

MAŁGORZATA MIŚNIAKIEWICZ

WPLYW PROCESU FERMENTACJI NA POZIOM ZANIECZYSZCZEŃ CIASTA CHLEBOWEGO

Streszczenie

Fermentacja jest bardzo istotnym etapem procesu produkcji pieczywa. W wyniku działania odpowiedniej mikroflory zawartej w cieście, głównie drożdży z rodzaju *Saccharomyces* i/lub bakterii kwasu mlekowego, następuje jego spulchnienie i wytworzenie specyficznego smaku i aromatu chleba oraz zablokowanie wzrostu niepożądanego mikroflory, pochodzącej z mąki. Podczas fermentacji ciasta zachodzi także szereg przemian, których charakter nie do końca został poznany, a które mogą wpływać na bezpieczeństwo zdrowotne wyrobu finalnego.

W celu określenia wpływu procesu fermentacji na zawartość wybranych kontaminantów w ciastach sporządzonych na podstawowe rodzaje chleba oznaczono zawartość: kadmu, ołowiu, rtęci, pozostałości pestycydów chloroorganicznych oraz ochratoksyny A. Analizy przeprowadzono w ciastach uzyskanych bezpośrednio po wymieszeniu oraz w kęsach tych samych ciast poddanych procesowi fermentacji i rozrostu końcowego, tuż przed wypiekiem pieczywa. Po procesie fermentacji ciasta stwierdzono większą zawartość metali toksycznych, zwłaszcza kadmu i ołowiu, a mniejszą pozostałości pestycydów chloroorganicznych. Pozytywnym skutkiem procesu fermentacji ciasta okazała się znacząca redukcja zawartości OTA.

Słowa kluczowe: fermentacja, pozostałości pestycydów chloroorganicznych, metale toksyczne, OTA

Wprowadzenie

Problematyce zapewnienia bezpieczeństwa zdrowotnego żywności poświęca się obecnie dużo uwagi zarówno w badaniach naukowych, jak i w praktyce gospodarczej. Zawartość zanieczyszczeń w produktach żywnościowych jest prawnie regulowana [20, 21, 22], w związku z czym występują one na ogół w ilościach śladowych. Niemniej jednak człowiek jest na nie narażony w sposób ciągły, np. spożywając codziennie pieczywo. W wielu przypadkach może dochodzić do kumulacji szkodliwych substancji w organizmie. Dlatego też związki, takie jak: kadm, ołów, rtęć, pozostałości pestycydów chloroorganicznych oraz ochratoksyna A są szczególnie niepożądane w przetworach

zbożowych ze względów zdrowotnych [10, 12, 23], a ich zawartość jest normowana w aktach prawnych UE, w grupie substancji zanieczyszczających ziarno zbóż [21, 22]. Potwierdzają to wyniki badań prowadzonych w ramach krajowego monitoringu skażeń surowców rolnych i żywności, z których wynika, że pieczywo powinno być badane na zawartość tych zanieczyszczeń [18, 19, 27]. Jednocześnie coraz większego znaczenia nabierają badania procesów, które przyczyniają się do ograniczenia zawartości zanieczyszczeń w żywności. Jednym z nich jest proces fermentacji ciasta.

W przypadku ciasta chlebowego czynnikami, które inicjują fermentację są przede wszystkim drożdże z rodzaju *Saccharomyces* (ciasta pszenne) i/lub bakterie kwasu mlekowego (ciasta mieszane i żytnie). Prawidłowo prowadzona fermentacja zapewnia właściwe ukwaszenie ciasta i nagromadzenie odpowiedniej ilości związków organicznych (kwasów tłuszczowych, estrów, alkoholi, amin), które decydują o mechanicznej strukturze chleba i jego cechach sensorycznych [1]. W piekarnictwie obserwuje się tendencję maksymalnego skracania procesu fermentacji i wypiek pieczywa metodami bezpośrednimi, często z gotowych mieszanek o odpowiednio dobranym składzie. Proces fermentacji ciasta został szczegółowo zbadany i opisany m.in. przez Ambroziaka [2], Czarnecką [6], Adamsa i Nouta [1], Cauviana [4] czy Cauviana i Young [5], jednak wpływ procesu fermentacji na przemiany ilościowe substancji niepożądanych pod względem zdrowotnym w chlebie nie został w pełni wyjaśniony.

Celem niniejszej pracy było określenie wpływu procesu fermentacji ciasta sporządzonego na podstawowe rodzaje chleba na zmiany zawartości poszczególnych substancji zanieczyszczających ciasto, a w konsekwencji pieczywo.

Material i metody badań

Przedmiotem badań było ciasto przygotowane na chleby: tostowy, graham, mieszany i żytnio-razowy, uzyskane bezpośrednio po zagniataniu oraz to samo ciasto po poddaniu procesowi fermentacji i rozrostu końcowego. Próbkę ciasta (po 30 kęsów, przed i po procesie fermentacji) pobierano tuż przed wypiekiem pieczywa bezpośrednio z linii produkcyjnej w dwóch krakowskich piekarniach – Geth i Henpol, w 2006 roku. Podstawowe surowce do produkcji chleba pochodziły z tych samych źródeł – mąka z PZZ Kraków, a woda z krakowskiego Zakładu Uzdatniania Wody ‘Raba’.

Skład analizowanych rodzajów ciasta chlebowego z piekarni Geth:

- ciasto na chleb tostowy – mąka pszenna typu 550, drożdże, woda, cukier, sól, margaryna, polepszacz Olimpia Pure n (skład: mąka pszenna, enzymy, środek do przetwarzania mąki, kwas askorbinowy E 300, może zawierać śladowe ilości soi, gorczyca, sezamu, jaj i produktów mlecznych; dozowanie 0,3 - 0,5 kg na 100 kg mąki),

- ciasto na chleb graham – mąka pszenna typu 1850, mąka pszenna typu 750, mąka żytnia typu 720, kultury starterowe (zakwas), płatki ziemniaczane, drożdże, woda, olej, sól,
- ciasto na chleb pszenno-żytni (zwykły o składzie ilościowym mąki pszennej do żytniej 70 : 30 m/m) – mąka pszenna typu 750, mąka żytnia typu 720, kultury starterowe (zakwas), drożdże, sól, polepszacz IC-2 (skład: cukier, mąka pszenna, mąka sojowa, kwas askorbinowy E 300, preparat enzymatyczny; dozowanie – 0,1 kg na 100 kg mąki), woda,
- ciasto na chleb żytni razowy – mąka żytnia typu 2000, mąka pszenna typu 750, kultury starterowe (zakwas), drożdże, sól, cukier, woda.

Skład analizowanych rodzajów ciasta chlebowego z piekarni Henpol:

- ciasto na chleb tostowy – mąka pszenna typu 550, drożdże, woda, sól, polepszacz Uniplus (skład: gluten pszenny, olej roślinny, przeżelatynizowana mąka pszenna, kwas askorbinowy E 300, enzym α -amylaza, nie modyfikowany genetycznie; dozowanie 1,0 - 2,0 % w stosunku do masy użytej mąki), cukier, olej,
- ciasto na chleb graham – mąka pszenna typu 1850, mąka pszenna typu 750, zakwas, drożdże, sól, woda,
- ciasto na chleb krakowski – mąka żytnia typu 720, mąka pszenna typu 750, zakwas, drożdże, polepszacz Uniplus (skład: gluten pszenny, olej roślinny, przeżelatynizowana mąka pszenna, kwas askorbinowy E 300, enzym α -amylaza, nie modyfikowany genetycznie; dozowanie 1,0 - 2,0 % w stosunku do ilości użytej mąki), sól, woda,
- ciasto na chleb żytni-razowy – mąka żytnia typu 720, mąka pszenna typu 750, mąka żytnia razowa typu 2000, zakwas płynny, drożdże, polepszacz Uniplus (skład: gluten pszenny, olej roślinny, przeżelatynizowana mąka pszenna, kwas askorbinowy E 300, enzym α -amylaza, niemodyfikowany genetycznie; dozowanie 1,0 - 2,0 % w stosunku do ilości użytej mąki), sól, woda.

W ciastach na chleb tostowy, pochodzących z obu piekarni, proces fermentacji zachodził pod wpływem drożdży (fermentacja alkoholowa, podczas której wytwarzana jest znaczna ilość CO₂, który spulchnia ciasto), a w przypadku pozostałych rodzajów chleba czynnikami inicjującymi fermentację i wpływającymi na jej przebieg była mieszanina drożdży, a ściślej podmlody sporządzonej z ich udziałem i zakwasu, stosowanych, w zależności od rodzaju chleba, w różnych proporcjach (fermentacja mlekowa i etanolowa, w trakcie której wytwarza się CO₂, znaczna ilość kwasu mlekowego, alkohol etylowy i kwas octowy). Do wytworzenia podmlody używano 30 - 50 % mąki, 50 - 70 % wody oraz całą ilość drożdży przewidzianą recepturą. W piekarni Geth zakwas wytwarzano z gotowej mieszaniny, przez szczepienie kultur starterowych firmy IsernHäger StartGut Brotfermentation, które łączono z wodą, częścią mąki żytniej i określoną ilością czerstwego pieczywa żytniego i pszenno-żytniego, pozostałego

w piekarni z wcześniejszych cykli produkcyjnych. Ma to na celu przede wszystkim namnożenie specjalnie wyselekcjonowanych bakterii kwasu mlekowego, które zdominują mikroflorę o nieznanym składzie pochodzącą z mąki i innych składników recepturowych chleba. Dzięki temu zyskuje się większą powtarzalność i stabilność zakwasu, a pośrednio następuje spowolnienie procesu ukwaszania ciasta i złagodzenie smaku chleba uzyskanego z tak sporządzonego zakwasu. Jego pełne ukwaszanie trwa 42 h.

W piekarni Henpol stosowano zakwas tradycyjnie sporządzony metodą trójfazową, najczęściej z gotowego zaczątku, który jest niewielką ilością dojrzałego kwasu pobranego z poprzedniego cyklu fermentacyjnego, połączonego z odpowiednią ilością wody i mąki żytniej.

Ciasto na chleb tostowy, w przypadku piekarni Geth, prowadzono metodą pośrednią – dwufazową, co sprowadzało się do wykorzystania we wstępnej fazie podkłody, którą po przefermentowaniu uzupełniano pozostałymi surowcami i w efekcie wytwarzano ciasto właściwe, zaś w przypadku piekarni Henpol metodą bezpośrednią (jednofazową).

Ciasto na chleb graham w przypadku obu piekarni otrzymywano w wyniku fermentacji dwufazowej. Proces fermentacji zachodził pod wpływem drożdży oraz dodatku kultur starterowych lub zakwasu.

Ciasto na chleb mieszany w piekarni Geth przygotowywano metodą jednofazową, natomiast w piekarni Henpol dwufazową – osobno prowadzono zakwas i osobno roztwór na drożdżach, a następnie łączono je w końcowej fazie wytwarzania ciasta, dozując pozostałą ilość mąki pszennej, wynikającą z receptury.

Ciasta na chleby żytnie przygotowywano, wykorzystując fermentację prowadzoną metodą dwufazową, a nie tradycyjną pięcioletnią, zalecaną przez technologów piekarstwa [24, 25]. W piekarni Geth stosowano przy tym zakwas sporządzany z gotowej mieszaniny uzyskanej przez szczepienie wyselekcjonowanych kultur starterowych (zakwas przygotowywany jest w ilości wystarczającej, przy zadanej wielkości produkcji chleba, na tydzień). W piekarni Henpol stosowano zakwas sporządzony tradycyjnie metodą trójfazową.

Pobrane próbki ciasta chlebowego poddano analizie na zawartość:

- kadmu i ołowiu w spektrometrze absorpcji atomowej – Spectr AA250 plus firmy Varian, z wykorzystaniem kuwety grafitowej GTA 100 firmy Varian oraz argonu, metodą GF AAS. Oznaczenie kadmu prowadzono przy długości fali 228,8 nm, a ołowiu przy 283,3 nm. W obu przypadkach stosowano program temperaturowy standard, a jako korekcję tła lampę deuterową. Objętość dozowanej próbki przy oznaczaniu kadmu wynosiła 20 μ l, a przy oznaczaniu ołowiu 21 μ l. Wzorce stanowiły standardy firmy Fluka – Cadmium Atomic Spectroscopy Standard Solution Fluka, nr katalogowy 20895 – przy oznaczaniu kadmu i Lead Atomic Spectroscopy Standard Solution Fluka, nr katalogowy 15314 – przy oznaczaniu ołowiu. Sto-

- sowano certyfikowany materiał odniesienia - Wholemeal Flour BCR-189 firmy Prochem. Odzysk kadmu (Cd) wynosił $97,3 \pm 2$ %, zaś ołowiu (Pb) $109,8 \pm 2$ %;
- rtęci metodą absorpcji atomowej, odzysk rtęci (Hg) wynosił $99,1 \pm 3$ %. Wzorzec stanowiła mąka sojowa (INCT-SBF-4) stężenie Hg 1 ng/g, której dystrybutorem był Instytut Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie;
 - ochratoksyny A techniką HPLC z detekcją fluorymetryczną. Granica wykrywalności metody oznaczania ochratoksyny A wynosi $0,015$ µg/kg, średni odzysk 86 ± 2 %.
 - pozostałości pestycydów chloroorganicznych (oznaczano lindan, aldrin, dieldrin, o,p-DDT, p,p-DDT, o,p-metoksychlor, p,p-metoksychlor oraz metabolit pestycydów 3,5-dichloroaniline) techniką chromatografii gazowej z detektorem ECD. Jako wzorzec stosowano mieszaninę wzorców o odpowiednich stężeniach dostarczoną przez Instytut Przemysłu Organicznego w Warszawie.

Warunki analizy chromatograficznej były następujące: kolumna kapilarna HT8 SGE, $30 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm}$, $df = 0,25 \text{ }\mu\text{m}$, temp. dozownika 220 °C, temp. detektora ECD – 300 °C, gaz nośny azot, szybkość przepływu gazu nośnego przez kolumnę 1 ml/min , temp. pieca kolumn – 60 °C zatrzymane na 1 min , $60 - 200$ °C ze wzrostem temp. 20 °C/min w ciągu 7 min , $200 - 250$ °C ze wzrostem temp. 4 °C/min, w ciągu $12,5 \text{ min}$, 250 °C zatrzymane na 5 min , $250 - 260$ °C ze wzrostem temp. 4 °C/min w ciągu $2,5 \text{ min}$, 260 °C zatrzymane na 4 min . Całkowity czas analizy 32 min .

Wartości średnie odzysku poszczególnych pestycydów wynosiły: lindan (γ -hch) – 94 ± 2 %, aldrin – 92 ± 3 %, dieldrin – 87 ± 2 %, endrin – 89 ± 3 %, o,p-DDT – 82 ± 3 %, p,p-DDT – 81 ± 3 %, o,p-metoksychlor – 78 ± 1 %, p,p-metoksychlor – 76 ± 2 %, 3,5-dichloroanilina – 91 ± 3 %, heksachlorobenzen – 94 ± 2 %.

Wyniki i dyskusja

Wyniki zawartości zanieczyszczeń poszczególnych rodzajów ciasta chlebowego, przed i po procesie fermentacji, przedstawiono w tab. 1 i 2.

W celu wykazania wpływu procesu fermentacji na zawartość niepożądanych składników ciasta analizie poddano i porównano ich zawartość w ciastach, w których zastosowano fermentację alkoholową (ciasta na chleb tostowy), z zawartością tych składników w ciastach, w których zastosowano fermentację alkoholową i mlekową (ciasta na chleb graham i ciasto na chleb pszenno-żytni) oraz fermentację mlekową (ciasta na chleb żytni).

Rozpatrując zawartość metali toksycznych (kadmu i ołowiu) we wszystkich analizowanych rodzajach ciasta, niezależnie od rodzaju fermentacji, stwierdzono zwiększenie ich zawartości w ciastach po procesie fermentacji. W przypadku zawartości kadmu w wyniku procesu fermentacji alkoholowej najbardziej zwiększyła się zawartość tego metalu w ciastach na chleb tostowy - o $5,1$ % w przypadku ciasta z piekarni

T a b e l a 1

Zawartość zanieczyszczeń ciasta, przygotowanego do wypieku przez piekarnię Geth, przed i po procesie fermentacji.
Content of contaminants in bread dough made by Geth bakery before and after the fermentation process.

Parametr Parameter	Miarą Measure	Ciasto na chleb / Bread dough											
		tostowy / toast bread		graham / graham bread		pszemno-żytni / wheat-rye		żytni / rye bread					
		przed/before	po/after	przed/before	po/after	przed/before	po/after	przed/before	po/after	przed/before	po/after	przed/before	po/after
Kadm / Cadmium [µg/kg]	\bar{X}	36,15	38,00	44,59	46,60	80,05	81,13	71,95	74,40				
	x_{min}	36,05	37,85	44,50	46,56	80,00	81,03	71,70	74,26				
	x_{max}	36,30	38,10	44,68	46,65	80,42	81,35	72,18	74,55				
Ołów / Lead [µg/kg]	\bar{X}	120,52	123,14	100,44	102,72	209,75	217,20	108,50	109,70				
	x_{min}	120,30	123,00	100,05	102,65	209,60	217,00	108,41	109,59				
	x_{max}	120,88	123,32	100,60	102,79	210,05	217,30	108,55	109,75				
Rtęć / Mercury [µg/kg]	\bar{X}	0,58	0,59	1,89	1,90	0,7	0,7	1,6	1,6				
	x_{min}	0,57	0,58	1,87	1,90	0,7	0,6	1,5	1,6				
	x_{max}	0,60	0,59	1,90	1,91	0,7	0,7	1,7	1,7				
Ochrotoksyna A Ochrotoxin A [µg/kg]	\bar{X}	0,075	0,030	0,190	0,076	0,300	0,078	0,697	0,314				
	x_{min}	0,074	0,030	0,185	0,075	0,292	0,078	0,685	0,310				
	x_{max}	0,077	0,030	0,194	0,080	0,305	0,079	0,700	0,318				
3,5-dichloroanilina 3,5-dichloroanilin [µg/100 g]	\bar{X}	59,04	56,54	95,72	92,96	40,50	36,72	56,00	53,95				
	x_{min}	58,96	56,50	95,69	92,85	40,50	36,65	56,00	53,80				
	x_{max}	59,12	56,60	95,80	93,00	40,50	36,81	56,05	53,99				

γ -HCH (lindan) [$\mu\text{g}/100\text{ g}$]	\bar{X}	0,076	0,075	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	x_{min}	0,076	0,075	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	x_{max}	0,077	0,075	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Endrin [$\mu\text{g}/100\text{ g}$]	\bar{X}	1,345	1,430	3,750	3,740	6,050	6,050	0,053	0,050	0,051	0,050	0,050
	x_{min}	1,335	1,420	3,729	3,725	6,045	6,050	0,050	0,050	0,055	0,055	0,051
	x_{max}	1,350	1,435	3,760	3,749	6,055	6,050	0,055	0,055	0,055	0,055	0,051
o,p-DDT [$\mu\text{g}/100\text{ g}$]	\bar{X}	0	0	0,212	0,213	0	0	0	0	0	0	0
	x_{min}	0	0	0,210	0,210	0	0	0	0	0	0	0
	x_{max}	0	0	0,215	0,216	0	0	0	0	0	0	0
p,p-DDT [$\mu\text{g}/100\text{ g}$]	\bar{X}	0	0	0,580	0,583	0,192	0,191	0,004	0	0	0	0
	x_{min}	0	0	0,562	0,572	0,185	0,179	0,000	0,000	0,000	0,000	0
	x_{max}	0	0	0,595	0,590	0,199	0,198	0,004	0,004	0,004	0,004	0

T a b e l a 2

Zawartość zanieczyszczeń ciasta, przygotowanego do wypieku przez piekarnię Henpol, przed i po procesie fermentacji.
Content of contaminants in bread dough made by Henpol bakery before and after the fermentation process.

Parametr Parameter	Miarą Measure	Ciasto na chleb / Bread dough											
		tostowy / toast bread		graham / graham bread		pszemno-żytni / wheat-rye		żytni / rye bread					
		przed/before	po/after	przed/before	po/after	przed/before	po/after	przed/before	po/after				
Kadm / Cadmium [µg/kg]	\bar{X}	44,69	46,69	54,94	55,40	33,25	34,06	83,01	84,26				
	X_{min}	44,23	46,53	54,92	55,05	32,96	33,86	82,85	84,15				
	X_{max}	44,74	46,72	55,00	55,62	33,38	34,25	83,10	84,75				
Ołów / Lead [µg/kg]	\bar{X}	222,60	226,50	292,75	294,90	205,15	206,90	177,58	180,50				
	X_{min}	222,54	225,98	292,59	294,75	204,96	206,68	177,42	179,92				
	X_{max}	222,74	226,60	292,80	295,00	205,26	206,98	177,85	180,60				
Rtęć / Mercury [µg/kg]	\bar{X}	0,80	0,80	0,50	0,51	0,70	0,70	1,21	1,21				
	X_{min}	0,80	0,79	0,50	0,50	0,70	0,70	1,20	1,21				
	X_{max}	0,80	0,80	0,50	0,51	0,71	0,71	1,22	1,21				
OchratoksynaA ochratoxin A [µg/kg]	\bar{X}	0,078	0,047	0,136	0,051	0,187	0,053	0,910	0,580				
	X_{min}	0,073	0,042	0,129	0,049	0,180	0,047	0,870	0,555				
	X_{max}	0,080	0,052	0,138	0,053	0,191	0,055	0,921	0,595				
3,5-dichloroanilina 3,5-dichloroanilin [µg/100 g]	\bar{X}	70,30	68,42	61,89	60,15	58,25	55,82	70,21	67,76				
	X_{min}	70,05	68,30	61,38	59,85	58,00	55,29	69,05	67,15				
	X_{max}	70,42	68,45	62,20	60,32	58,52	56,00	70,35	68,00				

γ -HCH (lindan) [$\mu\text{g}/100 \text{ g}$]	\bar{X}	0,79	0,77	0,078	0,075	0	0	0	0,042	0,040
	X_{min}	0,72	0,76	0,075	0,070	0	0	0	0,040	0,040
	X_{max}	0,80	0,79	0,082	0,077	0	0	0	0,048	0,041
Endrin [$\mu\text{g}/100 \text{ g}$]	\bar{X}	0,76	0,75	1,51	1,50	5,40	5,38	5,38	3,90	3,89
	X_{min}	0,75	0,75	1,48	1,48	5,37	5,27	5,27	3,86	3,80
	X_{max}	0,78	0,76	1,53	1,51	5,44	5,40	5,40	3,91	3,91
o,p-DDT [$\mu\text{g}/100 \text{ g}$]	\bar{X}	0	0	0,143	0,143	0	0	0	0	0
	X_{min}	0	0	0,143	0,142	0	0	0	0	0
	X_{max}	0	0	0,144	0,143	0	0	0	0	0
p,p-DDT [$\mu\text{g}/100 \text{ g}$]	\bar{X}	0	0	0,006	0,006	0	0	0	0	0
	X_{min}	0	0	0,006	0,006	0	0	0	0	0
	X_{max}	0	0	0,006	0,007	0	0	0	0	0

Geth i o 4,5% w przypadku ciasta z piekarni Henpol. W pozostałych rodzajach ciasta, niezależnie od rodzaju fermentacji, nie stwierdzono wyraźnych zależności w tym zakresie, np. w ciastach na chleb żytni-razowy z piekarni Henpol zawartość kadmu po procesie fermentacji mlekowej wzrosła o 1,5%, a w ciastach tego samego rodzaju z piekarni Geth o 3,4%, zaś w ciastach na chleb graham (fermentacja alkoholowa i mlekowa) z piekarni Henpol o 0,8%, a z piekarni Geth o 4,5%. W ciastach na wszystkie analizowane rodzaje chleba, z wyjątkiem ciasta na chleb pszenno-żytni, pobranych z piekarni Geth zwiększenie zawartości kadmu w wyniku procesu fermentacji, niezależnie od jej rodzaju, było większe niż w ciastach pobranych z piekarni Henpol. Analizując poziom zanieczyszczenia ciast kadmem największą jego zawartość (84,26 µg/kg) stwierdzono w cieście na chleb żytni-razowy poddanym procesowi fermentacji, pobranym z piekarni Henpol. W związku z faktem, że brak wytycznych, co do dopuszczalnych zawartości kadmu w produkcie pośrednim, jakim jest ciasto w procesie wypieku chleba, wartość tę porównano z jedyną dostępną wytyczną w tym zakresie, tj. najwyższą dopuszczalną zawartością kadmu w zbożu – 100 µg/kg w życie i 200 µg/kg w pszenicy [21, 22]. We wszystkich analizowanych rodzajach ciasta zawartości kadmu były mniejsze od przytoczonych wartości.

W rozporządzenie Komisji (WE) nr 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 r., ustalającym najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych, wskazano, że: „powinny być one określone na możliwie rygorystycznym poziomie, który jest rozsądnie osiągalny przy zastosowaniu dobrej praktyki rolniczej, w zakresie rybołówstwa i produkcji oraz z uwzględnieniem ryzyka związanego z konsumpcją żywności. W przypadku zanieczyszczeń uznanych za genotoksyczne substancje rakotwórcze lub w przypadkach, gdy aktualne narażenie ludności lub najbardziej wrażliwych na skutki narażenia grup ludności jest bliskie czy też przekracza tolerowane pobranie, najwyższe poziomy powinny być określone na najniższym rozsądnie osiągalnym poziomie” [21].

Podobnie w przypadku zanieczyszczenia ołowiem ciast na analizowane rodzaje chleba, w wyniku procesu fermentacji stwierdzono zwiększenie jego zawartości. Nie ustalono przy tym wyraźnych zależności między rodzajem fermentacji, jakiej poddano ciasto, a zawartością tego metalu. Największy wzrost zawartości ołowiu stwierdzono w przypadku ciasta na chleb pszenno-żytni pobranego z piekarni Geth poddanego procesowi fermentacji alkoholowej i mlekowej – wzrost zawartości ołowiu o 3,6 %. W cieście na ten sam rodzaj chleba pobranym z piekarni Henpol w tym samym czasie nastąpił wzrost zawartości ołowiu o 0,9 %. Z kolei w ciastach na chleb żytni-razowy po procesie fermentacji mlekowej pobranych z piekarni Henpol stwierdzono większy przyrost zawartości tego metalu niż w ciastach pobranych z piekarni Geth. Na tej podstawie można sądzić, że rodzaj bakterii inicjujących proces fermentacji mlekowej (specjalnie wyselekcjonowanych, jak to ma miejsce w piekarni Geth, bądź namnażających

się spontanicznie, jak w zakwasie w piekarni Henpol) nie ma wpływu na zawartość ołowiu w cieście. Rozpatrując wymogi prawne jedyne dostępne wytyczne dotyczące najwyższych dopuszczalnych zawartości ołowiu w analizowanym obszarze przetworów zbożowych odnoszą się do zawartości tego metalu w zbożu i ustalone są na poziomie 200 µg/kg [22]. Przyjmując umownie tę wartość jako największą dopuszczalną zawartość ołowiu w cieście jej przekroczenie stwierdzono w przypadku ciast pobranych z piekarni Geth w cieście na chleb pszenno-żytni, zarówno przed, jaki i po procesie fermentacji, odpowiednio 209,75 µg/kg i 217,20 µg/kg oraz trzech na cztery analizowane rodzaje ciasta z piekarni Henpol, tj. w ciastach na chleb tostowy (222,60 µg/kg przed procesem fermentacji i 226,50 µg/kg po procesie fermentacji ciasta), na chleb graham (odpowiednio 292,75 µg/kg i 294,90 µg/kg) i na chleb pszenno-żytni (205,15 µg/kg i 206,90 µg/kg).

Wzrost zawartości oznaczanych metali toksycznych w ciastach po procesie fermentacji wynika z faktu, że w procesie tym następują straty suchej substancji półproduktu na skutek uwalniania się podczas fermentacji – dwutlenku węgla, alkoholu i kwasów lotnych. Wielkość tych strat, jak dowodzi Jankowski [11], zależy od czasu fermentacji, temperatury, konsystencji ciasta, intensywności odparowywania wody z powierzchni ciasta, aktywności mikroflory ciasta, zawartości cukru itp. W przypadku ciast pszennych ubytek fermentacyjny wynosi przeciętnie 1 - 1,5 %, natomiast w ciastach żytnich 1,2 - 2,5 %.

Analizując zawartość rtęci przed i po procesie fermentacji ciast na poszczególne rodzaje chleba w większości przypadków nie stwierdzono wpływu procesu fermentacji ciasta na zawartość tego metalu. Wyjątek stanowi ciasto na chleb graham – 2,0 % wzrost zawartości rtęci w przypadku ciasta pobranego z piekarni Henpol i 0,5 % wzrost w przypadku ciasta pobranego z piekarni Geth (w cieście zachodzi fermentacja alkoholowa i mlekowa) oraz ciasto na chleb tostowy z piekarni Geth – 1,7 % wzrost zawartości rtęci w wyniku fermentacji alkoholowej.

Mimo określonej recepturą domieszki mąki razowej w ciastach na chleb graham i chleb żytni razowy nie stwierdzono zwiększonej zawartości metali toksycznych niż w ciastach z mąki jasnej (ciasto na chleb tostowy i na chleb pszenno-żytni), co można tłumaczyć pochodzeniem mąki poszczególnych typów z różnych partii zboża.

Na szczególną uwagę, zasługują zmiany zawartości ochratoksyny A (OTA), jakie zaszły w ciastach na poszczególne rodzaje chleba pod wpływem procesu fermentacji. We wszystkich przypadkach stwierdzono, niezależnie od rodzaju fermentacji, jakiej poddano ciasto chlebowe, znaczne zmniejszenie zawartości OTA po procesie fermentacji – od 36,3 % w cieście na chleb żytni razowy z piekarni Henpol do 74,0 % w cieście na chleb pszenno-żytni z piekarni Geth. Największy spadek zawartości OTA zaobserwowano w wyniku procesu fermentacji mieszanej – mlekowej i alkoholowej, zachodzącej jednocześnie w cieście na chleb mieszany, odpowiednio o 74 % w przypad-

ku ciasta pobranego z piekarni Geth i o 72 % w przypadku ciasta pobranego z piekarni Henpol oraz w cieście na chleb graham – o 60,0 % w cieście z piekarni Geth i o 62,5 % w cieście z piekarni Henpol. Świadczy to o synergistycznym działaniu bakterii mlekowych z zakwasu (w piekarni Geth dobieranych celowo, a w piekarni Henpol namnażających się spontanicznie, w zależności od mikroflory mąki) w połączeniu z odpowiednim szczepem drożdży, które doprowadziły do redukcji zawartości OTA, mimo jej znacznej stabilności w żywności, co podkreślają, m.in. Pittet [17], Petzinger, Weidenbach [13], Hazel, Walker [9]. W przypadku ciasta na chleb żytni-razowy bardziej skuteczna w zmniejszaniu zawartości OTA w cieście okazała się fermentacja mlekowa prowadzona na bazie specjalnie wyselekcjonowanych bakterii kwasu mlekowego w piekarni Geth – zmniejszenie zawartości tego zanieczyszczenia o 55 % w porównaniu z ubytkiem o 36,3 % w cieście z piekarni Henpol (fermentacja mlekowa prowadzona dzięki spontanicznie namnażającym się bakteriom kwasu mlekowego z zakwasu z wcześniejszego cyklu produkcyjnego).

Badania nad mechanizmem rozkładu OTA przez drożdże i bakterie kwasu mlekowego są ciągle w toku. Prowadzone w Politechnice Łódzkiej m.in. przez Piotrowską i Żakowską [14, 15, 16] badania nad rozkładem OTA w warunkach modelowych dowodzą, że w wyniku fermentacji zachodzi absorpcja OTA do biomasy, w wyniku czego następuje degradacja zawartości OTA bez powstania produktów ubocznych – OTA jest absorbowana do komórek drożdży i bakterii kwasu mlekowego, czego dowodem jest brak pików pochodnych na chromatogramach. W przypadku fermentacji w pieczywie występuje złożony mechanizm przemian i wielość czynników wpływających na proces fermentacji ciasta. Oznaczając OTA, w kilku przypadkach zaobserwowano niewielkie piki na chromatogramach towarzyszące OTA, ale przy obecnym stanie wiedzy nie ustalono ich źródła i nie zidentyfikowano związku, któremu mogą odpowiadać. Z badań w warunkach modelowych można podejrzewać, że mają one charakter przypadkowy. Potwierdzenie tych przypuszczeń wymaga prowadzenia badań pieczywa w warunkach ściśle kontrolowanych.

Uzyskane wyniki badań dotyczące zmniejszenia zawartości OTA w pieczywie w wyniku fermentacji ciasta potwierdzają badania innych autorów. Tematem tym zajmowali się m.in. Bata i Lasztity [3], Doyle i wsp. [7], Piotrowska i Żakowska [15, 16], stwierdzając, że w zależności od szczepów bakterii kwasu mlekowego i drożdży użytych do zainicjowania procesu fermentacji oraz czasu trwania tego procesu stopień biodegradacji ochratoksyny A w czasie fermentacji zakwasu piekarskiego może być bardzo zróżnicowany. Autorki wykazały, że fermentacja z udziałem mieszanej populacji bakterii kwasu mlekowego okazała się najbardziej skuteczna w rozkładzie OTA, co świadczy o synergistycznym działaniu mikroorganizmów zakwasu piekarskiego. Odpowiednio dobrane szczepy bakterii mlekowych powodują biodegradację mikotoksyn z mąki o ponad 80 %. Warunkiem jest staranne przygotowanie zakwasu piekarskiego,

które powinno trwać ponad 20 h [14]. Maksymalne skracanie procesu produkcji chleba w piekarniach nie pozwala w pełni wykorzystać naturalnych właściwości zakwasu piekarskiego. Szczególnie widoczne jest to na przykładzie ciasta na chleb żytni-razowy pobranego z piekarni Henpol, w którym w wyniku procesu fermentacji nastąpiła redukcja zawartości OTA o 36,3 %, czyli uwzględniając wartości średnie z 0,91 µg/kg do 0,58 µg/kg, co oznacza przekroczenie dopuszczalnego poziomu OTA ustalonego dla przetworzonej żywności na bazie zbóż na poziomie 0,5 µg/kg [21, 22]. We wszystkich pozostałych przypadkach, w ciastach na poszczególne rodzaje chleba, po procesie fermentacji zawartość OTA była poniżej dopuszczalnego poziomu.

Analizując wpływ procesu fermentacji na poziom zanieczyszczenia ciast chlebowych pozostałościami pestycydów należy zauważyć, że zboża, z których wytwarza się mąkę, należą do tych surowców spożywczych, w których, w ramach prowadzonych w Polsce badań monitoringowych, wykrywa się największą ich ilość. Przykładowo w 2004 r. pozostałości pestycydów na poziomie niższym lub równym NDP wykryto w 84 % próbek zbóż, przy czym w 5 % wykrywane ilości były większe niż NDP, a jedynie 15 % próbek zbóż było wolnych od pozostałości pestycydów. W zbożach, szczególnie w pszenicy, stwierdzano największą ilość badanych związków – od 10 do 14. Najczęściej wykrywano pozostałości związków chloroorganicznych (metomyl, aldikarb, metiokarb, lindan, HCH, heptachlor, dieldrynę), co wynika z zanieczyszczenia środowiska, w związku z ich stosowaniem w przeszłości. Na ogół jednak wykrywane poziomy tych zanieczyszczeń tylko nieznacznie przekraczają granice oznaczalności [8].

W badanych ciastach na poszczególne rodzaje chleba stwierdzono obecność 3,5-dichloroaniliny i endrinu (w ciastach na wszystkie rodzaje chleba), lindanu (w ciastach na chleb tostowy, graham i żytni-razowy z piekarni Henpol oraz w cieście na chleb tostowy z piekarni Geth), o,p-DDT w ciastach na chleb graham, zarówno z piekarni Geth, jak i Henpol oraz p,p-DDT w cieście na chleb graham z obu piekarni i w cieście na chleb pszenno-żytni i żytni-razowy z piekarni Geth. Proces fermentacji ciasta spowodował nieznaczne zmniejszenie zawartości wykrytych pozostałości pestycydów chloroorganicznych lub, jak w przypadku o,p-DDT i p,p-DDT, w cieście na chleb graham z piekarni Henpol, nie miał na niego wpływu. Wyjątek stanowi ok. 6 % wzrost zawartości endrinu w wyniku fermentacji alkoholowej w cieście na chleb tostowy z piekarni Geth, ale można przypuszczać, że zjawisko to ma to charakter przypadkowy. Największy spadek zawartości pestycydu chloroorganicznego stwierdzono w przypadku 3,5-dichloroaniliny – w wyniku fermentacji alkoholowej i mlekowej – o 9,3 % w cieście na chleb pszenno-żytni z piekarni Geth i o 4,2 % w cieście na ten sam rodzaj chleba z piekarni Henpol.

Mimo stwierdzenia braku wpływu procesu fermentacji na zawartość pozostałości pestycydów chloroorganicznych w pieczywie, celowość prowadzenia badań nad prze-

mianami ilościowymi w obrębie pestycydów w trakcie produkcji pieczywa wykazali m.in. Sharma i wsp. [22], którzy stwierdzili, że proces produkcji pieczywa istotnie wpływa na zawartość takich pestycydów, jak Ł endosulfan, heksakonazol, propiakonazol, melation, deltametrin. Wykazali oni redukcję zawartości wymienionych pestycydów w zakresie od 47 do 89 %. Jednocześnie zauważyli, że obecność np. endosulfanu wpływa na zahamowanie wzrostu drożdży w zakresie 7,5 + 33,5 %, a heksakonazolu odpowiednio w zakresie 12,5 + 44,7 %.

Wnioski

1. W wyniku procesu fermentacji ciasta na wszystkie analizowane rodzaje chleba, niezależnie od czynnika, który zainicjował przemiany, nastąpiło nieznaczne zwiększenie zawartości kadmu i ołowiu. Skład pieczywa, ani też rodzaj fermentacji, która prowadziła do spulchnienia ciasta chlebowego nie miały w przypadku tych zanieczyszczeń znaczenia. Wzrost zawartości kadmu i ołowiu w cieście chlebowym po procesie fermentacji wynika przede wszystkim ze strat suchej substancji ciasta następujących w czasie jego fermentacji.
2. Proces fermentacji nie miał wpływu na zawartość w cieście chlebowym rtęci.
3. W przypadku wykrytych w cieście chlebowym pozostałości pestycydów chloroorganicznych fermentacja ciasta spowodowała nieznaczne zmniejszenie zawartości tych związków lub nie miała na nie wpływu.
4. Fermentacja spowodowała w cieście chlebowym znaczącą redukcję OTA, przy czym siła procesu fermentacji w dużej mierze zależy od składu i wzajemnych proporcji drożdży i zakwasu. Najlepsze efekty osiągnięto w przypadku fermentacji mlekowo-etanolowej ciasta na chleb pszenno-żytni.

Literatura

- [1] Adams M., Nout R.: *Fermentation and Food Safety*, Aspen Publisher, Gaithersburg, Maryland, 2001.
- [2] Ambroziak Z.: *Produkcja ciastkarska i piekarska Cz. II*. WSiP, Warszawa 1999.
- [3] Bata A., Lasztity R.: Detoxification of mycotoxin-contaminated food and feed by microorganism. *Trends Food Sci. Technol.*, 1999, **19**, 223-228.
- [4] Cauvain S.P.: *Bread Making: Improving Quality*. Woodhead Publishing, Cambridge, England, 2003.
- [5] Cauvain S.P., Young L.: *Baked Products. Science, Technology and Practice*, Blackwell Publishing, 2006.
- [6] Czarnańska K.: Fermentacja ciasta żytniego. *Przegl. Piek. i Cuk.*, 2008, **2**, 20-23.
- [7] Doyle M.P., Applebaum R.S., Brackett R.E., Marth E.H.: Physical, chemical and biological degradation of mycotoxins in foods and agricultural commodities. *J. Food Protect.*, 1982, **45**, 964-971.
- [8] Góralczyk K., Struciński P., Hernik A.: Monitoring i urzędowa kontrola pozostałości pestycydów w żywności w Polsce w 2004 roku. *Rocz. PZH*, 2005, **56/4**, 307-316.

- [9] Hazel C., Walker R.: Ochratoxin A in food: Recent developments and significance. Proc. of a Workshop held on 29, 30 June-1 July 2005, Baden, Austria.
- [10] Janik M., Staszewska E.: Zanieczyszczenia żywności w świetle nowych przepisów unijnych. *Przegl. Piek. i Cuk.*, 2007, **12**, 8-13.
- [11] Jankowski S.: Zarys technologii zbóż i strączkowych jadalnych. Cz. III. Technologia piekarstwa, makaronu, preparatów zbożowych i pasz. PWN, Poznań 1969.
- [12] Michna W.: Bezpieczna żywność oraz potrzeba stałej, umiejętnej i wszechstronnej jej ochrony, *Zagad. Ekonom. Rol.*, 1998, **6**, 3-18.
- [13] Petzinger E., Weidenbach A.: Mycotoxins in the food chain: the role of ochratoxins, *Livestock Prod. Sci.*, 2002, **76**, 245-250.
- [14] Piotrowska M., Żakowska Z.: Badania nad możliwością wykorzystania bakterii fermentacji mlekowej do detoksykacji mikotoksyn w żywności. *Mat. IV Konf. Nauk. „Mikotoksyny w żywności i paszach”*, Bydgoszcz, 15-17 czerwca 1998, ss. 126-131.
- [15] Piotrowska M., Żakowska Z.: Biodegradacja ochratoksyny A podczas fermentacji zakwasu piekarskiego, *Mat. XXX Sesji Nauk. KTChŻ PAN „Nauka u progu XXI wieku”*, Kraków, 14-15.09.1999.
- [16] Piotrowska M., Żakowska Z.: The elimination of Ochratoxin A by Lactic Acid Bacteria Strains. *Pol. J. Microbiol.*, 2005, **4 (54)**, 279-286.
- [17] Pittet A.: Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds – an updated review. *Revue Med. Vet.* 1998, **6 (149)**, 479-492.
- [18] Pruszyński S.: Monitoring pozostałości środków ochrony roślin w żywności - wyniki i dalsze zamierzenia. *Ochr. Rośl.*, 2004, **48 (2)**, 18-20.
- [19] Raport z monitoringu jakości gleb, roślin, produktów rolniczych i spożywczych z 2000 roku – pod red. W. Mincha, B. Szteke. Dom Wyd. Elipsa, Warszawa 2001.
- [20] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 31 grudnia 2007 r. zmieniające Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 16 maja 2007 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych poziomów pozostałości pestycydów, które mogą znajdować się w środkach spożywczych lub na ich powierzchni. *Dz. U.* 2008 r. Nr 8, poz. 51.
- [21] Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 r. ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych. *Dz. Urz. UE L* 364/5 z dnia 20 grudnia 2006 r.
- [22] Rozporządzenie Komisji (WE) nr 629/2008 z dnia 2 lipca 2008r zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1881/2006 ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych. *Dz. Urz. UE L* 173/6 z dnia 3 lipca 2008 r.
- [23] Sharma J., Satya S., Kumar V., Kumar Tewary D.: Dissipation of pesticides during bread-making, *Chem. Health Safety*, 2005, **1 (12)**, 17-22.
- [24] Skoczyńska A., Stojek E., Martynowicz H.: Skutki zdrowotne skażenia środowiskowego. XXV-lecie Pol. Tow. Toksykol. *Mat. VII Konf. Nauk.*, Augustów 2003.
- [25] Staszewska E., Piesiewicz H.: Tradycyjne wytwarzanie ciast żytnich i mieszanych. Cz. I. *Przegl. Piek. Cuk.*, 2005, **11**, 8.
- [26] Staszewska E., Piesiewicz H.: Tradycyjne wytwarzanie ciast żytnich i mieszanych, cz. II, *Przegl. Piek. Cuk.*, 2005, **12**, 2.
- [27] Szteke B., Szymczyk K.: Zanieczyszczenie zbóż na podstawie badań monitoringowych, *Przegl. Zboż. Młyn.*, 2005, **8**, 6-9.

EFFECT OF FERMENTATION PROCESS ON CONTAMINATION LEVEL IN BREAD DOUGH**S u m m a r y**

Fermentation is a very crucial phase during the bread production process. A special type of microflora contained in the bread dough, mainly the yeast of a *Saccharomyces* type and/or lactic acid bacteria cause the dough to raise and a special bread taste and aroma to be produced; also, non-desirable microorganisms derived from flour to be blocked. During the fermentation process, a number of changes occur, the character of which has not yet been fully studied and which can affect food safety of the final product.

To clarify the effect of fermentation process on the content of selected contaminants in major bread doughs, the content of the following elements was determined: cadmium, lead, mercury, chloro-organic pesticides residues, and ochratoxin A. Analyses were performed in the doughs immediately after the kneading and in the same dough bites after the fermentation and final rise were completed, i.e. just before baking.

After the dough fermentation process, the content of toxic metals, especially of cadmium and lead, was found to be higher, and the content of chloro-organic pesticide residues was found to be lower. A substantial reduction in OTA content was a positive effect of the fermentation process.

Key words: fermentation, chloroorganic pesticide residues, toxic metals, ochratoxin A 