra, tara, transports, personāls. Cepšanas laikā produkta centrā tikai uz dažām minūtēm tiek sasniegta 100 °C temperatūra, tāpēc baktēriju endosporas var izdzīvot, tomēr parasti maizē ūdens daudzums nav tik liels ( $a_w$  0,75 – 0,90), lai pieļautu baktēriju augšanu. Maizi biežāk bojā sēnes. Mikroorganismu izraisītie maizes bojāšanās veidi ir pelēšana. Attīstās *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Geotrichum* ģinšu sēņu kolonijas. Visbiežāk maize pelē tad, ja ir palielināts maizes mitrums (>20%) un gaisa mitrums pārsniedz 70%.

Maizes inficēšana notiek tiešajā kontaktā ar telpās esošo gaisu vai personālu, riska zonas ir maizes atdzesēšanas, griešanas un iepakšanas telpas, pētījumi liecina (Spicher, 1986), ka gaisa piesārņojums ir tieši saistīts ar sienu un grīdu tīrību telpās. Pētījumos pierādīts, ka gaiss maizes atdzesēšanas, iepakšanas un uzglabāšanas telpās satur ļoti daudz pelējuma sporu no – no 60 līdz 1700 vienā kubikmetrā gaisa. Kserofilo sēņu iespējamie piesārņojuma avoti ir uzglabāšanas tvertnes, transportēšanas līdzekļi, putekļi u.c. Tā kā pelējuma aug un veidojas, to metaboliskās aktivitātes rada mikrouzņēmumus ar paaugstinātu temperatūru un

mitruma saturu. Palielinot mitruma līmeni, apstākļi kļūst piemēroti citām, mazāk kserofilām pelējumsēnēm (Wrigh, 2003).

Daudzi fitopatogēni un sēnes rada arī vairākas iespējamās kancerogēnas un mutagēnas slimības cilvēkiem un dzīvniekiem, pateicoties mikotoksīna ražošanai. Mikotoksīni ir sekundārie metabolīti, kurus pelējums ražo kā dabisku aizsardzību. Mikotoksīni parasti ir termostabilizējami (virs 100 °C), tādēļ ar tiem var kontaminēt pārtikas produktus pēc stabilizācijas posmiem. Mikotoksīni var būt kancerogēni, mutagēni, genotoksiski, teratogēni, neirotoksiski un estrogēni, ieskaitot reproduktīvo un attīstošo toksicitāti (Fung and Clark, 2004; Jestoi, 2008; Köppen et al., 2010). Pārtikā biežāk sastopamie mikotoksīnu veidi ir aflatoksīni, fumonizīni, ohratoksīni, patulīns, trikocēni un zearalenons (Codex Alimentarius, 2011; Dalié et al., 2010). Visā pasaulē novērots augsts mikotoksīnu inficēšanās biežums tieši graudaugos (Placinta et al., 1999). Tiek lēsts, ka 25% pasaules lauksaimniecības preču ir piesārņoti ar mikotoksīniem (FAO, 2010). No 2012.g. – 2014. gadam piesārņojums labībā un maizes izstrādājumos no *Aspergillus* sugām reģistrēti aflatoksīni (48%), ohratoksīns A (OTA) (14%), un no *Fusarium* sugām - dezoksivalenols (DON) (21%) un fumonizīni (13%). No tiem 48% izcelsmes bija Eiropā (Oliveira, 2014).

Vispirms pelējuma sēnes parādās uz maizes virsmas un plaisās. Profilaktiski mīklā ievada pelējumsēņu inhibitorus, piemēram, 0,1 – 0,3% Ca propionātu, apmēram 0,1% sorbīnskābi. Svaigas maizes izplatīšana ir problēma. Patērētājs gaida noteiktu maizes derīguma termiņu. Maize, kas ir hermētiski iepakota, istabas temperatūrā var izturēt bez pelējuma dažas dienas. Pēc pāris dienām parādās kvalitātes pavājināšanās, mīkstuma un garšas izmaiņas, maize arī sāk pelēt. Ņemot vērā augstu mitruma saturu, sāk augt dažas baktērijas, it īpaši, ja maize ir sagriezta. Ir vairākas metodes, kuras var izmantot, lai pagarinātu maizes glabāšanas laiku bez pelējuma – konservantu lietošana, vakuuma iepakojuma izmantošana, sasaldēšana un pasterizācija. Izmantojot vienu vai vairākus no iepriekšminētajiem paņēmieniem, ir iespējams iegūt maizi, kuras glabāšanas laiks bez pelējuma ir diezgan ilgs, 2 – 3 mēneši. Šādos gadījumos glabāšanas laiks vairs nav saistīts ar pelējuma rašanos, bet ar mīkstuma zudumu un garšas izmaiņām. Jāatzīmē, ka maizi, kurai tiek pievienots tāds konservants kā alkohols, lai pagarinātu mikrobioloģisko uzglabāšanas laiku, nebūs patīkami ēst pēc 20 vai 30 dienām, kā

arī no organoleptiskā viedokļa, maize zaudē savu labo dabu. Ceptu produktu gadījumā aromāti tiek maskēti ar atkausēšanas procesu.

Mikroorganismu augšanā un ātrumā, kādā tie attīstās ir nozīme daudziem faktoriem. Svarīgākie faktori:

- temperatūra, kurā produkti tiek uzglabāti;
- produkta pH;
- produkta mitruma saturs;
- produkta  $a_w$  vērtība;
- mikroorganisma veids;
- sākotnējā produkta kontaminācija;
- produktu klātbūtne, kas palēnina pelējuma attīstību, piemēram, rozīnes, kas satur dabīgo konservantu;
- neatkarīgi no tā, vai maize ir iepakota (iepakotā maize kļūst pelēcīgāka ātrāk, jo iepakojumā esošais gaiss kļūst mitrs);

Vakuuma iepakošana tiek izmantota kā alternatīva konservēšanas metode konkrētam maizes izstrādājumu veidam, tādām kā maizes pusfabrikāts. Iepakojums atbilst patērētāju prasībām, lai izvairītos no bojājumiem, tiek izmantots tikai slāpekļis ( $N_2$ ) un oglekļa dioksīds ( $CO_2$ ), produkts ir jāgatavo īsi pirms patēriņa.  $CO_2$  nodrošina bakteriostatisku lomu. Turklāt zemais  $O_2$  līmenis (<1%) nodrošina pelējuma un citu aerobo organismu nomākšanu. Visbiežāk  $N_2$  un  $CO_2$  līmenis ir attiecīgi 40% un 60%, atkarībā no maizes izstrādājuma veida  $CO_2$  koncentrācija spēj pārsniegt pat 100%. Glabāšanas laiks ne tikai tiek pagarināts no mikrobioloģiskā viedokļa, bet arī maizes nogatavināšana tiek aizkavēta, pateicoties labvēlīgajai ietekmei, ko sniedz  $CO_2$ . Vakuuma iepakojuma ietekmi uz maizes izstrādājumu uzglabāšanas laiku ir aprakstījis Farber (1991). Pusfabrikāta maizes uzglabāšanas laiks ir 20 dienas, iepakota atmosfērā 80 - 100%  $CO_2$  un 0 - 20%  $N_2$ . Saskaņā ar šiem nosacījumiem maizes izstrādājumi ir labi aizsargāti pret aerobajiem bojājumiem (Deschuyffeleer, 2011).

### ***1.5 pH ietekme uz krīta slimības attīstību***

Atšķirībā no baktērijām, pH nav galvenais faktors pelējumu un raugu augšanas ierobežošanai. Piemēram, *Issatchenkia orientalis* un *Pichia membranifaciens* var augt vidē, kas paskābināta ar HCl līdz pH 1,3 – 1,9.

*Saccharomycopsis fibuligera* neuzrāda augšanas aktivitāti pie pH 2,8, kā arī augšanas ātrums ir vienāds ar ceturto daļu no maksimālā augšanas ātruma pie pH 3. *Debaryomyces hansenii*, kas audzēta šķidrā vidē, sasniedz optiskā blīvuma (OD) vērtību, kas vienāda ar 1 pēc 2, 4, 8, 12 dienām, attiecīgi pie pH 8,6, 9,0, 9,6 un 10,0, tādējādi liecinot par pakāpenisku augšanas ātruma samazināšanos sārmainā pH. OD vērtības, pēc 24 stundu inkubācijas 30 °C temperatūrā, pie pH 3 – 6,5 neietekmē *Wickerhamomyces anomalus* augšanu. *W. anomalus* var augt no pH 2,0 līdz 12,4, bet ne pH 1,9, kā arī pH vērtībai ir maza ietekme uz lag fāzi (Dantigny, 2014).

Lag fāze pie pH 7 – 8 ir mazāka par vienu dienu, ilgākais lag fāzes ilgums ir aptuveni divas dienas pie pH vērtības 2,8 – 4,0. Līdzīgu tendenci var novērot attiecībā uz *H. burtonii*. Garākais lag fāzes intervāls ir ap 3,5 dienām pie pH 2,8, ātrākais pusotra diena pie pH 5 – 8. Īsākā lag fāze ir pie pH 5 – 8 attiecīgi vienas dienas ietvaros ar neitrālu pH. *S. fibuligera* ir lielāka jutība pret skābiem apstākļiem nekā pārējiem diviem raugiem. Pie zemākā testētā pH skaitļa 2,8 tiek novērota pilnīga inkubācijas attīstība 21 dienā. Tomēr nedaudz paaugstinot pH līmeni līdz 3, attīstības fāze ir 12 dienas, kas norāda, ka visticamāk, ka 2,8 ir minimālā pH vērtība, kas paredzēta izaugsmei trīs nedēļu laika periodā. pH intervālā 4 - 8 *S. fibuligera* atspoguļo līdzīgu augšanas uzvedību kā *W. anomalus* un *H. burtonii* ar lag fāzes intervāla sadalījumu no 2,5 dienām līdz mazāk nekā vienai dienai. Joprojām īsākā lag fāze ir novērota pie neitrāla pH.

Attiecībā uz augšanas ātrumu, pH ietekmē katru no trim raugiem. *W.anomalus* augšanas ātrums aptuveni 1 mm dienā, zemākais rādītājs – 0,5 mm dienā, pie pH 6,2. Abiem raugiem *S.fibuligera* un *H.burtonii* labākais ātrums ir pie pH 5. Kopumā *H. burtonii* uzrāda visstraujāko augošo ātrumu - 3 mm dienā, kam seko *S. fibuligera* 2 mm dienā un *W. anomalus* 1 mm dienā. Daudzas norādes liecina, ka augšanas ātruma pieaugums zemā pH līmenī ir straujāks nekā augšanas ātruma samazināšanās pie augsta pH līmeņa.

Daudzi asimetriski modeļi pH ietekmei uz baktēriju augšanas ātrumu ir aprakstīti literatūras avotos: kvadrātveida saknes modelis, ko aprakstījis Zwietering et al. (1992), kardināls modelis ar pāreju (Rosso et al., 1993), vienkāršoti un paplašināti par pH (Rosso et al., 1995), un paplašinātais Lambert–Pearson modelis

(Lambert, 2010). Pretstatā visiem pārējiem modeļiem, pēdējais modelis balstījās tieši uz ūdeņraža jonu un hidroksiljonu ietekmi, nevis uz pH.

Turklāt modelētais mainīgais lielums nebija augšanas ātrums, bet laiks līdz atklāšanai. Modelis, kas paredzēts baktēriju augšanai šķidrā barotnē, diez vai var tikt pielietots raugam vai pelējumam, kas audzēti cietajās barotnēs. Ir ļoti svarīgi, lai modeļi balstītos uz bioloģiskajiem parametriem un mainīgajiem lielumiem, kurus mikrobiologi varētu viegli izmantot. Pamatojoties uz vienkāršību, parametru bioloģisko nozīmi, ekonomiju, tika pierādīts, ka kardināls modelis ir piemērotāks nekā kvadrātveida saknes modelis, lai aprakstītu pH ietekmi uz baktēriju augšanas ātrumu (Dantigny 2014).

Attiecībā uz pH toleranci acidofilās baktērijas ir baktērijas, kas ražo skābes, un produkta pH samazinās. Raugi un pienskābes baktērijas pieder pie šīs grupas, acidotolerantās baktērijas var augt pie zema pH, bet tās dod priekšroku neitrālam pH, lai gan var panest pH diapazonu 5 – 8 (Smith, 2004).

### ***1.6 Ūdens aktivitātes ietekme uz krīta slimības attīstību***

Jēdzienu ūdens aktivitāte (aw, angļu val. - *water activity*) pirmo reizi sāka lietot austrāliešu zinātnieks W.J. Skots (Scott, 1953), lai raksturotu mikroorganismiem izmantošanai pieejamā ūdens stāvokli pārtikas produktos un pierādītu mikroorganismu augšanas atkarību no šī stāvokļa. Pēc fizikālās būtības ūdens aktivitāte ir attiecība starp produktā esošā ūdens brīvās, parciālās daļas spiedienu p un teorētiski iespējamo piesātinātā tvaika spiedienu. aw skaitliski ir robežās no 0,00 līdz 1,00 un ir noteikts kā mikrobioloģisko bīstamību raksturojošs parametrs daudziem pārtikas produktiem un kā augšanu limitējošais rādītājs daudzām mikroorganismu grupām. Ar aw var manipulēt, lai izstrādātu pārtikas produktus, kas piemēroti ilgstošai uzglabāšanai un pārtikas nekaitīgumam, kontrolējot vairākus faktorus, un ietekmējot pārtikas produktu tekstūru, garšu un drošību (Prabhakar, 2014).

Ūdens vērtība vai ūdens aktivitāte ir produkta brīvā ūdens daudzuma rādītājs. Pēc definīcijas ūdens vērtība ir 1. aw vērtību mēra ar higrometru. Lai noteiktu produkta aw vērtību, tiek novērtēts gaisa relatīvais mitrums ap hermētiski noslēgtu produktu, kad tiek sasniegts līdzsvars starp produktu un gaisu. Produkts nezaudē

mitrumu apkārt produktam vai otrādi. Produkta vērtība ir atkarīga no vairākiem faktoriem:

- komponentu daudzums, kas izšķīdināts ūdenī
- to sastāvdaļu molekulu masa, kas izšķīdinātas ūdenī
- temperatūra, kādā produkts tiek turēts
- nosacījumi, kādos produktu uzglabā
- iepakojuma materiāla īpašības (Smith, 2004).

Ūdens ietekmei ir daudz lielāka ietekme uz lag fāzi nekā pH. *S.fibuliger* ir visjutīgākā suga. *W.anomalous* uzrāda labāko un ilgāko noturīgumu pret ūdens aktivitāti. Pie aw 0,90 lag fāze ir tikai 3,5 dienas, turklāt *H.burtonii* un *S. fibuligera* inkubācija ir vismaz viena nedēļa. Priekš *H.burtonii* un *S. fibuligera* labākais aw vērtība ir 0,98, turklāt *W.anomalous* 0,96. *S.fibuligera* neauga zem aw vērtības 0,94.

Sakarā ar ūdens aktivitātes ietekmi *W.anomalous*, *S.fibuligera* un *H.burtonii* uzrāda līdzīgas augšanas reakcijas pazīmes. Ja kolonijas augšanas ātrums tiek attēlots pretēji ūdens aktivitātei, ir iespējas novērot eksponenciālo augšanas ātruma palielināšanos. *H.burtonii* ir ātrāk augošais raugs krīta slimībā, ar maksimālo izaugušo koloniju rādītāju 5,4 mm dienā pie aw 0,96. Labākā ūdens aktivitāte *S.fibuligera* un *W.anomalous* ir 0,98 ar maksimālo kolonijas izaugsmes rādītāju 1,4 mm dienā un 2,2 mm dienā.

## 2. MATERIĀLI UN METODIKA

### 2.1 Paraugu ievākšana

SIA „xxx” maizes ceptuvē tika paņemti 22 paraugi no dažādiem objektiem:

1. Gaisa analīze
  - Izejvielu noliktava
  - Ražošanas cehs
  - Maizes griešanas – fasēšanas telpas (1. pielikums)
2. Uztriepes no maizes griešanas iekārtas
  - Nazis
  - Švammīte
  - Griešanas iekārtas eļļošanas sistēmas trubiņa
3. Izejvielu paraugi
  - Eļļa no maizes griezēja
  - Rudzu milti
  - Iesals gaišais
  - Rudzu maize
  - Burkānu maize
  - Borodinas maize
  - Saulespuķu sēklas grauzdētas un negrauzdētas
4. Nomazgājumi
  - Galda virsmas
  - Personāla roku nomazgājumi

No Latvijas Lauksaimniecības universitātes Pārtikas tehnoloģijas fakultātes mikrobioloģijas zinātniskajās laboratorijas tika paņemtas deviņas plates ar Scharlau, Malt extract agaru barotni, lai veiktu gaisa analīzes, deviņas transportpudelītes ar 0,9% nātrija hlorīda šķīdumu uztriepju veikšanai, kā arī vienreizēji polietilēna maisiņi miltu, iesala un sēklu paraugu ievākšanai.

Gaisa analīžu veikšanai barotnes tika novietotas dažādās telpu lokācijās, ņemot vērā ražošanas procesa plūsmu un struktūru, atstājot tās atvērtas uz 20 minūtēm. Roku nomazgājumi no personāla tika ņemti no pieciem cilvēkiem – maizes ražošanas, fasēšanas, dzesēšanas un komplektēšanas cehos. Maizes dzesēšanas cehā paņemti nomazgājumi no maizes griezēja mašīnas, kā arī tās

detaļām – švammītes un eļļas pudeles trubiņas; tika paņemts arī eļļas paraugs. Fasēšanas galdam veikts virsmas nomazgājums 10 cm<sup>2</sup> laukumam. Paņemti paraugi no gaišā iesala, rudzu miltiem, saulespuķu sēklām (grauzdētas un negrauzdētas), rupjmaizes, borodinas maizes, burkānmaizes.

## 2.2 Iekārtas un materiāli

Paraugu testēšanai tika izmantotas dažādas iekārtas (2.2.1.tab.) un Biomerieux bioķīmiskais Api 20 C AUX tests, ražots Francijā, ar kura palīdzību tika identificētas raugveida sēnes. Mikroorganismu kultivēšanai – Biolife Endo agars, Scharlau Malt extract agars No.1, Scharlau Nutrient agars (2.2.2. tab.), Petrī plates, mikrobioloģiskā paraugu cilpiņa, liesma, priekšmetstikliņi, segstikliņi, 0,9% nātrija hlorīda šķīdums uztriepju veikšanai. No laboratorijas traukiem tika izmantotas 100 ml kolbas pH analīžu veikšanai.

2.2.1. tabula

### Izmantotās iekārtas

#### Used equipment

Izmantošana Usage	Iekārtas nosaukums Equipment brand	Ražotājs Manufacturer
Barotņu inkubators	Memmert Incubator	Vācija
Žāvējamaiss skapis	Memmert	Vācija
Ūdens aktivitātes mērītājs	Novasina, LabSwift-aw	Šveice
pH metrs	Jenway, 3510 pH meter	Anglija
Laminārās plūsmas skapis	Kojair	Somija
Mikroskops	Leica	Vācija

## Mikrobioloģiskās barotnes

## Microbiological media

<i>Nosaukums</i> Title	<i>Sastāvs</i> Compound	<i>g/L</i> g.L
<i>Biolife, Endo agar</i>	<i>Triptons</i>	<i>10.0</i>
<i>Derīgs līdz: 30.11. 2018</i>	<i>Laktoze</i>	<i>10.0</i>
<i>pH 7,5±0,2</i>	<i>Dikālija</i>	<i>3.5</i>
<i>Ražotājs, Itālija</i>	<i>hidrogēnfosfāts</i>	<i>2.5</i>
	<i>Nātrijs sulfīts</i>	<i>0.4</i>
	<i>Pararosanilīns</i>	<i>11.0</i>
	<i>Agars</i>	
<i>Scharlau, Malt extract agar No.1</i>	<i>Iesala ekstrakts</i>	<i>13.0</i>
<i>Derīgs līdz: 30.08.2018</i>	<i>Dekstrīns</i>	<i>2.5</i>
<i>pH 5,5±0,2</i>	<i>Želatīna peptons</i>	<i>5.0</i>
<i>Ražotājs, Spānija</i>	<i>Agars</i>	<i>15.0</i>
<i>Scharlau, Nutrient agar</i>	<i>Gaļas ekstrakts</i>	<i>1.0</i>
<i>pH 7,4±0,2</i>	<i>Raugu ekstrakts</i>	<i>2.0</i>
<i>Derīgs līdz: 30.11.2018</i>	<i>Peptons</i>	<i>5.0</i>
<i>pH 7,5±0,2</i>	<i>Nātrijs hlorīds</i>	<i>5.0</i>
	<i>Agars</i>	<i>15.0</i>

**2.3. Mikroorganismu kultivēšana un identificēšana**

Plates ar gaisa analīzēm tiek ievietotas inkubatorā 27 °C, atstājot uz 48 h.

Visas Petrī plates tika marķētas pa trīs atkārtojumiem, izmantojot trīs atšķaidījumus ( $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^2$ ). Uz Malt extract agara tiek uzsēti paraugi, kuros var identificēt raugus un pelējumus, inkubē 27 °C, uz Nutrient agara – baktēriju kopskaita noteikšanai, inkubē 30 °C, un uz ENDO agara – koliformu noteikšanai, inkubē 37 °C.

Raugu un pelējumu noteikšanai izmantotas sekojošas metodes:

- LVS ISO 21527–2:2008 Pārtikas un dzīvnieku barības mikrobioloģija. Horizontālā metode rauga sēnīšu un pelējumsēnīšu skaitīšanai. 2. daļa: Koloniju skaitīšanas metode produktiem ar ūdens aktivitāti līdz 0,95 (ieskaitot)
- LVS ISO 21527–1:2008 Pārtikas un dzīvnieku barības mikrobioloģija. Horizontālā metode rauga sēnīšu un pelējumsēnīšu skaitīšanai. 1. daļa: Koloniju skaitīšanas metode produktiem ar ūdens aktivitāti virs 0,95.

Paraugu analizēšana un kvv skaitīšana, izmantojot aCOLyte programmu, notika sekojoši:

- 24 h pēc uzsēšanas – raugiem (4.pielikums) (Malt extract agara agars);
- 48 h pēc uzsēšanas – baktēriju kopskaitam (3.pielikums) (mezoфіli aerobiem un fakultatīvi anaerobiem mikroorganismiem) (uzsēti uz Nutrient agara), koliformām (ENDO agars), atkārtoti raugiem, kā arī gaisa analīzes.

Gaisa analīzēm sēņu kvv/m<sup>3</sup> gaisa tiek aprēķināti pēc formulas

$$x = a \times 100 \times 5 \times 100 / (bt),$$

kur

a – kvv platē

b – plates laukums, cm<sup>2</sup>

t – ekspozīcijas laiks, min (3.5..tab.)

Pēc septiņām dienām veikta pelējumu kvv skaitīšana (3.3.tab.), tīrkultūru izdalīšana - kolonijas, kuras liecināja par raugveida sēnēm un pelējumiem tika izdalītas un uzsētas atkārtoti (paraugi no iesala, miltiem, eļļas, gaisa, eļļas trubiņas, švammītes), atstātas inkubētās 27 °C divas dienas. Pēc inkubācijas veikta mikroorganismu identificēšana, balstoties uz bioķīmisko analīzi – Biomerieux, kuras darbības princips balstās uz suspendētas kolonijas ievadīšanu testa bedrītēs, rezultātus nolasa pēc 24 h un 48 h, pozitīva rezultāta gadījumā novērojot duļķainību. Iegūtos rezultātus pēc autorizācijas ievada Api web mājas lapā, iegūstot mikroorganisma sugu.

#### ***2.4. Fizikāli ķīmiskās analīžu metodes***

Izejvielu paraugiem tiek mērīts pH, izmantojot JENWAY 3510 pH mērītāju, suspendējot 10 g parauga 100 ml destilēta ūdens. Ūdens aktivitāte mērīta izmantojot Novasina analizatoru, kurā tiek ievietots paraugs, pēc noteikta laika

analizatora displejā iegūstot rezultātus, un mitruma noteikšana izmantojot Memmert žāvēšanas krāsni. Žāvēšanai tika izmantoti 5 g no katra parauga, žāvēšanas ilgums 2 h, rezultāti aprēķināti pēc sekojošas formulas:

$$x = \frac{(a - b) \times 100}{a}$$

kur

x – mitrums, %

a – masa pirms žāvēšanas, g

b – masa pēc žāvēšanas, g

Visiem paraugiem tika pagatavoti trīs atkārtojumi.

### ***2.5. Datu statistiskā apstrāde***

Microsoft Excel datorprogramma izmantota vidējo vērtību un standartnovirzes (s) aprēķināšanai.

### 3. REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Tā kā maizes ražotne iepriekš saskārusies ar aktuālu problēmu – maizes krīta slimību, tā ir informēta par kvalitātes kontroles un preventīvajiem soļiem, lai no tās izvairītos, veicot regulāru dezinfekciju, izmantojot Alcosan dezinfekcijas līdzekli virsmu dezinfekcijai, transportēšanai izmantotās kastes mazgā ar hloru saturošiem līdzekļiem, veic regulāru silosu tvertņu tīrīšanu – iztukšojot tvertnes, iepūšot dezinfekcijas līdzekli un atstājot to uz 24 h. Seko līdz tam, lai visi darbinieki ievēro personīgās higiēnas noteikumus. Pēc pašu novērojumiem atklāj, ka visbiežāk pelē burkānu maize, saldskābā un rudzu maize, kas izskaidrojams ar garo plaucēšanas laiku un augstu mitruma saturu, nepelē maize ar augļu piedevām.

Izejvielu aw rezultāti parādīja (3.1.tab.), ka miltu un iesala ūdens aktivitātes rādītāji ir praktiski vienādi, un norāda uz to, ka tie ir sausi, mitrums nepārsniedz 14% un aw nav lielāka kā 0,65, visi mikroorganismi šajā gadījumā atrodas neaktīvā stāvoklī, lai tas nemainītos jāievēro uzglabāšana vēsos un sausos apstākļos, jo pelējumsēnes dīgst 14 – 16 % mitrumā. Rupjmaize uzrādīja augstāko aw rādītāju, kas ir tuvu 0,976, kad *Saccharomycopsis fibuligera* labi aug pie 30 °C, taču tas neaug zem aw vērtības 0,94 (Deschuyffeeler, 2011). *H.burtonii* ir ātrāk augošais raugs krīta slimības gadījumā pie aw 0,96. Maizes mitruma rādītāji ir virs 20%, kas norāda uz to, ka tā ir pakļauta pelēšanai, jo visbiežāk maize pelē tad, ja ir palielināts maizes mitrums (>20%) un gaisa mitrums pārsniedz 70%. Miltu un iesala pH rezultāti liecina par labu vidi *S.fibuligera* un *H.burtonii* augšanai, abiem lielākais augšanas ātrums ir pie pH 5. *W. anomalus* var augt pH 2,0 - 12,4, bet ne pie pH 1,9 (Deschuyffeeler, 2011).

Mezofili aerobos un fakultatīvie anaerobos mikroorganismus neuzrādīja tikai maizes griezēja švammīte un maizes griezēja eļļas trupiņa. Trīs paraugos no personāla roku nomazgājumiem parādījās koliformas baktērijas (2.pielikums), kas norāda uz personīgās higiēnas neievērošanu un var izraisīt zarnu infekcijas. Koliformās baktērijās ietilpst *Enterobacteriaceae* dzimtas *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* un *Klebsiella* ģintis. Viena no raksturīgākajām šīs grupas baktēriju īpašībām ir spēja 37°C temperatūrā pārraudzēt laktozi, veidojot gāzi un skābi. Koliformas baktērijas ir plaši sastopamas apkārtējā vidē. *E. coli* ir viens no koliformas baktēriju veidiem, to klātbūtne liecina par fekālu piesārņojumu (3.2.tab.).

Eļļas paraugs uzrādīja gan raugus, gan pelējumsēnes, kas liecina par eļļas piesārņojumu ar krīta slimību izraisošiem mikroorganismiem (3.3.tab.).

Gaisa paraugi uzrādīja pelējumsēņu piesārņojumu (3.4.tab.), kas liecina par mitru gaisu, temperatūras neatbilstību. Ar gaisa plūsmu sēņu daļiņas var nonākt maizes izejvielās vai uz gatavās maizes, piemērotos apstākļos izraisot pelēšanu. Visvairāk maizi bojājošās pelējumsēnes konstatētas mīklas mīcītavā (*Penicillium*, *Geotrichum*, *Paecilomyces*, *Aspergillus*, *Cunninghamella* un *Cladosporium* spp). Pēc telpu izvietojuma un gaisa kustības plūsmas, iespējamo pelējumsēņu izplatīšanās avots var būt noliktava un plaucētava, kā arī daudz citu faktoru, kas iekļauj ventilācijas problēmas, insektu klātbūtni, kā arī nepietiekamu graudu apstrādi (1.pielikums). Lai veiktu preventīvas darbības un kontrolētu pelējumsēņu izplatību, nepieciešams veikt regulāru kontroles sistēmu ievērošanu, gaisa ventilāciju, temperatūras un mitruma kontroli, lai samazinātu mikroorganismu augšanu un izplatību (Nagy et al., 1954). Mitruma kontrole ir svarīga arī no cilvēka komforta un produktivitātes viedokļa, šis ir būtisks faktors, kas netika konstatēts maizes ražotnē, jo mitruma mērītājs nedarbojās. Vēl viens svarīgs faktors, kas ietekmē pelējumu aktivizāciju, ir dažādu kaitēkļu klātbūtne, kas var kalpot kā pārnēsātāji, sporu pārnese uzglabāšanas telpās un starp tām, tādēļ efektīvai kaitēkļu apkarošanai ir izšķiroša nozīme, lai novērstu pelējuma izplatīšanos (Stack, 2000). Tā kā pelējuma augšana un turpmākā mikotoksīnu ražošana ir atkarīga no mitruma un temperatūras, šo divu parametru kontrole, kas ir nelabvēlīga sēņu dīgtspējai un izplatībai, novestu pie augstas kvalitātes produkta uzturēšanas (Tournas, 2017).

Veicot bioķīmiskās analīzes, tika identificēti sekojoši mikroorganismi:

1. *Cyberlindnera jadinii*, 86,3 % ID
2. *Diutina catenulata*, 88,7 % ID
3. *Vanrija humicola*, 78,9 % ID
4. *Cyberlindnera jadinii*, 72,8 % ID
5. *Wickerhamomyces anomalus*, 99,5 % ID

Veicot interesējošo koloniju identifikāciju ar mikroskopijas palīdzību un apkopojot bioķīmiskās analīzes, konstatēti paraugos esošie mikroorganismi (3.3. un 3.4. tab.):

- Milti: *Cyberlindnera jadinii*, *Aspergillus*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Geotrichum*,

- Iesals: *Cyberlindnera jadini*, *Penicillium*, *Geotrichum*,
- Eļļa: *Diutina catenulata*, *Vanrija humicola*, *Cyberlindnera jadinii*,  
*Aureobasidium*,
- Trubiņa: *Wickerhamomyces anomalus*, *Cyberlindnera jadinii*, *Penicillium*,
- Švammīte: *Cyberlindnera jadinii*,
- Gaiss mīklas mīcītavā: *Aspergillus*, *Geotrichum*, *Paecilomyces*,  
*Cladasporium*,
- Gaiss maizes fasētavā: *Cunninghamella*, *Penicillium*, *Paecilomyces*,  
*Geotrichum*,
- Gaiss noliktavā: *Geotrichum*, *Penicillium*.

3.1. tabula

Izejvielu un produktu Aw, mitrums un pH

Results of Aw, Moisture and pH

Paraugs Sample	Aw	Mitrums, % Moisture, %	Ph
Milti	0,580	11,690	6,729
Iesals	0,581	4,016	5,914
Burkānmaize	0,943	39,023	4,186
Rupjmaize	0,961	43,223	4,080
“Borodinas” maize	0,945	42,008	4,300

Beļģijā, Gentas universitātē, tika veikts pētījums, kurā galvenie uzdevumi bija identificēt mikroorganismu izraisītus bojājumus maizē, kas tiek iepakota zema O<sub>2</sub> un augsta CO<sub>2</sub> atmosfērā, raksturot *W. anomalus*, *H. burtonii* un *S. fibuligera*, pētot pH, ūdens ietekmi lag fāzē un augšanas ātruma novērtēšanu. Šo faktoru ietekmes apzināšana nākotnē ļāva izstrādāt atbilstošas saglabāšanas stratēģijas, lai izvairītos no krīta slimības. 2008. gada jūlija un augusta mēnešos beļģu industriālais maizes cepšanas uzņēmums saskārās ar maizes pelēšanu, kuru pastiprināti iztaisīja vasaras paaugstinātā temperatūra. Iepriekšējais pētījums, kurā tika pētīta krīta pelējuma sastopamība visa gada garumā, to apstiprināja, paziņojot, ka maksimālais krīta pelējuma defektu līmenis tika sasniegts septembrī, kad 50% identificēto paraugu bija kontaminēti ar krīta slimību izraisošajiem mikroorganismiem. Pārējos mēnešos ir konstatēts, ka krīta pelējumu sastopamība ir

5 – 30% (Legan and Voysey, 1991). Turpinot pārbaudes, 48 kolonijas tika tieši pārnestas uz Malt Extract agaru. Paraugi tika inkubēti 25 °C temperatūrā anaerobos apstākļos. Pēc 5 dienu inkubācijas 25 °C paraugi tika pārbaudīti un pārnesti uz priekšmetstikliņa. 95% pārbaudīto raugu tika identificēti kā *W. anomalous*, kurš labi spēja augt pH 2,8 – 8, un 5% *S. fibuligera*, uzrādot optimālu augšanu pie 5 pH. Pēc iegūtajiem rezultātiem tika secināts, ka pH vērtībai nav būtiskas lomas *W. anomalous* lag fāzē, garākais lag fāzes ilgums ir apmēram divas dienas pie pH 2,8-4,0. Ūdens aktivitātei ir daudz lielāka ietekme uz lag fāzi nekā pH. *W. anomalous* ir vismazāk jutīgs un uzrādīja labu izturību pret ūdens aktivitātes pazemināšanos - attiecībā uz *H. burtonii* un *S. fibuligera* optimālā aw vērtība ir 0,98, *W. anomalous* 0,96 (Deschuyffeleer, 2011).

Lai samazinātu maizes ražošanā gūtos zaudējumus, kas rodas raugu ietekmē, divu gadu laikā Itālijā tika veikts pētījums, kur maizes ražošanas uzņēmumā veica raugu identifikāciju, par paraugu ņemot sagrieztu kviešu maizi, novērtēja vides apstākļu ietekmi, mitruma saturu un ūdens aktivitāti maizē, vakuuma iepakojšanu un divas dažādas dezinficēšanas apstrādes – glabāšanas un dzesēšanas kamerās. Antimikrobiālā apstrāde, ko lietoja no 2013. gada augusta līdz decembrim, sastāvēja no 20 % ortofenilfenola (Fumispore OPP). Tradicionāli fungicīdus lieto telpām un aprīkojumam, ko izmanto cilvēku uzturā paredzētu pārtikas produktu uzglabāšanai un ražošanai. Tika izmantots jaunas paaudzes komerciāls dezinfekcijas līdzeklis, kurš sastāv no ūdeņraža peroksīda 120 ml / l, kas stabilizēts ar 30 mg / kg koloidālā sudraba kompleksa (Nocolyse®). Vides temperatūru un relatīvo mitrumu mērīja, izmantojot meteoroloģisko informācijas dienestu Sicīlijas reģionā pilsētā Agirā. Laika apstākļu uzraudzībā tika iekļauta āra maksimālā un minimālā dienas gaisa temperatūra, dienas kopējo nokrišņu daudzums un dienas relatīvais mitrums. Rezultāti, kas divus gadus pēc kārtas tika iegūti rūpniecības uzņēmumā, apstiprināja, ka *S. fibuligera* augšanas tendenci kviešu maizē neietekmēja vides apstākļi un maizes parametri, bet to spēcīgi ietekmēja sanitārās apstrādes stratēģija, kuru piemēro uzglabāšanas un atdzesēšanas cehos. Temperatūras diapazons bija attiecīgi 11,60 – 28,30 °C un 11,43 – 28,20 °C, bet mitrums attiecīgi bija 70,00 – 79,83% un 72,00 – 80,17%, aw optimālais augšanas ātrums trijiem celmiem bija atšķirīgs un svārstījās no 0,96 līdz 0,98; minimālā *S. fibuligera* izolāta augšanai bija 0,90. Kombinējot T, aw un pH ietekmi uz šo sugu

augšanu, tās tiek apstiprinātas maizei temperatūras diapazonā 15 – 25 °C, 0,91 – 0,97 un pH 4,6 – 6,8. Maizē optimālie augšanas ātrumi bija 2,88, 0,259 un 1,06 mm dienā *H. burtonii*, *W. anomalous* un *S. fibuligera*, attiecīgi. No rauga veidiem, kas izraisa krītu pelējuma defektu maizē, tikai *S.fibuligera* var izdalīt lielu daudzumu  $\alpha$ -amilāzes un glikoamilāzes (Chi et al., 2009; Legana un Voysey, 1991). *H. burtonii* ir aprakstīts kā biežāk sastopams britu maizē, kamēr par *W. anomalous* uzskata par Beļģijas maizē dominējošu, iepakotu vakuumā. No dezinfekcijas līdzekļiem visefektīvāk strādāja ūdeņraža peroksīds, kuram ir spēcīgāka ilglaicīga inhibējošā ietekme (Deschuyffeleer et al., 2011).

Maizes ražotne SIA „xxx” kā galveno dezinfektantu virsmu un iekārtu tīrīšanā izmanto līdzekli Alcosan (ražots Anglijā), kura pamatā ir četraizvietots amonija biocīds, kas apvienots ar spirtu, nodrošinot ātru žūšanu. Komponentes atbilst spēkā esošo Eiropas tiesību aktu prasībām un atbalstītas Biocīdo produktu direktīvā (98/8 / EK). Alcosan ir paredzēts pārtikas pārstrādes rūpniecībai, alus, dzērienu, piena produktu ražošanā, piemērots zonām, kurās tiek kontrolēts mitrums. To var izmantot kā kombinētu mazgāšanas līdzekli, vai kā dezinfekcijas līdzekli.

Lai uzlabotu ražošanas procesu, arvien biežāk tiek pētītas tradicionālās un jaunās dezinfekcijas metodes attiecībā uz augsta un vidēja mitruma maizes izstrādājumiem, tostarp ultravioleto staru, infrasarkanā starojuma, mikroviļņu sildīšanas, zemas apstarošanas devas, impulsu gaismas tehnoloģijas un ultraaugstā spiediena metodes (Smith et al., 2004). Pētījuma rezultāti parādīja, ka rūpniecisko iekārtu profilaktiskās dezinficēšanas tehnoloģijas var uzskatīt par derīgu pieeju, ja nav iespējams izmantot termisko sterilizāciju vai dziļo sasaldēšanu (Giannone, 2011). Oglekļa dioksīdam 20% – 60% piemīt bakteriostatiskas un fungistatiskas īpašības, un tas pagarina mikroorganismu lag fāzi un ražošanas laiku (Coles et al., 2003; Daifas et al., 1999).

3.2.tabula

Mezofili aerobo un fakultatīvie anaerobo mikroorganismu un koliformu daudzums (log kvv nomazgājuma paraugā)

Mesophilic aerobic and optional anaerobic microorganisms and coliforms (cfu in scrubbing sample)

Paraugi	Mezofīli aerobie un fakultatīvi anaerobie mikroorganismi, log kvv ± s	Koliformas, log kvv ± s
Nomazgājumi no rokām	6,3±5,9	4,0±3,1
	7,0±6,0	3,9±3,5
	5,4±5,0	0
	5,8±5,1	0
	6,8±5,7	5,6±5,2
Maizes griezēja nazis	5,5±5,4	0
Maizes griezēja švammīte	0	0
Maizes griezēja eļļas trubiņa	0	0
Nomazgājums no galda virsmas	2,5±2,5	0

3.3. tabula

Mikroorganismu koncentrācija izejvielās, uz virsmām un produktos. N – nav noteikts  
Results of raw materials

Paraugs Sample	Raugveida sēnes kvv/g Yeast cfu/g	Micēlijsēnes kvv/g Molds cfu/g	Identificētās sēnes Identified fungi
Rudzu milti	49767	440	<i>Cyberlindnera jadinii</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Paecilomyces</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Mucor</i> , <i>Geotrichum</i>
Iesals	253283	555	<i>Cyberlindnera jadinii</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Geotrichum</i>
Saulespuķu sēklas	16	0	N

grauzdētas			
Saulespuķu sēklas negrauzdētas	204	0	N
Eļļa	51	7	<i>Diutina catenulata</i> , <i>Vanrija humicola</i> , <i>Cyberlindnera jadinii</i> , <i>Aureobasidium</i>
Trubiņa	0	10 kvv/10 cm <sup>2</sup>	<i>Wickerhamomyces anomalus</i> , <i>Cyberlindnera jadinii</i> , <i>Penicillium</i>
Nazis	0	0	-
Švammīte	10 kvv/10 cm <sup>2</sup>	10 kvv/10 cm <sup>2</sup>	<i>Cyberlindnera jadinii</i>
Borodinas maize	0	0	-
Rudzu maize	0	0	-
Rupjmaize	0	0	<i>Cyberlindnera jadinii</i>

Rezultāti par mikroorganismu koncentrāciju izejvielās parādīja (3.3 tabula), ka visvairāk krīta slimību izraisošo mikroorganismu lokalizējas eļļā (*Diutina catenulata*, *Vanrija humicola*, *Cyberlindnera jadinii*, *Aureobasidium* sp) un maizes griešanas iekārtā – eļļas caurulītē (*Wickerhamomyces anomalus*, *Cyberlindnera jadinii*) un švammītē (*Cyberlindnera jadinii*), no šiem rezultātiem var secināt, ka eļļa, ko izmanto maizes griezēja naža eļļošanai, ir galvenais krīta slimības izraisītāju avots. Pēc G. Spīhera (Spicher, 1986) pētījumiem, krīta pelējumu izraisa 24 raugu sugas, kuras pēc morfoloģiskām un bioķīmiskām pazīmēm iedalās 11 grupās. Visbiežāk sastopamie raugi, kas izraisa krīta pelējumu, ir *Saccharomycopsis fibuligera* (32% no izolātiem), *Zygosaccharomyces bailii* (24%), *Hyphopichia burtonii* (20%) un *Saccharomyces cerevisiae* (10%), taču K.Makgrāts (Makgrath, 1988) pierādīja, ka krīta pelējuma galvenais avots ir maizes dzesētāji un maizes griešanas iekārtas, jo tās ir sarežģītas uzbūves ziņā un tās ir grūti tīrīt un efektīvi dezinficēt, tikpat svarīgs avots ir arī plaukti un konveijera lentes maizes ceptuvēs. Citos pētījumos (Legan, 1991) pierādīts, ka

maizes griezēju eļļa ir iespējamā krīta pelējuma izraisītāju krātuve. Izplatītākais pārstāvis eļļas mikrobiotā un uz maizes ir *Saccharomycopsis fibuligera*, bieži uz maizes tiek fiksēti krīta raugi, kas nav sastopami maizes griezēju eļļā, īpaši *Zygosaccharomyces bailii* un *Saccharomyces cerevisiae* Krīta slimības izraisītāji parādās iesalā un miltos (3.3 tabula), kas varētu liecināt par to, ka milti vai iesals ir krīta slimības izraisītāju izplatīšanās avots. No miltiem un iesala, ar gaisa plūsmu un putekļiem tie var nonākt eļļā un maizes griezējā.

*W.anomalus* klasificēts kā 1. kategorijas bioloģiski drošs organisms, taču pacientiem ar imūndeficītu ir ziņots par infekciju gadījumiem. *W.anomalus* toksīnu potenciāla iedarbība ir kā pretmikrobiālam līdzeklim. Raugu var izmantot kā plašu slāpekļa un fosfora avotu klāstu, kas padara to par potenciālu līdzekli, lai samazinātu lauksaimniecības radīto organisko atlieku radīto vides piesārņojumu. Tomēr pašreizējās zināšanas par tā snieguma fizioloģiskajiem pamatojumiem ir ierobežotas. Publicēti pētījumi par *W. anomalus* metabolisma globālo regulēšanu dažādos skābekļa veidošanās apstākļos (Passoth, 2006).

3.4 tabula

Gaisā identificētie mikroorganismi

Mikroorganisms identified in air

Lokācija Location	Sēņu kopskaits, kvv/m3	Sēņu ģintis, kvv/m3 Fungal genera, cfu/m3
Maizes griešanas un fasēšanas cehs	172	<i>Cunninghamella</i> - 43 <i>Penicillium</i> - 43 <i>Paecilomyces</i> - 43 <i>Geotrichum</i> - 43
Ražošanas (mīklas mīcītavas) cehs	409	<i>Geotrichum</i> - 194 <i>Aspergillus</i> - 86 <i>Paecilomyces</i> - 86 <i>Cladosporium</i> - 43
Izejvielu noliktava	172	<i>Geotrichum</i> - 43 <i>Penicillium</i> - 129

Šajā pētījumā paraugu ievākšana tika veikta aprīļa mēnesī, kad vidējā gaisa temperatūra sāka būtiski paaugstināties, kas, iespējams, varēja kalpot par identificēto mikroorganismu aktivatoru. Izolētās kolonijas auga 5 – 7 dienas, taču anaerobo apstākļu izmantošana varētu izraisīt ilgāku inkubācijas periodu. Seilers (1989) ziņoja, ka skābekļa absorbētāju izmantošana varētu būtiski aizkavēt krītu pelējuma augšanu. *W. anomalus* varētu aizņemt 18 dienas, bet *H. burtonii* un *S. fibuligera* gadījumā – 21 dienu, lai iegūtu 2 mm lielas kolonijas anaerobos apstākļos. Jaunākajos pētījumos ir minētas arī garākas aizkavēšanās fāzes, attiecībā uz *S. fibuligera*, inkubējot ar O<sub>2</sub> absorbētāju, tika konstatēta 7 dienu novilcināšanas fāze (Suhr un Nielsen, 2005).

*Geotrichum* uzrādīja lielāko aktivitāti starp sēņu ģintīm (3.4 tabula), šie pelējumi tiek dēvēti arī par mehāniskajiem pelējumiem. *Geotrichum candidum* ir visuresošs mikroorganisms, kas nav izslēdzams no lieliem pārtikas rūpniecības uzņēmumiem. Optimāliem augšanas apstākļiem temperatūras un pH rādītāji ir 20°C – 30°C un pH no 2,0 – 8,5, kā arī uzturvielu avots, jo īpaši augļu skābes, cukuri un dārzeņu ciete. Visi šie apstākļi bieži sastopami ražošanas uzņēmumos. *Geotrichum* viegli aug uz virsmām, kuras saskaras ar produktu atliekām un sulām, kā arī konveijera lentēm, aprīkojuma sienām, balstiem, grīdām, notekcaurulēm un ēku sienām, balstoties uz šīm īpašībām cēlies tā nosaukums – mehāniskais pelējums. Sākotnēji tas piesaistās virsmām, augšanai attīstoties, pelējums aug mazās, pelēcīgi baltās kolonijās, bagātīgi saaugot novērojama gļotaina plēve. Ir ziņots, ka tas kļūst redzams, kad skaita attiecība ir 2300 / cm<sup>2</sup>. Šādos apstākļos pelējuma daļiņas var viegli iejaukt ar izejvielām, nekontrolētas augšanas rezultātā gļotas producēs nepatīkamu puvuma smaku, augšanas ātrums būs atkarīgs no vides apstākļiem. Rūpniecības iestādēm mehāniskais pelējums jāuztver kā indikatora organisms. Jāpievērš uzmanība sanitāro apstākļu saglabāšanai, īpaša uzmanība jāpievērš zināmām problēmu jomām. Pastāvīga sensorā novērtēšana jāveic visai ražotnei (Featherstone, 2015).

*Penicillium* un *Aspergillus* (3.4 tabula) ir atbildīgs par maizes izstrādājumu bojājumiem glabāšanas laikā. Ir izstrādāta un apstiprināta modelēšanas pieeja, lai prognozētu ūdens aktivitātes un temperatūras ietekmes laiku uz *Aspergillus candidus*, kas tika pielāgots sēņu augšanas modelim, ņemot vērā temperatūras ietekmi un aw. Tika izvirzīta hipotēze, ka to pašu modeli var izmantot, lai

aprēķinātu laiku, kad micēlijs kļūst redzams (tv), aizstājot matricas parametru ar tv. *A. candidus* kardinālas vērtības tika noteiktas kartupeļu dekstrozes agarā, un paredzētā tv tika vēlreiz apstiprināta ar pārbaudēm, ko veica 51 miltu izstrādājumiem. Tika parādīta augsta korelācija starp paredzēto un novēroto tv, kad modelēšanai izmantoja aw līdzsvara stāvoklī (pēc 14 dienu glabāšanas). Pielāgošanas pētījumi apstiprināja eksperimentālos rezultātus un parādīja modeļa piemērotību (Huchet, 2013). Nevar noliegt, ka šo mikroorganismu piesārņojums tiek iegūts graudu pārstrādes procesā, tāpēc ASV tika pārbaudīti 85 graudu un graudu produktu paraugi (ieskaitot kukurūzas miltus, kukurūzas – kviešu maisījumus, popkornus, dažādus rīsu veidus un nebalinātus pilngraudu miltus), lai pārbaudītu piesārņojuma līmeni, izmantojot molekulārās metodes. Pētījuma rezultāti parādīja, ka vairāk nekā 90% kviešu miltu, kukurūzas produktu paraugu un 73% pārbaudīto rīsu paraugu uzrādīja sēnes. Popkorns izturēja visaugstāko sēņu līmeni, sasniedzot 5,45 log<sub>10</sub> kolonijas veidojošās vienības uz gramu, kam sekoja kukurūzas milti (5,38 log<sub>10</sub> kvv/g). Pelējumu un rauga daudzums rīsu un kviešu miltos sasniedza attiecīgi 3,30 log<sub>10</sub> un 3,28 log<sub>10</sub> log<sub>10</sub> kvv/g. Galvenie kviešu miltu pelējumi bija *Aspergillus* un *Fusarium* spp., attiecīgi 50 un 46%. *Fusarium* spp. bija biežāk sastopamie kukurūzas piesārņotāji, kas konstatēti 74% paraugos, kam sekoja 44% *Penicillium*. Rīsi, gluži pretēji, galvenokārt satur *Aspergillus*, *Fusarium* un raugus (21% paraugu). Kukurūzas miltiem, popkorni un kukurūzas kviešu maisījumam arī bija visaugstākais pelējuma invāzijas līmenis, kas reizēm sasniedza virs 5,00 log<sub>10</sub> kvv/g. Berghofers, Hokings, Miskelijs un Janssons (2003), analizējot vairāk nekā 600 dažādu kviešu malšanas uzņēmumu paraugus, secināja, ka pieļaujamās kvalitātes robežas pelējuma un rauga kviešu miltiem būtu 10<sup>3</sup> kvv/g. Graudaugu pelējuma augšanas kavēšana, mikotoksīnu ražošanas un uzkrāšanās novēršana ir izšķiroša, jo šie metabolīti ir stabili apkārtējās vides temperatūrā un ir ļoti izturīgi pret termisko apstrādi (Scudamore, 2005). Graudu un graudu produktu ātra kaltēšana līdz mitruma līmenim zem 12% (aw <0,60) un uzglabāšana vēsos un sausos apstākļos ar pietiekamu aerāciju ir būtiska, lai ražotu un saglabātu augstas kvalitātes graudus, kas ir droši cilvēku un dzīvnieku patēriņam (Tournas, 2017). Aizsardzību var nodrošināt, novēršot temperatūras un mitruma gradientu rašanos, atdzesējot un / vai ventilējot graudus (Wright, 2011). Svarīgu lomu ieņem ražas novākšanas prakse, kas var palīdzēt pārvaldīt sēņu

piesārņojuma risku un samazināt to daudzumu. Iesala process var ievērojami mainīt ar miežiem saistīto mikroorganismu kopienu sastāvu, veicinot vai apspiežot noteiktas sēņu grupas. Šīs mikrobiotas izmaiņas var būtiski ietekmēt iesala un tā galaproduktu kvalitāti un drošību (Chena, 2016). Lielākā daļa mikroorganismu atrodas sēklas kodola virsmā, un tikai dažas sugas var aizņemt labības sēklu iekšējo daļu, galvenokārt caur dīgliem vai graudu mehānisku bojājumu dēļ (ICMSF, 1980). Tas atbilst rezultātiem, kas iegūti Bainotti un Perez (2000) un Forder (1997), kuri pierādīja, ka graudi pēc lobīšanas ir mikrobioloģiski tīrāki. Lielākā daļa baktēriju un pelējumu, kas atrodas kviešu graudos, atrodas perikarpā, kas ieskauj endospermu un dīgli. Šie mikroorganismi ir stingri piestiprināti pie graudiem, un tos nevar noņemt ar sajaukšanu šķidrā barotnē. Tomēr tos var ievērojami samazināt (~ 87% no kopējā mikrobiālā piesārņojuma), no virsmas noņemot tikai 4% no graudu kopējā svara, izmantojot abrazīvo dzirnavu. Šis mikroorganismu slodzes samazinājums ir vēl svarīgāks pelējuma gadījumā, jo tie var radīt mikotoksīnus. Grauzdēšanas tehnoloģija kviešu malšanā nodrošina graudus ar augstu mikrobiālo tīrību. Visbeidzot, jānorāda, ka mikroorganismu saturs starp kviešu šķirnēm ir atšķirīgs, un mikroorganismu veidi, kas atrodas graudu virsmā, nav obligāti tādi paši kā tiem, kas atrodami iekšējos slāņos. Jāveic papildu analīze, lai noteiktu dominējošo celmu ģintis dažādās graudu daļās (Laca, 2006).

Lai uzlabotu lauksaimniecības procesus, arvien biežāk tiek pētīti bioloģiskie uzlabošanas mehānismi. Jaunākie pētījumi vēsta, ka pārtikas atkritumi šodien tiek uzskatīti par lētu vērtīgu sastāvdaļu avotu, jo esošās tehnoloģijas ļauj atkārtoti izmantot mērķa savienojumus un to pārstrādi pārtikas ķēdē kā funkcionālās piedevas dažādos produktos. Notekūdeņi no olīvu dzirnavām tiek ģenerēti no olīveļļas ekstrakcijas sistēmām. Tai ir augsti pievienotās vērtības savienojumi, proti, fenols, recalcitrants, pektīns un daži svarīgi fermenti, kuri izraisa zināmu toksicitātes / fitotoksiskuma pakāpi fenola savienojumu dēļ. No pētījuma izriet, ka šos fenola ekstraktus var izmantot kā biopesticīdu un veicināt aizsardzību pret augu slimībām, izvairoties no sintētisko insekticīdu izmantošanas un pārvarot vides problēmas (Galanakis, 2018).

Raugi ir nozīmīgi fermentāciju komponenti pārtikas un dzērienu pārstrādē. Cilvēkiem ir konstatētas vairākas oportūnistiskas infekcijas, tostarp *W. anomalus*

un maizes raugs - *Saccharomyces cerevisiae*. Nepieciešams veikt vairāk pētījumu par dominējošiem patogenitātes un virulences faktoriem oportūniskajos raugos un faktoriem, kas varētu veicināt pastiprinātu rauga infekciju izplatību. Regulējošā situācija attiecībā uz raugiem, ko izmanto pēc ražas novākšanas, ir sarežģīta, un daži produkti, kas nonākuši tirgū, galvenokārt tiek reģistrēti kā bioloģiskie pesticīdi. ES izstrādāta kvalitatīvā drošības prezumpcija (QPS) attiecībā uz mikroorganismu drošu novērtējumu, ko apzināti pievieno pārtikai vai barībai. *W. anomalus* ir viena no vairākām rauga sugām, kam piešķirts QPS statuss, lai gan šī rauga statusa izmantošana ir ierobežota ar fermentu un metabolītu ražošanas vajadzībām (Sundh, 2011).

#### 4. SECINĀJUMI

1. Maizes ražotnē identificētas piecas maizes krīta slimības izraisītāju sēņu sugas:  
*Cyberlindnera jadinii*, *Diutina catenulata*, *Vanrija humicola*, *Cyberlindnera jadinii* un *Wickerhamomyces anomalus*.
2. Krīta slimības izraisītāji sastopami izejvielās:  
Miltos: *Cyberlindnera jadinii*,  
Iesalā: *Cyberlindnera jadinii*,  
Eļļā: *Diutina catenulata*, *Vanrija humicola*, *Cyberlindnera jadinii* un *Aureobasidium* sp.
3. Krīta slimības izraisītāji sastopami maizes griešanas iekārtā:  
eļļas caurulītē: *Wickerhamomyces anomalus* un *Cyberlindnera jadinii*,  
švammītē: *Cyberlindnera jadinii*.
4. Eļļa, ko ražotnē izmanto maizes griezēja nažu eļļošanai, ir galvenais krīt slimības izraisītāju avots.
5. Ražotnes gaisā, visvairāk mīklas mīcītavā, konstatētas maizi bieži bojājošās pelējumsēnes: *Penicillium*, *Geotrichum*, *Paecilomyces*, *Aspergillus*, *Cunninghamella* un *Cladosporium* spp.

## **5. PATEICĪBAS**

Vēlos izteikt pateicību Latvijas Lauksaimniecības universitātes Pārtikas tehnoloģijas fakultātes prof., Dr. sc. ing. Daiga Kunkulbergai un prof., Dr. sc. ing. Dacei Kļavai par piedalīšanos praktiskajā procesā, atbalstu un ieguldījumu pētījuma gaitā.

Vēlos izteikt lielu paldies LU Asoc. prof. Vizmai Nikolajevai par vērtīgajiem ieteikumiem, zinātniskās kvalitātes uzlabošanu, valodas labskanības uzlabošanu un sniegtajām konsultācijām bakalaura darba tapšanā.

## 6. LITERATŪRAS SARAKSTS

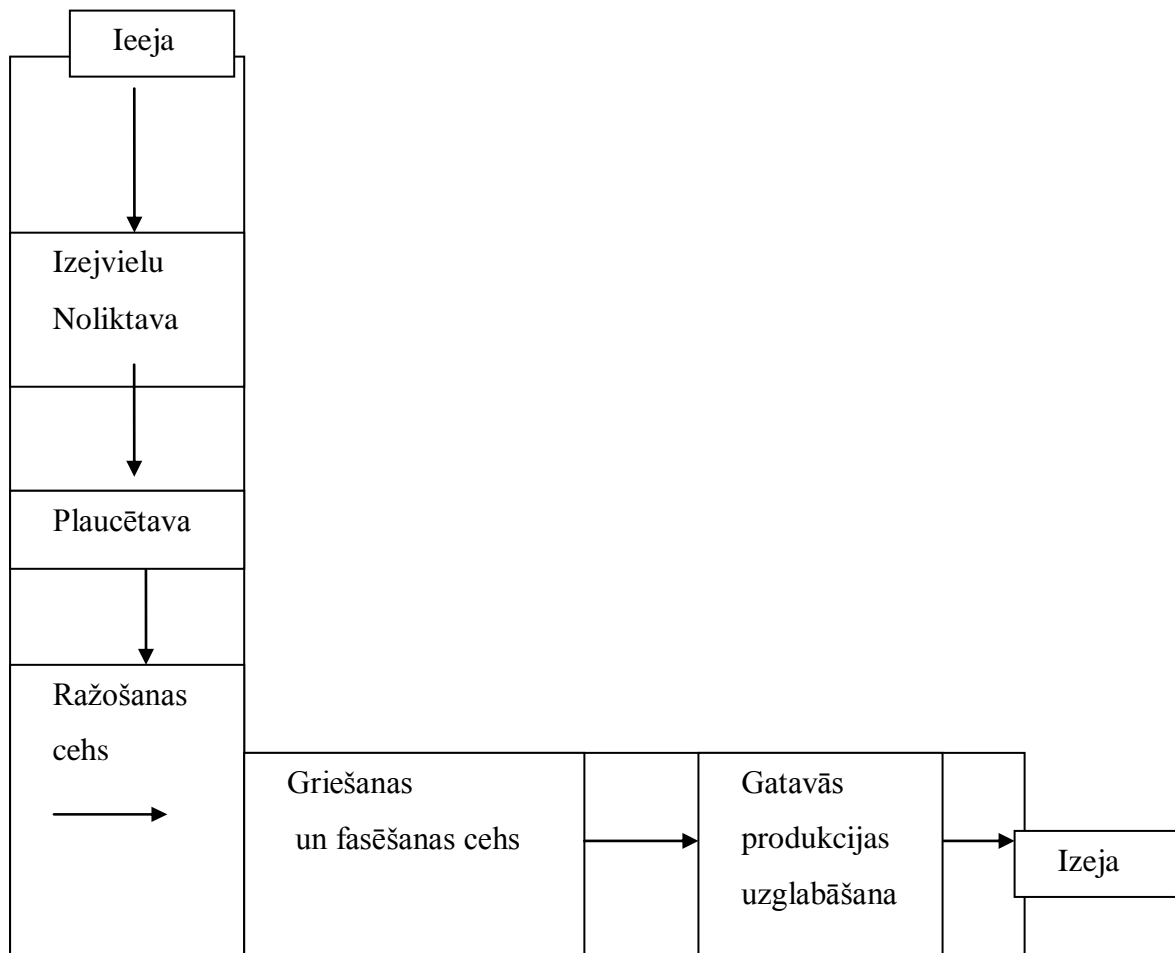
1. Bullerman L. B., Bianchini A. 2011. The Microbiology of Cereals and Cereal Products. – Food quality and safety. Key. <http://www.foodqualityandsafety.com/article/the-microbiology-of-cereals-and-cereal-products/3/>
2. Burgain A., Bensoussan M., Dantigny P. 2015. Validation of a predictive model for the growth of chalk yeasts on bread. - *International Journal of Food Microbiology*, 204: 47–54.
3. Chena W., Turkingtonc T. K., Lévesquea C. A., Bamforthb J. M., Patrickb S. K., Lewisa C. T., Chapadosa J. T., Don Gabab, Sheryl A. Tittlemierb, Aaron MacLeodb, Tom Gräfenhanb. 2016. Geography and agronomical practices drive diversification of the epiphytic mycoflora associated with barley and its malt end product in western Canada. - *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 226: 43–55.
4. Dagnas S., Gougouli M., Onno B., P.Koutsoumanis K., Membré J.M. 2017. Quantifying the effect of water activity and storage temperature on single spore lag times of three moulds isolated from spoiled bakery products. - *International Journal of Food Microbiology*, 240: 275 – 284.
5. Dantigny P., Burgain A., Deniel F., Bensoussan M. 2014. A model for the effect of pH on the growth of chalk yeasts. - *International Journal of Food Microbiology*, 186: 49–54.
6. Deschuyffeleer N., Audenaert K., Samapundo S., Ameye S., Eeckhout M., Devlieghere F. 2011. Identification and characterization of yeasts causing chalk mould defects on par-baked bread. - *Food Microbiology*, 28: 1019 – 1027.
7. Featherstone S. 2015. *A Complete Course in Canning and Related Processes* 14th Edition. - A volume in Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, 149–171.
8. Galanakis C. M., Tsatalas P., Charalambous Z., Galanakis I. M. 2018. Control of microbial growth in bakery products fortified with polyphenols recovered from olive mill wastewater. - *Environmental Technology & Innovation*, 10: 1 – 15.
9. Giannone V., Pitino I., Pecorino B., Todaro A., Spina A., Rosaria Lauro M., Tomaselli F., Restuccia C. 2016. Effects of innovative and conventional

- sanitizing treatments on the reduction of *Saccharomyces fibuliger* defects on industrial durum wheat bread. - International Journal of Food Microbiology, 235: 71–76.
10. Guynot M.E., Ramos A.J., Sanchis V., Marín S. 2005. Study of benzoate, propionate, and sorbate salts as mould spoilage inhibitors on intermediate moisture bakery products of low pH (4.5–5.5). - International Journal of Food Microbiology, 101: 161 – 168.
  11. Hertz M., Jensen I. R., Jensen L. O., Thomsen S. N., Winde J., Dueholm M. S., Sørensen L. H., Wollenberg R. D., Sørensen H.O., Sondergaard T. E., Sorensen J. L. 2016. The fungal community changes over time in developing wheat heads, - International Journal of Food Microbiology, 222: 30–39.
  12. Huchet V., Pavan S., Lochardet A., Divanac'h M.L., Postollec F., Thuault D. 2013. Development and application of a predictive model of *Aspergillus candidus* growth as a tool to improve shelf life of bakery products. - Food Microbiology, 36: 254 – 259.
  13. Index Fungorum Partnership. 2018.Key. <http://www.indexfungorum.org/names/Names.asp>
  14. Klāsens V., Šteinberga V. 1987. Mikrobioloģija. Rīga: Zvaigzne, 122 lpp.
  15. Kunkulbera D., Segliņš V. 2015. Maizes ražošana. Rīga: Daugavpils Universitātes Akadēmiskais apgāds „Saule”, 288 lpp.
  16. Kutzman C.P., Fell J.W., Boekhout T. 2011. The Yeasts: A Taxonomic Study. 5th edition, volume 1, Elsevier, 2345 pp.
  17. Laca A., Mousia Z., Diaz M., Webb C., Pandiella S. S. 2006. Distribution of microbial contamination within cereal grains. - Journal of Food Engineering, 72: 332–338.
  18. Miller F.W. 1942. The story of Mould and Rope. Due Pond de Nanorrs E.J. and Co. Inc. Wilmington Del., 340 pp.
  19. Nikolajeva V. 2014. Pārtikas mikrobioloģija. Rīga: LU Akadēmiskais apgāds, 142 lpp.
  20. Oliveira P. M., Zannini E., Elke A. K. 2014. Cereal fungal infection, mycotoxins, and lactic acid bacteria mediated. - Food Microbiology, 37: 78 – 95.

21. Passoth V., Fredlund E., Druvefors U. A., Schnürer J. 2006. Biotechnology, physiology and genetics of the yeast *Pichia anomala*. - FEMS Yeast Res., 6: 3 – 13.
22. Prabhakar K., Mallika E. N. 2014. Water Activity. - Reference Module in Food Science, Encyclopedia of Food Microbiology, 2nd Edition, 751–754 pp.
23. Scott W.J. 1953. Water relations of *Staphylococcus aureus* at 30 oC. Australian Journal of Biological Science, 6: 549-564.
24. Smith J.P., Daifas D.P., El-Khoury W., Koukoutsis J. 2004. Shelf life and safety concerns of bakery products - a review. – Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 44: 19-55.
25. Sundh I., Melin P. 2011. Safety and regulation of yeasts used for biocontrol or biopreservation in the food or feed chain. - Antonie Van Leeuwenhoek, 1: 113–119.
26. Tournas V.H., Niazi N.S. 2017. Potentially toxigenic fungi from selected grains and grain products. - Center for Food Safety and Applied Nutrition, 10: 1111–12422.
27. Wright E.J., Webb M.C., Highley E. 2003. Microbiological facts and fictions in grain storage. - Food Science Australia, 55–58.

## **PIELIKUMI**

Telpu plāns  
Premises plan



## Koliformu baktēriju daudzums (kvv)

## Coliform bacteria (cfu)

N.p.K	Atšķaidījums Dilution					
	$10^2$	$10^2$	$10^2$	$10^3$	$10^3$	$10^3$
1	111	125	98	0	0	72
2	56	43	121	38	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	pārāk daudz			625	312	301
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0

## 3.pielikums

Mezofili aerobo un fakultatīvie anaerobo mikroorganismu daudzums (kvv)

Mesophilic aerobic and optional anaerobic microorganisms (cfu)

N.p.K	Atšķaidījums Dilution					
	$10^2$	$10^2$	$10^2$	$10^3$	$10^3$	$10^3$
1	167000	4070	3670	2040	3060	1010
2	13100	29600	17400	12200	9900	9800
3	2024	1400	0	378	110	258
4	9600	4080	2030	687	0	714
5	7140	7040	10200	6120	6330	5100
6	457	270	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0
9	0	1030	0	0	0	0

## 4.pielikums

Raugi (kvv

Yeasts (cfu)

Paraugs	Atšķaidījums Dilution					
	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>
Milti	3,67*10 <sup>5</sup>	2,69*10 <sup>5</sup>	6,33*10 <sup>5</sup>	2,99*10 <sup>5</sup>	1,48*10 <sup>5</sup>	1,27*10 <sup>6</sup>
Iesals	7,34*10 <sup>5</sup>	7,33*10 <sup>5</sup>	1,02*10 <sup>6</sup>	4,49*10 <sup>6</sup>	3,50*10 <sup>6</sup>	4,72*10 <sup>6</sup>
saulespuķu sēklas grauddētas	204	425	0	0	0	0
saulespuķu sēklas negrauddētas	2040	0	0	0	0	0
Trubiņa	0	0	0	0	0	0
Nazis	0	0	0	0	0	0
Švammīte	101	0	0	0	0	0
Borodinas maize	0	0	0	0	0	0
Rudzu maize	0	0	0	0	0	0
Rupjmaize	0	0	0	0	0	0

## Pelējumsēnes (kvv)

## Molds (cfu)

Paraugs	Atšķaidījums Dilution								
	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>
Milti				12	8	pāraudzis	0	4	2
Iesals				3	pāraudzis	1	0	0	1
saulespuķu sēklas graudzētas	0	0	0	0	0	0			
saulespuķu sēklas negraudzētas	0	0	0	0	0	0			
Trupiņa	1	0	0	0	0	0			
Nazis	0	0	0	0	0	0			
Švammīte	0	0	0	1	0	0			
Borodinas maize	0	0	0	0	0	0			
Rudzu maize	0	0	0	0	0	0			
Rupjmaize	0	0	0	0	0	0			

Bakalaura darbs „Krīta slimības izraisītāju identificēšana maizes ražošanas procesā” izstrādāts Latvijas Universitātes Bioloģijas fakultātē.

Ar savu parakstu apliecinu, ka pētījums veikts patstāvīgi, izmantoti tikai tajā norādītie informācijas avoti un iesniegtā darba elektroniskā kopija atbilst izdrukai.

Autors: Sandra Jansone

04.06.2018

Rekomendēju darbu aizstāvēšanai

Vadītājs:

.2018

Recenzents: doktorante Sintija Valucka

Darbs iesniegts LU Bioloģijas fakultātē

.2018

Lietvede: Diāna Marcinkēviča

Darbs aizstāvēts bakalaura gala pārbaudījuma komisijas sēdē

11.06.2018. prot. Nr. , vērtējums

Komisijas sekretārs: