

RENATA BIEŻANOWSKA-KOPEĆ, PAULINA LISZKA,
MAGDALENA SURMA-ZADORA, PAWEŁ M. PISULEWSKI

WPLYW PROCESU TECHNOLOGICZNEGO NA ZAWARTOŚĆ KWASU FOLIOWEGO W PIECZYWIE

Streszczenie

W badaniach modelowych oznaczano zawartość kwasu foliowego na poszczególnych etapach produkcji pieczywa pszennego i żytniego, wypiekanego z mąki wzbogaconej kwasem foliowym w ilości 0,01 g/100 g mąki.

Wyekstrahowanie kwasu foliowego z analizowanych produktów przeprowadzono wg metody podanej przez Gujską i Kuncewicz z modyfikacją zgodnie z PN-EN 14131: 2003, stosując hydrolizę trójenzymatyczną (koniugaza, α -amylaza, proteza). Oznaczenia zawartości kwasu foliowego prowadzono metodą chromatografii cieczowej, wykorzystując wysokosprawy chromatograf cieczowy (La ChromElite, Hitachi) z detektorem UV/VIS. Stwierdzono, że technologiczny proces produkcji chleba wpływał na zmniejszenie zawartości dodanego kwasu foliowego. W przypadku chleba pszennego zawartość kwasu foliowego była w nim mniejsza o 35 % w stosunku do jego ilości w mące, natomiast w chlebie żytnim aż o 62 %. Uwzględniając aspekty bezpieczeństwa żywności, badania technologiczne powinny odzwierciedlać poziom rzeczywistego wzbogacenia produktów zbożowych w kwas foliowy.

Słowa kluczowe: pieczywo, kwas foliowy, wzbogacanie, proces technologiczny, HPLC

Wprowadzenie

Spośród witamin niezbędnych człowiekowi coraz większe zainteresowanie budzi kwas foliowy, należący do witamin z grupy B. Występuje on w wątrobie, drożdżach, surowych zielonych warzywach oraz strączkowych. Kwas foliowy jest witaminą wrażliwą na działanie różnych czynników, takich jak: temperatura, pH środowiska, promieniowanie UV czy obecność tlenu [12]. Problem właściwego spożycia kwasu foliowego należy zaliczyć do czołowych zagadnień w żywieniu, ponieważ jego niedobór jest jedną z najczęściej występujących awitaminoz [18]. Odpowiednia podaż folianów uwzględniana jest w prewencji i leczeniu m. in. wrodzonych wad cewy nerwowej

Dr inż. R. Bieżanowska-Kopeć, mgr inż. P. Liszka, prof. dr hab. P. M. Pisulewski, Katedra Żywienia Człowieka, dr M. Surma-Zadora, Małopolskie Centrum Monitoringu i Atestacji Żywności, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków

u noworodków, chorób układu sercowo-naczyniowego, występowania zaburzeń o charakterze depresyjnym oraz anemii. Ponadto kwas foliowy odgrywa istotną rolę w zmniejszaniu podatności komórek na transformacje nowotworowe [3, 15, 19].

Ze względu na stwierdzone w badaniach populacyjnych, w tym również w Polsce [2], zbyt niskie spożycie folianów w diecie, w wielu krajach uznano za celowe wprowadzanie wzbogacania mąki pszennej w kwas foliowy [15]. W celu zredukowania powszechnego występowania wad cewy nerwowej na terenie Stanów Zjednoczonych, Food and Drug Administration wprowadziła w 1998 r. obligatoryjne wzbogacanie produktów zbożowych w kwas foliowy, w ilości 140 $\mu\text{g}/100$ g produktu [6]. Honein i wsp. [11] udowodnili, że w USA występowanie wad cewy nerwowej obniżyło się o blisko 19 % po wprowadzeniu dodatkowej ilości kwasu foliowego do pieczywa.

W krajach Unii Europejskiej wzbogacanie żywności jest regulowane rozporządzeniem 108/2008 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 15 stycznia 2008 r. [27]. W Polsce aktami regulującymi zasady dotyczące wzbogacania żywności jest ustawa z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia [28] oraz rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 19 grudnia 2002 r. w sprawie substancji wzbogacających dodawanych do żywności i warunków ich stosowania [24]. Z uwagi na to, że w powyższym rozporządzeniu nie zostały określone poziomy zalecanego dziennego spożycia, dlatego wzbogacanie żywności reguluje dodatkowo rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 17 października 2007 r. w sprawie środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego [25] oraz rozporządzenie z dnia 14 listopada 2008 r. zmieniające powyższe rozporządzenie [26]. W polskich i unijnych regulacjach prawnych nie ma określonych dopuszczalnych zakresów wahań między wartością deklarowaną na etykietach produktów, a zawartością rzeczywistą składników odżywczych dodawanych do żywności. Uregulowanie to wymaga uwzględnienia różnorodności produktów wynikających z odmiennego charakteru surowców, strat witamin podczas procesów produkcji oraz przechowywania. Należy również uwzględnić różną stabilność dodawanych składników odżywczych. Biorąc pod uwagę te wszystkie aspekty producenci żywności często stosują wysokie tzw. naddatki technologiczne, aby wartość rzeczywista nie była niższa od wartości deklarowanej, zwłaszcza pod koniec procesu przechowywania. Dobra praktyka produkcyjna wskazuje, że wielkość naddatków nie powinna przekraczać 20 %, chyba że dodany składnik jest stosunkowo labilny. W Polsce wzbogacanie żywności kwasem foliowym, jak dotąd, nie jest obowiązkowe. Pieczywo otrzymywane zarówno z mąki pszennej, jak i żytniej może być potencjalnym produktem przyszłej fortyfikacji kwasem foliowym [9].

Celem niniejszej pracy było określenie wpływu procesu technologicznego (mieszania, fermentacji I, fermentacji II, wypieku) na zawartość kwasu foliowego w pieczywie wypiekany z mąki pszennej i żytniej wzbogaconej w kwas foliowy.

Material i metody badań

Materiałem badawczym były: mąka pszenna handlowa typu 550 i mąka żytnia handlowa typu 2000 (PZZ Kraków), wzbogacone w kwas foliowy (pteroilomonoglutaminowy), półprodukty piekarskie pobierane z poszczególnych etapów procesu produkcji pieczywa (mieszenie, I fermentacja, II fermentacja) oraz produkty końcowe: chleb pszenny i żytni. Do mąki użytej do wypieku pieczywa pszenne i żytnie dodawano kwas foliowy w ilości 0,01 g/100 g mąki. Przedstawione badania są badaniami modelowymi, a zaproponowany poziom kwasu foliowego miał na celu wstępną ocenę zmian zawartości tego składnika podczas procesu technologicznego, uwzględniając jego labilność.

Wypiek pieczywa przeprowadzono dwukrotnie, przygotowując ciasto powszechnie stosowaną metodą bezpośrednią w Katedrze Technologii Węglowodanów Wydziału Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie.

Ciasto na chleb pszenny i żytni sporządzano według receptur podanych w tab. 1.

Tabela 1

Receptura ciasta.
Dough recipe.

Składniki Ingredients	Chleb pszenny Wheat bread [g]	Chleb żytni Rye bread [g]
Mąka pszenna / Wheat flour	100	10
Mąka żytnia / Rye flour	-	90
Drożdże <i>Saccharomyces cerevisiae</i>		
Baker's yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3	3
Sól / Sodium chloride	2	3
Naturalny kwas żytni Bionat		
Natural sourdough produced by a 'Bionat	-	8
Woda / Water	63	76
Kwas foliowy / Folic acid	0,01	0,01

Ciasto sporządzano w szybkoobrotowej mieszarce laboratoryjnej firmy Diosna. W tab. 2. przedstawiono parametry procesu przygotowania ciasta i wypieku pieczywa.

Wilgotność mąki oznaczano zgodnie z PN-91/A-74010 [20], półproduktów piekarskich wg PN-92/A-74100 [21] a miękiszu chleba wg PN-96/A-74108 [22].

Tabela 2

Parametry procesu przygotowania ciasta i wypieku pieczywa.
Process parameters of preparing dough and baking the bread products.

Rodzaj pieczywa Kind of bread	Mieszanie Mixing	Fermentacja ciasta (Fermentacja I) Dough fermentation (Fermentation I) (40 °C, 80 %)	Formowanie kęsów Forming bites	Fermentacja kęsów (Fermentacja II) Fermentation of bites (Fermentation II) (40 °C, 80 %)	Wypiek Baking (230 °C)
Pszenne Wheat	3 min przy wolnych obrotach mieszadła; 9 min przy szybkich obrotach mieszadła	15 min	Masa kęsa Weight of bites 250 g	45 min	25 min
Żytnie Rye	3 min with slow turn mixing; 9 min with fast turn mixing	90 min		60 min	

Wyodrębnienie kwasu foliowego z analizowanych produktów przeprowadzono wg metody podanej przez Gujską i Kunczewicz [10] z modyfikacją zgodnie z PN/EN 14131:2003 [23], stosując hydrolizę trójenzymatyczną. Oznaczenie przebiegało w taki sposób, ażeby uchronić materiał badawczy przed promieniowaniem świetlnym. Odważano po 2,5 g badanego materiału, dodawano po 20 cm³ buforu fosforanowego o pH 6,1 i homogenizowano (30 s, 13500 obr./min) przy użyciu homogenizatora Ultra Turrax T-25, z elementem dyspergującym S 25-18 G. Element dyspergujący przepłukiwano 5 cm³ buforu. Zhomogenizowane próbki wysycano azotem, poddawano gotowaniu (10 min), schładzano lodem i ponownie homogenizowano przy tych samych parametrach. Zhomogenizowane próbki poddawano działaniu enzymów: 1 cm³ α -amylazy i 0,5 cm³ koniugazy, wysycano azotem i inkubowano (37 °C, 4 h), następnie gotowano (5 min) i schładzano lodem. Próbki zadawano kolejnym enzymem – proteazą (2 cm³), wysycano azotem i inkubowano (37 °C, 1 h), następnie gotowano (5 min) i schładzano lodem. Próbki umieszczano w wirówce typu High Speed Brushless Centrifuge MPW-350R, wirowano (6800 obr./min, 4 °C, 15 min). Mierzono objętości supernatantów i przesączano (sączki - Filtrak, typ 289, fi=110 mm). Do probówek pobierano po 1 cm³ przesączu i odwirowywano (18000 obr./min, 4 °C, 15 min). Otrzymane supernatanty przechowywano w temp. -80 °C do momentu przeprowadzenia analizy HPLC.

Próbki poddawano analizie chromatograficznej metodą chromatografii cieczowej, stosując wysokosprawy chromatograf cieczowy (La ChromElite, Hitachi) z detekto-

rem UV/VIS. Rozdział prowadzono w kolumnie LichroCART 250-4 Lichrosphere 100 RP-18 (5 μm) w temp. 22 °C. Jako eluentów używano bufor fosforanowy o pH 5,2 (faza A) i acetonitryl (faza B), przy przepływie 1 cm^3/min . Rejestrację prowadzono przy długości fali $\lambda = 290 \text{ nm}$. Zastosowano następującą elucję: 0 min (100 % bufor), 0 - 10 min gradient do 90 % bufor, 10 - 17 min izokretycznie 90 % bufor, w 18 min 100 % bufor, 18 - 25 min 100 % bufor.

Kwas foliowy identyfikowano na podstawie porównania czasów retencji badanych próbek i wzorca kwasu foliowego ($\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_7\text{O}_6$). Analizę ilościową wykonywano metodą wzorca zewnętrznego. Roztwór wzorcowy trzykrotnie poddawano analizie chromatograficznej HPLC–UV/VIS. Krzywą kalibracyjną, opisaną równaniem $y = 4,29 \cdot 10^{-6}x$, sporządzono w zakresie stężeń 1 - 50 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$.

Uzyskane wyniki poddano jednoczynnikowej analizie wariancji, przy użyciu programu Statistica 6.0. Istotność różnic pomiędzy zawartością kwasu foliowego w poszczególnych etapach procesu technologicznego oceniano przy użyciu testu Dunкана, na poziomie $P = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Witaminy są najbardziej wrażliwymi składnikami żywności. Procesy technologiczne produkcji żywności powodują występowanie ich strat. Znaczne straty folianów, tj. sięgające 50 - 90 % ich zawartości początkowej, występują w czasie gotowania, przetwarzania i przechowywania żywności [7].

Na zawartość witamin w pieczywie może wpływać wiele czynników: rodzaj mąki oraz innych składników ciasta użytych do wypieku, procesy fermentacji, a także czas i temperatura wypieku. W pieczywie stwierdzono mniejszą zawartość kwasu foliowego, w porównaniu z ilością dodaną, co wiąże się ze stratami technologicznymi oraz wpływem wysokiej temp., promieniowania świetlnego i tlenu. W procesach przemysłowego przetwarzania zbóż występują straty związane z przemiałem ziarna na mąkę. Jak podaje Kunachowicz i wsp. [16], zawartość kwasu foliowego w ziarnie pszenicy wynosi 145 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$, mąka pszenna typu 1850 zawiera 109 μg folianów/100 g, ale typ 500 zawiera już tylko 54 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ produktu. W chlebie pszennym stwierdza się zaledwie 30,7 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ produktu. W ziarnie żyta poziom folianów wynosi 113 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$, w mące z pełnego przemiału (typu 2000) 82 μg folianów/ 100g i 23 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ w żytniej jasnej (typu 580). Pieczywo żytnie jasne zawiera tylko 11 μg folianów/100 g produktu.

Proces wypieku chleba działa niszcząco na witaminy, w większym stopniu na powierzchni bochenka chleba (temp. ok. 200 °C), a w mniejszym w środku bochenka, gdzie temp. wynosi ok. 80 - 90 °C [17].

W tab. 3. zestawiono zawartość kwasu foliowego oznaczoną na poszczególnych etapach produkcji pieczywa pszennego.

Tabela 3

Zawartość kwasu foliowego na poszczególnych etapach produkcji pieczywa pszennego.
Folic acid content in individual stages of producing wheat bread.

Etapy produkcji Stages of production	Zawartość kwasu foliowego [mg/ 100 g s.m. produktu] Folic acid content [mg/ 100 g dry basis product]
Mąka pszenna + kwas foliowy Wheat flour + folic acid	11,370 ± 0,05 ^c
Mieszenie Mixing	7,853 ± 0,44 ^b
Fermentacja I Fermentation I	7,560 ± 0,08 ^{ab}
Fermentacja II Fermantation II	7,475 ± 0,10 ^a
Wypiek Baking	7,354 ± 0,06 ^a

Objaśnienia: / Explanatory notes:

± SEM – błąd odchylenia standardowego / standard deviation error;

a, b, c – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $P < 0,05$ /mean values in the columns and denoted by different letters differ significantly at $P < 0.05$.

W mące pszennej zawartość kwasu foliowego była istotnie większa ($P < 0,05$) w porównaniu z jego ilością na poszczególnych etapach produkcji chleba (tab. 3). Istotne różnice ($P < 0,05$) wykazano ponadto pomiędzy mieszeniem a II fermentacją oraz mieszeniem a wypiekiem.

Po mieszeniu zawartość kwasu foliowego była istotnie mniejsza ($P < 0,05$) w porównaniu z wartością początkową, co mogło być spowodowane stratami technologicznymi podczas mieszenia. Ponadto należy wziąć pod uwagę ubytek tej witaminy pod wpływem działania światła oraz tlenu. Procesy fermentacyjne wpłynęły nieznacznie na zmniejszenie zawartości kwasu foliowego w stosunku do mieszenia. Ubytek witaminy wynosił po I i II fermentacji odpowiednio 3,7 % oraz 4,8 %. Gujska i Majewska [9] nie stwierdziły strat kwasu foliowego podczas fermentacji, co mogło być związane z innymi parametrami procesu technologicznego. Ponadto przy mniejszym dodatku kwasu foliowego jego straty mogą być wyrównane w czasie fermentacji. Drożdże *Saccharomyces cerevisiae* mogą podczas wzrostu syntetyzować foliany. Po wypieku stwierdzono mniejszą zawartość kwasu foliowego w pieczywie o 1,6 % w porównaniu z fermentacją II, natomiast w stosunku do ilości kwasu foliowego dodanego do mąki, strata ta wynosiła 35,3 %. W badaniach Gujskiej i Majewskiej [9] za-

wartość kwasu foliowego w chlebie pszennym była mniejsza o 19 % w porównaniu z wartością wyjściową w mące.

W tab. 4. zestawiono zawartość kwasu foliowego oznaczoną na poszczególnych etapach produkcji pieczywa żytniego.

Tabela 4

Zawartość kwasu foliowego na poszczególnych etapach produkcji pieczywa żytniego.

Folic acid content in individual stages of producing rye bread.

Etapy produkcji Stages of production	Zawartość kwasu foliowego [mg/100 g s.m. produktu] Folic acid content [mg/ 100g dry basis product]
Mąka żytnia (90 %) i pszenna (10 %) + kwas foliowy Rye flour (90 %) and wheat flour (10 %) + folic acid	11,227 ± 0,04 ^c
Mieszenie Mixing	4,548 ± 0,08 ^{ab}
Fermentacja I Fermentation I	4,811 ± 0,38 ^b
Fermentacja II Fermentation II	4,486 ± 0,39 ^{ab}
Wypiek Baking	4,264 ± 0,15 ^a

Objaśnienia jak pod tab. 1. / Explanatory notes as in Tab. 1.

W mące przeznaczonej do wypieku pieczywa żytniego zawartość kwasu foliowego była istotnie większa ($P < 0,05$) w porównaniu z półproduktami wytworzonymi na poszczególnych etapach procesu produkcji chleba (tab. 4). Istotnie mniejszą ($P < 0,05$) zawartość tego składnika wykazano pomiędzy procesem I fermentacji a wypiekiem. W pozostałych etapach produkcji (mieszenie, fermentacja II) nie wykazano statystycznie istotnych różnic ($P > 0,05$).

Po mieszeniu zawartość kwasu foliowego była istotnie mniejsza ($P < 0,05$) w porównaniu z jego zawartością w mące, co mogło być spowodowane stratami technologicznymi podczas mieszenia. Ponadto należy wziąć pod uwagę ubytek tej witaminy pod wpływem działania promieniowania świetlnego oraz tlenu. Po I fermentacji nastąpił nieznaczny wzrost kwasu foliowego (około 6 %) w porównaniu z jego ilością po mieszeniu, co mogło być spowodowane obecnością drożdży, które syntetyzują kwas foliowy. Pieczywo żytnie w odróżnieniu od pszennej wytwarzane było z dodatkiem naturalnego kwasu żytniego, a proces fermentacji trwał dłużej. Wg Eskesa [4] procesy fermentacji mogą wpływać na wzrost zawartości folianów poprzez rozwój drożdży,

które są ich bogatym źródłem. Arcot i wsp. [1] stwierdzili wzrost zawartości folianów w cieście po fermentacji, chociaż ich poziom po wypieku był mniejszy o około jedną trzecią. Kariluoto i wsp. [14] dowiedli, że drożdże piekarskie *Saccharomyces cerevisiae* przyczyniają się wyraźnie do końcowej zawartości folianów w pieczywie pszenym, jak i żytnim. Jednakże uzależnione jest to od ilości drożdży oraz ich zdolności do syntetyzowania kwasu foliowego podczas procesów przetwarzania. Po II fermentacji zawartość kwasu foliowego zmniejszyła się o około 3 % w stosunku do I fermentacji. Po wypieku jego koncentracja zmniejszyła się o 4,9 % w porównaniu z fermentacją II. W badaniach Gujskiej i Majewskiej [9] zawartość kwasu foliowego w pieczywie żytnim była mniejsza o 9,4 % w stosunku do ciasta podczas fermentacji. Odnosząc zawartość kwasu foliowego w chlebie do jego ilości wyjściowej w mące, straty te wynosiły 62 %. W pracy Gujskiej i Majewskiej [9] zawartość kwasu foliowego w pieczywie była mniejsza w odniesieniu do mąki o około 21 %. Wyniki innych autorów [8] wskazują, że w chlebie wypieczonym ze wzbogacanej mąki zawartość kwasu foliowego zostaje zachowana na poziomie od 61 do 100 %. Przeciętnie straty kwasu foliowego w chlebie wzbogacanym w tę witaminę, według danych literaturowych, wynoszą 25 %, ale mogą dochodzić nawet do 40 % [5]. Różnice pomiędzy uzyskanymi wynikami a danymi innych autorów mogą zależeć od kilku czynników, m.in. od rodzaju zastosowanego do ekstrakcji buforu. Gujska i Majewska [9] stosowały bufor HEPES/CHES o pH 7,85, a w niniejszej pracy zastosowano bufor fosforanowy o pH 6,1. Inna była także ilość dodanego do mąki kwasu foliowego. Duży wpływ na różnice wyników może mieć również rodzaj mąki i użytych drożdży.

Po wypieku zawartość folianów w chlebie pszenym wynosiła 7354 µg w 100 g s.m. pieczywa, natomiast w chlebie żytnim 4264 µg w 100 g s.m. W przeliczeniu na 100 g świeżego pieczywa pszenego i żytniego zawartość tej witaminy stanowiła odpowiednio 5186 i 2950 µg. Mając na uwadze, że poziom zalecanego spożycia (RDA) kwasu foliowego dla kobiet i mężczyzn powyżej 19. roku życia wynosi 400 µg [13], to stopień realizacji spożycia na powyższą witaminę byłby znacznie przekroczony. W związku z powyższym w kolejnych badaniach należy uwzględnić dużo mniejszy naddatek technologiczny, zgodnie z dobrą praktyką produkcyjną.

Wnioski

1. Proces technologiczny produkcji pieczywa wpływa na obniżenie zawartości kwasu foliowego dodanego do mąki.
2. W chlebie pszenym zawartość kwasu foliowego była mniejsza w odniesieniu do wartości wyjściowej o 35 %, a w chlebie żytnim o 62 %.
3. Uwzględniając aspekty bezpieczeństwa żywności, badania technologiczne powinny odzwierciedlać poziom rzeczywistego wzbogacenia produktów zbożowych w kwas foliowy.

Literatura

- [1] Arcot J., Wootton M., Alury S., Chan H.Y., Shrestha A.K.: Folate levels in twelve Australian wheats and changes during processing into bread. *Food Australia*, 2002, **54**, 18-20.
- [2] Biezanowska-Kopeć R., Leszczyńska T., Pisulewski P.M.: Oszacowanie zawartości folianów i innych witamin z grupy B w dietach młodych kobiet (20-25 lat) z województwa małopolskiego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **6 (55)**, 352-358.
- [3] Das U.N.: Folic acid says NO to vascular diseases. *Nutrition*, 2003, **19**, 686-692.
- [4] Eskes T.K.A.B.: Open or closed? A world of difference: a history of homocysteine research. *Nutrition Reviews*, 1998, **56 (8)**, 236-244.
- [5] Final Assessment Report, Proposal P295: Consideration of Mandatory Fortification with folic acid. Food Standards, Australia, New Zealand 2006.
- [6] Food and Drug Administration. Food standards: amendment of standards of identity for enriched grain products to require addition of folic acid. *Fed Regist.*, 1996, **61**, 8781-8797.
- [7] Food Standards Australian New Zealand, Te Mane Kouna Kai – Ahiteria me Aotearoa. Final Assessment Report Proposal P295. Consideration of Mandatory Fortification with Folic Acid. Attachments, 2006, 8,9,10,12.
- [8] Gregory III J. F.: Dietary folate in a changing environment: bioavailability, fortification, and requirements. *J. Food Sci.*, 2004, **69 (1)**, SNQ59- SNQ61.
- [9] Gujska E., Majewska K.: Effect of baking process on added folic acid and endogenous folates stability in wheat and rye breads. *Plant Food for Human Nutrition*, 2005, **60**, 37-42.
- [10] Gujska E., Kuncewicz A.: Determination of folate in some cereals and commercial cereal-grain products consumed in Poland using trienzyme extraction and high-performance liquid chromatography methods. *Eur. Food Res. Technol.*, 2005, **221**, 208-213.
- [11] Honein M.A., Paulozzi L.J., Mathews T.J., Erickson J.D., Wong L.-Y.C.: Impact of folic acid fortification of the US food supply on the occurrence of neural tube defects. *JAMA*, 2001, **285**, 2981-2986.
- [12] Jantarska D., Ratkowska B., Kunachowicz H.: Wzbogacanie żywności – wartości deklarowane a rzeczywiste. *Przem. Spoż.*, 2007, **1**, 24-26.
- [13] Jarosz M., Bułhak-Jachymczyk B (red): Normy żywienia człowieka. PZWŁ, Warszawa 2008.
- [14] Kariluoto S., Vahteristo L., Salovaara H., Katina K. H., Liukkonen K., Piironen V.: Effect of baking method and fermentation on folate content of rye and wheat breads. *Cereal Chemistry*, 2004, **81**, 134-139.
- [15] Kunachowicz H., Nadolna I., Wojtasik A., Przygoda B.: *Żywność wzbogacana a zdrowie*. Instytut Żywności i Żywienia, Warszawa 2004.
- [16] Kunachowicz H., Nadolna I., Przygoda B., Iwanow K.: *Tabele składu i wartości odżywczej żywności*. Instytut Żywności i Żywienia, Warszawa 2005.
- [17] Mielcarz M.: *Pieczywo źródłem witamin*. Cz. II. Cukiernictwo i Piekarstwo, 2007, **1-2**, 57-60.
- [18] Moszczyński P., Pyć R.: *Biochemia witamin*. Cz. I Witaminy grupy B i koenzymy. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa, Łódź 1998.
- [19] Pietrzyk K., Bronstrup A.: Folate in preventive medicine: A new role in cardiovascular disease, neural tube defects and cancer. *Ann. Nutr. Metab.*, 1997, **41(6)**, 331-343.
- [20] PN-A-74010:1991. Ziarno zbóż i przetwory zbożowe. Oznaczenie wilgotności.
- [21] PN-A-74100:1992. Półprodukty piekarskie. Metody badań.
- [22] PN-A-74108:1996. Pieczywo. Metody badań.
- [23] PN-EN 14131:2003. Artykuły żywnościowe – oznaczanie kwasu foliowego metoda mikrobiologiczną.

- [24] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 19 grudnia 2002 r. w sprawie substancji wzbogacających dodawanych do żywności i warunków ich stosowania. Dz. U. 2003 r., nr 27, poz. 237.
- [25] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 17 października 2007 r. w sprawie środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego. Dz. U. 2007 r., nr 209, poz. 1518.
- [26] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 14 listopada 2008 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego. Dz. U. 2008 r., nr 208, poz. 1313.
- [27] Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady 108/2008 z dnia 15 stycznia 2008r w sprawie dodawania do żywności witamin i składników mineralnych oraz niektórych innych substancji. Dz. U. UE L 39 z 13.2.2008, 11.
- [28] Ustawa z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia. Dz. U. nr 171, poz. 1225, z późn. zm.

EFFECT OF TECHNOLOGICAL PROCESS ON THE CONTENT OF FOLIC ACID IN BREAD

S u m m a r y

Under the model investigations as presented herein, the content of folic acid was determined in individual stages of the technological process of producing wheat and rye bread from the flour fortified with 0.01g/100 g of folic acid.

The extraction of folic acid from the products analyzed was performed according to a method described by Gujska and Kuncewicz and modified pursuant to the Polish Standard PN/EN 14131:2003; a process of tri-enzyme hydrolysis (conjugase, α -amylase, protease) was applied in the extraction. The determination of the folic acid content was carried out by a liquid chromatography method using a high performance chromatograph (La ChromElite, Hitachi) with a UV/VIS detector.

It was found that the technological process of producing wheat and rye bread caused the content of the added folic acid to decrease. As for the wheat bread, the content of folic acid in the final product was by 35 % lower compared to its amount in the flour, and as for the rye bread - by as much as 62 %. The food safety aspects were taken into consideration since the technological investigations should reflect the real level of fortifying cereal products with folic acid.

Key words: folic acid, fortification, bread, technological process, HPLC ☒