



ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ
ΙΔΡΥΜΑ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ



ΔΡΟΥΓΚΑΝΗΣ ΑΝΔΡΕΑΣ

A.M: 2003082

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΧΡΗΣΗ ΠΡΟΣΘΕΤΩΝ ΣΕ ΖΟΩΤΡΟΦΕΣ ΜΕ ΣΚΟΠΟ ΤΗΝ
ΜΕΙΩΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΩΝ ΜΥΚΟΤΟΞΙΝΩΝ ΣΤΟ ΓΑΛΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΦΑΡΜΑΚΗΣ ΛΑΜΠΡΟΣ

ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2010

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	3
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	4
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1.....	6
1.1 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΥΚΟΤΟΞΙΝΩΝ.....	6
1.2 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΜΥΚΗΤΩΝ	7
1.3 ΟΙ ΚΥΡΙΟΤΕΡΕΣ ΜΥΚΟΤΟΞΙΝΕΣ	9
1.3.1. ΩΧΡΑΤΟΞΙΝΗ Α.....	9
1.3.2. ΤΡΙΧΟΘΕΣΙΝΕΣ	9
1.3.3. ΖΕΑΡΑΛΕΝΟΝΗ	11
1.3.4. ΦΟΥΜΟΝΙΣΙΝΕΣ.....	11
1.4 ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΜΥΚΟΤΟΞΙΚΩΣΗΣ.....	12
1.5 ΤΙ ΠΡΕΠΕΙ ΝΑ ΓΝΩΡΙΖΕΙ Ο ΚΑΤΑΝΑΛΩΤΗΣ.....	13
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2.....	15
2.1 ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΕΣ.....	15
2.2. ΙΣΤΟΡΙΚΑ – ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ.....	18
2.3. ΧΗΜΙΚΕΣ - ΦΥΣΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΩΝ	19
2.3.1. ΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ.....	19
2.3.2. ΦΥΣΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ	22
2.4. ΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΩΝ.....	23
2.5. ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗ Μ1	24
2.5.1. ΑΠΕΚΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ Μ1.....	25
2.5.2. ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΗΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ Μ1 ΣΤΟ ΓΑΛΑ	25
2.5.3. ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΗΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ Μ1 ΣΤΑ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ	
ΠΡΟΪΟΝΤΑ.....	26

2.5.4. ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΗΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ Μ1 ΚΑΤΑ ΤΗ ΓΑΛΟΥΧΙΑ ΚΑΙ ΤΗ ΓΑΛΑΚΤΟΠΑΡΑΓΩΓΗ.....	26
2.6 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΩΝ ΣΤΗ ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ.....	27
2.6.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΩΝ ΣΤΟΝ ΑΡΙΘΜΟ ΣΩΜΑΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ .	28
2.7 ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΕΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ.....	29
2.7.1. ΟΙ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΕΣ ΣΤΟ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΟΥ ΘΗΛΥΚΟΥ	29
2.7.2. ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΗΣΙΑ ΩΡΙΜΟΤΗΤΑ	30
2.7.3. ΚΥΟΦΟΡΙΑ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΕΜΒΡΥΟΥ.....	30
2.7.4. ΟΙ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΕΣ ΣΤΟ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΟΥ ΑΡΣΕΝΙΚΟΥ .	32
2.8 ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ	34
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3.....	36
3.1. ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ.....	36
3.2 ΠΑΓΚΟΣΜΙΑ ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ.....	38
3.3 ΕΠΙΤΡΕΠΤΑ ΟΡΙΑ ΤΩΝ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΩΝ ΣΤΙΣ ΖΩΟΤΡΟΦΕΣ ΚΑΙ ΣΤΟ ΓΑΛΑ	39
3.4 ΑΠΟΦΥΓΗ ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗΣ ΜΥΚΟΤΟΞΙΝΩΝ ΣΤΙΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ	40
3.5 ΟΥΣΙΕΣ ΑΠΟΜΑΚΡΥΝΣΗΣ ΜΥΚΟΤΟΞΙΝΩΝ	41
3.6 ΠΡΟΛΗΨΗ ΚΑΙ ΑΠΑΛΛΑΓΗ ΑΠΟ ΤΙΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΕΣ.....	41
3.6.1. ΠΡΟΛΗΨΗ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΡΟΚΛΗΣΗΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΚΩΣΕΩΝ	45
3.6.2 ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΡΟΚΛΗΣΗΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΚΩΣΕΩΝ	47
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	50
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	51

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου και τον αδερφό μου για την υποστήριξη που μου παρείχαν κατά τη διάρκεια των σπουδών μου. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κύριο Φαρμάκη Λάμπρο, εισηγητή της εργασίας, καθώς και του καθηγητές και τους συναδέλφους με τους οποίους συνεργάστηκα κατά τη διάρκεια της φοίτησης μου στο Τ.Ε.Ι Καλαμάτας.

Αθήνα, Οκτώβριος 2010

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι μυκοτοξίνες (mycotoxins) είναι μεταβολίτες που παράγονται από ορισμένα είδη μυκήτων και έχουν τοξική δράση. Τα τελευταία χρόνια, όλο και περισσότερος λόγος γίνεται για την παρουσία μυκοτοξινών στις ζωοτροφές και ερευνώνται εκτενώς οι επιπτώσεις τους στις παραγωγικές και αναπαραγωγικές αποδόσεις των ζώων και στην ποιότητα των τροφίμων ζωικής προέλευσης.

Παλαιότερα, οι μυκοτοξίνες θεωρούνταν επιβλαβείς μόνο για τα ζώα που τις κατανάλωναν και κατά συνέπεια, επιζήμιες για την οικονομία των εκτροφών. Κατά το παρελθόν, επίσης, η έλλειψη μεθόδων συντήρησης των τροφίμων, ανάγκαζε τους ανθρώπους σε άμεση κατανάλωσή τους, με αποτέλεσμα να μη δίνεται χρόνος στους μύκητες για να αναπτυχθούν και να παράγουν μυκοτοξίνες. Σήμερα, η βελτίωση των μεθόδων συντήρησης των τροφίμων επιτρέπει τη μακροχρόνια αποθήκευσή τους και παράλληλα, έγινε αντιληπτό ότι οι μυκοτοξίνες εξακολουθούν να μπορούν να διεισδύσουν στην τροφική αλυσίδα. Έτσι, υπάρχει ανάγκη για περαιτέρω μελέτη του ρόλου των μυκοτοξινών, αλλά και των προβλημάτων που προκαλούν .

Στα ζώα, η λήψη μυκοτοξινών με την τροφή οδηγεί σε διατάραξη της φυσιολογικής λειτουργίας του οργανισμού τους. Οι παθολογικές καταστάσεις που προκύπτουν ονομάζονται μυκοτοξικώσεις (mycotoxicoses). Συνήθως, παρατηρούνται τρεις μορφές μυκοτοξικώσεων: α) οι οξείες, μετά από λήψη μέτριας ή μεγάλης ποσότητας μυκοτοξινών, που μπορεί να προκαλέσουν ακόμη και το θάνατο του ζώου, β) οι χρόνιες, μετά από μακροχρόνια λήψη μικρής ποσότητας μυκοτοξινών που, συνήθως, έχουν αρνητικές επιπτώσεις στην ανάπτυξη των ζώων και στο δείκτη μετατρεψιμότητας της τροφής και γ) οι ασυμπτωματικές, ύστερα από τη λήψη ακόμη και ελάχιστης ποσότητας μυκοτοξινών που εκδηλώνονται, κυρίως, με ανοσοκαταστολή. Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίνεται στις ασυμπτωματικές μυκοτοξικώσεις, εξαιτίας της καθυστέρησης στη διάγνυσή τους και των προβλημάτων που δημιουργούν.

Σήμερα, γνωρίζουμε ότι στις κυριότερες μυκοτοξίνες περιλαμβάνονται οι αφλατοξίνες (aflatoxins), η ζεαραλενόνη (zearalenone), οι τριχοθεσίνες (trichothecenes), η ωχρατοξίνη Α (ochratoxin A) και οι φουμονισίνες (fumonisins) (Πίνακας 1). Οι ερευνητικές προσπάθειες επικεντρώνονται στη

διερεύνηση του μηχανισμού δράσης τους, στον τρόπο μεταβολισμού τους, στις δυσμενείς επιπτώσεις συγκεκριμένων κατηγοριών μυκοτοξινών στην υγεία των ζώων και του ανθρώπου.

Πίνακας 1: Είδη μυκήτων, μυκοτοξίνες που παράγουν και κυριότεροι μεταβολίτες των μυκοτοξινών στον οργανισμό

Μύκητες	Μυκοτοξίνες	Κυριότεροι μεταβολίτες
<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus parasiticus</i>	Αφλατοξίνες (B1, B2, G1, G2)	M1 (μεταβολίτης της B1)
<i>Penicillium verrucosum</i> <i>Aspergillus ochraceus</i>	Ωχρατοξίνη A	
<i>Fusarium graminearum</i> <i>Fusarium culmorum</i> <i>Fusarium graminearum</i> <i>Fusarium culmorum</i> <i>Fusarium sporotrichioides</i>	Δεοξυνιβαλενόλη T2 τοξίνη	 HT2 τοξίνη
<i>Fusarium graminearum</i> <i>Fusarium culmorum</i>	Ζεαραλενόνη	α-ζεαραλενόλη β-ζεαραλενόλη
<i>Fusarium moniliforme</i> <i>Fusarium proliferatum</i>	Φουμονισίνες: B1, B2, B3	

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1.1 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΥΚΟΤΟΞΙΝΩΝ

Η ύπαρξη μυκοτοξινών στις ζωοτροφές ή στα τρόφιμα που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση, προϋποθέτει την παρουσία μυκήτων. Για να αναπτυχθούν οι μύκητες, είναι απαραίτητη η παρουσία σπορίων τους στις πρώτες ύλες ή/και στα επεξεργασμένα τρόφιμα. Τα σπόρια μεταφέρονται εύκολα με το νερό και τον αέρα, και μπορεί να μολύνουν τα φυτά, κατά τη διάρκεια της καλλιέργειάς τους, αλλά και τις αποθηκευμένες τροφές. Εφόσον οι συνθήκες περιβάλλοντος είναι κατάλληλες, ακολουθεί η ανάπτυξη και ο πολλαπλασιασμός των μυκήτων. Συνεπώς, οι μύκητες μπορεί να παρίστανται τόσο κατά την καλλιέργεια και τη συγκομιδή των φυτών, όσο και κατά την επεξεργασία και την αποθήκευση των ζωοτροφών. Κάτω από συγκεκριμένες, πάλι, συνθήκες οι μύκητες είναι δυνατό να παράγουν τους επιβλαβείς μεταβολίτες τους (Εικόνα 1).

Επομένως, η παρουσία μυκήτων στις ζωοτροφές δεν σημαίνει απαραίτητα και την παρουσία μυκοτοξινών, καθώς επίσης και η απουσία μυκοτοξινών δεν προδιαγράφει την απουσία μυκήτων .

Συνήθως απαιτείται υψηλή υγρασία αλλά υπάρχουν διαφορές στις συνθήκες ανάπτυξης των μυκήτων, ακόμη και όταν ανήκουν στο ίδιο γένος. Για παράδειγμα, ο *Aspergillus glaucus* μπορεί να αναπτύσσεται σε υγρασία 10% χαμηλότερη από ότι ο *Aspergillus flavus*.

- Η θερμοκρασία.

Οι περισσότεροι μύκητες αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος. Υπάρχουν όμως και μύκητες που μπορούν να αναπτυχθούν σε πολύ υψηλές ή σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες.

- Το διαθέσιμο οξυγόνο.

Οι μύκητες δεν μπορούν να αναπτυχθούν χωρίς την παρουσία οξυγόνου σε αναλογία 1-2%, τουλάχιστον.

- Η ευαισθησία συγκεκριμένων υβριδίων φυτών.

Οι συνθήκες που θα απέτρεπαν, θεωρητικά, την ανάπτυξη των μυκήτων στα φυτά ή στις ζωοτροφές είναι οι ακόλουθες:

- Θερμοκρασία χαμηλότερη από -2,2 °C.
- Υγρασία χαμηλότερη από 14%.
- Σχετική ατμοσφαιρική υγρασία χαμηλότερη από 70%.
- Οξυγόνο σε αναλογία μικρότερη από 0,5% .

Είναι προφανές ότι, οι παραπάνω συνθήκες δεν μπορούν να εξασφαλιστούν σε καθημερινές συνθήκες διαχείρισης των ζωοτροφών.

Στον παρακάτω πίνακα ακολουθούν οι παράγοντες που επιδρούν στην παραγωγή μυκοτοξινών από τους μύκητες (πίνακας 2).

Πίνακας 2. Παράγοντες που επιδρούν στην παραγωγή μυκοτοξινών από τους μύκητες είναι:

1. θερμοκρασία (7,5 - 40oC)
2. υγρασία (>80% σχετική υγρασία)
3. φως (μεγαλύτερη παραγωγή σε απουσία φωτός)
4. pH (ιδανικό 4 - 4,6)
5. υπόστρωμα (ευνοϊκό υπόστρωμα είναι τα προϊόντα 'φυτικής προέλευσης')
6. παρουσία μυκοστατικών (NaCl, σορβικό οξύ, καφεΐνη, θεοφυλλίνη, κ.ά.)

1.3 ΟΙ ΚΥΡΙΟΤΕΡΕΣ ΜΥΚΟΤΟΞΙΝΕΣ

Παρακάτω, περιγράφονται συνοπτικά ο τρόπος δράσης και η επικινδυνότητα των κυριότερων μυκοτοξινών.

1.3.1. ΩΧΡΑΤΟΞΙΝΗ Α

Η ωχρατοξίνη Α (ΟΤΑ) παράγεται κυρίως από δύο είδη μυκήτων, τον *Penicillium verrucosum* και τον *Aspergillus ochraceus*. Το ενδιαφέρον για την ωχρατοξίνη Α αυξήθηκε μετά το 1993, όταν ο Διεθνής Οργανισμός για την Έρευνα του Καρκίνου την ταξινόμησε ως πιθανή καρκινογόνο ουσία. Η ωχρατοξίνη Α παρουσιάζει νεφροτοξική και καρκινογόνο δράση. Διερευνάται, εάν είναι τυχαίο το γεγονός ότι η ωχρατοξίνη εντοπίζεται συχνά και σε υψηλές συγκεντρώσεις σε δείγματα αίματος ανθρώπων που ζουν σε περιοχές όπου υφίσταται η γνωστή Βαλκανική Ενδημική Νεφροπάθεια, η οποία συνδέεται με αυξημένο ποσοστό νεοπλασματικών όγκων στις ανώτερες ουροφόρες οδούς.

Η ωχρατοξίνη Α έχει ανιχνευθεί στο γάλα του μύος, του κονίκλου, καθώς και του ανθρώπου. Αντίθετα, πολύ μικρό ποσοστό ωχρατοξίνης Α απεκκρίνεται με το γάλα των μηρυκαστικών, γεγονός που οφείλεται στο μεταβολισμό της από τη μικροβιακή χλωρίδα της μεγάλης κοιλίας. Στα μηρυκαστικά, ο μεταβολισμός της ωχρατοξίνης Α τα καθιστά ανθεκτικά στη δράση της. Τα νεαρά μηρυκαστικά, στην περίοδο της γαλουχίας, επιδεικνύουν ευαισθησία στη δράση της ωχρατοξίνης Α, αντίστοιχη με εκείνη των υπολοίπων ζώων, επειδή λειτουργούν ως μονογαστρικά.

1.3.2. ΤΡΙΧΟΘΕΣΙΝΕΣ

Οι τριχοθεσίνες είναι μυκοτοξίνες που παράγονται από είδη του μύκητα *Fusarium*. Έχουν ταυτοποιηθεί περισσότερες από 150 τριχοθεσίνες. Στα τρόφιμα και στις ζωοτροφές εντοπίζονται κυρίως οι: δεοξυνιβαλενόλη (deoxynivalenol), νιβαλενόλη (nivalenol), Τ2 τοξίνη (T2 toxin), διακετοξυσκίρπενόλη (diacetoxyscirpenol) και λιγότερο συχνά οι:

φουζαρενόνη X (fusarenone X), HT2 τοξίνη (HT2 toxin) και νεοσολανιόλη (neosolaniol).

Η νιβαλενόλη συνήθως δρα συνεργικά με τη δεοξυνιβαλενόλη. Η δεοξυνιβαλενόλη (DON) αποτελεί την πιο συχνά αναφερόμενη τοξίνη του μύκητα *Fusarium*. Ονομάζεται, επίσης, και βομιτοξίνη (vomitoxin), αφού μία από τις κύριες επιπτώσεις της κατανάλωσής της είναι η πρόκληση εμετού (από την αγγλική λέξη vomiting = εμετός). Παράγεται κυρίως από τους μύκητες *Fusarium graminearum* και *Fusarium culmorum*. Στους χοίρους, συγκεντρώσεις 1-3 ppm, εντός της τροφής, προκαλούν ανορεξία και μείωση της μετατρεψιμότητας της τροφής, ενώ συγκεντρώσεις της τάξεως των 10 ppm προκαλούν εμετό και ολική άρνηση λήψης τροφής. Οι χοίροι είναι περισσότερο ευαίσθητοι στη δράση της DON, σε σύγκριση με τα πτηνά, τα βοοειδή και τα πρόβατα.

Στις αγελάδες γαλακτοπαραγωγής, η χορήγηση DON είχε ως αποτέλεσμα την ανίχνευσή της στο γάλα και τη μείωση της γαλακτοπαραγωγής.

Η T2 τοξίνη παράγεται από τα ίδια είδη μυκήτων που παράγουν τη DON και επιπλέον, από το είδος *Fusarium sporotrichioides*. Μεταβολίτης της T2 είναι η HT2 τοξίνη. Τα τοξικά αποτελέσματα της T2 και της HT2 τοξίνης είναι δύσκολο να διαφοροποιηθούν, κι έτσι η τοξικότητα που αποδίδεται στην T2 *in vivo*, θα μπορούσε να οφείλεται, κατά ένα μέρος τουλάχιστον, στην HT2 τοξίνη.

Η T2 τοξίνη είναι αναστολέας της βιοσύνθεσης των πρωτεϊνών τόσο *in vivo* όσο και *in vitro*. Γι' αυτό και τα κυριότερα συμπτώματά της προέρχονται από τη δράση που ασκεί στο ανοσοποιητικό σύστημα (μεταβολές στον αριθμό των λευκοκυττάρων, μειωμένη παραγωγή αντισωμάτων, κ.ά.). Σε αγελάδες γαλακτοπαραγωγής, η μυκοτοξίνη αυτή έχει συσχετιστεί με εντερίτιδες, αιμορραγίες του γαστρεντερικού σωλήνα, έλκη της μεγάλης κοιλίας, φλεγμονή του ηνύστρου και θάνατο. Στους χοίρους, πειραματική τοξίκωση με T2 προκάλεσε αγωνιμότητα, αποβολές, μείωση του μεγέθους των τοκετοομάδων και γεννήσεις ελλιποβαρών νεογεννήτων.

1.3.3. ΖΕΑΡΑΛΕΝΟΝΗ

Η ζεαραλενόνη (ZEN) ονομάζεται και F2 τοξίνη. Παράγεται από τα ίδια είδη του γένους *Fusarium* που παράγουν και τη DON, αλλά δεν ανήκει στις τριχοθεσίνες. Οι δύο μυκοτοξίνες συχνά συνυπάρχουν στις προσβλημένες από *Fusarium* ζωτροφές. Η ZEN έχει οιστρογονική δράση και επηρεάζει άμεσα την αναπαραγωγική δραστηριότητα. Η ZEN, μετά τη λήψη της, μετατρέπεται γρήγορα από τη μικροβιακή χλωρίδα της μεγάλης κοιλίας των βοοειδών, σε α-ζεαραλενόλη (α-ZEN) και β-ζεαραλενόλη (β-ZEN). Οι μεταβολίτες αυτοί έχουν, επίσης, οιστρογονική δράση. Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε άνηβους μύες, διαπιστώθηκε ότι η α-ZEN καταλαμβάνει τους υποδοχείς οιστρογόνων της μήτρας σε ποσοστό 10%, σε σύγκριση με την οιστραδιόλη, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό για τη ZEN είναι 1,8%.

Γενικά, η εν λόγω μυκοτοξίνη σπάνια προκαλεί οξεία τοξίκωση, αλλά δημιουργεί συχνά προβλήματα δυσλειτουργίας του γεννητικού συστήματος, κυρίως στους χοίρους και στα πρόβατα. Τα άνηβα θηλυκά χοιρίδια είναι τα πλέον ευαίσθητα, και παρουσιάζουν διόγκωση των μαστών, εξοίδηση του αιδοίου και αύξηση του μεγέθους και του βάρους της μήτρας, εξαιτίας συνδυασμού υπερτροφίας και υπερπλασίας του ενδομητρίου και του μυομητρίου. Η εμφάνιση του πρώτου οίστρου τους καθυστερεί, αλλά η διάρκειά του δεν επηρεάζεται. Σε ό,τι αφορά στον αγριόχοιρο αναφέρεται ότι τόσο η ZEN όσο και η α-ZEN έχουν άμεση τοξική επίδραση στα σπερματοζωάρια, μειώνοντας τη ζωτικότητα και την κινητικότητά τους, καθώς και το ποσοστό των σπερματοζωαρίων που προσκολλώνται στη διαφανή ζώνη του ωαρίου.

1.3.4. ΦΟΥΜΟΝΙΣΙΝΕΣ

Πρόκειται για σειρά μυκοτοξινών που παράγονται από τα είδη *Fusarium moniliforme* και *Fusarium proliferatum* με σημαντικότερες, μέχρι στιγμής, τις φουμονισίνες B1, B2, και B3. Η πρώτη από αυτές απαντάται στο 70% των τροφών που είναι προσβλημένες με φουμονισίνες. Η κατανάλωση

φουμονισίνης προκαλεί: α) πνευμονικό οίδημα στους χοίρους, β) ηπατοτοξικότητα στους αρουραίους και γ) εγκεφαλομαλάκυνση στους ίππους. Τα ιπποειδή αποτελούν το πλέον ευαίσθητο είδος και η τροφή τους δεν πρέπει να περιέχει φουμονισίνες σε συγκεντρώσεις >5 ppm. Σε αγελάδες η χορήγηση τροφής με φουμονισίνες, επί 7 ημέρες πριν και επί 70 ημέρες μετά από τον τοκετό, προκάλεσε σημαντική μείωση της παραγόμενης ποσότητας γάλακτος (κατά 7 kg/αγελάδα/ημέρα). Στον άνθρωπο είναι δύσκολο να προσδιοριστούν οι επιπτώσεις των φουμονισινών, αλλά θεωρήθηκε πιθανή η σχέση τους με την εκδήλωση καρκίνου του οισοφάγου, που παρατηρήθηκε στη Νότια Αφρική, καθώς και καρκίνου του ήπατος που παρατηρήθηκε σε συγκεκριμένες περιοχές της Κίνας. Έτσι, οι φουμονισίνες κατατάσσονται, από το Διεθνή Οργανισμό για την Έρευνα του Καρκίνου, στις καρκινογόνες ουσίες για τον άνθρωπο.

1.4 ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΜΥΚΟΤΟΞΙΚΩΣΗΣ

Η έκθεση του ανθρώπου και των ζώων σε μύκητες, μπορεί να οδηγήσει σε μία παθολογική κατάσταση, την μυκοτοξίκωση, η οποία προκαλεί ποικίλα συμπτώματα όπως:

- Αναπνευστική δυσκολία, βήχας, φτάρνισμα, ρινίτιδα, ασθματικές καταστάσεις
- Διαταραχές στις τιμές χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων
- Δυσκολία στην κατάποση, αίσθημα πνιγμού, βλεννώδη πτύελα
- Πονοκέφαλοι, απώλεια μνήμης, υψηλή πίεση, ρινορραγίες
- Κάψιμο στο λάρυγγα και στους πνεύμονες, έντονη εφίδρωση κατά τον ύπνο
- Ναυτία, διάρροια, οξείς κοιλιακοί πόνοι, καρδιακή αρρυθμία
- Πόνοι στην κύστη, στο ήπαρ, στο σπλήνα και χρόνια κόπωση
- Επώδυνη ούρηση, σκοτεινόχρωμα ούρα

- Προβλήματα όρασης
- Βοή στα αυτιά, βαρηκοΐα, προβλήματα ισορροπίας
- Δυσάρεστη γεύση στο στόμα
- Πνευμονίες, πνευμονικά οιδήματα
- Πρησμένοι λεμφαδένες και απότομες μεταβολές σωματικού βάρους
- Προβλήματα θυρεοειδούς
- Απώλεια τριχοφυΐας, εύθραυστα νύχια
- Αναφυλαξία, αλλεργίες κάθε είδους
- Αστάθεια στην βάδιση, μυϊκή δυσκαμψία
- Προβλήματα στο αναπαραγωγικό σύστημα ,αποβολές
- Δυσκολία στην ομιλία ,άνοια
- Άγχος, κατάθλιψη, ταχυκαρδία,σύγχυση
- Θάνατος σε ακραίες περιπτώσεις

1.5 ΤΙ ΠΡΕΠΕΙ ΝΑ ΓΝΩΡΙΖΕΙ Ο ΚΑΤΑΝΑΛΩΤΗΣ

Κατ' αρχάς ο καταναλωτής θα πρέπει να γνωρίζει ότι γίνεται συστηματικός εργαστηριακός έλεγχος για την παρουσία μυκοτοξινών στα τρόφιμα. Πολλές επίσης βιομηχανίες εφαρμόζουν σύστημα HACCP, δηλαδή “ανάλυση επικινδυνότητας στα κρίσιμα σημεία ελέγχου” κατά την παραγωγική διαδικασία και κατά την αποθήκευση και διάθεση των προϊόντων.

Πολύ σημαντικό όμως είναι τι πρέπει να κάνει ο ίδιος ο καταναλωτής:

- ❖ Να προσέχει να μην καταναλώνει προϊόντα με αλλοιωμένα ή αλλαγμένα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.

- ❖ Τα μouxλιασμένα τρόφιμα είναι πιθανόν να περιέχουν υψηλά επίπεδα μυκοτοξινών και δεν αρκεί να απομακρυνθεί το μouxλιασμένο μέρος, γιατί το προϊόν εξακολουθεί να είναι επικίνδυνο.
- ❖ Να μην αποθηκεύει προϊόντα για μεγάλο χρονικό διάστημα, π.χ ξηρούς καρπούς, ξηρά φρούτα κ.λπ.
- ❖ Να είναι επιφυλακτικός στα χωρίς επισήμανση “ χύμα προϊόντα” καθώς και στα φερόμενα ως “είδη υγιεινής διατροφής”, στα οποία, λόγω απουσίας συντηρητικών, είναι δυνατόν να έχουν αναπτυχθεί μύκητες που βιοσυνθέτουν μυκοτοξίνες.
- ❖ Το καλαμπόκι και οι ξηροί καρποί θεωρούνται τρόφιμα υψηλού κινδύνου για την πιθανή παρουσία της ΑΦΒ1 και τα σιτηρά και το κόκκινο κρασί για την ΟΤΑ.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

2.1 ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΕΣ

Οι αφλατοξίνες είναι καρκινογόνες ουσίες οι οποίες παράγονται κυρίως από δύο είδη μυκήτων, τον *Aspergillus parasiticus* και τον *Aspergillus flavus*, στους οποίους οφείλουν και το όνομά τους [από το αρχικό *a* της λέξης *aspergillus* και από τα τρία πρώτα γράμματα της λέξης *flavus* (*a+fla+toxin*)]. Ο *A. flavus* αναπτύσσεται σε τμήματα των φυτών, όπως τα φύλλα και τα άνθη και ανευρίσκεται κυρίως στον αραβόσιτο και στο βαμβακόσπορο. Ο *A. Parasiticus* προσβάλλει κυρίως τους ξηρούς καρπούς (αραχίς, κ.ά.), λόγω της λιπόφιλης φύσης του.

Είναι, πιθανώς, οι πιο ευρέως γνωστές και οι πιο εντατικά ερευνημένες μυκοτοξίνες στον κόσμο. Οι αφλατοξίνες έχουν συνδεθεί με διάφορες ασθένειες όπως η αφλατοξίκωση, στα εκτρεφόμενα ζώα, τα κατοικίδια ζώα και τους ανθρώπους σε όλο τον κόσμο. Η εμφάνιση των αφλατοξινών επηρεάζεται από ορισμένους περιβαλλοντικούς παράγοντες και, ως εκ τούτου, η έκταση της μόλυνσης ποικίλει με τη γεωγραφική θέση, τις γεωργικές και αγρονομικές εφαρμογές, και την ευαισθησία των προϊόντων στη μυκητιακή εισβολή στις περιόδους πριν τη συγκομιδή, της αποθήκευσης, ή και των περιόδων επεξεργασίας. Οι αφλατοξίνες έχουν λάβει τη μεγαλύτερη προσοχή από οποιοσδήποτε άλλες μυκοτοξίνες λόγω της καταδειγμένης ισχυρής καρκινογόνου επίδρασής τους σε ευαίσθητα πειραματόζωα και των οξέων τοξικολογικών αποτελεσμάτων τους στους ανθρώπους.

Αρχικά, απομονώθηκαν 4 αφλατοξίνες, με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας. Οι δύο εμφάνιζαν μπλε φθορισμό και ονομάστηκαν B1 και B2 (blue), ενώ οι άλλες δύο πράσινο και ονομάστηκαν G1 και G2 (green).

Οι μύκητες που παράγουν αφλατοξίνες αναπτύσσονται στην παρουσία οξυγόνου και ο πολλαπλασιασμός τους διευκολύνεται σε κατάλληλη θερμοκρασία και υγρασία. Ο *A. Flavus* είναι μύκητας με πιο χαμηλή θερμοκρασία ανάπτυξης 6-8°C, καταλληλότερη 36-38°C και πιο ψηλή 44-46°C. Η πιο κατάλληλη όμως θερμοκρασία παραγωγής αφλατοξινών B1 και G1 είναι 28°C. Η σχετική υγρασία είναι βασικός παράγοντας στην παραγωγή

αφλατοξινών. Η ασφαλής υγρασία περιβάλλοντος (σχετική υγρασία) για αποθήκευση σπόρων, φιστικιών και άλλων προϊόντων είναι 70%. Σε σχετική υγρασία κάτω των 70% πολύ λίγοι μύκητες μπορούν να αναπτυχθούν. Ο *A. Flavus* χρειάζεται ελάχιστη σχετική υγρασία (περιβάλλοντος) 80 - 90%. Η υγρασία του προϊόντος (περιεχόμενη υγρασία) είναι επίσης βασικός παράγοντας που συμβάλλει στην ανάπτυξη αφλατοξινών. Σε φιστίκια με υγρασία (20-31%) και σχετική υγρασία 70% ανιχνεύεται αφλατοξίνη σε 4 μέρες μετά την εκρίζωση. Όταν η υγρασία του προϊόντος είναι ψηλή και υπάρχει κακός αερισμός κατά την αποθήκευση παράγονται ευκολότερα αφλατοξίνες.

Μία άλλη αφλατοξίνη, με ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τη δημόσια υγεία, είναι η αφλατοξίνη M1, που προκύπτει από το μεταβολισμό της αφλατοξίνης B1 και ανευρίσκεται κυρίως στο γάλα. Άλλες αφλατοξίνες που εντοπίστηκαν, αλλά ακόμη δεν έχουν μελετηθεί επαρκώς οι επιπτώσεις από την παρουσία ή την κατανάλωσή τους, είναι οι M2, B2α, Q1, αφλατοξικόλη (aflatoxicol), H, D, G και παρασιτικόλη (parasiticol). Είναι γενικά αποδεκτό, ότι η αφλατοξίνη B1 συναντάται περισσότερο συχνά και είναι η πιο δραστική σε σύγκριση με τις υπόλοιπες. Οι αφλατοξίνες B1 και B2 ανευρίσκονται στις ζωοτροφές σε αναλογία 1,0:0,1, περίπου.



Εικόνα 2 Επιδράσεις ΑΦΒ1 στο ήπαρ ποντικών

http://www.chem.uoa.gr/chemicals/images/aflatoxins/afla_livers.gif

Από τους υπεύθυνους για την παραγωγή των αφλατοξινών μύκητες, ο *A. parasiticus* παράγει τις αφλατοξίνες B1, B2, G1 και G2, ενώ ο *A. flavus* παράγει συνήθως τις B1 και B2. Σε μελέτες που έγιναν για την παρουσία αφλατοξινών σε καρπούς (αραχίς, αραβόσιτος), βρέθηκε ότι περισσότερο από το 90% των προσβλημένων δειγμάτων αραβόσιτου περιείχε B1 και B2, ενώ η πλειοψηφία των προσβλημένων αραχίδων περιείχε και τις 4 αφλατοξίνες.

Αντικείμενο διερεύνησης αποτέλεσε και ο χρόνος παραγωγής των αφλατοξινών. Παλαιότερα, πιστευόταν ότι παράγονται μετά από τη συγκομιδή των καρπών, κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής τους. Αποδείχθηκε, όμως, ότι οι αφλατοξίνες μπορεί να παραχθούν και στους αγρούς κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας των φυτών.

Όμως, οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις αφλατοξινών ανευρίσκονται, στις μη σωστά συντηρημένες ζωοτροφές, δηλαδή μετά τη συγκομιδή τους.

Η παρουσία των αφλατοξινών στις ζωοτροφές δεν είναι σπάνια και συχνά, ανευρίσκονται σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις. Έχουν αναφερθεί περιστατικά, όπου η προσβολή των ζώων από αφλατοξίνες έχει λάβει μορφή «επιδημίας».

Η κατανάλωση των αφλατοξινών από τον άνθρωπο ή τα ζώα, μέσω της τροφής, οδηγεί σε διαταραχή της φυσιολογικής λειτουργίας του οργανισμού. Οι παθολογικές καταστάσεις που προκύπτουν ονομάζονται αφλατοξικώσεις (aflatoxicoses). Οι αφλατοξίνες μπορεί να αποβούν θανατηφόρες όταν καταναλωθούν σε μεγάλες ποσότητες.

Μικρότερες ποσότητες, μπορεί να οδηγήσουν σε χρόνια τοξίκωση ή ακόμη και στη δημιουργία νεοπλασιών, κυρίως στο ήπαρ, σε πολλά είδη ζώων. Η τοξικότητα και η ικανότητα των αφλατοξινών για καρκινογένεση εξαρτάται από το είδος, την ηλικία και τη γενική κατάσταση του ζώου, την ποσότητα των προσλαμβανόμενων τοξινών με την τροφή, καθώς και τη διάρκεια έκθεσης του ζώου σε αυτές.

Καθημερινή ή περιστασιακή κατανάλωση τροφής, που περιέχει αφλατοξίνες, μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της πρόσληψης και του μεταβολισμού της, μείωση της ανάπτυξης και της παραγωγής, μείωση της ανοσίας έναντι παρασίτων και μικροβίων, καθώς και σε εκδήλωση συμπτωμάτων, όπως αιμορραγίες στους μυς ή στις σωματικές κοιλότητες.

Οι αφλατοξίνες, μετά από την κατανάλωσή τους, ανιχνεύονται στο αίμα, γεγονός που ενισχύει την άποψη ότι μπορεί να ανευρεθούν σε όλους σχεδόν τους ιστούς του οργανισμού. Κύριο όργανο μεταβολισμού τους αποτελεί το ήπαρ, με αποτέλεσμα οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις της αφλατοξίνης B1 να ανιχνεύονται κυρίως σε αυτό. Οι αφλατοξίνες δεν φαίνεται να υπόκεινται στη μεταβολική επίδραση της μικροβιακής χλωρίδας της μεγάλης κοιλίας των μηρυκαστικών. Σε *in vitro* πειραματισμό, η αφλατοξίνη B1 και άλλες 5 μυκοτοξίνες (ζεαραλενόνη, ωχρατοξίνη Α, δεοξυνιβαλενόλη, T2 τοξίνη και διακετοξυσκιρπενόλη) αναμίχθηκαν με υγρό περιεχόμενο, πρωτόζωα και βακτήρια από τη μεγάλη κοιλία βοοειδών ή προβάτων. Η αφλατοξίνη B1 και η δεοξυνιβαλενόλη παρέμειναν αναλλοίωτες, ενώ αντίθετα, οι υπόλοιπες 4 μυκοτοξίνες μετατράπηκαν είτε σε τοξικούς είτε σε μη τοξικούς μεταβολίτες.

Οι αφλατοξίνες B1 και M1 απεκκρίνονται με το ούρο και τα κόπρανα για αρκετές ημέρες, μετά από τη διακοπή της πρόσληψής τους με την τροφή. Η ανίχνευσή τους σε αυτά χρησιμοποιείται για την εντόπιση των ζώων που έχουν καταναλώσει τροφές προσβλημένες από αφλατοξίνες.

Σε ό,τι αφορά στην τοξικότητά τους, η αφλατοξίνη M1 έχει άμεση τοξική δράση, χωρίς να απαιτείται ο μεταβολισμός της σε άλλες τοξικές ουσίες, σε αντίθεση με τη B1. Γνωστοί τοξικοί μεταβολίτες της B1 είναι η αφλατοξίνη Q1 και η αφλατοξικόλη. Φαίνεται ότι οι μεταβολίτες αυτοί απεκκρίνονται με το γάλα, αλλά σε πολύ μικρότερες συγκεντρώσεις, σε σύγκριση με την αφλατοξίνη M1. Η αφλατοξικόλη, πέρα από την τοξική δράση της, βρέθηκε ότι δεσμεύει σε πολύ μικρό ποσοστό τους υποδοχείς οιστρογόνων στη μήτρα.

Οι αφλατοξίνες είναι δυνατό να δεσμεύονται και να μεταβολίζονται από συγκεκριμένους μικροοργανισμούς, γεγονός που μπορεί να αποβεί ευεργετικό σε αρκετές περιπτώσεις.

2.2. ΙΣΤΟΡΙΚΑ – ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Το 1960, στη Μεγάλη Βρετανία πάνω από 100.000 γαλοπούλες (ασθένεια Χ) πέθαναν λόγω τοξίνωσης, η οποία προκλήθηκε από τοξικούς μεταβολίτες μυκήτων. Η αιτία της ασθένειας αποδόθηκε σε ένα συστατικό της

διατροφής τους, τις αραχίδες, σε ποσοστό από 0,5-16%, οι οποίες είχαν μολυνθεί από τον μύκητα *Aspergillus flavus*, ο οποίος συχνά αναπτύσσεται σε αυτό τον καρπό κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής του. Η ανάλυση αυτής της ζωοτροφής αποκάλυψε μία σειρά φθοριζόντων ουσιών, οι οποίες αναγνωρίστηκαν ως μυκοτοξίνες και στη συνέχεια μετονομάστηκαν αφλατοξίνες (Afs). Εξάρσεις μυκοτοξίκωσης προκλήθηκαν τον επόμενο χρόνο (1961) σε βοοειδή και χοίρους, οι οποίοι είχαν ήδη διατραφεί με μολυσμένο γεύμα αραχίδας.

Περίπου την ίδια περίοδο στις Η.Π.Α., παρατηρήθηκε μία έξαρση καρκίνου του ήπατος (hepatoma) στις πέρστροφες, το οποίο αργότερα αποδόθηκε στην μόλυνση από αφλατοξίνες ενός μίγματος βαμβακόσπορου, συστατικού της διατροφής αυτών των ψαριών.

Στην Ινδία, το 1974, καταγράφηκε η πιο σοβαρή έξαρση ηπατίτιδας στους ανθρώπους λόγω αφλατοξίκωσης (οξεία τοξικότητα από αφλατοξίνες). Στην εν λόγω περίπτωση, η αφλατοξίκωση προήλθε από κατανάλωση μολυσμένου καλαμποκιού από αφλατοξίνες στα επίπεδα από 0,25 έως 15 mg/kg και οι 108 από τους 397 ασθενείς πέθαναν. Πιο πρόσφατα, στην Κένυα το 2005, το πρόβλημα της αφλατοξίνης επανεμφανίστηκε οδηγώντας τουλάχιστο 125 ανθρώπους στο θάνατο από κατανάλωση καλαμποκιού μολυσμένου με αφλατοξίνη.

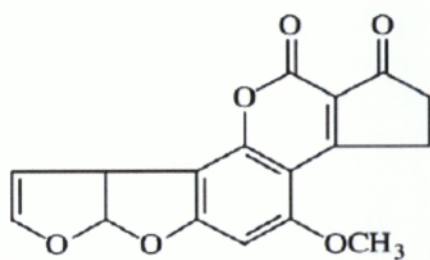
2.3. ΧΗΜΙΚΕΣ - ΦΥΣΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΩΝ

2.3.1. ΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Οι αφλατοξίνες είναι μία ομάδα υψηλά οξυγονωμένων ετεροκυκλικών ενώσεων, χαμηλού μοριακού βάρους, οι οποίες παράγονται ως προϊόντα δευτερογενούς μεταβολισμού ορισμένων μυκήτων του *Aspergillus flavus* και *Aspergillus parasiticus*, οι οποίοι αναπτύσσονται σε διάφορα τρόφιμα (ξηροί καρποί, μπαχαρικά, δημητριακά κ.α.) μεταξύ αυτών και τα κελυφωτά φιστίκια. Από χημική άποψη είναι παράγωγα δι-φουρανο-κουμαρίνης, χαρακτηρίζονται από δι-υδροφουρανικά ή τετρα-υδροφουρανικά τμήματα συγχωνευμένα σε ένα υποκατεστημένο τμήμα κουμαρίνης. Μέχρι στιγμής έχουν ανακαλυφτεί

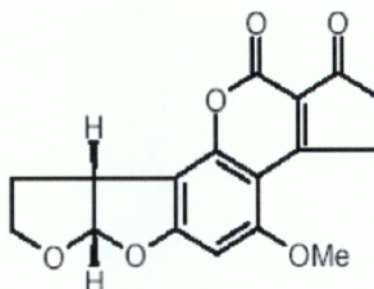
τουλάχιστο 16, ή αλλού αναφέρεται 18, ενώσεις αφλατοξινών οι οποίες σχετίζονται δομικά. Οι ενώσεις που απομονώνονται συχνότερα είναι οι B_1 , B_2 , G_1 και G_2 , οι υδροξυλιωμένοι μεταβολίτες τους M_1 και M_2 στο γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα (τυρί, γιαούρτη) και οι P_1 και Q_1 μεταβολίτες στο ήπαρ και τα ούρα πολλών θηλαστικών περιλαμβανομένων και των ανθρώπων. Μεταξύ αυτών, οι G αφλατοξίνες διαφέρουν χημικά από τις B αφλατοξίνες λόγω της παρουσίας ενός 3-γαλακτονικού δακτυλίου αντί ενός κυκλοπεντενονικού δακτυλίου (cyclopentenone). Επίσης, στις αφλατοξίνες B_1 και G_1 υπάρχει ένας 8,9 διπλός δεσμός στον τερματικό φουρανικό δακτύλιο, ο οποίος δεν υπάρχει στις B_2 και G_2 . Όμως, η μικρή αυτή διαφορά στη χημική τους δομή σχετίζεται με μία πολύ σημαντική αλλαγή στη δράση τους: οι αφλατοξίνες B_1 και G_1 είναι καρκινογόνες και θεωρούνται πολύ πιο τοξικές από τις B_2 και G_2 οι οποίες αποτελούν τα δι-υδροπαράγωγα τους.

Από καθαρά χημική άποψη, οι υψηλώς συζευγμένες και σταθερές ρίζες στη δομή των αφλατοξινών προσδίδουν τη χαρακτηριστική χημική τους ιδιότητα να φθορίζουν στο υπεριώδες (UV). Αυτές οι τοξίνες φθορίζουν είτε μπλε (blue), είτε πράσινο (green) χρώμα υπό την επίδραση υπεριώδους ακτινοβολίας και αυτό το χαρακτηριστικό διακρίνει τις B από τις G αφλατοξίνες. Επιπλέον, θα πρέπει να σημειωθεί ότι μικρές διαφοροποιήσεις στη δομή τους, οι οποίες διαχωρίζουν τα διάφορα είδη των αφλατοξινών έχουν δραστική επίδραση στις αναφερόμενες ιδιότητες φθορισμού: τα B_2 και G_2 παράγωγα φθορίζουν πολύ πιο ισχυρά απ'ότι τα ακόρεστα ομόλογά τους B_1 και G_1 . Οι αφλατοξίνες B_1 και B_2 εκπέμπουν φθορισμό στα 425 nm (μπλε) ενώ οι αφλατοξίνες G_1 και G_2 εκπέμπουν φθορισμό (πράσινο) στα 450 nm.



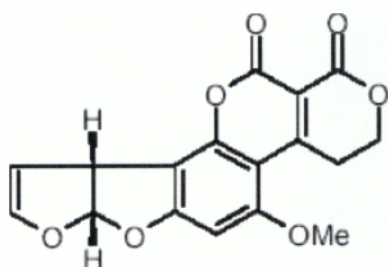
AFB₁

www.aspergillusflavus.org/aflatoxin/



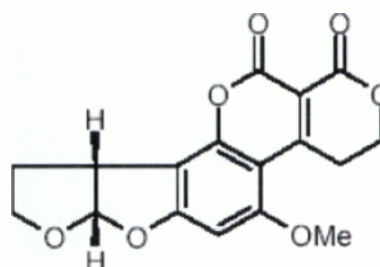
AFB₂

www.fermentek.co.il/struct/aflatoxin_b2.png



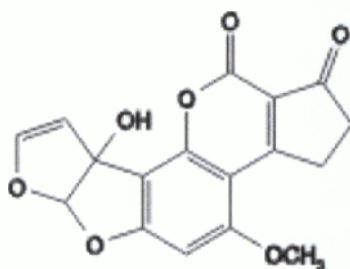
AFG₁

www.fermentek.co.il/struct/aflatoxinG1.png



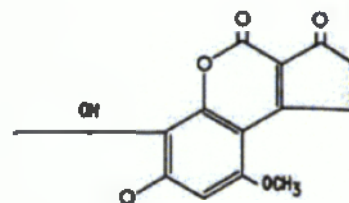
AFG₂

www.fermentek.co.il/struct/aflatoxin_G2.png



AFM₁

www.axxora.com/toxins-ALX-630-095/opfa.1.1.AL...



AFM₂

www.fermentek.co.il/aflatoxin_M2.htm

Εικόνα 3. Χημικοί τύποι αφλατοξινών B₁, B₂, G₁, G₂, M₁, M₂

2.3.2. ΦΥΣΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Οι αφλατοξίνες είναι κρυσταλλικές ουσίες, ελεύθερα διαλυτές σε ελαφρά πολικούς ή μέτρια πολικούς διαλύτες όπως το χλωροφόρμιο, η μεθανόλη και το διμέθυλοσουλφοξείδιο καθώς επίσης στην ακετόνη και το ακετονιτρίλιο, ενώ στο νερό διαλύονται μέχρι 10-20 mg/l. Αντίθετα είναι αδιάλυτες σε μη-πολικούς διαλύτες. Αυτή η χαρακτηριστική τους φυσική ιδιότητα παίζει σημαντικό ρόλο στη διαδικασία εκχύλισης του δείγματος για τον ποσοτικό προσδιορισμό της αφλατοξίνης.

Η πιο συχνά απαντώμενη αφλατοξίνη, η B1, έχει λευκό έως κίτρινο χρώμα, είναι κρυσταλλική και άοσμη. Στον παρακάτω πίνακα περιγράφονται οι φυσικές και χημικές ιδιότητες των αφλατοξινών.

Πίνακας 3: Σύνοψη βασικών φυσικών και χημικών χαρακτηριστικών

Αφλατοξίνη	Πηγές και Ιδιότητες
B1	Παράγεται από τον <i>Aspergillus flavus</i> και τον <i>Aspergillus parasiticus</i> . Κυανός φθορισμός (425 nm). Θεωρείται ως η ισχυρότερη καρκινογόνος ουσία για το ήπαρ.
B2	Παράγεται από τον <i>Aspergillus flavus</i> και τον <i>Aspergillus parasiticus</i> . Κυανός φθορισμός (425 nm).
G1	Παράγεται από τον <i>Aspergillus parasiticus</i> . Πράσινος φθορισμός (450 nm).
G2	Παράγεται από τον <i>Aspergillus parasiticus</i> . Πράσινος φθορισμός (450 nm).
M1	Μεταβολίτης της B1 στους ανθρώπους και τα ζώα. Βρίσκεται στο μητρικό γάλα σε ποσότητες ng.
M2	Μεταβολίτης της B2 στους ανθρώπους και τα ζώα. Βρίσκεται στο γάλα (και σε γαλακτοκομικά προϊόντα) βοοειδών που τρέφονται με τροφές μολυσμένες με B2.
B2a	Προϊόν προσθήκης ύδατος (καταλυόμενη από οξέα) στην B1. Κυανός φθορισμός (425 nm).
G2a	Προϊόν προσθήκης ύδατος (καταλυόμενη από οξέα) στην G1. Πράσινος φθορισμός (450 nm).

Οι αφλατοξίνες είναι εξαιρετικά σταθερές απουσία φωτός και κυρίως υπεριώδους ακτινοβολίας ακόμα και σε θερμοκρασίες πάνω από 100 °C. Ένα διάλυμα που προετοιμάζεται με χλωροφόρμιο ή βενζένιο είναι σταθερό για χρόνια, εφ' όσον διατηρηθεί στο σκοτάδι και σε χαμηλές θερμοκρασίες.

2.4. ΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΩΝ

Η συμπεριφορά των αφλατοξινών υπό την επίδραση διαφόρων φυσικών συνθηκών και χημικών αντιδραστηρίων έχει μελετηθεί εκτεταμένα εξ αιτίας της πιθανής εφαρμογής τέτοιων μεθόδων στην αποτοξίνωση προϊόντων, που έχουν μολυνθεί. Παρακάτω παρατίθεται συνοπτικά η συμπεριφορά των αφλατοξινών στην εφαρμογή θερμότητας, αλκάλιων, οξέων και οξειδωτικών αντιδραστηρίων.

ο Θερμότητα

Οι αφλατοξίνες σε ξηρή μορφή παρουσιάζουν υψηλή σταθερότητα στη θέρμανση έως το σημείο τήξεως. Ωστόσο, παρουσία υγρασίας και σε υψηλές θερμοκρασίες παρατηρείται καταστροφή τους ύστερα από κάποιο διάστημα. Τέτοιου είδους καταστροφή των αφλατοξινών μπορεί να συμβεί στους ελαιώδεις καρπούς, στα ψημένα φιστίκια ή σε υδατικά διαλύματα με $pH=7$. Παρόλο που τα προϊόντα της αντίδρασης δεν έχουν εξεταστεί λεπτομερώς φαίνεται, ενδεχόμενα, ότι αυτού του είδους η μεταχείριση έχει ως αποτέλεσμα το άνοιγμα του δακτυλίου της λακτόνης με πιθανή αποκαρβοξυλίωση σε υψηλές θερμοκρασίες.

ο Αλκάλαια

Σε αλκαλικά διαλύματα πραγματοποιείται υδρόλυση του τμήματος της λακτόνης. Η υδρόλυση εμφανίζεται ως αντιστρεπτή, αφού έχει αποδειχθεί ότι συντελείται επανακυκλοποίηση κατόπιν οξίνισης από ένα βασικό διάλυμα που περιέχει αφλατοξίνη. Σε υψηλότερες θερμοκρασίες ($100^{\circ}C$) το άνοιγμα του δακτυλίου ακολουθείται από αποκαρβοξυλίωση και η αντίδραση μπορεί να προχωρήσει περαιτέρω προκαλώντας απώλεια της μεθόξυ ομάδας από τον αρωματικό δακτύλιο. Παρόμοια σειρά αντιδράσεων θεωρείται ότι πραγματοποιείται με την αμμώνια και διάφορες αμίνες.

ο Οξέα

Παρουσία ανόργανων οξέων, οι AFB₁ και AFG₁ μετατρέπονται στις AFB_{2A} και AFG_{2A} εξ αιτίας της υπό οξέος καταλυόμενης προσθήκης νερού

στο διπλό δεσμό του φουρανικού δακτυλίου. Παρουσία οξικού ανυδρίτη και υδροχλωρικού οξέος η αντίδραση προχωρεί περαιτέρω δίνοντας αιθόξυ παράγωγα. Παρόμοιες ενώσεις προσθήκης των AFB1 και AFG1 σχηματίζονται με μυρμηκικό οξύ-θειονυλοχλωρίδιο, οξικό οξύ-θειονυλοχλωρίδιο και τρι-φθοροοξικό οξύ.

ο Οξειδωτικά αντιδραστήρια

Πολλά οξειδωτικά αντιδραστήρια, όπως το υποχλωριώδες νάτριο, το υπερμαγγανικό κάλιο, το χλώριο, το υπεροξειδίο του υδρογόνου, το όζον και το υπερβορικό νάτριο αντιδρούν με τις αφλατοξίνες μεταβάλλοντας κατά κάποιο τρόπο το μόριο τους όπως αποδεικνύεται από την απώλεια του φθορισμού. Ο μηχανισμός αυτών των αντιδράσεων δεν έχει πλήρως καθοριστεί και τα προϊόντα της αντίδρασης παραμένουν στις περισσότερες περιπτώσεις μη ταυτοποιημένα.

ο Αναγωγή

Η υδρογόνωση της AFB1 και AFG1 οδηγεί στην αφλατοξίνη B2 και G2, αντίστοιχα. Περαιτέρω αναγωγή της AFB2 από 3 μόρια H_2 οδηγεί στην τετρα-υδροξυ-αφλατοξίνη. Αναγωγή της AFB1 και AFB2 με βορικό υδρίδιο του νατρίου οδήγησε στην παραγωγή αφλατοξίνης RB1 και RB2 αντίστοιχα. Αυτές προκύπτουν από το άνοιγμα του λακτονικού δακτυλίου, το οποίο ακολουθείται από αναγωγή της οξικής ομάδας και αναγωγή της κετο-ομάδας στον κυκλοπεντενονικό δακτύλιο.

2.5. ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗ M1

Η πιο επικίνδυνη αφλατοξίνη για τη Δημόσια Υγεία είναι η ΑΦΒ1, που προκαλεί καρκίνο στο συκώτι του ανθρώπου. Η ΑΦΜ1, όμως, θεωρείται για τον άνθρωπο καρκινογόνος τάξης Β (πιθανώς καρκινογόνος), είναι ανθεκτική στη θερμότητα, δεν διασπάται από τη θερμοκρασία της παστερίωσης, ούτε κατά την παραγωγή γάλακτος UHT.

Η αφλατοξίνη M1 αποτελεί υδροξυλιωμένο μεταβολίτη της αφλατοξίνης B1. Φέρει την ονομασία «τοξίνη του γάλακτος», επειδή οι υψηλότερες

συγκεντρώσεις της παρατηρούνται στο γάλα (milk): εξ' ού και ο προσδιορισμός M.

2.5.1. ΑΠΕΚΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ M1

Η αφλατοξίνη M1 εμφανίζεται στο γάλα αμέσως μετά την κατανάλωση αφλατοξίνης B1 με την τροφή και φτάνει στη μέγιστη συγκέντρωσή της εντός 3 ημερών, ενώ παύει να ανιχνεύεται 4-5 ημέρες μετά τη διακοπή της πρόσληψης αφλατοξίνης B1. Σε αγελάδες που έλαβαν 13 mg αφλατοξίνης B1 την ημέρα, επί 7 ημέρες, η αφλατοξίνη M1 ανιχνεύθηκε στο γάλα μέχρι και τη 10η ημέρα, ενώ παράλληλα μειώθηκαν η παραγωγή γάλακτος και η πρόσληψη τροφής από τα ζώα.

Η αφλατοξίνη M1 έχει βρεθεί στο γάλα της αγελάδας, της προβατίνας, της αίγας, του θηλυκού βουβάλου, της καμήλας αλλά και της γυναίκας. Μάλιστα, στην τελευταία, έχει ανιχνευτεί σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις, κυρίως σε τροπικές και υποτροπικές περιοχές .

2.5.2. ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΗΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ M1 ΣΤΟ ΓΑΛΑ

Αναφορικά με την ανίχνευση της αφλατοξίνης M1 στο γάλα, οι περισσότερες μελέτες αφορούν στο παστεριωμένο γάλα και λιγότερο στο νωπό, επειδή το πρώτο συγκεντρώνει το εντονότερο ενδιαφέρον των καταναλωτών. Η M1 έχει βρεθεί σε υψηλές συγκεντρώσεις στο αγελαδινό γάλα, κυρίως σε περιοχές με τροπικό ή υποτροπικό κλίμα, όπως για παράδειγμα στη Βόρεια Αφρική. Στις περισσότερες από τις υπόλοιπες περιοχές του κόσμου, η αφλατοξίνη M1 εντοπίζεται σε επίπεδα χαμηλότερα από τα ανώτατα επιτρεπτά όρια, που ισχύουν σε κάθε χώρα. Για παράδειγμα, στην Ιαπωνία, σε 207 από 208 δείγματα παστεριωμένου γάλακτος, η αφλατοξίνη M1 ανιχνεύθηκε σε συγκεντρώσεις κατά πολύ μικρότερες από το ανώτατο επιτρεπτό όριο της χώρας.

Στην Ελλάδα, η αφλατοξίνη M1 ανιχνεύθηκε σε αρκετά δείγματα, αλλά σε συγκεντρώσεις αρκετά μικρότερες από το ανώτατο επιτρεπτό όριο. Ανάλογες παρατηρήσεις έγιναν στην Ιταλία, στο Κουβέιτ και στη Βραζιλία.

2.5.3. ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΗΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ M1 ΣΤΑ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

Οι αφλατοξίνες και οι μεταβολίτες τους επιδεικνύουν αρκετή σταθερότητα κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας του γάλακτος. Η M1 δεν επηρεάζεται από την υποβολή του γάλακτος σε ψύξη ή παστερίωση. Σύμφωνα με παρατηρήσεις, η συγκέντρωση της αφλατοξίνης M1 στο παστεριωμένο γάλα ήταν η ίδια με αυτήν του νωπού γάλακτος μετά από 17 ημέρες αποθήκευσης στους 39 °F (3,89 °C). Στην παστερίωση αποδεικνύεται ανθεκτικός και ο έτερος μεταβολίτης της B1, η αφλατοξικόλη.

Κατά την παραγωγή της γιαούρτης είναι δυνατό να μειωθεί η συγκέντρωση της αφλατοξίνης M1 σε σύγκριση με αυτή του γάλακτος, εξαιτίας της δράσης των οξυγαλακτικών βακτηρίων, ωστόσο δεν εξαλείφεται. Φαίνεται ότι η μείωση της M1 κατά την παραγωγή γιαούρτης εξαρτάται από το pH. Οι Govaris και συν. (2002) παρατήρησαν ότι η αφλατοξίνη M1 μειώθηκε περισσότερο κατά την παρασκευή γιαούρτης σε pH=4,0 από ότι σε pH=4,6. Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε στην Πορτογαλία, αρκετά γιαούρτια του εμπορίου βρέθηκε να περιέχουν αφλατοξίνη M1.

Σχετικά με την παραγωγή τυριού, στο τυρί τελεμές βρέθηκε ότι η συγκέντρωση της M1 ήταν υψηλότερη στην αρχή παρά στο τέλος της περιόδου παραγωγής του.

2.5.4. ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΤΗΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΗΣ M1 ΚΑΤΑ ΤΗ ΓΑΛΟΥΧΙΑ ΚΑΙ ΤΗ ΓΑΛΑΚΤΟΠΑΡΑΓΩΓΗ

Φυσικό επακόλουθο της παρουσίας της αφλατοξίνης M1 στο γάλα είναι και η λήψη της από τα ζώα που θηλάζουν. Ωστόσο δεν υπάρχουν πολλά δεδομένα για την επίδρασή της στα τελευταία. Νεογέννητοι μόσχοι, που κατανάλωσαν γάλα που περιείχε αφλατοξίνη M1 σε συγκέντρωση από 0,5-2 μg/l, δεν παρουσίασαν διαφορές ως προς την ανάπτυξη και την πρόσκτηση βάρους, σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Σε θηλάζοντες αρουραίους, των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει αφλατοξίνη B1, εντοπίστηκαν τρεις μεταβολίτες της αφλατοξίνης B1 σε διάφορους ιστούς.

Αφλατοξίνη M1 έχει βρεθεί και στο πρωτόγαλα, όπου διαπιστώθηκε ότι συνδέεται με τις ανοσοσφαιρίνες. Επιπλέον, στο πρωτόγαλα βρέθηκε και ένας άλλος μη τοξικός μεταβολίτης, η αφλατοξίνη B2α.

Σε ό,τι αφορά στην επίδραση των αφλατοξινών στην υγεία του μαστού δεν υπάρχουν αποδείξεις ότι η παρουσία τους σε αυτόν μπορεί να οδηγήσει σε φλεγμονή.

Όταν χορηγήθηκε αφλατοξίνη σε αγελάδες, με μαστούς μολυσμένους με στρεπτόκοκκο και σταφυλόκοκκο, παρατηρήθηκε μείωση της γαλακτοπαραγωγής και αύξηση του μικροβιακού φορτίου στο γάλα, αλλά δεν εκδηλώθηκαν κλινικές μαστίτιδες.

2.6 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΩΝ ΣΤΗ ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

Τα βασικά χημικά συστατικά του γάλακτος είναι το λίπος, οι πρωτεΐνες και η λακτόζη, τα οποία συντίθενται στα κύτταρα του μαστού. Οι πρωτεΐνες και η λακτόζη σχηματίζονται από αμινοξέα και γλυκόζη, αντίστοιχα, που φτάνουν στο μαστό με την κυκλοφορία του αίματος. Το λίπος συντίθεται από λιπαρά οξέα, ένα μέρος των οποίων προέρχεται από την κυκλοφορία του αίματος, ενώ το υπόλοιπο παράγεται στο μαστό. Επιπλέον, θα πρέπει να τονιστεί ότι το λίπος του γάλακτος συνίσταται τόσο από λιπαρά οξέα μικρής (4-15 άτομα άνθρακα) όσο και μακράς αλύσου (>16 άτομα άνθρακα). Φαίνεται ότι τα λιπαρά οξέα μακράς αλύσου που εντοπίζονται στο γάλα προέρχονται από τα τριγλυκερίδια του αίματος, ενώ αυτά της μικρής αλύσου συνθέτονται στο μαστό από το οξικό και το β-υδροξυβουτυρικό οξύ. Σύμφωνα με ερευνητές και ένα μέρος των λιπαρών οξέων του γάλακτος με 16 άτομα άνθρακα παράγονται από το β-υδροξυβουτυρικό οξύ. Επίσης, κάποια λιπαρά οξέα με 16 άτομα άνθρακα στο μόριό τους, αλλά κυρίως εκείνα με 18 άτομα άνθρακα, προέρχονται από τα τριγλυκερίδια του αίματος.

Το ερώτημα εάν και κατά πόσο οι αφλατοξίνες μπορεί να επιδράσουν στη σύνθεση των παραπάνω συστατικών, είτε άμεσα, στα σημεία παραγωγής τους, είτε έμμεσα, μεταβάλλοντας τη συγκέντρωση των πρόδρομων ουσιών στην κυκλοφορία του αίματος, παραμένει αδιευκρίνιστο. Στη διεθνή

βιβλιογραφία, οι μελέτες που επικεντρώνονται στο ζήτημα αυτό είναι ελάχιστες.

Έπειτα από σειρά ερευνών διαπιστώθηκε ότι η χορήγηση αφλατοξίνης B1 σε προβατίνες, επί 14 ημέρες δεν παρουσίασε διαφορές στις συγκεντρώσεις του λίπους, των πρωτεϊνών και της λακτόζης του γάλακτος μεταξύ των πειραματικών ομάδων. Επίσης δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στη χημική σύνθεση του γάλακτος αιγών αλλά μικρή αύξηση στη συγκέντρωση των ολικών πρωτεϊνών στον ορό του αίματός τους, οι οποίες λάμβαναν αφλατοξίνη B1, επί 8 ημέρες, χωρίς η αύξηση να είναι ενδεικτική της τοξίκωσης και αποδόθηκε στην αφυδάτωση των ζώων, λόγω μειωμένης λήψης νερού. Αντίθετα, παρατηρήθηκε ότι στο γάλα αγελάδων, που λάμβαναν αφλατοξίνη B1, υπήρξε μείωση της συγκέντρωσης των λιπαρών οξέων, που έφεραν στο μόριό τους από 8 έως 14 άτομα άνθρακα. Τέλος, η χορήγηση αφλατοξίνης σε ορνίθια, επί 3 εβδομάδες, μείωσε τη δράση της συνθετάσης των λιπαρών οξέων στο ήπαρ τους όπως επίσης και τη συγκέντρωση αρκετών βιταμινών της ομάδας B αλλά και αρκετών αμινοξέων, με αποτέλεσμα την αναστολή σχηματισμού πεπτιδίων.

Αναφορικά με τη λακτόζη, δεν είναι γνωστό εάν και κατά πόσο οι αφλατοξίνες μπορεί να επηρεάζουν τη σύνθεσή της ή και εκείνης της γλυκόζης. Έπειτα από χορήγηση αφλατοξίνης B1 σε αγελάδες σε δόση 13 mg ανά ημέρα, επί 7 ημέρες, παρατηρήθηκε ότι, κατά τη διάρκεια του πειραματισμού, η γλυκόζη του ορού του αίματος μειώθηκε κατά 9% σε ένα μόνο ζώο.

2.6.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΩΝ ΣΤΟΝ ΑΡΙΘΜΟ ΣΩΜΑΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΟΛΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

Αδιευκρίνιστο παραμένει το γεγονός εάν οι αφλατοξίνες συνδέονται με μεταβολές του αριθμού σωματικών κυττάρων ή της ολικής μικροβιακής χλωρίδας στο γάλα.

Γενικά, υπάρχουν διαφορετικές απόψεις σε ό,τι αφορά στο επίπεδο που πρέπει να κυμαίνεται ο αριθμός σωματικών κυττάρων στο γάλα των αιγών, ώστε το τελευταίο να θεωρείται κατάλληλο για επεξεργασία ή κατανάλωση. Στις Η.Π.Α., το γάλα θεωρείται κατάλληλο όταν ο αριθμός σωματικών κυττάρων που περιέχει δεν υπερβαίνει το 1.000.000/ml. Ανάλογο όριο δεν έχει θεσπιστεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση. Κατά συνέπεια, δεν είναι ακόμη σαφές για το πότε ο μαστός της αίγας θα πρέπει να θεωρείται μολυσμένος με βάση τον αριθμό σωματικών κυττάρων στο γάλα. Έτσι, σε ορισμένες περιπτώσεις το όριο τοποθετείται ακόμη και στο 1.500.000 σωματικά κύτταρα/ml γάλακτος, καθώς φαίνεται ότι ο αριθμός τους επηρεάζεται κατά πολύ από τον αριθμό των τοκετών και από το στάδιο της γαλακτικής περιόδου.

Σε άλλη μελέτη, διαπιστώθηκε ότι τόσο υγιή ημιμόρια των μαστών όσο και εκείνα που ήταν μολυσμένα με πηκτάση αρνητικούς σταφυλόκοκκους εμφάνιζαν παρόμοιο αριθμό σωματικών κυττάρων στο γάλα τους, ο οποίος κυμαινόταν από >500.000 έως και <2.000.000 κύτταρα/ml. Στην ίδια μελέτη, το μεγαλύτερο ποσοστό των μολυσμένων ημιμορίων με πηκτάση θετικούς σταφυλόκοκκους παρήγαγε γάλα με >2.000.000 σωματικά κύτταρα/ml.

2.7 ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΕΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ

Παρότι έχουν πραγματοποιηθεί πολυάριθμες μελέτες, οι μηχανισμοί με τους οποίους οι αφλατοξίνες επιδρούν στο γεννητικό σύστημα τόσο του θηλυκού όσο και του αρσενικού παραμένουν ασαφείς και αδιευκρίνιστοι σε πολλά σημεία τους (πίνακας 4).

2.7.1. ΟΙ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΕΣ ΣΤΟ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΟΥ ΘΗΛΥΚΟΥ

Στον τομέα της αναπαραγωγής του θηλυκού οι έρευνες σχετικά με την επίδραση των αφλατοξινών επικεντρώνονται σε πεδία, όπως η γενετήσια ωριμότητα, η γονιμότητα, η ανάπτυξη του εμβρύου, κ.ά.

2.7.2. ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΗΣΙΑ ΩΡΙΜΟΤΗΤΑ

Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε το 1997, προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση των αφλατοξινών στη λειτουργία του γεννητικού συστήματος, χορηγήθηκε αφλατοξίνη B1 σε θηλυκούς αρουραίους και διαπιστώθηκαν διαταραχές της φυσιολογικής λειτουργίας του.

Συγκεκριμένα, η ανάπτυξη των ωοθυλακίων αναστάλη, ενώ το μέγεθος και το βάρος των ωοθηκών μειώθηκαν. Σε ό,τι αφορά στο ορμονικό «προφίλ» των ζώων, διαπιστώθηκε μείωση της συγκέντρωσης της οιστραδιόλης-17β, με ταυτόχρονη αύξηση της συγκέντρωσης της προγεστερόνης στο αίμα. Στο γεγονός αυτό αποδόθηκε η αναστολή της ανάπτυξης και ωρίμανσης των ωοθυλακίων. Οι ίδιοι ερευνητές, σε ανάλογη έρευνα στο ίδιο είδος ζώου, αναφέρουν διαταραχές του ωοθηκικού κύκλου, μειωμένα ποσοστά σύλληψης και ελλιποβαρή νεογέννητα. Σε πειραματική *in vitro* μελέτη σε ωάρια και σπερματοζωάρια αρουραίων μολυσμένων με αφλατοξίνες, διαπιστώθηκαν εξαιρετικά μειωμένα ποσοστά γονιμοποίησης των ωαρίων και μείωση της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων. Επιπλέον, σε ορτύκια που λάμβαναν αφλατοξίνη, παρατήρησαν σημαντική καθυστέρηση στην εμφάνιση της ήβης. Επίσης, υπήρξε αναστολή στην αύξηση του μεγέθους των ωοθηκών και στην ανάπτυξη των ωοθυλακίων.

2.7.3. ΚΥΟΦΟΡΙΑ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΕΜΒΡΥΟΥ

Η προσβολή των εμβρύων θεωρείται πολύ πιθανή από τη στιγμή που κάποια αφλατοξίνη εισέλθει στην κυκλοφορία του αίματος έγκυου ζώου. Το 1983, ερευνητές χορήγησαν αφλατοξίνη B1 σε έγκυες μύες και προσδιόρισαν τις συγκεντρώσεις της σε διάφορα όργανα των εμβρύων. Διαπίστωσαν ότι οι οφθαλμοί και ο ρινικός βλεννογόνος ήταν οι ιστοί με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση αφλατοξίνης, ενώ η συγκέντρωσή της στο ήπαρ των εμβρύων ήταν μικρότερη από εκείνη του ήπατος των μητέρων τους. Ο μεταβολισμός της τοξίνης από το ήπαρ των εμβρύων διαπιστώθηκε και στη γυναίκα.

Στον κρικητό, η κατανάλωση αφλατοξινών, κατά τη διάρκεια της κυοφορίας, οδήγησε σε αξιοσημείωτη καθυστέρηση στην αύξηση του μεγέθους των εμβρύων.

Συγχρόνως, τα έμβρυα παρουσίαζαν τοξικολογικές αλλοιώσεις, όπως υποδόριο οίδημα και αιμορραγίες. Επίσης, έμβρυα μυών, που έλαβαν αφλατοξίνη, παρουσίασαν διάφορες μορφολογικές ανωμαλίες.

Σε ό,τι αφορά στη σχέση μεταξύ αφλατοξινών και αποβολής, δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα. Όταν σε μικρό αριθμό αγελάδων, παρατηρήθηκαν αποβολές στο τελευταίο τρίτο της κυοφορίας, ο μόνος ενοχοποιητικός παράγοντας που εντοπίστηκε ήταν η παρουσία της αφλατοξίνης B1 στην τροφή. Από τα αποτελέσματα εξετάσεων διαπιστώθηκε ηπατική δυσλειτουργία, γεγονός που ενίσχυσε την πιθανή εμπλοκή της αφλατοξίνης, αφού το ήπαρ αποτελεί το βασικό όργανο συγκεντρώσεως και μεταβολισμού της.

Τα πτηνά, δεν φαίνεται να μένουν ανεπηρέαστα από τη δράση των αφλατοξινών. Η χορήγηση αφλατοξινών στις όρνιθες, σε ποσότητα 5 ή 10 $\mu\text{g/g}$ τροφής, μειώνει την αυγοπαραγωγή και την εκκολαπτικότητα των αυγών.

Στην προσπάθεια να εξηγηθεί ο μηχανισμός δράσης των αφλατοξινών στο γεννητικό σύστημα των θηλυκών ζώων, συγκρίθηκε, *in vitro*, ο τρόπος δράσης των αφλατοξινών με αυτόν της ζεαραλενόνης, μυκοτοξίνης με οιστρογονική δράση.

Διαπιστώθηκε ότι ένας από τους μεταβολίτες της αφλατοξίνης B1, η αφλατοξικόλη, συναγωνίζεται με τη ζεαραλενόνη για την κατάληψη των υποδοχέων οιστρογόνων στη μήτρα. Η κατάληψη των υποδοχέων από την αφλατοξικόλη και ο συναγωνισμός της με ταοιστρογόνα ήταν κατά πολύ μικρότερος σε σύγκριση με τη ζεαραλενόνη. Παρόλα αυτά, δεν αποκλείεται το ενδεχόμενο έμμεσης δράσης της αφλατοξικόλης στον υποθάλαμο, με αποτέλεσμα την αναστολή της έκκρισης των γοναδοτρόπων ορμονών και την αναστολή της ωοθυλακιορρηξίας. Σε παλαιότερη έρευνα διαπιστώθηκε ότι η αφλατοξίνη M1 κατέλαβε τους υποδοχείς των οιστρογόνων στη μήτρα σε ποσοστό 0,5%.

Η προστατευτική δράση της οιστραδιόλης έναντι της κυτταροτοξικότητας της αφλατοξίνης B1 αποδεικνύει έμμεσα τη σχέση αφλατοξινών και οιστρογόνων.

Συγκεκριμένα, η χορήγηση οιστραδιόλης μειώνει σημαντικά την επίδραση της αφλατοξίνης στην αναστολή της σύνθεσης DNA, RNA και πρωτεϊνών. Σε άλλη μελέτη διαπιστώθηκε ότι τόσο η βενζοϊκή οιστραδιόλη όσο και η τεστοστερόνη διαδραματίζουν ανάλογο ρόλο.

2.7.4. ΟΙ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΕΣ ΣΤΟ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΟΥ ΑΡΣΕΝΙΚΟΥ

Η επίδραση των αφλατοξινών στο γεννητικό σύστημα του αρσενικού (Πίνακας 4) φαίνεται να αφορά στη μεταβολή του βάρους και του μεγέθους των όρχεων, καθώς και στη διαταραχή της σπερματογένεσης. Αναλυτικότερα, στους αρουραίους η χορήγηση αφλατοξίνης είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση του μεγέθους και του βάρους των όρχεων και τη σημαντική μείωση της συγκέντρωσης των οιστρογόνων στο αίμα. Επιπλέον, οι ίδιοι ερευνητές πιθανολογούν ότι η χορήγησή της, σε εξαιρετικά υψηλές συγκεντρώσεις, μπορεί να προκαλέσει διακοπή της σπερματογένεσης. Στο μυ, η χορήγηση αφλατοξίνης προκάλεσε μείωση της γονιμοποιητικής ικανότητας των σπερματοζωαρίων. Οι συγκεντρώσεις των σπερματοζωαρίων στην επιδιδυμίδα και η κινητικότητά τους παρέκκλιναν από τις φυσιολογικές τιμές, ενώ το ποσοστό των σπερματοζωαρίων με μορφολογικές ανωμαλίες αυξήθηκε σημαντικά.

Αρνητική επίδραση των αφλατοξινών στη σπερματογένεση διαπιστώθηκε μετά από χρόνια χορήγηση αφλατοξίνης B1 σε αρουραίους. Ωστόσο, τα παραγόμενα σπερματοζωάρια ήταν ικανά για γονιμοποίηση.

Στα πτηνά διαπιστώθηκε μείωση του βάρους των όρχεων και του όγκου του εκσπερμάτισματος μετά από λήψη 20 μg αφλατοξίνης/g τροφής, επί 4 εβδομάδες, χωρίς όμως να επηρεασθεί η γονιμοποιητική ικανότητα των σπερματοζωαρίων. Σε αλέκτορες, που χορηγήθηκε αφλατοξίνη B1, σημειώθηκαν ατροφία των όρχεων, αύξηση του ποσοστού των σπερματοζωαρίων με μορφολογικές ανωμαλίες και σε ορισμένες περιπτώσεις απουσία σπερματογένεσης. Το 1987 ερευνητές χορήγησαν σε αλέκτορες τροφή προσβλημένη από αφλατοξίνες σε συνδυασμό με απελευθερωτική ορμόνη της ωχρινοποιητικής ορμόνης (LHRH). Η έκκριση της ωχρινοποιητικής ορμόνης (LH) δεν επηρεάστηκε, ενώ, αντίθετα, υπήρξε

καθυστέρηση στην έκκριση της τεστοστερόνης. Σε άλλη έρευνα, παρατηρήθηκε μείωση του βάρους των όρχεων, της συγκέντρωσης της τεστοστερόνης στο αίμα και αναστολή της αύξησης του σωματικού βάρους. Τα πολύ νεαρά πτηνά, που έλαβαν αφλατοξίνη, εμφάνισαν καθυστέρηση στην κορύφωση της επεισοδιακής έκκρισης της LH, γεγονός που μπορεί να σημαίνει ότι οι αφλατοξίνες είναι δυνατό να προκαλέσουν καθυστέρηση της ήβης και στο αρσενικό.

Σε αρσενικούς βούβαλους, στους οποίους χορηγήθηκαν αφλατοξίνες Β και G, παρατηρήθηκαν μορφολογικές ανωμαλίες των σπερματοζωαρίων σε ποσοστό 54%, καθώς και μείωση του αριθμού των ζωντανών σπερματοζωαρίων κατά 10,31%.

Σε ό,τι αφορά στην επίδραση της αφλατοξίνης στη γονιμότητα του άνδρα, μελετηθήκαν τα δείγματα αίματος 50 γόνιμων και 50 μη γόνιμων ανδρών για την παρουσία αφλατοξίνης. Το 40% των δειγμάτων των μη γόνιμων ανδρών ήταν θετικό στην παρουσία αφλατοξίνης, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό για τους γόνιμους άνδρες ήταν 8%. Επιπλέον, στους μη γόνιμους άνδρες παρατηρήθηκε υψηλότερο ποσοστό σπερματοζωαρίων με μορφολογικές ανωμαλίες.

Πίνακας 4: Πιθανές επιδράσεις των αφλατοξινών στο γεννητικό σύστημα του θηλυκού και του αρσενικού

Επιδράσεις των αφλατοξινών στο γεννητικό σύστημα του θηλυκού
• Καθυστέρηση εμφάνισης ήβης • Μείωση μεγέθους και βάρους ωοθηκών • Αναστολή ανάπτυξης ωοθυλακίων • Διαταραχές ωοθηκικού κύκλου • Μειωμένα ποσοστά σύλληψης • Καθυστέρηση ανάπτυξης εμβρύων • Μορφολογικές ανωμαλίες εμβρύων • Αποβολή • Μείωση συγκέντρωσης οιστραδιόλης-17β στο αίμα • Αύξηση συγκέντρωσης προγεστερόνης στο αίμα
Επιδράσεις των αφλατοξινών στο γεννητικό σύστημα του αρσενικού
• Καθυστέρηση εμφάνισης ήβης • Μείωση μεγέθους και βάρους όρχεων • Διαταραχές σπερματογένεσης • Μείωση όγκου εκσπερματίσματος • Μείωση αριθμού ζωντανών σπερματοζωαρίων • Μείωση κινητικότητας σπερματοζωαρίων • Αύξηση ποσοστού σπερματοζωαρίων με μορφολογικές ανωμαλίες • Μείωση συγκέντρωσης τεστοστερόνης στο αίμα

2.8 ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ

Η μόλυνση των γεωργικών προϊόντων με αφλατοξίνη είναι ένα χρόνιο πρόβλημα σε πολλές παραγωγικές χώρες του κόσμου με σημαντικές οικονομικές επιπτώσεις. Η λίστα των γεωργικών προϊόντων πρωτογενούς παραγωγής τα οποία μπορεί να μολυνθούν από αφλατοξίνες περιλαμβάνει: σιτηρά(αραβόσιτο, σόργο, ρύζι, σάρι, κεχρί), ελαιούχους σπόρους (αραχίδα,

σόγια, ηλιόσπορο, βαμβάκι), καρκεύματα (τσίλι, μαύρο πιπέρι, κορίαντρο, τζίντζερ, κουρκούμη κ.α.) καρπούς δένδρων (αμύγδαλα, κελυφωτά φιστίκια, φουντούκια, καρύδα) και γάλα. Η μόλυνση ιδιαιτέρως των σιτηρών με αφλατοξίνη εκτός ότι θέτει σε κίνδυνο την υγεία των καταναλωτών απειλεί επίσης και το διεθνές εμπόριο. Τρόφιμα στα οποία ανιχνεύονται αφλατοξίνες σε όρια πάνω από αυτά που έχει θέσει η νομοθεσία κατάσχονται και καταστρέφονται. Αυτό οδηγεί σε οικονομική ζημιά πολλών δυσεκατομμυρίων δολλαρίων ετησίως σε παγκόσμιο επίπεδο. Έχει υπολογιστεί ότι το ¼ των καλλιεργειών παγκοσμίως έχουν μολυνθεί με μυκοτοξίνες σύμφωνα με τον FAO – Παγκόσμιο Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας. Επίσης, υπολογίζεται ότι ετησίως, οι απώλειες των παραγωγών στις Η.Π.Α. σε επίπεδο καλλιέργειας από την μόλυνση με αφλατοξίνες είναι περισσότερο από 100 εκ. δολάρια. Από αυτά, τα 26 εκ. περίπου περιλαμβάνουν την αραχίδα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

3.1. ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ

Η Ευρωπαϊκή νομοθεσία κατατάσσει τις αφλατοξίνες στους επιμολυντές των τροφίμων (Καν. 1881/2006). Οι τρέχουσες επιστημονικές και τεχνικές γνώσεις καθώς και οι εφαρμοζόμενες πρακτικές παραγωγής και αποθήκευσης, δεν μπορούν να αποκλείσουν την ανάπτυξη των μυκήτων *Aspergillus* και κατά συνέπεια δεν είναι δυνατό να απαλειφθούν πλήρως οι αφλατοξίνες από τα τρόφιμα και τις ζωοτροφές. Συνιστάται επομένως να περιορίζεται η παρουσία τους στο κατώτατο ευλόγως εφικτό επίπεδο. Η μείωση της έκθεσης του ανθρώπου σε αυτού του είδους τις τοξικές ουσίες αποτελεί μέγιστη προτεραιότητα με ταυτόχρονη μείωση των ορίων.

Λαμβάνοντας υπ' όψιν τις παραπάνω επιπτώσεις στον άνθρωπο θεωρείται σκόπιμο, για λόγους ασφάλειας και δημόσιας υγείας, να περιοριστεί τόσο η συνολική περιεκτικότητα σε αφλατοξίνες στα τρόφιμα, όσο και η περιεκτικότητα σε αφλατοξίνη B1. Επιπλέον, παρά το γεγονός ότι η αφλατοξίνη M1 θεωρείται ως γονοτοξική καρκινογόνος ουσία ίση ή λιγότερο επικίνδυνη από ότι η αφλατοξίνη B1, είναι απαραίτητο να αποφευχθεί η περιεκτικότητά της στο γάλα και στα γαλακτοκομικά προϊόντα που προορίζονται για κατανάλωση από ανθρώπους και ιδίως από μικρά παιδιά. Αναμφίβολα πρέπει να ληφθούν υπ' όψιν και οι πιο ευαίσθητες ομάδες του πληθυσμού και κυρίως τα βρέφη.

Η θέσπιση των μέγιστων ορίων για την παρουσία των μυκοτοξινών στα τρόφιμα αποτελεί μια σύνθετη υπόθεση. Για την οριοθέτηση των μέγιστων συγκεντρώσεων απαιτείται συνυπολογισμός και εκτίμηση πολλών παραγόντων όπως τα τοξικολογικά δεδομένα, ο μεταβολισμός αυτών των ουσιών, η οξεία και χρόνια τοξικότητα. Παράλληλα πρέπει να υπάρχει σύνδεση των παραπάνω με την παρουσία των τοξινών στα τρόφιμα και την ποσότητα στην οποία εκτίθενται οι καταναλωτές. Σήμερα δεν είναι γνωστό κάποιο όριο κάτω από το οποίο να μην παρατηρούνται αρνητικές επιδράσεις στην υγεία του καταναλωτή από τις αφλατοξίνες, συνεπώς δεν μπορεί να

οριστεί ανεκτή ημερήσια πρόσληψη. Συνεπώς, η ΕΕ έχει θεσπίσει νομοθετικά όρια στα υλικά που προορίζονται για χρήση ως τρόφιμα ή ως ζωοτροφές.

Για τη θέσπιση των μέγιστων ορίων λαμβάνονται υπ' όψιν πολλοί διαφορετικοί επιστημονικοί οργανισμοί, αρχές και άλλα σώματα, τα οποία συμπεριλαμβάνονται σε αυτή τη διαδικασία. Μία περίληψη για την τοξικολογική εκτίμηση των αφλατοξινών με αναφορά στην επίδρασή τους στην υγεία του ανθρώπου και στο περιβάλλον πραγματοποιείται με τη συνεργασία μεταξύ των ακόλουθων οργανισμών:

□ Διεθνές Πρόγραμμα για την Χημική Ασφάλεια (International Programm on Chemical Safety – IPCS, www.who.int/pcs/)

□ Διεθνής Οργανισμός για την Έρευνα του Καρκίνου (International Agency on Research on Cancer – IARC, www.iarc.fr)

□ Κοινή FAO/WHO Επιτροπή για τα Πρόσθετα και τους Επιμολυντές των Τροφίμων (Joint FAO/WHO Committee on Food Additives and Contaminants – JECFA, www.who.int/pcs/jecfa/jecfa.htm.)

Εντός της Ευρωπαϊκής Ένωσης αυτή η εκτίμηση διεξάγεται υπ' ευθύνη της Επιστημονικής Επιτροπής για τα Τρόφιμα (SCF, http://europa.eu.int/comm/food/fs/cs/csfi/index_en.html). Επιπρόσθετα, αρκετές ομάδες εργασίας και ειδικές επιτροπές με εξουσιοδότηση από όλα τα κράτη μέλη προετοιμάζουν τις προτάσεις.

Η μέγιστη τιμή που έχει θεσπιστεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση για κελυφωτά φιστίκια που προορίζονται για άμεση κατανάλωση ή για χρήση ως συστατικά σε τρόφιμα είναι 2,0 µg/kg (ppb) για την B1 και 4,0 µg/kg (ppb) για το άθροισμα των B1, B2, G1 και G2. Για την αφλατοξίνη B1 έχει θεσπιστεί ξεχωριστό όριο.

Η Ευρωπαϊκή νομοθεσία αναγνωρίζει ότι οι μέθοδοι διαλογής ή άλλες φυσικές διαδικασίες επιτρέπουν να μειωθεί η περιεκτικότητα σε αφλατοξίνες σε διάφορα τρόφιμα όπως: στα αράπικα φιστίκια, στους ξηρούς καρπούς με κέλυφος, στα ξηρά φρούτα και στον αραβόσιτο. Έτσι, προκειμένου να ελαχιστοποιηθούν οι επιπτώσεις στο εμπόριο, γίνονται αποδεκτές υψηλότερες

περιεκτικότητες από τις προαναφερόμενες σε αφλατοξίνες για τα εν λόγω προϊόντα, εφόσον αυτά δεν προορίζονται για άμεση κατανάλωση από τον άνθρωπο ή για χρήση ως συστατικά τροφίμων. Επομένως, στις περιπτώσεις αυτές, τα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα για τις αφλατοξίνες έχουν καθοριστεί λαμβανομένης υπόψη της αποτελεσματικότητας των διαδικασιών που προαναφέρθηκαν και ειδικά για τα κελυφωτά φιστίκια είναι 5,0 µg/kg (ppb) για την B1 και 10,0 µg/kg (ppb) για το άθροισμα των B1, B2, G1 και G2. Στις παρτίδες που ανιχνεύθηκαν αφλατοξίνες μέσα στα όρια που προορίζονται για διαλογή ή άλλη φυσική κατεργασία θα πρέπει να υπάρχει και η ανάλογη σήμανση.

Σε περίπτωση μη συμμόρφωσης των τροφίμων με τα καθορισμένα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα αφλατοξίνης, σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή νομοθεσία τα τρόφιμα αυτά θεωρούνται ακατάλληλα για ανθρώπινη κατανάλωση και απαγορεύεται η χρήση τους ως συστατικά τροφίμων. Επιπλέον, απαγορεύεται να αναμειγνύονται με καθαρά από αφλατοξίνες τρόφιμα, αλλά και να υπόκεινται σε χημικές κατεργασίες για την απομάκρυνσή τους.

3.2 ΠΑΓΚΟΣΜΙΑ ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ

Τα πορίσματα των επιστημονικών μελετών από όλο τον κόσμο συντείνουν στο ότι η παρουσία αφλατοξινών στα τρόφιμα θέτει σε σοβαρό κίνδυνο την υγεία των καταναλωτών. Αυτό έχει οδηγήσει τόσο σε εντατικούς ελέγχους όσον αφορά την παρουσία τους στα διάφορα τρόφιμα όσο και στην καθιέρωση ορίων, όπως και στην ΕΕ. Νομοθετικοί κανονισμοί για τις αφλατοξίνες υπάρχουν σε πάνω από 100 χώρες παγκοσμίως. Στις ανεπτυγμένες χώρες του κόσμου, όπου η διάρκεια ζωής έχει αυξηθεί σε συνδυασμό με την βελτίωση της ποιότητας ζωής παρατηρείται μεγαλύτερη προσπάθεια όσον αφορά τον έλεγχο των αφλατοξινών. Αντίθετα στο μεγαλύτερο ποσοστό των αναπτυσσόμενων χωρών, κύριο μέλημα αποτελεί η καταπολέμηση της φτώχειας και των ασθενειών με αποτέλεσμα να μην έχουν καθιερωθεί, ευρέως, κανονισμοί για τις μυκοτοξίνες γενικότερα ή να μην είναι το ίδιο αυστηροί.

Πίνακας 5: Σύνοψη των υπαρχόντων κανονισμών στο τέλος του 2002

Περιοχή	Χώρες με γνωστούς κανονισμούς	% Κάτοικοι στην περιοχή	Πιο λεπτομερείς κανονισμοί
Αφρική	14	54	Μαρόκο
Ασία/ Ωκεανία	25	89	Κίνα και Ιράν (εναρμονισμένοι κανονισμοί για Αυστραλία και Ν. Ζηλανδία)
Ευρώπη	38	99	Πολλές, υπό ένταξη στην Ε.Ε. χώρες (τα κράτη μέλη εναρμονισμένη νομοθεσία)
Λατ. Αμερική	19	92	Ουρουγουάη
Β. Αμερική	2	100	Καναδάς και Η.Π.Α

www.mvco toxins.org/

3.3 ΕΠΙΤΡΕΠΤΑ ΟΡΙΑ ΤΩΝ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΩΝ ΣΤΙΣ ΖΩΟΤΡΟΦΕΣ ΚΑΙ ΣΤΟ ΓΑΛΑ

Σήμερα, στις περισσότερες αναπτυγμένες χώρες του κόσμου έχουν θεσπιστεί όρια για τη συγκέντρωση των αφλατοξινών στις ζωοτροφές και στο γάλα. Στις Η.Π.Α., ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) καθορίζει ως ανώτατη επιτρεπτή συγκέντρωση αφλατοξίνης τα 20 ppb για τον αραβόσιτο που προορίζεται για τροφή αγελάδων γαλακτοπαραγωγής. Στις τροφές για ανθρώπινη κατανάλωση, ως ανώτατο όριο ορίζονται, επίσης, τα 20 ppb. Ωστόσο, οι καταναλωτές ασκούν πίεση ώστε το όριο να περιοριστεί στο 0. Στην Ελλάδα, το ανώτατο όριο για την αφλατοξίνη Β1 κυμαίνεται από 0,10 έως 8 ppb, ανάλογα με το τρόφιμο. Σχετικά με την αφλατοξίνη Μ1, τα όρια καταλοίπων της στο γάλα καθορίζονται από την Ευρωπαϊκή Ένωση στα 50 ppt και από τον FDA των Η.Π.Α. στα 500 ppt.

Εντούτοις, αν και η θέσπιση των ανώτερων ορίων είναι αποτέλεσμα συνεργασίας πολλών φορέων, παρατηρούνται διαφορετικά όρια ανάμεσα στα διάφορα κράτη. Χαρακτηριστικά αναφέρεται ότι στις Η.Π.Α. το μέγιστο επιτρεπτό όριο για την παρουσία αφλατοξινών ανέρχεται στα 20 ppb για τρόφιμα και ζωοτροφές, ενώ για τα κελυφωτά φιστίκια στα κράτη της Ε.Ε. στα 2 ppb για την AFB1 και 4 ppb για το άθροισμα των αφλατοξινών, όπως προαναφέρθηκε. Αυτό σημαίνει ότι στην ΕΕ τα όρια είναι 5 φορές χαμηλότερα απ'ότι στις Η.Π.Α. Παράλληλα ο αρμόδιος αμερικανικός φορέας έχει θέσει ως όριο για την AFM1 στο γάλα και τα συναφή προϊόντα την τιμή 0.5 µg/l, ενώ στην Ε.Ε. η αντίστοιχη τιμή είναι 0.05 µg/l. Στην πράξη, τα διαφορετικά όρια, που έχουν θεσπιστεί στις διάφορες χώρες του κόσμου προκαλούν ενδεχόμενα προβλήματα στο διεθνές εμπόριο, εις βάρος συνήθως των λιγότερο αναπτυγμένων χωρών.

3.4 ΑΠΟΦΥΓΗ ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗΣ ΜΥΚΟΤΟΞΙΝΩΝ ΣΤΙΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

Έχουν χρησιμοποιηθεί διάφοροι τρόποι για να εμποδιστεί η ανάπτυξη των τοξινογόνων μυκήτων:

- ❖ Η χρήση μυκητοκτόνων
- ❖ Βιολογικές καλλιέργειες
- ❖ Μεταλλαγμένα προϊόντα
- ❖ Χρήση στις καλλιέργειες μη τοξινογόνων μυκήτων που ανταγωνίζονται τους τοξινογόνους.

Καθένας από αυτούς τους τρόπους έχει πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα. Συχνά όμως ορισμένες από αυτές τις γεωργικές πρακτικές δεν είναι αποδεκτές από τον καταναλωτή, π.χ η χρήση των μεταλλαγμένων προϊόντων. Τη λύση φαίνεται ότι θα τη δώσει και σ' αυτόν τον τομέα η Μοριακή Βιολογία, που θα βοηθήσει στη γνώση των μηχανισμών βιοσύνθεσης των μυκοτοξινών.

3.5 ΟΥΣΙΕΣ ΑΠΟΜΑΚΡΥΝΣΗΣ ΜΥΚΟΤΟΞΙΝΩΝ

Από την πρώτη φορά που αναφέρθηκαν οι μυκοτοξικώσεις στις αρχές του 1960 οι ερευνητές σε όλο τον κόσμο έψαχναν επισταμένα τρόπους να περιορίσουν ή να ελαχιστοποιήσουν τις επιδράσεις αυτών των αναπόφευκτων μολύνσεων. Λόγω της μεγάλης ποικιλότητας των μυκοτοξινών οι οποίες μπορούν να μολύνουν τις ζωοτροφές και των διαφόρων χημικών τους ενώσεων, η προστασία από τις μυκοτοξικώσεις είναι σχετικά δύσκολο εγχείρημα.

Μεταξύ όλων των διαθέσιμων προσεγγίσεων για να ελεγχθεί η επιμόλυνση με μυκοτοξίνες, η απλούστερη στρατηγική βασίζεται στην πρόληψη της δημιουργίας της μυκοτοξίνης στις τροφές. Ακόμα και με τις σύγχρονες τεχνολογίες είναι πολύ δύσκολη η πρόβλεψη ή αποτροπή της ύπαρξης τους είτε προ της συγκομιδής είτε κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης και της επεξεργασίας των ζωοτροφών. Όταν οι πρώτες ύλες έχουν προσβληθεί από μυκοτοξίνες, η εξάλειψη του προσβληθέντος προϊόντος είναι η πιο αποτελεσματική μέθοδος για να αποφευχθούν τα προβλήματα που θα ακολουθήσουν μετά την κατανάλωση του. Δυστυχώς, λόγω των δυσκολιών που υπάρχουν στη λήψη αντιπροσωπευτικού δείγματος, είναι αρκετά δύσκολο να προσδιοριστεί ακριβώς το μέγεθος της προσβολής για κάθε τροφή. Η μη πρακτικότητα και το κόστος που συνοδεύει την ολική αντικατάσταση αυτών των υλικών συνεπάγεται ότι αυτή η πρακτική δεν εφαρμόζεται τόσο συχνά όσο συστήνεται. Έτσι οι μυκοτοξίνες συνήθως υπάρχουν στις ζωοτροφές και επιφέρουν σημαντικές οικονομικές απώλειες στις γεωργοκτηνοτροφικές εκμεταλλεύσεις. Εκτός αυτού, οι μυκοτοξίνες προκαλούν ανησυχία για τη δημόσια υγεία επειδή τα ζώα που καταναλώνουν μολυσμένες με μυκοτοξίνες τροφές μπορεί να αφήσουν κατάλοιπα αυτών των τοξινών στα παραγόμενα ζωικά προϊόντα.

Η απομάκρυνση ή εξουδετέρωση των μυκοτοξινών από μία προσβεβλημένη ζωοτροφή επιτυγχάνεται με φυσικές, χημικές και βιολογικές μεθόδους. Οι χημικές διαδικασίες, όπως η επεξεργασία με οξύ ή άλλες χημικές ενώσεις, η αμμωνιοποίηση, η οζωνοποίηση και αντίδραση με τροφικά πρόσθετα όπως το δισουλφιδικό νάτριο έχει αποδειχθεί ότι είναι

αποτελεσματικά στην αποδόμηση και την εξουδετέρωση της αφλατοξίνης. Οι βιολογικές μέθοδοι που πρωταρχικά συμπεριελάμβαναν την αποδόμηση της τοξίνης από μικροοργανισμούς παίρνουν όλο και πιο πολλή σημασία μεταξύ των ερευνητών και δείχνουν θετικά αποτελέσματα. Οι φυσικές διαδικασίες, όπως η ταξινόμηση, η θερμική απενεργοποίηση, η ακτινοβολία ή η εξαγωγή του προσβληθέντος προϊόντος έχουν σημειώσει αρκετή επιτυχία.

Η κάθε μέθοδος απομάκρυνσης ή αποτοξικοποίησης για υλικά ζωοτροφών που έχουν προσβληθεί από μυκοτοξίνες πρέπει να πληροί τους πιο κάτω όρους:

1. Να είναι αποτελεσματική στην απομάκρυνση, καταστροφή και εξουδετέρωση της μυκοτοξίνης.

2. Να μην παράγει τοξικά ή καρκινογόνα/μεταλλαξιογόνα κατάλοιπα στα επεξεργασμένα προϊόντα ούτε στα ζωικά προϊόντα που προέρχονται από ζώα που καταναλώνουν αυτές τις ζωοτροφές.

3. Να μη μεταβάλλουν τις θρεπτικές ιδιότητες των ζωοτροφών ή να επηρεάζουν την προσληπτικότητα τους.

4. Να είναι οικονομικά και τεχνολογικά αποδεκτές έτσι ώστε να μην επηρεάζουν σημαντικά το κόστος του τελικού προϊόντος.

Πολλές από τις φυσικές, χημικές και βιολογικές μεθόδους είναι αποτελεσματικές στη μείωση, καταστροφή ή εξουδετέρωση των διαφόρων μυκοτοξινών, όμως σπάνια ανταποκρίνονται σε άλλες εξίσου σημαντικές απαιτήσεις.

Οι διατροφικές προσεγγίσεις, όπως η συμπλήρωση των θρεπτικών συστατικών ή πρόσθετων με προστατευτικές ιδιότητες κατά των μυκοτοξινών και η προσθήκη μη-θρεπτικών ουσιών με ιδιότητες μείωσης της βιοδιαθεσιμότητας των μυκοτοξινών μπορούν πραγματικά να καθαρίσουν ή να αποτοξικοποιήσουν τα προσβληθέντα υλικά και συγχρόνως να πληρούν και τους άλλους 4 όρους.

Η χρήση διατροφικών μη-θρεπτικών συμπληρωμάτων που έχουν ιδιότητες απομάκρυνσης των μυκοτοξινών είναι η πιο πρακτικά εφαρμόσιμη μέθοδος που έχει ερευνηθεί ενδελεχώς και μειώνει την επίδραση της έκθεσης σε μυκοτοξίνες. Μια αποτελεσματική απομονωτική ουσία είναι αυτή που αποτρέπει ή ελαχιστοποιεί την απορρόφηση της τοξίνης από τον γαστροεντερικό σωλήνα του ζώου. Η ιδανική απομονωτική ουσία πρέπει να

είναι αποτελεσματική σε διάφορες μυκοτοξίνες καθότι τα υλικά συνήθως προσβάλλονται με περισσότερες της μίας μυκοτοξίνες. Για να παραμείνουν πρακτικά εφαρμόσιμες οι ουσίες απομόνωσης των μυκοτοξινών πρέπει να έχουν λογικές τιμές και να μην καταλαμβάνουν μεγάλο μέρος στα ολοκληρωμένα σιτηρέσια. Επιπρόσθετα, οι ουσίες απομάκρυνσης πρέπει να είναι απαλλαγμένες από ακαθαρσίες, γεύσεις και οσμές.

Η χρήση των μη-θρεπτικών ουσιών απομάκρυνσης πρέπει να μειώνει την τοξικολογική επίδραση της μυκοτοξίνης και τη δυνατότητα μεταφοράς της τοξίνης στην ανθρώπινη τροφική αλυσίδα. Οι κύριες κατηγορίες απομονωτικών ουσιών είναι τα πυριτικά ορυκτά, ο ενεργοποιημένος άνθρακας, οι πολυμερείς ενώσεις, προϊόντα χλωροφύλλης και προϊόντα που προέρχονται από τη ζύμη. Οι ουσίες αυτές παρουσιάζονται στη συνέχεια:

Ενεργοποιημένος *Ανθρακας

Ο ενεργοποιημένος άνθρακας (ΕΑ) είναι μια άμορφη μάζα κάρβουνου που ζεστάθηκε απουσία αέρα και μετά επεξεργάστηκε με οξυγόνο για να δημιουργηθούν εκατομμύρια πόροι μεταξύ των ατόμων του άνθρακα. Η πηγή του άνθρακα επιλέγεται από μια ποικιλία υλικών τέτοιων, όπως τα κελύφη των καρυδιών, το μαλλί, τα βρύα. Αυτή η πολύ απορροφητική σκόνη χρησιμοποιείται πολύ πλατιά κατά τις οξείες δηλητηριάσεις από τον 19ο αιώνα.

Ο ενεργοποιημένος άνθρακας μπορεί να είναι πολύ αποτελεσματικός για την εξουδετέρωση της αφλατοξίνης ή άλλων μυκοτοξινών, αν και είναι πιθανώς πιο κατάλληλος σαν αντίδοτο σε οξεία δηλητηρίαση. Οι απομονωτικές ιδιότητες του εξαρτώνται από πολλούς παράγοντες συμπεριλαμβανομένων του μεγέθους των πόρων, της επιφάνειας, της δομής της μυκοτοξίνης και της δόσης.

Ορυκτά Πυριτίου

Η μεγαλύτερη και πιο πολύπλοκη ομάδα απομονωτικών ουσιών των μυκοτοξινών είναι τα ορυκτά πυριτίου. Εντός αυτής της ομάδας υπάρχουν δυο σημαντικές υποομάδες, η φυλλοπυριτική υποομάδα και η τεκτοπυριτική. Οι άργιλοι που ανήκουν στη φυλλοπυριτική ομάδα συμπεριλαμβάνουν

σημαντικές απομονωτικές ουσίες, όπως οι μπεντονίτες. Στις τεκτοπυριτικές ουσίες ανήκουν οι σημαντικοί και ευρέως μελετημένοι ζεολίτες.

Χοληστεραμίνη

Η χοληστεραμίνη είναι μια ένωση που χρησιμοποιείται στην ανθρώπινη ιατρική για απορρόφηση των οξέων της χολής στο γαστρεντερικό σωλήνα και σαν θεραπεία για μείωση της χοληστερόλης. Η χοληστεραμίνη έδειξε σε μελέτες ότι μπορεί να απομονώσει την ωχρατοξίνη και τη ζεαραλενόνη.

Χλωροφυλλίνη

Η χλωροφυλλίνη, το υδατοδιαλυτό παράγωγο της χλωροφύλλης των φυτών, είναι αποτελεσματική στη μείωση της τοξικότητας που προέρχεται από την αφλατοξίνη. Οι ερευνητές θεώρησαν ότι η αντιοξειδωτική δράση αυτού του παράγωγου της χλωροφύλλης είναι υπεύθυνη για τις χημειοπροστατευτικές ιδιότητες της. Πιο πρόσφατα οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι η ένωση μεταξύ της χλωροφυλλίνης και της αφλατοξίνης είναι πραγματικά ο κύριος μηχανισμός που ευθύνεται για τη χημειοπροστασία. Από την ένωση αυτή δημιουργείται μια αδιάλυτη ουσία που μοιάζει με άλας και η οποία στη συνέχεια αποβάλλεται.

Παράγωγα του τοιχώματος των ζυμομηκυτών ως απομονωτικές ουσίες

Αρχικά η έρευνα με τα παρασκευάσματα από καλλιέργειες κυττάρων της ζύμης βασίστηκε στον *Saccharomyces Cerevisiae* των οποίων η απόδοση βελτιώθηκε στην πτηνοτροφία και οδήγησε τους ερευνητές να υποθέσουν ότι η καλλιέργεια της ζύμης είχε την ιδιότητα να απομονώνει μυκοτοξίνες. Μελέτες με ολόκληρα τα κύτταρα της ζύμης οδήγησαν στον προσδιορισμό ειδικού μέρους του κυτταρικού τοιχώματος της ζύμης το οποίο αντιδρά με τις μυκοτοξίνες. Η τροποποίηση στις κατασκευαστικές τεχνικές επέτρεψε την παραγωγή ειδικών σκευασμάτων των τροποποιημένων κυτταρικών τοιχωμάτων της ζύμης με την ιδιότητα να απορροφούν διάφορες μυκοτοξίνες. Αυτό το παρασκεύασμα εμπορικά είναι διαθέσιμο ως *Mycosorb* (Alltech Inc).

Η απορροφητική δυνατότητα του συμπλέγματος των υδατανθράκων των κυτταρικών τοιχωμάτων της ζύμης προσφέρει μια ενδιαφέρουσα εναλλακτική

λύση στους ανόργανους απορροφητές. Οι μπεντονίτες και ο ενεργοποιημένος άνθρακας γενικά χρησιμοποιούνται σε μεγάλες ποσότητες (>1,0% του σιτηρεσίου) στις ζωοτροφές. Σε ζώα όπως τα κοτόπουλα και τα νεαρά χοιρίδια, όπου η πρόσληψη της τροφής μπορεί να περιορίσει την οικονομική αποδοτικότητα, είναι σημαντικό τα μη-θρεπτικά πρόσθετα των τροφών να καταλαμβάνουν όσο πιο μικρό χώρο γίνεται.

Εκτός τούτου, ψηλά επίπεδα συμμετοχής μπορεί να αυξήσουν την απομονωτική δυνατότητα και έτσι να μειώσουν τη βιοδιαθεσιμότητα άλλων σημαντικών θρεπτικών ουσιών. Σε αντίθεση, η ψηλή σχέση προς την τοξίνη και απορροφητικότητα των παραγώγων του κυτταρικού τοιχώματος της ζύμης επιτρέπει την χρήση τους σε όσο το δυνατό πιο μικρή ποσότητα (<0,1% του σιτηρεσίου).



Εικόνα 4 α): Το φυτό αραχίδα. (β) Ο (υπόγειος) καρπός της αραχίδας (φυστίκια αράπικα) (γ) Φυστίκια αράπικα στα οποία έχει αναπτυχθεί ευρωτίαση (μούχλα)

3.6 ΠΡΟΛΗΨΗ ΚΑΙ ΑΠΑΛΛΑΓΗ ΑΠΟ ΤΙΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΕΣ

3.6.1. ΠΡΟΛΗΨΗ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΡΟΚΛΗΣΗΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΚΩΣΕΩΝ

Η λήψη μέτρων για την πρόληψη και την αντιμετώπιση των αφλατοξικώνσεων θεωρείται απολύτως απαραίτητη, εξαιτίας των σοβαρών επιπτώσεών τους στην υγεία των ζώων, αλλά και του ανθρώπου. Η διατροφή των ζώων, που αποτελεί τη βάση για τις αποδόσεις τους και τις οικονομικές απολαβές των κτηνοτρόφων, θα πρέπει να αντιμετωπίζεται πάντοτε και υπό το πρίσμα των πιθανών επιπτώσεων στην ποιότητα των τροφίμων ζωικής προέλευσης. Κεντρικό ρόλο σε οποιοδήποτε πρόγραμμα καταπολέμησης των

μυκοτοξινών έχει ο επιστημονικός σύμβουλος της εκτροφής (κτηνίατρος, γεωπόνος, ζωοτέχνης), που οφείλει να ενημερώνει και να πείθει τον κτηνοτρόφο για την έκταση και τη σοβαρότητα των προβλημάτων που μπορούν να προκληθούν από τις επιλογές του. Δυστυχώς, η ελληνική πραγματικότητα δείχνει απογοητευτική στον τομέα της πρόληψης των μυκοτοξικών.

Γενικά, η προσβολή των σιτηρών από τους μύκητες μπορεί να αποφευχθεί με εφαρμογή ορθής πρακτικής στους τόπους καλλιέργειας, καθώς και με επιλογή ποικιλιών που είναι περισσότερο ανθεκτικές στην προσβολή από αυτούς. Κατά την παραγωγή και την αποθήκευση των ζωοτροφών θα πρέπει να λαμβάνονται μέτρα ώστε οι παράγοντες που ευνοούν την ανάπτυξη των μυκήτων (θερμοκρασία, υγρασία, οξυγόνο) να μειωθούν στο ελάχιστο. Τέτοια μέτρα είναι τα ακόλουθα:

- Συγκομιδή των σιτηρών στην περίοδο κατά την οποία η περιεκτικότητα των καρπών σε υγρασία αποτρέπει ή περιορίζει την ανάπτυξη μυκήτων.
- Τεμαχισμός των καρπών σε κατάλληλο μέγεθος, ώστε να μειώνεται η επιφάνεια έκθεσής τους στους περιβαλλοντικούς παράγοντες.
- Ταχεία πλήρωση των σιρών, ώστε να προλαμβάνεται η δράση των περιβαλλοντικών παραγόντων.
- Κάλυψη των σιρών προκειμένου να μειωθεί η έκθεση των ζωοτροφών στο οξυγόνο.
- Κατάλληλη συσκευασία των ζωοτροφών.

Γενικά, έχουν καταβληθεί προσπάθειες για την πρόληψη της προσβολής των τροφών από μύκητες. Στην Κύπρο (1992-1996), έγιναν προσπάθειες ώστε να τηρούνται οι κατάλληλες συνθήκες αποθήκευσης των ζωοτροφών, να ελέγχονται οι παραγόμενες, αλλά και οι εισαγόμενες ζωοτροφές, και να καταστρέφονται εκείνες στις οποίες οι συγκεντρώσεις της αφλατοξίνης ξεπερνούσαν τα ανώτατα επιτρεπτά όρια. Τέτοια μέτρα αποδείχθηκαν αποτελεσματικά, παρότι υπήρξαν και περιπτώσεις ανίχνευσης μικρών συγκεντρώσεων αφλατοξινών, γεγονός που καθιστά αναγκαίο το συνεχή έλεγχο και την έρευνα. Στην Ελβετία ο έλεγχος των πρώτων υλών για την παρασκευή συμπυκνωμένων ζωοτροφών είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση των συγκεντρώσεων της αφλατοξίνης B1 σε διάστημα 3 ετών. Ανάλογη και

αναμενόμενη ήταν και η μείωση της συγκέντρωσης της αφλατοξίνης M1 στο γάλα.

3.6.2 ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΡΟΚΛΗΣΗΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΚΩΣΕΩΝ

Το σημαντικότερο πρόβλημα, σε σχέση με τις αφλατοξίνες και τις μυκοτοξίνες γενικότερα, σε συνθήκες καθημερινής διαχείρισης μίας εκτροφής, αποτελεί το γεγονός ότι η παρουσία τους στις ζωοτροφές και η πρόκληση μυκοτοξικώσεων δεν γίνονται εύκολα και πάντοτε αντιληπτές από τους κτηνοτρόφους. Η προσβολή των ζωοτροφών από μύκητες και η παραγωγή μυκοτοξινών μπορεί να ξεκινήσουν πολύ πριν την εμφανή αλλοίωση των ζωοτροφών. Κατά συνέπεια, οι προσβλημένες ζωοτροφές χορηγούνται στα ζώα, χωρίς τη λήψη συγκεκριμένων μέτρων. Ο συχνός έλεγχος ορισμένων παραμέτρων στην καθημερινή πράξη από τους εκτροφείς ή/και τους συμβούλους τους κρίνεται επιβεβλημένος. Βασικές αρχές που πρέπει να εφαρμόζονται για τη διαπίστωση και αντιμετώπιση των μυκοτοξικώσεων είναι οι ακόλουθες:

- Η αναζήτηση γενικών συμπτωμάτων στα ζώα.
- Ο αποκλεισμός άλλων πιθανών αιτίων (διατροφή, νοσήματα, κακή διαχείριση, κ.ά.), που θα μπορούσαν να οδηγήσουν στα ίδια συμπτώματα με τις μυκοτοξικώσεις.
- Ο εργαστηριακός έλεγχος των ζωοτροφών για μυκοτοξίνες.
- Η απομάκρυνση των προσβλημένων τροφών.
- Η αύξηση της περιεκτικότητας του σιτηρεσίου σε πρωτεΐνες, βιταμίνες, ιχνοστοιχεία, αντιοξειδωτικές ουσίες, κ.ά.
- Η αποφυγή χορήγησης τροφής που περιέχει μυκοτοξίνες ιδιαίτερα στα ευαίσθητα ζώα (νεαρά, κυοφορούντα, κ.ά.).
- Η προσπάθεια απαλλαγής από τις μυκοτοξίνες όταν αυτές έχουν ανιχνευθεί στις ζωοτροφές.

Για την απαλλαγή των ζωοτροφών από τις μυκοτοξίνες έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι, οι οποίες διακρίνονται σε φυσικές, χημικές και βιολογικές.

Οι φυσικές μέθοδοι περιλαμβάνουν κυρίως τον καθαρισμό, το πλύσιμο, το διαχωρισμό της προσβλημένης από τη μη προσβλημένη ζωοτροφή και ακολούθως, τη θερμική επεξεργασία της προσβλημένης. Η επιτυχία μίας τέτοιας επεξεργασίας εξαρτάται από το μέγεθος του φορτίου μυκοτοξινών που φέρουν οι ζωοτροφές. Αυτό διαπιστώθηκε και από μελέτες στις οποίες επιτεύχθηκε σημαντική μείωση των επιπέδων της δεοξυνιβαλενόλης στην τροφή των χοίρων, με καθαρισμό και επεξεργασία, αλλά δεν αποκλείστηκε η πιθανότητα πρόκλησης τοξίκωσης. Ο διαχωρισμός των προσβλημένων από τις μη προσβλημένες ζωοτροφές αποτελεί τη φυσική μέθοδο που βρίσκει συχνότερα εφαρμογή στην καθημερινή πράξη.

Οι χημικές μέθοδοι περιλαμβάνουν κυρίως τη χρήση χημικών ουσιών για την εξουδετέρωση των μυκοτοξινών. Από τις χημικές ουσίες, που δοκιμάστηκαν σε ποικιλία ζωοτροφών, μερικές μόνο αποδείχτηκαν αποτελεσματικές και χρησιμοποιούνται στην πράξη. Για παράδειγμα, η αμμωνία μπορεί να μειώσει σε σημαντικό βαθμό τη συγκέντρωση της αφλατοξίνης στις ζωοτροφές και κατά συνέπεια τη συγκέντρωσή της στους διάφορους ιστούς του σώματος των ζώων και ως μέθοδος θεωρείται αποτελεσματική και φθηνή. Με τον ίδιο τρόπο μπορεί να ελαχιστοποιηθεί η συγκέντρωση της αφλατοξίνης M1 στο γάλα αγελάδων. Σε μερικές περιπτώσεις, οι φυσικές και οι χημικές μέθοδοι συνδυάζονται για την επίτευξη καλύτερου αποτελέσματος.

Στις βιολογικές μεθόδους ανήκουν κυρίως η προσθήκη αναστολέων των μυκήτων, καθώς και η προσθήκη δεσμευτικών παραγόντων, που μειώνουν την απορρόφηση των μυκοτοξινών από το γαστρεντερικό σωλήνα. Ως δεσμευτικοί παράγοντες χρησιμοποιούνται διάφορες ουσίες, με κυριότερες το μπεντονίτη, το ζεόλιθο και το HSCAS (Hydrated Sodium Calcium Alumino Silicate). Το HSCAS δεσμεύει την αφλατοξίνη B1 και μειώνει την απορρόφησή της από το γαστρεντερικό σωλήνα. Η προσθήκη HSCAS, σε αναλογία 4% στην τροφή αιγών, που λάμβαναν 200 ppb αφλατοξίνης B1, είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της απέκκρισης της αφλατοξίνης M1 στο γάλα κατά 86,9%.

Παραπέρα, πολλές μελέτες πραγματοποιήθηκαν με σκοπό την ελαχιστοποίηση της δράσης των μυκοτοξινών, οι οποίες αφορούν στη χορήγηση ορισμένων ουσιών μαζί με την τροφή και στην ικανότητα

συγκεκριμένων μικροοργανισμών να δεσμεύουν ορισμένες τοξίνες. Οι περισσότεροι χαρακτηριστικές έρευνες αφορούν στις αφλατοξίνες. Για παράδειγμα, αγελάδες που έλαβαν αφλατοξίνη B1 σε συνδυασμό με φαινοβαρβιτάλη, παρουσίασαν μείωση της απέκκρισης της αφλατοξίνης M1 στο γάλα, σε ποσοστό μεγαλύτερο από 50%. Επιπλέον, βρέθηκε ότι η ολτιπράζη εμποδίζει το μεταβολισμό της αφλατοξίνης B1 σε M1 από τα ηπατικά κύτταρα των βοοειδών. Ακόμη, φαίνεται ότι η βιταμίνη E μπορεί να μειώσει την επίδραση της αφλατοξίνης στη στεροειδογένεση, αφού η χορήγηση συμπληρωματικής ποσότητας βιταμίνης E με την προσβλημένη τροφή συνέβαλε στην αύξηση των συγκεντρώσεων της τεστοστερόνης στο αίμα.

Τα μέτρα πρόληψης και αντιμετώπισης της παρουσίας αφλατοξινών στις ζωοτροφές παρουσιάζονται συνοπτικά στον Πίνακα 6.

Πίνακας 6: Προτεινόμενα μέτρα πρόληψης και απαλλαγής από τις αφλατοξίνες και την πρόκληση αφλατοξικώσεων.

Προληπτικά μέτρα
• Επιλογή ανθεκτικών ποικιλιών φυτών • Εφαρμογή ορθής πρακτικής στους τόπους καλλιέργειας • Συγκομιδή των σιτηρών σε περίοδο με χαμηλή υγρασία • Τεμαχισμός των καρπών στο κατάλληλο μέγεθος • Κατάλληλη συσκευασία των ζωοτροφών • Ταχεία πλήρωση των σιρών • Κάλυψη των σιρών
Μέτρα για την απαλλαγή από τις αφλατοξίνες
Φυσικές μέθοδοι • Διαχωρισμός προσβλημένων από τις μη προσβλημένες ζωοτροφές Χημικές μέθοδοι • Χρήση αμμωνίας Βιολογικές μέθοδοι • Προσθήκη στις ζωοτροφές αναστολέων των μυκήτων • Προσθήκη στις ζωοτροφές δεσμευτικών παραγόντων, όπως: - HSCAS - Μπεντονίτης - Ζεόλιθος Πειραματικές μέθοδοι που μπορεί να περιορίσουν τη δράση τους • Χορήγηση φαινοβαρβιτάλης • Χορήγηση ολτιπράζης • Χορήγηση βιταμίνης E

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρουσία μυκοτοξινών στο γάλα είναι σχεδόν αναπόφευκτη, και καμία πρακτική λύση δεν είναι διαθέσιμη σήμερα για να τις αποβάλει εξ' ολοκλήρου. Ο κίνδυνος χρόνιας δηλητηρίασης των ανθρώπων και των ζώων δεν μπορεί επομένως να αγνοηθεί.

Η πιθανή μεταφορά των μυκοτοξινών στα ζωικά προϊόντα δείχνει ότι το γάλα και το κρέας μπορούν να μολυνθούν από τις μυκοτοξίνες και τους μεταβολίτες τους.

Προφυλάξεις πρέπει να ληφθούν για να μειωθεί το επίπεδο μόλυνσης κατά τη διάρκεια της αύξησης των φυτών και μέχρι τη συγκομιδή τους καθώς και κατά την περίοδο μετά τη συγκομιδή και αποθήκευσή τους. Ελλείψει οποιασδήποτε πραγματικά αποδοτικής διαδικασίας για να διασπάσει τις μυκοτοξίνες, εκτός από την επεξεργασία με αμμωνία που εφαρμόζεται στις αφλατοξίνες, η δυνατότητα απενεργοποίησης των μυκοτοξινών από διάφορες συνδυετικές ουσίες παραμένει ελκυστική.

Η επιμόλυνση με μυκοτοξίνες των φυτών και η κατ' επέκταση κατανάλωση αυτών των προσβεβλημένων υλικών από τα ζώα είναι μια αναπόφευκτη φάση των συστημάτων της ζωικής παραγωγής. Η πιο διαδεδομένη στρατηγική που χρησιμοποιείται και είναι ικανή να μειώσει ή να εμποδίσει αυτή την έκθεση είναι η προσθήκη ουσιών οι οποίες απομονώνουν την τοξίνη και μειώνουν την απορρόφηση της από το έντερο. Τα διαθέσιμα στοιχεία εισηγούνται όπως δοθεί σημασία στις δυνατότητες των απομονωτικών αυτών ουσιών. Επιπρόσθετα, η γενίκευση πρέπει να αποφεύγεται καθότι οι απομονωτικές ουσίες διαφέρουν ακόμη και εντός μιας κατηγορίας. Λόγω της χημικής πολυπλοκότητας των μυκοτοξινών δεν σημαίνει ότι η αποτελεσματικότητα μιας ουσίας να απομονώνει μια μυκοτοξίνη σημαίνει ότι έχει την ίδια ικανότητα να απομονώνει άλλες μυκοτοξίνες. Έτσι η επιλογή μιας ουσίας πρέπει να βασίζεται σε δημοσιευμένα επιστημονικά δεδομένα που λήφθηκαν κάτω από ελεγχόμενες επιστημονικές συνθήκες και τα ζώα-στόχοι να εκτέθηκαν στα επίπεδα και είδη των μυκοτοξινών σε συνθήκες φάρμας.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Dutton MF: Fumonisin, mycotoxins of increasing importance: their nature and their effects. *Pharmacol Ther*, **70**: 137-161, 1996.
2. Diaz DE: Unravelling the mystery of mycotoxins: novel solutions to counteract them. In: *"Harnessing Nature, Practical Applications of Natural Technologies"*, Proceedings from Alltech's 17th European, Middle Eastern and African Lecture Tour, pp 10-18, 2002.
3. Diekman MA and Green ML: Mycotoxins and Reproduction in Domestic Livestock *J Anim Sci*, **70**: 1615-1627, 1992.
4. Harris BJ and Staples CR: The problems of mycotoxins in dairy cattle rations. Institute of Food and Agricultural Sciences, Cooperative Extension Service, University of Florida, www.edis.ifas.ufl.edu/BODY_DS152, 1992.
5. Govaris A, Roussi V, Koidis PA, Botsoglou NA: Distribution and stability of aflatoxin M1 during production and storage of yoghurt. *Food Addit Contam*, **19**: 1043-1050, 2002.
6. Govaris A, Roussi V, Koidis PA, Botsoglou NA: Distribution and stability of aflatoxin M1 during processing, ripening and storage of Teleme cheese. *Food Addit Contam*, **18**: 437-443, 2001.
7. Ioannou-Kakouri E, Aletrari M, Christou E, Hadjioannou-Ralli A, Koliou A, Akkelidou D: Surveillance and control of aflatoxins B1, B2, G1, G2, and M1 in foodstuffs in the Republic of Cyprus: 1992-1996. *J AOAC Int*, **82**: 883-892, 1999.
8. Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1881/2006 της Επιτροπής της 19ης Δεκεμβρίου 2006 για καθορισμό μέγιστων επιτρεπτών επιπέδων για ορισμένες ουσίες οι οποίες επιμολύνουν τα τρόφιμα. *Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης*, L 364/15, 2006.
9. Κουρουσέκος ΓΔ, Μπελιμπασάκη Σ, Σαράτσης Φ, Λυμπερόπουλος Α, Μπόσκος Κ: Παρουσία της αφλατοξίνης M1 στο νωπό γάλα αγελάδων γαλακτοπαραγωγής στην ευρύτερη περιοχή της Θεσσαλονίκης. 10ο Πανελλήνιο Κτηνιατρικό Συνέδριο, Αθήνα, 40, 2006.
10. Μάντης Α: Υγιεινή και τεχνολογία του γάλακτος και των προϊόντων του. Θεσσαλονίκη, 1993.

11. Roussi V, Govaris A, Varagouli A, Botsoglou NA: Occurrence of aflatoxin M1 in raw and market milk commercialized in Greece. *Food Addit Contam*, **19**: 863-868, 2002.
12. Tsakalof A, Lymberopoulos AG, Dobrota M: High-performance liquid chromatography-electrospray ionisation mass spectrometry as a sensitive method for determination of mycotoxin zearalenone in food. 3ο Πανελλήνιο Συνέδριο Τοξικολογίας, Ηράκλειο, Κρήτη, pp 54, 2002.
13. Tsakmakidis IA, Lymberopoulos AG, Vainas E, Boscós CM, Kyriakis SC, Alexopoulos C: Study on the in vitro effect of zearalenone and alpha-zearalenol on boar sperm-zona pellucida interaction by hemizona assay application. *J Appl Toxicol*, **27**: 498-505, 2007.
14. Tsakmakidis IA, Lymberopoulos AG, Alexopoulos C, Boscós CM, Kyriakis SC: *In vitro* effect of zearalenone and alpha-zearalenol on boar sperm characteristics and acrosome reaction. *Reprod Domest Anim*, **41**: 394-401, 2006.
15. www.chem.uoa.gr/chemicals/chem_aflatoxins
16. Ζυγογιάννης Δ: Προβατοτροφία. Θεσσαλονίκη, 1999.
17. Ζυγογιάννης Δ και Κατσαούνης Ν: Γιδοτροφία. Θεσσαλονίκη, 1992.
18. Γαλανοπούλου Ν, Ζαμπετάκης Γ, Μαυρή Μ, Σιαφάκα Α: "Διατροφή και Χημεία Τροφίμων", Εκδόσεις Σταμούλης, Αθήνα 2007, σ. 289.
19. Food Safety Laboratory (FSL): "Aflatoxin".
20. Lillard-Roberts S: "Symptoms of Fungal Exposure (Mycotoxicosis)".
21. Bommakanti AS, Farid Waliyar F (FSL): "Importance of aflatoxins in human and livestock health".
22. Food Safety Laboratory (FSL): "ELISA for the estimation of aflatoxins".
23. www.foodsafety.pblogs.gr/2008/10/mykotoxines
24. Appelgren LE and Arora RG: Distribution studies of ¹⁴C-labelled aflatoxins B1 and ochratoxin A in pregnant mice. *Vet Res Commun*, **7**: 141-144, 1983.
25. Howarth B and Wyatt RD: Effect of dietary aflatoxin on fertility, hatchability, and progeny performance of broiler breeder hens. *Appl Environ Microbiol*, **31**: 680-684, 1976.
26. Clark and Ottinger H,: Effect of aflatoxin B1 on cocks ,polyribosomes and protein synthesis in the rat. *Chem Biol Interact*, **18**: 69-82, 1987.