

KINGA STUPER-SZABLEWSKA<sup>1</sup>, ANNA PRZYBYLSKA-BALCEREK<sup>1</sup>,  
DANUTA KURASIAK-POPOWSKA<sup>2</sup>, BERNADETTA RYŃSKA<sup>1</sup>, AGNIESZKA BILSKA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Katedra Chemii

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

<sup>2</sup>Katedra Genetyki i Hodowli Roślin

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

<sup>3</sup>Zakład Żywności i Żywienia

Akademia Wychowania Fizycznego w Poznaniu

## OKREŚLENIE WPŁYWU ZANIECZYSZCZENIA ZIARNA PSZENICY GRZYBAMI MIKROSKOPOWYMI ORAZ ICH METABOLITAMI NA JAKOŚĆ PRODUKTÓW JEGO PRZEROBU

DETERMINATION OF INFLUENCE OF CONTAMINATION OF WHEAT GRAIN  
WITH MICROSCOPIC FUNGI AND THEIR METABOLITES ON THE QUALITY  
OF PRODUCTS OF GRAIN PROCESSING

### Abstrakt

**Wstęp.** Przeprowadzono modelowe badania zmian stężenia ergosterolu (ERG) oraz trichotecenów w szlaku technologicznym produkcji chleba otrzymanego z mąki po przemiale ziarna dwóch odmian pszenicy jarej (Torka i Griwa).

**Materiał i metody.** Ziarno pochodziło z dwóch obiektów doświadczenia polowego: roślin kontrolnych oraz inokulowanych *Fusarium culmorum*. Poddano je przemiałowi laboratoryjnemu, a uzyskaną mąkę wykorzystano do laboratoryjnego wypieku chleba.

**Wyniki.** Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, iż w porównaniu z ziarnem stężenie badanych metabolitów grzybowych wskutek przemiału zmniejszyło się w mące o ok. 90%. Wykazano znaczną kumulację grzybów mikroskopowych oraz ich metabolitów w otrębach. Podwyższona zawartość mikotoksyn pogorszyła istotnie właściwości wypiekowe mąki, a wypieczony z niej chleb zakwalifikowano do II lub III klasy pieczywa. Stwierdzono istotny wpływ warunków przechowywania chleba na rozwój mikoflory oraz tworzenie mikotoksyn. Gwałtowny wzrost stężenia ergosterolu, trichotecenów oraz liczby jednostek tworzących kolonię (JTK) w 84 godzinie po wypieku w przypadku chleba wypieczonego z mąki z przemiału inokulowanego ziarna pszenicy Torka oraz w 96 godzinie, jeśli chodzi o mąkę z przemiału inokulowanego ziarna pszenicy Griwa, był zbieżny w czasie z zaobserwowanym pojawieniem się pierwszych kolonii pleśni.

**Wnioski.** Dynamika rozwoju pleśni w czasie przechowywania chleba wyrażona w liczbie jednostek tworzących kolonię opisana została równaniami wielomianów drugiego stopnia. Stężenie ergosterolu natomiast zmieniało się wykładniczo.

**Słowa kluczowe:** chleb, ergosterol, grzyby mikroskopowe, mąka, przechowywanie, trichoteceny

## Wprowadzenie

Jakość produktów zbożowych zależy od jakości surowca, którym jest ziarno zbóż. Mąka stosowana w produkcji pieczywa może być skażona mikroflorą pochodzącą z ziarna, drobnoustrojami stanowiącymi zanieczyszczenia elewatorów, sprzętu młynarskiego oraz magazynów, w których się ją przechowuje. Najbardziej niebezpiecznymi mikroorganizmami powodującymi psucie się pieczywa są bakterie przetrwalnikujące oraz pleśnie toksynotwórcze. Badania zbóż w Polsce wykazały, że grzyby z rodzaju *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. i *Fusarium* spp. dominują w populacji mikroorganizmów, a co trzeci wyizolowany szczep jest toksynotwórczy (Čonková i in., 2006; Stanisławczyk i in., 2010; Twarużek i in., 2013; Przybylska i in., 2018a; 2018b). Obecność grzybów z rodzaju *Fusarium* spp. poza stratami ilościowymi plonu powoduje również straty jakościowe. Do najważniejszych z nich należą zmniejszenie zawartości skrobi w ziarnie oraz gorsza wartość wypiekowa mąki uzyskanej z przemiału porażonego ziarna. Podczas wypieku pieczywa giną jedynie formy wegetatywne drobnoustrojów, pozostają w nim natomiast zarówno formy przetrwalnikujące bakterii, jak i zarodniki pleśni (Diowski, 2004; Pokrzywa i in., 2007; Kawa-Rygielska, 2009). Mikotoksyny jako wtórne metabolity wydzielane są do podłoża, a ich termooporność zwiększa zagrożenie związane z występowaniem tych substancji. W związku z powyższym, wypiek nie gwarantuje mikrobiologicznej stabilności i bezpieczeństwa wyrobu (Gąsiorowski, 1988).

Celem badań było określenie zmian stężenia ergosterolu (ERG) jako swoistego markera ilości mikoflory oraz stężenia mikotoksyn z grupy trichotecenów w łańcuchu technologicznym wypieku chleba w warunkach modelowych. Do tego celu wybrano dwie różniące się właściwościami technologicznymi oraz odpornością na choroby grzybowe odmiany pszenic: Torkę i Griwę. Przebadano dla nich wpływ obecności mikoflory oraz trichotecenów na cechy technologiczne mąki otrzymanej z porażonego zboża oraz na jakość wytworzonego chleba. Ostatnim etapem badań było określenie dynamiki zmian stężenia ERG, a także analizowanych mikotoksyn w czasie przechowywania chleba w warunkach zbliżonych do panujących w gospodarstwach domowych.

## Material i metody badań

Materiał badawczy stanowiły próby ziarna pszenicy jarej odmian Torka i Griwa. Charakteryzowały się one zróżnicowaną odpornością na fuzariozę kłosów – Torka jest odmianą o wysokim stopniu odporności, a Griwa – niskim (Wiśniewska i in., 2004; Centralny Ośrodek..., 2018). Torka to elitarna odmiana pszenicy (klasa E) o bardzo dobrej wartości wypiekowej mąki. Zawartość białka w ziarnie jest przeciętna. Wymiarowość ocenia się jako dobrą do bardzo dobrej. Odmiana pszenicy Griwa zaliczana jest

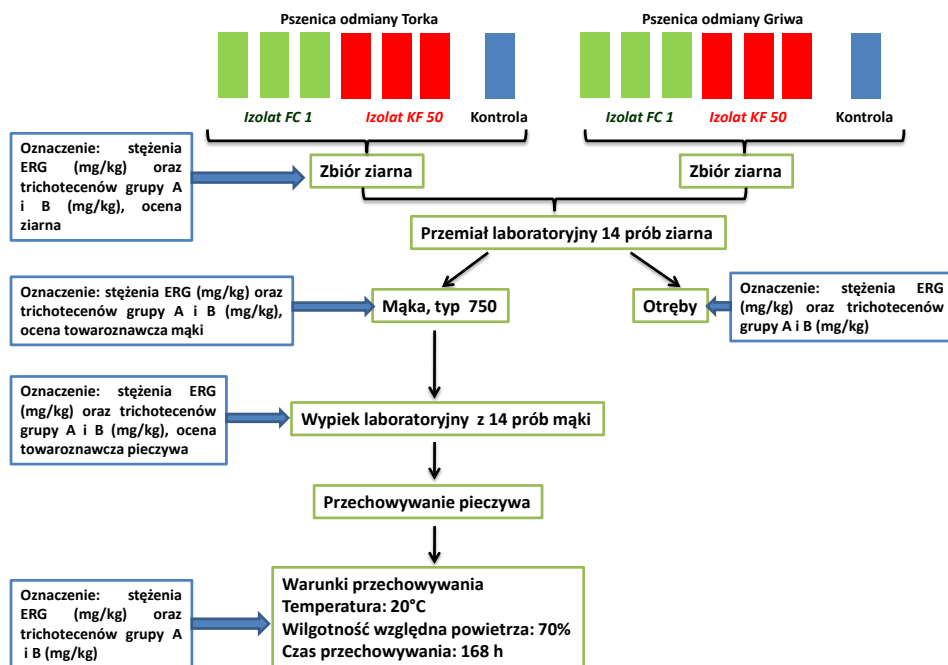
Stuper-Szablewska, K., Przybylska-Balcerek, A., Kurasiak-Popowska, D., Ryńska, B., Bilska, A. (2019). Określenie wpływu zanieczyszczenia ziarna pszenicy grzybami mikroskopowymi oraz ich metabolitami na jakość produktów jego przerobu. *Nauka Przyr. Technol.*, 13, 1, 43–55. <http://dx.doi.org/10.17306/J.NPT.00259>

do grupy pszenic jakościowych (klasa A), ma małe wymagania glebowe, wysoki potencjał plonowania i cechuje ją odporność na wyleganie.

## Doświadczenie polowe

Doświadczenie polowe założono w Zakładzie Produkcyjno-Doświadczalnym „Bałcyny” Spółka z o.o., będącym jednostką badawczą Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

Ziarna pszenicy odmian Torka i Griwa wysiano na czternastu poletkach, każde o powierzchni 5 m<sup>2</sup>, oddzielonych obsiewami o szerokości 0,5 m w konfiguracji: sześć poletek inokulowanych obsianych odmianą Torka i jedno poletko kontrolne oraz sześć poletek inokulowanych, na których wzrastała odmiana Griwa i jedno poletko kontrolne (rys. 1). W okresie kwitnienia kłosy badanych odmian pszenicy inokulowano wodnym roztworem zarodników *Fusarium culmorum* o stężeniu  $1 \times 10^6$  zar./cm<sup>3</sup> w ilości około 100 cm<sup>3</sup> zawiesiny na 1 m<sup>2</sup>. Do produkcji inokulum zastosowano dwa izolaty *F. culmorum* – FC 1 i KF 350 o znanej toksynotwórczości (FC 1 – izolat należący do chemotypu produkującego deoksynivalenol, KF 350 – izolat produkujący niwalenol). Izolaty były inkubowane na autoklawowanym ziarnie pszenicy w szklanych kolbach przez 4 tygodnie. Następnie kultury naświetlano ciągłym światłem UV przez 4 do 7 dni w temperaturze 18°C. Następnie skolonizowane przez *Fusarium* spp. ziarno było suszone i przechowywane w lodówce w temperaturze 4°C do momentu użycia.



Rys. 1. Schemat doświadczenia modelowego

W dniu inokulacji ziarno z grzybnią i zarodnikami *F. culmorum* było namaczane w wodzie przez około dwie godziny, a następnie filtrowane w celu uzyskania zawiesiny zarodników. Inokulację prowadzono w godzinach wieczornych, kiedy wzrastała względna wilgotność powietrza. Trzy poletka inokulowano zarodnikami izolatu FC 1, a trzy KF 350. Dwa poletka kontrolne opryskiwano jedynie sterylną wodą destylowaną. Ziarno zebrano za pomocą kombajnu poletkowego Hege 125c. Następnie oddzielono je od zanieczyszczeń i ziarniaków frakcji < 2,2 mm za pomocą sit laboratoryjnych. Próby ziarna inokulowanego przeznaczonego do dalszych analiz ponumerowano według kolejności poletek doświadczalnych od 1 do 6 w przypadku pszenicy odmiany Torka i od 1 do 6 w przypadku pszenicy Griwa. Próby kontrolne nie otrzymały numerów i w dalszej części pracy wciąż będą nazywane próbami kontrolnymi.

### **Przemiał laboratoryjny**

Próby ziarna inokulowanego (n = 12) i kontrolnego (n = 2) pszenic odmiany Torka i Griwa o masie 2000 g doprowadzono przed przemiałem do 14-procentowej wilgotności. Następnie dokonano przemiału w młynie laboratoryjnym Quadrumat Senior firmy Brabender. W wyniku przemiału uzyskano mąkę typu 750 oraz otręby (grube i drobne) (rys. 1).

### **Próbný wypiek laboratoryjny**

W otrzymanej mące określono: kwasowość ogólną (PN-60/A-74007:1960. Przetwory zbożowe. Oznaczanie kwasowości), wilgotność mąki (PN-ISO 712:2012. Zboża i przetwory zbożowe. Oznaczanie wilgotności. Rutynowa metoda odwoławcza), wydajność oraz jakość glutenu (PN-A-74043-3:1994. Ziarno zbóż i przetwory zbożowe. Oznaczanie glutenu mokrego. Mąka pszenna). Wykonano również próbný wypiek laboratoryjny w dwóch powtórzeniach) według normy PN-92/A-74105:1992. Pieczywo pszenne zwykłe i wyborowe. Uzyskane chleby poddano ocenie towaroznawczej, analizując kwasowość chleba, objętość pieczywa i wilgotność mięksiszu (PN-A-74108:1996. Pieczywo. Metody badań). Dokonano również oceny punktowej pieczywa.

### **Analiza zawartości ergosterolu**

W celu oznaczenia ilościowego grzybów mikroskopowych w ziarnie pszenicy jarej pochodzącym z dwóch odmian, Torka i Griwa, stosowano zmodyfikowaną metodę oznaczania ERG opisaną szczegółowo w pracach Perkowskiego i in. (2003; 2008) polegającą na uwolnieniu tego metabolitu z badanego materiału biologicznego za pomocą saponifikacji wspomagananej promieniowaniem mikrofalowym z jednoczesną ekstrakcją. Do analizy chemicznej pobrano próby o masie 100 g w trzech powtórzeniach. Ziarno pszenicy zostało rozdrobnione przy użyciu młynka laboratoryjnego WZ-40.

Analizę ERG prowadzono za pomocą HPLC z detektorem absorpcyjnym. Pomiar stężenia ERG następował przy długości fali  $\lambda = 282$  nm metodą wzorca zewnętrznego. Identyfikacja związku odbywała się na podstawie porównania czasu retencji badanego piku z czasem retencji standardu oraz poprzez dodanie do badanej próbki określonej ilości standardu i powtórnią analizę. Odzysk ERG wyniósł 97%, natomiast poziom wykrywalności 0,02 mg/kg.

## **Analiza zawartości trichotecenów grupy A i B**

Do analizy chemicznej pobrano próby o masie 100 g w trzech powtórzeniach. Ziaro pszenicy zostało rozdrobione za pomocą młynka laboratoryjnego WZ-40. Analiza stężenia trichotecenów grupy A i B została przeprowadzona po wcześniejszej ekstrakcji analizowanych związków acetonitryl – woda 82:18 (v/v) oraz oczyszczeniu metodą ekstrakcji do fazy stałej. Trichoteceny grupy A (scirpentriol (STO), T-2 tetraol, T-2 triol, diacetoksycirpenol (DAS), HT-2, T-2) analizowano jako pochodne trifluoroacetylowe, natomiast trichoteceny grupy B (deoksyniwalenol (DON), 3-acetylo-deoksyniwalenol (3-AcDON), 15-acetylo-deoksyniwalenolu (15-AcDON), fuzarenon (FUS), niwale-nol (NIV)) analizowano jako pochodne trimetylosililowe. Rozdział chromatograficzny oraz analiza prowadzone były oddzielnie za pomocą chromatografu gazowego (Hewlett Packard 6890) na kolumnie kapilarnej (HP-5MS, 0,25 mm × 30 m) sprzężonego z dektorem masowym (Hewlett Packard 5972 A).

## **Przechowywanie chleba wypieczonego z mąki pochodzącej z przemiału ziarna inokulowanego**

Wypieczono czternaście prób chleba z mąki powstałej z przemiału ziarna inokulowanego oraz ziarna kontrolnego dwóch odmian pszenicy Torka i Griwa (sześć prób inokulowanych i jedna kontrolna pszenicy odmiany Torka, sześć prób inokulowanych i jedna kontrolna pszenicy odmiany Griwa). Z każdej próby pobrano 100 g ziarna, umieszczono je w papierowych torebkach i przechowywano przez 168 godzin w kontrolowanych warunkach wilgotności względnej powietrza 70% i temperatury 20°C w sterylnej atmosferze.

## **Analiza statystyczna wyników**

Wyniki uzyskane w toku przeprowadzonych analiz chemicznych poddane zostały analizie statystycznej w programie STATISTICA v 8.0. W celu porównania zawartości poszczególnych metabolitów w próbach zastosowano procedurę porównań wielokrotnych metodą Tukeya. Wyznaczono także wartości współczynników korelacji liniowej Pearsona z uwzględnieniem następujących poziomów istotności  $\alpha = 0,05$ ,  $\alpha = 0,01$ ,  $\alpha = 0,001$  (\*, \*\*, \*\*\*) między stężeniem ERG, trichotecenów oraz liczbą jednostek tworzących kolonię (JTK). Istotność wpływu odmiany pszenicy na stężenie ERG, sumy toksyn oraz liczby JTK oceniono jednoczynnikową analizą wariancji. Podziału pieczywa na grupy dokonano na podstawie odległości euklidesowych, stosując analizę skupień metodą Warda. Wyniki uzyskane podczas wypieku próbnego zinterpretowano na podstawie nieparametrycznego porównania prób niezależnych testem U Manna-Whitneya.

## **Wyniki i dyskusja**

Zebrane próby ziarna charakteryzowały się zróżnicowanym poziomem zanieczyszczenia grzybami mikroskopowymi. W przypadku prób kontrolnych ziarno pszenicy odmiany Torka wyróżniało się średnim stężeniem ergosterolu (ERG) wynoszącym

1,41 mg/kg, natomiast ziarno odmiany Griwa było mniej skażone, a średnie stężenie ERG równało się 0,99 mg/kg (tab. 1). W ziarnie porażonym stężenie ERG wynosiło czterokrotnie więcej niż w przypadku pszenicy odmiany Torka (5,98 mg/kg) i dziesięciokrotnie więcej, jeśli chodzi o pszenicę odmiany Griwa (10,36 mg/kg), w stosunku do prób kontrolnych. Uzyskane wyniki potwierdzają doniesienia literaturowe o zwiększonej podatności odmiany Griwa na infekcję grzybową (Buśko i in., 2008). Należy w tym miejscu dodać, iż przygotowane i przeznaczone do badań próby ziarna inokulowanego przekraczały postulowane przez badaczy europejskich bezpieczne dla konsumentów stężenie ERG, tj. 3 mg/kg (Maupetit i in., 1993). W analizowanych próbach oznaczono także stężenie trichotecenów grupy A i B. Średnie stężenie sumy toksyn dla pszenicy odmiany Torka wynosiło 0,141 mg/kg, natomiast dla odmiany Griwa 0,186 mg/kg (tab. 1). Poziom zanieczyszczenia deoksyniwalenolem (DON) w badanych próbach nie przekraczał normowanego przez Unię Europejską stężenia 1,250 µg/kg w nieprzetworzonym ziarnie pszenicy (Rozporządzenie Komisji..., 2006). Próby kontrolne cechowały się stężeniem badanych mikotoksyn poniżej limitu detekcji. We wszystkich inokulowanych

Tabela 1. Stężenie ERG (mg/kg) i sumy toksyn (mg/kg) dla ziarna (kontrola i porażone) oraz produktów jego przemiału

Odmiana	Rodzaj próby	Ziarno		Otręby		Mąka		Chleb	
		ERG	suma toksyn	ERG	suma toksyn	ERG	suma toksyn	ERG	suma toksyn
		(mg/kg)							
Torka	Kontrola	1,41	< LOD	4,01	0,026	0,06	< LOD	3,12	< LOD
	1	10,85	0,241	20,79	0,487	1,14	0,040	10,10	0,031
	2	6,26	0,156	18,34	0,327	0,45	0,028	8,27	0,023
	3	5,70	0,139	12,18	0,203	0,39	0,021	7,84	0,016
	4	5,69	0,124	8,04	0,162	0,43	0,014	4,31	0,015
	5	4,12	0,105	6,41	0,168	0,32	0,012	4,77	0,015
	6	3,25	0,082	5,37	0,131	0,12	0,005	2,19	0,010
	Średnia	5,98	0,141	11,86	0,246	0,48	0,020	6,25	0,018
Griwa	Kontrola	0,99	< LOD	8,37	0,039	0,01	< LOD	2,56	< LOD
	1	23,50	0,365	34,28	0,982	2,54	0,089	24,56	0,057
	2	18,43	0,217	30,04	0,762	2,03	0,048	16,50	0,031
	3	8,75	0,169	25,67	0,623	0,72	0,026	10,26	0,030
	4	6,18	0,142	20,94	0,334	0,48	0,012	8,31	0,027
	5	3,79	0,112	17,61	0,321	0,23	0,016	7,26	0,021
	6	1,49	0,108	12,37	0,204	0,09	0,010	4,38	0,014
	Średnia	10,36	0,186	28,49	0,538	1,01	0,034	11,88	0,030

próbach ziarna DON i NIV obecne były w różnych stężeniach. Natomiast w ok. 50% prób ziarna występowały dodatkowo w niewielkim stężeniu trichoteceny grupy A: T-2 tetraol, HT-2 toksyna oraz – należący do trichotecenów grupy B – Fus-X.

Analizowane ziarno po określeniu poziomu jego skażenia poddano przemiałowi laboratoryjnemu, w wyniku którego otrzymano mąkę typu 750 oraz otręby. Wydajność przemiałowa ziarna zarówno dla prób kontrolnych, jak i inokulowanych nie różniła się istotnie w przypadku obydwu badanych odmian pszenicy.

Stężenie zarówno ERG, jak i toksyn w porównaniu z ich ilością w surowcu wyjściowym, w otrębach wzrosło średnio dwukrotnie, natomiast w mące zmalało średnio o 90%. Otrzymaną z przemiału mąkę poddano ocenie jakościowej (tab. 2). Zaobserwowano istotne różnice między wartościami badanych cech dla mąki otrzymanej z prób kontrolnych oraz inokulowanych. Kwasowość mąki z ziarna porażonego była w przypadku obydwu odmian o ok. 50% wyższa, co stwierdzono podczas oceny organoleptycznej. Wilgotność mąki jest podstawowym kryterium oceny jej jakości. Norma dopuszcza do obrotu mąkę o wilgotności 14–15% (PN-ISO 712:2012). Średnia wilgotność mąki stanowiącej produkt przemiału ziarna porażonego w przypadku analizowanych prób pszenicy wynosiła 12,82% dla Torki i 12,10% dla Griwy i była niższa od wilgotności mąki kontrolnej o kilka procent. Dane literaturowe pozwalają podać, iż mąka o wilgotności poniżej 12% jest zagrożona ryzykiem psucia się zawartych w niej tłuszczów (Andrews, 1997). Analizowane w czasie badań ilości i jakości glutenu, który wpływa na tworzenie się struktury porowatej w pieczywie, były niższe w mące z ziarna inokulowanego.

Tabela 2. Parametry jakościowe mąki

Oznaczenie	Torka		Griwa	
	kontrola	porażone	kontrola	porażone
Kwasowość ogólna (st. kwasowości)	3,72	4,28	3,51	4,62
Wilgotność (%)	14,62	12,82	14,11	12,10
Ilość glutenu mokrego (g)	32,3	27,05	31,47	26,38
Jakość glutenu – elastyczność	bardzo elastyczny	mało elastyczny	elastyczny	mało elastyczny
Jakość glutenu – rozpywalność (mm)	7	5	7	4

Wpływ na pogorszenie właściwości wypiekowych mąki mają stanowiące inokulum patogeny zbóż, które oddziałują na składniki ziarna (zwłaszcza będące budulcem bielma skrobiowego), głównie za pomocą enzymów (lipazy, proteazy) (Jackowiak i in., 2005). Przedmiotowa literatura podaje, iż w wyniku ich działania dochodzić może do częściowego lub całkowitego zniszczenia struktury skrobi (Jackowiak i in., 2005). Twierdzi się, iż istnieje także zależność pomiędzy stopniem uszkodzenia skrobi w mące a natężeniem procesów fermentacyjnych (Čurić i in., 2002). Uzyskany w niniejszym eksperymencie chleb z mąki z przemiału ziarna inokulowanego miał istotnie mniejszą objętość w porównaniu z chlebem kontrolnym (tab. 3). W przypadku chleba wypieczonego z mąki z przemiału pszenicy odmiany Torka objętość ta była mniejsza o 25%, natomiast

Tabela 3. Średnie wyniki oceny jakościowej pieczywa pszennego wypieczonego z mąki będącej produktem przemiału ziarna (kontrola i porażone) pszenic odmiany Torka i Griwa

Oznaczenie	Torka		Griwa	
	chleb (kontrola)	chleb z porażonego ziarna	chleb (kontrola)	chleb z porażonego ziarna
Kwasowość chleba (st. kwasowości)	3,18	1,61	4,87	1,98
Objętość (cm <sup>3</sup> /100 g)	320	245	335	225
Wilgotność (%)	44,7	56,3	42,8	59,6
Ocena punktowa	38	29	37	25
Klasa pieczywa	I	II	I	III
Wydajność ciasta (%)	160,0	147,2	158,7	137,33
Wydajność pieczywa (%)	138,7	121,4	135,4	120,7

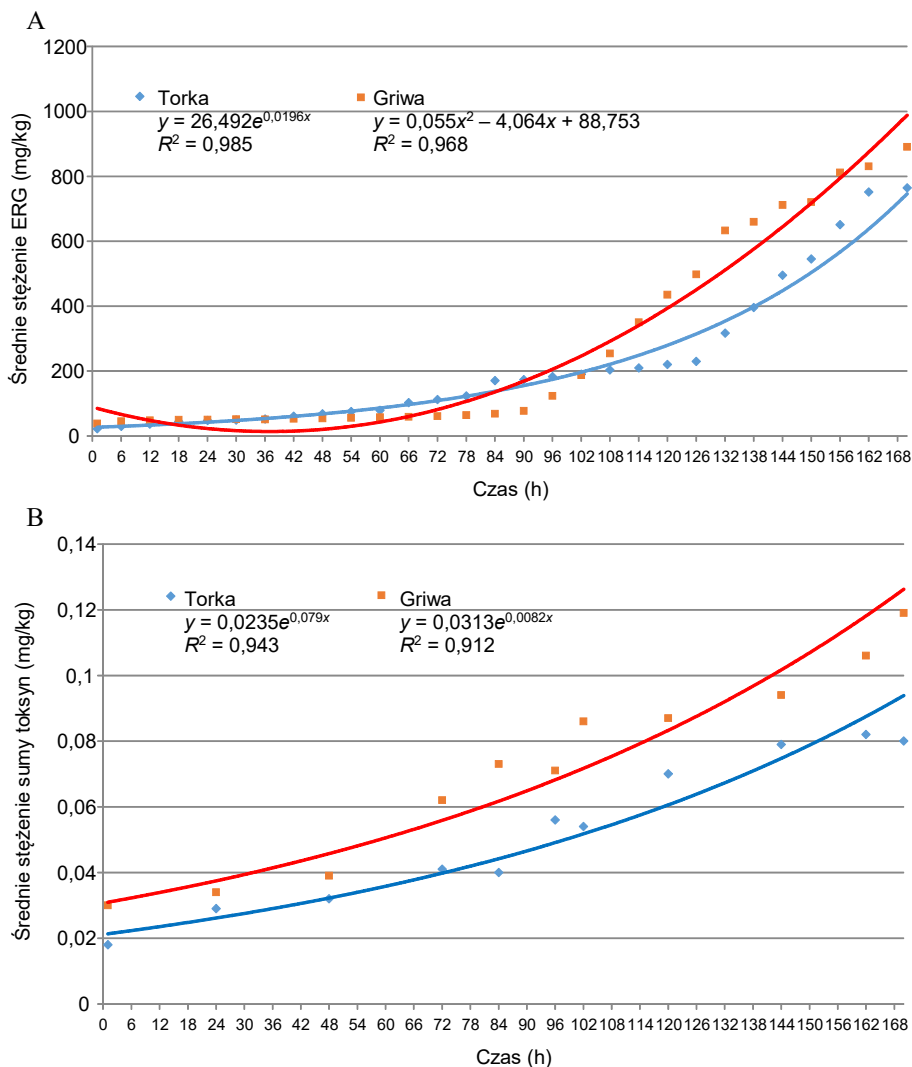
w przypadku chleba wypieczonego z mąki z przemiału pszenicy odmiany Griwa – o 33%. Intensywność procesu fermentacji ciasta wiąże się nie tylko ze stopniem uszkodzenia skrobi, ale również z aktywnością amylolityczną mąki. Uszkodzone ziarna skrobi są bardziej podatne na działanie amylaz. Ciasto przygotowane z mąki o wysokim poziomie uszkodzonej skrobi (która w wyniku działania amylaz łatwo ulega hydrolizie) charakteryzuje się niską objętością, a zarazem wysoką wilgotnością miękiszu o wadliwej strukturze (Converti i in., 1996). Podobne cechy miękiszu zaobserwowano w przypadku chleba wypieczonego z mąki z ziarna inokulowanego. Duża wilgotność miękiszu, nieregularna porowatość oraz grubościennność wpłynęły w znaczący sposób na ocenę punktową chleba, w wyniku której zakwalifikowano chleb z mąki z ziarna inokulowanego do klasy II i III (tab 3). Wyższe skażenie mikrobiologiczne miało istotny wpływ na pogorszenie jakości białek glutenowych. W przypadku wypieku z mąki pochodzącej z inokulowanego ziarna pszenicy odmiany Torka kwasowość chleba była niższa dwukrotnie, natomiast dla odmiany Griwa – prawie trzykrotnie. W czasie wypieku pożądana jest obecność kwasu mlekowego, który nadaje przyjemny smak pieczywu pszenemu, a podczas oceny organoleptycznej chlebów wypieczonych z mąki z ziarna inokulowanego wyczuwalny był nieswoisty, lekko słodkawy smak.

Podobny wpływ rozwoju grzybów mikroskopowych na jakość pieczywa zaobserwowali Piotrowska i in. (2000) w przypadku obecności w mące ochratoksyny A. Jej zawartość dwukrotnie przekraczała dopuszczalną ilość tej toksyny, która wynosi 5 ng/kg, co wpłynęło w istotny sposób na jakość pieczywa, obniżając jego klasyfikację. Dodatek do mąki 0,500 mg/kg deoksyniwalenolu również pogorszył właściwości organoleptyczne otrzymanego wypieku (Pacin i in., 2010). Wydajność ciasta, wydajność pieczywa oraz ubytek wypiekowy były istotnie niższe w przypadku produktów otrzymanych z mąki z ziarna inokulowanego w porównaniu z próbą kontrolną.

W przypadku wszystkich analizowanych cech technologicznych mąki i pieczywa nie zaobserwowano istotnych różnic między dwoma badanymi odmianami pszenic w przypadku prób zarówno inokulowanych, jak i kontrolnych. Różnice między tymi odmianami występowały jedynie w odniesieniu do ilości mikroflory oraz stężenia sumy tok-



syn. W ostatnim etapie przeprowadzonego doświadczenia analizowano zmiany stężenia ERG i mikotoksyn w czasie przechowywania chleba. Stwierdzono, że stężenie ERG w czasie przechowywania pieczywa pszennego wypieczonego z mąki uzyskanej z przemiału ziarna pszenicy odmiany Griwa zmienia się w sposób opisany wielomianem drugiego stopnia (rys. 2). Krzywa ilustrująca zmiany stężenia tego metabolitu podczas



Rys. 2. Zmiany średniego stężenia ERG (mg/kg) (A) oraz sumy toksyn (mg/kg) (B) podczas przechowywania w warunkach stałej temperatury (20°C) i wilgotności względnej powietrza (70%) pieczywa pszennego wypieczonego z mąki uzyskanej z przemiału ziarna (kontrolnego i porażonego) pszenicy odmiany Torka i Griwa

przechowywania pieczywa wypieczonego z mąki uzyskanej z przemiału ziarna pszenicy odmiany Torka oraz zmiany stężenia mikotoksyn w czasie przechowywania chleba mają charakter wykładniczy. Znaczne wzrosty stężenia ERG w 84 godzinie po wypieku w przypadku chleba wypieczonego z mąki z przemiału inokulowanego ziarna pszenicy Torka oraz w 96 godzinie w przypadku mąki z przemiału inokulowanego ziarna pszenicy Griwa były zbieżne w czasie z zaobserwowanym pojawieniem się pierwszych kolonii pleśni (rys. 2). W tym samym czasie odnotowano wzrost stężenia mikotoksyn (rys. 2). Zależność stężenia ERG i sumy mikotoksyn ma przebieg wykładniczy, co przedstawiono na rysunku 2 B. Analiza statystyczna wykazała ponadto wysokie dodatnie korelacje między badanymi metabolitami (tab. 4).

Tabela 4. Współczynniki korelacji wyznaczone dla stężenia ERG (mg/kg) oraz sumy toksyn (mg/kg) ziarna (kontrola i porażone) dla dwóch odmian pszenicy (Torka i Griwa), produktów ich przemiału oraz chleba

Odmiana	Współczynnik korelacji stężenie ERG/stężenie sumy toksyn			
	ziarno	otręby	mąka	chleb
Torka	0,9775***	0,9515***	0,9252***	0,8645***
Griwa	0,9304***	0,9837***	0,9600***	0,9444***

\*\*\* $\alpha = 0,001$ .

Pleśnie w pieczywie powodują psucie się pieczywa oraz stanowią źródło tworzonych mikotoksyn. Ma na to wpływ wydzielanie przez nie całego spektrum enzymów, które wywołują zmiany organoleptyczne pieczywa. Początkowo rozwijająca się w pieczywie pleśń jest niewidoczna gołym okiem (Lakins i in., 2008), lecz w miarę rozwoju tworzy widoczną grzybnięć. W tym czasie wykształcają się liczne substancje lotne, które powodują nieprzyjemny, silnie stęchły zapach (Filtenborg i in., 1996). W czasie przedstawionych w pracy badań zmiany zapachu wyczuwalne były już po dwóch dniach przechowywania i stawały się bardziej intensywne w przypadku prób inokulowanych niż kontrolnych.

## Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że zanieczyszczenie ziarna zbóż grzybami mikroskopowymi i ich metabolitami powoduje znaczne pogorszenie jakości pieczywa pomimo poziomu toksyn poniżej progu szkodliwości.

## Literatura

Andrews, J. (1997). Deterioration of fats and oils in flour. *Quartermaster Crops Manual*. Chicago: US Army Service Forces, 42–50.

Stuper-Szablewska, K., Przybylska-Balcerek, A., Kurasiak-Popowska, D., Ryńska, B., Bilska, A. (2019). Określenie wpływu zanieczyszczenia ziarna pszenicy grzybami mikroskopowymi oraz ich metabolitami na jakość produktów jego przerobu. *Nauka Przyr. Technol.*, 13, 1, 43–55. <http://dx.doi.org/10.17306/J.NPT.00259>

---

- Buško, M., Perkowski, J., Wiwart, M., Góral, T., Suchowilska, E., Stuper, K., Matysiak, A. (2008). Kinetics of fungal metabolites formation after inoculation of wheat spikes with *F. culmorum*. *Cereal Res. Commun.*, 36A, 443–449.
- Centralny Ośrodek Badania Roślin Uprawnych (2018). Lista odmian roślin rolniczych wpisanych do krajowego rejestru w Polsce. Słupia Wielka: Centralny Ośrodek Badania Roślin Uprawnych.
- Čonková, E., Laciaková, A., Styriak, I., Czerwiecki, L., Wilczinska, G. (2006). Fungal contamination and the levels of mycotoxins (DON and OTA) in cereal samples from Poland and East Slovakia. *Czech J. Food Sci.*, 24, 33–40.
- Converti, A., Bargagliotti, C., Cavanna, C., Nicoletta, C., Del Borghi, M. (1996). Evaluation of kinetic parameters and thermodynamic quantities of starch hydrolysate alcohol fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioproc. Biosyst. Eng.*, 15, 63–69.
- Ćurić, D., Đugum, J., Bauman, I. (2002). The influence of fungal  $\alpha$ -amylase supplementation on amylolytic activity and baking quality of flour. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 37, 673–680.
- Diowski, A. (2004). Biokonserwacja pieczywa dzięki zastosowaniu zakwasu. *Przegląd Piekarski i Cukierniczy*, 4, 6–10.
- Filtenborg, O., Frisvad, J. C., Thrane, U. (1996). Moulds in food spoilage. *Int. J. Food Microbiol.*, 32, 85–102.
- Gąsiorowski, H. (1988). Mikrobiologiczne psucie się pieczywa i metody zapobiegania. *Przegląd Piekarski i Cukierniczy*, 6, 6–7.
- Jackowiak, H., Packa, D., Wiwart, M., Perkowski, J. (2005). Scanning electron microscopy of Fusarium damaged kernels of spring wheat. *Int. J. Food Microbiol.*, 98, 2, 113–223. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.05.014>
- Kawa-Rygielska, J. (2009). Jednoczesna identyfikacja trichotecenów typu A i B oraz zearalenonu w produktach kukurydzianych. *Żywn. Nauk. Technol. Ja.*, 6, 67, 112–118.
- Lakins, D. G., Echeverry, A., Alvarado, C. Z., Brooks, J. C., Brashears, M. T., Brashears, M. M. (2008). Quality of and mold growth on white enriched bread for military rations following directional microwave treatment. *J. Food Sci.*, 73, 99–103. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00677.x>
- Maupetit, P., Gatel, F., Cahagnier, B., Botorel, G., Charlier, M., Collet, B., Dauvillier, P., Laffiteau, J., Roux, G. (1993). Quantitative estimation of fungal infestation of feedstuffs by determining ergosterol content. *Commission of Animal Nutrition*, 16, 20.
- Pacin, A., Bovier, E. C., Cano, G., Taglieri, D., Pezzani, C. H. (2010). Effect of the bread making process on wheat flour contaminated by deoxynivalenol and exposure estimate. *Food Control*, 21, 492–495.
- Perkowski, J., Buško, M., Stuper, K., Kostecki, M., Matysiak, A., Szwajkowska-Michalek, L. (2008). Concentration of ergosterol in small – grained naturally contaminated and inoculated cereals. *Biologia*, 63, 4, 542–547.
- Perkowski, J., Wiwart, M., Buško, M., Laskowska, M., Berthiller, F., Kandler, W., Krska, R. (2003). Fusarium toxins and total fungal biomass indicators in naturally contaminated wheat samples from north-eastern Poland. *Food Addit. Contam. A*, 24, 11, 1292–1298. <https://doi.org/10.1080/02652030701416566>
- Piotrowska, M., Zakowska, Z., Biernasiak, K. (2000). The biodegradation of ochratoxin A in food products by lactic acid bacteria and baker's yeast. *Food Biotechnol.*, 17, 307–310.
- PN-60/A-74007:1960. Przetwory zbożowe. Oznaczanie kwasowości. Warszawa: PKN.
- PN-92/A-74105:1992. Pieczywo pszenne zwykłe i wyborowe. Warszawa: PKN.
- PN-A-74043-3:1994. Ziarno zbóż i przetwory zbożowe. Oznaczanie glutenu mokrego. Mąka pszenna. Warszawa: PKN.
- PN-A-74108:1996. Pieczywo. Metody badań. Warszawa: PKN.

Stuper-Szablewska, K., Przybylska-Balcerek, A., Kurasiak-Popowska, D., Ryńska, B., Bilska, A. (2019). Określenie wpływu zanieczyszczenia ziarna pszenicy grzybami mikroskopowymi oraz ich metabolitami na jakość produktów jego przerobu. *Nauka Przyr. Technol.*, 13, 1, 43–55. <http://dx.doi.org/10.17306/J.NPT.00259>

- PN-ISO 712:2012. Zboża i przetwory zbożowe. Oznaczanie wilgotności. Rutynowa metoda odwoławcza. Warszawa: PKN.
- Pokrzywa, P., Cieślak, E., Topolska, K. (2007). Ocena zawartości mikotoksyn w wybranych produktach spożywczych. *Żywn. Nauk. Technol. Ja.*, 3, 52, 139–146.
- Przybylska, A., Stuper-Szablewska, K., Sawińska, Z., Matysiak, A., Perkowski, J. (2018a). Porównanie stężenia trichotecenów grupy A w naturalnie porażonym ziarnie pszenicy uprawianej w różnych częściach Wielkopolski w latach 2014–2016. W: J. Nyckowiak, J. Leśny (red.). *Badania i rozwój młodych naukowców w Polsce. Nauki przyrodnicze* (s. 107–113). Poznań: Wyd. Młodzi Naukowcy.
- Przybylska, A., Stuper-Szablewska, K., Sawińska, Z., Matysiak, A., Perkowski, J. (2018b). Porównanie stężenia trichotecenów grupy B i zearalenonu obecnych w naturalnie porażonym ziarnie pszenicy uprawianej w różnych częściach Wielkopolski w latach 2014–2016. W: J. Nyckowiak, J. Leśny (red.). *Badania i rozwój młodych naukowców w Polsce. Nauki przyrodnicze* (s. 114–121). Poznań: Wyd. Młodzi Naukowcy.
- Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1881/2006 z 19.12.2006 ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych (2006). *Dz. Urz. UE L* 364/5.
- Stanisławczyk, R., Rudy, M., Świątek, B. (2010). Występowanie mikotoksyn w zbożach i przetworach zbożowych znajdujących się w placówkach handlowych województwa podkarpackiego. *Żywn. Nauk. Technol. Ja.*, 6, 73, 58–66.
- Twarużek, M., Grajewska-Wanat, N., Błajet-Kosicka, A., Grajewski, J. (2013). Występowanie grzybów rodzaju *Fusarium* oraz głównych mikotoksyn w ziarnie zbóż w latach 2011–2012. *Prog. Plant Prot.*, 53, 4, 801–806.
- Wiśniewska, H., Perkowski, J., Kaczmarek, Z. (2004). Scab response and deoxynivalenol accumulation in spring wheat kernels of different geographical origins following inoculation with *Fusarium culmorum*. *J. Phytopathol.*, 152, 613–621. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2004.00904.x>

## DETERMINATION OF INFLUENCE OF CONTAMINATION OF WHEAT GRAIN WITH MICROSCOPIC FUNGI AND THEIR METABOLITES ON THE QUALITY OF PRODUCTS OF GRAIN PROCESSING

### Abstract

Model studies of the influence of changes in the concentration of ERG and trichothecenes in the technological process of the production of bread obtained from flour after grinding grain of two wheat varieties (Torka and Griwa) were made. Grain came from two field experiments: control and inoculated with *Fusarium culmorum*. They were subjected to laboratory milling, and the obtained flour was used for laboratory baking of bread. Based on the obtained results, it was found that the concentration of the fungal metabolites studied as a result of grinding decreased by about 90% in flour, in comparison with the grain. There was a significant accumulation of microscopic fungi and their metabolites in the bran. The increased content of mycotoxins significantly worsened the baking properties of flour, and the bread baked out of it was qualified for the second or third class of bread. A significant effect of storage conditions on the development of fungal microflora and the formation of mycotoxins was found.

The increase in ERG, trichothecenes and CFU number at 84 hours after baking in the case of bread baked from the inoculated Torka wheat flour and at 96 hours in the case of flour in inoculated Griwa wheat was convergent with the observed appearance of the first mold colonies.

Stuper-Szablewska, K., Przybylska-Balcerek, A., Kurasiak-Popowska, D., Ryńska, B., Bilka, A. (2019). Określenie wpływu zanieczyszczenia ziarna pszenicy grzybami mikroskopowymi oraz ich metabolitami na jakość produktów jego przerobu. *Nauka Przyr. Technol.*, 13, 1, 43–55. <http://dx.doi.org/10.17306/J.NPT.00259>

---

The dynamic growth of mold during bread storage is expressed in the number of CFU. The ERG concentration, however, changed exponentially.

**Keywords:** bread, ergosterol, microscopic fungi, flour, storage, trichothecenes

*Adres do korespondencji – Corresponding address:*

*Anna Przybylska-Balcerek, Zakład Chemii Ogólnej, Wydział Technologii DREWNA, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 28, 60-637 Poznań, e-mail: ania\_przybylska18@wp.pl*

*Zaakceptowano do opublikowania – Accepted for publication:*

*15.01.2019*

*Do cytowania – For citation:*

*Stuper-Szablewska, K., Przybylska-Balcerek, A., Kurasiak-Popowska, D., Ryńska, B., Bilka, A. (2019). Określenie wpływu zanieczyszczenia ziarna pszenicy grzybami mikroskopowymi oraz ich metabolitami na jakość produktów jego przerobu. *Nauka Przyr. Technol.*, 13, 1, 43–55. <http://dx.doi.org/10.17306/J.NPT.00259>*