

Małgorzata Piotrowska\*

Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Politechnika Łódzka, ul. Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź

Wpłynęło w lipcu 2011 r.

1. Wprowadzenie. 2. Mikotoksyny – produkcja, zagrożenia zdrowotne. 3. Działania prewencyjne i usuwanie mikotoksyn z surowców. 4. Wykorzystanie mikroorganizmów do usuwania mikotoksyn. 5. Bakterie fermentacji mlekowej. 6. Drożdże *Saccharomyces cerevisiae*. 7. Podsumowanie

#### Using of microorganisms for mycotoxin removal from food and feed

**Abstract:** Contamination of food and feeds with mycotoxins is a serious economic problem and primarily a phenomenon threatening human and animal health due to their carcinogenic, nephrotoxic, genotoxic and teratogenic properties. In order to prevent mycotoxin production by fungi, special precautions should be applied, such as good agriculture practice, storing raw products under proper humidity and temperature conditions. Such actions are not always effective. Therefore, several possibilities are available for the decontamination of raw materials, including physical and chemical methods. Few of these have practical application. Biological decontamination to using microorganisms and enzymes has created new opportunities. This review discusses the available literature on the mycotoxins removal by microorganisms. Special attention was paid to *Saccharomyces cerevisiae* yeast and lactic acid bacteria. It seems that the application of selected strains of lactic acid bacteria and yeast in the production of fermented food and probiotic products may reduce the health risk related to human exposure to fungal toxins.

Introduction. 2. Mycotoxins – production, health risks. 3. Prevention and mycotoxin removal from raw materials. 4. Using of microorganisms for mycotoxins removal. 5. Lactic acid bacteria. 6. *Saccharomyces cerevisiae*. 7. Conclusions

**Słowa kluczowe:** bakterie fermentacji mlekowej, dekontaminacja, drożdże, mikotoksyny, żywność

**Key words:** decontamination, food, lactic acid bacteria, mycotoxins, yeasts

## 1. Wprowadzenie

W środowisku naturalnym występuje wiele toksyn pochodzenia biologicznego, które stanowią zanieczyszczenie surowców, zarówno pochodzenia roślinnego jak i zwierzęcego. Jedną z grup o największym znaczeniu są toksyczne metabolity grzybów pleśniowych. Obecnie poznano ponad 400 związków, które zdefiniowano jako mikotoksyny. Mogą być one magazynowane jako endotoksyny w grzybnii i konidiach lub też wydzielane do środowiska jako egzotoksyny. Toksyny pleśniowe stanowią zanieczyszczenia surowców i produktów przemysłu spożywczego, pasz oraz żywności pochodzenia zwierzęcego. Wytwarzane są na różnych etapach produkcji żywności, w trakcie wegetacji na polu i podczas zbioru przez tzw. „grzyby polowe” – patogeny roślin, oraz przez saprofity w trakcie przechowywania, transportu i przetwarzania [6, 28]. Skażenie surowców i produktów przemysłu spożywczego oraz pasz przez mikotoksyny stanowi poważny problem ekonomiczny, ale przede wszystkim zdrowotny. Prowadzone obecnie badania nad mikotoksynami mają na celu nie tylko ustalenie stopnia ich toksyczności, ale także wpływu na zdrowie człowieka, oraz zmierzają w kierunku opracowania skutecznych metod detoksykacji tych związków.

W artykule przedstawiono aktualny przegląd piśmiennictwa dotyczący metod usuwania mikotoksyn z różnych środowisk przy wykorzystaniu mikroorganizmów, ze szczególnym uwzględnieniem tych o znaczeniu biotechnologicznym, tj. bakterii fermentacji mlekowej i drożdży *Saccharomyces cerevisiae*.

### 1. Mikotoksyny – produkcja, zagrożenia zdrowotne

Synteza mikotoksyn przez grzyby jest uwarunkowana genetycznie i związana z pierwszorzędowymi szlakami metabolicznymi, takimi jak metabolizm aminokwasów czy kwasów tłuszczowych, ale fenotypowo determinowana czynnikami środowiskowymi, do których należą: skład chemiczny substratu, jego konsystencja, obecność mikroelementów, wilgotność, temperatura oraz obecność mikroflory konkurencyjnej. Wilgotność produktu i otaczającej atmosfery oraz temperatura, wydają się jednak być najważniejszymi czynnikami określającymi podatność surowców i produktów spożywczych na rozwój pleśni i wytwarzanie mikotoksyn. Wilgotność względna powietrza (WWP) powyżej 70%, zaś surowca roślinnego powyżej 15% stymuluje tworzenie mikotoksyn. Temperatura i aktywność wody środowiska, przy których szczepy wytwarzają mikotoksyny często

\* Autor korespondencyjny: Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Politechnika Łódzka, ul. Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź; e-mail: malgorzata.piotrowska@p.lodz.pl

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>Byssoschlamys 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>

są inne niż wartości tych parametrów optymalne dla wzrostu grzybni [67].

Uprawiane w Polsce rośliny są w większości przypadków dobrymi substratami do rozwoju grzybów i zarazem do produkcji mikotoksyn. Największa liczba znanych mikotoksyn jest produkowana przez gatunki należące do rodzajów *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* i *Alternaria*.

W tabeli I 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 [6, 28, 32, 52, 61, 64, 66].

Głównym źródłem ekspozycji człowieka na działanie mikotoksyn jest żywność. Do organizmu ludzkiego związki te przedostają się nie tylko z zanieczyszczonych produktów żywnościowych pochodzenia roślinnego (droga pierwotna), ale także wtórnie poprzez skażone tkanki zwierzęce (mięso, mleko i jaja), pochodzących od zwierząt karmionych skażoną paszą [81]. Skutki zdrowotne narażenia na mikotoksyny nazywane mikotoksykozami to zatrucia o zróżnicowanym przebiegu, ostre oraz przewlekłe powstające w wyniku przyjmowania małych dawek przez dłuższy czas. W naszych warunkach klimatycznych występują częściej u zwierząt niż u ludzi [32, 81]. Mikotoksyny wykazują wielokierunkowe działanie na organizm człowieka i zwierząt, powodują uszkodzenie wątroby, nerek, zakłócają funkcje przewodu pokarmowego i układu immunologicznego. Mogą wykazywać właściwości kancerogenne, mutagenne, cytotoksyczne, teratogenne, neurotoksyczne czy estrogenne. Niektóre mikotoksyny, ze względu na swe właściwości kancerogenne zostały umieszczone przez Międzynarodową Agencję Badań na Rakiem w wykazie substancji rakotwórczych. W grupie 1 kancerogenów ludzkich znalazła się aflatoksyna B<sub>1</sub>, natomiast do grupy 2A, która obejmuje substancje o potencjalnym działaniu rakotwórczym zaliczone są ochratoksyna A, sterigmatocystyna, aflatoksyna M<sub>1</sub>, griseofulwina, fumonizyna B<sub>1</sub> i toksyny wytwarzane przez *Fusarium monili-*

*forme*. W tabeli II przedstawiono najważniejsze skutki zdrowotne mikotoksykoz [42, 81, 88, 96].

O skali problemu skażenia mikotoksynami świadczy liczba powiadomień alarmowych i informacyjnych w europejskim systemie RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed), do którego docierają informacje dotyczące żywności i pasz, która stanowi zagrożenie dla konsumentów. Od stycznia 2010 roku do maja 2011 roku w systemie odnotowano 64 powiadomienia alarmowe, 48 informacyjne i aż 834 z kontroli granicznej, dotyczących skażenia żywności przez mikotoksyny. W większości przypadków produkty, głównie orzechy, zboża i przyprawy, były zanieczyszczone aflatoksynami (powyżej 75% ogólnej liczby powiadomień).

Badania prowadzone w ostatnich latach w Polsce wykazały, że zanieczyszczenie mikotoksynami żywności i pasz stanowi duży problem również i w naszym kraju, zarówno w odniesieniu do produktów krajowych jak i importowanych [35, 36, 49, 59, 72, 78].

Tabela II

Zagrożenia zdrowotne związane ze skażeniem żywności mikotoksynami

Działanie toksyny	Mikotoksyna
Rakotwórcze	Aflatoksyna B <sub>1</sub> , ochratoksyna A, sterigmatocystyna, griseofulwina, fumonizyna B <sub>1</sub> , 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).

## 2. Działania prewencyjne i usuwanie mikotoksyn z surowców

Ze względu na niekorzystny wpływ mikotoksyn na zdrowie ludzi i zwierząt, jak również straty ekonomiczne wynikające ze skażenia żywności i pasz konieczne jest zminimalizowanie ryzyka narażenia produktu na zanieczyszczenie pleśniami toksynotwórczymi. 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 glebą,
- dobre gospodarowanie glebą (orka) w celu usunięcia, zniszczenia lub zakopania zainfekowanych resztek pozostałych po zniwach,
- płodozmian,
- magazynowanie surowców w odpowiednich warunkach temperatury i wilgotności.

Wytyczne do stosowania właściwych działań prewencyjnych zostały przedstawione w Rozporządzeniu Komisji UE 1881/2006; Dz.U.L364 z 20.12.2006 oraz Zaleceniu Komisji UE 583/2006; Dz.U.L234 z 29.8.2006 (w sprawie zapobiegania występowaniu i ograniczania występowania toksyn *Fusarium* w zbożach i produktach zbożowych), jak również omówione w piśmiennictwie [45, 46, 53, 70, 84].

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.

W zastosowanej metodzie dekontaminacji muszą być spełnione następujące kryteria według zaleceń FAO [20, 84]:

- usunięcie toksyn poprzez ich transformację do nietoksycznych związków,
- usunięcie z paszy toksyn w takiej ilości, aby nie stwierdzano ich w produktach żywnościowych pochodzących ze zwierząt karmionych tą paszą,
- zniszczenie wszystkich form morfologicznych grzybów pleśniowych,
- zachowanie wartości odżywczej, sensorycznej oraz własności fizycznych produktu,
- ekonomiczne uzasadnienie procesu dekontaminacji (koszt usuwania toksyny mniejszy niż wartość paszy).

Wyróżnia się kilka metod dekontaminacji pasz o różnym stopniu praktycznego wykorzystania [20, 84]:

- mechaniczne oddzielanie ziaren zanieczyszczonych (sortowanie),
- dodatek materiałów adsorpcyjnych do paszy,
- działanie czynnikami fizycznymi,
- działanie czynnikami chemicznymi,
- metody biologiczne.

Do metod fizycznych eliminowania mikotoksyn należą działanie wysoką temperaturą 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, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub> 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 [20].

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 [43]. Do takich adsorbentów można zaliczyć: glinki, kaolin, zeolity, węgiel aktywny, glinokrzemiany sodu i magnezu oraz HSCAS (uwodniony glinokrzemian sodowo-wapniowy) i bentonit. W procesie adsorpcji istotne są parametry fizyczne adsorbenta np. całkowita powierzchnia działania i wielkość porów

oraz właściwości substancji adsorbowanej np. wielkość i kształt cząsteczki oraz jej rozpuszczalność i polarność [43, 46]. Wadą tych adsorbentów jest także to, że wiążą witaminy, mikro – i makroelementy oraz inne niezbędne składniki pokarmowe. Adsorbenty dodawane do pasz znane są pod różnymi nazwami handlowymi. Jednym z nich jest Mycobond – glinokrzemian sodowo-wapniowo-potasowo-magnezowy. Związek ten nie ogranicza dostępności witamin, pierwiastków śladowych i aminokwasów, przez co nie zmniejsza wartości odżywczej paszy. Produkowany jest przez firmę Optivite International z Wielkiej Brytanii. Adsorbentem uzupełnionym o dodatki enzymatyczne jest Mycofix Plus, austriackiej firmy Biomin. Aflatoksyny są specyficznie przyłączane do powierzchni adsorbenta, natomiast inne toksyny, takie jak zearalenon i trichoteceny są rozkładane enzymatycznie.

### 3. Wykorzystanie mikroorganizmów do usuwania mikotoksyn

Wobec ograniczeń metod fizycznych i chemicznych rozważane jest stosowanie innych metod, bardziej bezpiecznych. Do takich zakwalifikowano 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. W tabeli III wymieniono mikroorganizmy, które według doniesień literaturowych charakteryzują się zdolnością do usuwania różnych mikotoksyn ze środowiska.

Dane przedstawione w tabeli wskazują na duże zainteresowanie naukowców problemem usuwania toksyn pleśniowych, jednak obszar badań skupia się głównie na aflatoksynie B<sub>1</sub> oraz ochratoksynie A, co jest uzasadnione, biorąc pod uwagę stopień skażenia pasz i żywności tymi związkami.

Już w 1966 roku Ciegler i wsp. [16] dokonał przeglądu mikroorganizmów pod kątem degradacji aflatoksyn. Stwierdził, że drożdże, promieniowce i glony nie wykazywały tej cechy, zaś niektóre pleśnie takie jak *Aspergillus niger*, *A. parasiticus*, *A. terreus*, *A. luchuensis*, *Penicillium reistrickii* częściowo przekształcały aflatoksynę B<sub>1</sub> do nowego produktu fluoryzującego. Jedynie bakterie *Flavobacterium aurantiacum* (obecnie *Nocardia corynebacterioides*) powodowały usuwanie aflatoksyny, zarówno z pożywki jak i ze środowisk naturalnych tj. mleka, oleju, masła kakaowego i zboża. W późniejszych badaniach potwierdzono przydatność tych bakterii do dekontaminacji nie tylko pożywek modelowych ale też surowców naturalnych [17, 38]. Do uzyskania widocznego ubytku toksyny konieczne było zastosowanie populacji bakterii o gęstości powyżej 10<sup>10</sup> jtk/ml [51].

Wykazano ponadto, że po termicznej destrukcji komórek *Flavobacterium aurantiacum* aflatoksyny są uwalniane z komórek w niezmienionej formie, co świadczy o ich adsorbowaniu a nie biodegradacji do innych produktów. Jednak w pracy Smiley i Draughon [87] stwierdzono, że również pod wpływem białkowego ekstraktu komórkowego *F. aurantiacum* ilość aflatoksyny B<sub>1</sub> uległa obniżeniu o 75% po 24 godzinach, przy początkowej zawartości toksyny 20 µg/ml. Według autorów jest to dowód na enzymatyczny charakter procesu.

Obserwowano również, że toksynotwórcze kultury *Aspergillus flavus* i *A. parasiticus* były zdolne do obniżania zawartości aflatoksyn w środowisku. Toksyny te były degradowane przez szczepy je wytwarzające, ale dopiero po fragmentacji grzybni w przedłużonej do kilku tygodni hodowli. W wyniku reakcji otrzymywano produkt podobny w swej budowie do kwasu kojowego [21]. Według Browna i wsp. [10] zjawisko usuwania aflatoksyny B<sub>1</sub> następowało na skutek jej absorpcji do ściany komórkowej grzybni. Im bardziej zdeintegrowana grzybnia tym degradacja zachodziła z większą wydajnością. Stwierdzono, że maksymalna degradacja aflatoksyny B<sub>1</sub> i G<sub>1</sub> przez grzyby toksynotwórcze następowała w temp. 28°C i przy wartości pH 5 do 6,5 [21]. Badania Engler i wsp. [27] potwierdziły, że cechą eliminowania aflatoksyny B<sub>1</sub> obdarzone są również drożdże *Kluyveromyces marxianus* i bakterie *Bacillus megaterium*. Właściwości usuwania ochratoksyny A ze środowiska wykazywały bakterie *Acinetobacter calcoaceticus* [44]. W pracy Štyriaka i wsp. [90] badano 10 szczepów drożdży z rodzajów *Saccharomyces*, *Kluyveromyces* i *Rhodotorula* w kierunku, biodegradacji fumonizyny B<sub>1</sub>, trichotecen i ochratoksyny A. Wykazano duże różnice pomiędzy szczepami, natomiast nie zaobserwowano preferencji, co do rodzaju mikotoksyny. Fumonizyny były usuwane przez większość szczepów w 100%, deoksynowalenol w zakresie od 63 do 100%, zaś ochratoksyna A od 69 do 100%.

W badaniach Mateo i wsp. [55] do usuwania ochratoksyny A wykorzystano 10 szczepów bakterii fermentacji mlekowej *Oenococcus oeni* (*Leuconostoc oenos*) wyizolowanych z wina. Wykazano, że po 14 dniach inkubacji bakterii w pożywce kontaminowanej 2 µg/l ochratoksyny A, ilość tego związku uległa zmniejszeniu o 60%. Wydajność procesu zależna była od szczepu bakterii, czasu inkubacji, stężenia OTA, nie zależała zaś od żywotności komórek.

Możliwość wykorzystania pleśni do usuwania ochratoksyny A badana była przez Varga i wsp. [94, 95]. Autorzy spośród 70 izolatów pleśni rodzaju *Aspergillus*, wyselekcjonowali dwa – *Aspergillus fumigatus* i *Aspergillus niger*, które wykazywały cechę obniżania zawartości ochratoksyny A zarówno w pożywkach płynnych jak i stałych. Stwierdzono transformację ochratoksyny A do ochratoksyny α i fenyloalaniny w ciągu 7 dni inkubacji.

Tabela III

## Mikroorganizmy wykazujące cechę usuwania mikotoksyn

Mikotoksyna	Mikroorganizm	Piśmiennictwo
Aflatoksyna B <sub>1</sub>	<i>Flavobacterium aurantiacum</i>	[16, 17, 38, 51, 87]
	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>Lactococcus lactis</i>	[73]
	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	[22, 23, 25, 26, 92]
	<i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i>	[9]
	<i>Lactococcus</i> sp.	[57]
	<i>Mycobacterium fluoranthenorans</i>	[91]
	<i>Rhodococcus erythropolis</i>	[3, 91]
	<i>Bifidobacterium lactis</i> , <i>Lactobacillus johnsonii</i> , <i>L. salivarius</i> , <i>L. crispatus</i>	[69]
	<i>Bifidobacterium</i> sp.	[63]
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> , <i>Bacillus megaterium</i>	[27]
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	[83]
	<i>Aspergillus niger</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>A. terreus</i> , <i>A. luchuensis</i> , <i>Penicillium reistrickii</i>	[16]
	<i>Corynebacterium rubrum</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Trichoderma viride</i>	[54]
	<i>Aspergillus parasiticus</i> , <i>A. flavus</i>	[10, 21]
Ochratoksyna A	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium animalis</i>	[30]
	<i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Lactococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	[34, 85]
	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	[15, 44]
	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. sanfranciscensis</i> , <i>L. acidophilus</i>	[75, 76]
	<i>Oenococcus oeni</i>	[55]
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	[4, 8, 11, 56, 77, 90, 93]
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> , <i>Rhodotorula rubra</i>	[90]
	<i>Phaffia rhodozyna</i> , <i>Xanthophyllomyces dendrorhous</i>	[71]
	<i>Metschnikowia pulcherrima</i> , <i>Pichia guilliermondii</i> , <i>Rhodococcus erythropolis</i>	[68]
	<i>Rhizopus</i> sp.	[94]
	<i>Aureobasidium pullulans</i>	[19]
	<i>Aspergillus niger</i> , <i>A. carbonarius</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. versicolor</i>	[1, 2, 7, 95]
Fumonizyna B <sub>1</sub>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactococcus lactis</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	[62]
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Kluyveromyces marxianus</i> , <i>Rhodotorula rubra</i>	[90]
Trichoteceny	Bakterie żwacza	[31]
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Kluyveromyces marxianus</i> , <i>Rhodotorula rubra</i>	[90]
Zearalenon	Bakterie glebowe	[58]
	<i>Propionibacterium fraudenreichii</i>	[37]
	<i>Rhizopus</i> sp.	[94]
	<i>Trichosporon mycotoxinivorans</i>	[60]
Patulina	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium animalis</i>	[30]
	<i>Rhizopus stolonifer</i>	[94]

Podobna reakcja rozkładu wiązania peptydowego ochratoksyny A w sposób naturalny odbywa się u przeżuwaczy, co jest wynikiem działalności mikroorganizmów żwacza przy udziale karboksypeptydazy A (EC 3.4.17.1) [41, 48, 65]. Badane grzyby pleśniowe metabolizowały również ochratoksynę  $\alpha$ . Jej ilość wzrastała w ciągu pierwszych 6 dni inkubacji, a następnie zaczynała maleć, by po 10 dniach dojść do śladowych ilości. Dowodzi to degradacji również ochratoksyny  $\alpha$  do nieznanego produktu [95].

Stwierdzono w badaniach *in vitro*, że efektem działania na roztwór ochratoksyny A surowego preparatu lipazy pochodzącej od *Aspergillus niger* (handlowa nazwa Amano A) był rozkład ochratoksyny A z wydzielaniem ochratoksyny  $\alpha$  i fenyloalaniny [89]. Podobne rezultaty uzyskał Abruñosa [1, 2] w odniesieniu do degradacji ochratoksyny A przez szczepy grzybów wyizolowanych z winogron oraz przez surowe preparaty proteaz z *Aspergillus niger*, jak również

handlowe enzymy proteolityczne. Enzymatyczny rozkład ochratoksyny A w moszczach gronowych został również zaobserwowany w hodowli pleśni *Aureobasidium pullulans* [19].

W pracy B e j a o u i i wsp. [7] wykazano usuwanie ochratoksyny A z moszczy gronowych przez szczepy należące do sekcji *Nigri* rodzaju *Aspergillus* przebiegało według dwóch różnych mechanizmów. Konidia żywe prowadziły biodegradację OTA do fenyloalaniny i ochratoksyny  $\alpha$ , zaś konidia inaktywowane termicznie adsorbowały toksynę. Na naturę procesu miał wpływ charakter powierzchni komórek, a głównie hydrofobowość. Wydajność procesu była jednak taka sama niezależnie od stanu fizjologicznego pleśni. Wykorzystanie konidiów pleśni, szczególnie martwych, jako adsorbentów w praktyce enologicznej jest obiecującą metodą, jednak wymaga dopracowania w zakresie immobilizacji konidiów. Podstawową wadą jest też zmiana zabarwienia moszczy pod wpływem konidiów pleśni.

Nieliczne doniesienia naukowe skupiają się na innych mikotoksynach występujących w środowisku. W badaniach *in vitro* prowadzonych przez Y o u n g a i wsp. [99] wykazano, że na skutek aktywności mikroorganizmów wyizolowanych z przewodu pokarmowego kurcząt 12 mikotoksyn należących do grupy trichotecen uległo biodegradacji. Transformacja toksyn polegała na ich częściowej bądź całkowitej deepoksydacji lub deacylacji. Wyniki te są spójne z rezultatami badań F u c h s i wsp. [31], których przedmiotem były trichoteceny typu A. Wykazano w nich, że szczep bakterii beztlenowych, gramdodatnich wyizolowany z żwacza, wstępnie zaklasyfikowany do rodzaju *Eubacterium* prowadził transformację tych związków do nietoksycznych form nieepoksydowanych. Możliwe kierunki transformacji trichotecen pod wpływem czynników chemicznych i biologicznych zostały omówione przez H e i wsp. [40].

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*.

## 5. 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 [18, 33].

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* [22–25, 68, 75]. Szczepy *L. rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* LC-705 zostały uznane za najbardziej skutecznie wiążące aflatoksynę B<sub>1</sub> w porównaniu z innymi szczepami bakterii Gram-dodatnich (*Lactobacillus casei* Shiota, *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 [23]. 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 [22]. Szczepy bakterii *Lactobacillus acidophilus* i *L. rhamnosus* charakteryzowały się również zdolnością do usuwania aflatoksyny M<sub>1</sub> z mleka w zależności od szczepu w zakresie od 18 do 57% [73]. W każdym przypadku zaobserwowano, że komórki inaktywowane termicznie były bardziej skuteczne od komórek żywych, co wynika ze zmiany właściwości powierzchniowych komórek, które zachodzą pod wpływem wysokiej temperatury [22, 68].

Wykazano, że szczepy *Lactobacillus acidophilus* oraz *Bifidobacterium bifidum*, *B. longum* i inne nie tylko zmniejszają ilość aflatoksyny B<sub>1</sub> w pożywce, ale też obniżają mutagenność środowiska. Cechy te były bardziej widoczne w przypadku szczepów inaktywowanych termicznie [9, 50].

Badania innych autorów skupiały się na bakteriach fermentacji mlekowej wykorzystywanych do produkcji jogurtu. Prowadzono fermentację mleka zawierającego aflatoksynę B<sub>1</sub> w ilości 600, 1000 i 1400  $\mu\text{g}/\text{kg}$  z wykorzystaniem bakterii jogurtowych z rodzaju *Streptococcus*. W jogurcie o pH=4,0 ilość toksyny została zredukowana, w zależności od jej początkowej zawartości odpowiednio w 97, 91 i 90%. W doświadczeniach tych stwierdzono zmiany morfologiczne w komórkach, natomiast cechy organoleptyczne jogurtu pozostały bez zmian [57]. Inni autorzy badając obniżanie zawartości AFB<sub>1</sub> w mleku w wyniku działania bakterii jogurtowych stwierdzili całkowitą transformację AFB<sub>1</sub> do nowego produktu fluoryzującego o R<sub>f</sub>=0,18 identycznego z aflatoksyną B<sub>2a</sub> [57, 79].

Wykazano, że nie tylko aflatoksyna jest skutecznie usuwana przez bakterie mlekowe. W badaniach Š k i n j a r i i wsp. [85] potwierdzono zdolność do obniżania zawartości ochratoksyny A w mleku przez bakterie fermentacji mlekowej należące do gatunków *Lactococcus salivarius*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Bifidobacterium bifidum*. Ilość patuliny w pożywce zmniejszyła się w zakresie od 10 do 82% pod wpływem bakterii należących do rodzaju *Lactobacillus* oraz *Bifidobacterium*. Potwierdziły się wcześniejsze obserwacje innych autorów, że przebieg procesu zależy od gęstości inokulum, pH i stężenia toksyny. Spośród badanych szczepów *L. acidophilus*, usuwał nawet 96% toksyny dodanej do pożywki w ilości 1 µg/ml [30]. N i d e r k o r n i i wsp. [62] przeprowadził skrining bakterii fermentacji mlekowej i propionowej w kierunku cechy usuwania deoksynowalenolu i fumonizyny z roztworów. Wykazano, najlepszymi predyspozycjami do usuwania tych toksyn charakteryzowały się bakterie mlekowe: *Lactobacillus rhamnosus* powodował usunięcie 55% deoksyniwalenolu, *Leuconostoc mesenteroides* 82% fumonizyny B<sub>1</sub>, zaś *Lactococcus lactis* 100% fumonizyny B<sub>2</sub> dodanych do pożywki.

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 B<sub>1</sub> w przewodzie pokarmowym kurcząt [24]. Eksperymenty *in vivo* wskazują, że stosowanie bakterii probiotycznych jako dodatków do pasz ogranicza efekty mikotoksykozy u zwierząt, jak również zmniejsza kumulację toksyn w tkankach, obniżając w ten sposób skażenie żywności pochodzenia zwierzęcego przez toksyny [86].

Fakt usuwania toksyny również przez bakterie nieaktywne wyklucza enzymatyczny charakter procesu, a potwierdza, że jest to adsorpcja do komórki, a przede wszystkim do zewnętrznych warstw jej ściany komórkowej. Szczególną rolę w mechanizmie adsorpcji toksyn do komórek bakteryjnych, żywych i martwych mogą odgrywać peptydoglikan i egzopolisacharydy komórek, kwasy teichonowe oraz oddziaływania związane z hydrofobowością komórki i właściwościami elektrostatycznymi [100]. Wykazano, że wiązanie toksyn z komórkami bakterii fermentacji mlekowej jest powierzchniowe, a przy zastosowaniu bakterii inaktywowanych termicznie trwałe, w odróżnieniu od bakterii żywych, z których komórek można wyplukać związaną wcześniej toksynę [39, 47]. Nie są jednak znane dane literaturowe na temat stabilności wiązania w warunkach przewodu pokarmowego. Trwałość takiego połączenia, a jednocześnie brak przylegania bakterii do nabłonka jelita, co

umożliwiłoby resorpcję toksyny determinuje przyszłe zastosowanie praktyczne bakterii fermentacji mlekowej do dekontaminacji również żywności.

## 6. Drożdże *Saccharomyces cerevisiae*

Drugą grupą 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. W badaniach S c o t t i i wsp. [82] stwierdzono, że ochratoksyna A dodana do brzeczki słodowej w ilości 0,19 µg/ml, została wyeliminowana w 21% podczas fermentacji prowadzonej z udziałem drożdży browarniczych *Saccharomyces cerevisiae* var. *carlsbergensis*. Również podczas fermentacji zakwasu piekarskiego przez mieszaną kulturę starterową drożdży i bakterii mlekowej zawartość ochratoksyny A w mące ulegała znacznemu obniżeniu [76]. W badaniach interakcji między ochratoksyną A a szczepami drożdży *Saccharomyces cerevisiae* i *Kloeckera apiculata* stosowanymi pojedynczo i w mieszaninie wykazano, że dodatek toksyny do medium hodowlanego nie wpływa negatywnie na przebieg fermentacji alkoholowej. Ubytek toksyny wahał się od 28 do 40% wartości początkowej w zależności od szczepu i ilości toksyny w medium. Badania potwierdziły też, że toksyna nie jest biodegradowana, a adsorbowana przez drożdże [4].

Skażenie ochratoksyną A moszczów gronowych jest poważnym problemem w winiarstwie. Niektóre szczepy enologiczne są zdolne do usuwania ochratoksyny A z soków i moszczów gronowych [8, 11, 13, 14, 56]. Doniesienia B e j a o u i i i wsp. [8] wskazują, że proces usuwania ochratoksyny A z soku gronowego jest bardzo szybki, już po 5 minutach kontaktu z komórkami drożdży 90% początkowej zawartości toksyny, tj 10 µg/ml uległo związaniu. Wyniki tych badań są spójne z rezultatami uzyskanymi dla bakterii mlekowych, mimo znacznych różnic w budowie komórek. Autorzy [8] wskazali na możliwość wykorzystania martwych drożdży odpowiednich szczepów jako adsorbentów w praktyce winiarskiej. Taki adsorbent jest tani, bezpieczny i nie

wpływa na zmiany organoleptyczne wina. Dyskusyjna jest jednak użycie komórek drożdży z ochratoxiną, ponadto wadą takiego sposobu dekontaminacji jest wiązanie innych korzystnych dla jakości wina składników, takich jak związki polifenolowe czy antocyjany [12].

V a r i w s p. [93] dokonali przeglądu 21 różnych szczepów drożdży wyizolowanych z winogron należących do rodzaju *Candida*, *Kloeckera* i *Cryptococcus* pod względem zdolności do usuwania ochratoxyny A z wina. Wykazano, że największą redukcją ilości toksyny ok. 30% charakteryzował się szczep *Candida famata*. Porównując te wyniki z rezultatami innych autorów należy stwierdzić, że wydajność tego procesu była bardzo dość niska, przy początkowym stężeniu toksyny 10 ng/ml.

Podobnie jak w przypadku bakterii fermentacji mlekowej ustalono, że mechanizmem odpowiedzialnym za usuwanie toksyn przez drożdże jest adsorpcja do powierzchni komórek. Przemawia za tym fakt, że analizy chromatograficzne nie wykazały obecności produktów metabolizmu ochratoxyny A, zaś komórki martwe i wypreparowane ściany komórkowe drożdży były równie efektywne [4, 8, 43, 68, 77, 80]. Mechanizm ten był niezależny od rodzaju toksyny, co wykazano w odniesieniu do aflatoksyny B<sub>1</sub>, zearalenonu i toksyny T-2 i patuliny [29, 83, 98]. Składnikami ściany komórkowej, które biorą udział w wiązaniu mikotoksyn są glukany i mannoпротеiny [13, 80]. Według R a j u i D e v e g o w d a [80] za wiązanie toksyn odpowiada β-D-glukan ściany komórkowej drożdży, a szczególnie efektywna jest jego forma estryfikowana. W oparciu o badania metodą NMR stwierdzono, że grupy hydroksylowe, ketonowe i laktonowe toksyn są odpowiedzialne za tworzenie zarówno wiązań wodorowych jak oddziaływań van der Waalsa między toksynami a β-D-glukanami [97]. Drożdże i składniki ich ściany komórkowej stosowane są również jako dodatki paszowe dla zwierząt, wykorzystywane też jako adsorbenty, co skutecznie ogranicza efekty mikotoksykozy u zwierząt hodowlanych [5, 81]. Komercyjnym preparatem jest dodatek paszowy o nazwie Mycorb (Alltech), który zawiera glukomamannany, wypreparowane składniki ściany komórkowej drożdży.

Potencjalna aplikacja drożdży jako adsorbentów do żywności i pasz zależy jednak od stabilności wiązania toksyny z komórkami w warunkach przewodu pokarmowego. Według Y a n i k o u r i s a i w s p. [99] adsorpcja zearalenonu jest najbardziej efektywna w pH kwaśnym i bliskim obojętnego, a więc takich, jakie panują w niektórych regionach przewodu pokarmowego, zaś warunki alkaliczne zmieniają konformację glukanu w taki sposób, że adsorpcja jest niemożliwa, a więc można przypuszczać, że wiązanie jest dość trwałe.

Efektom zastosowania drożdży do usuwania ochratoxyny A jest też detoksykacja środowiska, co wykazano w testach cytotoxycywności i genotoksywności z wykorzystaniem linii komórkowych nerek świńskich

[74]. Niektóre drożdże wykazują też cechy probiotyczne, co jest dodatkowym argumentem przemawiającym za stosowaniem tych organizmów.

## 7. Podsumowanie

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 też kontrowersje z punktu widzenia konsumenta. Brak jest unormowań prawnych w tej kwestii, a dane dotyczące trwałości połączenia bakterie-toksyna w przewodzie pokarmowym, jak również dane toksykologiczne są wciąż niepełne. Jedyną grupą drobnoustrojów, które obok innych korzystnych cech prozdrowotnych wykazują zdolność do usuwania toksyn są probiotyczne bakterie fermentacji mlekowej. Również drożdże *Saccharomyces cerevisiae* oraz składniki ich ściany komórkowej – glukany 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.

W artykule dokonano przeglądu metod, które mogą być rozważane jako czynnik dekontaminacji surowców pochodzenia roślinnego, ze szczególnym uwzględnieniem metod biologicznych.

## Piśmiennictwo

1. Abrunhosa L., Santos L., Venancio A.: Degradation of ochratoxin A by proteases and by a crude enzyme of *Aspergillus niger*. *Food Biotechnol.* **20**, 231–242 (2006)
2. Abrunhosa L., Serra R., Venancio A.: Biodegradation of ochratoxin A by fungi isolated from grapes. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 493–7496 (2002)
3. Alberts J.F., Engelbrecht Y., Steyn P.S., Holzapfel W.H., Vanzyl W.H.: Biological degradation of AFB<sub>1</sub> by *Rhodococcus erythropolis* cultures. *Int. J. Food Microbiol.* **109**, 121–126 (2006)
4. Angioni A., Caboni P., Garau A., Harris A., Orro D., Budroni M., Cabras P.: In vitro interaction between ochratoxin A and different strains of *Saccharomyces cerevisiae* and *Kloeckera apiculata*. *J. Agric. Chem.* **55**, 2043–2048 (2007)
5. Baptista A.S., Horii J., Calori-Domingues M.A., Micotti da Gloria E.: The capacity of manno-oligosaccharides, thermolysed yeast and active yeast to attenuate aflatoxicosis, *World J. Microbiol. Biotechnol.* **20**, 475–481 (2004)



6. Barkai-Golan R., Paster N.: Mouldy fruits and vegetables as a source of mycotoxins: part 1. *World Mycotox. J.* **1**, 147–159 (2008)
7. Bejaoui H., Mathieu F., Taillandier P., Lebrihi A.: Conidia of black *Aspergilli* as new biological adsorbents for ochratoxin A in grape juices and musts. *J. Agric. Food Chem.* **53**, 8224–8229 (2005)
8. Bejaoui H., Mathieu F., Taillandier P., Lebrihi A.: Ochratoxin A removal in synthetic and natural grape juices by selected oenological *Saccharomyces* strains. *J. Appl. Microbiol.* **97**, 1038–1044 (2004)
9. Bolognani F., Rumney J., Rowland I.R.: Influence of carcinogen binding by lactic acid-producing bacteria on tissue distribution and in vitro mutagenicity of dietary carcinogens. *Food Chem. Toxicol.* **35**, 535–545 (1997)
10. Brown R.L., Cotty P.J., Cleveland T.E.: Reduction in aflatoxin content of maize by atoxigenic strains of *Aspergillus flavus*. *J. Food Protect.* **54**, 623–628 (1991)
11. Caridi A.: Oenological functions of parietal yeast mannoproteins. *A. Van. Leeuwoonhoek*, **89**, 417–422 (2006)
12. Caridi A.: New perspectives in safety and quality enhancement of wine through selection of yeasts based on the parietal adsorption activity. *Int. J. Food Microbiol.* **120**, 167–172 (2007)
13. Caridi A., Galvano F., Tafuri A., Ritieni A.: Ochratoxin A removal during winemaking. *Enzyme Microbiol. Technol.* **40**, 122–126 (2006)
14. Cecchini F., Morassut M., Moruno E.G., Di Stefano R.: Influence of yeast strain on ochratoxin A content during fermentation of white and red must. *Food Microbiol.* **23**, 411–417 (2006)
15. Cheng-An H., Draughon F.A.: Degradation of ochratoxin A by *Acinetobacter calcoaceticus*. *J. Food Protect.* **57**, 410–414 (1994)
16. Ciegler A., Lillehoj E.B., Peterson R.E., Hall H.H.: Microbial detoxification of aflatoxin. *Appl. Microbiol.* **14**, 934–938 (1996)
17. D'Souza D.H., Brackett E.: Aflatoxin B<sub>1</sub> degradation by *Flavobacterium aurantiacum* in the presence of reducing conditions and seryl and sulfhydryl group inhibitors. *J. Food Protect.* **64**, 268–271 (2001)
18. Dalié D.K.D., Deschamps A.M., Richard-Forget F.: Lactic acid bacteria – Potential for control of mould growth and mycotoxins: A review. *Food Control*, **21**, 370–380 (2010)
19. De Felice D.V., Solfrizzo M., De Curtis F., Lima G., Visconti A., Castoria R.: Strains of *Aureobasidium pullulans* can lower ochratoxin A contamination in wine grapes. *Phytopathology*, **98**, 1261–1270 (2008)
20. Doyle M.P., Applebaum R.S., Brackett R.E., Marth E.H.: Physical, chemical and biological degradation of mycotoxins in foods and agricultural commodities. *J. Food Protect.* **45**, 964–971 (1982)
21. Doyle M.P., Marth E.H.: Aflatoxin is degraded at different temperatures and pH by mycelia of *Aspergillus parasiticus*. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **6**, 95–100 (1978)
22. El-Nezami H., Kankaanpaa P., Salminen S., Ahokas J.: Physicochemical alterations enhance the ability of dairy strains of lactic acid bacteria to remove aflatoxin from contaminated media. *J. Food Sci.* **61**, 466–468 (1998)
23. El-Nezami H., Kankaanpaa P., Salminen S., Ahokas J.: Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind a common food carcinogen, aflatoxin B<sub>1</sub>. *Food Chem. Toxicol.* **36**, 321–326 (1998)
24. El-Nezami H., Mykkänen H., Kankaanpaa P., Salminen S., Ahokas J.: Ability of *Lactobacillus* and *Propionibacterium* strains to remove aflatoxin B<sub>1</sub> from chicken duodenum. *J. Food Protect.* **63**, 549–552 (2000)
25. El-Nezami H., Salminen S., Mykkanen H.: Probiotic bacteria-mycotoxins interaction: an approach to enhance food safety. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* **11/52**, 39–43 (2002)
26. El-Nezami H., Kankaanpaa P., Salminen S., Ahokas J.: Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind a common food carcinogen, aflatoxin B<sub>1</sub>. *Food Chem. Toxicol.* **36**, 321–326 (1998)
27. Engler K.H., Coker R. D., Evans I.H.: Uptake of aflatoxin B<sub>1</sub> and T-2 toxin by two mycotoxin bioassay microorganisms: *Kluyveromyces marxianus* and *Bacillus megaterium*. *Archiv. Microbiol.* **174**, 381–385 (2000)
28. Filtenborg O., Frisvad J.C., Thrane U.: Moulds in food spoilage. *Int. J. Food Microbiol.* **22**, 85–102 (1996)
29. Freimund S., Sauter M., Rys P.: Efficient adsorption of the mycotoxins zearalenone and T-2 toxin on a modified yeast glucan. *J. Environ. Sci. Health B.* **38**, 243–255 (2003)
30. Fuchs S., Sontag G., Stidl R., Ehrlich V., Kundi M., Knasmüller S.: Detoxification of patulin and ochratoxin A, two abundant mycotoxins, by lactic acid bacteria. *Food Chem. Toxicol.* **46**, 1398–1407 (2008)
31. Fusch E., Binder E.M., Heidler D., Krska R.: Structural characterization of metabolites after the microbial degradation of type A trichothecenes by the bacterial strain BBSH 797. *Food Additiv. Contam.* **19**, 379–386 (2002)
32. Glenn A.E.: Mycotoxigenic *Fusarium* species in animal feed. *Anim. Feed. Sci. Tech.* **137**, 213–240 (2007)
33. Gourama H., Bullerman L. B.: Antimycotic and antiaflatoxinogenic effect of lactic acid bacteria: a review. *J. Food Protect.* **57**, 1275–1280 (1995)
34. Grajewski J.: *Możliwości inaktywacji ochratoksyny A w badaniach in vitro oraz in vivo u kurcząt*. Wyd. Akademii Bydgoskiej, Bydgoszcz 2003.
35. Grajewski J., Błajet-Kosicka A., Twarużek M., Kosicki R., Drawe K.: Występowanie mikotoksyn w materiałach paszowych w latach 2006–2009. IX Międzynarodowa Konferencja Naukowa Mikotoksyny i grzyby pleśniowe. Bydgoszcz 2010, mat. konf. 58.
36. Grajewski J., Szczepaniak K., Miklaszewska B.: *Patogenne pleśnie i mikotoksyny w artykułach rolno-spożywczych i środowisku*. VI Międzynarodowa Konferencja Naukowa „Mikotoksyny w środowisku człowieka i zwierząt”, Bydgoszcz 2002, mat. konf. 127.
37. Gwiazdowska D., Czaczyk K.: Wpływ wybranych warunków środowiskowych na usuwanie zearalenonu przez bakterie fermentacji propionowej. IX Międzynarodowa Konferencja Naukowa „Mikotoksyny i grzyby pleśniowe”. Bydgoszcz 2010, mat. konf. 45.
38. Hao Y.Y., Brackett R.E.: Removal of aflatoxin B<sub>1</sub> from peanut milk inoculated with *Flavobacterium aurantiacum*. *J. Food Sci.* **53**, 1384–1386 (1998)
39. Haskard C.A., El-Nezami H., Kankaanpaa P.E., Salminen S., Ahokas J.T.: Surface binding of aflatoxin B<sub>1</sub> by lactic acid bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**, 3086–3091 (2001)
40. He J., Zhou T., Young J.C., Boland G.J., Scott P.M.: Chemical and biological transformations for detoxification of trichothecene mycotoxins in human and animal food chains: a review. *Trends Food Sci. Technol.* **21**, 67–76 (2010)
41. Hult K., Teiling A., Gatenbeck S.: Degradation of ochratoxin A by a ruminant. *Appl. Environ. Microbiol.* **32**, 443–444 (1976)
42. Hussein H.S., Brasel J.M.: Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*, **167**, 101–134 (2001)
43. Huwig A., Freimund S., Kappeli O., Dutler H.: Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. *Toxicol. Lett.* **122**, 179–188 (2001)
44. Hwang C.A., Draughon F.: Degradation of ochratoxin A by *Acinetobacter calcoaceticus*. *J. Food Protect.* **57**, 410–414 (1994)
45. Jouany J. P.: Methods for preventing, decontaminating and minimizing the toxicity of mycotoxins in feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* **137**, 342–362 (2007)

46. Kabak B., Dobson A.: Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **46**, 593–619 (2006)
47. Kanakaapaa P., Tuomola E., El-Nezami H.S., Ahokas J., Salminen S.J.: Binding of aflatoxin B<sub>1</sub> alters the adhesion properties of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG in a Caco-2 model. *J. Food Protect.* **63**, 412–414 (2000)
48. Kiessling H.K., Petterson H., Sandholm K., Olsen M.: Metabolism of aflatoxin, ochratoxin A, zearalenone, and tree trichothecens by intact rumen fluid, rumen protozoa, and rumen bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **47**, 1070–1073 (1984)
49. Koper W., Chrzanowska E., Chabowska D., Kuziemski A.: Nadzór nad żywnością importowaną – aflatoksyny. IX Międzynarodowa Konferencja Naukowa „Mikotoksyny i grzyby pleśniowe. Bydgoszcz 2010, mat. konf. 22.
50. Lankaputhra W.E.V., Shah N.P.: Antimutagenic properties of probiotic bacteria and of organic acid. *Mut. Research*, **397**, 169–182 (1998)
51. Line J.E., Brackett R.E.: Factors affecting aflatoxin B<sub>1</sub> removal by *Flavobacterium aurantiacum*. *J. Food Protect.* **58**, 91–94 (1995)
52. Logrieco A., Moretti A., Solfrizzo M.: *Alternaria* toxins and plant diseases: on overview of origin, occurrence and risk. *World Mycotox. J.* **2**, 129–140 (2009)
53. Magan N., Aldred D., Mylona K., Lambert R. J.W.: Limiting mycotoxins in stored wheat. *Food Additiv. Contam.* **27**, 644–650 (2010)
54. Mann R., Rehm H.J.: Degradation products from aflatoxin B<sub>1</sub> by *Corynebacterium rubrum*, *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, *Mucor ambignus*. *Eur. J. Appl. Microbiol.* **2**, 297–306 (1976)
55. Mateo E.M., Medina A., Mateo F., Valle-Algarra F.M., Pardo I.: Ochratoxin A removal in synthetic media by living and heat-inactivated cells of *Oenococcus oeni* isolated from wines. *Food Control*, **21**, 23–28 (2010)
56. Meca G., Blaiotta G., Ritieni A.: Reduction of ochratoxin A during the fermentation of Italian red wine Moscato. *Food Control*, **21**, 579–583 (2010)
57. Megalla S.M., Mohran M.A.: Fate of aflatoxin B<sub>1</sub> in fermented dairy products. *Mycopathologia*, **88**, 27–29 (1984)
58. Megharaj M., Garthwaite I., Thiele J.H.: Total biodegradation on the oestrogenic mycotoxin zearalenone by a bacterial culture. *Lett. Appl. Microbiol.* **24**, 329–333 (1997)
59. Miklaszewska B., Kuźmińska K., Grajewski J.: Mikologiczne i mikotoksykologiczne skażenie w badanych próbkach pasz i żywności (w latach 2001–2004), VII Międzynarodowa Konferencja Naukowa: Mikotoksyny i patogenne pleśnie w środowisku, Bydgoszcz 2004, mat. konf. 221–226.
60. Molnar O., Schatzmayr G., Fuchs E., Prillinger H.: *Trichosporon mycotoxinivorans* sp. nov. a new yeast species useful in biological detoxification of various mycotoxins, *Syst. Appl. Microbiol.* **27**, 661–671 (2004)
61. Moss M.O.: Fungi, quality and safety issues in fresh fruits and vegetables. *J. Appl. Microbiol.* **104**, 1239–1243 (2008)
62. Niderkorn V., Boudra H., Morgavi D.P.: Binding of *Fusarium* mycotoxins by fermentative bacteria *in vitro*. *J. Appl. Microbiol.* **101**, 849–856 (2006)
63. Oatley J.T., Rarick M. D., Eogij G., Lemz J.: Binding of aflatoxin B<sub>1</sub> to Bifidobacteria *in vitro*, *I. Assoc. Food Protect.* **63**, 1133–1136 (2000)
64. Ostry V.: *Alternaria* mycotoxins: an overview of chemical characterization, producers, toxicity, analysis and occurrence in foodstuffs. *World Mycotox. J.* **1**, 175–188 (2008)
65. Özpınar H., Augonyte G., Drochner W.: Inactivation of ochratoxin in ruminal fluid with variation of pH-value and fermentation parameters in an *in vitro* system. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **7**, 1–9 (1999)
66. Paster N., Barkai-Golan R.: Mouldy fruits and vegetables as a source of mycotoxins: part 2. *World Mycotox. J.* **1**, 385–396 (2008)
67. Paterson R. R. M., Lima N.: How will climate change affect mycotoxins in food? *Food Res. Int.* **43**, 1902–1914 (2010)
68. Patharajan S., Reddy K.R.N., Karthikeyan V., Spadaro D., Lore A., Gullino M.L., Garibaldi A.: Potential of yeast antagonists on *in vitro* biodegradation of ochratoxin A. *Food Control*, **22**, 290–296 (2011)
69. Peltonen K.D., El-Nezami H., Salminen S., Ahokas J.T.: Binding of aflatoxin B<sub>1</sub> by probiotic bacteria. *J. Sci. Food Agric.* **80**, 1942–1945 (2000)
70. Peraica M., Domijan A-M., Jurjević Ž., Cvjetković B.: Prevention of exposure to mycotoxins from food and feed. *Arch. Hig. Rada Toksikol.* **53**, 229–237 (2002)
71. Peteri, Z., Teren, J., Vagvolgyi, C., Varga, J.: Ochratoxin degradation and adsorption caused by astaxanthin-producing yeasts. *Food Microbiol.* **24**, 205–210 (2007)
72. Pietryna M.: Zanieczyszczenie pasz ochratoksyną A, zearalenonem, deoksynivalenolem w latach 2005–2009. IX Międzynarodowa Konferencja Naukowa „Mikotoksyny i grzyby pleśniowe. Bydgoszcz 2010, mat.konf. 54
73. Pierides M., El-Nezami H., Peltonen K., Salminen S., Ahokas J.P.: Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind aflatoxin M<sub>1</sub> in a food model. *J. Food Protect.* **63**, 645–650 (2000)
74. Piotrowska M., Arkusz J., Stańczyk M., Palus J., Dziubałtowska E., Stępnik M.: The influence of lactic acid bacteria and yeasts on cytotoxicity and genotoxicity of ochratoxin A. 30<sup>th</sup> Mycotoxin Workshop, Utrecht, The Netherlands, 28–30 April, 2008, abstract book 146.
75. Piotrowska M., Żakowska Z.: The elimination of ochratoxin A by lactic acid bacteria. *Pol. J. Microbiol.* **54**, 279–286 (2005)
76. Piotrowska, M., Żakowska, Z.: The biodegradation of ochratoxin A in food products by lactic acid bacteria and baker's yeast. *Food Biotechnol.* **17**, 307–310 (2000)
77. Piotrowska, M.: Reduction of ochratoxin A level in raw materials and model media by *Saccharomyces cerevisiae*. 28 Mykotoxin-Workshop, Bydgoszcz 2006, abstracts book, 130
78. Postupolski J., Karłowski K.: Ochratoksyna A w wybranych środkach spożywczych i w próbkach całodziennych posiłków. V Międzynarodowa Konferencja Naukowa „Mikotoksyny i dioksyny a środowisko”, Bydgoszcz 2000, mat. konf. 175
79. Raić J.L., Kinjar M., Markov S.: Decrease of aflatoxin B<sub>1</sub> in yoghurt and acidified milks. *Mycopathologia*, **113**, 117–119 (1991)
80. Raju M.V.L.N., Devegowda G.: Influence of esterified glucmannan on performance and organ morphology, serum biochemistry and haematology in broilers exposed to individual and combined mycotoxicosis (aflatoxin, ochratoxin and T-2 toxin). *British Poultry Sci.* **41**, 640–650 (2000)
81. Richard J.L.: Some major mycotoxins and their mycotoxicoses – an overview. *Int. J. Food Microbiol.* **119**, 3–10 (2007)
82. Scott P.M., Kanhere S.R., Lawrence G.A., Daley E.F., Farber J.M.: Fermentation of wort containing ochratoxin A and fumonisin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub>. *Food Additiv. Contamin.* **1**, 31–40 (1995)
83. Shetty P.H., Hald B., Jespersen L.: Surface binding of aflatoxin B<sub>1</sub> by *Saccharomyces cerevisiae* strains with potential decontaminating abilities in indigenous fermented foods. *Int. J. Food Microbiol.* **113**, 41–46 (2007)
84. Sinha K. K.: Decontamination of mycotoxins and food safety. *Toxicol. Lett.* **122**, 179–188 (2001)
85. Škinjar M., Raić J. L., Stojčić V.: Lowering of ochratoxin A level in milk by yoghurt bacteria and Bifidobacteria. *Folia Microbiol.* **41**, 1, 26–28 (1996)

86. Ślizewska K., Piotrowska M., Libudzisz Z.: Influence of a probiotic preparation on the aflatoxin B<sub>1</sub> content in feces, blood serum, kidneys and liver of chickens fed on aflatoxin B<sub>1</sub> contaminated fodder (*in vivo* tests). 30<sup>th</sup> Mycotoxin Workshop, Utrecht, The Netherlands, 28–30 April, 2008, abstract book 130
87. Smiley R.D., Draughon F.A.: Preliminary evidence that degradation of aflatoxin B<sub>1</sub> by *Flavobacterium aurantiacum* is enzymatic. *J. Food Protect.* **63**, 415–418 (2000)
88. Sobrova P., Adam V., Vasatkova A., Beklova M., Zeman L., Kizek R.: Deoxynivalenol and its toxicity. *Interdisc. Toxicol.* **3**, 94–99 (2010)
89. Stander M.A., Bornscheuer U.T., Henke E., Steyn P.S.: Screening of commercial hydrolases for the degradation of ochratoxin A. *J. Agric. Food Chem.* **48**, 5736–5739 (2000)
90. Štyriak I., Čonková E., Kmet V., Böhm J., Razzazi E.: The use of yeast for microbial degradation of some selected mycotoxins. *Mycotoxin Res.* **17A**, 24–27 (2001)
91. Teniola O.D., Addo P.A., Brost I.M., Farber P., Jany K.D., Alberts J.F., Vanzyll W.H., Steyn P.S., Holzapfel W.H.: Degradation of AFB<sub>1</sub> by cell free extracts of *Rhodococcus erythropolis* and *Mycobacterium fluoranthenivorans* sp. *Int. J. Food Microbiol.* **105**, 111–117 (2005)
92. Turbic A., Ahokas J.T., Haskard C.A.: Selective *in vitro* binding of dietary mutagens, individually or in combination, by lactic acid bacteria. *Food Add. Contamin.* **19**, 144–152 (2002)
93. Var I., Ergikaya Z., Kabak B.: Reduction of ochratoxin A levels in white wine by yeast treatments. *J. Inst. Brew.* **115**, 30–34 (2009)
94. Varga J., Peteri Z., Tabori K., Teren J., Vagvolgyi C.: Degradation of ochratoxin A and other mycotoxins by *Rhizopus* isolates. *Int. J. Food Microbiol.* **99**, 321–328 (2005)
95. Varga J., Rigo K., Teren J.: Degradation of ochratoxin A by *Aspergillus* species. *Int. J. Food Microbiol.* **59**, 1–7 (2000)
96. Wild C.P., Gong Y.Y.: Mycotoxins and human disease: a largely ignored global health issue. *Carcinogenesis* **31**, 71–82 (2010)
97. Yiannikouris A., Andre G., Poughon L., Francois J., Dussap C.-G., Jeminet G., Bertin G., Jouany J.-P.: Chemical and conformational study of the interactions involved in mycotoxins complexation with β-D-glucans. *Biomacromolecules*, **7**, 1147–1155 (2006)
98. Yiannikouris A., Francois J., Poughon L., Dussap C.G., Bertin G., Jeminet G., Jouany J. P.: Adsorption of zearalenone by beta-D-glucans in the *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. *J. Food Protect.* **67**, 1195–1200 (2004)
99. Young J.C., Zhou T., Yu H., Zhu H., Gong J.: Degradation of trichotecene mycotoxins by chicken intestinal microbes. *Food Chem. Toxicol.* **45**, 136–143 (2007)
100. Zhang X.B., Ohta Y.: Binding of mutagens by fractions of lactic acid bacteria on mutagens the cell wall skeleton. *J. Dairy Sci.* **74**, 1477–1481 (1991)