

SPRAWOZDANIE

z prowadzenia w 2012 r. badań podstawowych na
rzecz rolnictwa ekologicznego

w zakresie rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju
Wsi z dnia 18 maja 2010 r. w sprawie stawek dotacji
przedmiotowych dla różnych podmiotów wykonujących
zadania na rzecz rolnictwa (Dz. U. Nr 91, poz. 595, z późn.
zm.)

*pt.: Ekologiczne metody produkcji pieczywa i produktów
zbożowych oraz metody wydłużania trwałości, świeżości i
parametrów przechowalniczych tych wyrobów*

Realizowany przez: Uniwersytet Przyrodniczy w
Lublinie

finansowany zgodnie z rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi
z dnia 18 maja 2010 r. w sprawie stawek dotacji przedmiotowych dla
różnych podmiotów wykonujących zadania na rzecz rolnictwa (Dz. U. Nr
91, poz. 595, z późn. zm.) na podstawie decyzji Ministra Rolnictwa i
Rozwoju Wsi

z dnia 08.05.2012, nr PKre-029-27-14/12(624)

Kierownik tematu: prof. dr hab. Ewa Solarska

Główni wykonawcy: mgr inż. Marzena Marzec

WSTĘP

Pieczywo należy do produktów nietrwałych i niekorzystne zmiany fizykochemiczne zaczynają się w nim pojawiać bezpośrednio po wypieku. Procesy te powodują stosunkowo szybkie pogorszenie jakości sensorycznej oraz struktury przestrzennej miękkiszu i niekiedy już nawet po kilku godzinach chleb może być zdyskwalifikowany przez konsumentów. Trwałość oraz jego przydatność do spożycia w trakcie przechowywania jest na ogół ograniczana częściowymi ubytkami wilgoci, rozwojem grzybów oraz procesem czerstwienia. Problem mikrobiologicznego psucia się pieczywa jest powodem znacznych strat ekonomicznych ponoszonych przez producentów, z punktu widzenia konsumenta stanowi także pogorszenie wartości odżywczej i zdrowotnej. Do najbardziej niebezpiecznych mikroorganizmów powodujących psucie się pieczywa należą grzyby toksynotwórcze, których występowanie w produkcji jest zazwyczaj widoczne po dwóch dniach przechowywania pieczywa. Najczęściej występujące w pieczywie grzyby należą do rodzajów *Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium*, a co trzeci wyizolowany szczep jest toksynotwórczy. Aktywny rozwój tych grzybów zachodzi w silosach i magazynach zbożowych. Mikotoksyny, czyli wtórne metabolity grzybów są związkami o szczególnie toksycznym wpływie na organizmy ludzi i zwierząt. Ich szkodliwość polega na nieodwracalnym uszkodzeniu nerek, osłabieniu reakcji immunologicznych i działaniu rakotwórczym. Toksyczność grzybów jest cechą szczepową, a więc nie dotyczy wszystkich mikroorganizmów z tej grupy, a ponadto nie jest to cecha trwała. Jednakże ze względu na zdolność tworzenia nie identyfikowalnych organoleptycznie toksyn takich jak aflatoksyny i ochratoksyny o działaniu kancerogennym, grzyby nie tylko zagrażają jakości wyrobu, ale również mogą stwarzać ryzyko zdrowotne. Podczas wypieku pieczywa giną jedynie formy wegetatywne drobnoustrojów, pozostają jednak w pieczywie zarodniki grzybów (7). Wypiek zatem nie gwarantuje mikrobiologicznej stabilności wyrobu. Pieczywo jest więc produktem o krótkiej trwałości i przydatności konsumpcyjnej. Jego trwałość można przedłużyć dzięki użyciu konserwantów, jednak ich stosowanie nie jest aprobowane przez samych konsumentów i nie jest dozwolone w produkcji ekologicznej. Alternatywnym sposobem przedłużania trwałości pieczywa jest stosowanie zakwasów, które oprócz innych zalet posiadają tę, że działają hamująco na rozwój występującym w nim grzybów oraz powodują detoksykację tworzonych przez nie mikotoksyn. Mikroflora zakwasów piekarskich jest bardzo bogata. Praktycznie wszystkie drobnoustroje występujące w mące obecne są również w zakwasach i cieście, chociaż w procesie odnawiania i fermentacji w odpowiednich

fazach następuje selektywne namnażanie jednych i hamowanie rozwoju innych gatunków. Dominującą grupą drobnoustrojów są jednak bakterie mlekowe żyjące w symbiozie z drożdżami. Różne gatunki bakterii z rodzaju *Lactobacillus* są izolowane ze środowisk zakwasów piekarskich, ale tylko niektóre z nich występują w większości badanych ekosystemów. Decyduje o tym prawdopodobnie duże powinowactwo tych szczepów do substratów węglowodanowych i aminokwasów wnoszonych z mąką, a także antagonistyczne oddziaływanie tych bakterii w stosunku do innych drobnoustrojów, współzawodniczących o te same źródła pokarmowe (2, 3). Antydrobnoustrojowe uzdolnienia bakterii mlekowych związane są z syntezą związków hamujących lub ograniczających wzrost innych mikroorganizmów, w tym mikroflory stanowiącej typowe zakażenia zakwasów piekarskich. W grupie tych metabolitów należy wymienić kwasy organiczne, nadtlenek wodoru oraz bakteriocynty. Ten efekt zwykle wspomagany jest wypieraniem tlenu, co zapobiega rozwojowi grzybów i innych drobnoustrojów aerobowych. Podczas fermentacji bakterie mlekowe wytwarzają kwasy organiczne, wśród których dominującymi są kwas mlekowy i octowy. Skład i proporcja zależą od typu metabolizmu bakterii mlekowych. Bakterie mlekowe należące do rodzaju *Lactobacillus* najbardziej efektywnie wykorzystują nadtlenek wodoru. Niektóre szczepy są zdolne do syntezy H_2O_2 w ilościach przekraczających progi toksyczności dla patogenów. Dzięki wymienionym właściwościom bakterie te np. gatunki *Lactobacillus plantarum* i *Lactobacillus sanfranciscensis* wykazują efektywność ograniczania grzybów z rodzaju *Fusarium* i *Penicillium*. Stwierdzenie aktywności antagonistycznej wobec szkodliwej mikroflory u szczepów bakterii mlekowych pozwala na komponowanie piekarskich kultur starterowych o wysokiej skuteczności działania w charakterze naturalnych biokonserwantów pieczywa z zachowaniem wydłużonej trwałości produktu (2, 3, 6, 7).

Zakwas piekarski ma długą tradycję w produkcji pieczywa, gdyż przez stulecia był jedynym znanym czynnikiem spulchniającym ciasto chlebowe. Wzrost zainteresowania pieczywem na zakwasie obserwowany w ciągu ostatnich lat wynika głównie z docenienia przez konsumentów jego szczególnych walorów organoleptycznych, utrzymującej się długo świeżości, ale także faktu, że jest to produkt naturalny. Poza zapewnieniem bogactwa związków smakowo-zapachowych, poprawą tekstury miękkiszu, czy opóźnieniem czerstwienia gotowego wyrobu należy również podkreślić wpływ zakwasu na jakość prozdrowotną powstałego z jego udziałem chleba. Warunki beztlenowe i niskie wartości pH sprawiają, że fermentacja mlekowa zachodząca w zakwasie pozwala na bardzo dobre zachowanie witamin obecnych w surowcu. Wartość odżywcza mąki żytniej poddanej fermentacji z udziałem bakterii mlekowych i drożdży wzrasta w rezultacie zwiększenia ilości ryboflawiny i niacyny,

a także aminokwasów egzogennych: lizyny, tryptofanu i metioniny. Rola zdrowotna pieczywa na zakwasie może być rozpatrywana w wielu aspektach, począwszy już od smakowości wyrobu. Czynnikiem ten nie tylko decyduje o podjęciu decyzji o zakupie, ale uruchamia w organizmie człowieka szereg procesów fizjologicznych ułatwiających trawienie spożywanego produktu. Strawność pieczywa na zakwasie wyraźnie rośnie również wskutek procesów enzymatycznych zachodzących na etapie fermentacji zakwasu, zwiększających dostępność węglowodanów i białek. Po spożyciu ukwaszanego pieczywa rośnie wrażenie sytości, a proces trawienia skrobi jest rozłożony w czasie, co ma znaczenie dla utrzymania wyrównanego poziomu cukru we krwi pomiędzy posiłkami, co skutecznie zapobiega napadom tzw. „wilczego apetytu”. Istotne znaczenie żywieniowe ma produkowany w dużych ilościach kwas mlekowy. Jego obecność w przewodzie pokarmowym reguluje odczyn środowiska zapewniając prawidłowy przebieg procesu trawienia i wydalania. Ludzie pozbawieni tego czynnika zapadają znacznie częściej na choroby nowotworowe jelita grubego niż ci, których podstawę pożywienia stanowi chleb na zakwasie. Kwas mlekowy jako składnik produktów fermentowanych zalecany jest w wielu schorzeniach przewodu pokarmowego, jak na przykład w stanach przewlekłego nieżytu żołądka, nadkwasocie, przewlekłym zapaleniu jelita grubego, czy też w uporczywych biegunkach o nieznanym etiologii. Fermentacja mlekowa powoduje też eliminację składników antyżywniowych, które zakłócają przyswajanie składników odżywczych. Występujące w mące fityniany, które w znacznym stopniu zmniejszają biodostępność makro- i mikroelementów: żelaza, cynku, wapnia i magnezu, pod wpływem rozwoju bakterii mlekowych w zakwasach chlebowych ulegają degradacji przyczyniając się do zwiększenia bioprzyswajalności tych pierwiastków (1).

Orkisz jest zbożem głównie uprawianym w rolnictwie ekologicznym, gdyż negatywnie reaguje na nawożenie nawozami sztucznymi. Zboże to charakteryzuje się wyższą koncentracją składników pokarmowych, korzystniejszymi właściwościami odżywczymi i wyższą zawartością białka (13-17 %) tj. o 30-47% wyższą niż w ziarnie pszenicy zwyczajnej. Białko orkiszowe cechuje się wyższym stopniem strawności (80%) i wyższą jakością. Ponadto zboże cechuje wyższa zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych, które mają korzystny wpływ na układ krążenia, obniżając poziom cholesterolu we krwi. Orkisz zawiera znacznie więcej witamin rozpuszczalnych w tłuszczach (A,E,D), witaminy E o 1/3 więcej niż w pszenicy. Zawiera także dużo fosforu, żelaza, cynku, miedzi, manganu i kobaltu. Zboże to korzystnie wpływa na układ trawienny i jest stosowany w dietach leczniczych. Osoby uczulone na produkty z pszenicy zwyczajnej, tolerują wyroby z orkiszem. Produkty z orkiszem

mogą być spożywane przez niektórych chorych na celiakię. Znajdujący się w orkiszu kwas krzemowy jest ważny dla skóry, włosów i paznokci, a ponadto rozjaśnia umysł wzmacniając aktywność mózgu i koncentrację. Zawarty w orkiszu cynk jest uznanym terapeutycznym stosowanym w chorobach wątroby. Produkty orkiszowe z całych ziaren zawierają antyoksydanty w ilościach zbliżonych lub przewyższających występujące w warzywach i owocach. Zawierają również antyoksydanty nie występujące w innej żywności. Błonnik zawarty w całym ziarnie pozwala utrzymywać w dobrym zdrowiu układ trawienny, tj. wiąże i usuwa zbędne lub szkodliwe substancje oraz pomaga kontrolować przyswajanie tłuszczu, gdyż część tłuszczu łączy się z błonnikiem i jest z nim wydalany. Ponadto daje uczucie sytości, gdyż pęczniąc pochłania płyny. Chleb z orkiszowej mąki odznacza się silnym chlebowym zapachem, znakomitą smakiem i dłuższym utrzymywaniem świeżości (4, 5).

Opracowanie i wdrożenie do produkcji receptury chleba ekologicznego w jednej z najlepszych piekarni Lubelszczyzny daje gwarancję wprowadzenia wysokiej jakości produktu ekologicznego na rynek.

1. Diowksa A., Ambroziak W. – „Sourdough”. W: „Bakery products. Sciences and Technology” (Hui Y.H., Corke H., De Leyn I., Nip W., Swanson R.B.- ed). Blackwell Publishing. 2006, Chapter 20, 365-380.
2. Diowksa A. Przegląd piekarski i cukierniczy, nr 04/2004
3. Libudzisz Z., Walczak P., Bardowski J.: Bakterie fermentacji mlekowej. Mikrobiologia techniczna PŁ, 2000.
4. Tyburski J., Babalski M. 2006. Uprawa pszenicy orkisz. Poradnik dla rolników. Centrum Doradztwa Rolniczego w Brwinowie, oddział w Radomiu, Radom.
5. Wiwart M., Perkowski J. 2005. Dawniej uprawiane pszenice stają się znów atrakcyjne. Przegląd Zbożowo - Młynarski 10, 5-7.
6. Wojtatowicz., Chrzanowska J.: Antydrobnoustrojowa aktywność bakterii kwasu mlekowego. Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej we Wrocławiu, 1998, 328, p. 39 - 59.
7. Żakowska Z.: Mikotoksyny w zbożu i produktach zbożowych oraz ich biodegradacja. Przegląd Piekarski i Cukierniczy, 1999, 6, p. 4-6.

1. Cel realizacji tematu:

Celem zaprojektowanych badań było opracowanie metod produkcji pieczywa ekologicznego, bezpiecznego pod względem mikrobiologicznym, z możliwością wprowadzenia do szerszej produkcji oraz opracowanie składu zakwasu na bazie kultur starterowych już istniejącego zakwasu w piekarni „Pola” ze Stasina k/Lublina.

2. Omówienie przebiegu badań:

Izolację i identyfikację bakterii fermentacji mlekowej z zakwasu oraz z mąki orkiszowej przeprowadzono w Instytucie Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie. Na podstawie oceny organoleptycznej zakwasów otrzymanych dla wyizolowanych szczepów bakterii opracowano skład kultury starterowej. Do badania zanieczyszczenia mąki mikotoksynami wykorzystano testy immunoenzymatyczne ELISA, a do określania zawartości tych substancji w chlebie metodę chromatografii cieczowej (HPLC). Mąkę pobierano co dwa tygodnie z piekarni i analizowano pod kątem występowania następujących mikotoksyn: deoksynivalenol, toksynę T-2, zearalenon oraz aflatoksyny i ochratoksynę A. Natomiast w próbkach chlebów wypieczonych na zakwasach uzyskanych z pojedynczych bakterii i ich kompozycji oraz zakwasie wykorzystywanym w Piekarni Pola określono te mikotoksyny metodą chromatografii cieczowej (HPLC). Przeprowadzono również ocenę jakościową analizowanych mąk, a także ocenę próbnego wypieku laboratoryjnego, ocenę właściwości fizycznych i organoleptycznych pieczywa z zakwasami o różnym składzie po różnym okresie przechowywania.

3. Wyniki badań:

W Instytucie Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie w Zakładzie Technologii Fermentacji wyizolowano z zakwasu z Piekarni Pola *Lactobacillus plantarum* (szczep 1), *Lactobacillus plantarum* (szczep 2) oraz *Lactobacillus brevis*. Z mąk orkiszowych EKO 1850, EKO TLG - 185 i pełnoziarnistej EKO typ 2000 otrzymano po 1 szczepie *Pediococcus pentosaceus* oraz z mąki orkiszowej EKO TLG – 185 również szczep *Lactobacillus plantarum* i z mąki orkiszowej pełnoziarnistej EKO typ 2000 *Lactococcus lactis ssp.lactis*.

Tabela 1. Wykaz szczepów bakterii mlekowych wyizolowanych przez IBPRS.

Nr szczepu	Bakteria mlekowa	Źródło otrzymania szczepu
1	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Zakwas żytni z piekarni Pola
2	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Zakwas żytni z piekarni Pola
3	<i>Lactobacillus brevis</i>	Zakwas żytni z piekarni Pola
4	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	Mąka pszenna orkiszowa Eko 1850
5	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	Mąka pszenna orkiszowa Eko TLG-185
6	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Mąka pszenna orkiszowa Eko TLG-185
7	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	Mąka orkiszowa pełnoziarnista Eko 2000
8	<i>Lactococcus lactis ssp. lactis</i>	Mąka orkiszowa pełnoziarnista Eko 2000

Mąki otrzymywane z piekarni Pola do badania na zawartość mikotoksyn były dobrej jakości, spełniały wszystkie parametry jakościowe, określone odpowiednimi normami. Bezpośrednio po pobraniu próbki tych mąk były przechowywane w temperaturze -18°C do momentu przeprowadzenia testów. Zanieczyszczenie mąk mikotoksynami było określane przy użyciu testów immunoenzymatycznych ELISA Ridascreen firmy R-Biopharm zgodnie z załączonymi przez producenta instrukcjami. Mąki charakteryzowały się niskimi ilościami mikotoksyn. Najczęściej występował deoksynivalenol oraz ochratoksyna A, które były stwierdzane we wszystkich badanych próbkach. Zearalenon stwierdzono w 2 próbach, toksynę T-2 w 5, a aflatoksyny w 3. Dla 5 prób poziom ochratoksyny A przekroczył dopuszczalny, określony przez UE, poziom tej toksyny wynoszący $3\mu\text{g}/\text{kg}$ w produktach zbożowych. Poziom deoksynivalenolu, zearalenonu, toksyny T-2 oraz aflatoksyn nie został przekroczony (Tabela 1).

Na bazie mąki żytniej typ 720 oraz mąki pszennej orkiszowej typ 1850 z polskiego gospodarstwa ekologicznego stosowanych w produkcji przez piekarnię Pola oraz otrzymanych z IPRS szczepów bakterii fermentacji mlekowej podjęto próbę otrzymania zakwasów piekarskich oraz na ich podstawie próbnych wypieków laboratoryjnych.

Zakwasy otrzymywano stosując wagowo równe ilości mąki oraz wody i dodając do nich 1% wagowy kultury starterowej otrzymanej poprzez namnożenie szczepów bakterii fermentacji mlekowej na podłożu MRS w 37°C przez 48h, a następnie zwirowanych do biomasy. Fermentację prowadzono w 30°C przez 24h. Początkowo podjęto próbę uzyskania zakwasów na mące orkiszowej, zgodnie z informacjami, że jest możliwe uzyskanie pieczywa wyłącznie

orkiszowego na zakwasie orkiszowym bez dodatku drożdży. Próba zakończyła się niepowodzeniem, gdyż na mące orkiszowej nie uzyskano zakwasów, a otrzymane próby nie wykazywały zróżnicowania w wyglądzie oraz pachniały mąką. Miały barwę ciemniejszą niż zakwas z mąki żytniej. Po 24 godzinach mąka opadała na spód naczynia, natomiast na powierzchni nad mąką znajdował się ciemnobrązowy płyn. Próby nie wykazywały zapachu kwaśnego. Następnie powtórzono doświadczenie, zmieniając mąkę orkiszową typ 1850 na mąkę żytnią 720. Wyniki oceny zanieczyszczenia mąk orkiszowych i żytnich oraz oceny organoleptycznej zakwasów chlebowych wyprowadzonych z badanych szczepów bakterii przedstawiono w tabelach 2, 3 i 5. Ocena fizykochemiczna zakwasów żytnich otrzymanych z pojedynczych szczepów bakterii kwasu mlekowego nie wykazała znaczących różnic w pH, natomiast kwasowość ogólna była najniższa dla szczepów 6 i 8 oraz najwyższa dla szczepu 2. Stwierdzono także różnice w ilości komórek bakterii w zależności od zastosowanej metody oceny (tab.4).

Na podstawie oceny organoleptycznej do dalszych badań wytypowano zakwasy oznaczone: 1, 2, 3, 4, 6, 8, 1468 (mieszanina szczepów 1, 4, 6, 8), 12368 (mieszanina pięciu wytypowanych do badań szczepów), Pola (zakwas piekarni Pola) oraz toruński (zakwas żytni piekarni Słodka z Torunia wykorzystywany do pieczenia chleba orkiszowego). Na ich podstawie wykonano próbne wypieki laboratoryjne stosując równe wagowo ilości zakwasów żytnich oraz mąki orkiszowej, 10% wagowych wody, 2% wagowych soli oraz dla każdej kombinacji wykonano dodatkową próbę z dodatkiem 2% wagowych drożdży piekarskich. Dwie mąki żytnia i orkiszowa stosowane w próbnym wypiekach laboratoryjnych zawierały nieznaczące ilości deoksyniwalenolu oraz ochratoksyny A w ilościach odpowiednio: 422,88 i 0,53 $\mu\text{g}/\text{kg}$ oraz 114 i 1,37 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (pozycja 20 i 22 z Tabeli 2.), a mąka orkiszowa została dodatkowo skażona zearalenonem oraz toksyną T-2 do ilości około 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dla ZEN oraz około 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ T-2. Po wymieszaniu składników ciasto fermentowało w masie przez około 20 min., po czym było dzielone na kęsy, przekładane do foremek i umieszczane na około godzinę w temperaturze 30°C, a następnie pieczone w 210°C. Po wykonaniu oceny organoleptycznej pieczywa, było ono suszone i rozdrabniane. Następnie przeprowadzono ocenę zawartości w nim mikotoksyn z użyciem HPLC. Na uwagę zasługuje fakt większego zanieczyszczenia chleba przez ochratoksynę A w porównaniu z mąką orkiszową wykorzystaną do pieczenia tego chleba. Prawdopodobnie ten wzrost wynika z szybszego tworzenia tej mikotoksyny w warunkach wysokiej wilgotności jaka występuje w zaczynie chlebowym. Aby wykazać wpływ zakwasów na zawartość mikotoksyn zastosowano tzw.

próby ślepe bez zakwasów i bez drożdży. Pierwsza próba ślepa była wykonana z mąki orkiszowej typ 1850 (poz.22 w tab.2) i wody w proporcjach: 10% wagowych wody i 90% mąki, a próba ślepa druga była wykonana z mąki żytniej 720 (poz.20 w tab.2). W większości prób chleba z zakwasami obserwowano wzrost zawartości OTA co może sugerować wzrost aktywności badanych drobnoustrojów na redukcję tej mikotoksyny. Praktycznie nie zanotowano obniżania przez badane zakwasy ilości OTA. Jedynie w przypadku szczepów 4, kombinacji szczepu 3 z drożdżami oraz zakwasu z piekarni Pola z drożdżami obserwowano zahamowanie wzrostu ilości tej mikotoksyny i wyłącznie w przypadku zakwasu z piekarni Pola z drożdżami również obniżenie jej zawartości w stosunku do obu prób ślepych (tab, 6 i rys.1, rys.5-10). Badane zakwasy w bardzo małym stopniu redukowały zawartość toksyny T-2. Najefektywniejszy w ograniczaniu ilości tej mikotoksyny okazał się szczep 3. W mniejszym stopniu ograniczały zawartość tej mikotoksyny sam zakwas z piekarni Pola oraz z dodatkiem drożdży (tab.6. rys.2, rys.5-10). We wszystkich kombinacjach z zakwasami z pojedynczych lub mieszanych kultur starterowych obserwowano znaczące hamowanie zawartości deoksyniwalenolu (tab.6, rys.3, rys.5-10). Najefektywniejsze ograniczenie zearalenonu zanotowano w kombinacjach ze szczepem 1 z dodatkiem drożdży, ze szczepem 2, z mieszaniną szczepów 1,4,6, 8 z dodatkiem drożdży oraz z samym zakwasem z piekarni Pola i z dodatkiem drożdży (tab.6, rys.4, rys.5-10) .

Tabela 2. Zawartość mikotoksyn w µg/kg w mące.

lp	nadany numer do ELISA	gatunek mąki	pochodzenie	typ	data pobrania próby	data przemiału	mikotoksyny µg/kg				
							AFLA	OTA	T-2	DON	ZEN
1	12	orkiszowa	eko PL	1850	18.07.2012	05.2012	0	4,69	0	116,45	0
2	13	żytnia	eko PL	720	18.07.2012	05.2012	0	13,11	13,71	100,49	0,44
3	14	orkiszowa	HUN	1850	18.07.2012	06.2012	0	6,05	1,03	113,40	0
4	15	orkiszowa	eko PL	2000	18.07.2012	05.2012	0	6,38	1,75	52,79	0
5	10	orkiszowa	eko HUN	1850	09.08.2012	06.2012	0	0,73	0	118,33	0
6	11	orkiszowa	eko PL	1850	09.08.2012	05.2012	1,88	0,98	0	119,28	0
7	4	orkiszowa	D	1850	22.08.2012	04.2012	0	1,09	0	81,30	0
8	5	orkiszowa	eko HUN	1850	22.08.2012	06.2012	0	1,25	0	108,99	0
9	6	orkiszowa	eko PL	1850	22.08.2012	05.2012	0	0,76	0	138,55	0
10	1	orkiszowa	HUN	1850	13.09.2012	06.2012	0	1,09	0	152,46	0
11	2	orkiszowa	HUN	2000	13.09.2012	06.2012	0	1,93	0	118,02	0
12	3	orkiszowa	eko PL	1850	13.09.2012	05.2012	0	0,30	0	67,86	0
13	7	orkiszowa	b/d	1850	02.10.2012	09.2012	0	1,62	0	71,28	0
14	8	orkiszowa	b/d	1850	02.10.2012	09.2012	0	5,37	0	87,61	0
15	9	orkiszowa	b/d	1850	02.10.2012	09.2012	0	0,98	0	78,83	0
16	23	żytnia	PL	1850	12.10.2012	b/d	0	1,00	0	108,71	0
17	20	orkiszowa	b/d	1850	19.10.2012	09.2012	0	2,73	0	81,30	0
18	21	orkiszowa	b/d	1850	19.10.2012	09.2012	0	0,71	0	84,29	0
19	22	orkiszowa	b/d	1850	19.10.2012	09.2012	0	1,89	0	88,52	0
20	16	żytnia	b/d	720	03.11.2012	b/d	0	0,52	9,27	422,88	18,51
21	17	orkiszowa	HUN	2000	03.11.2012	06.2012	0,02	1,71	0	164,37	0
22	18	orkiszowa	HUN	1850	03.11.2012	06.2012	0	1,37	0,50	114,00	0
23	19	orkiszowa	eko PL	1850	03.11.2012	06.2012	0,20	0,82	0	139,32	0

Tabela 3. Ocena organoleptyczna zakwasów chlebowych wyprowadzonych z pojedynczych szczepów bakterii mlekowych.

nazwa / nr szczepu	konsystencja	barwa	tekstura	zapach	smak
1	gęsta, ciastowata, pulchna, spieniona	beżowa	gładka	słodowy, słodkawy, lekko kwaśny (kwaśne mleko), chlebowy, przyjemny, lekko orzechowy	kwaśny
2	lekko spieniony, stosunkowo półpłynny	beżowa	gładka	kwaśny, słodowy, mączny, przyjemny	kwaśny
3	lekko spieniony, stosunkowo półpłynny	beżowa	gładka	kwaśny, drożdżowy, mączny, przyjemny	kwaśny, drożdżowy
4	lekko spieniony, półpłynny	beżowa	gładka	kwaśny, drożdżowy, lekko kiszonkowy, przyjemny	kwaśny
5	lekko spieniony, półpłynny	beżowa	gładka	kwaśny, kiszonkowy, mączny, mdły	kwaśny
6	oleisty, ciągnący, półpłynny	beżowa	gładka	ciastowaty, orzechowy, słodkawy, lekko kwaśny, przyjemny	słodkawy
7	oleisty, półpłynny	beżowa	gładka	kwaśny, słodkawy, mączny, mdły	słodkawy
8	półpłynny, lekko spieniony	beżowa	gładka	kwaśny (kwaśne mleko), chlebowy, przyjemny	słodko-kwaśny

Tabela 4. Ocena fizykochemiczna zakwasów otrzymanych z użyciem poszczególnych szczepów starterowych, w wyniku trwającej 24h fermentacji jednostopniowej w temperaturze 37°C

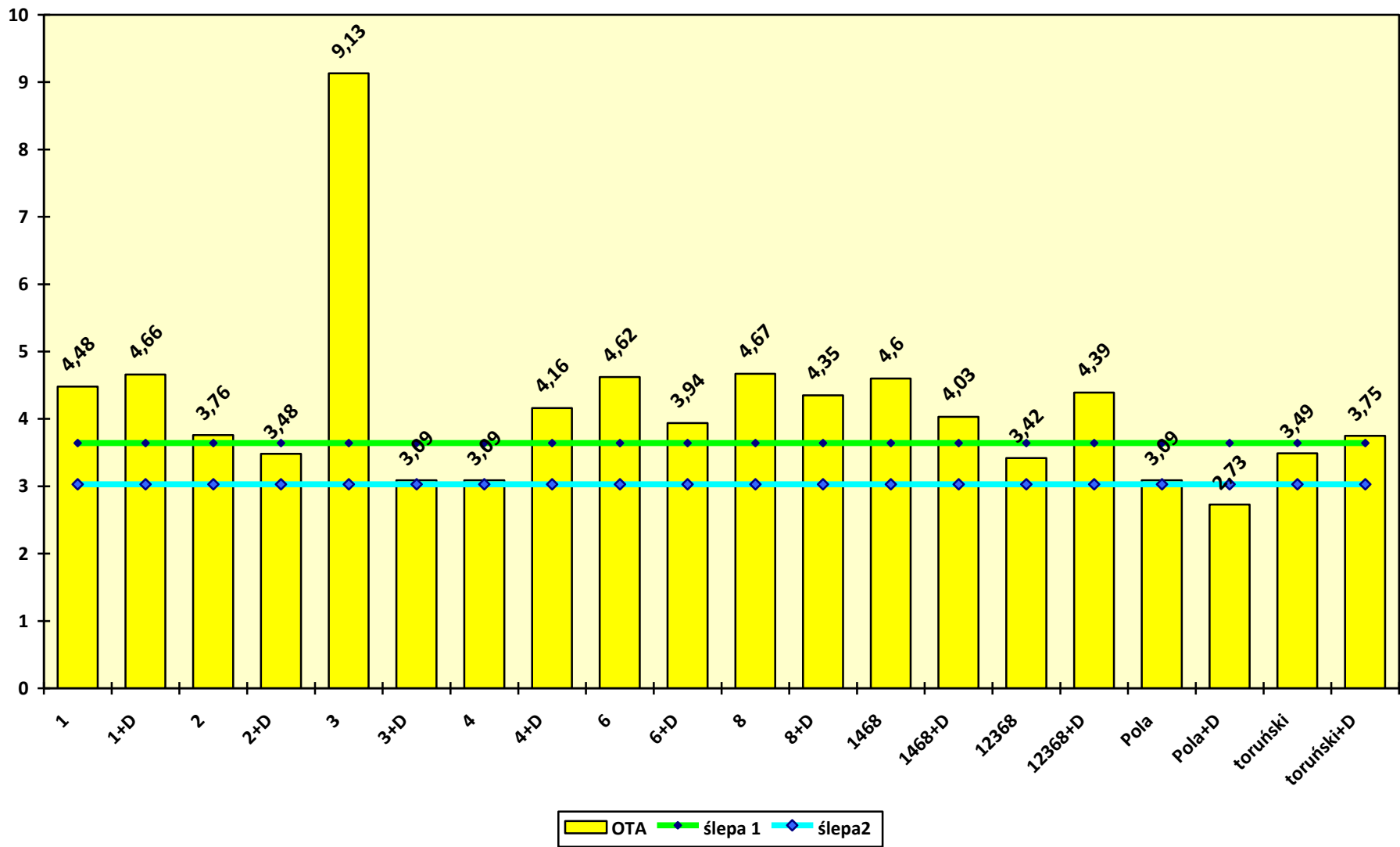
zakwas / oznaczenie	pH	kwasowość ogólna [°kw]	OD 400		liczba bakterii fermentacji mlekowej [jtk/ml] – metoda płytkowa
			absorbancja	komórek / ml	
1	3,46	12,53	0,816	4,08 x 10 ⁹	mniej niż 1*10 ⁹
2	3,33	13,33	0,876	4,38 x 10 ⁹	mniej niż 1*10 ⁹
3	3,40	12,27	1,207	6,04 x 10 ⁹	2*10 ⁹
4	3,51	11,33	0,779	3,89 x 10 ⁹	1,5* 10 ⁹
5	3,50	11,73	1,041	5,21 x 10 ⁹	8,8 * 10 ⁹
6	4,06	7,73	0,338	1,69 x 10 ⁹	mniej niż 2*10 ⁹
7	3,52	11,20	0,966	4,83 x 10 ⁹	3,3*10 ⁹
8	3,63	9,87	0,790	3,95 x 10 ⁹	1,07*10 ¹⁰

Tabela 5. Ocena organoleptyczna zakwasów chlebowych wyprowadzonych z mieszaniny szczepów bakterii mlekowych oraz ocena zakwasów uzyskanych z piekarni.

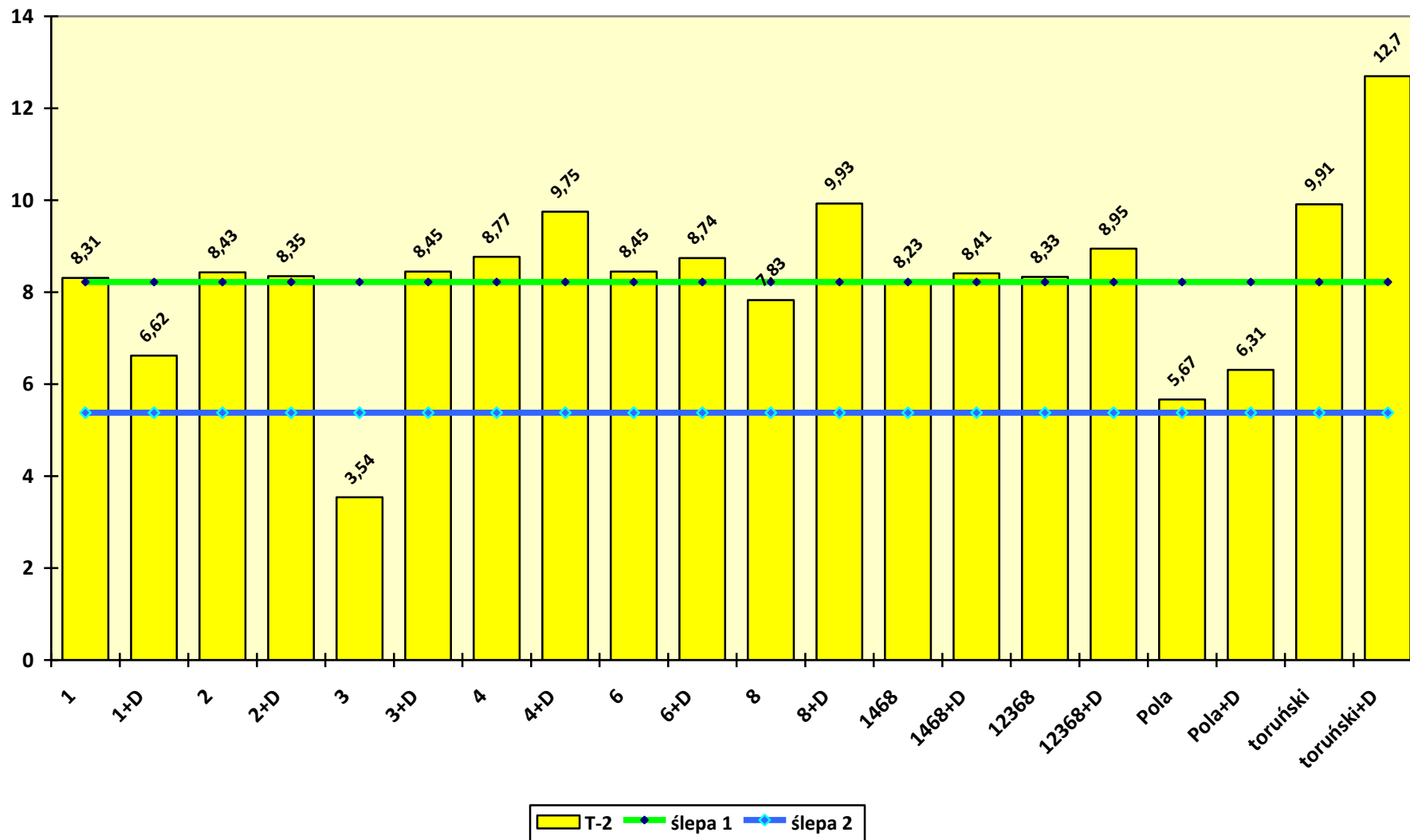
nazwa / nr szczepu	konsystencja	barwa	tekstura	zapach	smak
12368	gęsty, ciastowaty	beżowa	gładka	lekko kwaśny, orzechowy, ciastowaty, przyjemny	lekko kwaśny
457	półpłynny, oleisty	beżowa	gładka	kiszonkowy (siano), kwaśny	kwaśny
12345678	półpłynny, lekko ciągnący się, oleisty	beżowa	gładka	kiszonkowy, kwaśny, drożdżowy, mdły, słodowy, lekko octowy	kwaśny, drożdżowy
1468	rzadki, spieniony	beżowa	gładka	lekko kwaśny, orzechowy, mączny, lekko kiszonkowy, przyjemny	lekko kwaśny
Pola	gęsty, ciastowaty	beżowa	gładka	kwaśny, winny, ciastowaty, chlebowy, orzechowy	kwaśny
toruński	stosunkowo półpłynny	beżowa	gładka	kwaśny, mączny, chlebowy, przyjemny	lekko kwaśny

Tabela 6. Zawartość mikotoksyn $\mu\text{g}/\text{kg}$ w pieczywie oznaczane metodą wysokosprawnej chromatografii ciekowej.

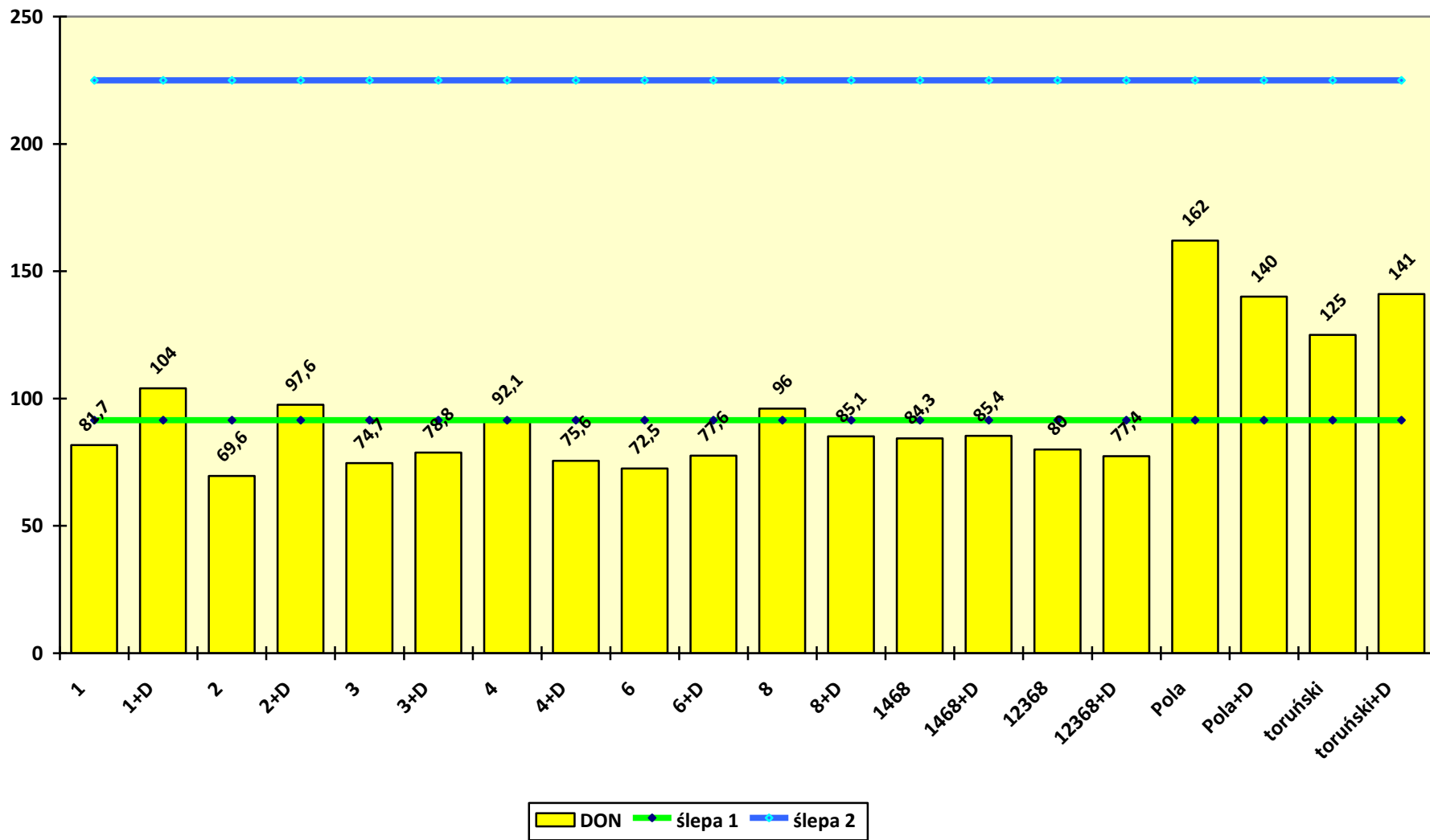
próbka / oznaczenie	Mikotoksyny $\mu\text{g}/\text{kg}$			
	ochratoksyna A	toksyna T-2	deoksyniwalenol	zearalenon
próba ślepa 1	3,64	8,22	91,5	38,5
próba ślepa 2	3,03	5,38	225,0	24,1
1	4,48	8,31	81,7	27,1
1 + drożdże	4,66	6,62	104	23,6
2	3,76	8,43	69,6	26,9
2 + drożdże	3,48	8,35	97,6	28,1
3	9,13	3,54	74,7	28,7
3 + drożdże	3,09	8,45	78,8	27,5
4	3,09	8,77	92,1	31,2
4 + drożdże	4,16	9,75	75,6	29,0
6	4,62	8,45	72,5	30,4
6 + drożdże	3,94	8,74	77,6	28,0
8	4,67	7,83	96,0	28,9
8 + drożdże	4,35	9,93	85,1	31,3
1468	4,60	8,23	84,3	30,1
1468 + drożdże	4,03	8,41	85,4	26,5
12368	3,42	8,33	80,0	28,5
12368 + drożdże	4,39	8,95	77,4	27,6
Pola	3,09	5,67	162,0	21,6
Pola + drożdże	2,73	6,31	140,0	26,1
toruński	3,49	9,91	125,0	37,4
toruński + drożdże	3,72	12,7	141,0	42,4
średnia z próbek	4,145	8,284	95,020	29,045



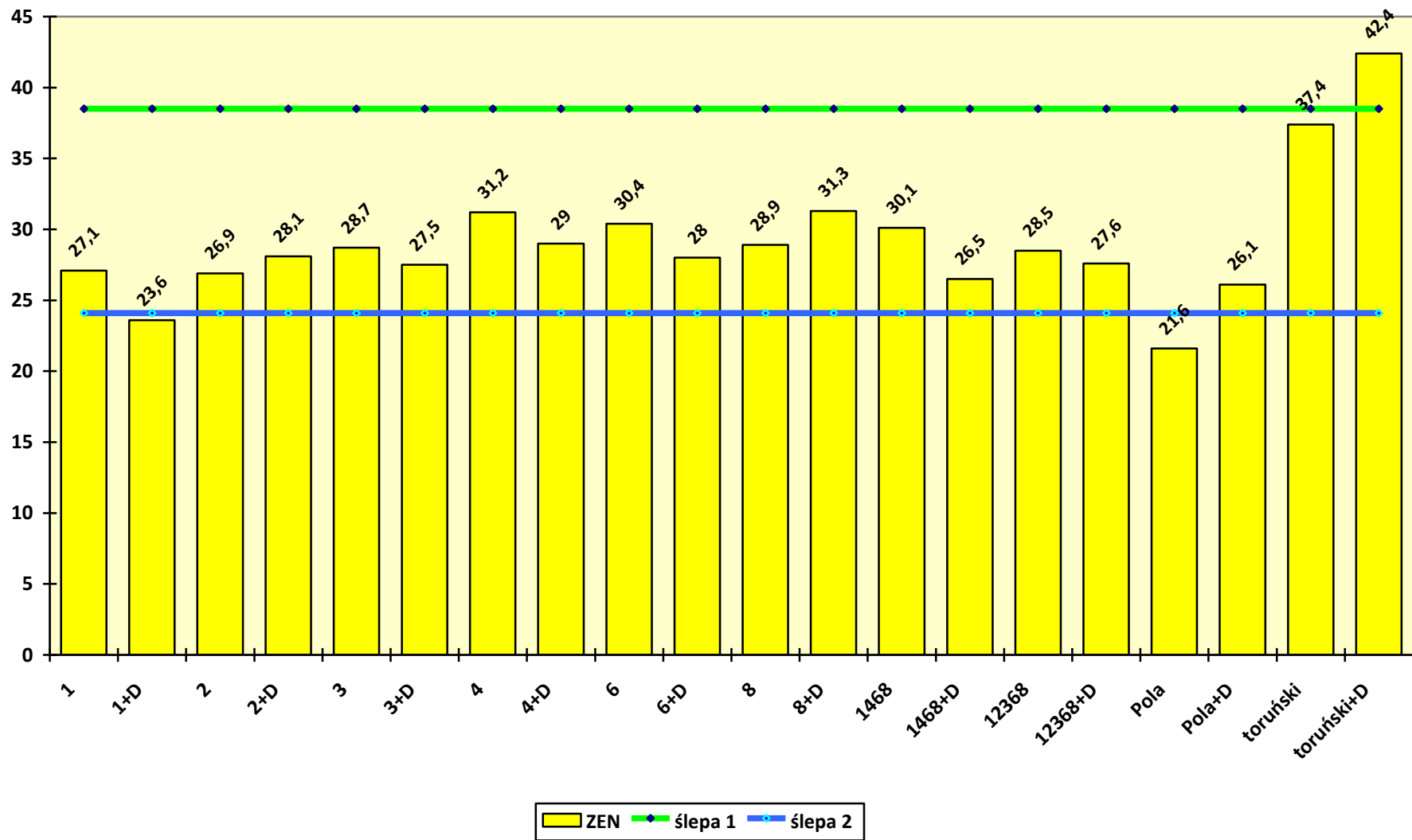
Rysunek 1. Zawartość ochratoksyny A (µg/kg) w próbkach pieczywa oznaczona metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej względem prób ślepych.



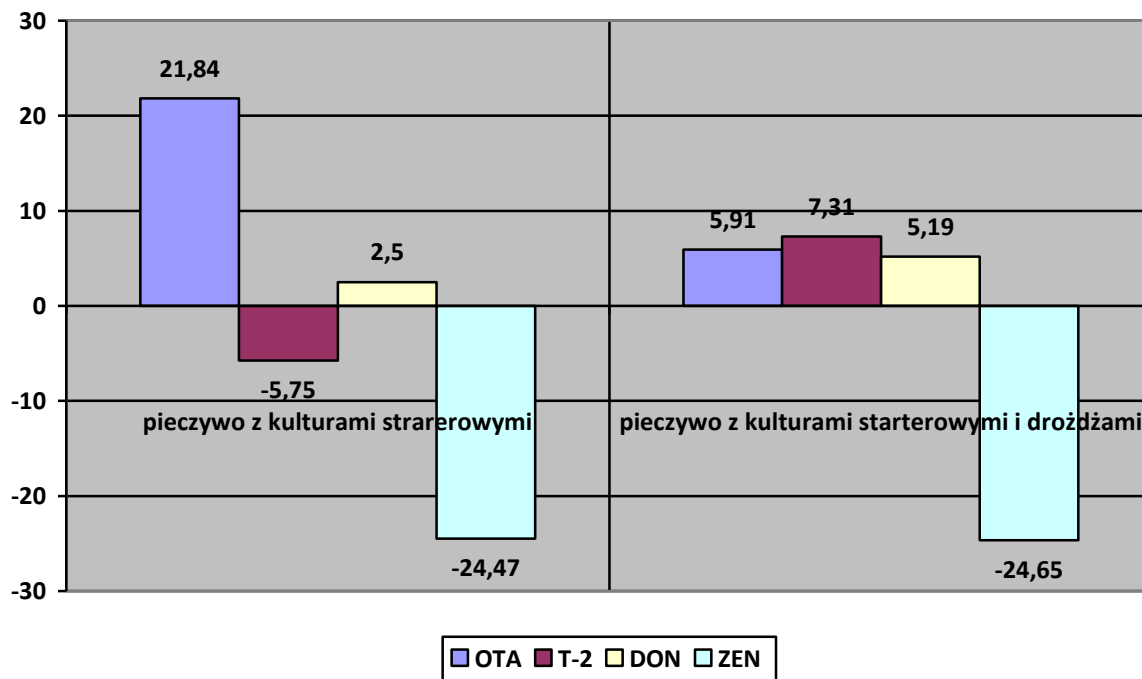
Rysunek 2. Zawartość toksyny T-2 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) w próbkach pieczywa oznaczona metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej względem prób ślepych.



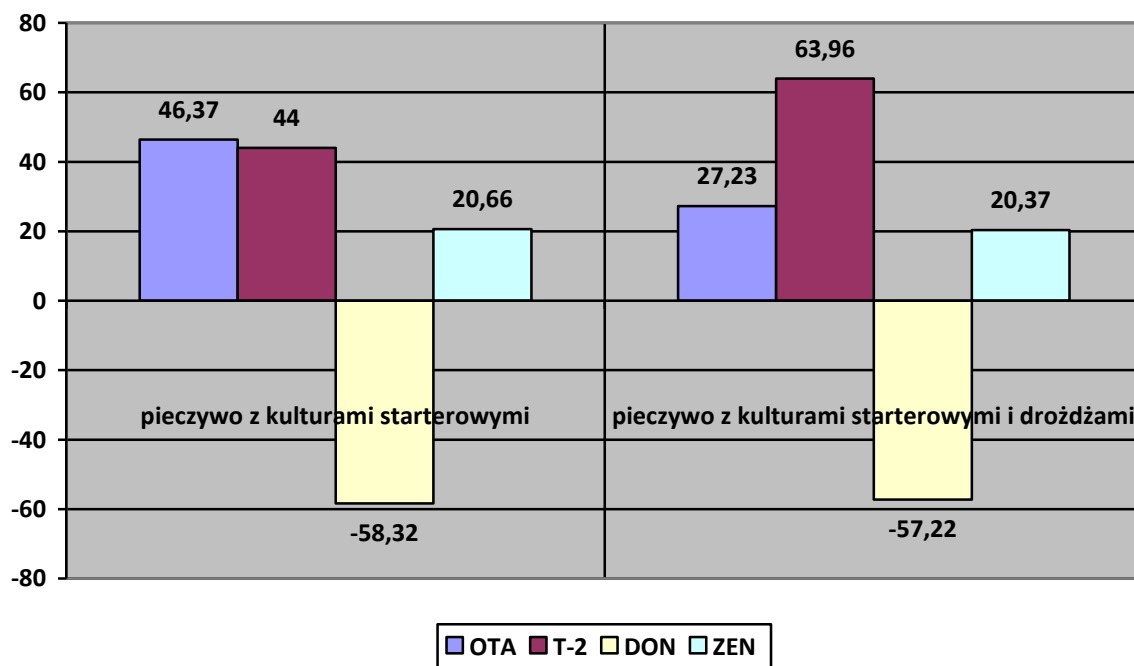
Rysunek 3. Zawartość deoksyniwalenolu ($\mu\text{g}/\text{kg}$) w próbkach pieczywa oznaczona metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej względem prób ślepych.



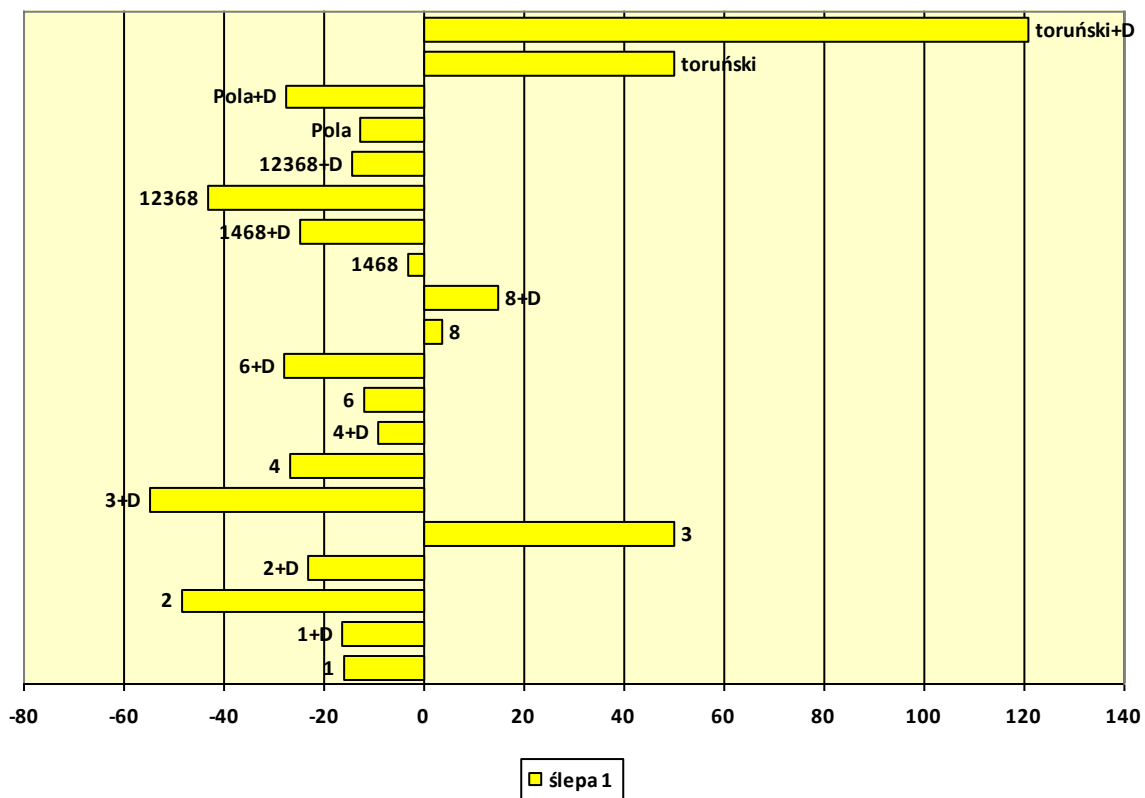
Rysunek 4. Zawartość zearalenonu ($\mu\text{g}/\text{kg}$) w próbkach pieczywa oznaczona metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej względem prób ślepych.



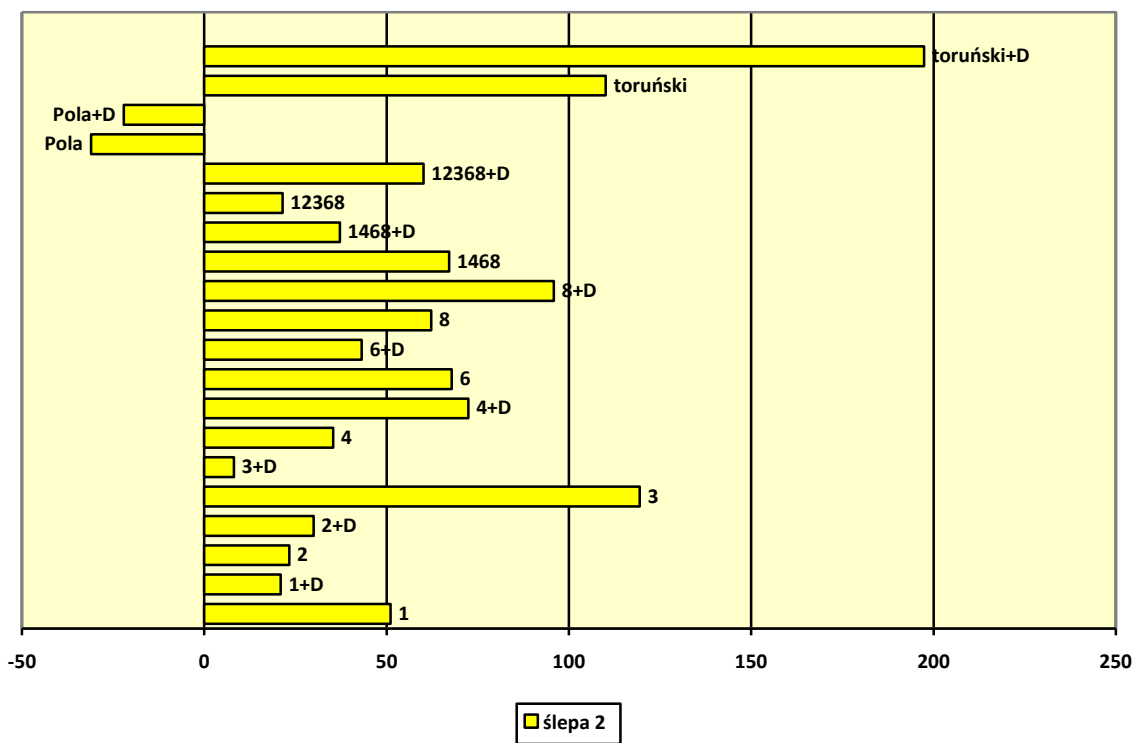
Rysunek 5. Procentowe ograniczenie średniej zawartości mikotoksyn dla pieczywa na zakwasach względem próby ślepa 1.



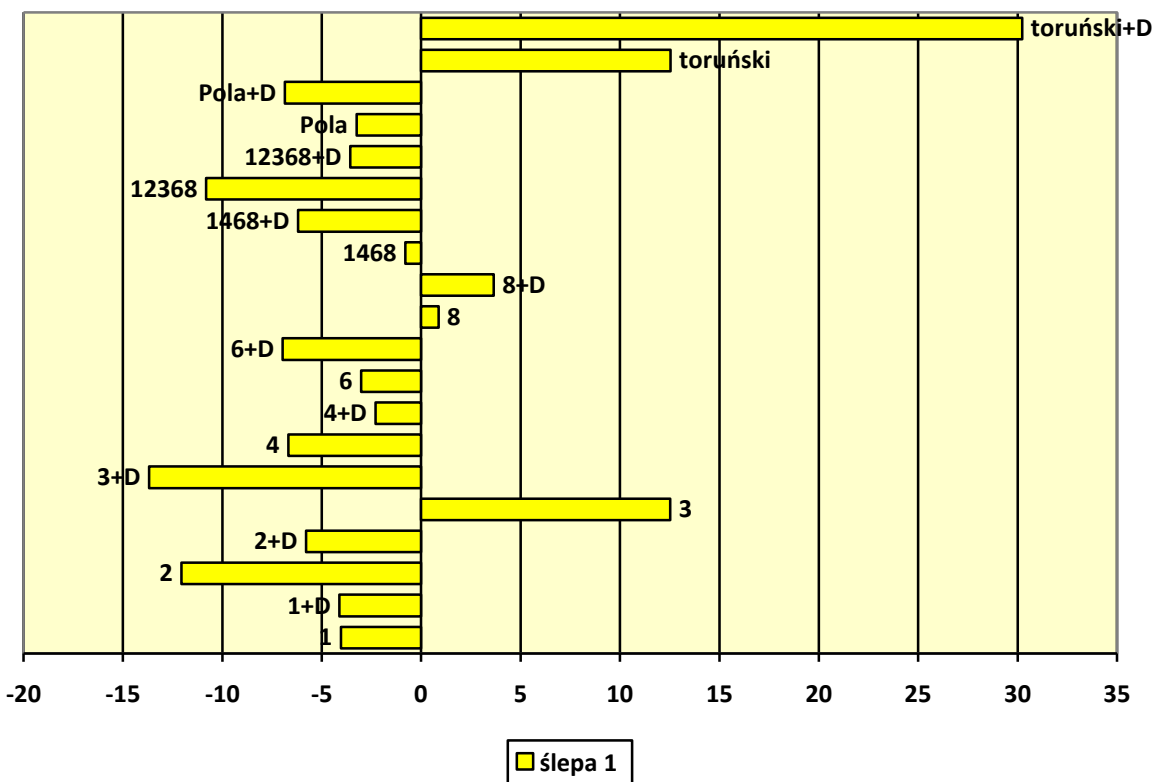
Rysunek 6. Procentowe ograniczenie średniej zawartości mikotoksyn dla pieczywa na zakwasach względem próby ślepa 2.



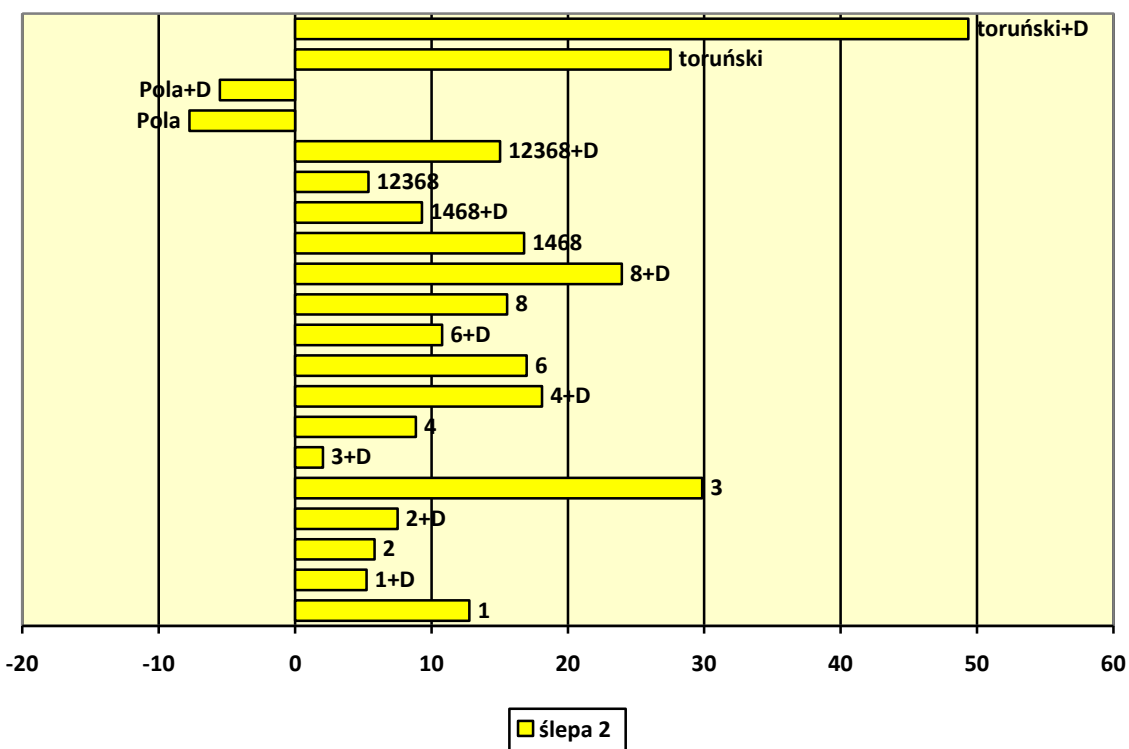
Rysunek 7. Procentowe ograniczenie sumy mikotoksyn w badanych próbkach pieczywa względem próby ślepa 1.



Rysunek 8. Procentowe ograniczenie sumy mikotoksyn w badanych próbkach pieczywa względem próby ślepa 2.



Rysunek 9. Średnie procentowe ograniczenie mikotoksyn w badanych próbkach pieczywa względem próby ślepa 1.



Rysunek 10. Średnie procentowe ograniczenie mikotoksyn w badanych próbkach pieczywa względem próby ślepa 2.

Tabela 7. Ocena organoleptyczna pieczywa wypieczonego z udziałem kultur starterowych.

cecha (wartość punktowa, 1-5)		próba																			
		1	1+D	2	2+D	3	3+D	4	4+D	6	6+D	8	8+D	1468	1468+D	12368	12368+D	Pola	Pola+D	toruński	toruński+D
cecha	współczynnik ważkości																				
Kształt i wygląd zewnątrzny	0,15	4	3	4	3	3	3	3	4	3	3	2	4	2	4	2	3	4	3	2	4
Barwa skórki	0,05	5	3	5	4	4	4	5	4	5	3	4	4	4	3	4	4	4	4	5	2
Grubość skórki	0,05	5	4	4	4	4	5	4	4	5	4	3	4	4	4	4	5	5	4	4	5
Pozostałe cechy skórki	0,10	5	5	5	5	4	5	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	4	5	5
Barwa i wygląd miękkiszu	0,18	5	4	5	4	4	4	4	4	4	3	4	3	4	2	4	4	4	4	4	4
Porowatość miękkiszu	0,12	4	4	4	4	3	4	1	4	4	3	1	3	2	4	1	4	4	4	3	4
Elastyczność miękkiszu	0,10	4	5	5	4	4	4	2	4	4	4	2	3	2	4	2	3	5	5	2	4
Smak i zapach skórki	0,10	Smaku nie oceniano ze względu na skażenie mikotoksynami rozpuszczonymi w acetonitrylu																			
		4	4	2	4	5	5	2	3	3	4	5	2	4	4	3	4	5	4	4	2
Smak i zapach miękkiszu	0,15	Smaku nie oceniano ze względu na skażenie mikotoksynami rozpuszczonymi w acetonitrylu																			
		4	5	2	4	4	5	3	4	4	4	4	1	2	5	2	4	5	5	5	2
Podsumowanie (max. 5 pkt)	x	4,38	4,15	3,93	3,95	3,83	4,25	2,99	3,9	3,85	3,5	3,29	3,05	3,06	3,84	2,84	3,9	4,5	4,1	3,68	3,55

Tabela 8. Tabela z kryteriami oceny organoleptycznej.

Lp	Wyróżnik jakości	Współczynnik ważkości	5 pkt	4 pkt	3 pkt	2 pkt	1 pkt
1	Kształt i wygląd zewnętrzny	0,15	Kształt nadany formą, symetryczny, chleb wyrośnięty, objętość duża, skórka gładka, niepopękana	Pieczywo wyrośnięte o minimalnych odchyleniach w kształcie i objętości	Objętość pieczywa nieco za mała, lekka deformacja kształtu	Objętość pieczywa zbyt mała, wyraźna deformacja kształtu	Silne zniekształcenie kształtu, zakalec, mocno popękany
2	Barwa skórki	0,05	Skórka wyrównana, ciemnozłocista do jasnokasztanowej	Skórka wyrównana, nieznacznie jaśniejsza lub ciemniejsza	Skórka mniej wyrównana, jaśniejsza lub ciemniejsza	Skórka niewyrównana, zbyt jasna lub zbyt ciemna	Skórka bardzo jasna lub bardzo ciemna (zwęglona)
3	Grubość skórki	0,05	Skórka wyrównana, nie większa niż 3 mm, a na ściankach bocznych nie mniejsza niż 1,5 mm	Skórka nieco za gruba lub za cienka	Skórka zbyt gruba lub zbyt cienka	Skórka wyraźnie odbiegająca od wymaganej grubości	Skórka bardzo cienka lub bardzo gruba
4	Pozostałe cechy skórki	0,10	Skórka bardzo dobrze połączona z mięksizem na całej powierzchni kromki	Skórka odstająca w części bocznej od mięksizu	Skórka odstająca częściowo w części górnej	Skórka odstająca w wielu miejscach	Całkowity brak połączenia skórki z mięksizem
5	Barwa i wygląd mięksizu	0,18	Barwa równomierna, mięksisz suchy w dotyku, o bardzo dobrej krajalności, brak zbyrleń mąki, pozostałości soli i drożdży	Mięksisz o równomiernym zabarwieniu i dobrej krajalności	Mięksisz o nieco zróżnicowanym zabarwieniu i krajalności dostatecznej	Zabarwienie niewyrównane, widoczne smugi krajalności, nieco lepki, kruszący się	Mięksisz lepki z zakalcem, kruszący się zanieczyszczony, zbyrlenia i pęcherzyki wodne
6	Porowatość mięksizu	0,12	Porowatość drobna, równomierna, cienkościenna, okrągła, wielkości nasion soczewicy do 3,5 mm	Porowatość dość równomierna, cienkościenna, wśród drobnych nieco większe cienkościennie	Pory rozmieszczone nierównomiernie, 50% porów do wielkości 5 mm, dość cienkościennie	Mięksisz niejednolity, duże pory pod skórą, połowa mięksizu bez porów	Pory zbite lub brak porów, duże puste miejsca
7	Elastyczność mięksizu	0,10	Elastyczność bardzo dobra, mięksisz uciskany przez 10 s osiąga pierwotną objętość w ciągu 20 s	Elastyczność dobra, mięksisz mniej elastyczny	Mięksisz mało elastyczny, nie osiąga pierwotnej objętości lecz nie zbija się	Elastyczność niedostateczna, wykazująca tendencję do zbijania się	Elastyczność zła, mięksisz całkowicie zbijający się
8	Smak i zapach skórki	0,10	Zapach i smak naturalny, pożądany, zbliżony do zapachu miodu, skórka chrupiąca	Zapach i smak naturalny, mniej pożądany	Zapach i smak naturalny, bez obcych komponentów	Zapach i smak kwaśny, pleśniowy	Zapach i smak silnie kwaśny, silnie pleśniowy, obcy
9	Smak i zapach mięksizu	0,15	Smak i zapach aromatyczny, łagodny, naturalny	Smak i zapach mniej aromatyczny i łagodny, mniej wyraźny	Smak kwaśny, za mało słony, zapach fermentacji, drożdży, mączny	Smak za słony, zbyt kwaśny, zapach kwaśny, pleśniowy	Smak i zapach niewłaściwy, gorzki, stęchły, mdły, nietypowy

Ocena organoleptyczna uzyskanego chleba z badanych zakwasów wykazała, że zakwas z piekarni Pola stosowany bez drożdży uzyskał najwyższą punktację. Dwa kolejne miejsca pod względem punktacji uzyskały próby zakwasów 1 i 3 z dodatkiem drożdży wyprowadzonych z kultur starterowych pojedynczych szczepów otrzymanych z zakwasu piekarni Pola (tab.7 i 8).

Najlepiej przechowywał się chleb orkiszowy na zakwasie żytnim z piekarni Pola bez dodatku drożdży, gdyż jeszcze po 9 dniach od wypieku nie obserwowano na nim wzrostu grzybów. Najszybciej ślady wzrostu grzybów pojawiły się na chlebie z drożdżami na zakwasie z pojedynczych kultur starterowych tj. już po 3 dniach od wypieku. Chleb na zakwasie toruńskim bez oznak wzrostu grzybów przechowywał się przez 6 dni.

Ponieważ pod każdym ocenianym względem najkorzystniejsze parametry uzyskał zakwas z piekarni Pola co potwierdza ocena również wypieków na zakwasach z pojedynczych kultur starterowych wyprowadzonych z tego zakwasu (szczepy 1, 2, 3), więc ten zakwas użyto do wypieku chleba orkiszowego, którego recepturę podano opisując przygotowanie próby laboratoryjnej. Tak sporządzony chleb był wzbogacany o mieszanki wielogatunkowe ziaren. Po zakończeniu projektu będą trwały dalsze prace nad optymalizacją receptury w celu komercyjnego wprowadzenia ekologicznego chleba orkiszowego na rynek.