

DOROTA LENART, REGINA STEMPNIEWICZ

## WPLYW KULTURY STARTEROWEJ *GEOTRICHUM CANDIDUM* NA MIKROFLOREĘ EPIFITYCZNĄ SŁÓDÓW JĘCZMIENNYCH

### Streszczenie

Oceniano wpływ szczepu drożdży *Geotrichum candidum* 1, zastosowanego jako kultury starterowej w procesie słodowania, na zmiany mikroflory epifitycznej otrzymanych słodów. Kulturę drożdży dodawano w formie szczepionki do drugiej (słód GI) oraz do pierwszej i drugiej (słód GII) wody zamoczkowej, podczas słodowania prowadzonego w warunkach mikrotechnicznych. Przeprowadzono analizę powierzchniowej mikroflory ziarna i suchych słodów. Określono ogólną liczbę tlenowych bakterii mezofilnych na wzbogaconym bulionie, bakterii mlekowych na pożywce MRS (Merck) oraz drożdże „dzikich” na PDA (Merck). Stopień zasiedlenia ziarna i słodów przez grzyby mikroskopowe oraz drożdże *Geotrichum candidum* 1 określano poprzez punktowe wykładanie 100 losowo wybranych ziarniaków na podłoże PDA. Wykazano, że dodatek szczepionki drożdży *Geotrichum candidum* 1 wywoływał redukcję liczby grzybów mikroskopowych, w tym toksynotwórczych gatunków z rodzaju *Fusarium* (w 94%). Zwiększona dawka szczepionki nie zmieniła w zasadniczy sposób ilości pozostałych grup drobnoustrojów bytujących na słodach „starterowych”.

Technologia słodowania ziarna z dodatkiem kultur starterowych w warunkach przemysłowych stwarza możliwość poprawy jakości i zdrowotności srodu.

**Słowa kluczowe:** mikroflora srodu, drożdżowa kultura starterowa, sród jęczmienny, grzyby toksynotwórcze.

### Wstęp

W ostatnich latach szczególną uwagę zwraca się na stan higieniczno-sanitarny surowców wykorzystywanych do produkcji piwa. Znajomość stopnia infekcji ziarna, wywołana obecnością grzybów pleśniowych, jest bardzo istotna, tak z uwagi na handlową jakość piwa, jak i ewentualne zagrożenia dla zdrowia konsumentów. Jednym z warunków uzyskania dobrego piwa jest wysoka jakość srodu, uzależniona od stanu

technologicznego ziarna i w dużym stopniu od ilościowego i jakościowego składu mikroflory występującej na ziarnie jęczmienia browarnego [2].

Przed słodowaniem, na powierzchni ziarna, a także pod plewką występuje duża liczba drobnoustrojów. Dominującą mikroflorę stanowią: bakterie tlenowe ( $10^6$ – $10^7$  j.t.k./g), bakterie fermentacji mlekowej ( $10^3$ – $10^6$  j.t.k./g) oraz grzyby strzępkowe ( $10^2$ – $10^4$  j.t.k./g) [14].

W procesie słodowania powstają warunki bardzo korzystne do spontanicznego i niekontrolowanego rozwoju mikroorganizmów bytujących na ziarnie. Następuje wówczas intensywny wzrost przede wszystkim liczby pleśni. Ziarno jęczmienia skażone grzybami mikroskopowymi sprawia poważne problemy słodownikom. Rozwój grzybów powoduje rozmiękczenie ziaren i gwałtowny ubytek suchej masy. Ogólnie wysoki poziom mikroorganizmów powoduje zmniejszenie zdolności i energii kiełkowania oraz obniżenie żywotności ziaren. Następuje także spadek aktywności  $\alpha$ -amylazy, obniżenie ekstraktywności i zmniejszenie lepkości brzezki [3, 8].

Do najgroźniejszych efektów rozwoju grzybów pleśniowych zaliczyć można występowanie w słodzie, a w konsekwencji i w piwie, mikotoksyn. Zainteresowanie mikotoksynami stale wzrasta, z uwagi na ich wysoką toksyczność i aktywność kancerogenną [9, 16, 19]. W strefie klimatu umiarkowanego, a zatem i w Polsce, najczęściej wykrywane są toksyny wytwarzane przez grzyby z rodzaju *Aspergillus* i *Penicillium* (ochratoksyny, kwas penicylinowy, cytrynina i sterygmatocystyna) oraz toksyny wytwarzane przez grzyby z rodzaju *Fusarium* (zearalenon i trichoteceny). Należy podkreślić, że są to związki termostabilne i takie procesy jak suszenie słodu czy warzenie brzezki nie wywołują ich redukcji, tak więc znaczna ich ilość ulega ekstrakcji do piwa. Ponadto obecność mikotoksyn w surowcach browarniczych wywołuje efekt redukcji stabilności gazu w piwie (gushing). Za wadę tę odpowiedzialne są przede wszystkim rozwijające się na ziarnie jęczmienia browarnego grzyby, głównie gatunki: *Fusarium graminearum* i *F. avenaceum* [12, 17, 22]. W celu zapobieżenia rozwojowi niekorzystnej, toksynotwórczej mikroflory, wiele zakładów przemysłu browarniczego stosuje metody chemicznej dezynfekcji ziarna przed słodowaniem. Chemiczne dezynfektanty wprawdzie przyczyniają się do zmniejszenia populacji mikroorganizmów na zainfekowanym ziarnie, z drugiej strony cechują się wysoką agresywnością chemiczną [1, 6].

Obecnie na świecie dąży się do ograniczenia lub wykluczenia stosowania metod chemicznej dezynfekcji. Chcąc polepszyć jakość słodu, można pokierować spontanicznym rozwojem mikroorganizmów w czasie słodowania, poprzez zastosowanie szybciej rosnących kultur starterowych drobnoustrojów ograniczających rozwój niepożądaną mikroflory, głównie pleśniowej. Startery są powszechnie wykorzystywane również w innych gałęziach przemysłu spożywczego: w przemyśle mleczarskim (sery, jogurt, kefir), owocowo-warzywnym (kiszonki), a także w przemyśle mięsnym (wędli-

ny surowe). Ich użycie pozwala m.in. na inhibicję wzrostu niepożądanych drobnoustrojów [4].

Jako starterów w procesie słodowania używa się drobnoustrojów należących do naturalnej mikroflory ziarna jęczmienia, tzn. bakterii fermentacji mlekowej (LAB) oraz drożdży *Geotrichum candidum*. Mają one na celu odpowiednie ukierunkowanie i kontrolowanie procesów zachodzących podczas spontanicznej fermentacji prowadzonej przez mikroflorę epifityczną ziarna [5, 13, 14, 15, 18]. Stosowane w procesie słodowania szczepionki drożdży *Geotrichum candidum* wpływają wyraźnie na zmniejszenie liczby toksynotwórczych pleśni z rodzaju *Fusarium* i *Aspergillus* [1, 21, 23].

Celem badań było określenie wpływu szczepu drożdży *Geotrichum candidum* 1, zastosowanego jako kultury starterowej, na zmiany mikroflory epifitycznej słodu, zachodzące podczas słodowania prowadzonego w warunkach mikrotechnicznych, a w szczególności na wzrost toksynotwórczych grzybów rodzaju *Fusarium*.

### **Materiał i metody badań**

Jako materiał badawczy użyto:

- *Geotrichum candidum* 1 – szczep pochodzący z kolekcji własnej Katedry Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Akademii Rolniczej we Wrocławiu – zastosowany jako kultura starterowa w procesie słodowania ziarna jęczmienia browarnego;
- ziarno jęczmienia browarnego odmiany Brenda pochodzące ze Słodowni w Sierpcu (zbiór 2000 r.);
- słody jęczmienne typu pilzneńskiego kontrolne i „starterowe” otrzymane w mikrośłodowni Seegera.

Hodowle szczepu drożdży *Geotrichum candidum* 1, stosowanego jako kultura starterowa podczas słodowania, prowadzono w brzezce 7<sup>o</sup>Blg w bioreaktorze typu Biostat (Brown – Belsungen) w temperaturze 30°C, przez 48 godzin. Hodowlę drożdży wirowano w wirówce typu K 24 z chłodzeniem (7000 obr./min przez 15 min), biomasę przemywano dwukrotnie sterylną wodą destylowaną i zawieszano w sterylnej wodzie destylowanej. Kultura starterowa *Geotrichum candidum* 1 w postaci mieszaniny strzępek grzybni i artrospor została wprowadzona w przypadku pierwszego słodowania (słód **G I**) – do drugiej wody zamoczkowej w ilości 300 ml na 90 l wody wodociągowej, natomiast podczas drugiego słodowania (słód **G II**) – do pierwszej i drugiej wody zamoczkowej po 300 ml na 90 l wody wodociągowej. Gęstość drożdży *G. candidum* 1 w wodzie zamoczkowej wynosiła  $\sim 10^5$  j.t.k./ml. Kontrolę stanowił słód otrzymany bez udziału kultury starterowej drożdży *G. candidum* 1. Wszystkie słodowania wykonano w ośmiu powtórzeniach.

Przeprowadzono ocenę powierzchniowej mikroflory ziarna i sładów. Oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach.

Metodą płytkową Kocha oznaczano:

- liczbę bakterii tlenowych na wzbogaconym bulionie z dodatkiem cykloheximidu 100 ppm,
- liczbę bakterii mlekowych na pożywce MRS (Merck) z dodatkiem cykloheximidu 100 ppm,
- liczbę drożdży na podłożu PDA (Merck) z oksytetracykliną 100 ppm.

Skażenie ziarna i słodów wywołane obecnością grzybów mikroskopowych kontrolowano wg Christensena i Kaufmana (cyt. za Chełkowskim i Trojanowską [7]). W metodzie tej 100 losowo wybranych ziarniaków wykładano punktowo po 10 szt. na płytki Petriego z pożywką Malt Salt Agar (ekstrakt słodowy 20 g, NaCl 75 g, agar 20 g, pH 6,5) z oksytetracykliną 100 ppm.

Stopień zasiedlenia słodów „starterowych” kulturą drożdży *Geotrichum candidum* I kontrolowano również metodą punktowego wykładania ziarniaków na płytce Petriego z podłożem PDA (Merck), zawierającym oksytetracyklinę 100 ppm.

Otrzymane czyste kolonie o morfologii pleśni rodzaju *Fusarium* poddano identyfikacji wg Kwaśnej i wsp. [20].

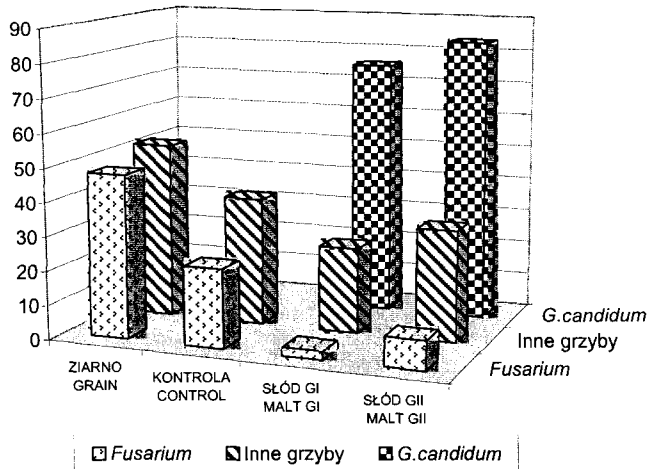
## Wyniki i dyskusja

Główny surowiec słodowniczy – ziarno jęczmienia browarnego odmiany Brenda, wykorzystywany w badaniach własnych, skażony był: tlenowymi bakteriami mezofilnymi w ilości  $10^7$  j.t.k/g, a liczba bytujących bakterii fermentacji mlekowej wynosiła  $10^2$  j.t.k/g. Porażenie ziarna grzybami mikroskopowymi wynosiło 97%, w tym obecność *Fusarium* stanowiła 48% ogólnej liczby grzybów (rys. 1). Powierzchniową mikroflorę grzybową reprezentowały głównie takie gatunki *Fusarium*, jak: *F. sporotrichoides*, *F. poae*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. equiseti*, *F. graminearum* (tab. 1). Ponadto w skład mikroflory pleśniowej wchodziły grzyby rodzajów: *Mucor*, *Rhizopus*, *Alternaria* i *Helminthosporium*. Nie wykazano w toku badań wglębnego porażenia ziarna.

Według kryteriów opracowanych przez Campbela (cyt. za Czajkowską [8]), ziarno użyte w badaniach nie było dobrej jakości. Jego zdaniem w 1g jęczmienia przeznaczonego do produkcji piwa nie powinno być więcej niż  $2 \cdot 10^3$  pleśni,  $8 \cdot 10^4$  j.t.k./g drożdży i tyle samo bakterii.

Boivin i Malanda [4] oraz Dziuba i wsp. [14] wykazali, że podczas fazy moczenia, a w większym stopniu podczas kiełkowania ziarna jęczmienia, ma miejsce wzrost ogólnej liczby mikroorganizmów. Ich ilość na słodowanym ziarnie osiąga maksimum w fazie kiełkowania. Jak podaje dalej Campbell (cyt. za Czajkowską [8]), liczba wymienionych wyżej drobnoustrojów ulega zwiększeniu w czasie moczenia i rostkowania ziarna o 1 rząd logarytmiczny w przypadku pleśni, o 2 rzędy logarytmiczne wzrasta liczba drożdży, ponadto poziom bakterii tlenowych i mlekowych wzrasta średnio o

4 rzędy logarytmiczne. Poziom zakażenia w tym czasie jest bezpośrednio zależny od wyjściowego, powierzchniowego i wglębnego zanieczyszczenia mikroorganizmami ziaren jęczmienia.



Rys.1. Zasiedlenie (%) ziarniaków jęczmienia i suchych słodów grzybami mikroskopowymi oraz drożdżami *Geotrichum candidum* 1. (Wyniki powyżej 100% wskazują na równoczesne zasiedlenia ziarniaków drobnoustrojami różnego rodzaju).

Fig. 1. The percentage of kernels and kilned barley malts contaminated with fungi and *Geotrichum candidum* 1. (The results above 100% indicated that kernels and malts were settled by fungi and yeast simultaneously).

Tabela 1

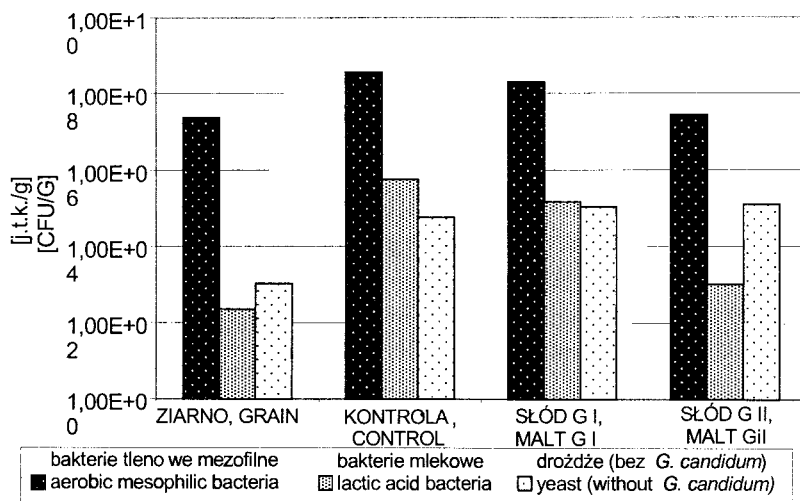
Gatunki grzybów rodzaju *Fusarium* wykryte w ziarnie i w słodach jęczmiennych.  
*Fusarium* species detected in grain and barley malt.

Lp.	Próby Samples	Wykryte gatunki grzybów Detected species of mould
1	Ziarno Z / Grain Z	<i>Fusarium equiseti</i> , <i>F. sporotrichoides</i> , <i>F. poae</i> , <i>F. graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. oxysporum</i>
Mokry słód / Green malt		
2	Kontrola K / Control K	<i>F. sporotrichoides</i> , <i>F. poae</i> , <i>F. graminearum</i>
3	Słód G I / Malt G I	<i>F. sporotrichoides</i> , <i>F. poae</i>
Suche słody / Dry malt		
4	Kontrola K / Control K	<i>F. sporotrichoides</i> , <i>F. poae</i> , <i>F. graminearum</i>
5	Słód G I / Malt G I	<i>F. sporotrichoides</i> , <i>F. poae</i>
6	Słód G II / Malt G II	<i>F. sporotrichoides</i> , <i>F. poae</i>

Objaśnienia:

- G I - szczepionka *G.candidum* 1 wprowadzona do drugiej wody zamoczkowej,
- G II - szczepionka *G.candidum* 1 wprowadzona do pierwszej i drugiej wody zamoczkowej,
- G I - *G.candidum* 1 added to second steeping water,
- G II - *G.candidum* 1 added to first and second steeping water.

W badaniach własnych wykazano, że na otrzymanym kontrolnym słodzie liczba grzybów pozostała na tym samym poziomie, jaki występował na ziarnie przed słodowaniem –  $10^4$  j.t.k./g. Natomiast obserwowano wzrost liczebności drożdży o 1 rząd logarytmiczny i o 4 rzędy logarytmiczne w liczbie bakterii mlekowych. Liczba bakterii tlenowych zwiększyła się podczas słodowania o 2 rzędy logarytmiczne (rys. 2).



Rys. 2. Liczba drobnoustrojów zasiedlająca powierzchnię ziarna jęczmienia oraz otrzymanych słodów.

Fig. 2. Counts of microorganisms on kernels and barley malts.

Silna konkurencja istniejąca na rynku browarniczym wymusza na producentach piwa zabieganie o jak najwyższą jakość i zdrowotność oferowanych produktów. Obecnie dąży się do stworzenia nowych, alternatywnych metod obniżania poziomu niepożądanego mikroflory ziarna jęczmienia browarnego, które zastąpią w przyszłości tradycyjną dezynfekcję ziarna agresywnymi środkami chemicznymi. Działania w tym celu zostały poczynione przez francuskich i fińskich uczonych, którzy rozpoczęli intensywne badania dotyczące użycia kultur starterowych w nowoczesnym browarnictwie [5]. Stosowanie biologicznych metod dezynfekcji ziarna powinno skutecznie ograniczać rozwój niepożądanego mikroflory pleśniowej, podobnie jak w przypadku wykorzystywania chemicznych metod dezynfekcji.

Jak podaje Chełkowski i wsp. [6], dodatek do wody, w procesie moczenia ziarna,  $100 \text{ cm}^3$  18% roztworu podchlorynu sodu na  $1 \text{ m}^3$  wody, przy czasie działania 2 godzin, nie niszcząc energii kiełkowania, usuwa 90% zarodników grzybów.

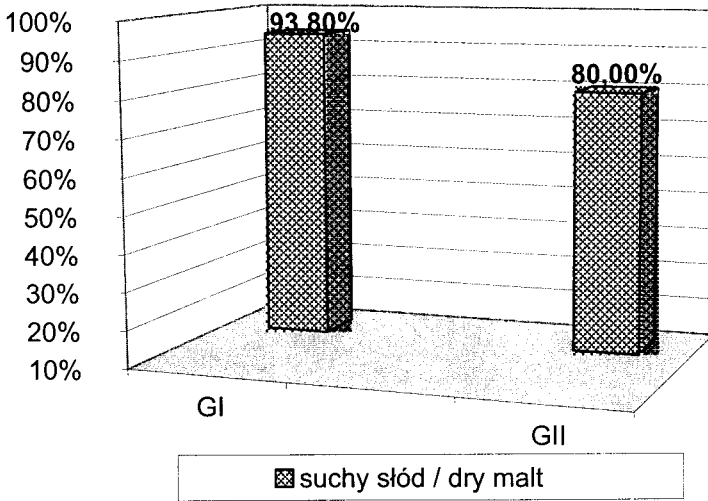
W badaniach własnych zastosowano szczep drożdży *Geotrichum candidum* 1, który wybrany został z wielu, na podstawie wcześniej przeprowadzonych badań w Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Akademii Rolniczej we Wrocławiu.

Drożdże *Geotrichum candidum* charakteryzują się tym, że nie syntetyzują toksycznych i teratogennych metabolitów, szkodliwych dla zdrowia ludzkiego. Bovin i Malanda [4], w przeprowadzonych analizach mikrobiologicznych ziarniaków pochodzących z końca fazy moczenia i kiełkowania wykazali, że dodatek szczepionek *Geotrichum candidum* wyraźnie wpływa na liczebność występowania na nich rdzennej mikroflory. Zaobserwowali także redukcję liczby toksynotwórczych pleśni z rodzaju *Fusarium* i *Aspergillus* oraz drożdży „dzikich”. Kultury starterowe sprzyjały rozwojowi bakterii mlekowych, natomiast nie oddziaływały na mezofilne bakterie mlekowe. Następował równocześnie intensywny rozwój drożdży *Geotrichum candidum*, które stawały się mikroflorą dominującą.

W warunkach prowadzenia badań własnych otrzymano podobne rezultaty jak wyżej cytowani autorzy. Również wykazano redukcję liczby toksynotwórczych grzybów z rodzaju *Fusarium* (58–94%) w porównaniu ze słodem kontrolnym (nietraktowanym kulturą drożdży *Geotrichum candidum* I), (rys. 3). Z powierzchni słodów „starterowych” wyeliminowane zostały takie gatunki grzybów, jak: *F. equiseti*, *F. culmorum* i *F. oxysporum*. Natomiast nie stwierdzono zmian w stopniu zasiedlenia słodów „starterowych” drożdżami „dzikimi”. Obserwowano jednak nieznaczny spadek liczebności bakterii fermentacji mlekowej na słodzie otrzymanym z dodatkiem zwiększonej dawki szczepionki (GII). Natomiast tam gdzie stosowano mniejszą dawkę starterów (GI), liczba bakterii mlekowych nie uległa zmianie. Wykazano, że bakterie tlenowe również uległy redukcji o 1 rząd logarytmiczny na słodzie ze zwiększoną ilością szczepionki. Również, tak jak obserwowali wcześniej wymienieni autorzy, otrzymano słody prawie całkowicie zdominowane przez kulturę starterową.

Antagonistyczne oddziaływanie drożdży *Geotrichum candidum* jest wynikiem efektu współzawodnictwa o przestrzeń i substancje odżywcze. Ze względu na zdolność drożdży *G. candidum* do intensywnego wzrostu i rozwoju, mikroorganizmy te szybko opanowują środowisko i uniemożliwiają tym samym namnażanie się innych grup drobnoustrojów. Jak podają Tariq i Campbell [24], lotne metabolity wytwarzane przez *Geotrichum candidum* tj. dwutlenek węgla, etanol, aldehyd octowy oraz trimetyloalana, hamują kiełkowanie zarodników i wzrost grzybni w przypadku: *Aspergillus flavus*, *Botritis allii*, *Fusarium oxysporum*, *Microsporium canis* i *Penicillium italicum*.

Drożdże *Geotrichum candidum* odpowiedzialne są także za wydzielanie kwasu D-3-fenylomlekowego, który hamuje wzrost bakterii *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, oraz *Klebsiella oxytoca*, wywołujących poważne skażenia produktów spożywczych i zatrucia pokarmowe. Wykazano, że kwas ten wywołuje zmiany w zachowaniu w strukturze wewnętrznej ww. bakterii, w konsekwencji doprowadzając do degradacji komórek [10, 11].



Rys. 3. Redukcja (%) zasiedlenia powierzchni słodów "starterowych" (GI, GII) grzybami rodzaju *Fusarium* wywołana obecnością kultury starterowej, w porównaniu do słodów kontrolnych bez udziału szczepionki *Geotrichum candidum 1*.

Fig. 3. Percentage of reduction of *Fusarium* contamination on the surface of barley malts as the effect of use starter culture of *Geotrichum candidum 1*, compare with malts without addition of *Geotrichum candidum 1*.

Efektom stosowania drożdży *Geotrichum candidum* w procesie słodowania jest nie tylko polepszenie stanu higieniczno-sanitarnego słodu, ale także poprawa jego właściwości technologicznych, dzięki bogatemu aparatowi enzymatycznemu jakim charakteryzują się omawiane drożdże. Jak podaje wielu autorów, uzyskane słody „starterowe” cechują się lepszymi właściwościami technologicznymi t.j.: poprawą zawartości ekstraktu, lepszą jednorodnością słodu, wyższą aktywnością pentozanów oraz niższą zawartością  $\beta$ -glukanu [13, 14].

Stosowanie biologicznej metody „dezynfekcji” słodów jest sposobem prostym, nieskosztownym i niewymagającym dodatkowych urządzeń w słodowni. Koszt wdrożenia i stosowania tej metody, jak szacują uczeni francuscy, nie powinien przekroczyć 1% ceny słodu [14]. Z uwagi na szerokie zainteresowanie wysoką jakością produktów spożywczych, zarówno ze strony klientów, jak i konkurencji oraz planowane wejście Polski do Unii Europejskiej, większą uwagę zwraca się na możliwość wystąpienia toksycznych, wtórnych metabolitów pleśniowych w środkach spożywczych. Pomijana przez wiele lat sprawa szkodliwości picia piwa z powodu obecności w nim mikotoksyn, szczególnie DON-u, w świetle najnowszych badań wydaje się być nadzwyczaj aktualna. Unia Europejska, wprowadzając nową normę na zawartość mikotoksyn w produktach żywnościowych, skłania producentów żywności, w tym też producentów



piwa, do poszukiwania nowych bezpiecznych metod ograniczania rozwoju i aktywności niepożądanego toksynotwórczej mikroflory.

## Wnioski

1. Ziarno jęczmienia odmiany Brenda (zbiór 2000 r.) – surowiec do produkcji słodu – było w wysokim stopniu porażone toksynotwórczymi grzybami rodzaju *Fusarium* (48%), w tym gatunkami: *Fusarium poae*, *F. sporotrichoides*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. oxysporum* i *F. equiseti*.
2. Szczep *Geotrichum candidum* 1 zastosowany jako szczepionka w procesie słodowania jęczmienia, wprowadzony do wody zamoczkowej do gęstości  $10^5$  j.t.k./ml, zredukował z powierzchni sładów suchych ilość grzybów rodzaju *Fusarium* o 80–94% w porównaniu ze sładem kontrolnym, otrzymanym bez udziału kultury starterowej.
3. Nie wykazano wpływu zwiększonej dawki szczepionki *Geotrichum candidum* 1 (pierwsza i druga woda zamoczkowa) na wzrost redukcji grzybów rodzaju *Fusarium*.
4. Szczepionka *Geotrichum candidum* 1 całkowicie wyeliminowała ze sładów „starterowych” gatunki *Fusarium oxysporum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. culmorum*, natomiast nie miała wpływu na *F. poae* i *F. sporotrichoides*.
5. Kultura drożdży starterowych *Geotrichum candidum* 1 nie wykazała znaczącego wpływu na liczbę tlenowych bakterii mezofilnych, bakterii mlekowych i drożdży „dzikich”.
6. Drożdże *Geotrichum candidum* z powodzeniem mogą pełnić funkcję biologicznego „dezynfektora” w procesie słodowania, gdyż z ich udziałem uzyskano wyniki w ograniczaniu wzrostu i rozwoju grzybów, głównie rodzaju *Fusarium*, zbliżone do tych jakie uzyskali inni autorzy, w przypadku stosowania chemicznych metod dezynfekcji ziarna jęczmienia.
7. Redukcja skażenia ziarna wywołana obecnością kultury starterowej podczas słodowania prowadzonego w warunkach mikrotechnicznych, pozwala przypuszczać, że wdrożenie metody „biologicznej” dezynfekcji w przemyśle przyniesie podobne rezultaty.

## Literatura

- [1] Baca E., Brudzyński A., Michałowska D.: Zakłócenia w słodowaniu związane z jakością i warunkami technologicznymi. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2000, **6**, 25-29.
- [2] Baca E., Gołębiowski T.: Nowe spojrzenie na wskaźniki warunkujące wartość technologiczną jęczmienia i słodu browarnego. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 1997, **11**, 18-22.
- [3] Baca E., Pawlikowska B., Michałowska D., Gołębiowski T.: Jakość jęczmienia, warunki słodowania, a zawartość  $\beta$ -glukanu w brzeczce (cz. I i II). *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 1998, **8/9**, 24-26.

- [4] Bovin P., Malanda M.: Improvement of Malt Quality and Safety by Adding Starter Culture During the Malting Process. Technical Quarterly 1997, **34**, 96-101.
- [5] Brudzyński A.: Postęp w browarnictwie światowym – zaprezentowany na XXVI Kongresie EBC w Maastricht. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 1997, **12**, 9-12.
- [6] Chełkowski J., Bogacz I., Kaczmarek T.: Ocena skuteczności działania wybranych środków dezynfekcyjnych na zarodniki grzybów ziarna jęczmienia. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 1980, **4**, 10-17.
- [7] Chełkowski J., Trojanowska K.: Ocena jakości ziarna jęczmienia browarnego na podstawie analizy mikrobiologicznej. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 1993, **1**, 5-9.
- [8] Czajkowska D.: Szkodliwe mikroorganizmy w przemyśle piwowarskim. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 1996, **10**, 12-13.
- [9] Czerwiecki L.: Mykotoksyny w żywności jako czynnik zagrożenia zdrowotnego. Żywność, Żywnienie a Zdrowie, 1997, R.6, **4**, 292-300.
- [10] Dieuleveux V., Lemarinier S., Gueguen M.: Antimicrobial Spectrum and Target Site of D-3-phenyllactic acid. Int. J. Food Microbiol., 1998, **40**, 177-183.
- [11] Dieuleveux V., van der Pyl D., Chataud J., Gueguen M.: Purification and Characterization of Anti-*Listeria* Compounds Produced by *Geotrichum candidum*. Appl. Envir. Microb., 1998, **2**, 800-803.
- [12] Dubiel L.: Gushing - fenomen występujący w piwowarstwie. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 1990, **10**, 1-2.
- [13] Dziuba E., Foszczyńska B., Stempniewicz R., Wojtatowicz M.: Zastosowanie kultur starterowych w procesie słodowania ziarna pszenżyta., Konferencja naukowa – Ograniczenia stosowania dodatków do żywności – za i przeciw, 1998, 14-19.
- [14] Dziuba E., Wojtatowicz M., Stempniewicz R., Foszczyńska B.: Kultury starterowe jako czynnik ograniczający aktywność epifitycznej mikroflory jęczmienia i słodu. Biotechnologia, 1999, **2 (45)**, 167-17.
- [15] Dziuba E., Wojtatowicz M., Stempniewicz R., Foszczyńska B.: The Use of *Geotrichum candidum* Starter Cultures in Malting of Brewery Barley. Food Biotechnol., 2000, **17**, 311-316.
- [16] Głazek M., Jańczak J.: Znaczenie chorób fusaryjnych zbóż. Jakość materiału siewnego. Ochr. Rośl. 1998, R.42, **3**, 20-22.
- [17] Gyllang H., Martison E.: Studies on the microflora of malt. J. Inst. Brew., 1976, **82**, 350-352.
- [18] Haikara A., Ulias H., Suurnakki A.: Lactic starter cultures in malting – a novel solution to gushing problems. EBC Congress 1993, p. 163-172.
- [19] Horubała A.: Wpływ metabolitów pleśniowych na jakość surowców i przetworów owocowo-warzywnych. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 1992, **6**, 11-13.
- [20] Kwaśna H., Chełkowski J., Zajkowski P.: Grzyby (Mycota) tom XXII., PAN Instytut Botaniki, Warszawa 1991.
- [21] Laitila A., Tapani K.-M. & A. Haikara: Lactic acid starter cultures for prevention of the formation of *Fusarium* mycotoxins during malting., EBC Congress 1997, p. 137-144.
- [22] Perkowski J.: Mykotoksyny w surowcach piwowarskich i w piwie oraz w czasie jego otrzymywania. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 2000, **11**, 14-16.
- [23] Skytta E., Haikara A., Mattila-Sandholm T.: Production and characterization of antibacterial compounds produced by *Pediococcus damnosus* and *Pediococcus pentosaceus*. J. Appl. Bact., 1993, **74**, 134-142.
- [24] Tariq V.N., Campbell V.M.: Influence of volatile metabolites from *Geotrichum candidum* on other fungi. J. Food Prot., 1990, **4**, 891-893.

## EFFECT OF *GEOTRICHUM CANDIDUM* ON THE NATURAL MICROFLORA OF BARLEY MALTS

### S u m m a r y

The objective of the studies was to define the effect of *Geotrichum candidum* 1 strain, used as starter culture, on the microbial quality of final malt. The malts were produced under microtechnical conditions with and without a starter culture, which was added to the second (GI); first and second (GII) steeping water. The number of microorganisms on the surface of barley kernels and kilned malts was determined by the plate method on selective media, i.e. total aerobic mesophilic bacteria on bulion agar, the lactic acid bacteria on MRS agar (Merck) and yeast on PDA agar (Merck). The percentage of kernels contaminated with mycelial fungi and *Geotrichum candidum* 1 was estimated by placed 100 randomly selected kernels on PDA agar. The results showed that the use of *G. candidum* 1 inhibited mould growth, particularly *Fusarium* strains (94%). Increase dose of starter culture had not a considerable effect on the other groups of microflora occurring on "starter" malt (GII).

The use of starter culture in malting is a new process improving malt quality and safety, and which is both technically and economically feasible.

**Key words:** malt microflora, yeast starter culture, barley malt, toxigenic fungi. ☒