

WPLYW PARAMETRÓW FERMENTACJI CIASTA
I WYPIEKU NA ZAWARTOŚĆ DEOKSYNIWALENOLU
I TOKSYNY T-2 W PIECZYWIE ŻYTNIM

Jarosław Mazurkiewicz, Adam Kuzdrałiński, Ewa Solarska

Katedra Biotechnologii, Żywienia Człowieka i Towaroznawstwa Żywności,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
ul. Skromna 8, 20-950 Lublin
e-mail: jaroslaw.mazurkiewicz@up.lublin.pl

Streszczenie. Celem niniejszej pracy było określenie wpływu sposobu prowadzenia fermentacji ciasta chlebowego oraz temperatury wypieku pieczywa na zawartość deoksyniwalenolu i toksyny T-2 w męki i skórce pieczywa wykonanego ze skażonej mąki żytniej. Ziarno żyta inokulowano fragmentami grzybnicy *Fusarium* wyrosłej na podłożu mineralnym. Ze skażonego ziarna przygotowano mąkę i wykonano fermentację ciasta metodą bezpośrednią z dodatkiem kwasu mlekowego (jednofazową) i trzyczęściową (na żurku). Po zakończeniu fermentacji wykonano wypiek pieczywa w temperaturze: 200°C przez 20 minut oraz 230°C przez 15 minut. Po przemiale skażonego ziarna we frakcji otrąb znajdowało się znacznie więcej mikotoksyn w porównaniu do mąki. Obie metody przyczyniły się, w przypadku męki chleba porażonego przez *F. species* i *F. graminearum*, do spadku zawartości deoksyniwalenolu (DON), zaś chleba porażonego przez *F. culmorum* do wzrostu zawartości tej mikotoksyny. W skórce chleba zawartość DON i T-2 była nieznacznie niższa niż w męki. Największą redukcję obu mikotoksyn w męki uzyskano w metodzie bezpośredniej: DON w męce skażonej *F. species* i toksyną T-2 w męce skażonej *F. graminearum*. Nieznacznie skuteczniejsze w redukcji zarówno DON, jak i toksyny T-2, okazało się działanie temperatury wypieku 230°C przez 15 minut. Zmniejszenie poziomu DON po zastosowaniu wyższej temperatury odnotowano dla skórki chlebków z męki porażonej przez *F. species* i *F. graminearum*, przy czym maksymalna różnica w degradacji DON spowodowana temperaturą wypieku wynosiła 2,4%, a w degradacji toksyny T-2 – 3,1%. Jednak we wszystkich otrzymanych chlebkach zawartość badanych mikotoksyn była wyższa od najwyższego dopuszczalnego poziomu.

Słowa kluczowe: dekontaminacja, ELISA, wypiek laboratoryjny, deoksyniwalenol, T-2 toksyna

WSTĘP

Skażenie mikotoksynami może wystąpić na różnych etapach produkcji żywności. Przy uprawie, podczas transportu, przechowywania czy przetwarzania, konieczne jest zatem stosowanie działań prewencyjnych, aby nie dopuścić do ich wytwarzania (Dworecka-Kaszak 2008, Grajewski 2006).

Wśród działań prewencyjnych przed zbiorem zbóż można wyróżnić: użycie zdrowego materiału siewnego poddanego selekcji; zaprawianie nasion; uprawę odmian odpornych, siew w optymalnym terminie agrotechnicznym i stosowanie ograniczonej gęstości zasiewów; dokładne zaoranie resztek poźniwnych; przestrzeganie norm nawożenia azotowego; stosowanie fungicydów w fazie kwitnienia, wykonywanie prawidłowych zabiegów (Dworecka-Kaszak 2008, Jouany 2007, Arseniuk i Góral 2005, Pusz 2003).

Jeśli jednak dojdzie do skażenia ziarna mikotoksynami, jednymi ze sposobów ich dekontaminacji mogą być biologiczne metody. Detoksykacja biologiczna może być enzymatyczną degradacją lub biotransformacją, którą przeprowadzają: bakterie, grzyby i pierwotniaki. Do degradacji biologicznej takich mikotoksyn jak: aflatoksyny B₁, ochratoksyny A, DON, NIV, ZEA, fumonizyny FB₁ i FB₂ zdolne są między innymi niektóre szczepy bakterii kwasu mlekowego z rodzaju *Lactobacillus* (Mazurkiewicz 2011, Dworecka-Kaszak 2008, Niderkorn i in. 2006) i gatunek drożdży *Saccharomyces cerevisiae* degradujący aflatoksyny, ochratoksynę A, trichoteceny NIV i DON oraz fumonizyny B₁ i B₂ i ZEA (Jouany 2007, Kabak i in. 2006). Przy produkcji pieczywa żytniego zachodzą równocześnie dwie fermentacje: pod wpływem drożdży – alkoholowa, podczas której produkowany jest dwutlenek węgla spulchniający ciasto oraz mlekowa z udziałem bakterii kwasu mlekowego z zakwasu. Podczas jej trwania powstają kwas mlekowy, alkohol etylowy i kwas octowy, powodujące ukwaszenie ciasta.

Celem niniejszej pracy było określenie wpływu sposobu prowadzenia fermentacji ciasta chlebowego, temperatury wypieku pieczywa oraz źródła zanieczyszczenia mąki żytniej na zawartość deoksyniwalenolu i toksyny T-2 w miększu i skórce pieczywa.

MATERIAŁ I METODY

Materiałem do badań na obecność mikotoksyn było żyto odmiany Dańkowskie Diamant ze zbioru 2008 roku, pochodzące z obrotu handlowego. Do badań użyto 3 różne szczepy grzybów z rodzaju *Fusarium*: *F. species F. culmorum* i *F. graminearum* pochodzące z kolekcji Katedry Biotechnologii, Żywienia Człowieka i Towaroznawstwa Żywności UP w Lublinie.

Hodowlę grzybów przeprowadzono na podłożu wykonanym z następujących składników (1500 cm³ pożywki): sacharoza 57 g, NH₄NO₃ 1,05 g, KH₂PO₄ 0,45 g, MGSO₄ – 0,45 g, i śladowych ilości: FeCl₃, ZNSO₄, CuSO₄, MnSO₄. Grzyby inkubowano w cieplarni w temperaturze 28°C przez 7 dni.

W celu skażenia ziarna odważono po 1 kg ziarna, przepłukano go wodą i doprowadzono do wilgotności 30%, następnie je wysterylizowano w kolbach o pojemności 2000 cm³ i po wystudzeniu inokulowano fragmentami grzybni trzech szczepów *Fusarium*. Kolby odstawiono na 10 dni w celu wytworzenia przez grzyby mikotoksyn. Po tym czasie przygotowano próbki do przemiału. Ziarno rozłożono równomiernie i dosuszono do uzyskania wilgotności 15%.

Przemiał wykonano w młynie laboratoryjnym typu Quadrumat Junior rozdzielając mlewo na dwie frakcje: mąkę i otręby.

Próbną wypiek laboratoryjny wykonano z mąki żytniej metodą trzyfazową z dodatkiem kwasu mlekowego, składającą się z faz: zaczątek, żurek, ciasto (Ambroziak 1995) oraz metodą bezpośrednią (jednofazową) wg procedury Zakładu Badawczego Przemysłu Piekarskiego, również z dodatkiem kwasu mlekowego. Wypiek pieczywa przeprowadzono w następującej temperaturze: 200°C przez 20 minut oraz 230°C przez 15 minut.

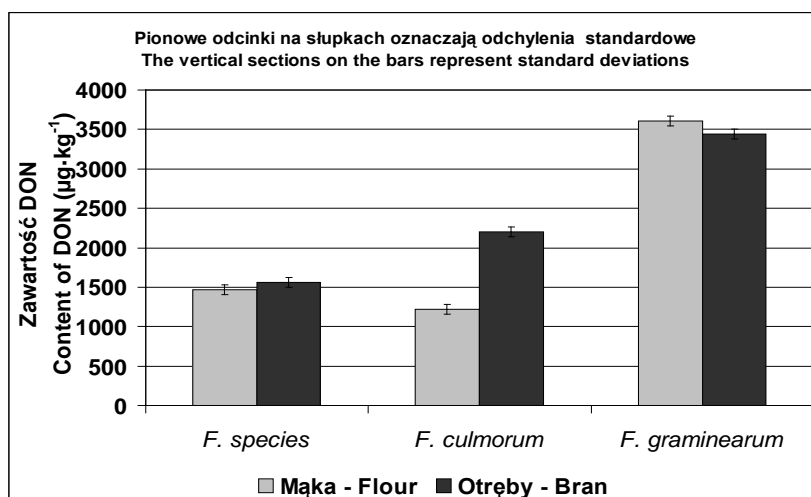
Otrzymano 72 chlebki, tj. po 36 z każdej metody prowadzenia ciasta, ułożono je na tackach i odczekano 7 dni, aż staną się czerstwe, następnie je dosuszano w cieplarni firmy Zatmet SML 32/250 w temperaturze 100°C przez 1 godzinę i zmielono w młynku laboratoryjnym typu WŻ - 1.

Koncentrację mikotoksyn DON i toksyny T-2 określano z wykorzystaniem bezpośrednich kompetycyjnych testów ELISA AgraQuant Test Kit (firmy Romer Labs) zgodnie z zaleceniami producenta. Testy te umożliwiają ilościowy pomiar stężenia DON w zakresie 0,25-5 mg·kg⁻¹ oraz toksyny T-2 w zakresie 75-500 µg·kg⁻¹. Wynik testów ELISA odczytywano za pomocą czytnika Sunrise (Tecan) przy długości fali λ = 450 nm. Pomiar absorbancji analizowano za pomocą oprogramowania Magellan (Tecan). Koncentrację mikotoksyn obliczano z krzywej standardowej wyznaczonej na podstawie absorbancji standardów dostarczonych przez producenta.

Analizy wykonano w trzech powtórzeniach. Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej dla poziomu istotności α = 0,05.

WYNIKI I DYSKUSJA

Zawartość DON we wszystkich frakcjach przekroczyła najwyższy dopuszczalny poziom wynoszący 750 µg·kg⁻¹ (Rozporządzenie nr 1881/2006 z 19 grudnia 2006 roku) (rys. 1).



Rys. 1. Zawartość deoksyniwaleolu (DON) w mące i otrębach po przemiale ziarna porażonego grzybami z rodzaju *Fusarium*

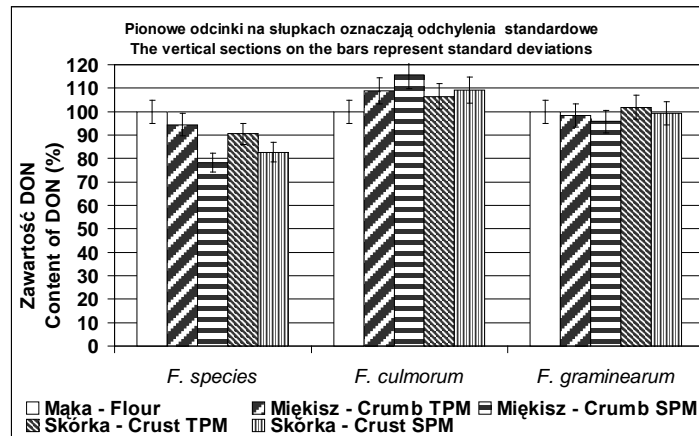
Fig. 1. Content of deoxynivalenol (DON) in flour and bran of rye grain infected by fungi from the genus *Fusarium*

Wykryto znaczne różnice w zawartości tej mikotoksyny pomiędzy żytem porażonym *F. graminearum* i pozostałymi grzybami. Najwięcej DON (3688 µg·kg⁻¹) zawierała frakcja mąki zanieczyszczona mikotoksyną wytworzoną przez tego grzyba, i przekraczała dopuszczalny poziom blisko pięciokrotnie, zaś we frakcji otrąb wykryto nieznacznie mniejszą zawartość DON niż w mące (rys. 1). Znacznie niższy poziom tej toksyny wykryto w życie porażonym *F. species*. Zawartość DON we frakcji mąki wyniosła 1465 µg·kg⁻¹ (dwukrotne przekroczenie normy), zaś w otrębach była nieznacznie większa – 1562 µg·kg⁻¹. Najmniejsze stężenie tej mikotoksyny było w życie porażonym *F. culmorum*. Zawartość DON wynosiła dla frakcji mąki 1217 µg·kg⁻¹ przekraczając normę o około 470, zaś w otrębach była prawie dwukrotnie wyższa i wynosiła 2204 µg·kg⁻¹.

Wypiek nie zmniejszył poziomu pierwotnej zawartości DON w mące do najwyższego dopuszczalnego poziomu zawartego w normie, w niektórych przypadkach ilość ta nawet nieznacznie wzrosła (rys. 2).

Najwyższy poziom pozostałości tej mikotoksyny wykryto w chlebkę z ziarna porażonego *F. graminearum*. Zawartość DON w miększu chlebaka wytworzonego metodą bezpośrednią (SPM) wynosiła 3531 µg·kg⁻¹, czyli o 4,2% mniej od pierwotnego stężenia toksyny w mące. W miększu chlebaka wytworzonego trzyfazową metodą (TPM) spadek zawartości DON był minimalnie mniejszy od pierwotnej i wynosiła 3624 µg·kg⁻¹ tj. o 1,73% mniej. W skórce poziom tej toksyny tylko nieznacznie

zmniejszył się w stosunku do zawartości w mące, tj. do $3656 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, a po wypieku metodą TPM zawartość tej toksyny zwiększyła się do $3755 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, co stanowiło wzrost o 1,8% w porównaniu do stężenia w mące.



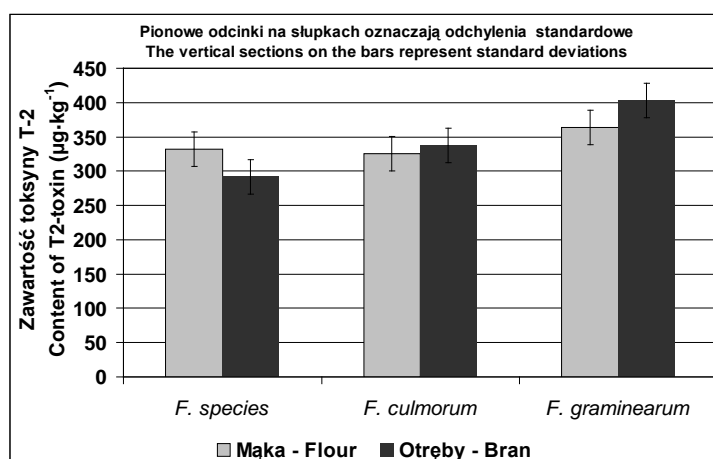
Rys. 2. Zawartość deoksynivalenolu (DON) w miększu i skórce chlebków wytworzonych metodą bezpośrednią (SPM) i trzyfazową (TPM) w porównaniu do pierwotnej zawartości mikotoksyny w mące
Fig. 2. Content of deoxynivalenol (DON) in crumb and crust of bread made by the direct method (SPM) and three phase method (TPM) in relation to the original content of this mycotoxin in flour

W przypadku prób wykonanych z ziarna porażonego *F. culmorum*, ilość tej mikotoksyny wzrosła w porównaniu do zawartości wyjściowej w mące wynoszącej $1217 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Największą ilość DON wynoszącą $1406 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ odnotowano w miększu pieczywa wytworzonego metodą SPM (wzrost o 15,5%). W skórce poziom tej toksyny był wyższy o 9,2% i wyniósł $1329 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (rys. 2).

Najmniejsze stężenie DON zawierał chlebek z mąki zarażonej *F. species*. W miększu chlebaka wytworzonego metodą SPM zawartość tej toksyny wynosiła $1146 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ i było jej o 21,8 % mniej w stosunku do zawartości w mące. Natomiast w miększu chlebaka wytworzonego metodą TPM mikotoksyny tej było $1385 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. W skórce zawartość DON również zmniejszyła się w porównaniu do mąki, ale była większa niż w miększu i wyniosła $1212 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ w pieczywie wykonanym metodą SPM, co stanowi spadek w stosunku do mąki o 17,3% (rys. 2).

Porównując obie metody fermentacji ciasta, większą redukcję DON uzyskano przy wykorzystaniu metody bezpośredniej (SPM). Obie metody przyczyniły się, w przypadku miększu chlebaka z ziarna porażonego przez *F. species* i *F. Graminearum* do spadku zawartości DON, zaś ziarna porażonego przez *F. culmorum* do wzrostu zawartości tej mikotoksyny. W skórce obserwowano przeważnie większe stężenie tej mikotoksyny niż w miększu.

Zawartość toksyny T-2 dla frakcji mąki i otrąb, otrzymanych z przemiału ziarna porażonego przez różne szczepy grzyba *Fusarium*, przedstawia rysunek 3. W próbkach porażonych przez *F. culmorum* i *F. Graminearum* we frakcji otrąb znajdowało się więcej toksyny T-2 niż w mące, zaś w przypadku *F. species* poziom zanieczyszczenia był niższy w otrębach niż w mące.



Rys. 3. Zawartość toksyny T-2 w mące i otrębach po przemiale ziarna porażonego grzybami z rodzaju *Fusarium*

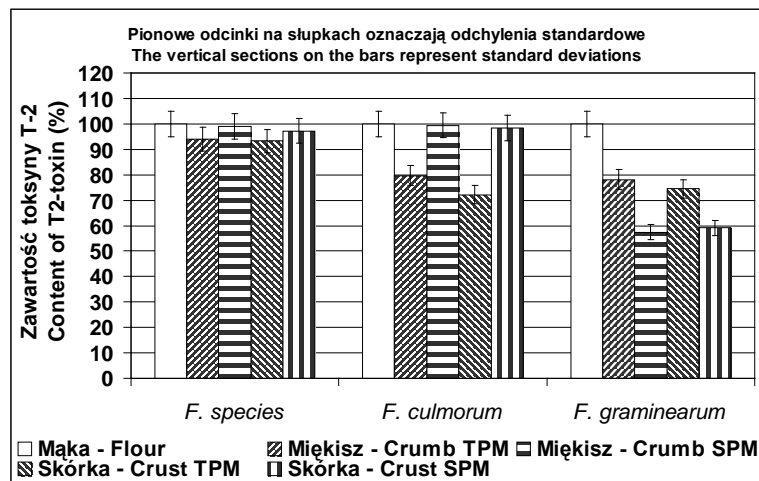
Fig. 3. Content of T-2-toxin in flour and bran of rye grain infected by fungi from the genus *Fusarium*

W ziarnie porażonym *F. graminearum* stężenie toksyny T-2 było największe i wynosiło dla mąki – 364,1 µg·kg⁻¹, zaś w otrębach – 403,1 µg·kg⁻¹. Drugą pod względem zawartości toksyny T-2 w mące była próbka porażona przez *F. species* (331,7 µg·kg⁻¹). W otrębach wykryto 291,7 µg·kg⁻¹ tej toksyny, o 12% mniej w porównaniu do mąki. Nieznacznie mniej toksyny T-2 wyprodukował *F. culmorum* w mące, tj. w ilości 325,7 µg·kg⁻¹, podczas gdy w otrębach ilość ta była większa o 3,8% i wyniosła 337,9 µg·kg⁻¹.

Zawartość toksyny T-2 w miększu i skórce chlebka, sporządzonego dwiema metodami, po wypieku w temperaturze 200°C przedstawiono na rysunku 4. Po wypieku chlebka metodą SPM poziom zanieczyszczenia toksyną T-2 był dość zróżnicowany dla poszczególnych szczepów *Fusarium*. Znaczną redukcję zawartości tej mikotoksyny zaobserwowano w przypadku próbek porażonych przez *F. graminearum*, a w przypadku *F. species* i *F. culmorum* ilość toksyny T-2 praktycznie się nie zmieniła zarówno w miększu jak i skórce w porównaniu do mąki.

Największą redukcję T-2 otrzymano przy wytwarzaniu chlebka metodą SPM z ziarna porażonego *F. graminearum*. W miększu chlebka zawartość tej toksyny

wyraźnie zmniejszyła się do wartości $209,2 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, a w skórce do $215,1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, co stanowi obniżenie stężenia odpowiednio o 42,5% i 40,9% w stosunku do pierwotnego skażenia mąki. Jednak obniżenie zawartości toksyny T-2 we wszystkich zakażonych próbkach uzyskano przy zastosowaniu metody trójfazowej na żurku (TPM). Poziom zawartości T-2 w miększu chlebka z ziarna porażonego *F. culmorum* obniżył się do $259,6 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, a *F. graminearum* do $284,6 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ co stanowi zmniejszenie się w porównaniu do mąki odpowiednio o 20,3% i 21,8%. Niższą skuteczność tej metody uzyskano w przypadku chlebka z ziarna porażonego *F. species*, gdzie poziom toksyny T-2 wyniósł $311,9 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, tj. obniżył się w porównaniu do mąki o 14,5%. Zawartość toksyny T-2 w skórce chlebka otrzymanego metodą SPM i chlebka otrzymanego metodą TPM z żyta porażonego *F. species* była taka sama jak w miększu, a w pozostałych przypadkach była niższa.



Rys. 4. Zawartość toksyny T-2 w miększu i skórce chlebków wytworzonych metodą bezpośrednią (SPM) i trzyfazową (TPM) w porównaniu do pierwotnej zawartości mikotoksyny w mące
Fig. 4. Content of T-2-toxin in crumb and crust of bread made by the direct method (SPM) and three phase method (TPM) in relation to the original content of this mycotoxin in flour

Zawartość DON i toksyny T-2 w skórce chlebków, przygotowanych obydwoma metodami w temperaturze 200°C oraz 230°C przedstawiono w tabeli 1. Większą redukcję DON w skórce uzyskano stosując metodę jednofazową (bezpośrednią). Największa degradacja tej toksyny nastąpiła w chlebkach porażonych przez *F. species* i *F. graminearum*. W przypadku *F. culmorum* wypiek spowodował wzrost poziomu tej mikotoksyny niezależnie od zastosowanej metody. Skórki chlebków uzyskanych metodą trójfazową na żurku z mąki porażonej przez *F.*

species i *F. graminearum* zawierały mniej DON, jednak spadki te były mniejsze niż w przypadku metody jednofazowej.

W przypadku toksyny T-2, zmniejszenie poziomu tej mikotoksyny w skórce nastąpiło we wszystkich próbkach. Największa jej degradacja nastąpiła w skórce chlebka po fermentacji metodą SPM chlebka z ziarna porażonego przez *F. graminearum* (spadek o 40,9% w porównaniu do mąki). Najmniejszą redukcję (o 1,6%) stwierdzono dla chlebka otrzymanego metodą SPM z mąki porażonej przez *F. culmorum*.

Tabela 1. Pozostałość DON i toksyny T-2 w skórce chlebków wytworzonych dwiema metodami i wypiekanych w temperaturze 200°C i 230°C w porównaniu do pierwotnej zawartości tych mikotoksyn w mąkach

Table 1. Residues of DON and T-2-toxin in the crust of breads made by two methods of fermentation and baked at 200°C and 230°C temperature in comparison to the original content of this mycotoxin in flours

Szczep <i>Fusarium</i> Strain of <i>Fusarium</i>	Mąka Flour	Temperatura wypieku – Baking temperature			
		200°C		230°C	
DON ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)					
		SPM	TPM	SPM	TPM
<i>F. species</i>	1465 ^b	1222 ^a	1326 ^{ab}	1212 ^a	1323 ^{ab}
<i>F. culmorum</i>	1217 ^a	1329 ^{ab}	1296 ^{ab}	1301 ^{ab}	1226 ^a
<i>F. graminearum</i>	3688 ^{cd}	3656 ^c	3755 ^d	3569 ^{cd}	3625 ^{cd}
Toksyna – Toxin T-2 ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)					
<i>F. species</i>	331,7 ^e	322,6 ^{cd}	309,3 ^c	318,2 ^{cd}	310,3 ^c
<i>F. culmorum</i>	325,6 ^{cd}	320,3 ^{cd}	314,9 ^{cd}	315,6 ^{cd}	312,2 ^{cd}
<i>F. graminearum</i>	364,1 ^f	215,1 ^a	271,0 ^b	217,3 ^a	259,6 ^b

Różnice dla wartości średnich oznaczonych innymi literami są statystycznie istotne ($P \leq 0,05$).
Mean values with different superscripts are statistically different ($P \leq 0,05$).

Z otrzymanych danych wynika, że dłuższa fermentacja ciasta, a więc i rozwijające się w jej czasie bakterie kwasu mlekowego, niekoniecznie mogą powodować większą degradację mikotoksyn. Degradacja w dużym stopniu będzie zależeć od źródła zanieczyszczenia mąki mikotoksynami. Degradacja DON pochodzącego od *F. species* była znaczna (do 21,8%), a w przypadku DON wytworzonego przez *F. culmorum* odnotowano nawet zwiększoną jego ilość niezależnie od metody fermentacji i temperatury wypieku.

Wpływ temperatury na redukcję zarówno DON jak i toksyny T-2 okazał się statystycznie nieistotny. Nieznaczne zmniejszenie poziomu DON po zastosowaniu wyż-

szej temperatury odnotowano dla skórki chlebków z mąki porażonej przez *F. species* i *F. graminearum*, przy czym maksymalna różnica w degradacji DON spowodowana temperaturą wypieku wynosiła 2,4%, a w degradacji toksyny T-2 – 3,1%.

Dane literaturowe wskazują na duże rozbieżności dotyczące oceny wpływu temperatury wypieku na zawartość mikotoksyn (Bullerman i Bianchini 2007, DeVries i in. 2002, Jackson i in. 1999). Według jednych badaczy proces wypieku może wpływać na redukcję DON (Sugita-Konishi i in. 2006, Samar i in. 2001, Neira i in. 1997, Boyacioglu i in. 1993, Seitz i in. 1986), podczas gdy inni sugerują, że DON jest wysoce stabilny i nie ulega zmniejszeniu (Lancova i in. 2008, Samar i in. 2001, Tanaka i in. 1986). W niektórych badaniach uzyskiwano nawet wzrost poziomu DON po wypieku (Sugita-Konishi i in. 2006, Seitz i in. 1986, Scott i in. 1984). Tak duże rozbieżności w uzyskanych wynikach mogły być z jednej strony spowodowane tym, że niektóre metody badawcze, a w szczególności analityczne, nie były dobrze dopracowane bądź były obciążone błędem albo istnieje różna odporność na degradację mikotoksyn, wynikająca z tego jaki grzyb ją produkuje. Tą hipotezę zdają się potwierdzać różniące się wyniki degradacji deoksyniwalenolu i toksyny T-2 pochodzących od różnych grzybów zamieszczone w tej pracy. Również nie bez wpływu jest proces fermentacji ciasta, w którym z jednej strony może następować wzrost zawartości mikotoksyn w wyniku wytwarzania go przez grzyby ze skażonej mąki, a drugiej strony zmniejszanie się w wyniku rozkładu przez zawarte w cieście drożdże piekarskie i bakterie kwasu mlekowego. Jest to proces dynamiczny i właściwie końcowa zawartość mikotoksyn po fermentacji zależy od wartości wypadkowej tych przeciwdziałań. Potwierdzają to wyniki zamieszczone w pracy. Największą redukcję obu mikotoksyn w miększu uzyskano w metodzie jednofazowej (bezpośredniej): DON w chlebkach z ziarna porażonego przez *F. species* i toksyny T-2 w chlebkach z ziarna porażonego przez *F. graminearum*. Dzieje się to dlatego, że proces rozpadu mikotoksyn jest procesem krótkim w przeciwieństwie do ich gromadzenia. Z tego powodu w krótszym okresie fermentacji ilość oznaczanych mikotoksyn może być mniejsza.

Lepsze wyniki degradacji DON uzyskali Neira i in. (1997), którzy przeprowadzili doświadczenia, polegające na skażeniu mąki pszennej DON w ilości $0,5-1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ i przeprowadzili wypiek chleba w temperaturze 210°C przez 10-40 minut. Wyniki, które otrzymali były następujące: redukcja rzędu 21,6% między ciastem przed fermentacją i po fermentacji; 28,9% między ciastem po fermentacji i wypieczonym produktem oraz przeciętne zmniejszenie DON rzędu 44,3% między ciastem przed fermentacją i wypieczonym chlebem.

Seitz i in. (1986) stwierdzają, że wypiek powoduje średnio 22-42% redukcję koncentracji DON w chlebie z mąki zawierającej $0,2-0,9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ tej toksyny. Chleb przygotowali ze składników: 100 g maki, 3,5-5,3% drożdży, 6% cukru, 1,5% soli, 3% tłuszczu do pieczenia, 0,25 słodu z jęczmienia, $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ kwasu

askorbinowego. Stwierdzili spadek DON w chlebie z mąki z mniej zanieczyszczonej pszenicy, zaś wzrost w chlebie z bardziej zanieczyszczonego ziarna (powyżej $2,03 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$).

Samar i in. (2001) przeprowadzili doświadczenie, w którym wykorzystali mąkę zawierającą $150 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ DON do wypieku chleba wiedeńskiego i francuskiego. Fermentacja prowadzona była w następującej temperaturze: 30, 40 i 50°C. Czasy fermentacji dla chleba francuskiego były następujące: 30°C przez 60 minut; 40°C – 45 minut i 50°C – 40 minut, zaś dla wiedeńskiego odpowiednio: 90, 70 i 60 minut. Redukcja DON w chlebie francuskim wynosiła 0-41%, zaś w wiedeńskim: 25-56%. Degradacja tej toksyny była wyjaśniana nie tylko termiczną dekompozycją, ale i procesem fermentacji prowadzonym przez drożdże. Większy spadek DON był w chlebie zawierającym więcej drożdży, tj. wiedeńskim.

Sugita-Konishi i in. (2006) przeprowadzili wypiek chleba z mąki naturalnie zanieczyszczonej DON, określonym metodą HPLC na poziomie $0,71 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, zaś w testach biologicznych $0,69\text{-}0,78 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Ciasto poddano wypiekowi w 160°C przez 35 minut. Po wypieku nastąpił wzrost zawartości DON o 8,45% w stosunku do mąki w przypadku oznaczania HPLC, ale dla testu biologicznego zawartość DON spadła (o 7,7 do 15,5%), co wskazuje na zmniejszenie cytotoxycności DON. Oznacza to, że tworzy się nowy kompleks podczas wypieku chleba (białko lub wodorowęglan związane z DON).

Boyacioglu i in. (1993) sporządzili chleb ze składników: 25 g mąki, 3% drożdży, 5% cukru, 2% soli, bez dodatków oraz z bromianem potasu. Po wypieku w 220°C przez 20 minut, w chlebie kontrolnym bez dodatków z mąki zawierającej $2,91 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ DON, redukcja wynosiła 7%. Skutek zastosowanych dodatków do ciasta był taki, że bromian potasu i kwas L – askorbinowy nie dają żadnych efektów, ale wodorosiarczyn sodu, L – cysteina i fosforan amonu powodują redukcję DON od 38% (fosforan amonu) do 46% (wodorosiarczyn sodu).

Lesnik i in. (2008) przeprowadzili wypiek dwoma metodami: w przemysłowym piekarniku i w tradycyjnym, ceramicznym piekarniku ogrzewanym drewnem. Z naturalnie zanieczyszczonej DON pszenicy ($1,4\text{-}1,9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) wypieczono chleb w 195-235°C przez 70 minut. Przeciętna redukcja w poziomie tej toksyny po wypieku wynosiła 47,2% dla chleba z przemysłowego piekarnika i 48,7% z ceramicznego.

WNIOSKI

1. Po sztucznym skażeniu ziarna przez grzyby z rodzaju *Fusarium*, najczęściej deoksyniwalenolu wytworzył grzyb *F. graminearum*, zaś toksyny T-2 *F. species* i *F. culmorum*.

2. Po przemiale skażonego ziarna we frakcji otrąb znajdowało się więcej mikotoksyn w porównaniu do mąki, z wyjątkiem *F. graminearum* w przypadku DON oraz *F. species* w przypadku toksyny T-2, dla których wyższe stężenie obu toksyn było w mące.

3. Po wypieku chlebków ze skażonej mąki zawartość DON w skórce była wyższa niż w miększu, z wyjątkiem metody jednofazowej z mąki zarażonej przez *F. species* i *F. graminearum*, natomiast zawartość toksyny T-2 w skórce była taka sama lub nieco niższa jak w miększu.

4. Zmniejszenie zawartości DON w miększu nastąpiło dla chlebków z ziarna porażonego przez *F. species* i *F. graminearum*, natomiast zwiększenie – dla chlebków z ziarna porażonego *F. culmorum*.

5. Redukcję toksyny T-2 w miększu i skórce uzyskano po wypieku wszystkich chlebków z żyta porażonego przez szczepy z rodzaju *Fusarium*.

6. Największą redukcję obu mikotoksyn w miększu uzyskano w metodzie jednofazowej (bezpośredniej): DON w chlebkach z ziarna porażonego przez *F. species* i toksyny T-2 w chlebkach z ziarna porażonego przez *F. graminearum*.

PIŚMIENNICTWO

- Ambroziak Z. (red.), 1995. Piekarstwo – receptury, normy, porady i przepisy prawne. Wyd. Spółdzielcze. Warszawa.
- Arseniuk E., Góral T., 2005. Mikotoksyny fuzaryjne w ziarnie zbóż i kukurydzy. Hodowla Roślin i Nasiennictwo. 3, 27-33.
- Boyacioglu D., Hettiarachchy N.S., D-Applonia B.L., 1993. Additives affect deoxynivalenol flour during bread baking. J. Food. Sci., 58(2), 416-418.
- Bullerman L.B., Bianchini A. 2007. Stability of mycotoxins during food processing. International Journal of Food Microbiology, 119, 140-146.
- DeVries J.W., Trucksess M.W., Jackson L.S. 2002. Mycotoxins and food safety. American Chemical Society. Meeting. Advances in experimental medicine and biology, 504. Wyd. Springer. New York.
- Dworecka-Kaszak B. 2008. Mikologia weterynaryjna. Wyd. SGGW, Warszawa.
- Grajewski J., 2006. Mikotoksyny i grzyby pleśniowe – zagrożenie dla człowieka i zwierząt. Wyd. Uniwersytetu Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy, Bydgoszcz.
- Jackson L.S., Knize M G., Morgan J.N., 1999. Impact of Processing on Food Safety. Advances in experimental medicine and biology. 459. Wyd. Springer. New York.
- Jouany J.P., 2007. Methods for preventing, decontaminating and minimizing the toxicity of mycotoxins in Leeds. Anim. Feed Sci. Technol., 137, 342-362.
- Kabak B., Dobson A.D.W., Var I. 2006. Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 46, 8, 593-619.
- Lancova K., Hajslova J., Kostelanska M., Kohoutkova J., Nedelnik J., Moravcova H., Vanova M. 2008 Fate of trichothecene mycotoxins during the processing: milling and baking. Food Addit. Contam., 25(5), 650-659.
- Lesnik M., Cencia A., Vajs S., Simoncic A., 2008. Milling and bread baking techniques significantly affect the mycotoxin (DON and NIV) level in bread. Acta Aliment., 37(4), 471-483.

- Mazurkiewicz J., 2011. Degradation of Ochratoxin A By *Lactobacillus acidophilus* K1, EJPAU 14(2), #16.
- Neira M.S., Pacin A.M., Martínez E.J., Moltó G., Resnik S.L., 1997. The effects of bakery processing on natural deoxynivalenol contamination. *Int. J. Food Microbiol.*, 37(1), 21-25.
- Niderkorn V., Boudra H., Morgavi D.P., 2006. Binding of *Fusarium* mycotoxins by fermentative bacteria in vitro. *J. Appl. Microbiol.*, 101(4), 849-856.
- Pusz W., 2003. Grzyby z rodzaju *Fusarium* groźne dla ludzi i zwierząt. *Agrochemia*, 6 (498), 23-25.
- Samar M.M., Neira M.S., Resnik S.L., Pacin A., 2001. Effect of fermentation on naturally occurring DON in Argentinean bread processing technology. *Food Add. Contam.*, 18(11), 1004-1010.
- Scott P.M., Kanhere S.K., Lawrence G.A., Daley E.F., Farber J.M., 1995. Fermentation of wort containing added ochratoxin-A and fumonisin B₁ and fumonisin B₂. *Food Addit. Contam.*, 12, 31-40.
- Seitz L.M., Eustace W.D., Mohr H.R., Shogren M.D., Yamazaki W.L., 1986. Cleaning, milling and baking tests with hard red winter wheat containing DON. *Cereal Chem.*, 63, 146-160.
- Sugita-Konishi Y., Park B.J., Kobayashi-Hattori K., Tanaka T., Chonan T., Yoshikawa K., Kumagai S., 2006. Effect of cooking process on the deoxynivalenol content and its subsequent cytotoxicity in wheat products. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 70, 1764-1768.

EFFECT OF BAKING PROCESS PARAMETERS ON THE CONTENT OF DEOXYNIVALENOL AND T-2 TOXIN IN RYE BREAD

Jarosław Mazurkiewicz, Adam Kuzdrałiński, Ewa Solarzka

Department of Biotechnology, Human Nutrition and Science of Food Commodities,
University of Life Sciences
ul. Skromna 8, 20-704 Lublin
e-mail: jaroslaw.mazurkiewicz@up.lublin.pl

Abstract. The aim of this study was to determine the effect of the conduct of dough fermentation and baking temperature on the content of deoxynivalenol and T-2 toxin in the crust and crumb of bread made from contaminated rye flour. Fungi from the genus *Fusarium* were grown in a mineral medium, then rye grain was inoculated with them. Flour was made from grain infected with the fungi, and fermentation of dough was performed with the direct method (SPM) with the addition of lactic acid, and the three phase method in sour soup (TPM). After the fermentation bread was baked at temperature 200°C for 20 min and 230°C for 15 minutes. The concentration of mycotoxins was determined by use of the direct competence ELISA tests – AgraQuant Test Kit (Romer Labs). After the milling of contaminated grains, the bran fraction had much more mycotoxins compared to the flour. Content of DON and T-2-toxin in the bread crust was slightly lower than in the crumb. The greatest reduction of both mycotoxins content in the crumb was obtained in the direct method: DON from flour contaminated with *Fusarium species* and T-2-toxin from flour contaminated with *F. graminearum*. Baking temperature of 230°C for 15 minutes was slightly more effective in reducing both DON and T-2 toxin. Reduction of DON content in crust of the bread from flour infected by *Fusarium* fungi after application of the higher temperature of baking was observed in *F. species* and *F. graminearum*, the maximum difference in degradation of DON caused by the baking temperature being 2.4%, and in the degradation of the T-2-toxin – 3.1%. However, the mycotoxin content in all tested breads was higher than the Maximum Residue Limits (MRLs).

Key words: decontamination, ELISA, laboratory baking, deoxynivalenol, T-2 toxin