

## OCCURRENCE OF FUSARIUM TOXINS IN SPELT FROM ECOLOGICAL SYSTEM OF FARMING

### Summary

The aim of this study was mycotoxicological evaluation of spelt wheat from different organic farms located in kujawsko-pomorskie and warmińsko-mazurskie and their products purchased in retail trade in the city of Bydgoszcz. Material for study consisted of 53 samples: 15 – raw material (unprocessed grain) from 2009, 17 – raw material from 2010, 10 – products 2009, 11 – products 2010. The spelt products consisted of flakes, bran, flour, groat, pasta and coffee. Mycotoxins (T-2 nad HT-2, deoxynivalenol – DON, niwalenol – NIV, 3-acetyldeoxynivalenol – 3-ADON, monoacetoxyscirpenol – MAS, diacetoxyscirpenol – DAS, and zearalenone – ZEN) were determined using the HPLC-MS/MS method. During sample preparation procedures the SPE technique was used and the following internal standards were applied:  $^{13}\text{C}$ -DON,  $^{13}\text{C}$ -T-2,  $^{13}\text{C}$ -HT-2, ZAN. Mycotoxin analysis was performed in triplicate. Contamination of samples with studied secondary metabolites of molds was negligible. Among determined mycotoxins DON occurred at the highest concentrations. Its maximum level was determined in winter spelt grains ( $c = 139 \pm 4$  ppb), but this concentration was almost ten times lower than the maximum acceptable level of DON in non-processed cereals (Commission Regulation (EC) No. 1881/2006 of 19 December 2006). The other mycotoxins were also detected, however their average content both in raw materials and products was lower than the limit of quantification.

**Key words:** spelt, spelt products, mycotoxins, organic farming

## WYSTĘPOWANIE TOKSYN FUZARYJNYCH W ORKISZU Z EKOLOGICZNEGO SYSTEMU UPRAW

### Streszczenie

Celem pracy była ocena mikotoksykologiczna pszenicy orkiszowej pochodzącej z różnych gospodarstw ekologicznych położonych na terenie województwa kujawsko-pomorskiego i warmińsko-mazurskiego oraz ekologicznych produktów orkiszowych, zakupionych w punktach handlowych na terenie miasta Bydgoszczy. Materiał do badań stanowiły 53 próbki: 15 – surowce (nieprzetworzone ziarno) 2009, 17 – surowce 2010, 10 – produkty 2009, 11 – produkty 2010. Wśród produktów znalazły się płatki, otręby, mąka, kasza, makaron i kawa. Mikotoksyny (T-2, HT-2, deoksynivalenol – DON, niwalenol – NIV, 3-acetyldeoksynivalenol – 3-ADON, monoacetoksyscirpenol – MAS, diacetoksyscirpenolu – DAS i zearalenon – ZEN) oznaczano metodą HPLC-MS/MS. W procesie przygotowania próbek wykorzystano technikę SPE oraz następujące wzorce wewnętrzne:  $^{13}\text{C}$ -DON,  $^{13}\text{C}$ -T-2,  $^{13}\text{C}$ -HT-2, ZAN. Oznaczenie mikotoksyn przeprowadzono w trzykrotnym powtórzeniu. Zanieczyszczenie badanych próbek wtórnymi metabolitami pleśni było nieznaczące. Spośród oznaczanych mikotoksyn w najwyższych stężeniach występował DON. Największy jego poziom zanotowano w ziarnie orkiszu ozimego ( $c = 139 \pm 4$  ppb), jednak stężenie to było prawie dziesięciokrotnie niższe niż maksymalny dopuszczalny poziom DON w zbożach nieprzetworzonych (Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 6 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006). Pozostałe mikotoksyny zostały również wykryte, jednakże ich średnia zawartość zarówno w surowcach jak i produktach była niższa od granicy oznaczalności.

**Słowa kluczowe:** orkisz, produkty orkiszowe, mikotoksyny, rolnictwo ekologiczne

### 1. Wstęp

Orkisz należy do najstarszych podgatunków pszenicy. Przez długi czas zaniechany w uprawie, został ponownie zauważony i doceniony. Na przestrzeni ostatnich 20 lat znacznie zwiększyła się powierzchnia upraw orkiszu. Związane jest to z dużym zainteresowaniem zdrowym stylem życia, zdrową żywnością oraz intensywnym rozwojem rolnictwa ekologicznego. Orkisz ceniony jest ze względu na wysoką wartość odżywczą, walory prozdrowotne oraz zalety agrotechniczne, takie jak wyższa odporność na szkodliwe czynniki środowiskowe oraz możliwość uprawy na glebach słabo przepuszczalnych o niskiej żyzności [1]. Wprowadzenie orkisz do codziennej diety przynosi wiele korzyści. Głównymi zaletami jego spożywania są: obniżenie poziomu cholesterolu, zmniejszenie poziomu glukozy we krwi, regulacja przemiany materii, zapobieganie powstawa-

niu kamieni żółciowych [5]. Orkisz jest również zasobnym źródłem kwasu krzemowego, dzięki czemu pozytywnie wpływa na stan skóry, włosów i paznokci. Zboże to ma duże zastosowanie w przemyśle piekarniczym, doskonale nadaje się do przerobu. Stosowane jest do produkcji, m.in. mąki, makaronu, kaszy, kawy, dań śniadaniowych, czy napojów alkoholowych [5]. Zastosowanie gospodarcze mają również plewy, które stanowią dobry materiał izolacyjny [3]. W Polsce corocznie ilość zbiorów ziarna orkiszu ulega podwojeniu. W 2009 roku plony z samych gospodarstw ekologicznych ukształtowały się na poziomie około 2,5 tys. ton [12]. Powierzchnia uprawy pszenicy orkiszowej w Europie wynosi około 60 tys. ha i z roku na rok zwiększa się. Gatunek ten uprawiany jest głównie w gospodarstwach ekologicznych na obszarze Europy Centralnej. Największy areał uprawy posiadają kraje niemieckojęzyczne [13]. Ziarno wszystkich zbóż narażone jest na różnego rodzaju

Tab. 1. Granice wykrywalności i oznaczalności mikotoksyn [ppb]  
 Table 1. Limit of detection and quantification of mycotoxins [ppb]

Parametr/ Parameter	NIV	DON	3ADON	MAS	DAS	HT-2	T-2	ZEN
Granica wykrywalności (LOD)/ Limit of detection	7.0	5.0	10.0	1.0	1.0	2.0	0.7	0.2
Granica oznaczalności (LOQ)/ Limit of quantification	20.0	15.0	30.0	3.0	3.0	6.0	2.0	0.6

zanieczyszczenia, ale orkisz w porównaniu do ziarna innych gatunków w mniejszym stopniu zagrożony jest skażeniem. Związane jest to z obecnością ściśle przylegających plew, które skutecznie chronią ziarniaki [2]. Często spotykanymi, bardzo szkodliwymi zanieczyszczeniami ziarna są grzyby pleśniowe oraz ich wtórne metabolity – mikotoksyny, towarzyszące człowiekowi od tysięcy lat. Z punktu widzenia praktyki rolniczej mikotoksyny można podzielić na grupę powstającą w wyniku chorób w okresie wegetacji roślin lub metabolity tworzące się po zbiorach w trakcie niewłaściwego przechowywania ziarna. Mikotoksyny magazynowane są w grzybni, wówczas mówimy o endotoksynach lub wydzielane są do otaczającego środowiska jako egzotoksyny. Metabolity te wywołują u ludzi i zwierząt zatrucia, określane mianem mikotoksykoz.

Celem pracy była ocena mikotoksykologiczna pszenicy orkiszowej pochodzącej z różnych gospodarstw ekologicznych położonych na terenie województwa kujawsko-pomorskiego i warmińsko-mazurskiego oraz ekologicznych produktów orkiszowych, zakupionych w punktach handlowych na terenie miasta Bydgoszczy.

## 2. Materiały i metody

Materiał do badań składał się z 53 próbek z ekologicznego systemu gospodarowania: 15 stanowiły surowce, czyli nieprzetworzone ziarno z 2009 roku, 17 – surowce z 2010 roku, 10 – produkty 2009, 11 – produkty 2010, takie jak: płatki, otręby, mąka, kasza, makaron i kawa.

Nieprzetworzone ziarno pochodziło z różnych gospodarstw ekologicznych znajdujących się na obszarze województwa kujawsko – pomorskiego i warmińsko – mazurskiego oraz w okolicach miasta Brodnicy. Próbkę produktów zostały zakupione w punktach handlowych na terenie Bydgoszczy, pochodziły od różnych producentów.

W próbkach ekologicznego ziarna orkiszu oraz jego produktach oznaczano trichoteceny (DON, NIV, 3-ADON, MAS, DAS toksynę T-2 i HT-2) oraz zearalenon (ZEN). Wszystkie analizy mikotoksyn wykonano metodą HPLC (wysokosprawna chromatografia cieczowa) z detekcją MS/MS. W procesie przygotowania próbek wykorzystano kolumny, Bond Elut® Mycotoxin (Varian). Zastosowano następujące wzorce wewnętrzne: <sup>13</sup>C-DON, <sup>13</sup>C-T-2, <sup>13</sup>C-HT-2, ZAN. Analizy mikotoksyn przeprowadzano w trzykrotnym powtórzeniu.

Granice wykrywalności i oznaczalności zastosowanej metody przedstawiono w tab. 1.

## 3. Wyniki i dyskusja

Zawartość trichotecenów i zearalenonu w ziarnie orkiszu i jego produktach z ekologicznych gospodarstw przedstawiono w tab. 2-3 oraz rys. 1-2.

Spośród oznaczonych mikotoksyn w najwyższych stężeniach występował DON, zarówno w ziarnie (2009 – maksymalnie 140 ppb, obecny w 60% próbek; 2010 – maksymalnie 124 ppb, w 47% próbek), jak i produktach (2009 – maksymalnie 23.3 ppb, obecny w 40% próbek, 2010 – maksymalnie 38.8 ppb, obecny w 36% próbek).

Najwyższe stężenie DON zanotowano w ziarnie orkiszu ozimego (140 ppb), jednakże wartość ta była prawie dziesięciokrotnie niższa niż najwyższy dopuszczalny poziom DON w nieprzetworzonych zbożach [6]. W żadnej z badanych próbek nie występował DAS. W ziarnie z 2009 roku oraz produktach z obu lat nie wykryto także 3-ADON. W przypadku próbek surowców z 2009 roku średnia zawartość NIV, HT-2 i T-2 była niższa od granicy oznaczalności, a w roku 2010 – poniżej granicy wykrywalności.

Tab. 2. Zakres stężeń trichotecenów i zearalenonu w ziarnie orkiszu z gospodarstw ekologicznych z 2009 i 2010 roku [ppb]  
 Table 2. Concentration range of trichothecenes and zearalenone in spelt grain from organic farms in 2009 and 2010 [ppb]

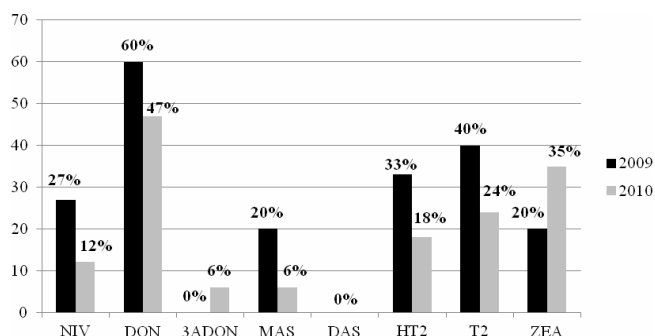
Surowiec Raw material	Zakres stężeń mikotoksyn [ppb]/ Mycotoxins concentration range [ppb]	
	2009	2010
NIV	<LOD – 44.9	<LOD – 20.3
DON	<LOD – 140	<LOD – 124
3ADON	<LOD	<LOD – 16.1
MAS	<LOD – <LOQ	<LOD – <LOQ
DAS	<LOD	<LOD
HT-2	<LOD – 12.6	<LOD – 13.8
T-2	<LOD – 7.7	<LOD – 3.2
ZEN	<LOD – 2.1	<LOD – 3.0

Tab. 3. Zakres stężeń trichotecenów i zearalenonu w produktach orkiszowych z gospodarstw ekologicznych z 2009 i 2010 roku [ppb]  
 Table 3. Concentration range of trichothecenes and zearalenone in spelt products from organic farms in 2009 and 2010 [ppb]

Produkty Products	Zakres stężeń mikotoksyn [ppb]/ Mycotoxins concentration range [ppb]	
	2009	2010
NIV	<LOD	<LOD
DON	<LOD – 23.3	<LOD – 38.8
3ADON	<LOD	<LOD
MAS	<LOD	<LOD
DAS	<LOD	<LOD
HT-2	<LOD	<LOD
T-2	<LOD	<LOD
ZEN	<LOD – 0.8	<LOD – 2.5

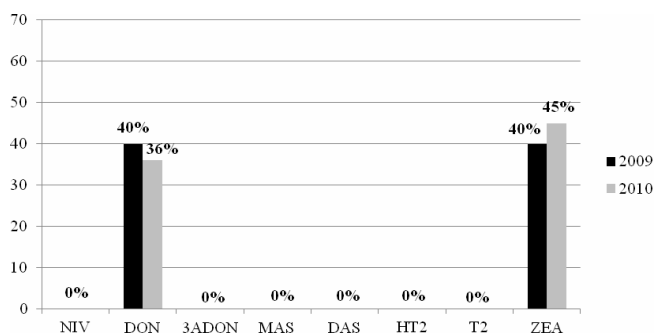
W produktach występowały tylko dwie spośród ośmiu analizowanych toksyn: ZEN oraz DON. ZEN wykryto w 4 (2009) i w 5 (2010) próbkach produktów. Metabolit ten w najwyższym stężeniu występował w otrębach (2.52 ppb). Natomiast DON był obecny w 40% (2009) i w 36% (2010) próbek produktów, a jego najwyższą zawartość stwierdzono w otrębach (38.8 ppb). Orkisz w porównaniu do innych gatunków zbóż jest bardziej odporny na choroby wywołane niektórymi grzybami, wynika to z obecności ściśle przylegających plew, które tworzą szczelną osłonę chroniącą ziarniaki przed wilgocią i zanieczyszczeniami. Badania prowadzone przez Filodę & Wickiela [2] potwierdzają małą podatność pszenicy orkiszowej na skażenia mikotoksyn i w rezultacie niewielkie stężenie mikotoksyn. Autorzy [2] poddali analizie orkisz ozimy odmiany Franckenkorn (lata

2008-2009). Ziarno badano na obecność grzybów pleśniowych i wytwarzanych przez nie metabolitów z grupy trichotecenów (DON i NIV). Z surowca najczęściej izolowano grzyby z rodzaju *Fusarium*. Ziarno w największym stopniu porażone było przez gatunek *Alternaria alternata*. W analizowanych próbkach orkiszu nie wykryto *Fusarium culmorum*, natomiast wcześniejsze badania Filody & Wickiela [2], prowadzone na pszenicy zwyczajnej uprawianej w takich samych warunkach wykazały wysokie skażenie tym gatunkiem pleśni. Stolarska & Janda [11] uważają, że nie istnieje zależność pomiędzy ilością toksynotwórczych gatunków grzybów, a stężeniem mikotoksyn w badanej próbce. Jednak badania Filody & Wickiela [2] wskazują na taką zależność. Poziom DON i NIV w analizowanych próbkach orkiszu był niższy od granicy oznaczalności.



Rys. 1. Odsetek próbek ekologicznego ziarna orkiszu skażonych mikotoksynami z 2009 i 2010 r. [%]

Fig. 1. Percentage of contaminated organic spelt grain samples in 2009 and 2010 [%]



Rys. 2. Odsetek próbek ekologicznych produktów orkiszowych skażonych mikotoksynami z 2009 i 2010 r. [%]

Fig. 2. Percentage of contaminated organic spelt product samples in 2009 and 2010 [%]

Również w badaniach własnych stężenia mikotoksyn w próbkach oscylowały wokół granicy oznaczalności lub były wyższe, ale nie przekroczyły określonych norm zawartości dla zbóż. Solarska i współpracownicy [10] ocenili zboża z ekologicznych upraw pod kątem zawartości mikotoksyn. Analizie poddano 7 próbek orkiszu z 2008 roku i 6 próbek orkiszu ze zbiorów z 2010 roku. DON wykryto w trzech próbkach tego zboża (z 2008 r.) w ilości od 280 ppb do 300 ppb, wynik był piętnastokrotnie wyższy od uzyskanego w badaniach własnych. W orkiszach ze zbiorów z 2010 roku wszystkie próbki zanieczyszczone były toksyną T-2 oraz DON, a ZEN wykryto w 83% próbek. Serrano i in. [8] oznaczając występowanie 14 mikotoksyn w zbożach i produktach, stwierdzili obecność NIV w 2 (n = 10) próbkach produktów orkiszowych w stężeniach 105 ppb i 286 ppb, a całkowite skażenie badanego materiału, rozumiane jako od-

setek próbek zawierających mikotoksyny, wyniosło 40%.

Pozostałe trichoteceny (DON, T-2, HT-2, DAS) oraz ZEN nie zostały wykryte w badanym materiale. W badaniach Schollenbergera i współpracowników [7] DON jako jedyna toksyna fuzaryjna, został wykryty w dwóch próbkach (n = 5) orkiszu, na poziomie kilkunastu ppb. Ze względu na zaniechanie środków przeciwrzybowych w gospodarstwach ekologicznych, uważa się, że zboża pochodzące z takiego systemu upraw są bardziej narażone na rozwój grzybów pleśniowych i powstawanie ich wtórnych metabolitów, w odróżnieniu od roślin zbożowych uprawianych za pomocą metod konwencjonalnych. Z kolei dotychczas opublikowane dane wskazują na większe zanieczyszczenie surowców i żywności konwencjonalnej [4]. Wyniki badań przeprowadzonych przez Solarską i in. [9] wskazują na zanieczyszczenie zarówno ziarna ekologicznego jak i konwencjonalnego. Spośród ośmiu analizowanych gatunków zbóż, orkisz w najmniejszym stopniu skażony był mikotoksynami. Próbki badane były pod kątem obecności DON, toksyny T-2, ZEN i ochratoksyny A. W przypadku orkiszu tylko 30% odmian skażonych było DON i zaledwie w 5% wykryto toksynę T-2. Ziarno orkiszu pochodziło z gospodarstw ekologicznych.

#### 4. Wnioski

1. Surowce i produkty z ekologicznego orkiszu zawierały wtórne metabolity grzybów z rodzaju *Fusarium*, jednakże ich stężenia były stosunkowo niskie.
2. Najczęściej wykrywanymi mikotoksynami w ziarnie orkiszu były DON i ZEN oraz toksyna T-2.
3. DON i ZEN były jedynymi wykrytymi toksynami w produktach orkiszowych.
4. Poziom oznaczonych toksyn był wyższy w ziarnie orkiszu w porównaniu z produktami.
5. W żadnej z analizowanych próbek stężenie trichotecenów i zearalenonu nie przekroczyło dopuszczalnych norm zawartości.

#### 5. Bibliografia

- [1] Bonafaccia G., Galli V., Francisci R., Mair V., Skrabanja V., Kreft I. Characteristics of spelt wheat products and nutritional value of spelt wheat-based bread. *Food Chemistry*, 2000, 68 (4), s. 437-441.
- [2] Filoda G., Wickiel G. Zasiadlenie ziarna pszenicy ozimej orkisz przez grzyby. *Progress in Plant Protection*, 2010, 50 (2): s. 629-632.
- [3] Kuś J., Jorczyk K. Zapomniany orkisz. *Zachodniopomorski Magazyn Rolniczy*, 2007, 2: s. 25-26.
- [4] Mazurkiewicz J., Solarska E., Kuzdrański A., Muszyńska M. Wpływ sposobu nawożenia na występowanie toksyn fuzaryjnych w pszenicy ozimej. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 2008, 53 (4): s. 15-17.
- [5] Radomski G., Bać A., Mierzejewska S. Ocena porównawcza wartości wypiekowej mąki pszennej i orkiszowej. *Inżynieria Rolnicza*, 2007, 5 (93), s. 369-370.
- [6] Rozporządzenia Komisji (WE) nr 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 r. ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych. *Dz. Urz. UE L 364/17-18*, 20.12.2006.
- [7] Schollenberger M., Müller H.M., Rühle M., Suchy S., Planck S., Drochner W. Survey of *Fusarium* toxins in foodstuffs of plant origin marketed in Germany. *International Journal of Food Microbiology*, 2005, 97, s. 317-326.
- [8] Serrano A.B., Font G., Ruiz M.J., Ferrer E. Co-occurrence and risk assessment of mycotoxins in food and diet from Mediterranean area. *Food Chemistry*, 2012, 135, s. 423-429.

- [9] Solarska E., Mazurkiewicz J., Pałka A., Potocka E. Określenie występowania mikotoksyn w różnych odmianach zbóż ozimych i jarych uprawianych metodami ekologicznymi. W: Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi. Streszczenie wyników badań z zakresu rolnictwa ekologicznego realizowanych w 2008 roku. Agencja Wydawniczo – Poligraficzna „Gimpo”, Warszawa, 2009, s. 246-252.
- [10] Solarska E., Kuzdraliński A., Potocka E. Mikotoksyny w zbożach z upraw ekologicznych. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 2012, Vol. 57 (4), s. 101-102.
- [11] Stolarska A., Janda K. Zagrożenia dla zbóż – grzyby strzępkowe. *Przemysł Spożywczy*, 2004, 11: s. 56-57.
- [12] Trajer M., Mieczkowski M. Rozwój rynku pszenicy orkisz w świetle koniunktury na żywność ekologiczną. *Biuletyn Informacyjny*, 2010, 7: s. 34-37.
- [13] Tyburski J., Babalski M. Uprawa pszenicy orkisz. *Poradnik dla rolników*. Wyd. Centrum Doradztwa Rolniczego w Brwinowie Oddział w Radomiu, Radom, 2006, s. 4-10.

*Badania wykonano w ramach projektu nr 305 122136 Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.*

#### **Podziękowania**

*Autorzy dziękują mgr. Robertowi Kosickiemu oraz mgr Ewelinie Sibiorowskiej za pomoc w wykonaniu badań.*