

AFLATOXİN BİYOSENTEZİ ve BU SENTEZİN FENOLİK MADDELER ve ESSANSİYEL YAĞLAR TARAFINDAN ENGELLENMESİ

ÖZET

Aflatoxinler, yüksek derecede toksik, kanserojenik, teratojenik, hepatotoksik ve mutajenik olan mikotoksinlerdendir. Aflatoxinlerin biyosentezi çok karmaşık bir fenomendir. Bu sentezde en önemli yeri olan fungusların poliketidsintaz enzimlerinin - ki oldukça büyüktür- izole edilmesi ve hatta katalitik olarak belirlenmesi son derece güçtür ve bu da aflatoksinerin sentezlenme aşamaları hakkındaki bilgilerin sınırlı kalmasının en önemli nedenini oluşturmaktadır. Aflatoxinler bir defa sentezlendiklerinde ortamdan uzaklaştırılmaları son derece güçtür ve bu amaçla bugüne kadar radyoaktif yöntemler de dahil olmak üzere bir çok metot kullanılmıştır. Ancak, son dönemlerde yapılan çalışmalar göstermiştir ki, fenolik maddeler ve bazı essansiyel yağlar, aflatoxinlerin sentezini daha başlangıç aşamalarında engellemişlerdir.

Anahtar Kelimeler: aflatoksin, biyosentez, fenolik maddeler, essansiyel yağlar

ABSTRACT

Aflatoxins are highly toxic, carcinogenic, teratogenic, hepatotoxic and mutagenic mycotoxins. Biosynthesis of aflatoxins in food is a very complicated phenomenon. Polyketide synthases are large proteins and play an important role during the biosynthesis of aflatoxins. It has been proven that these enzymes are extremely difficult to isolate or even to detect. Once aflatoxins were synthesized it is very difficult to remove and researchers have tried several methods including radioactive ways to do that. However, recent studies have proven that phenolic compounds and essential oils of aromatic plants and spices inhibited the aflatoxin biosynthesis even at the beginning of the process.

Key words: aflatoxin, biosynthesis, phenolic compounds, essential oils

GİRİŞ

Flamentli bir fungus olan *Aspergillus* cinsi küfler tarafından üretilen aflatoksiner, memeliler için toksik ve bilinen en etkili kanserojen maddedir (Ellis ve ark., 1991; Payne, 1992). Şimdiye kadar, 16 tane benzer yapıdaki toksin tanımlanmış olmasına karşın, bunlardan 4 tanesi -B₁, B₂, G₁, G₂- tarımsal ürünler ve iki tanesi de -M₁ ve M₂, B₁'in oksidatif formu- süt ve süt ürünlerinde görülen en önemli toksinlerdendir (Yu ve ark., 2002).

Yrd. Doç. Dr. Cavit BİRCAN

Adnan Menderes Üniversitesi
Ziraat Fakültesi Gıda
Mühendisliği Bölümü

AFLATOKSİN ve KANSER

Aflatoksiner içerisinde bilinen ve en etkili olanı, aflatoksin B₁'dir. Sınırlı sayıda *Aspergillus* cinsi funguslar tarafından üretilmesine karşın, yaygın olarak görülmektedir. Lipofilik bir

FENOLİK MADDELER ve ESANSİYEL YAĞLAR KULLANILARAK AFLATOKSİN BİYOSENTEZİNİN ENGELLENMESİ

Fenolik maddeler, fenilpropanoid biyosentetik yolu izlenerek bitkiler tarafından sentezlenen sekonder metabolitlerdir. Bu metabolitler, hücre duvar yapısındaki inşa bloklarıdır ve patojenlere karşı savunmada görevlidirler (Hua ve ark., 1999).

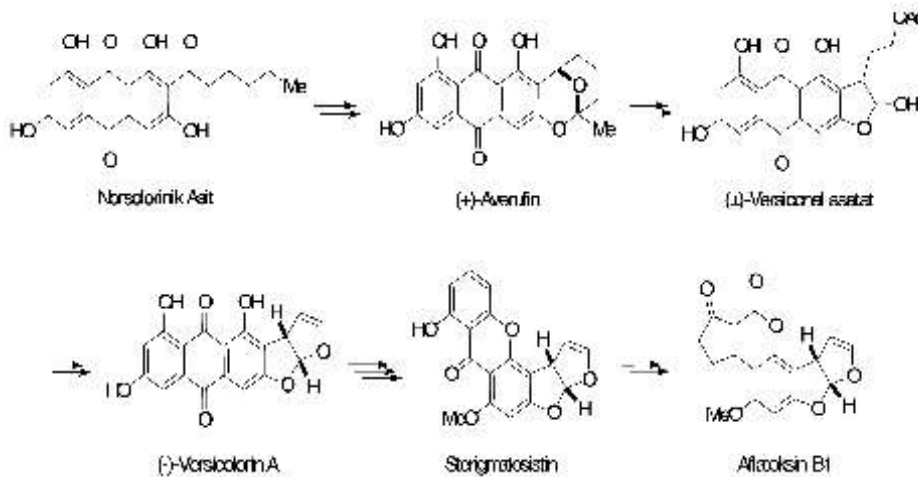
Paster ve ark., (1988) tarafından yapılan bir çalışmada, fenolik maddelerden kafeik asit, kumarinler ve kateşin, ayrı ayrı aflatoksin B₁'e karşı test edilmiş ve o-kumarik asit en fazla engelleyici etkisini 1 mM düzeyinde, bu toksinin üretimini %85 oranında azaltarak göstermiştir. Kullanılan kafeik asit ve kateşin ise antibakteriyel bir etki göstermiştir. *A. flavus* ve *A. parasiticus* gelişmesi ve aflatoksin üretimi, vanilik, p-hidroksi benzoik, protokatekihuik, siringic, p-kumarik asit ve quersetin kullanılarak tamamen durdurulmuştur (Aziz ve ark., 1998). Çok düşük konsantrasyonlarda bile (100 ng/kg) pyrokatehol, kloroglusinol, ferulik asit ve vanillin, aflatoksinlerin üretimini engellemiştir (Sinha ve Singh, 1981). Zeytinlerde bulunan ve acı tadı veren oleuropein maddesi Bullerman ve ark., (1986) tarafından yapılan bir çalışmada aflatoksin B₁ üretimini %80 oranında engellediğini göstermiştir. Bu madde ayrıca çok iyi antimikrobiyel aktivite gösterdiğinden, virüsler, bakteriler ve funguslara karşı kullanılmıştır (Benavente-Garcia ve ark., 2000).

San ve Chan (1987) ve Francis ve ark., (1989) yaptıkları çalışmada 6 değişik fenolik madde kullanmışlar ve bu fenolik maddelerin miktarındaki artışın, aflatoksin B₁ düzeyini düşürdüğünü gözlemleyerek, fenolik maddelerin aflatoksinlere karşı olan aktivitelerinin doza bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Benavente-Garcia ve ark., (2000) ise doğru kombinasyonun bulunması halinde, karışım halindeki fenolik maddelerin sinerjik etkisinin ortaya çıkacağını ve antioksidatif etkisinin artacağını göstermişlerdir.

Aflatoksinler, yüksek derecede oksijenle bağlanmış moleküllerdir ve azalan O₂ konsantrasyonu aflatoksin üretimini azaltmaktadır (Jayashree ve Subramanyam, 2000). Yapılan araştırmalar göstermiştir ki, aflatoksin üreten funguslar ve aflatoksin biyosentezi, bir çok antioksidan tarafından, kullanılan konsantrasyonlara bağlı olarak engellenmiştir (Fabbri ve Fanelli, 1983; Fanelli ve Fabbri, 1989). Fenolik maddeler de kuvvetli antioksidan aktiviteler göstermektedir (Benavente-Garcia ve ark., 2000). Ayrıca, önemli bir not olarak da belirtmek gerekir ki, artan lipid oksidasyonunun aflatoksin biyosentezini artırdığı, toksijenik *A. flavus* ve *A. parasiticus*'un bulunduğu besi yerine dışardan hidropersit ve epoksi yağ asitlerinin eklenmesi ile belirlenmiştir (Fabbri ve Fanelli, 1983; Fanelli ve Fabbri, 1983; Jayashree ve Subramanyam, 1999).

Bütün bu çalışmalardan sonra fenolik bileşiklerin hangi aşamada aflatoksin sentezini durdurduğu sorusu sorulmaya başlanmıştır. Hua ve ark (1999) yılında yaptığı bir çalışmada asetosiringon, sirongaldehid ve sinapirik asidin *A. flavus* tarafından üretilen aflatoksin B₁ sentezini durduğunu ve bunlardan içlerinde en etkili olanının da asetosiringon'un olduğunu ve 2 mM düzeyinde aflatoksin seviyesini %82 oranında azalttığını göstermişlerdir. Aynı zamanda bu fenolik maddelerin norsolorinik asit ve aflatoksin biyosentezindeki ara ürünlerden birinin birikmesini ve sentezini önlemektedir. Sonuç olarak, fenolik maddelerin aflatoksin biyosentezini en azından bir basamak öncesinde engellediğini bulmuşlardır.

Tantaoui-Elaraki ve Beraoud (1994) tarafından yapılan bir araştırmada, kimyasal olarak farklı 13 değişik baharat ve aromatik bitkilerden elde edilen esansiyel yağlar kullanılarak *A. parasiticus*'un misel gelişimini çok az konsantrasyonlarda ve aflatoksin biyosentezini ise nispeten daha yüksek konsantrasyonlarda engellemişlerdir. Yine değişik aromatik bitkilerden elde edilen, farklı konsantrasyonlardaki



Şekil 2: Aflatoksin B₁ biyosentezine kadar oluşan ara ürünler (Minto ve Townsend, 1994).

esansiyel yağlar kullanılarak hem aflatoksin üreten fungusların gelişimi, hem de aflatoksin biyosentizi engellenmiştir (Karapınar, 1985). Bunları destekler nitelikte bir araştırma da Patkara ve ark., (1993) tarafından yapılmış ve tarçın ile karanfil yağları, %90 neme maruz bırakılarak dışarıdan *A. flavus* ekilen pirinçler üzerinde denenmiştir. Nitekim, 90 günlük depolama sonucunda bile fungus gelişimi ve aflatoksin oluşumu gözlenmemiştir.

Elde edilen bu sonuçlara bakarak, gıdalarda ve hayvan yemlerinde aflatoksin kontaminasyonunun azaltılmasında, fenolik maddeler ile aromatik bitkiler ve baharatlardan elde edilen esansiyel yağlardan yararlanılması konusunda daha ileri araştırmaların gerekliliği sonucuna rahatlıkla varılabilir.

KAYNAKLAR

- Aziz, N. H., Frag, S. E., Mousa, L. A., ve Abo-Zaid, M. A. (1998). Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. *Microbios.* 93, 43-54.
- Benavente-Garcia, O, Castillo, J., Lorente, J., Ortuno A. J. ve Del Rio A. J. (2000). Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europea* L. leaves. *Food Chem.* 68, 457-462.
- Bullerman, L.B., Mahjoub, A. ve Gourma, H. (1986). Mold growth and aflatoxin production in olives. Abstract, XIV International Congress of Microbiology, 7-13 September, Manchester, UK.
- Chang, P.-K., Cary, J.W., Yu, J., Bhatnagar, D. ve Cleveland, T.E. (1995). The *Aspergillus parasiticus* polyketide synthase gene *pksA*, a homolog of *Aspergillus nidulans* *wa*, is required for aflatoxin B₁ biosynthesis. *Mol. Gen. Genet.* 248, 270-277.
- Coran M.H., Watanabe ve Craig A. (2002). Townsend1 Initial characterization of a type I fatty acid synthase and polyketide synthase multienzyme complex nors in the biosynthesis of aflatoxin B₁. *Chem. Biol.* 9, 981-988.
- Ellis, W.O., Smith, J.P., Simpson, J.P. ve Oldham, J.H. (1991). Aflatoxin in food: Occurrence, biosynthesis, effects on organisms, detection, and methods of control. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 30, 403-439.
- Eaton, D.L., ve Gallagher, E.P. (1994). Mechanisms of aflatoxin synthases and a carcinogenesis. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 34, 135-172.
- Feng, G.H., ve Leonard, T.J. (1995). Characterization of the polyketide synthase gene (*pks11*) required for aflatoxin biosynthesis in *Aspergillus parasiticus*. *J. Bacteriol.* 177, 6246-6254.
- Fabbri, A.A., Fanelli, C. ve Panfili, G. (1983). Lipoperoxidation and aflatoxin biosynthesis by *Aspergillus paraciticus* and *A. flavus*. *J. Gen. Microbiol.* 129, 3447-3452.
- Fabbri, A.A., Fanelli, C., Finotti, E. ve Passi, S. (1983). Stimulation of aflatoxin biosynthesis by lipophilic epoxides. *J. Gen. Microbiol.* 129, 1721-1723.
- Fanelli, C. ve Fabbri, A.A. (1989). Relationship between lipids and aflatoxin biosynthesis. *Mycopathologia.* 107, 115-120.
- Francis, R. A., Shetty, K. T. ve Bahattacharya, K. R. (1989). Modification of the mutagenicity of aflatoxin B₁ and N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine by certain phenolic compounds. *Cancer Lett.* 45, 177-182.
- Hollstein, M., Sidransky, D., Vogelstein, B., ve Harris, C.C. (1991). P53 mutations in human cancers. *Science.* 253, 49-53.
- Hua, S.S.T., Grosjean O. K., ve Baker J.L. (1999). Inhibition of aflatoxin biosynthesis by phenolic compounds. 29, 289-291.
- Jayashree, T. ve Subramanyam, C. (1999). Antiaflatoxic activity of eugenol is due to inhibition of lipid peroxidation. *Letts. Appl. Microbiol.* 28, 179-183.
- Jayashree, T., ve Subramanyam, C. (2000). Oxidative stress as a prerequisite for aflatoxin production by *Aspergillus paraciticus*. *Free Radical Bio. Med.* 29, 981-985.
- Karapınar, M. (1985). The effects of citrus oils and some spices on growth and aflatoxin production by *Aspergillus paraciticus* NRRL 2999. *Int. J. Food Microbiol.* 2, 239-245.
- Minto, R. E., ve Townsend, C. A. (1997). Enzymology and molecular biology of aflatoxin biosynthesis. *Chem. Rev.* 97, 2537-2555.
- San, C. H. R., ve Chan, M. I. R. (1987). Inhibitory effect of phenolic compounds on aflatoxin B₁ metabolism and induced mutagenesis. *Mutat. Res-Fund. Mol. M.* 177, 229-239.
- Sinha, K. K. ve Singh, P., (1981). Effect of some phenolics on aflatoxin production and growth of *Aspergillus paraciticus*. *Indian Phytopathology.* 34, 530-531.
- Paster, N., Juven, B. J., ve Harshemesh, H. (1988). Antimicrobial activity and inhibition of aflatoxin B₁ formation by olive plant tissue constituents. *J. Appl Bacteriol.* 64, 293-297.
- Payne, G.A. (1992). Aflatoxin in maize. *Critical Reviews in Plant Sci.* 10, 423-440.
- Papa, K.E. (1984). Genetics of *Aspergillus flavus*: linkage of aflatoxin. *Can. J. Microbiol.* 30, 68-73.
- Patkar, L. K., Usha, M. C., Shetty, S. H., Paster, N., ve Lacey, J. (1993). Effects of spice oil treatment of rice on moulding and mycotoxin contamination. *Crop. Protection.* 13, 519-524
- Tantaoui-Elaraki, A., ve Beraoud, L. (1994). Inhibition of growth and aflatoxin production in *Aspergillus paraciticus* by essential oils of selected plant materials. *J. Environ. Pathol. Tox.* 13, 67-72.
- Vogelstein, B., Lane, D., ve Levine, A.J. (2000). Surfing the p53 network. *Nature.* 408, 307-310.
- Yu, J., Bhatnagar, D. ve Ehrlich, C. E. (2002). Aflatoxin Biosynthesis. *Rev. Iberoamericana.* 19, 191-200. ■