

## Gıdalarda Mikotoksinlerin Detoksifikasyonu

Güner ÖZAY

TÜBİTAK - MAE, Beslenme ve Gıda Teknolojisi Bölümü

Gebze — KOCAELİ

### ÖZET

Gıdalarda, küflerin oluşturduğu mikotoksinler, insan/hayvan üzerine zararlı etkileri yanı sıra, zaman zaman ekonomik kayıplara da neden olmaktadır. Hayvan yemi olarak kullanılan kontamine ürünlere uygulanabilen amonyaklama, yağlı tohumlardan yağ ayırma prosesi, solventlerle özütlenme yanı sıra insan gıdasına konu olan ürünler üzerine çeşitli gıda işleme proseslerinin etkisi çalışmaları, başta aflatoksinler olmak üzere ochratoxin - A, patulin vomitoksin üzerine yoğunlaşmıştır.

### GİRİŞ

Mikotoksinler, çeşitli gıda ve yemlerde, küflerin oluşturduğu toksik sekonder metabolitlerdir. Günümüzde izole edilmiş mikotoksin sayısı 200 üzerindedir, bu sayı daha da artabilir.

Mikotoksin oluşturan küfler bir şekilde üründen uzaklaştırılabilir de, kararlı bir moleküler yapıya sahip olan mikotoksinlerin gıda/yem'den uzaklaştırılabilmesi zordur.

Doğada bulunabilme sıklığı ve toksik özellikleri gözönünde bulundurulursa, en önemli mikotoksinler Aflatoksinler, Ochratoxin-A, Sterigmatosistin, Patulin, Penisillik Asit, Sitrinin ve bazı Trikaşetenlerdir. Bunlar arasında aflatoksinler insan ve hayvan üzerine toksik etkisi, karsinogen özelliği ile ayrı bir önem taşır ve pek çok ülkede gıdalarda izin verilen oranlarda bulunabilecek aflatoksin miktarları, kanun/tüzüklerle sınırlandırılmış, ülke ve ürün çeşidine göre 0 - 50 ppb ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) aralığında değişiklik göstermektedir (STOLOFF, 1977).

Mikotoksinli ürünlerin tüketilmesi, insan ve hayvan sağlığı üzerinde zararlı etkileri yanı sıra, milyonlarca Dolarlık ekonomik kayıplara neden olmaktadır (FAO, 1979). Bu durum, kontamine ürünlere aflatoksinlerin giderilmesi yolunda, araştırmaları gerektirmiştir. «Detoksifikasyon» olarak tanımlanan ve pratikte uygulamaları da mevcut olan bu işlemler, genellikle aflatoksinler üzerinde yoğunlaşmıştır.

Gıda ve yemlerde mikotoksinlerden korunmanın en iyi yolu oluşumunu engelleyici tedbirlerin alınmasıdır. Bunun için de, toksinojen küf gelişmesi, ürünün kontamine oluşunun iyi anlaşılması gerekir. Mikotoksin oluşumunu etkileyen faktörler incelenecek olursa, fiziksel, kimyasal, biyolojik olarak; tarlada hasatta ve depoda durum Çizelge 1'de verilmiştir (HESEL-TINE, 1976).

### FİZİKSEL

Çizelge 1: Mikotoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler (HESEL-TINE, 1976).

FAKTÖR	TARLADA	HASATTA	DEPODA
Nem	+	+	+
Sıcaklık	+	+	+
Mekanik hasar	+	+	+
Ürün karıştırma	—	+	+
Kızışma noktaları	—	—	+
Süre	+	+	+
<b>KİMYASAL</b>			
CO <sub>2</sub>	—	—	+
O <sub>2</sub>	—	—	+
Substrat yapısı	+	—	+
Mineral Besleme	+	—	+
Kimyasal işlem	—	—	+
<b>BIYOLOJİK</b>			
Bitki dayanıklılığı	+	—	+
Küf enfeksiyonu	+	—	+
Bitki varyete farklılığı	+	—	+
Küf çeşidi	+	—	+
Spor yükü	+	+	+
Mikrobiyal eko sistem	+	—	+

Bu bilgiler ışığında, çeşitli gıdalarda mikotoksin oluşumu önlenemediği durumlarda, alternatif, mikotoksinlerin giderilmesi veya inaktivasyonuna dayanan DETOKSİFİKASYONU olabilir.

Çeşitli ürünlerde detoksifikasyon teknikleri, «Fiziksel Ayırım» (özütlenme dahil) ve «Kimyasal ve Fiziksel Yollarla İnaktivasyon» olarak ikiye ayrılabilir.

Özellikle yer fıstığı, antep fıstığı gibi iri taneli ürünlere uygulanabilen fiziksel ayırım, bozuk olan koyu renkli tanelerin el ile veya «elektronik göz» adı verilen fotoelektrik hücrelerden geçirilerek ayrılması şeklinde yapılabilir. Mısır gibi küçük taneli ürünlere fiziksel ayırım mümkün olmamaktadır. Bu tür ürünlere kuru temizleme, yaştan temizleme, yoğunluğa göre ayırım, tercihlili fragmentasyon yöntemleri uygulanabilir (FAO, 1979).

Solventlerle özütlemeye örnek olarak verilebilen, yağlı tohumların işlenmesinde uygulanan proses, aflatoksinlerin tamamına yakın kısmının uzaklaşmasını sağlamaktadır (GOLMBLAT ve DOLLEAR, 1977). İşlem sırasında tohumda mevcut aflatoksinin bir kısmı ham yağa geçer. Yağa geçen aflatoksin oranı genellikle işleme şekli, koşullar ve hammadde kalitesine bağlıdır (PARKER ve MELNICK, 1966), rafinasyon sırasında bitkisel yağların aflatoksinin giderildiği, büyük bir kısmının ham yağın alkali ile muamelesinde «soapstock» ta konsantre olduğu saptanmıştır.

Konvensiyonel rafinasyon ve ağartma (bleaching) proseslerinin uygulandığı ABD'de yağlarda aflatoksin problemi yoktur. Çünkü zeytinyağı dışında yenilebilir hamyağ tüketilmemektedir. Fakat, yağın ham yağ olarak kullanıldığı yerlerde özellikle yer fıstığının çok üretildiği ülkelerde örneğin Hindistan'da, rafine edilmemiş ham yer fıstık yağı ucuz oluşu, hoş aroma ve lezzeti ile geniş bir halk kesimi tarafından tercih olunmaktadır. Ham yer fıstığı yağından aflatoksinin giderilmesi için (MILLAR ve ark. 1985) yağı kaolin ile işleme sokmuş, % 1, 1.5, 3 oranında kaolin ile 15-30 dak., 80°C'de denemeler sonucu, % 3'lük kaolin ile 15 dakikalık süren işlemde en iyi sonuç alınmıştır.

Solventlerle özütleme işlemi için sayısız solvent ve solvent kombinasyonları denenmiştir. Özellikle yağlı tohumlara uygulanabilen etkin solvent sistemi su, aseton heksan içermektedir (GARDNER ve ark., 1968). % 90 aseton, % 10 su ikili sistemi ile özütlemenin yer fıstığı, pamuk tohumu üzerinde % 96-98 etkili olduğu, ayrıca pamuk tohumlarında bulunan gossipol'ü de uzaklaştırdığı belirtilmiştir (GARDNER ve ark., 1971).

Solventlerle özütleme işlemlerinin avantajları : aflatoksinin tamamına yakın kısmının üründen uzaklaştırılabilmesi, üründe yeni bozuma ürünlerinin kalmayışı, ürün proteinlerinin fazla tahrip olmayışı ve besin değerinin korunmasıdır.

Diğer yandan özütleme ve solvent geri kazanımı için ek prosesler, normal işleme maliyetine ek maliyet getirmesi, aseton kullanılmışsa, ürün proteini kükürtlü amino asitler ile tepkiyerek fena koku oluşumu gibi dezavantajları vardır.

Aflatoksinlerin biyolojik yolla giderilmesi yolunda mikroorganizma kullanımı üzerinde de çalışmalar göze çarpar. CIEGLER ve ark., (1966), yaklaşık 1000 kadar mikroorganizma (maya, küf, bakteri v.b.) tarayarak aflatoksinler üzerine etkisini araştırmışlardır. Bulgularına göre *Flavobacterium aurantacum* sıvı ortamda aflatoksinleri yok etmiş, işlem 1969'da patentlenmiştir. Ancak Enstitümüzü ziyaret eden Ciegler bu uygulamanın işe yararlılığının yeniden gözden geçirildiğini söylemiştir.

Mikotoksinler, fiziksel ve kimyasal yollarla inaktive edilebilir. Fiziksel inaktivasyona ısı, ışınlama örnek verilebilir. Yapılan çeşitli araştırmalarla, ısının tek başına etkili olmadığı, ortam nemine bağlı olduğu, nem oranı arttıkça ısı etkisinin de arttığı ortaya konulmuştur (MANN ve ark., 1967).

Kimyasal olarak inaktive edicilere örnek olarak da pek çok kimyasal madde denenmiş olup asitler, alkaliler, aldehitler, oksitleyiciler, Cl<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>, NH<sub>3</sub> gibi gazlar, benzoil peroksit, osmiyum tetroksit, NaCl, KMnO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> verilebilir (TRAGER ve STOLOFF, 1967).

Kimyasal inaktivasyonda üründe kalabilecek sağlığa zararlı reaksiyon ürünlerinin kontrolü gerekmektedir. Ayrıca gıdanın besin değerinin korunması, koku, tat, renk, doku fonksiyonel özellikleri, tüketici tarafından kabul edilebilir özelliklerle olmalıdır.

Kimyasal inaktivasyon uygulamalarına bakıldığında PARPIA ve SREENIKASAMURTHY (1971) geliştirdikleri bir yöntem ile insan tarafından tüketilecek yer fıstığında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'le detoksifikasyonu denemışlerdir. Aynı madde pro-

tein izolatları, süt gibi proteinli içeceklere uygulanmış olup, İngiltere ve Hindistan'da bu işlemlerle ilgili patentler mevcuttur.

ESPOY, (1972) patentli bir çalışmada  $Ca(OH)_2$ 'yi su ile çamurlaştırarak yağlı tohumları detoksifiye etmek için kullanılmıştır. Bu işlem pratikte, ABD'de kurutulmuş hindistan cevizi detoksifikasyonunda uygulanmaktadır. Kontamine ürünlerde mikotoksinlerin kimyasal inaktivasyonunda en etkin ve uygulamalarına başlamış olan yöntem amonyaklamadır.

GARDNER ve ark. (1971), pilot tesis ölçeğinde bir amonyaklama denemelerinde % 99'a kadar etkili sonuç almışlardır. ABD'de amonyaklama ile pamuk tohumlarından aflatoksinlerin detoksifikasyonu için kurulmuş fabrikalar mevcuttur.

Amonyaklama diğer inaktivasyon yöntemlerine nazaran ekonomiktir, büyük ürün miktarlarına uygulanabilir, toksisite denemeleri ile işlenmiş ürünün emniyetli olduğu saptanmıştır (BAGLEY, 1979).

Amonyaklama işlemi, diğer önemli mikotoksinler üzerinde de etkili olmaktadır. CHELKOWSKI, (1981), değişik konsantrasyonlarda amonyaklamanın Ochratoksin A, Sitrinin, Sterigmatosistin, Penisillik Asit, Zearalenon üzerine etkisini incelemiştir. Bulgularına göre amonyaklama işleminde Sterigmatosistin kararlı, Penisillik Asit daha kararlı, Sitrinin dayanıksız, Aflatoksin B<sub>1</sub>, ochratoksinde daha dayanıklılık göstermiştir.

Mikotoksinler üzerine, «ev teknolojileri» de sayılabilecek çeşitli gıda işleme operasyonlarının etkisi incelenecek olursa; gıda işleme sırasında mikotoksin üzerine etkili faktörler: uygulanan işlem şekli, gıda yapısı, gıda nem içeriği, kullanılan katkı maddeleridir (SCOTT, 1984).

Önemli mikotoksinler ayrı ayrı incelenecek olursa: Aflatoksinler, yer fıstığında oluşmuşsa, oda sıcaklığında dayanıklılığını korumaktadır. BAUR, (1975), 23°C'de 2 yıl süre ile dayanıklıdır derken WALKING (1971) ise 6 aydan itibaren aflatoksin oranının düştüğünü açıklamaktadır.

Aflatoksinler kavurmaya karşı orta derecede dayanıklıdır. WALKING (1971)'e göre yer fıstığını kavurma işleminde aflatoksinlerden B<sub>1</sub>, G<sub>1</sub> % 40 - 50, B<sub>2</sub>, G<sub>2</sub> esa % 4 oranında azalma gözlenir.

Yeşil kahvenin kavrulması sırasında 200°C'de, 12 dakika sürede aflatoksinin % 79'u, 15 dakikada % 94'ü tahrip olur (LEVI, 1980). Sterigmatosistin, 200°C'de yeşil kahvenin 20 dakika kavrulması sırasında % 68 oranında azalmıştır (LEVI, 1975). Aynı işlemde aflatoksin ve Ochratoksin-A % 80 oranında tahrip olmuştur. Sterigmatosistin peynirde —18°, 16°C'de en az 3 ay dayanıklılık göstermiştir (Van EGMOND, 1983. Ochratoksin-A, aflatoksin ve Patulinin aksine, kuru ortamda, sulu ortamdan daha çabuk bozunur. Ochratoksin-A ekmek yapımında tahrip olmaz. Bisküvi yapımında ise % 62 oranında bozunur. «Corn flake» yapımında bozunma oranı % 45, et pişirmede % 20'dir (SCOTT, 1984).

Sitrin kararsızdır, hububatlarda hızla tahrip olur. Isıtma ile yapısı tanımlanamamış yeni bir toksin oluşur (SCOTT, 1984).

Patulin ve Penisillik Asit genellikle gıdalarda dayanıksızdırlar. Elma ve elma sularında bulunma şansı çok olan patulin elmanın, çürük kısmının kesilip atılmasıyla % 93 - 99 oranında azaltılabilir (SCOTT, 1984).

Zearalenon buğday unundan ekmek yapımında % 34-40 bisküvi yapımında % 16-27 oranında tahrip olur (SCOTT, 1984). Önemli triketesenlerden Vomitoksin, mısırın öğütülmesi sırasında, hayvan yemi olarak kullanılan küspede kalır. Yaş öğütme sırasında önemli bir kısmı nişastaya geçer. T<sub>2</sub> toksin ise, % 67'si yaş öğütme ve proses suyu ile atılır, % 4'ü nişastaya geçer. Vomitoksin ısıya dayanıklıdır. ELBANAWA ve ark. (1983), «mısır» tipi ekmek yapımında Vomitoksin bozunmaz derken, Japon araştırmacılar (KAMIMURA, 1979) ekmek yapımı sırasında Vomitoksin % 49 oranında tahrip olduğunu savunmaktadırlar.

Gıda işleme faktörlerinin, önemli mikotoksinler üzerine etkisi toplu olarak görmek amacıyla, Çizelge 2'de uygulanabilen gıda işleme tekniklerinin çeşitli mikotoksinler üzerine etkileri, Çizelge 3'de Ekmek yapımı sırasında çeşitli mikotoksinlerin dayanıklılıkları verilmiştir.

**Çizelge 2: Uygulanabilen Gıda İşleme Tekniklerinin Çeşitli Mikotoksinler Üzerine Etkileri.**

	Aflatoksinler	Sterigmatosistin	Okratoksin-A	Sitinin	Patulin	Penisilik Asit	Zearalenon	Triko-tesenler
Depolama	+	+	+	+	+	+		
Mısırın kuru/yaş öğütülmesi	+		+				+	+
Un Yapımı	+		+					+
Kavurma	+	+	+	+				
Ekmek Yapımı	+		+				+	+
Pişirme	+		+		+		+	+
Konserve			+					
Fermentasyon	+		+	+	+		+	

**Çizelge 3: Ekmek Yapımı Sırasında Çeşitli Mikotoksinlerin Dayanıklıkları. Bozunma Yüzdesi**

Mikotoksin	Hamur Yapımı	Fırında Pişirme	Fırında Pişirme Sıcaklığı (°C)
Aflatoksin B <sub>1</sub>	35—90	0—25	250
Aflatoksin B <sub>1</sub>	70	4	?
Aflatoksin B <sub>1</sub>	25—44	0	120
Aflatoksin B <sub>1</sub> B <sub>2</sub>		16—17	240
Zearalenon		34—40	190—200
Vomitoksin		0	350
Vomitoksin		0	205
Vomitoksin	—	49	210
Diğer trikotesenler	—	33—60	210

Her ürün, her mikotoksin ve belki de her coğrafik bölge kendi özel problemlerini ve çözümlerini beraberinde taşır. Uygulanabilen proseslerin çoğu % 100 etkin değildir. Kimyasal işlemler uygulandığında oluşabilecek yeni biyolojik aktif maddelerin kontrolü yapılmalıdır. Ayrıca uygulanan işlem, ürünün besin değerini

az az/çok değiştirebilir. Bunlar gözönünde bulundurularak mikotoksinlerden korunmanın en iyi yolunun, oluşumunu önleyici tedbirlerin alınması olduğu ve detoksifikasyon işlemleri, başvurulacak en son çare olarak düşünülmeli, gerektiğini vurgulamak isterim.

## KAYNAKÇA

- BAGLEY A.B. (1979): «Decontamination of Grain Containing Aflatoxin by Treatment with Ammonia», *J. Am. Oil Chem. Soc.* 56, 808 - 811.
- BAUR F.J. (1975): «Effect of Storage Upon Aflatoxin Levels in Peanut Materials», *J. Am. Oil Chem. Soc.* 52, 263 - 265.
- CHELKOWSKI J., P. GOLINSKI, B. GODLEWSKA, W. RADAMYSKA, K. SZEBIOTKA, M. WIEWIOROWSKA. (1981): «Mycotoxins in Cereal Grains» *Die Nahrung*, 25, 7, 631 - 637.
- CIEGLER, A., E.C. LILLEHOJ, Q.E. PETERSON, H.H. HALL (1966): «Microbial Detoxification of Aflatoxin», *Appl. Microbiol.* 14, 934 - 939.
- EL-BANNA, A.A., P.Y. LAU, P.M. SCOTT (1983): «Fate of Mycotoxins During Processing of Foodstuffs II. Vomitoxin during making of Egyptian Bread», *J. Food Prot.* 46, 484 - 487.
- ESPOY H.M. (1972): «Detoxification of Corn Containing Aflatoxin by Treatment with Calcium Hydroxide, U.S. Patent, 3, 689, 275.
- FAO (1979): «Physical Separation of Mycotoxins», *Food and Nutrition Paper* 10, 40-44.
- FAO (1979): «Aflatoxins in Pistachio Nuts», *Food and Nutrition Paper* 13, 105 - 106.
- GARDNER H.K. Jr., S.P. KOLTUN, H.L.E. VIX (1968): «Solvent Extraction of Aflatoxins from Oilseed Meals», *J. Agric. Food Chem.*, 990 - 993.
- GARDNER, H.K., Jr., S.P. KOLTUN, F.G. DOLLEAR, E.T. RAYNER (1971): «Inactivation of Aflatoxins in Peanut and Cottonseed meals by Ammoniation», *J. Am. Oil Chem. Soc.* 48, 70 - 73.
- GOLDBLAT, L.A., F.G. DOLLEAR (1977): «Detoxification of Contaminated Crops». In *mycotoxins in Human and Animal Health*, 139 - 148.
- HESELTINE, C.W. (1976): «Conditions Leading to mycotoxin Contamination of Foods and Feeds», *Adv. Chem. Series* 149, 22 Pages.
- KAMIMURA, H., H. NISHIJIMA, K. SAITO, K. IBE, T. NAGAYAMA, H. USHIYAMA, Y. NAOI (1979): «The Decomposition of Trichothecene Mycotoxins During Food Processing», *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 20, 352 - 357.
- LEVI, C.P., H.L. TRENK, J.A. YERANSIAN (1975): «Investigations of Mycotoxins Relative to Coffee» *Gollog. Int. (C.R)* 7, 287 - 294.
- LEVI, C.P. (1980): «Mycotoxins in Coffee», *J. Off. Anal. Chem.* 63, 1282 - 1285.
- MANN G.E., L.P., Jr. CODIFER, F.G. DOLLEAR (1967): «Effect of Heat on Aflatoxins in Oilseed Meals», *J. Agr. Food Chem.*, 15, 1090 - 1092.
- MILLER, N., J.B.M. de VILLIERS, H.E. PRETORIUS (1985): «Detoxification of Aflatoxin-Containing Crude Groundnut Oil», *Lebensm. - Wiss. u. Technol.*, 18, 201-202.
- PARKER W.A., D. MELNICK, (1966): «Absence of Aflatoxin from Refined Vegetable Oils», *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 43, 635 - 638.
- PARTIA, H.A.B., V. SRREENIVASAMURTHY (1971): «Importance of Aflatoxin in Foods with Reference to India», *Proc. SOS (Sci. Survival)/70 Int. Congr. Food. Sci. Technol.* 3rd 1970 (Pub. 1971), 701 - 704.
- SCOTT P.M. (1984): «Effect of Food Processing on Mycotoxins», *J. of Food Prot.* 47, 6, 489 - 499.
- STOLOFF, L. (1977): «Aflatoxin Kontrolle in Verschiederen Ländern», *In Mycotoxine in Lebensmitteln*, Ed: J. Reis. 495 - 496.
- TRAGER, W., L. STOLOFF (1967): Possible Reactions for Aflatoxin Detoxification», *J. Agr. Food Chem.* 15, 4, 679 - 681.
- VAN EGMOND, H.P. (1983) «Mycotoxins in Dairy Products», *Food Chem.* 11, 289-307.
- WALTKING, A.E. (1971): «Fate of Aflatoxin During Roasting and Storage of Contaminated Peanut Products». *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 54, 533 - 539.