

OCENA ZAWARTOŚCI MIKOTOKSYN W WYBRANYCH PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH

Mikotoksyny (produkty wtórnego metabolizmu grzybów strzępkowych określane potocznie mianem pleśni) zaliczane są do naturalnych zanieczyszczeń żywności i surowców wykorzystywanych do jej produkcji.

Obecność mikotoksyn w żywności i płodach rolnych, a stąd ich negatywny wpływ na zdrowie człowieka, zależy od wielu czynników (m.in. klimatu, kultury rolnej, technologii przetwarzania surowców) powiązanych w różny sposób i jest w pewnych warunkach środowiskowych nie do uniknięcia.

Produkty rolne mogą ulec zanieczyszczeniu na etapie rozwoju rośliny na polu, poprzez nieodpowiedni zbiór, jak też w trakcie obróbki, przechowywania i transportu. Wiele mikotoksyn jest niewrażliwych na obróbkę cieplną, w wyniku czego są stabilne podczas standardowych procesów przygotowywania żywności i mogą pozostawać w produkcie długo nawet po zaniku pleśni

Produkty rolne mogą ulec zanieczyszczeniu na etapie rozwoju rośliny na polu, poprzez nieodpowiedni zbiór, jak też w trakcie obróbki, przechowywania i transportu. Wiele mikotoksyn jest niewrażliwych na obróbkę cieplną, w wyniku czego są stabilne podczas standardowych procesów przygotowywania żywności i mogą pozostawać w produkcie długo nawet po zaniku pleśni

Dotychczas zidentyfikowano około 400 mikotoksyn, wśród których najlepiej poznane to aflatoksyny, ochratoksyny, trichoteceny, fumonizyny, zearalenon oraz patulina.

Głównym producentem aflatoksyn są toksynotwórcze szczepy *Aspergillus flavus*. Do zanieczyszczenia tymi mikotoksynami produktów rolnych, m.in. orzechów ziemnych, kukurydzy czy nasion bawełny dochodzi w trakcie wegetacji roślin. Jednak największe stężenie aflatoksyn obserwuje się w artykułach rolnych w trakcie ich przechowywania w nieodpowiednich warunkach.

Kukurydza, orzechy ziemne, nasiona bawełny, orzechy brazylijskie i pistacje są artykułami najbardziej podatnymi na zanieczyszczenie tymi mikotoksynami.

Ochratoksyna A (OTA) jest wytwarzana przez *Penicillium verrucosum* (w klimacie umiarkowanym i chłodnym) oraz niektóre gatunki *Aspergillus* (w cieplejszych i tropikalnych obszarach świata). Uważa się, że głównym czynnikiem powodującym zanieczyszczenie żywności i pasz jest powstawanie ochratoksyny po zbiorze.

Mikotoksyna ta wykrywana jest najczęściej w surowcach źle wysuszonych oraz składowanych w nieodpowiednich warunkach wilgotności i temperatury.

Oprócz zbóż stwierdzono występowanie OTA w wielu innych środkach spożywczych, w tym w nasionach soi, fasoli, ciecierzycy, ziarnach surowej kawy, ziarnach kakao, winie i soku z winogron, piwie, przyprawach i przetworach mięsnych zawierających krew. Stwierdza się ją również w niektórych fermentowanych produktach, np. w sosie sojowym. Wysoką zawartością OTA charakteryzują się również suszone owoce: rodzynki i porzeczki.

Patulina jest toksycznym metabolitem wtórnym niektórych gatunków grzybów, zarówno z rodzaju *Aspergillus*, jak i *Penicillium*. W warunkach naturalnych patulinę wykrywa się najczęściej w jabłkach i soku jabłkowym, a w mniejszym stopniu w owocach z objawami brązowej zgnilizny (brown rot), takich jak: banany, ananasy, winogrona, brzoskwinie, morele i pomidory. Wykryć ją można również (choć w niewielkich ilościach) w spleśniałych kompotach i soku gruszkowym.

Mikotoksyny mogą wywoływać u ludzi i zwierząt efekty toksyczności o charakterze ostrym, podoстрыm lub przewlekłym, wykazują również działanie kancerogenne i teratogenne. Chociaż ostre efekty są obserwowane wyjątkowo rzadko, to długotrwałe narażenie nawet na działanie ich niskiego stężenia może powodować różne choroby przewlekłe, np. nowotwory wątroby i nowotwory nerek.

Mikotoksyny i grzyby toksynotwórcze

Mikotoksyna	Surowiec	Gatunek
Aflatoksyny	Zboża, orzechy, przyprawy, suszone owoce	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>A. nomius</i>
Ochratoksyna A	Zboża, suszone owoce, wino, kawa, przyprawy, żywność pochodzenia zwierzęcego	<i>Aspergillus alutaceus</i> , <i>A. melleus</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>A. carbonarius</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. ostianus</i> , <i>Penicillium verrucosum</i> var. <i>cyclopium</i> , <i>P. verrucosum</i> var. <i>verrucosum</i> , <i>P. commune</i> , <i>P. nordicum</i> , <i>P. purpurescens</i> , <i>P. variable</i>
Fumonizyny	Zboża i produkty zbożowe	<i>Fusarium verticillioides</i> , <i>F. proliferatum</i> , <i>F. subglutinans</i>
Trichoteceny	Zboża i produkty zbożowe	<i>Fusarium sporotrichioides</i> , <i>F. poae</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. graminearum</i>
Patulina	Owoce i przetwory owocowe	<i>Aspergillus chevalieri</i> , <i>A. clavatus</i> , <i>A. terreus</i> , <i>Penicillium cyclopium</i> , <i>P. expansum</i> , <i>P. patulum</i> , <i>Byssochlamys fulva</i> , <i>B. nivea</i>
Zearalenon	Zboża i przetwory zbożowe	<i>Fusarium cerealis</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. graminearum</i>
Alternariol	Owoce, warzywa, zboża	<i>Alternaria alternata</i> , <i>A. brassicae</i> , <i>A. tenuissima</i> , <i>A. tomato</i>

W tabeli przedstawiono mikotoksyny najlepiej poznane i najważniejsze z ekonomicznego i toksykologicznego punktu widzenia, gatunki grzybów toksynotwórczych, wśród których są szczepy je wytwarzające oraz najbardziej zagrożone surowce.

Zagrożenia zdrowotne związane ze skażeniem żywności mikotoksynami

Działanie toksyny	Mikotoksyna
Rakotwórcze	Aflatoksyna B ₁ , ochratoksyna A, sterigmatocystyna, grizeofulwina, fumonizyna B ₁ , toksyny <i>Fusarium moniliforme</i>
Hepatotoksyczne	Aflatoksyny, sterigmatocystyna, patulina
Neurotoksyczne	Ochratoksyna A, cytrynina
Kardiotoksyczne	Moniliformina
Neurotoksyczne	Alkaloidy sporyszu, citreowirydyna
Immunotoksyczne	Aflatoksyny, ochratoksyna A, trichoteceny
Teratogenne	Aflatoksyny, patulina, ochratoksyna A
Dermatotoksyczne	Trichoteceny, toksyna T-2
Estrogenne	Zearalenon
Wymiotne	Deoksynowalenol
Krwotoczne	Patulina, trichoteceny, toksyna T-2

Panuje zgodność, że mikotoksyny, jako substancje potencjalnie rakotwórcze dla człowieka, których nie można całkowicie wyeliminować, powinny być limitowane na możliwie najniższym poziomie. Ustalenie takich limitów wymaga uwzględnienia różnorodnych czynników, takich jak: warunki klimatyczne oraz zwyczaje żywieniowe w poszczególnych krajach, stopień dostępności danych toksykologicznych oraz danych dotyczących pobrania mikotoksyn z żywnością i oceny ryzyka, odpowiednie metody analityczne i prawidłowe procedury pobrania prób. Działania te mają służyć przede wszystkim zdrowiu konsumenta (Rozporządzenie Komisji UE 1881/2006; Dz.U. L364 z 20.12.2006, z późniejszymi zmianami – 1126/2007; Dz.U. L255 z'29.9.2007 i'165/2010; Dz.U. L50 z 27.2.2010), ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych).

Działania prewencyjne i usuwanie mikotoksyn z surowców

Najlepszym sposobem są działania prewencyjne polegające na odpowiednim traktowaniu surowca roślinnego podczas wegetacji, zbioru i magazynowania. Należą do nich:

- wybór odmian/hybryd odpornych na infekcje grzybowe i na szkodniki owadzie,
- minimalizowanie narażenia roślin na stres np. brak wody, zimno,
- uważne stosowanie środków ochrony roślin,
- stosowanie środków owado- i chwastobójczych,
- selekcja siedliska dla tych samych gatunków roślin, przestrzeganie odległości między rzędami roślin,
- terminowe zbiory,
- unikanie uszkodzeń mechanicznych oraz zanieczyszczenia gleba,
- dobre gospodarowanie gleba (orka) w celu usunięcia, zniszczenia lub zakopania zainfekowanych resztek pozostałych po żniwach,
- płodozmian,
- magazynowanie surowców w odpowiednich warunkach temperatury i wilgotności.

Zminimalizowanie produkcji toksyn przez grzyby pleśniowe nie zawsze jest możliwe, jeśli już dojdzie do zanieczyszczenia surowców roślinnych przez te związki, to należy przeprowadzić ich dekontaminację, ale jest to dopuszczalne tylko w odniesieniu do pasz. Nie może być stosowane do żywności oraz do surowców przeznaczonych do jej produkcji.

Do metod fizycznych eliminowania mikotoksyn należą działanie wysoka temperatura oraz promieniowaniem UV i gamma, również w połączeniu ze związkami chemicznymi. Mikotoksyny są termostabilne, jednak traktowanie podwyższoną temperaturą przez dłuższy czas prowadzi do ich częściowej degradacji.

Wiele związków chemicznych, takich jak amoniak, NaOCl (podchloryn sodu), H_2O_2 , SO_2 może reagować z toksynami powodując ich degradację. Wymienione metody nie znajdują jednak praktycznego zastosowania głównie ze względu na niebezpieczeństwo tworzenia toksycznych pozostałości lub zmiany wartości odżywczej oraz cech organoleptycznych oczyszczanych produktów

Inne podejście do problemu dekontaminacji mikotoksyn związane jest z dodatkiem do pasz obojętnych suplementów diety, które skutecznie adsorbują toksyny bezpośrednio w paszy lub w przewodzie pokarmowym zwierząt, w wyniku, czego nie następuje wchłanianie toksyn do krwioobiegu oraz uniemożliwiona jest ich resorpcja.

Do takich adsorbentów można zaliczyć: glinki, kaolin, zeolity, węgiel aktywny, glinokrzemiany sodu i magnezu oraz HSCAS (uwodniony glino krzemian sodowo-wapniowy) i bentonit.

Wykorzystanie mikroorganizmów do usuwania mikotoksyn

Metody biologiczne, które skupiają się głównie na poszukiwaniu drobnoustrojów, które skutecznie metabolizowałyby mikotoksyny, a zarazem nie produkowałyby żadnych toksycznych metabolitów ubocznych, stanowiących dodatkowe zagrożenie dla zdrowia człowieka i zwierząt.

Mikroorganizmy, które według doniesień literaturowych charakteryzują się zdolnością do usuwania różnych mikotoksyn ze środowiska.

Reakcja rozkładu wiązania peptydowego ochratoksyny A w sposób naturalny odbywa się u przeżuwaczy, co jest wynikiem działalności mikroorganizmów żwacza przy udziale karboksypeptydazy A.

Przedstawione powyżej przykłady aktywności drobnoustrojów w kierunku usuwania mikotoksyn mają głównie znaczenie naukowe, pozwalające na lepsze poznanie szczepów, ich właściwości oraz mechanizmów zachodzących procesów. Ich ograniczona rola aplikacyjna sprawiła, że badania naukowe zwróciły się w stronę takich organizmów, które można zastosować w procesach biotechnologicznych podczas produkcji, np. żywności fermentowanej, gdzie surowiec może być skażony mikotoksynami. Wśród nich szczególne znaczenie mają bakterie fermentacji mlekowej i drożdże *Saccharomyces cerevisiae*.

Bakterie fermentacji mlekowej

Bakterie fermentacji mlekowej, w tym szczepy probiotyczne budzą szczególne zainteresowanie ze względu na ich korzystne, fizjologiczne właściwości w organizmie człowieka i zwierząt. Ponadto bakterie te hamują wzrost pleśni oraz tworzenie przez nie mikotoksyn.

Dane literaturowe wskazują na występowanie między typowymi bakteriami mlekowymi odmian o zróżnicowanych uzdolnieniach do detoksykacji środowisk z mikotoksyn, co wykazano zarówno w badaniach *in vitro* jak i *in vivo*.

Badania różnych autorów dowodzą posiadania tej cechy przez szczepy probiotyczne *Lactobacillus rhamnosus*. Szczepy *L. rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* LC-705 zostały uznane za najbardziej skutecznie wiążące aflatoksyne B₁ w porównaniu z innymi szczepami bakterii Gram-dodatnich (*Lactobacillus casei* Shirota, *L. acidophilus*) i Gram-ujemnych (*Escherichia coli*). Brak zdolności do eliminowania aflatoksyn przez bakterie Gram-ujemne związany jest z odmienną budową ściany komórkowej tych bakterii w porównaniu ze ścianą komórkową bakterii Gram-dodatnich

Wykazano, że proces ten jest bardzo szybki, już po 4 godzinach kontaktu bakterii z toksyną jej ilość uległa zmniejszeniu w zakresie od 50 do 77%, zaś przedłużenie czasu inkubacji do 24 godzin nie zwiększyło istotnie wydajności procesu, a nawet w niektórych przypadkach zaobserwowano uwalnianie się toksyny z komórek, co dowodzi nietrwałości połączenia.

Szczepy bakterii *Lactobacillus acidophilus* i *L. rhamnosus* charakteryzowały się również zdolnością do usuwania aflatoksyny M_1 z mleka w zależności od szczepu w zakresie od 18 do 57%.

Zainteresowanie bakteriami fermentacji mlekowej nie ogranicza się tylko do ich zdolności wiązania mikotoksyn.

Obecnie, gdy zabronione jest stosowanie antybiotyków jako dodatków do pasz, z uwagi na antagonistyczne działanie w stosunku do wielu patogenów, organizmy te mogą stanowić alternatywę w ich stosowaniu. Badania in vivo wykazały, że bakterie *Lactobacillus rhamnosus* ograniczały w 75% adsorpcję aflatoksyny B₁ w przewodzie pokarmowym kurcząt.

Drożdże *Saccharomyces cerevisiae*

Druga grupa organizmów o potencjalnym znaczeniu aplikacyjnym są drożdże *Saccharomyces cerevisiae*. Organizmy te szeroko wykorzystywane są w wielu procesach biotechnologicznych, w piekarstwie, browarnictwie, winiarstwie, gorzelnictwie. Ze względu na częste skażenie mikotoksynami surowców używanych w tych procesach – mąki, słodu, moszczy gronowych, rozważana jest możliwość prowadzenia fermentacji przy użyciu szczepów, które obok właściwych cech technologicznych, posiadają zdolność do obniżania zawartości toksyn, dzięki czemu produkt finalny będzie bardziej bezpieczny. Większość danych literaturowych w tym obszarze dotyczy ochratoksyny A.

Badania wykazały, że drożdże efektywnie usuwają ochratoksynę A z surowców pochodzenia roślinnego podczas fermentacji, jak i w warunkach modelowych z pożywek mikrobiologicznych.

Grzyby pleśniowe stanowią istotne zagrożenie zdrowia. Rzeczywistą rolę tych mikroorganizmów i wytwarzanych przez nie mikotoksyn poznano prawdopodobnie tylko częściowo, a wiele mechanizmów patogenezы pozostaje nieznanych. Istotny niedobór danych epidemiologicznych dotyczących chorób, które mogą być spowodowane ekspozycją na grzyby pleśniowe, ale także różnorodność schorzeń i ich symptomatologii klinicznej powoduje, że o tej grupie patogenów powinien pamiętać nie tylko alergolog, pulmonolog i dermatolog, ale także toksykolog i specjalista medycyny pracy.

W świetle narastających zagrożeń zdrowotnych wynikających z obecności toksyn pleśniowych w środkach spożywczych, a także w otoczeniu człowieka poznanie istniejącego w naturze zjawiska biologicznego usuwania mikotoksyn wydaje się słuszne. Działania prewencyjne zmierzające do ochrony surowców roślinnych przed ich

pleśnieniem są często nieskuteczne. Niezwykła zdolność przystosowania się pleśni do różnych warunków środowiskowych sprawia, że prewencja nie stanowi rozwiązania skutecznego i uniwersalnego. Wykorzystanie mikroorganizmów lub składników ich komórek do dekontaminacji żywności i pasz budzi duże nadzieje, ale

Brak jest unormowań prawnych w tej kwestii, a dane dotyczące trwałości połączenia bakterie-toksyna w przewodzie pokarmowym, jak również dane toksykologiczne są wciąż niepełne. Jedyna grupa drobnoustrojów, które obok innych korzystnych cech prozdrowotnych wykazuje zdolność do usuwania toksyn są probiotyczne bakterie fermentacji mlekowej.

Również drożdże *Saccharomyces cerevisiae* oraz składnik ich ściany komórkowej – glukan mogą być wykorzystywane w tym celu. Czynniki te mogą być używane zarówno jako suplementy diety u ludzi i składniki paszowe w żywieniu zwierząt, jak i w trakcie procesów biotechnologicznych.