

KINGA STUPER, JULIUSZ PERKOWSKI

## ZAWARTOŚĆ ERGOSTEROLU W ZBOŻOWYCH PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH

### Streszczenie

Zawartość biomasy grzybowej wpływa w istotny sposób na ocenę jakości produktów spożywczych. W pracy przedstawiono zawartość biomarkera biomasy grzybowej (ergosterolu-ERG) w ziarnie zbóż, produktach śniadaniowych zawierających otręby oraz płatki zakupione w sieci sklepów detalicznych na terenie miasta Poznania w roku 2008, jak również w mąkach, a także w produktach po przemiale laboratoryjnym. Największą średnią zawartość ERG stwierdzono w otrębach owsianych - wynosiła ona 30,71 mg/kg, natomiast najmniejszą spośród analizowanych otrąb oznaczono w otrębach pszennych - 9,98 mg/kg. Spośród płatków najwięcej ERG stwierdzono w płatkach owsianych - 8,04 mg/kg, a najmniej w pszennych - 0,97 mg/kg. Produkty zawierające dodatki w postaci suszu owocowego zawierały większą ilość ERG niż analogiczne produkty bez dodatków. Przebadano również mąki żytnie, jęczmienne, owsiane oraz pszenne. Porównano zawartość ERG w mąkach w stosunku do otrąb stwierdzając, że zawartość tego metabolitu jest porównywalna we wszystkich zbożach i jest mniejsza w mące średnio o około 97 %. Zawartość tego metabolitu w otrębach była większa w stosunku do ziarna niepoddanego obróbce i wynosiła około 50 %. Obok ww. produktów przemiału badano również zawartość ERG w ziarnie pobranym także w 2008 r. z silosów zbożowych. Najwięcej ERG stwierdzono w ziarnie owsa, najmniej w ziarnie pszenicy odpowiednio 16,11 mg/kg i 4,13 mg/kg.

**Słowa kluczowe:** ergosterol, otręby, płatki, HPLC

### Wprowadzenie

Produkty zbożowe są podstawą piramidy żywieniowej człowieka i zaleca się, aby stanowiły składnik każdego posiłku. Jednym z produktów powstałych w wyniku przemiału zbóż drobnziarnistych są otręby. Powstają one z zewnętrznych warstw ziarniaków jako produkt uboczny podczas przemiału mąki [1, 2]. Zawierają ok. 16 % białka, 4 % tłuszczu, 16 % węglowodanów, naturalny błonnik, witaminy z grupy A, E oraz składniki mineralne.

Obecność błonnika wpływa na prawidłową przemianę materii, wspomaga procesy trawienne oraz perystaltykę jelit. Otręby absorbują z organizmu substancje szkodliwe, zapobiegają chorobom nowotworowym jelita grubego oraz przeciwdziałają rakowi sutka. Dzięki powyższym zaletom są propagowane jako jeden z niezbędnych składników zbilansowanej diety. Stanowią dodatek do pieczywa, także cukierniczego, płatków, musli itp. Używane są też jako swoisty „wypełniacz” dla osób stosujących diety niskokaloryczne – w dużej części są nieprzyswajalne przez organizm, a powodują uczucie sytości.

Grzyby mikroskopowe rozpoczynają zasiedlanie ziarniaków od zewnętrznej ich warstwy [3], dlatego należy się spodziewać, że podczas przemianu zbóż produkty zawierające złuszczone otoczkę ziarniaka (np.: otręby, mąka graham) będą charakteryzowały się większą zawartością biomasy grzybowej, niż powstałe z wewnętrznych warstw ziarniaka (np.: mąka typu 350, mąka tortowa). Obecność biomasy grzybowej jest nierozdzielnie związana z występowaniem drugorzędowych metabolitów grzybowych, takich jak m.in. mikotoksyny. Wpływają one niekorzystnie na organizm człowieka, powodując m.in. mikotoksykozy [5]. Z uwagi na to, że na rynku występuje cały szereg produktów, których głównym składnikiem są otręby, postanowiono sprawdzić ich jakość pod względem zawartości mikroflory grzybowej. Nieliczne, prowadzone w Niemczech oraz we Francji, badania zawartości biomasy grzybowej w otrębach wskazały na podwyższoną zawartość mikroflory grzybowej w badanych próbach [1, 3, 4]. Skłoniło to do podjęcia badań, które miałyby zobrazować zawartość mikroflory grzybowej w krajowych produktach, często spożywanych przez konsumentów jako żywność funkcjonalna. W tym celu wykorzystano jedną z najważniejszych metod oznaczania zawartości bioflory grzybowej, czyli chemiczną analizę jednego ze swoistych metabolitów grzybowych, jakim jest ergosterol (ERG). Nie stwierdza się jego obecności w materiale roślinnym, w związku z czym jest dobrym markerem obecności grzybów mikroskopowych w materiale tego pochodzenia. Zastosowanie tej metody jest tym bardziej słuszne, że zawartość ERG jest w istotny sposób skorelowana z zawartością mikotoksyn w produkcie, co przedstawiono we wcześniej prowadzonych badaniach [2, 3, 7, 8].

Celem przedstawionych badań było określenie obecności grzybów mikroskopowych mierzonych zawartością ergosterolu w produktach spożywczych. Podjęto również próbę zróżnicowania produktów przerobu różnych rodzajów zbóż w zależności od tej cechy.

### **Materiał i metody badań**

Przebadano 18 prób otrąb, 14 prób otrąb z dodatkami, 20 prób płatków oraz 15 prób płatków z dodatkami (musli) zakupionych w 2008 roku w sieci sklepów detalicznych na terenie miasta Poznania. W przypadku prób z dodatkami, dodatki stanowiły

suszone owoce oraz orzechy. Badano również próby mąk komercyjnych zakupionych w sieci sklepów detalicznych na terenie miasta Poznania w analogicznym okresie: owsianych typu 650 (n = 12), jęczmiennych typu 650 (n = 12), pszennych typu 650 (n = 20) oraz żytnich typu 1850 (n = 12). Przebadano także 58 prób ziarna (o masie 5000 g każda) pochodzących z 4 zbóż (żyto, owies, jęczmień, pszenica) pobranych w 2008 roku z silosów na terenie 6 województw Polski (Wielkopolskie, Lubuskie, Lubelskie, Dolnośląskie, Śląskie, Opolskie). Dodatkowo przeprowadzono także przebieg laboratoryjny przy użyciu młyna laboratoryjnego (Brabender, Duisburg, model 380) prób o masie 2000 g o znanej zawartości ERG wynoszącej 14,24 mg/kg. W wyniku przebiegu uzyskano m.in. mąkę typu 650, mąkę typu 1850 oraz otręby grube.

W przeprowadzonych badaniach stosowano zmodyfikowaną metodę oznaczania ERG opisaną szczegółowo w pracy Perkowskiego i wsp. [6], polegającą na uwolnieniu tego metabolitu z badanego materiału biologicznego za pomocą saponifikacji wspomaganą promieniowaniem mikrofalowym z jednoczesną ekstrakcją. Analizę ERG prowadzono za pomocą HPLC z detektorem absorpcyjnym. Pomiar stężenia ERG następował przy długości fali  $\lambda = 282$  nm przy użyciu wzorca zewnętrznego. Identyfikacja związku odbywała się na podstawie porównania czasu retencji badanego pliku z czasem retencji standardu oraz poprzez dodanie do badanej próbki określonej ilości standardu i powtórny analizę. Odzysk ERG wynosił 97 %, natomiast poziom wykrywalności 0,02 mg/kg.

## Wyniki i dyskusja

Wyniki badań zawartości ergosterolu pozwoliły stwierdzić, że w produktach przemiału (mąkach) zawartość ERG była mała, niższa niż postulowana przez badaczy europejskich [9] wartość graniczna poniżej 3 mg/kg, stanowiąca bezpieczny poziom w żywności. Zawartość ERG w niebadanych dotychczas w Polsce produktach śniadaniowych była wyższa. Więcej ERG stwierdzono w produktach zawierających dodatki niż w samych płatkach i otrębach (tab. 1). Wynika to prawdopodobnie z różnej zawartości wilgoci oraz odmiennego procesu technologicznego. Stwierdzono, że płatki miały mniejszą zawartość ERG niż otręby [5, 10]. Dodatkowo płatki i otręby z dodatkami są bardziej narażone na skażenie mikrobiologiczne z uwagi na to, że aktywność wody suszu owocowego jest wyższa niż części zbożowej, co sprzyja rozwojowi grzybów mikroskopowych. Ogólnie produkty pszenne zawierały mniej ERG we wszystkich badanych grupach, natomiast produkty owsiane najwięcej. Podobną relację obserwowali Maupetit i wsp. [1], którzy stwierdzili, że zakres stężenia ERG w otrębach pszennych wynosił od 4,8 do 44 mg/kg, natomiast w płatkach wahał się od 0,12 do 10 mg/kg.

Tabela 1

Zawartość ERG w produktach śniadaniowych z uwzględnieniem rodzaju zboża.  
Cereal kind-referred content of ERG in breakfast foodstuffs.

| Rodzaj zboża<br>Kind of cereal | Zawartość ERG [mg/kg] / Content of ERG [mg/kg] |                                             |                |                                           |
|--------------------------------|------------------------------------------------|---------------------------------------------|----------------|-------------------------------------------|
|                                | Płatki<br>Flakes                               | Płatki z dodatkami<br>Flakes with additives | Otręby<br>Bran | Otręby z dodatkami<br>Bran with additives |
| Żyto / Rye                     | 5,12                                           | 4,69                                        | 21,08          | 25,94                                     |
| Owies / Oat                    | 8,04                                           | 10,27                                       | 30,71          | 35,31                                     |
| Jęczmień / Barley              | 1,18                                           | 7,34                                        | 17,42          | 15,78                                     |
| Pszenica / Wheat               | 0,97                                           | 3,08                                        | 9,98           | 15,77                                     |

Tabela 2

Średnia zawartość ERG w ziarnie, otrębach spożywczych i w mąkach typu 650 z uwzględnieniem rodzaju zboża.

Cereal kind-referred mean content of ERG in grain, food bran, and in flours of the 650 type.

| Rodzaj zboża<br>Type of cereal | Zawartość ERG / Content of EGR [mg/kg] |               |              |
|--------------------------------|----------------------------------------|---------------|--------------|
|                                | Ziarno / Grain                         | Otręby / Bran | Mąka / Flour |
| Żyto / Rye                     | 12,09                                  | 21,08         | 0,70         |
| Owies / Oat                    | 16,11                                  | 30,71         | 0,98         |
| Jęczmień / Barley              | 9,21                                   | 17,42         | 0,58         |
| Pszenica / Wheat               | 4,13                                   | 9,98          | 0,34         |

Porównawczo analizie zawartości ERG poddano również zakupione w sieci sklepów detalicznych na terenie miasta Poznania w analogicznym okresie mąki żytnie, owsiane, jęczmienne oraz pszenne. Średnio, najmniej ERG było w mąkach pszennych i wynosiło 0,34 mg/kg, natomiast najwięcej w mąkach owsianych - 0,98 mg/kg (tab. 2). Dodatkowo przebadano także mąki żytnie o wyższym typie wyciągu (typu 1850) stwierdzając, że zawartość ergosterolu w mące tego typu wynosiła 2,73 mg/kg i była znacznie większa w stosunku do uprzednio przebadanej mąki typu 650. Wysoko wyciągowe mąki w swoim składzie zawierają zewnętrzne warstwy ziarniaków, w których istnieje większe prawdopodobieństwo stwierdzenia obecności grzybów mikroskopowych. Potwierdziły to obliczone krotności zawartości ilości ERG w mąkach w stosunku do otrąb (tab. 3). W przypadku produktów owsianych, jęczmiennych, pszennych oraz żytnich uzyskane wyniki były niemal identyczne. Natomiast w produktach żytnich (typu 1850) krotność ta była istotnie wyższa i wyniosła 0,13, co wynikało z różnicy w stopniu przemiału ziarna. Uzyskane wyniki zostały potwierdzone w procesie techno-

logicznym przemiału żyta, w wyniku którego uzyskano mąki typu 650, a współczynnik krotności wyniósł 0,03, tak jak innych zbóż. W celu sprawdzenia wykonano doświadczalny przemiał laboratoryjny ziarna żyta, które zawierało 14,24 mg/kg ERG. Po przemiale oznaczono zawartość ERG, którego w uzyskanej mące typu 650 było 0,85 mg/kg, a w otrębach 27,56 mg/kg. W tym przypadku wyznaczona krotność zawartości ERG w mąkach w stosunku do otrąb wyniosła 0,03, podobnie jak w innych przytoczonych w tekście obserwacjach.

T a b e l a 3

Wyznaczone współczynniki krotności zawartości ERG w ziarnie, mąkach (typu 650) oraz otrębach, jak również w produktach przemiału laboratoryjnego.

The determined coefficients of multiplication of the ERG content in grain, flours (type 650), and in bran, as well as in the products milled in laboratory.

| Rodzaj zboża<br>Type of cereal | Krotność zawartości ERG<br>Multiplication of the ERG content |                           |                             |                            |
|--------------------------------|--------------------------------------------------------------|---------------------------|-----------------------------|----------------------------|
|                                | Mąka/Otręby<br>Flour/Bran                                    | Otręby/Mąka<br>Bran/Flour | Ziarno/Otręby<br>Grain/Bran | Ziarno/Mąka<br>Grain/Flour |
| Żyto* / Rye*                   | 0,03                                                         | 32,42                     | 0,52                        | 16,75                      |
| Żyto / Rye                     | 0,03                                                         | 33,46                     | 0,57                        | 17,27                      |
| Owies / Oat                    | 0,03                                                         | 31,34                     | 0,52                        | 16,44                      |
| Jęczmień / Barley              | 0,03                                                         | 30,03                     | 0,53                        | 15,88                      |
| Pszenica / Wheat               | 0,03                                                         | 29,35                     | 0,52                        | 15,21                      |

\* Wyniki uzyskane z przemiału laboratoryjnego / Results obtained from the milling process performed in the laboratory

## Wnioski

1. Stwierdzono, że zawartość mikroflory grzybowej mierzonej ilością ERG zależy od rodzaju ziarna.
2. Największą zawartość ERG stwierdzono w ziarnie owsa i produktach jego przemiału, mniejsze kolejno w ziarnie żyta i produktach jego przemiału, ziarnie jęczmienia i produktach jego przemiału, a najmniej było go w ziarnie pszenicy i produktach jej przemiału.
3. Stwierdzono, że zawartość mikroflory grzybowej zależy od użytego procesu technologicznego.
4. Zawartość biomasy grzybowej w produktach mniej przetworzonych, takich jak otręby, w stosunku do produktów wysoko przetworzonych, takich jak mąki, jest wielokrotnie wyższa i wynosi ponad 95 %, natomiast w stosunku do ziarna niepoddanego obróbce wynosi około 50 %.

5. Wśród badanych produktów największą zawartość ergosterolu stwierdzono w otrębach oraz płatkach, a najmniejszą w mąkach.
6. Określono również krotności zawartości ergosterolu produktów przemiału wszystkich zbóż w kombinacji: ziarna, mąki oraz otrąb. W przypadku wysokich zbóż były one istotnie porównywalne.

*Praca była prezentowana podczas XIII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Łódź, 28 - 29 maja 2008 r.*

### Literatura

- [1] Maupetit P., Gatel F., Cahagnier B., Botorel G., Charlier M., Collet B., Dauvillier P., Laffiteau J., Roux G.: Quantitative estimation of fungal infestation of feedstuffs by determining ergosterol content. 44<sup>th</sup> Annual Meeting of EAAP Aarhus, Denmark 1993, pp. 16-19.
- [2] Miedaner T., Perkowski J.: Correlations among *Fusarium culmorum* head blight resistance, fungal colonization and mycotoxin contents in winter rye. *Plant Breed.*, 1996, **115**, 347-351.
- [3] Müller H.M., Metzger K.U., Modi R., Reimann J.J.: Ergosterin und fusarientoxine in weizenkleie und weizen. *J. Anim. Physiol. a Anim. Nutr.*, 1994, **7**, 48-55.
- [4] Müller H.M., Schwadorf K.: Ergosterol and fungal count in cereal by-products. *J. Anim. Physiol. a Anim. Nutr.*, 1990, **64**, 215-219.
- [5] Perkowski J.: Tworzenie mikotoksyn w zbożach przez grzyby rodzaju *Fusarium*. *Post. Nauk Rol.*, 1993, **242**, 67-82.
- [6] Perkowski J., Buśko M., Stuper K., Kostecki M., Matysiak A., Szwajkowska-Michalek L.: Concentration of ergosterol in small – grained naturally contaminated and inoculated cereals. *Biologia*, 2008, **63/4**, 542 -547.
- [7] Perkowski J., Wiwart M., Buśko M., Laskowska M., Berthiller F., Kandler W., Krska R.: *Fusarium* toxins and total fungal biomass indicators in naturally contaminated wheat samples from north-eastern Poland in. *Food Add & Contamin.*, 2003, **24**, 11, 1292 – 1298.
- [8] Saxena, J., Munimbazi, C., and Bullerman, L. B. Relationship of mould count, ergosterol and ochratoxin A production. *Int. J. Food Microbiol.*, 2001, **71**, 29-34
- [9] Schnürer J., Jonsson A.: Ergosterol levels and mould colony forming units in Swedish grain of food and feed grade. *Acta Agric. Scan., Sect. B, Soil and Plant Sci.*, 1992, **42**, 240-245.
- [10] Szwajkowska L., Buśko M., Kostecki M., Perkowski J.: Zawartość ergosterolu w mąkach spożywczych. *Biuletyn Naukowy UWM*. 2003, **22**, 101-105.

### CONTENT OF ERGOSTEROL IN FOOD PRODUCTS OF CEREALS

#### Summary

The content of fungal biomass essentially impacts the quality assessment of food products. In this paper, the content of ergosterol (ERG) was presented, i.e. of a fungal biomass bio-indicator in cereal grain, in breakfast foodstuffs containing bran and flakes that were purchased in shops of a retail network in Poznań in 2008, as well as in flours and in the products milled in a laboratory. The highest mean content of ERG was found in oat bran: 30.71 mg/kg, whilst the lowest ERG content, among all the bran types analysed,

was reported in wheat bran: 9.98 mg/kg. Among all the corn flakes tested, the oat flakes were reported to contain the highest amount of ERG: 8.04 mg/kg, and the wheat flakes - the lowest: 0.97 mg/kg. The products containing additives in form of dehydrated fruits had a higher amount of ERG than the analogous products without additives. The rye, barley, oat, and wheat flours were also investigated. The content of ERG in the flours and in the bran tested was compared; it was found that the content of this metabolite was comparable in all the cereal types, and, as for the flours, it was lower by about 97 %. The content of this metabolite in the bran tested was higher if compared with the non-processed grain, and the ERG concentration was higher by about 50 %. In addition to the above mentioned milled products, the content of ERG was also analyzed in the grain gathered in 2008 and stored in cereal storage silos. Here, the highest ERG concentration was found in the oat grain: 16.11 mg/kg, and the lowest in the wheat grain: 4.13 mg/kg.

**Key words:** ergosterole, bran, flakes, HPLC 