

**Mikotoksinlerin Biyolojik Yöntemler ve Kimyasal Bağlayıcılarla  
Uzaklaştırılmasındaki Güncel Gelişmeler**

Dilek Heperkan

İTÜ, Kimya Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Maslak, İstanbul  
heperkan@itu.edu.tr

**Özet:** Mikotoksinler, gıda güvenliğinin sağlanması açısından, kontrol altına alınması gereken en önemli problemlerden birisidir. Mikotoksinlerin mikroorganizmalar ile kontrolünde izlenen yöntemlerden birisi, toksin üreticisi olmayan küf suşlarının, doğal toksin oluşturucu küfün yerini almasını sağlamaktır. Diğer yöntem ise özel bazı mikroorganizmaları veya kalsiyum montmorillonit gibi kimyasal maddeleri ürüne ilave ederek mikotoksinleri uzaklaştırmaktır.

**Anahtar kelimeler:** mikotoksin, biyolojik kontrol, kil, *Flavobacterium*, *Lactobacillus*

**Giriş**

Bitki kaynaklı yiyecek ve içecekler, hasattan tüketime kadar olan süreçlerde, koşulların uygun olması durumunda mikotoksin oluşumuna maruz kalırlar. Birkaç istisna dışında mikotoksin oluşumunda tüketicilerin önemli bir rolü bulunmamaktadır. Mikotoksinler, biyolojik etken olan küflerin gelişmesi sonucunda üründe oluşturdukları "sekonder metabolitler"dir, bu nedenle "kimyasal tehlike" olarak sınıflandırılmaktadır. Doğal mikotoksin oluşumu, mikotoksijenik küfün hasattan önce ürüne bulaşarak gelişmesine bağlıdır. Bu tip küf bulaşmasını önlemek çok güç olduğundan, doğal mikotoksinler "önlenmesi güç tehlikeler" olarak değerlendirilmektedir. Mikotoksinlerin kontrolü veya önlenmesinde uygulanacak yöntem seçiminde aşağıdaki konular dikkate alınmalıdır; teknik ve ekonomik açıdan uygun ve uygulanabilir olmalı, gıda maddesinin besin değerinde önemli değişikliğe ve daha toksik bileşiklerin oluşmasına yol açmamalı, üründe toksik veya sağlık açısından zararlı kalıntı bırakmamalıdır. Bu bildiride mikotoksinlerin kontrol altına alınmasında mikroorganizmaların etkileri ve mikotoksin bağlayıcı kimyasal maddelerle ilgili güncel gelişmelere ait bilgiler sunulacaktır. Mikroorganizmaları kullanarak mikotoksinlerin kontrol altına alınmasında iki farklı yol izlenmektedir. Birincisinde toksin üreticisi olmayan, küf suşları toprağa veya ölü bitki parçalarına aşılanarak özellikle hasattan önceki toksin oluşumu kontrol edilmektedir. Diğerinde ise özel bazı mikroorganizmalar mikotoksinli ürüne aşılanarak, üründeki mikotoksinler uzaklaştırılmaktadır.

### **Mikotoksinlerin Toksik Olmayan Küf Suşları ile Kontrolü**

Mikotoksinlerin "biyolojik yarışmaya dayanan biyokontrol" yöntemi ile kontrol altına alınması, özellikle hasattan önce, mikotoksin oluşumunun gözlemlendiği yer fıstığı, pamuk ve mısır gibi ürünlerde uygulama alanı bulmaktadır. Yöntemin uygulanması (1); toksin üretmeyen fakat çok yarışmacı özellikteki bir *Aspergillus parasiticus* suşu toprağa ilave edilir. Küf, toprak mikroflorasında hakim duruma gelir ve toprakta bulunan doğal aflatoksin oluşturucu *A. flavus / parasiticus* suşunun yerini alarak gelişmesine engel olur. Böylece, mevsim sonu kuraklık stresine maruz kalan yer fıstığı, hakim durumdaki yarışmacı küfün saldırısına maruz kalır. Ancak küf toksin oluşturmadığından üründe aflatoksin meydana gelmez veya daha düşük miktarda meydana gelir. Benzer şekilde toksik olmayan *Aspergillus niger* sıvı ve katı besi yerinde okratoksin A (OA) y1 parçaları. *A. niger* karboksipeptidaz salgılayarak OA y1 okratoksin  $\alpha$  ve fenilalanine parçaları (2). Bu yöntemin yeşil kahve çekirdekleri ve hububat gibi katı maddelerde OA y1 uzaklaştırmakta kullanılabileceği belirtilmiştir. Ayrıca *Geotrichum candidum* gibi yarışmacı küflerin, bira üretimi sırasında starter kültür olarak kullanılması ile *Fusarium* enfeksiyonunda %86'dan %0'a kadar varan bir azalma olduğu belirtilmiştir (3).

### **Mikotoksinlerin Mikroorganizmalar ile Uzaklaştırılması**

Mikotoksin oluşmuş bir üründen bakteri, maya, küf ve protozoa gibi mikroorganizmalar yardımıyla toksin uzaklaştırılmaktadır. Bu yöntemle ilgili son yıllarda önemli gelişmeler ve başarılı sonuçlar elde edilmiş, mikotoksinlerin uzaklaştırılmasında uygulanabilir, ümit verici bir yöntem olarak değer kazanmıştır. Mikotoksinlerin mikroorganizmalar ile uzaklaştırılmasındaki mekanizmalar halen araştırılmakta olup, mikroorganizma tipi (hücre ve bileşenleri) ve konsantrasyonu, ürünün asidik veya bazik karakterde olması ve mikotoksin özelliklerinin etkili parametreler olduğu bildirilmektedir (2, 4, 5).

Bir çözeltiden aflatoksini uzaklaştırıldığı bildirilen ilk mikroorganizma *Flavobacterium aurantiacum* dur (6). *F. aurantiacum* (NRRL B-184) hem çözeltideki, hem de mısır ve mısır yağı, yer fıstığı kreması, ve soya fasulyesi gibi çeşitli ürünlerdeki aflatoksin B<sub>1</sub> i parçalayabilmektedir (7). Bakteri aflatoksini metabolize ederek suda ve kloroformda çözünebilen parçalanma ürünlerine ve CO<sub>2</sub> ye dönüştürmektedir. Bazı araştırmacılar ölü bakteri hücrelerinin bile bir miktar aflatoksini bağlayabildiğini fakat bunu daha ileri düzeyde parçalayamadığını bildirmişlerdir (8). Araştırmacılar etkili bir parçalanma meydana gelebilmesi için bakteri sayısının bir mililitrede yaklaşık  $1 \times 10^{10}$  CFU olması gerektiğini bildirmişlerdir. *F. aurantiogriseum* un hücre

proteinlerinin AFB<sub>1</sub> i bağladığı, bu nedenle mekanizmanın enzimatik olabileceği de düşünülmüştür (9).

Bazı laktik asit bakterileri de sıvı ortamdan mikotoksini uzaklaştırabilmektedir. Örneğin *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) suşunun sıvı ortamdan AFB<sub>1</sub> ve zearalenonu (ZEN) uzaklaştıran en etkili mikroorganizma olduğu belirlenmiştir. (4, 10). Canlı ve ısıtılmış işlem görmüş bakterilerle yapılan bir çalışmada AFB<sub>1</sub> in bağlanması hücre dışında fiziksel olarak meydana geldiği bildirilmiştir (4). Asitle muamele edildiğinde ise hücre içi bağlanma meydana gelmiştir.

Canlı LGG suşunun AFB<sub>1</sub> bağlama özelliği incelenmiş, bağlanmanın fiziksel olduğu ve hücre duvarındaki peptidoglikan, veya peptidoglikana kovalent bağlı unsurların AFB<sub>1</sub> in bağlanmasında önem taşıdığı bildirilmiştir (11). Hücre duvarında bulunan teikoik asit gibi karbohidratlar, eksopolisakaritler ile proteinler, Ca<sup>+2</sup> veya Mg<sup>+2</sup> un aflatoksin bağlanmasında bir rolü olmadığı açıklanmıştır. Mikroorganizmalar yardımıyla tarımsal ürünlerden uzaklaştırılan tek mikotoksin aflatoksin olmayıp, trikotesenler de *Lactobacillus* ve *Propionibacterium* tarafından uzaklaştırılabilmektedir (12). Ancak araştırmacılar bakterilerin in vitro trikotesen bağlamalarında önemli farklılıklar bulunduğunu belirtmişlerdir.

Koyun ve inek gibi memelilerin sindirim sistemindeki (rumen dahil) mikrobiyal floranın ve sıçanlarda caecum ile kalın bağırsaktaki mikroorganizmaların OA yı parçaladığına dair pek çok çalışma bulunmaktadır. Benzer şekilde insanların bağırsak mikrobiyotası da OA yı kısmen parçalamaktadır (2). Mayalar, özellikle *Saccharomyces cerevisiae* ortamdan mikotoksin absorbe eden bir diğer mikroorganizmadır. *S. cerevisiae* hücre duvarı fraksiyonları, toplam hücre kuru ağırlığının %13.3-25.0 i olup, glukoz, mannan ve kitin gibi çeşitli maddeler içerir (6). Mannanın kompleks (toksini bağlayan) oluşumunda rolü olmadığı belirlenmiştir. Hücre duvarını oluşturan unsurlar içinde ZEN absorpsiyonunu sağlayan esas molekül β-D glukozlardır. Kit içeriğinin yüksek olması ZEN'in β-D glukozlar tarafından absorpsiyonunu sınırlamaktadır. ZEN de kompleks oluşum mekanizması, zayıf kovalent olmayan bağlar ile ilişkilidir. Bu yüzden β-D glukozlar ile ZEN arasındaki kimyasal ilişki, bağlanmadan çok absorpsiyon tipindedir. Maya hücresindeki β-D glukozlar ve onların alkalide ekstrakte edilmiş fraksiyonları ZEN adsorpsiyon verimini artıran en uygun yapılarıdır (5).

Çeşitli bağlayıcı ajanlar yemlere ilave edilerek aflatoksin bağlamakta böylece vücut tarafından emilen aflatoksin miktarı azalmaktadır. Kalsiyum montmorillonite kili (HSCAS) AFB<sub>1</sub> i bağlayan kuvvetli bir ajan olup, tavuk yemlerine en fazla 0.5% w/w düzeyinde ilavesi olumsuz bir etki meydana getirmemektedir (13).

## **Kaynaklar**

1. Dorner JW, Cole RJ, Blankenship PD. 1992. Use of a biocompetitive agent to control preharvest aflatoxin in drought stressed peanuts. *J Food Prot.* 55(11): 888-892.
2. Varga J, Rigo K, Teren J. 2000. Degradation of ochratoxin A by *Aspergillus* species. *Int J Food Microbiol.* 59: 1-7.
3. Boivin P, Malanda M. 1997. Improvement of malt quality and safety by adding starter culture during the malting process. *MBAA Tech Quart* 34: 96-101.
4. Haskard CA, El-Nezami HS, Kankaanpää PE, Salminen S, Ahokas JT. 2001. Surface binding of aflatoxin B<sub>1</sub> by lactic acid bacteria. *Appl Environ Microbiol.* 67(7): 3086-3091.
5. Yiannikouris A, Francois J, Poughon L, Dussap CG, Bertin G, Jeminet G, Jounay JP. 2004. Alkali extraction by  $\beta$ -D-Glucans from *Saccharomyces cerevisiae* cell wall and study of their adsorptive properties toward zearalenone. *J Agric Food Chem.* 52: 3666-3673.
6. Ciegler A, Lillehoj B, Peterson RE, Hall HH. 1966. Microbial detoxification of aflatoxin. *Appl. Microbiol.* 14: 934-939. alınmıştır; Line JE, Brackett RE, Wilkinson RE. 1994. Evidence for degradation of Aflatoxin B<sub>1</sub> by *Flavobacterium aurantiacum*. *J Food Prot.* 57 (9): 788-791.
7. Line JE, Brackett RE. 1995. Role of toxin concentration and second carbon source in microbial transformation of Aflatoxin B<sub>1</sub> by *Flavobacterium aurantiacum*. *J Food Prot.* 58 (9): 1042-1044.
8. Line JE, Brackett RE, Wilkinson RE. 1994. Evidence for degradation of Aflatoxin B<sub>1</sub> by *Flavobacterium aurantiacum*. *J Food Prot.* 57 (9): 788-791.
9. Smiley RD, Draughon FA. 2000. Preliminary evidence that degradation of Aflatoxin B<sub>1</sub> by *Flavobacterium aurantiacum* is enzymatic. *J Food Prot.* 63 (3): 415-418.
10. El-Nezami H, Polychronaki N, Lee YK, Haskard C, Juvonen R, Salminen, Mykkanen H. 2004. Chemical moieties and interactions involved in the binding of zearalenone to the surface of *Lactobacillus rhamnosus* strains GG'. *J Agric Food Chem.* 52: 4577-4581.
11. Lahtinen SJ, Haskard CA, Ouwehand AC, Salminen SJ, Ahokas JT. 2004. Binding of aflatoxin B<sub>1</sub> to cell wall components of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG. *Food Add Cont.* 21(2): 158-164.
12. El-Nezami H, Polychronaki N, Salminen S, Mykkanen H. 2002. Binding rather than metabolism may explain the interaction of two food-grade *Lactobacillus* strains zearalenone and its derivative  $\alpha$ -zearalenol. *Appl Environ Microbiol.* 68 (7):3545-3549.
13. Phillips TD, Lemke SL, Grant PG. 2002. Characterization of clay-based enterosorbents for the prevention of aflatoxicosis, alınmıştır, DeVries JW, Trucksess MW, Jackson LS, *Mycotoxins and Food Safety*, New York, Kluwer Academic / Plenum Publishers, 157-171.