

Změny obsahu deoxynivalenolu v průběhu sladování (*Deoxynivalenol content changes during malting*)

Sedláčková, I., Polišínská, I.
Agrotest fyto, s.r.o. Havlíčkova 2787, 767 01 Kroměříž

Souhrn: Byl sledován obsah deoxynivalenolu (DON) v průběhu sladování u 6 odrůd sladovnického ječmene pěstovaných v rámci polního pokusu založeného v Kroměříži ve sklizňovém roce 2010 a inokulovaných patogenem *Fusarium culmorum*. Vzorky byly odebrány z neošetřených kontrol a z parcel ošetřených fungicidem Prosaro 250 EC (0,75 l/ha). Aplikace fungicidu podstatně snížila kontaminaci ječmene mykotoxinem DON. Obsah DON byl stanovován v ječmeni a ve sladu v různých fázích sladování – vzorky byly odebrány po ukončení namáčky, klíčení (zelený slad) a po hvozdění a odklíčení (hotový slad). U všech odrůd došlo při sladování k podstatnému zvýšení obsahu DON, a to jak ve variantě kontrolní tak ošetřené fungicidem.

Klíčová slova: deoxynivalenol, DON, ječmen, slad, sladování, fungicidní ochrana

Abstract: The deoxynivalenol (DON) content was determined during a micro-malting process of six spring barley varieties inoculated with *Fusarium culmorum* harvested in locality Kroměříž in 2010. The samples were obtained from field trial grown under two growing systems with and without fungicide treatments by Prosaro 250 EC (0,75 l/ha). Application of fungicide decreased contamination of barley grain with mycotoxin DON. The DON content was determined in barley samples before micromalting, after steeping, after germination (green malt) and after kilning and degermination (malt). The DON content was significantly increased during malting in all samples irrespective of variety or growing system.

Key Words: deoxynivalenol, DON, barley, malt, malting, fungicide protection

Úvod

Deoxynivalenol (DON) patří do skupiny trichothecenových mykotoxinů, které jsou produkovány houbami rodu *Fusarium*. Tento mykotoxin se často vyskytuje v obilovinách jako je pšenice, ječmen, oves a žito, méně často v rýži, čiroku a tritikale. K nejrozšířenějším druhům rodu *Fusarium* v Evropě a v severní Americe patří *F. graminearum* a *F. culmorum*, které jsou významnými patogeny způsobujícími onemocnění klasů obilovin označované v zahraniční literatuře FHB (Fusarium head blight), česky klasová fuzárie. Jejich výskyt je v poslední době především spojován s výskytem mykotoxinů, zejména pak DON v obilovinách. Rozvoj onemocnění klasovými fuzáriemi souvisí především s průběhem počasí v době kvetení, zejména s výskytem srážek, dále s náchylností pěstovaných odrůd, technologií pěstování, používáním fungicidů a v neposlední řadě s předplodinou. Ve srovnání s ostatními trichothecenovými mykotoxiny DON vykazuje nižší akutní toxicitu, jeho účinky se projevují spíše chronickými formami, nicméně vzhledem k jeho cytotoxicitě a imunosupresivním účinkům představuje riziko pro lidské zdraví i zdraví zvířat. Jeho množství v obilovinách je limitováno Nařízením Komise (ES) č. 1881/2006 ze dne 19.12.2006, pro kukuřici bylo 1.10.2007 přijato pozměňující Nařízení komise (ES) č. 1126/2007. Maximální povolený obsah DON v pšenici, ječmeni a žitu je 1250 µg/kg a v pšenici tvrdé, ovsu a kukuřici 1750 µg/kg.

Kromě toho, že klasová fuzárie mohou vzhledem ke své schopnosti produkovat mykotoxiny způsobovat onemocnění lidí i hospodářských zvířat, jsou také příčinou velkých ekonomických ztrát způsobených jednak poklesem výnosu a dále snížením kvality zrna. DON, tak jako ostatní mykotoxiny produkované houbami *Fusarium* spp., je odolný vůči tepelnému ošetření a přechází až do finálního výrobku – mouky, pekařských výrobků a piva. Přechod různých druhů mykotoxinů do piva je závislý na jejich rozpustnosti a stabilitě. DON patří k mykotoxinům dobře ve vodě rozpustným, narozdíl od např. dalšího legislativně limitovaného mykotoxinu, zearalenonu (ZEA).

Infekce zrna ječmene klasovými fuzáriemi a jeho kontaminace mykotoxiny ovlivňují kvalitu piva a způsobují problémy při sladování a při výrobě piva. S napadením obilky ječmene mikroskopickými vláknitými houbami (nejen rodu *Fusarium*, ale i *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Penicillium* a *Nigrospora*) jsou spojovány problémy jako primární gushing (samovolné přepěnění piva), off-flavour (cizí příchuť) a předčasná flokulace kvasnic. Produkce DON během sladování závisí na mnoha faktorech, zejména na úrovni počáteční kontaminace zrna ječmene, odrůdě a na technologických podmínkách sladování. Ačkoliv samotné houby *Fusarium* spp. jsou zničeny během hvozdění, DON ve sladu zůstává a přechází do hotového piva. I když starší výsledky celosvětového průzkumu zjistily minimální výskyt DON v komerčních pivech (Gudmestad a kol., 1997), novější analýzy vzorků piva na evropském trhu naopak prokázaly, že DON je velmi častým kontaminantem piva (Papadopoulou-Bouraoui a kol., 2004). Pozitivní výskyt DON byl v tomto průzkumu zjištěn v 87% z 313 analyzovaných vzorků piva. Příspěvek k tolerovanému dennímu příjmu mykotoxinů pak může být, zejména u častých konzumentů piva, podstatný a může mít negativní zdravotní dopady.

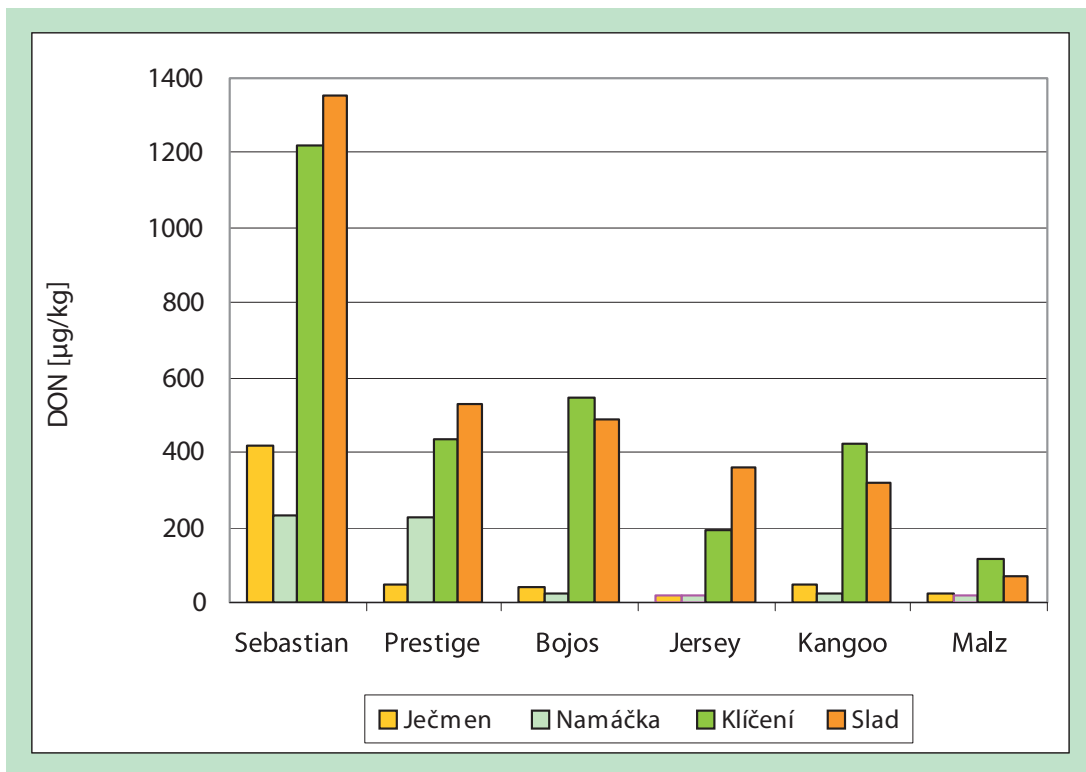
Materiál a metody

Změny obsahu DON byly sledovány u odrůd Sebastian, Prestige, Bojos, Jersey, Kangoo a Malz sklizených v roce 2010 z polního maloparcelkového pokusu v Kroměříži. Tyto odrůdy byly pěstovány po předplodině obilovině. Postřik sporami patogena *F. culmorum* byl proveden v době kvetení a ve stejném termínu byla část pokusu ošetřena fungicidem Prosaro 250 EC (prothioconazole + tebuconazole) v dávce 0,75 l/ha.

U sklizených vzorků ječmene byl stanoven obsah DON a vzorky byly vysladovány v mikroskladovně (typ M-3BX; fa RAVOZ). Při sladování byl použit postup vzdušného máčení se třemi namáčkami (4, 6 a 4 hodiny pod vodou; teplota

máčecí vody 14°C; odsávání CO₂ během vzdušných přestávek), klíčení při konstantní teplotě 14 °C po dobu 72 hodin a hvozdění po dobu 22 hod s dotahovací teplotou 80°C. Slad byl odklíčen na laboratorní odkličovače. V průběhu sladování byly odebrány vzorky na stanovení DON a to po ukončení namáčky, po klíčení (zelený slad) a po hvozdění a odklíčení (hotový slad).

Obsah mykotoxinu DON byl stanovován kvantitativní imunochemickou metodou ELISA s limitem detekce (LOD) 20 µg/kg. Byly použity kity RIDA-SCREEN®FAST DON a RIDASCREEN®DON (výrobce R-Biopharm, Darmstadt, Německo).



Obr. 1: Změny obsahu deoxynivalenolu (DON) v průběhu sladování 6 různých odrůd ječmene, inokulovaných *F. culmorum*, **fungicidně neošetřeno**

(pozn. fialově ohraničené sloupce označují obsah DON pod limitem detekce)

Výsledky a diskuse

Obsah DON v inokulovaných vzorcích ječmene neošetřených fungicidem se pohyboval od množství pod LOD (u odrůdy Jersey) po 417 µg/kg u odrůdy Sebastian (Obr. 1). Ve vzorcích z fungicidně ošetřené varianty byl obsah DON u dvou odrůd pod LOD (Jersey a Malz), nejvyšší byl opět u odrůdy Sebastian a to 68 µg/kg (Obr. 2).

U většiny vzorků s výjimkou vzorku odrůdy Prestige z neošetřené varianty byl po namáčce obsah DON nižší ve srovnání s výchozím zrnem ječmene. Snížení obsahu DON v průběhu namáčky koresponduje s již dříve publikovanými výsledky a je přisuzováno jeho rozpustnosti ve vodě a tudíž jeho vyluhování do máčecích vod (Schwarz, 1995).

V průběhu klíčení došlo u všech vzorků k vysokému nárůstu obsahu DON. V zeleném sladu u vzorků fungicidně neošetřené varianty se jeho obsah pohyboval od 117 µg/kg (Malz) do 1223 µg/kg (Sebastian). K nejvyššímu nárůstu došlo u odrůdy Bojos, kdy obsah DON po klíčení oproti obsahu DON v ječmeni se zvýšil více jak 14 x. Několikanásobně se zvýšil obsah DON i u vzorků z ošetřených variant, u kterých se po klíčení pohyboval v rozmezí 30 až 263 µg/kg. Nejnižší obsah byl u odrůdy Jersey a nejvyšší u odrůdy Sebastian. Nárůst obsahu mykotoxinů v průběhu klíčení lze vysvětlit jednak vytvořením vhodného prostředí pro další růst *Fusarium* spp. a vzniku druhotné infekce (Schwarz a kol., 2001) a také uvolněním deoxynivalenol-polyglukosidů z jejich vázaných forem působením amylolytických enzymů (Hajšlová a kol., 2010).

V hotovém sladu po vyhvozdění a odklíčení u některých vzorků došlo k dalšímu zvýšení obsahu DON (u vzorků Sebastian, Prestige, Jersey z neošetřené varianty a Bojos, Jersey z ošetřené varianty), u ostatních byl nalezen nižší obsah než v zeleném sladu. Během vysokých dotahovacích teplot při hvozdění dochází ke zničení mycelia hub *Fusarium* spp., ale obsah DON se výrazněji nemění.

Závěr

I když se jednalo o zrno ječmene z pokusů inokulovaných patogenem *F. culmorum*, celkový obsah DON byl ve vzorcích ječmene relativně nízký u všech odrůd, žádný ze vzorků nepřesáhl limit pro potravinářské obiloviny ve výši 1250 µg/kg. Nejvyšší obsah DON byl zjištěn u odrůdy Sebastian (417 µg/kg ve variantě neošetřené fungicidy, 68 µg/kg v ošetřené variantě), nejnižší u odrůd Jersey a Malz, kde se pohyboval pod nebo těsně nad limitem detekce. U všech odrůd s výjimkou odrůdy Jersey došlo po aplikaci fungicidu ke snížení obsahu DON v zrně ječmene. U odrůdy Jersey byl obsah DON velmi nízký jak v ošetřené tak i v neošetřené variantě, v obou variantách shodně pod limitem detekce (< 20 µg/kg). Aplikace fungicidu nejvíce redukovala obsah DON v ječmeni odrůdy Sebastian, která měla v neošetřené variantě nejvyšší hodnotu obsahu tohoto mykotoxinu. Během sladování došlo k podstatnému nárůstu obsahu DON, a to u fungicidně ošetřených i neošetřených variant.

Poděkování

Výsledky byly získány s využitím institucionální podpory na dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace (rozhodnutí MZe ČR č.RO0211) a v rámci řešení výzkumného projektu MZe ČR QI111B044.

/Recenzováno/

Seznam použité literatury

Gudmestad, N., Taylor, R., Schwarz, P. (1997): How Healthy Is Your Malt? – What You Should Know about a Disease that Could Affect Your Beer.

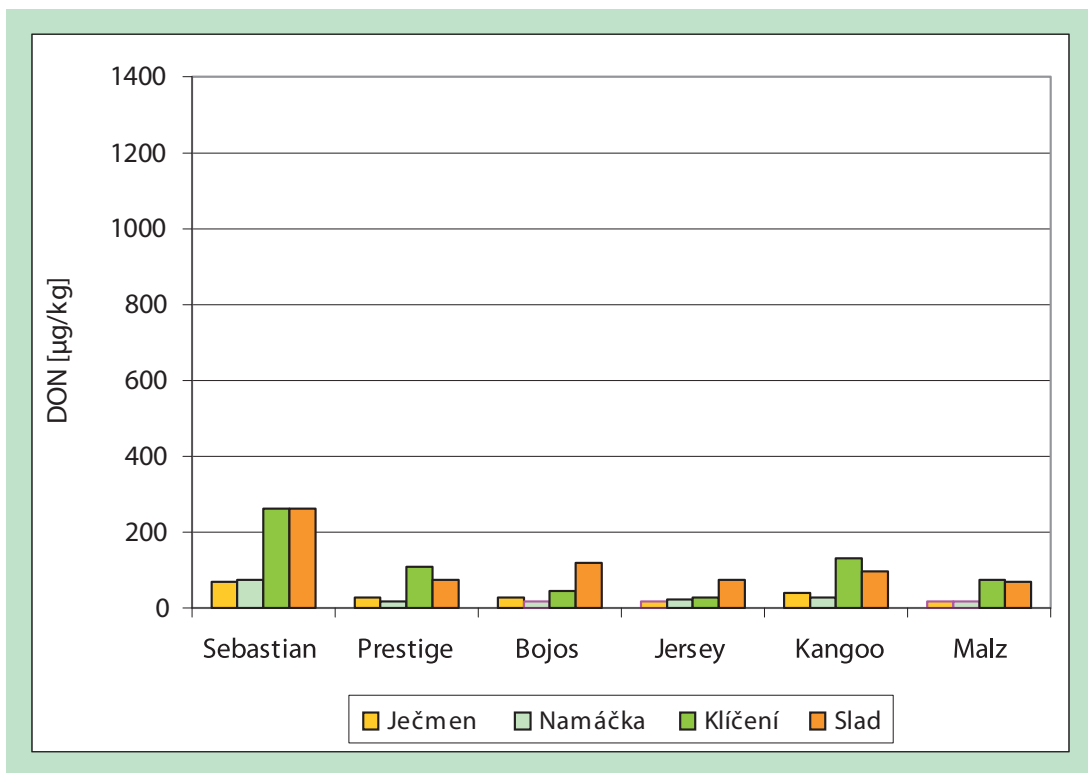
The Brewers' Market Guide Online, Speciál Focus: Malt, <http://morebeer.com/brewingtechniques/bmg/gudmestad.html>

Hajšlová, J., Malachová, A., Zachariášová, M., Kostelanská, M., Kocourek, V. (2010): Kontaminace vybraných surovin mykotoxiny. Vědecký výbor fyto-sanitární a životního prostředí, Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i, Praha

Papadopoulou-Bouras, A., Vrabcheva, T., Valzachi, S., Stroka, J., Anklam, E. (2004): Screening survey of deoxynivalenol in beer from the European market by an enzyme-linked immunosorbent assay. Food Additives and Contaminants 21(6), 607–617

Schwarz, P.B., Casper, H.H., Beattie, S. (1995): Fate and Development of Naturally Occurring *Fusarium* Mycotoxins During Malting and Brewing. J. Am. Soc. Brew. Chem. 53, 121–127

Schwarz, P.B., Schwarz, J.G., Zhou, A., Prom, L.K., Steffenson, B.J. (2001): Effect of *Fusarium graminearum* and *F. poae* infection on Barley and Malt Quality. Monatschrift für Brauwissenschaft 3/4, 55–63



Obr. 2: Změny obsahu deoxynivalenolu (DON) v průběhu sladování 6 různých odrůd ječmene, inokulovaných *F. culmorum*, **fungicidně ošetřeno** (pozn. fialově ohraničené sloupce označují obsah DON pod limitem detekce)