

ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ



ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

# ΜΥΚΟΤΟΞΙΝΕΣ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

ΦΟΙΤΗΤΡΙΑ: ΚΑΤΙΑ ΣΤΑΜΑΤΑΚΗ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΔΡ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΑΝΤΩΝΟΠΟΥΛΟΣ

Καλαμάτα, 2013

## **Ευχαριστίες**

Από το σημείο αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Δρ Δημήτριο Αντωνόπουλο για την πολύτιμη βοήθειά του τόσο κατά τη συλλογή των δεδομένων της πτυχιακής μελέτης, όσο και κατά τη βιβλιογραφική εκπόνησή της.

## Περίληψη

Οι μυκοτοξίνες είναι ιδιαίτερα τοξικές ουσίες που παράγονται από συγκεκριμένα είδη μυκήτων. Περίπου το 20 % των τροφίμων είναι δυνατόν να επιμολυνθούν με μυκοτοξίνες και κυρίως τα δημητριακά, ξηροί καρποί, αποξηραμένα φρούτα, καφέ, μπαχαρικά, σπορέλαια, αρακά, φασόλια, και φρούτα. Οι μυκοτοξίνες απαντώνται επίσης στην μύρα και στο κρασί, καθώς και σε τρόφιμα ζωικής προέλευσης, όπως το γάλα, το τυρί, το αυγό και οφείλονται στην κατανάλωση από τα ζώα επιμολυσμένων ζωοτροφών. Οι κυριότεροι παράγοντες που επιδρούν στην παραγωγή αυτών των τοξινών από τους μύκητες είναι η θερμοκρασία, η υγρασία, το pH και η έκταση/μέγεθος προσβολής των φυτειών και τροφίμων από τους εν λόγω μύκητες.

Οι βλαπτικές επιδράσεις των μυκοτοξινών στην υγεία των ζώων καθορίζονται από το είδος της μυκοτοξίνης, το βαθμό επιμόλυνσης στη ζωοτροφή, το ποσοστό της επιμολυσμένης ζωοτροφής στο συνολικό σιτηρέσιο, τη διάρκεια χορήγησης, το είδος, το φύλλο, την ηλικία και την υγεία του ζώου. Γενικά, τα ζώα μικρής ηλικίας και εκείνα που κυοφορούν είναι τα πιο ευαίσθητα.

Ειδικότερα, στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η δομή των κυριότερων μυκοτοξινών που απαντώνται στα τρόφιμα φυτικής προέλευσης, καθώς επίσης έλαβε χώρα αναφορά στη σχέση δομής-τοξικότητας για ορισμένες μυκοτοξίνες. Τα δομικά χαρακτηριστικά που εμφανίζουν οι μυκοτοξίνες από διάφορες ομάδες χαρακτηρίζουν την τοξικότητα που εμφανίζουν στα βιολογικά συστήματα, καθώς επίσης στην υγεία του ανθρώπου και των ζώων. Παράλληλα, διάφορες τεχνικές της αναλυτικής χημείας χρησιμοποιούνται σήμερα για την ανίχνευση της ποσότητας κάθε μυκοτοξίνης, που ενδεχομένως να υφίσταται σε κάποιο τρόφιμο προς κατανάλωση.

Αναμφισβήτητα, ο ουσιαστικότερος τρόπος αντιμετώπισης των μυκοτοξινών είναι η πρόληψη του σχηματισμού τους. Η διατήρηση μιας υγιούς φυτείας, με τη δημιουργία ευνοϊκών συνθηκών για την ανάπτυξη των φυτών και την ελαχιστοποίηση των παραγόντων που ενδεχομένως να προκαλέσουν καταπόνηση στα φυτά, καθώς και η δημιουργία κατάλληλων συνθηκών αποθήκευσης των δημητριακών/ ελαιούχων σπόρων/ καρπών/ συνθετικών ζωοτροφών, περιορίζουν την προσβολή των φυτών και φυτικών προϊόντων τους από μύκητες στον αγρό και στους χώρους αποθήκευσης. Η ισχυρή τοξική δράση των μυκοτοξινών και η ενοχοποίησή τους για την εμφάνιση διαφόρων μορφών καρκίνου, οδήγησαν πολλά Κράτη στη θέσπιση ανωτάτων επιτρεπτών ορίων στις ζωοτροφές και στα τρόφιμα.

## Περιεχόμενα

<b>ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b>	5
<b><u>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1</u> Γενικά περί μυκοτοξινών</b>	7
1.1 Ιστορική αναδρομή	7
1.2 Ορολογία	8
1.3 Φυτικά τρόφιμα επιμολυσμένα με μυκοτοξίνες	9
1.4 Παράγοντες που επιδρούν στην παραγωγή μυκοτοξινών	10
1.5 Κυριότερα γένη μυκήτων με τοξιγόνο ικανότητα	11
1.6 Κατηγορίες μυκοτοξινών	13
1.7 Τοξικότητα των μυκοτοξινών	22
1.8 Επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου και των ζώων από τις μυκοτοξίνες	30
<b><u>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2</u> Γενικές στρατηγικές των μυκοτοξινών</b>	37
2.1 Πριν την συγκομιδή των αγροτικών προϊόντων	37
2.2 Κατά τη διάρκεια της συγκομιδής των αγροτικών προϊόντων	38
2.3 Μετά την συγκομιδή των αγροτικών προϊόντων	39
2.4 Μεταφορά των αγροτικών προϊόντων	40
2.5 Επεξεργασία	41
<b><u>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3</u> Αναλυτικές τεχνικές που χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό της ποσότητας των μυκοτοξινών στα αγροτικά τρόφιμα</b>	42
3.1 Μέθοδοι για τον ταυτόχρονο προσδιορισμό μυκοτοξινών στα τρόφιμα	43
<b><u>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4</u> Νομοθεσία</b>	45
4.1 Ευρωπαϊκή Νομοθεσία	45
4.2 Παγκόσμια Νομοθεσία	48
<b>ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b>	51
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	51

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι μυκοτοξίνες είναι από τις σπουδαιότερες και πιο συχνά ευρισκόμενες τοξίνες σε εισαγόμενα και εγχώρια γεωργικά προϊόντα και τρόφιμα. Αποτελούν προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού των μυκήτων και παράγονται συνήθως κατά το τελευταίο στάδιο της ανάπτυξής τους πάντα μετά από τη διαδικασία του σχηματισμού των σπορίων τους. Μπορούν να βρεθούν σε προϊόντα τόσο ζωικής, όσο και φυτικής προέλευσης. Για το λόγο αυτό, ο προσδιορισμός τους επιβάλλεται από Κοινοτικές οδηγίες. Τα όριά τους ποικίλουν ανάλογα με το προϊόν και την τοξίνη που προσδιορίζεται. Επειδή το πρόβλημα των μυκοτοξινών θεωρείται πάρα πολύ σοβαρό, καθώς δημιουργούν πολλά προβλήματα υγείας, όπως επιπλοκές στο ήπαρ, στην καρδιά, στο αίμα, στο μυελό των οστών κ.ά., θεωρείται απαραίτητη τόσο η ανίχνευση, όσο και ο προσδιορισμός τους. Έχει διαπιστωθεί από πειράματα σε πειραματόζωα, ότι επίπεδα μυκοτοξινών χαμηλότερα ακόμη και από 1 ppm είναι ικανά να προκαλέσουν συμπτώματα δηλητηρίασης. Οι έλεγχοι που δημιουργούνται από τις αρμόδιες υγειονομικές αρχές σχεδόν καθημερινά φέρνουν στην επιφάνεια κρούσματα μη παραδεκτών συνθηκών παρασκευής, διακίνησης, αποθήκευσης και διάθεσης τροφίμων με συνέπεια την απειλή της δημόσιας υγείας, κλονίζοντας την εμπιστοσύνη των καταναλωτών και θέτοντας ακόμα υψηλότερα τον πήχη της ποιότητας και της ασφάλειας. Για τους λόγους αυτούς, τα τελευταία χρόνια παρατηρείται συνεχώς αυξανόμενο ενδιαφέρον από την πλευρά των καταναλωτών για την ποιότητα, την ασφάλεια και τη διατροφική αξία των τροφίμων.

Ταυτόχρονα, μια μεγάλη μερίδα των καταναλωτών είναι πολύ καλά ενημερωμένη σχετικά με την ευεργετική επίδραση που μπορεί να έχουν τα τρόφιμα ή κάποια συστατικά αυτών στην ανθρώπινη υγεία, ενώ παράλληλα γίνεται όλο και περισσότερο καχύποπτη ως προς τα ενδεχόμενα προβλήματα υγείας που πιθανόν να προκαλούν κάποια άλλα συστατικά τροφίμων (συντηρητικά). Έτσι, χρόνο με το χρόνο καθίσταται περισσότερο εμφανής η σχέση τροφίμων και ανθρώπινης υγείας.

Επί πλέον παρατηρείται μια στροφή των καταναλωτών προς τα παραδοσιακά τρόφιμα, τα οποία τις περισσότερες φορές χαρακτηρίζονται από καλύτερες οργανοληπτικές και διατροφικές ιδιότητες από ότι τα βιομηχανοποιημένα, ενώ τους αποδίδονται και ιδιαίτερα ευεργετικές ιδιότητες σε σχέση με την υγεία του ανθρώπου. Σύμφωνα με τις τάσεις αυτές είναι δεδομένη η πρόκληση τόσο για τους ερευνητές που ασχολούνται με τον τομέα της επιστήμης και τεχνολογίας τροφίμων και διατροφής, όσο και για τη βιομηχανία τροφίμων να ανταποκριθούν

στις απαιτήσεις των καιρών για οικονομικότερη και αποδοτικότερη διεξαγωγή χημικών διεργασιών.

Η παραγωγή τροφίμων υψηλής οργανοληπτικής ποιότητας, υψηλής χημικής και μικροβιολογικής ασφάλειας, με ελάχιστη φυσικοχημική επεξεργασία και βελτιωμένες φυσικοχημικές ιδιότητες, υψηλής διατροφικής αξίας, με συγκεκριμένες ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία του ανθρώπου, απαιτεί μια ολιστική προσέγγιση της διατροφικής αλυσίδας, όπου ο άνθρωπος, το περιβάλλον και τα τρόφιμα θα πρέπει να θεωρηθούν ισοδύναμοι κρίκοι.

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Γενικά περί μυκοτοξινών

## 1.1 Ιστορική αναδρομή

Η παθογόνος ικανότητα ορισμένων μυκήτων στα φυτά έχει παρατηρηθεί από την αρχή της γεωργίας. Ακόμα και στα πρώτα στάδια της γεωργίας, οι αγρότες είχαν παρατηρήσει πως η κατανάλωση μουχλιασμένων καρπών ή δημητριακών είχε σαν αποτέλεσμα την εμφάνιση ασθενειών. Αναφέρεται, ότι πολλές από τις μάστιγες της κεντρικής Ευρώπης έχουν συνδεθεί με την κατανάλωση ψυμένου ψωμιού από μουχλιασμένα σιτηρά. Η πρώτη αναφορά τους στη βιβλιογραφία γίνεται στη δεκαετία του 1960, όπου στη Μεγάλη Βρετανία πέθαναν πάνω από εκατό χιλιάδες γαλοπούλες από άγνωστη, τότε, αιτία και παρέμεινε το περιστατικό στην ιστορία ως «Turkey-X disease» (Miller J.D. & Trenholm H.L., 1994). Μεταγενέστερα, εντοπίστηκε η αιτία της θνησιμότητας των εν λόγω πτηνών, που ήταν η κατανάλωση ζωοτροφών που περιείχαν δευτερογενείς μεταβολίτες του μύκητα *Aspergillus flavus*. Αυτό έκανε τους επιστήμονες να σκεφτούν, ότι πιθανόν να υπάρχουν δύσκολα ανιχνεύσιμοι μεταβολίτες που προέρχονται από μούχλα, οι οποίοι μπορεί να προκαλέσουν ακόμα και θάνατο. Έτσι, οι επιστήμονες επινόησαν τον όρο *μυκοτοξίνη*, για να περιγράψουν αυτή την τοξική συμπεριφορά που παρατηρήθηκε για αυτούς τους δευτερογενείς μεταβολίτες. Σύντομα η κατηγορία των μυκοτοξινών συμπεριέλαβε πλήθος από ήδη γνωστές τοξίνες που προέρχονταν από μύκητες (ερισυβώση αλκαλοειδή, ergot alkaloids), καθώς και κάποιες ενώσεις που αρχικά είχαν απομονωθεί ως αντιβιοτικά (π.χ. πατουλίνη), καθώς ακόμα και ένα πλήθος από καινούριους, για εκείνη την εποχή, δευτερογενείς μεταβολίτες (π.χ. ωχρατοξίνη Α). Στις δεκαετίες 1960 και 1970, παρατηρήθηκε μία εντατική έρευνα γύρω από τη μελέτη των μυκοτοξινών. Συνολικά έχουν βρεθεί σήμερα 300-400 ενώσεις που χαρακτηρίζονται ως μυκοτοξίνες, εκ των οποίων οι 20 από αυτές έχει αποδειχθεί ότι απαντώνται στις τροφές σε συχνότητα και σε επίπεδα τέτοια, ώστε να θεωρούνται απειλή για την υγεία των ζώων και των ανθρώπων (Bennett J.W. & Klich M., 2003).

Οι μύκητες είναι οργανισμοί που δεν έχουν χλωροφύλλη. Εμφανίζονται ως απλοί μονοκύτταροι ή πολυκύτταροι οργανισμοί, οι οποίοι σχηματίζουν διαφόρων ειδών καρποφορίες. Κατά την ανάπτυξή τους, παράγουν ένα ευρύ φάσμα φυσικών βιοδραστικών προϊόντων, τους μεταβολίτες. Ορισμένοι από τους μεταβολίτες τους, είναι επιβλαβείς για τον άνθρωπο, όπως οι μυκοτοξίνες, ενώ άλλοι είναι επικερδείς όπως τα αντιβιοτικά (Calvo A.M., Wilson R.A., Bok J.W. & Keller N.P., 2002).

## **1.2 Ορολογία**

Η λέξη μυκοτοξίνη είναι σύνθετη και χωρίζεται στον όρο *μυκο-*, που προέρχεται από τη λέξη μύκητα, και *-τοξίνη*, που σημαίνει τοξικό σε βιολογικά συστήματα. Οι μυκοτοξίνες είναι μεταβολίτες (υποπροϊόντα) του δευτερογενούς μεταβολισμού των μυκήτων, οι οποίες παράγονται καθώς ο μύκητας αναπτύσσεται παρασιτικά στον ξενιστή που έχει προσβάλλει. Οι μυκοτοξίνες ονομάζονται, «δευτερογενείς μεταβολίτες», διότι δεν φαίνεται να είναι απαραίτητες για τη φυσιολογική, βιοχημική και αναπαραγωγική δραστηριότητα του κυττάρου. Παράγονται κατά τον κυτταρικό κύκλο από πρόδρομες ενώσεις, που προέρχονται από τον πρωτογενή μεταβολισμό. Αν και έχουν αναπτυχθεί αρκετές θεωρίες για την παραγωγή των μυκοτοξινών (ανταγωνιστική αναστολή, μολυσματικοί παράγοντες), ο μηχανισμός/μηχανισμοί παραγωγής αυτών των δευτερογενών μεταβολιτών είναι μάλλον άγνωστος. Ωστόσο, είναι αρκετά γνωστός ο τρόπος με τον οποίο παράγονται, κατά τη διάρκεια της σταθερής φάσης, της ανάπτυξης του μύκητα ή υπο συνθήκες καταπόνησης (stress) (Blackwell B.A. & Savard M.E., 2000)

Μεγάλο ρόλο για την ανάπτυξη των μυκοτοξινών παίζει το κλίμα, συνεπώς η συγκέντρωσή τους δεν είναι χρονικά σταθερή. Έχει παρατηρηθεί, ότι η ανάπτυξη του μύκητα ευνοείται όταν τα προσβεβλημένα φυτικά όργανα υφίστανται καταπόνηση από καιρικά φαινόμενα (π.χ μακρά διάρκεια ξηρασίας ακολουθούμενη από ισχυρή βροχόπτωση), ή όταν υποστεί βλάβη από πουλιά, έντομα ή ακόμα όταν υπάρχει ανταγωνισμός με άλλα βότανα (παράσιτα). Όλες αυτές οι συνθήκες προκαλούν αδυναμία στον καρπό και δίνουν την ευκαιρία στα σπόρια και υφές του μύκητα να τον προσβάλλουν. Η ανάπτυξη του μύκητα ευνοείται επίσης, όταν η αποθήκευση των προσβεβλημένων φυτικών οργάνων γίνεται σε συνθήκες υψηλής υγρασίας.

Αξίζει να σημειωθεί, ότι η παρουσία μυκήτων δεν υποδηλώνει πάντα την ύπαρξη μυκοτοξινών. Με άλλα λόγια, ο μύκητας μπορεί να υπάρχει, αλλά να μην παράγει μυκοτοξίνες. Επιπλέον, η απουσία μύκητα δεν αποκλείει την ύπαρξη μυκοτοξίνης, αφού ο μύκητας μπορεί να προϋπήρχε και να έχει παράγει την τοξίνη σε προηγούμενο στάδιο παραγωγής ή επεξεργασίας της τροφής. Η μυκοτοξίνη μπορεί να παραμείνει στην τροφή πολύ μετά το θάνατο του μύκητα χωρίς να καταστραφεί ή υποστεί οποιαδήποτε αλλοίωση υπό κανονικές συνθήκες (Bennett J.W. & Klich M., 2003)



Οι μυκοτοξίνες είναι δύσκολο να ταξινομηθούν των ποικίλων χημικών δομών που τις χαρακτηρίζουν, των διαφορετικών βιοσυνθετικών μηχανισμών που ακολουθούν, των αναρίθμητων βιολογικών αποτελεσμάτων που παρουσιάζουν καθώς και από το ευρύ φάσμα των μυκήτων από τους οποίους προέρχονται. Οι γιατροί τις κατατάσσουν με βάση του προσβεβλημένου ανθρώπινου οργάνου. Έτσι, οι μυκοτοξίνες ταξινομούνται ως ηπατοτοξικές, νεφροτοξικές, νευροτοξικές, ανοσοτοξικές κ.τ.λ.. Οι βιολόγοι τις κατατάσσουν σε γενικότερες κατηγορίες, ικανές να προκαλέσουν τερατογένεση, μετάλλαξη, καρκινογένεση και αλλεργία. Οι χημικοί τις ταξινομούν με βάση τη χημική δομή τους (λακτόνες, κουμαρίνες), οι βιοχημικοί με βάση τη βιοσυνθετική προέλευσή τους (πολυκετίδια, παράγωγα αμινοξέων) και οι μυκητολόγοι με βάση τους μύκητες από τους οποίους προέρχονται. Η αφλατοξίνη για παράδειγμα, είναι ηπατοτοξική, ικανή να προκαλέσει μετάλλαξη και καρκινογένεση. Περιέχει δύο φουράνια, προέρχεται από το μεταβολικό μονοπάτι των πολυκετιδίων, και παράγεται από το μύκητα *Aspergillus*. Από τα παραπάνω, φαίνεται ότι, η περιγραφή μιας και μόνο μυκοτοξίνης περιλαμβάνει εκτεταμένη ορολογία δεδομένου, ότι πολλοί ερευνητές από διαφορετικές ειδικότητες παρατηρούν και εμπλουτίζουν τη γνώση επι αυτών των φυσικώς απαντώμενων τοξίνων (Bennett J.W., Klich M., 2003).

### **1.3 Φυτικά τρόφιμα επιμολυσμένα με μυκοτοξίνες**

Περίπου το 20 % των τροφίμων είναι δυνατόν να επιμολυνθούν με μυκοτοξίνες, με κυριότερα είδη τα δημητριακά, τους ξηρούς καρπούς, τα αποξηραμένα φρούτα, τον καφέ, τα μπαχαρικά, τα σπορέλαια, τον αρακά, τα φασόλια, και τα φρούτα. Οι μυκοτοξίνες απαντώνται επίσης στην μύρα και στο κρασί, καθώς και σε τρόφιμα ζωικής προέλευσης, όπως το γάλα, το τυρί, το αυγό και οφείλονται στην κατανάλωση από τα ζώα επιμολυσμένων ζωοτροφών. Εμφανίζονται επίσης σε ζωοτροφές που έχουν σα βάση τα δημητριακά και τους ελαιούχους σπόρους. Οι μυκοτοξίνες μπορούν να εμφανιστούν στα τρόφιμα ως αποτέλεσμα της μυκητολογικής μόλυνσής τους κατά τη συγκομιδή, παραδείγματος χάριν ασθένειες που οφείλονται στους μύκητες του γένους *Fusarium* στα δημητριακά, ή να μολυνθούν κατά την αποθήκευση των αγροτικών προϊόντων.

#### 1.4 Παράγοντες που επιδρούν στην παραγωγή μυκοτοξινών

Η ανάπτυξη και παραγωγή των μυκοτοξινών μπορεί να πραγματοποιηθεί στη διάρκεια της καλλιέργειας του φυτού και συνήθως σχετίζεται με τη μη τάχιση αποξήρανση του φυτικού οργάνου ή αποθήκευσης σε συνθήκες, που ευνοούν την ανάπτυξη των μυκήτων (Εικόνα 1). Ειδικότερα αυτοί οι παράγοντες είναι οι εξής:

- ✓ θερμοκρασία (7,5-40°C),
- ✓ υγρασία (>80% σχετική υγρασία),
- ✓ φως (μεγαλύτερη παραγωγή σε συνθήκες σκότους),
- ✓ pH (ιδανικό: 4-4,6),
- ✓ υπόστρωμα (ευνοϊκό υπόστρωμα είναι τα προϊόντα 'φυτικής προέλευσης),
- ✓ παρουσία μυκοστατικών ουσιών (NaCl, σορβικό οξύ, καφεΐνη, θεοφυλλίνη, κ.ά.).



**Εικόνα 1:** Προσβολή πορτοκαλιού από τους μύκητες *Penicillium italicum* και *P. Digitatum* ([http://www.chem.uoa.gr/chemicals/chem\\_penicillin.htm](http://www.chem.uoa.gr/chemicals/chem_penicillin.htm)). Η προσβολή του από τους ανωτέρω μύκητες ξεκίνησε στον αγρό και οι εν λόγω μύκητες αναπτύχθηκαν περαιτέρω (πράσινη και μπλε εξάνθιση αντίστοιχα, αποτελούμενη από μυκήλιο, κονιδιοφόρους και κονίδια) και κατά την αποθήκευσή του πορτοκαλιού σε συνθήκες ευνοϊκές, για την ανάπτυξη των εν λόγω μυκήτων.

## 1.5 Κυριότερα γένη μυκήτων με τοξικογόνο ικανότητα

### α) Τοξίνες που παράγονται από μύκητες του γένους *Aspergillus*

Οι μύκητες του γένους *Aspergillus* (Εικόνα 2) απαντώνται σε πολλές περιοχές του κόσμου, ιδιαίτερα σε περιοχές με τροπικό κλίμα. Το εν λόγω γένος περιέχει πολλά είδη μυκήτων ικανά να αναπτυχθούν σε χαμηλές θερμοκρασίες. Περιλαμβάνει περισσότερα από 100 γνωστά, πολλά από τα οποία είναι υπαίτια, για την παραγωγή μυκοτοξινών. Οι μυκοτοξίνες αυτού του γένους με τη μεγαλύτερη σημασία είναι η αφλατοξίνη Β1 (aflatoxin B1, AFB1), η ωχρατοξίνη Α (ochratoxin A), στεριγματοκυστίνη (sterigmatocystin), το κυκλοπιαζονικό οξύ (cyclopiazonic acid), η κιτρινίνη (citrinin), η πατουλίνη (patoulin) και οι τρομογόνες μυκοτοξίνες (tremorgen Group mycotoxins). Αν και έχει αποδειχτεί η καρκινογόνος δράση της αφλατοξίνης Β1, θα πρέπει να σημειωθεί ότι μερικά από τα είδη του γένους *Aspergillus*, έχουν και ωφέλιμες εφαρμογές, όπως η παραγωγή αφεψημάτων.



**Εικόνα 2:** Καλαμπόκι προσβεβλημένο από το μύκητα *Aspergillus flavus* ([http://petridis58.blogspot.gr/2012/01/blog-post\\_22.html](http://petridis58.blogspot.gr/2012/01/blog-post_22.html)). Η προσβολή του από το μύκητα επετεύχθη, λόγω ύπαρξης χαμηλών θερμοκρασιών

### β) Τοξίνες του γένους *Penicillium*

Το γένος *Penicillium* περιλαμβάνει 150 περίπου γνωστά είδη μυκήτων. Η ανακάλυψη της πενικιλίνης το 1929 αποτέλεσε την αρχή για την ανακάλυψη και άλλων μεταβολιτών του γένους αυτού με αντιβιοτικές ιδιότητες. Τουλάχιστον 100 είδη μυκήτων από το γένος *Penicillium* έχουν χαρακτηριστεί ως υπεύθυνα για την παραγωγή μυκοτοξινών. Οι πιο γνώστες από τις

μυκοτοξίνες του γένους *Penicillium*, είναι οι ωχρατοξίνες A, B, C, η κίτρεοβιριδίνη (citreoviridin), η κίτρινη, το κυκλοπιαζονικό οξύ, η πατουλίνη, οι ρουμπρατοξίνες (rubratoxins A, B) και το πενικιλλικό οξύ (penicillic acid).

### **γ) Τοξίνες του γένους *Fusarium***

Τα είδη που παράγονται από τις τοξίνες του γένους αυτού είναι παθογόνα των φυτών και η ανάπτυξή τους πραγματοποιείται σε χαμηλές θερμοκρασίες. Μολύνουν καρπούς δημητριακών, ελαιούχους σπόρους και πιζέλια. Το γένος *Fusarium* παράγει τις περισσότερες μυκοτοξίνες σε σχέση με τα άλλα γένη των μυκήτων. Οι κυριότερες μυκοτοξίνες που παράγονται από μύκητες αυτού του γένους είναι οι φουμονισίνες (foumonisins), τα τριχοθεκένια (trichothecenes), η ζεαρελενόνη (zearalenone) κ.ά..

### **δ) Τοξίνες του γένους *Alternaria***

Το γένος αυτό βρίσκεται σε αφθονία στην ατμόσφαιρα, έδαφος και πρωτογενή γεωργικά προϊόντα. Τα είδη του γένους αυτού προσβάλλουν τα φυτά στον αγρό (σιτάρι, ζαχαροκάλαμο, κριθάρι), ενώ παράλληλα μπορούν να βρεθούν σε φρούτα και λαχανικά κατά την αποθήκευσή τους σε ψυγεία (Εικόνα 3) Περιλαμβάνουν τις τοξίνες αλτερναριόλη (alternariol), αλτενουένιο (altenuene), τενουαζονικό οξύ (tenuazonic acid) και τις αλτερτοξίνες (altertoxins) I, II.



**Εικόνα 3:** Αριστερά, προσβολή καρπών τομάτας στον αγρό από το μύκητα του γένους *Alternaria* και επιμόλυνσή τους από την τοξίνες που παράγει. Δεξιά, μυκήλιο, κωνιδιοφόροι και κόνidia (φραγμοσπόρια) του μύκητα *Alternaria* sp. (<http://www.extension.umn.edu/gardeninfo/diagnostics/vegetable/tomato/spotsonfruit.html>).

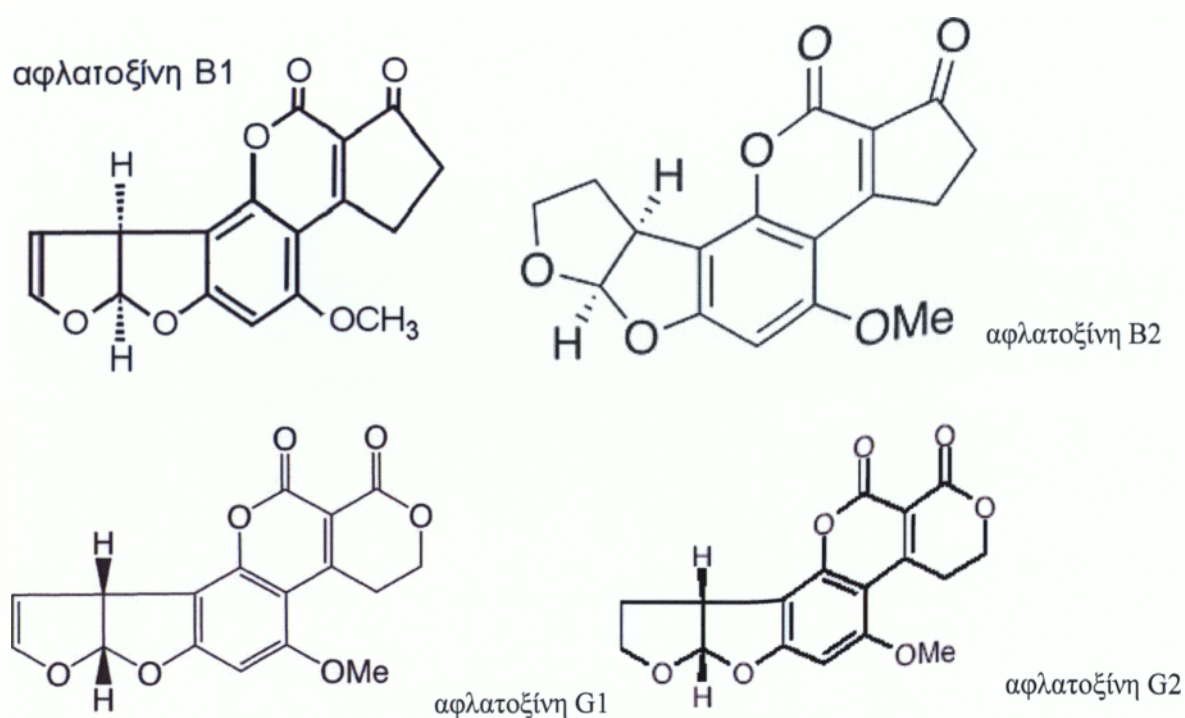
### **ε) Τοξίνες του γένους *Claviceps***

Οι τοξίνες του γένους *Claviceps* προσβάλλουν τους καρπούς των δημητριακών (σίκαλη και σιτάρι). Τα είδη του μύκητα αυτού αντικαθιστούν τα αναπαραγωγικά όργανα (σπόροι) με σκληρώτια, τα οποία περιέχουν τοξικά αλκαλοειδή. Η μόλυνση γίνεται κατά την περίοδο της άνθισης των φυτών προσβάλλοντας κυρίως τις ωσθήκες τους, αποτρέποντας έτσι την αναπαραγωγή τους. Το γένος περιλαμβάνει πολλά αλκαλοειδή παράγωγα του λυσεργικού οξέος (lysergic acid), καθώς και την εργοκριπτίνη (ergocryptine), εργοταμίνη (ergotamine), εργοσίνη (ergosine) και την εργονοβίνη (ergonovine).

## **1.6 Κατηγορίες μυκοτοξινών**

### **α) Αφλατοξίνες (aflatoxins)**

Μία από τις πιο εντατικά μελετημένες ομάδες μυκοτοξινών είναι αυτή των αφλατοξινών. Το όνομα *Aflatoxin*, προκύπτει από το A (*Aspergillus*) + FLA (*Flavus*) + Toxin. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, στις αφλατοξίνες αποδόθηκε ο θάνατος εκατό χιλιάδων γαλοπουλών στις αρχές του 1960 στη Βρετανία. Όταν ο υπό εξέταση καρπός μελετήθηκε με υπό υπεριώδη ακτινοβολία (UV) παρατηρήθηκε μπλε (μεταβολίτης B) και πράσινος (μεταβολίτης G) φθορισμός. Ο διαχωρισμός αυτών των δύο διαφορετικών ενώσεων με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (Thin layer chromatography, TLC) έδωσε δύο διαφορετικές ενώσεις για τους B και G μεταβολίτες. Η έρευνα απέδειξε ότι υπάρχουν τέσσερις φυσικά απαντώμενες αφλατοξίνες, οι B1, B2, G1, G2. Ο δείκτης υποδηλώνει τον τρόπο διαχωρισμό τους με τη TLC. Από τις τέσσερις αυτές μυκοτοξίνες, η αφλατοξίνη B1 βρίσκεται σε μεγαλύτερη αφθονία και είναι περισσότερο τοξική. Άλλα μέλη της ομάδας, παράγωγα των πρώτων, είναι οι αφλατοξίνες M1, M2, P1, Q1 και η αφλατοξιτόλη, οι οποίες είναι προϊόντα μεταβολισμού βιολογικών συστημάτων ή προϊόντα χημικών αντιδράσεων όπως οι B2a, G2a και D1. Οι αφλατοξίνες M1, M2 είναι ιδιαίτερης σημασίας για τον άνθρωπο καθώς αυτές έχουν βρεθεί στο γάλα. Παράγονται από τα θηλαστικά κατά την κατανάλωση τροφής επιμολυσμένης με αφλατοξίνες, όπου μέσω του μεταβολισμού βιομετασχηματίζονται. Οι κυριότεροι εκπρόσωποι της ομάδας παρουσιάζονται στο Σχήμα 1.1.



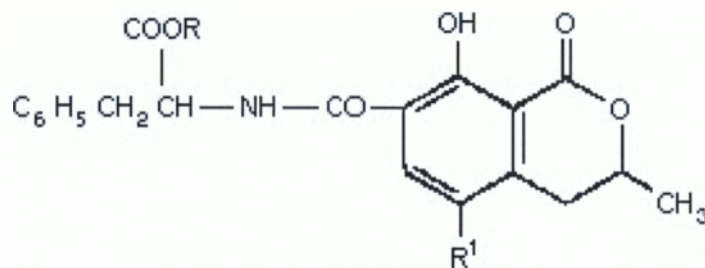
**Σχήμα 1.1:** Ο στερεο-χημικός τύπος των αφλατοξινών B1, B2, G1, G2 και M1.

Οι αφλατοξίνες μολύνουν τα μέρη του φυτού πριν την συγκομιδή, αλλά και κατά την αποθήκευσή του. Αυτές βρίσκονται σε μία πληθώρα από γεωργικά προϊόντα, όπως δημητριακά, σύκα, ελαιούχους σπόρους, καρύδια, καπνά κ.ά.. Περαιτέρω, οι *Aspergillus* spp. μπορούν να μολύνουν πολλά είδη καλλιεργειών συμπεριλαμβανομένων των φιστικιών, του καλαμποκιού, του βαμβακόσπορου, των καρυδιών της Βραζιλίας, των καρκευμάτων, της sorgas (ξηρά καρύδα), και των σύκων. Η μόλυνση ευνοείται στις ζεστές και υγρές περιοχές του κόσμου, όπως η Αφρική και μερικά μέρη της Κίνας. (European Mycotoxins Awareness Network)

## **β) Ωχρατοξίνες (Ochratoxins)**

Μία ακόμα ομάδα μυκοτοξινών που έχει κεντρίσει το ενδιαφέρον των επιστημών είναι αυτή των ωχρατοξινών. Σε αντίθεση με τις αφλατοξίνες, των οποίων η μελέτη κατέστη απαραίτητη έπειτα από την επιδημία που ξέσπασε στο Λονδίνο, οι ωχρατοξίνες ανακαλύφθηκαν στη νότιο Αφρική, έπειτα από εργαστηριακή έρευνα. Οι μύκητες που παράγουν τις ωχρατοξίνες βρίσκονται κυρίως σε τροπικά κλίματα. Από χημικής άποψης, οι ωχρατοξίνες αποτελούνται από μία κουμαρινική ομάδα η οποία ενώνεται μέσω μίας καρβοξυλικής ομάδας με την L-β-φαινολαλανίνη (Cole R.J. & Cox R.H., 1981)

Ο κύριος εκπρόσωπος αυτής της ομάδας είναι η ωχρατοξίνη Α (ΟΤΑ), ακολουθούν οι μεθυλικοί και οι αιθυλικοί εστέρες της, η ωχρατοξίνη Β με τους αντίστοιχους εστέρες και η 4-διϋδροξυωχρατοξίνη Α. Απαντώνται κυρίως στα δημητριακά, στο καλαμπόκι, στον καφέ, στην μύρα, στα αποξηραμένα φρούτα, στο κρασί, στο κακάο και στους ξηρούς καρπούς (European Mycotoxins Awareness Network). Στο Σχήμα 1.2 που ακολουθεί σημειώνεται ο στερεοχημικός τύπος της ωχρατοξίνης Α. Η απουσία του χλωρίου στη θέση C5 (Σχήμα 1.2) διαφοροποιεί την ωχρατοξίνη Α από την ωχρατοξίνη Β.

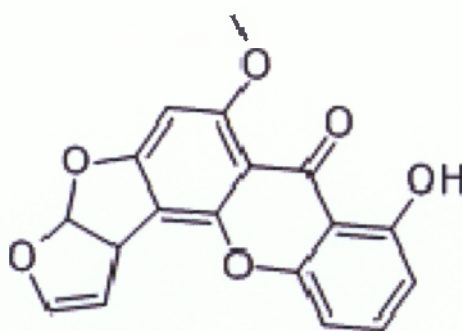


**Σχήμα 1.2:** Ο στερεοχημικός τύπος ωχρατοξίνης Α (ΟΤΑ).

Η ΟΤΑ μπορεί να ανιχνευθεί σε μία μεγάλη ποικιλία τροφίμων και ποτών, όπως τα δημητριακά, η μύρα, το κρασί, το κακάο, ο καφές, τις σταφίδες και τα καρυκεύματα, καθώς επίσης και σε μερικά προϊόντα κρέατος, ως αποτέλεσμα της μόλυνσης της ζωικής τροφής.

### **γ) Στεριγματοκυστίνες (Sterigmatocystins)**

Οι στεριγματοκυστίνες, είναι μία ομάδα μυκοτοξινών με παρόμοια χημικά χαρακτηριστικά με τους μεταβολίτες που παράγονται από τα γένη *Aspergillus* και *Bipolaris*. Χημικώς, χαρακτηρίζονται από μια ομάδα ξανθόνης, ενωμένης με μία ομάδα διϋδροδιφουρανίου ή τετραϋδροδιφουρανίου. Οι χημικές διαφορές ανάμεσα στα μέλη της ομάδας εντοπίζονται στην παρουσία ή όχι του διπλού δεσμού στις θέσεις C1 και C2, καθώς και στην υποκατάσταση στις θέσεις C3, C6, C7 και C10. Κύριος εκπρόσωπος της κατηγορίας αυτής είναι η στεριγματοκυστίνη (Σχήμα 1.3), η οποία, καθώς και άλλα μέλη της ομάδας αποτελούν πρόδρομες ενώσεις στη βιοσύνθεση των αφλατοξινών. Απαντώνται σε ακατέργαστες τροφές όπως σιτάρι, καρύδια, κριθάρι και ζωοτροφές (European Mycotoxins Awareness Network).

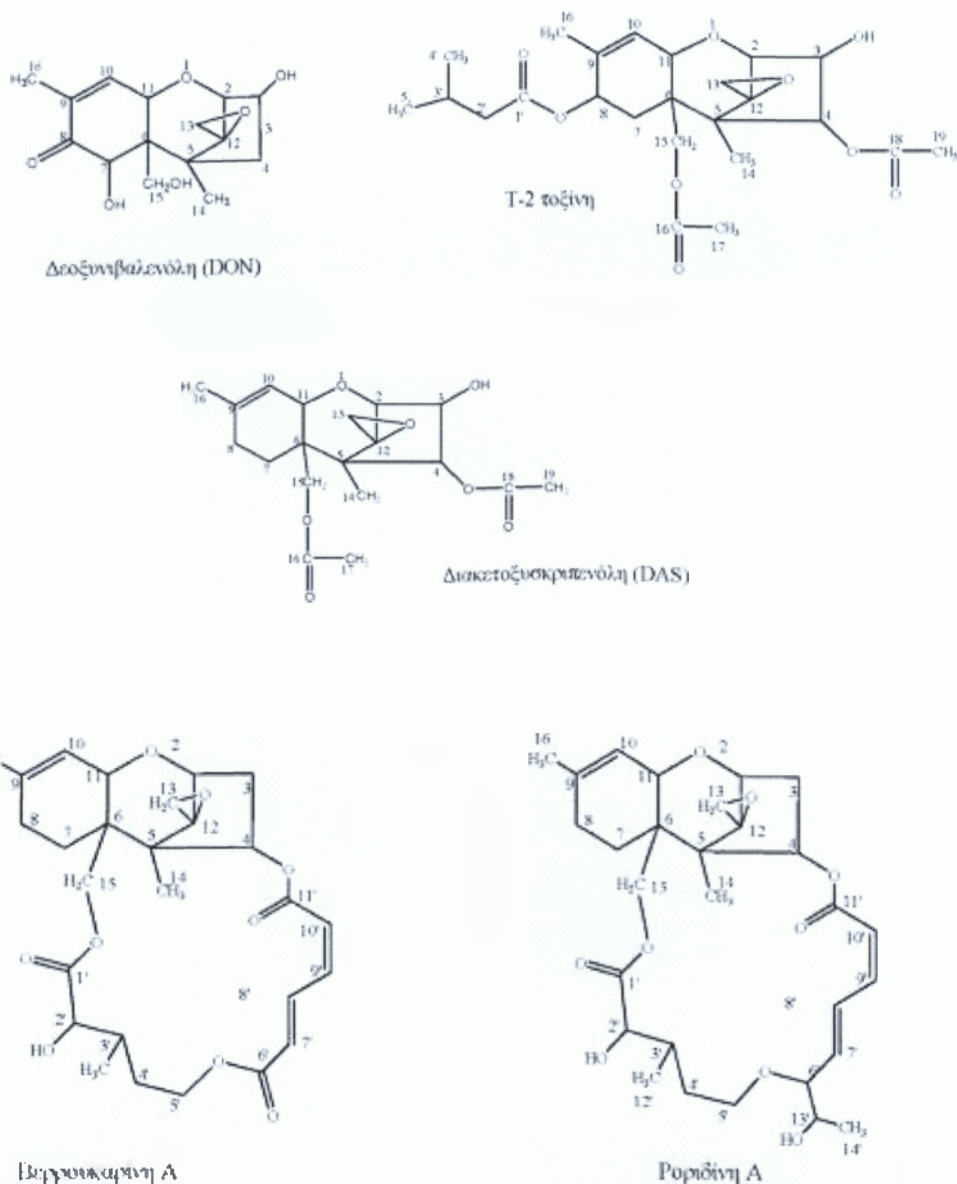


Σχήμα 1.3: Ο στερεοχημικός τύπος στεριγματοκυστίνης.

#### **δ) Τριχοθεκένια (Trichothecenes)**

Τα τριχοθεκένια, παράγονται από ένα μεγάλο εύρος μυκήτων όπως: *Fusarium*, *Myrothecium*, *Trichoderma*, *Trichothecium* και *Verticimonosporium*. Αποτελούνται από μία ομάδα σεσκιτερπενίων (τρεις ισοπροπενικές ομάδες) και χαρακτηρίζονται από το σκελετό 12,13-επόξυ-τριχοθεκένιο. Η ομάδα χωρίζεται σε τέσσερις υποκατηγορίες βάσει των χημικών χαρακτηριστικών τους. Οι πρώτες δύο διαφέρουν στην ύπαρξη (νιβαλελόλη, δεοξυνιβαλενόλη) ή όχι μια ομάδας καρβονυλίου στη θέση C8 (Τ-2 τοξίνη, διακετοξυσκριπενόλη). Οι άλλες δύο ομάδες είναι οι ροριδίνες (ροριδίνη Α) και οι βερρουκαρίνες (βερρουκαρίνη Α), όπου περιλαμβάνουν μία μακροκυκλική εστερική γέφυρα ανάμεσα στους άνθρακες στις θέσεις C4 και C15. Οι Ροριδίνες είναι μακροκυκλικοί διεστέρες της βερρουκαρόλης, ενώ οι βερρουκαρίνες είναι μακροκυκλικοί τριεστέρες της βερρουκαρόλης (Cole R.J. & Cox R.H., 1981) Μελέτες έχουν δείξει, ότι τα τριχοθεκένια απαντώνται κυρίως στα δημητριακά, στη μύρα, στις μπανάνες, στους ηλιόσπορους, στις μπανάνες και στα μανγκο. Στο Σχήμα 1.4 εμφανίζονται οι στερεοχημικοί τύποι των κυριότερων μυκοτοξινών αυτής της κατηγορίας.



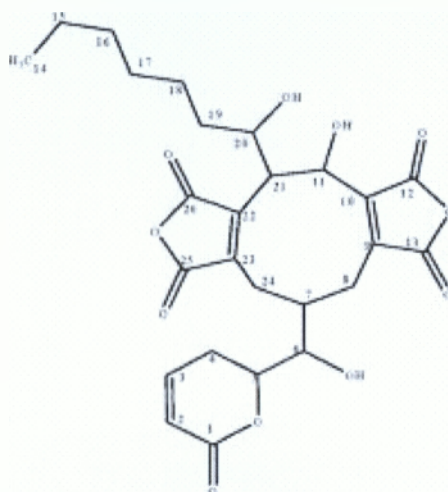


**Σχήμα 1.4:** Ο στερεοχημικός τύπος τριχοθεκινίων, δεοξυνιβαλενόλη (DON), T-2 τοξίνη, διακετοξυσκριπενόλη (DAS), βερρουκαρίνη Α και ροριδίνη Α.

### **ε) Ρουμπρατοξίνες (Rubratoxins)**

Η ομάδα αυτή περιλαμβάνει δύο μέλη τη ρουμπρατοξίνη Α και ρουμπρατοξίνη Β, με χημικό χαρακτηριστικό ένα ακόρεστο λακτονικό δακτύλιο και μία ομάδα (ρουμπρατοξίνη Α) ή δύο ομάδες (ρουμπρατοξίνη Β) ανυδριτών. Μελέτες έχουν δείξει, ότι η παρουσία ρουμπρατοξίνης Β, στα τρόφιμα είναι πιο συχνή σε σχέση με τη ρουμπρατοξίνη Α και ότι είναι πιο τοξική από

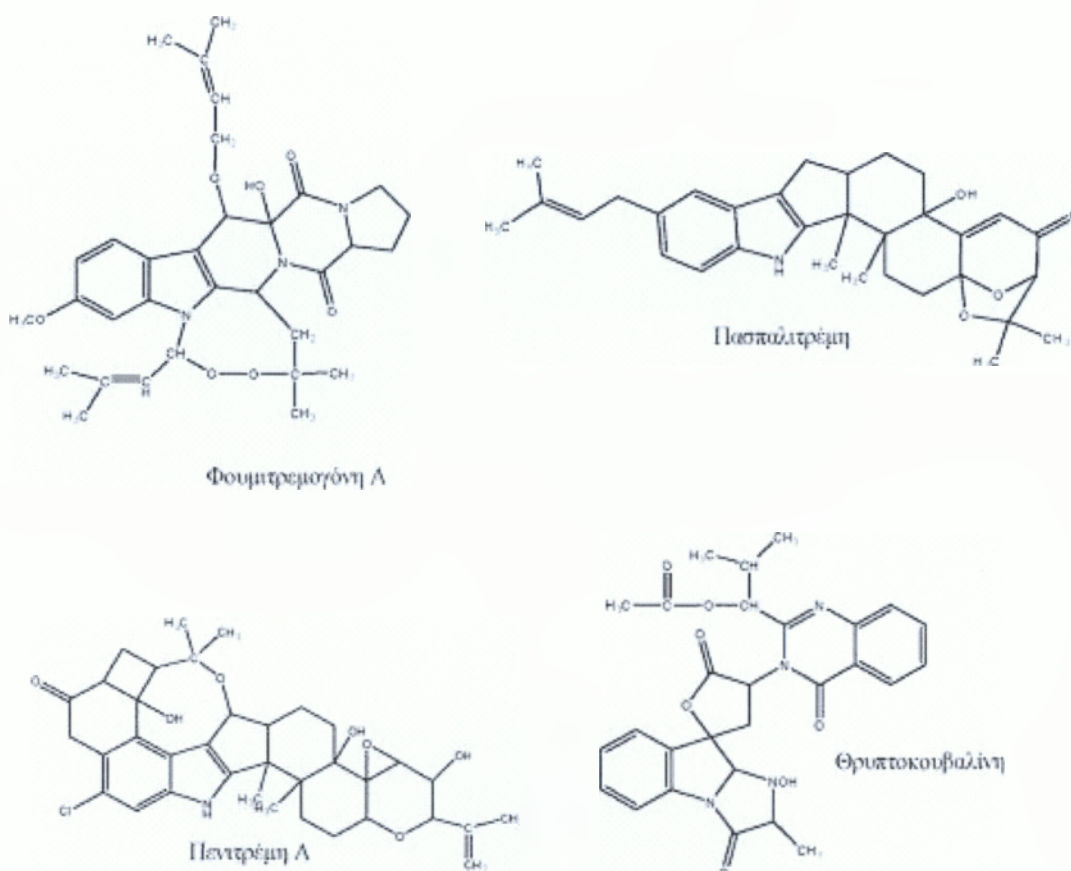
αυτήν (Cole R.J. & Cox R.H., 1981). Βρίσκεται στο έδαφος και προσβάλλει τις τροφές των ζώων, αλλά και πολλά γεωργικά προϊόντα, όπως όσπρια, δημητριακά, ξηρούς καρπούς, πίτουρο και ηλιόσπορους. Η ρουμπρατοξίνη Α διαφέρει από τη ρουμπρατοξίνη Β στην παρουσία υδροξυλίου στη θέση C25 (Σχήμα 1.5), εν αντιθέσει του καρβονυλίου που φέρει ρουμπρατοξίνη Β.



Σχήμα 1.5: Ο στερεοχημικός τύπος ρουμπρατοξίνης Β.

### **στ) Τρεμογόνες μυκοτοξίνες (tremogen group mycotoxins)**

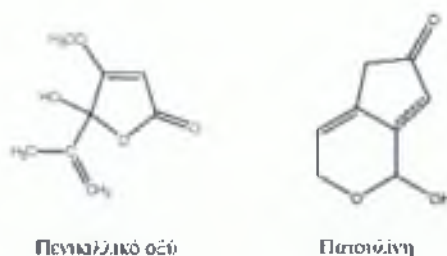
Η ολοένα και αυξανόμενη έρευνα για τις μυκοτοξίνες οδήγησε στην ανακάλυψη δευτερογενών μεταβολιτών ικανών να προκαλέσουν παρατεταμένα ή διακοπτόμενα ρίγη στα σπονδυλωτά. Ακόμα και πριν την ανακάλυψη της ομάδας αυτών των μυκοτοξινών ήταν γνωστό, ότι κάποιες χημικές ενώσεις προκαλούσαν ρίγη στα ζώα. Η ασθένεια αυτή εμφανίζεται κυρίως σε πρόβατα και βοειδή, τα οποία βόσκουν σε μόνιμα βοσκοτόπια, όπου τρέφονται με πολυετές χορτάρι λόλιο (*Lolium perenne*), από το οποίο παράγονται οι τρεμογόνες τοξίνες. Οι μυκοτοξίνες αυτής της κατηγορίας χωρίζονται σε τέσσερις ομάδες με βάση τη χημική τους συγγένεια: ομάδα της πενιτρίνης (penitrem), της φουμιτρεμογίνης-βερρουκουλογίνης (fumitremorgin-verruculogen), της ομάδα πασπαλιτρίνης (raspalitrem) και της θρυπτοκυβαλίνης (tryptoquivaline). Κοινό χαρακτηριστικό των παραπάνω ομάδων είναι η παρουσία του ινδολικού δακτυλίου το οποίο προέρχεται από τη θρυπτοφάνη (Cole R.J. & Cox R.H., 1981). Στο Σχήμα 1.6 απεικονίζονται ορισμένοι στερεοχημικοί τύποι ορισμένων αντιπροσωπευτικών μελών αυτής της οικογένειας των μυκοτοξινών.



**Σχήμα 1.6:** Οι στερεοχημικοί τύποι των φουμιτρεμογόνη Α, πασπαλιτρέμη Α, πενιτρέμης Α και θρυπτοκουβαλίνη Α.

### ζ) Τοξικές Λακτόνες (Toxic Lactones)

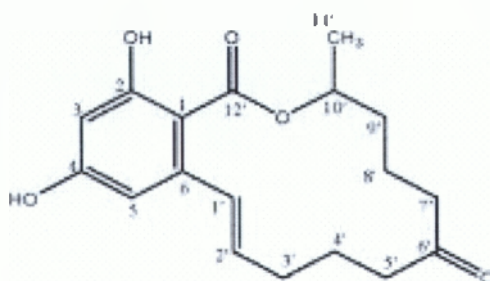
Χαρακτηριστικό αυτής της κατηγορίας είναι ο πενταμελής λακτονικός δακτύλιος της α-β-ακόρεστης γ-βουτυρολακτόνης. Η ομάδα περιλαμβάνει τα μέλη πατουλίνη, πενικιλικό οξύ και ασκλαδιόλη (ascladiol) (Cole R.J. & Cox R.H., 1981). Η πατουλίνη βρίσκεται κυρίως στα φρούτα όπως μήλα, αχλάδια, σταφύλια, καθώς και στους χυμούς αυτών. Το πενικιλικό οξύ είναι ένα τοξικό αντιβιοτικό και βρίσκεται κυρίως στο καλαμπόκι, στα αποξηραμένα φασόλια και στον καπνό. (European Mycotoxins Awareness Network). Στο Σχήμα 1.7 εμφανίζεται ο στερεοχημικός τύπος του πενικιλικού οξέος και της πατουλίνης.



Σχήμα 1.7 Ο στερεοχημικός τύπος πενικιλικού οξέος και της πατουλίνης.

### η) Ζεαραλενόνες (Zearalenones)

Οι ζεαραλενόνες είναι μία κατηγορία φαινολικών ενώσεων με δύο κύρια μέλη, τη ζεαραλενόνη και την πρόδρομο αυτής, τη ζεαραλενόλη. Χημικά χαρακτηρίζονται ως μία φαινολική λακτόνη του ρεσορκυκλικού οξέος (*resorcyclic acid*). Το όνομά τους προκύπτει από τον κύριο ξενιστή που προσβάλλει, το καλαμπόκι (*Zea mays*), από τη συντόμηση του ρεσορκυκλικού οξέος -ραλ-, από το διπλό δεσμό στις θέσεις C1 και C2 -εν- και από την ομάδα της κετόνης στη θέση C6 -όνη (Σχήμα 1.8). Παράγονται κυρίως σε ψυχρά και υγρά κλίματα κατά τη διάρκεια της συγκομιδής και αποθήκευσης. Το μεγάλο ενδιαφέρον για τη μελέτη τους έγκειται στο γεγονός, ότι είναι φυσικώς απαντώμενα οιστρογόνα. Έχει παρατηρηθεί, ότι προκαλούν ορμονικές διαταραχές στα ζώα, κυρίως στα χοιριοειδή. Βρίσκονται στα δημητριακά και σε πολλά πρωτογενή γεωργικά προϊόντα. Στα δημητριακά και στις ζωοτροφές μπορεί να βρεθούν και άλλα παράγωγα της ζεαραλενόνης, μεγαλύτερης οιστρογενικής δράσης, όπου μέσω βιοσυνθετικών αντιδράσεων να βρεθούν και σε άλλα τρόφιμα, όπως στο γάλα. Η πρόδρομος ένωση της ζεαραλενόνης, ζεαραλενόλη, διαφέρει από αυτήν στην παρουσία υδροξυλίου στη θέση C6 (Σχήμα 1.8).

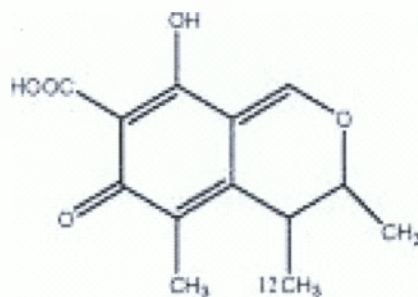


Σχήμα 1.8 Ο στερεοχημικός τύπος της ζεαραλενόνης.

Η ζεαραλενόνη απαντάται (παγκοσμίως) στους δημητριακούς καρπούς (σιτάρι, κριθάρι, σόγια, βρώμη, καλαμπόκι, κ.λπ.), όταν οι συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας κατά την αποθήκευσή τους ευνοούν την ανάπτυξη μυκήτων. Οι μύκητες του γένους *Fusarium* παράγουν τα υψηλότερα ποσοστά ZON σε σχετική υγρασία 45% και θερμοκρασία 20-25°C.

### **θ) Κιτρινίνη (Citrinin)**

Η Κιτρινίνη αρχικά απομονώθηκε από τον μύκητα *Penicillium citrinum*, το 1931 από όπου πήρε και το όνομά της. Είναι μία μέθυλο κινόνη, της οποίας οι κρύσταλλοι έχουν χρώμα κίτρινο λεμονί. Η κιτρινίνη βρίσκεται κυρίως στο ρύζι. Σε αυτήν είχε αποδοθεί η ασθένεια του «κίτρινου ρυζιού», που μάστιζε τις ασιατικές χώρες. Οι μύκητες που παράγουν την κιτρινίνη παράγουν αντίστοιχα και την ωχρατοξίνη Α. Για το λόγο αυτό, η παρουσία και των δύο στα δημητριακά είναι σύνθετες και η δράση τους συνεργαστική (European Mycotoxins Awareness Network). Στο Σχήμα 1.9 απεικονίζεται ο στερεοχημικός τύπος της κιτρινίνης.

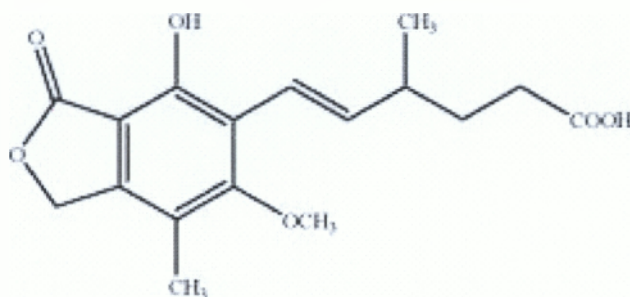


*Σχήμα 1.9:* Ο στερεοχημικός τύπος της κιτρινίνης.

### **ι) Μυκοφαινολικό οξύ (Mycophenolic acid)**

Το Μυκοφαινολικό οξύ παράγεται κυρίως από μύκητες του γένους *Penicillium*. Από χημικής άποψης αποτελείται από δύο συμπυκνωμένους δακτυλίους, μία βουτυρολακτόνη και μία τριϋποκατεστημένη βενζοφαινόλη. Η παρουσία του μυκοφαινολικού οξέος σε αποθηκευμένες ζωοτροφές αγγίζει το ποσοστό του 32 %. Το μυκοφαινολικό οξύ παρεμποδίζει τον πολλαπλασιασμό των λεμφοκυττάρων και αναστέλλει το σχηματισμό αντισώματος και την παραγωγή κυτοτοξινών Τ-κυτάρων. (Allison A.C., Eugui E.M.,2000) Για αυτό το λόγο, το μυκοφαινολικό οξύ έχει χρησιμοποιηθεί ως ανασοκατασταλτικό έπειτα από μεταμόσχευση οργάνων. Δεδομένου ότι η παρουσία του μυκοφαινολικού οξέος σε βιολογικά συστήματα

συνδυάζεται με υψηλή τοξικότητα, ο έλεγχος για την πιθανή παρουσία του στα τρόφιμα πρέπει να είναι εντατικός. Εντούτοις, σε καμία χώρα δεν έχει θεσπιστεί νομοθεσία για τα κατώτερα όρια ανίχνευσής του. Στο Σχήμα 1.10 απεικονίζεται ο στερεοχημικός του μυκοφαινολικού οξέος.



Σχήμα 1.10: Ο στερεοχημικός τύπος μυκοφαινολικού οξέος.

### **1.7. Τοξικότητα των μυκοτοξινών**

Ο άνθρωπος μπορεί να επιβαρυνθεί με μυκοτοξίνες από μολυσμένη με μύκητες τροφή ή μέσω της τροφικής αλυσίδας, δηλαδή από προϊόντα που παράγονται από ζώα (αυγά, κρέας, γάλα), τα οποία έχουν εκτραφεί από μουχλιασμένες ζωοτροφές. Η τοξική επίδραση των μυκοτοξινών στον άνθρωπο και στα ζώα είναι γνωστή ως μυκοτοξίκωση και η σφοδρότητά της εξαρτάται από την τοξικότητα της μυκοτοξίνης, το βαθμό της έκθεσης, την ηλικία, το φύλο και άλλους συνεργεστικούς παράγοντες. Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, η έκθεση του ανθρώπου σε τροφές μολυσμένες με μυκοτοξίνες έχει παρατηρηθεί από τα αρχαία χρόνια. Για παράδειγμα, στο μεσαίωνα υπήρξαν μαζικές εκδηλώσεις εργοτισμού από ερισυβώδη αλκαλοειδή, που παραγόταν από το μύκητα *Claviceps purpurea*. Ο εργοτισμός έφτασε στα ποσοστά της επιδημίας και οδήγησε πολλούς ανθρώπους της Κεντρικής Ευρώπης στον ακρωτηριασμό και στο θάνατο. Η ασθένεια είναι γνωστή σαν «η φωτιά του Αγίου Αντωνίου», διότι εκείνη την περίοδο πίστευαν ότι το προσκύνημα στον τάφο του Αγίου Αντωνίου θα έφερνε ανακούφιση από την έντονη αίσθηση καψίματος. Τα θύματα είχαν εκτεθεί σε ένα παραισθησιογόνο, το διαιθυλαμίδιο του λυσεργικού οξέος (LSD), το οποίο παραγόταν κατά το ψήσιμο ψωμιού από κριθάρι μολυσμένο, με ερισυβώδη αλκαλοειδή (ergot alkaloids) και άλλα παραισθησιογόνα. Ωστόσο, ο εργοτισμός δεν θεωρείται πλέον απειλή για την υγεία των ανθρώπων. Πολλές μυκοτοξίνες έχουν απομακρυνθεί από τη διατροφή του ανθρώπου εξαιτίας των αυστηρών ελέγχων υγιεινής και των νέων μεθόδων επεξεργασίας των πρώτων υλών. Για παράδειγμα, έχει

να αναφερθεί για δεκαετίες νέο κρούσμα από την ασθένεια του κίτρινου ρυζιού, καθώς οι έλεγχοι για τη διακίνηση του ρυζιού είναι πλέον αυστηροί. Ακόμα, μία ασθένεια που ήταν ιδιαίτερα διαδεδομένη κατά τις δεκαετίες 1930 και 1940 στην τότε Σοβιετική Ένωση είναι η τοξική διατροφική αλευκία (alimentary toxic aleukia) από σπόρους προσβεβλημένους με τριχοθεκένια. Μία σημαντική ασθένεια που έδωσε την ώθηση για τη μελέτη των μυκοτοξινών, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, είναι η οξεία αφλατοξίνωση, που εμφανίστηκε στις γαλοπούλες την δεκαετία του 1960 στη Μεγάλη Βρετανία, καθώς και στην αστάθεια στο βάδισμα που έχει παρατηρηθεί σε πρόβατα και χοιροειδή από τις τρεμογόνες τοξίνες στην Αυστραλία και τη Νέα Ζηλανδία.

Η μυκοτοξίκωση μπορεί να εμφανιστεί τόσο σε βιομηχανοποιημένες, όσο και σε αναπτυσσόμενες χώρες. Επειδή το εμπόριο πραγματοποιείται σε παγκόσμια κλίμακα, το πρόβλημα με τα αγροτικά προϊόντα μολυσμένα με μυκοτοξίνες συνδυάζει πολλές διαφορετικές προϋποθέσεις, όπως περιβαλλοντικές, κοινωνικές και οικονομικές.

Οι μυκοτοξίνες θεωρείται ότι είναι υπαίτιες για την εμφάνιση ασθενειών σε περιπτώσεις όπου τα συμπτώματα εμφανίζονται σε πολλά άτομα χωρίς καμία εμφανή σύνδεση μεταξύ τους. Τα συμπτώματα της μυκοτοξίκωσης είναι περίπου όμοια για όλες τις μυκοτοξίνες. Συχνά παρουσιάζονται δυσκολίες στη διάγνωση, λόγω των όμοιων συμπτωμάτων που έχουν με άλλες παθολογικές καταστάσεις, όπως καρκινογένεση, τερατογένεση, μετάλλαξη και άλλα. (Blackwell B.A. & Savard M.E., 2000). Γενικά, οι παθολογικές αυτές καταστάσεις:

- ✓ Δεν μπορούν να αντιμετωπιστούν με αντιβιοτικά και άλλα φάρμακα,
- ✓ Τα συμπτώματά τους συνδέονται με την τροφή και με πρωτογενή αγροτικά προϊόντα,
- ✓ Δεν είναι μεταδοτικές,
- ✓ Είναι περισσότερο εποχιακές (λόγω καιρικών συνθηκών),
- ✓ Η δράση τους στα ζώα και στον άνθρωπο είναι συναρτήσεως του φύλου, της ηλικίας και της βιολογικής κατάστασης του οργανισμού.

Επιπλέον, οι μυκοτοξίνες δεν είναι αντιγονικές και έτσι τα ζώα και ο άνθρωπος δεν εμφανίζουν ανοσία εναντίον τους. Η παρουσία των μυκοτοξινών έχει συνδεθεί με μεταλλάξεις στα ζώα, δυσλειτουργίες στο νευρικό σύστημα, καρκινώματα στο ήπαρ, νεφρά, πνεύμονες καθώς και στο ουρικό και πεπτικό σύστημα. (D'Mello J.P.F. & Macdonald A.M.C., 1997)

Η επίσημη μέθοδος για την αξιολόγηση της άμεσης χημικής (οξείας) τοξικότητας μιας ένωσης καθορίζεται μέσω του προσδιορισμού της τιμής LD<sub>50</sub> (Lethal Dose). Η τιμή LD<sub>50</sub> αντιστοιχεί στην ποσότητα μιας μυκοτοξίνης ανά χιλιόγραμμο σωματικού βάρους, η οποία είναι θανατηφόρα για το 50% των πειραματόζωων.

Στο τέλος της παραγράφου συνοψίζονται στον (Πίνακας 1.1) οι τιμές LD<sub>50</sub> για ορισμένες μυκοτοξίνες σε διαφορετικά βιολογικά συστήματα. Για τις μυκοτοξίνες οι τιμές LD<sub>50</sub> ποικίλουν, διότι εξαρτούνται από διαφορετικούς μεταξύ τους παράγοντες, όπως η ηλικία, το φύλο, το βάρος κ.ά.. Τα όργανα που συνήθως προσβάλλουν είναι το ήπαρ και τα νεφρά. Πολλές μυκοτοξίνες έχουν βρεθεί ότι αλληλεπιδρούν στην πρωτεϊνοσύνθεση δημιουργώντας παρενέργειες, που εμφανίζονται από απλές δερματικές ευαισθησίες μέχρι έντονες ανοσολογικές ανεπάρκειες.

### **α) Αφλατοξίνες**

Στις αφλατοξίνες έχει αποδοθεί οξεία τοξικότητα και καρκινογένεση σε ανθρώπους και ζώα. Οι ασθένειες προκαλούνται από αυτήν την ομάδα μυκοτοξινών έχουν τη γενικότερη ονομασία αφλατοξίνωση. Η οξεία αφλατοξίνωση οδηγεί στο θάνατο, ενώ ή χρόνια προκαλεί καρκίνο, ανοσολογική ανεπάρκεια κ.ά.. Η αξιολόγηση επιδημιολογικών και ερευνητικών αποτελεσμάτων που πραγματοποιήθηκε από το διεθνή οργανισμό για την έρευνα του καρκίνου (International Agency for Research on Cancer, IARC) το 1987, απέδειξε, ότι η έκθεση του ανθρώπου στις αφλατοξίνες συσχετίζεται με καρκινογένεσεις, ταξινομώντας έτσι την ομάδα των αφλατοξινών στην πρώτη ομάδα των καρκινογόνων ουσιών. Τα ποσοστά του καρκίνου του ήπατος στον ανθρώπινο πληθυσμό ποικίλλουν από χώρα σε χώρα με υψηλότερα ποσοστά στα μέρη, όπου οι κλιματολογικές συνθήκες ευνοούν την ανάπτυξη μυκήτων στις τροφές και κατά συνέπεια την παραγωγή αφλατοξινών. Η οξεία τοξικότητα των αφλατοξινών έχει εμφανιστεί και σε πολλά άλλα είδη (θηλαστικά, ψάρια, κουνέλια, πουλερικά και σκύλους). Έχει βρεθεί, ότι τα νεαρά ζώα και κυρίως τα άρρενα είναι περισσότερο ευπαθή στην προσβολή από μυκοτοξίνες. Η LD<sub>50</sub> κυμαίνεται από 0.5-10 mg/Kg, ανάλογα το βάρος του σώματος (Bennett J.W. & Klich M., 2003).

Η αφλατοξίνη B1 είναι ένα ισχυρό μεταλλοξογόνο, μεταλλάσσει τα χρωμοσώματα φυτών, ζώων και ανθρώπων. Η βιολογική δράση της αφλατοξίνης B1 προαπαιτεί τη μεταβολική ενεργοποίησή της στο C15-C16 εποξειδίου της, το οποίο είναι πολύ ισχυρό παράγωγο. Έχει



βρεθεί ότι σχηματίζεται ομοιοπολικός δεσμός ανάμεσα στο N-7 άτομο της γουανίνης με το ενεργό παράγωγο της αφλατοξίνης B1. Αυτό το προϊόν προσθήκης που σχηματίζεται, αναστέλλει τη σύνθεση του DNA (European Mycotoxins Awareness Network).

### **β) Ωχρατοξίνη Α**

Η ωχρατοξίνη Α είναι κυρίως νεφροτοξική, ηπατοτοξική και ανοσοτοξική. Επίσης προκαλεί τερατογένεση και καρκινογένεση. Ο IARC έχει ταξινομήσει την ωχρατοξίνη Α στη δεύτερη ομάδα των καρκινογόνων ουσιών. Η ωχρατοξίνη Α διαταράσσει την κυτταρική λειτουργία με πολλούς τρόπους. Η δράση της εστιάζεται κυρίως στα ένζυμα που επιδρούν στο μεταβολισμό της φαινυλαλανίνης, αναστέλλοντας τη δράση του ενζύμου που ευθύνεται για τη σύνθεση του συμπλόκου φαινυλαλανίνη-tRNA. Έχει ανιχνευτεί στο αίμα, και στο γάλα των ζώων και των ανθρώπων. Θεωρείται υπεύθυνη για τη νεφροπάθεια που παρουσιάζουν τα χοιροειδή στις Σκανδιναβικές χώρες. Η ασθένεια έχει ενδημικό χαρακτήρα στη Δανία, όπου, τα ποσοστά στη νεφρική ανεπάρκεια των χοιροειδών και η μόλυνση των ζωοτροφών με ωχρατοξίνη Α συχετίζονται.

Αρκετές τοξικολογικές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί για την ωχρατοξίνη Α, το όριο το οποίο θεσπίζεται είναι του κάτω του 5 ng/kg ανάλογα με το βάρος του σώματος. Δεδομένου ότι, τα συμπτώματα από την έκθεση σε ωχρατοξίνη Α μοιάζουν με αυτά της νεφρικής ανεπάρκειας χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή κατά τη διάγνωση (Bennett J.W. & Klich M., 2003).

### **γ) Στεριγματοκυστίνη**

Οι τοξικές επιπτώσεις της στεριγματοκυστίνης είναι περίπου όμοιες με αυτές της αφλατοξίνης B1. Η στεριγματοκυστίνη μπορεί να προκαλέσει καρκινογένεση, τερατογένεση και μετάλλαξη. Μελέτες σε πειραματόζωα έδειξαν ότι η χρόνια έκθεση σε στεριγματοκυστίνη προκαλεί ηπάττωμα, καρκίνο στους πνεύμονες, νεφρικές και ηπατικές αλλοιώσεις. Στα βοειδή έχει παρατηρηθεί διάρροια αίματος, μειωμένη παραγωγή γάλακτος ακόμα και θάνατος, σε περιπτώσεις που τα όρια της στεριγματοκυστίνης ήταν περίπου 8mg/kg ανα βάρος σώματος. Αξίζει να σημειωθεί, ότι, καμία χώρα δεν έχει νομοθεσία που να θεσπίζει τα όρια ανίχνευσης της στεριγματοκυστίνης για την προστασία των καταναλωτών (European Mycotoxins Awareness Network).

## δ) Τριχοθεκένια

Τα τριχοθεκένια προκαλούν ευρύ φάσμα παθολογικών καταστάσεων, λόγω της ποικιλομορφίας που χαρακτηρίζει αυτή την ομάδα των μυκοτοξινών. Χαρακτηρίζονται κυρίως ως νευροτοξικές και κυτταροτοξικές. Η ανοσολογική τοξικότητα που εμφανίζουν οφείλεται κυρίως στην υποκατάσταση που φέρουν στη θέση C8 του μορίου, στον οξιρανικό δακτύλιο στις θέσεις C12 και C13, καθώς και στην παρουσία διπλού δεσμού στις θέσεις C9=C10 (Σχήμα 1.4). Μελέτες έχουν αποδείξει, ότι, τα μέλη της ομάδας των τριχοθεκενίων, είναι πολύ ισχυροί αναστολείς στην πρωτεϊνοσύνθεση ευκαρυωτικών κυττάρων. Έχει βρεθεί, ότι αναστέλλουν τη δράση της πεπτιδοτρανσφεράσης, απαραίτητο ένζυμο σε όλες τις διαδικασίες μεταγραφής (t-RNA) και ότι προκαλούν απόπτωση των πολυριβωσωμάτων (Bennett J.W. & Klich M., 2003).

Τα τριχοθεκένια επιδρούν σχεδόν σε όλα τα όργανα του ανθρώπου. Η τοξική διατροφική αλευκία είναι μία καλά μελετημένη ασθένεια, που έχει αποδοθεί στα τριχοθεκένια. Η ασθένεια προκαλεί μία πληθώρα γαστρονομικών διαταραχών, όπως διάρροια, εμετό, φλεγμονές, δερματικούς ερεθισμούς, αναιμία και νευρολογικές παθήσεις. Στην οξεία της φάση, τα συμπτώματα είναι νύρωση στη στοματική κοιλότητα, αιμοραγία από τη μύτη και τα γεννητικά όργανα καθώς και κλονισμό του νευρικού συστήματος (Bennett J.W. & Klich M., 2003).

Μία άλλη ασθένεια που αποδίδεται στα τριχοθεκένια είναι η σταχυβοτρυτοξίκωση (stachybotryotoxicosis). Σε αυτήν την ασθένεια, είχαν αποδοθεί αρχικά, οι αυξημένοι θάνατοι αλόγων και είχαν συνδεθεί με μουχλιασμένο άχυρο και σανό. Μέχρι πρόσφατα θεωρούνταν ότι ο άνθρωπος δύσκολα μπορεί να προσβληθεί από αυτήν την ασθένεια. Μελέτες όμως απέδειξαν, ότι ο μύκητας *Stachybotrys* αναπτύσσεται σε όλα τα οικοδομικά υλικά που περιέχουν κυτταρίνη (υλικά μόνωσης, κεραμίδια και κλιματιστικά). Τα συμπτώματα που εμφανίζονται είναι υποθερμία στη μύτη και στο στόμα, ανορεξία, κατάπτωση και αιμοραγίες. Δεδομένου ότι η ομάδα των τριχοθεκενίων περιλαμβάνει πολλά μέλη αυτά παρουσιάζουν διαφορετική βιολογική δραστηριότητα με αποτέλεσμα οι τιμές LD<sub>50</sub> να ποικίλλουν. Ενδεικτικά αναφέρεται, ότι σε επίμυες οι τιμές LD<sub>50</sub> για τη δεοξυνιβαλενόλη είναι 70mg/Kg ανά βάρος σώματος, για τη βερρουκαρίνη A 0.5 mg/Kg ανά βάρος σώματος, ενώ για την T-2 τοξίνη 5.2 mg/Kg ανά βάρος σώματος (European Mycotoxins Awareness Network).

Τα τριχοθυκένια εμφανίζονται συνήθως σε δημητριακά, όπως ρύζι, αλεύρι, κριθάρι, βρώμη και άλλα τα οποία και μολύνουν. Οι τύποι Α και Β εμφανίζονται ευρύτατα σε πολλά προϊόντα σε αντίθεση με τους τύπους Γ και V, τα οποία παρουσιάζουν υψηλότερη τοξικότητα, αλλά εμφανίζονται πιο σπάνια στα τρόφιμα.

### **ε) Ρουμπρατοξίνες**

Μελέτες σε ενδοκυτταρικό επίπεδο έχουν δείξει, ότι ο μηχανισμός δράσης των τοξινών αυτών είναι η αναστολή της μιτοχονδριακής αναπνοής, της παραγωγής ATP και της πρωτεϊνοσύνθεσης. Το ήπαρ είναι το κύριο όργανο που καταστρέφουν οι τοξίνες αυτής της κατηγορίας, καθώς και τα νεφρά, σπλήνα, πνεύμονες και οισοφάγο. Αλλοίωση έχει παρατηρηθεί στη λειτουργία του ήπατος, όπου κύτταρα εμφανίζουν εκφυλισμό και νέκρωση (ίκτηρος και θρόμβωση). Άλλα κλινικά συμπτώματα που έχουν αποδοθεί στις ρουμπρατοξίνες είναι η κατάθλιψη, ανορεξία, απώλεια βάρους, θρόμβωση και αιμοραγίες. Η τιμή LD<sub>50</sub> σε επίμυες είναι 83 mg/Kg ανά βάρος σώματος.

### **στ) Τοξίνες του μύκητα *Altenaria***

Υφίστανται μελέτες, που θεωρούν τις τοξίνες του μύκητα *Altenaria* υπαίτιες για τα αιμορραγικά σύνδρομα, οι οποίες εμφανίζονται στα πουλερικά, καθώς και με τη μυκητίαση που εμφανίζουν τα βοοειδή. Τοξικολογικές μελέτες σε επίμυες έδειξαν, ότι η ενδοπεριτονιακή χορήγηση τοξινών αυτής της ομάδας επέφερε το θάνατο, ενώ στους ίππους παρατηρήθηκε αλλοίωση των βλενογόνων αδένων. Γενικά, οι μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί για την επίδραση που έχουν οι τοξίνες του γένους *Altenaria* έδειξαν ότι, ενώ εμφανίζουν αντιϊκές, αντιβακτηριολογικές και αντιμυκητιακές ιδιότητες, είναι παράλληλα τοξικές τόσο σε φυτικά όσο και σε βιολογικά συστήματα. Η τιμή LD<sub>50</sub> για το τενοαζονικό οξύ (tenuazonic acid) στους επίμυες βρέθηκε 125-225 mg/kg ανά βάρος σώματος για τα άρρενα και 81-115 mg/kg ανά βάρος σώματος για τα θήλεα (<http://thesis.ekt.gr/thesisBookReader/id/9018#page/1/mode/2up>).

### **ζ) Τρεμογόνες τοξίνες**

Οι τρεμογόνες τοξίνες προκαλούν ρίγη και σπασμούς στα ζώα. Το σύνδρομο χαρακτηρίζεται από αστάθεια στην κίνηση, η οποία μπορεί να μην είναι εμφανής έως ότου τα ζώα αναγκαστούν να τρέξουν, οπότε και παρατηρείται ασταθές βάδισμα, ρίγος στο κεφάλι, παραπάτημα έως και

κατάρρευση ακολουθούμενη από νευρικούς σπασμούς. Η τοξικότητα των τοξινών αυτής της κατηγορίας είναι μεγάλη, καθώς ακόμα και η ποσότητα 0.005 mg/Kg ανά βάρος ζώου είναι ικανή να προκαλέσει ρίγος και αστάθεια.

### **η) Τοξικές λακτόνες**

Στην πατουλίνη είχαν αποδοθεί αρχικά αντιβιοτικές ιδιότητες, για την καταπολέμηση της κοινής γρίπης (βήχας, καταρροή). Επίσης χρησιμοποιούνταν και σαν αλοιφή για την απαλλαγή από δερματικές μυκητιάσεις. Ωστόσο ανάμεσα στις δεκαετίες 1950 και 1960 μελέτες απέδειξαν, ότι η πατουλίνη εκτός από την αντιβακτηριολογική δράση και αντιϊκή δράση ήταν τοξική για τον άνθρωπο και τα φυτά, κατατάσσοντάς της τελικά ως μυκοτοξίνη. Η πατουλίνη είναι τοξική σε μύκητες, πρωτόζωα και βακτήρια γι αυτό αρχικά είχε χαρακτηριστεί ως ισχυρό αντιβιοτικό. Αποδείχτηκε ισχυρά τοξική και για τον άνθρωπο, επιδρώντας κυρίως στο στομάχι προκαλώντας συμπτώματα όπως ναυτία και εμετό. Σε πολύ ισχυρές δόσεις, η πατουλίνη έχει βρεθεί ότι προκαλεί γαστρεντερική υπεραναιμία, αιμμοραγίες, έλκος. Μελέτες σε πειραματόζωα έχουν δείξει, ότι η πατουλίνη προκαλεί πνευμονικό οίδημα, ηπατίτιδα, νεφρική ανεπάρκεια ενώ σε χρόνια δόση προκαλεί ανοσολογική ανεπάρκεια, και καρκινογενέσεις. Στα νεαρά κοτόπουλα, η τιμή LD<sub>50</sub> για την πατουλίνη είναι 170 mg/kg ανά βάρος σώματος. (Bennett J.W. & Klich M., 2003).

Το πενικιλλικό οξύ έχει αποδειχτεί, ότι, έχει αντιβακτηριολογική, αντιϊκή και αντικαρκινική βιολογική δραστηριότητα, αλλά ταυτόχρονα και κυττοτοξικές ιδιότητες. Μελέτες σε πειραματόζωα έδειξαν, ότι παρουσιάζει «δακτυλωτή» (digitalis-like action) δράση στην καρδιά, όταν βρίσκεται στην κυκλική μορφή της λακτόνης. Επιδρά σε όλα τα τριχοειδή αγγεία, μειώνει τη διαπερατότητά τους και εμφανίζει αντιδιουρητική δράση.

### **θ) Ζεαραλενόνη**

Η ζεαραλενόνη επιδρά κυρίως στο αναπαραγωγικό σύστημα. Η κυριότερη βιολογική δράση που εμφανίζει είναι ο υπερ-οιστρογενισμός, ο οποίος θεωρείται χρόνια τοξίκωση. Μελέτες σε χοιροειδή έχουν δείξει, ότι η ζεαραλενόνη απορροφάται γρήγορα μέσω της στοματικής κοιλότητας και μεταβολίζεται στο έντερο στις μορφές α- και β- ζεαραλενόνη, όπου συνεχώς συζευγνύονται με το γλυκουρονικό οξύ (European Mycotoxins Awareness Network). Στα θήλεα

χοιριοειδή, το σύνδρομο εμφανίζεται με διόγκωση του αιδοίου και των μαστικών αδένων, υπερπλασία της μήτρας, ατροφία των ωοθηκών, κολπική και πρωκτική πρόπτωση. Στα άρρενα χοιριοειδή μπορεί να προκαλέσει εκθηλυσμό, όπου εμφανίζεται με ατροφία στους όρχεις και υπερτροφία των μαστικών αδένων. Επίσης παρατηρείται μειωμένη αναπαραγωγή, μείωση της ωορρηξίας και αρνητικές επιδράσεις στην εμβρυακή ανάπτυξη. Η ζεαραλενόνη και η ζεαραλενόλη λόγω της μεγάλης οιστρογενικής δραστηριότητας (increased estrogenic activity), έχουν χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο της εμμηνόπαυσης και ως αντισυλληπτικά. Αν και η επικινδυνότητα της ζεαραλενόνης για τον άνθρωπο ακόμα δεν έχει εξακριβωθεί, είχε θεωρηθεί υπαίτια για τις πρόωρες έμμηνους ρήσεις των εφήβων στο Πόρτο Ρίκο, κάτι το οποίο επιβεβαιώθηκε από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Φαρμάκων. Η συνιστώμενη ημερήσια έκθεση στη ζεαραλενόνη είναι 0.05 μg/kg ανά βάρος σώματος. Εντούτοις, τα όρια για την παρουσία της Ζεαραλενόνης στις τροφές, δεν έχουν ακόμα θεσπιστεί νομοθετικά. (Bennett J.W. & Klich M., 2003).

### **ι) Κιτρινίνη**

Αρχικά στην κιτρινίνη είχαν αποδοθεί αντιβιοτικές ιδιότητες αλλά οι ισχυρές παρενέργειες που παρουσίασε στα νεφρά θηλαστικών συνέβαλλαν στο να αλλάξει, τάχιστα αυτή η πεποίθηση. Το 1951 στην Ιαπωνία, το εισαγόμενο ρύζι από την Ταϊλάνδη με κίτρινο χρώμα εξετάστηκε και περιείχε κιτρινίνη. Έκτοτε έχουν γίνει πολλές αναφορές για την παρουσία κιτρινίνης στο ρύζι και μείνει στην ιστορία σαν την «ασθένεια του κίτρινου ρυζιού», μία θανάσιμη μορφή μπέρι-μπέρι, με συμπτώματα όπως τη δύσπνοια, παράλυση και τύφλωση. Η κιτρινίνη θεωρείται ηπατοτοξική και νεφροτοξική και δρα συνεργατικά με την ωχρατοξίνη Α, με την οποία συνήθως συνυπάρχει. Αυτό, σε συνδυασμό με το γεγονός ότι η παρουσία της στις τροφές είναι σπανιότερη και οι συγκεντρώσεις χαμηλότερες σε σχέση με την ωχρατοξίνη Α, θεωρείται ότι συμβάλει περισσότερο στην ηπατοτοξικότητα και παρατηρείται στα ζώα, παρά ότι την προκαλεί. Η τιμή LD<sub>50</sub> για τους επίμυες είναι 70 mg/Kg ανά βάρος σώματος.

Στον Πίνακα 1 που ακολουθεί, παρουσιάζονται οι τις LD<sub>50</sub> τιμές για τις κυριότερες μυκοτοξίνες που αναφέρθηκαν ανώτερω.

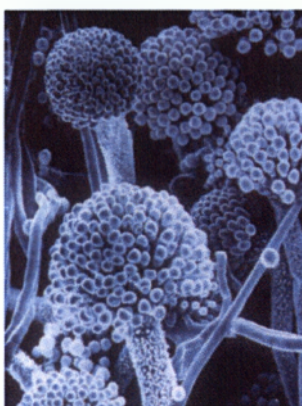
**Πίνακας 1.** Τοξικότητα ορισμένων μυκοτοξινών σε διάφορα βιολογικά συστήματα

Είδος	Μυκοτοξίνη	LD <sub>50</sub> (mg ανά kg σώματος)
Κόνιλες	Αφλατοξίνη Β1	0,30
Χοιροειδή	Αφλατοξίνη Β1	0,62
Μαΐμου	Αφλατοξίνη Β1	2,2
Επίμυες	Ωχρατοξίνη Α	21,4-30,3
Κοτόπουλα	Ωχρατοξίνη Β	24
Μαϊμού	Στεριγματοκυστίνη	32
Επίμυες	Δεοξυνιβαλενόλη	70
Επίμυες	Διακετοξυσκριπενόλη	23
Επίμυες	Νεοσολανιόλη	14,5
Επίμυες	ΗΤ-2 τοξίνη	9,0
Επίμυες	Τα-2 τοξίνη	5,2
Επίμυες	Νιβαλενόλη	4,1
Επίμυες	Βερρουκαρίνη Α	0,5
Επίμυες	Ρουμπρατοξίνη Β	83
Επίμυες	Τενουαζονικό οξύ	81-225
Κοτόπουλα	Τενουαζονικό οξύ	37,5
Σκύλοι	Τενουαζονικό οξύ	2,5-10
Χοιροειδή	Τρεμογόνες τοξίνες	0,005
Κοτόπουλα	Πατουλίνη	170
Επίμυες	Πενικιλλικό οξύ	250
Επίμυες	Ζεαραλανόνη	10000
Χοιροειδή	Ζεαραλανόνη	5000
Επίμυες	Κιτρινίνη	70

### **1.8. Επιπτώσεις στην υγεία των ανθρώπων και ζώων από τις μυκοτοξίνες**

Σύμφωνα με τον Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας των Ηνωμένων Εθνών (FAO) στο 25% των δημητριακών καρπών που παράγονται ετησίως σε παγκόσμιο επίπεδο καταγράφεται επιμόλυνση από μυκοτοξίνες. Οι δημητριακοί καρποί αποτελούν σημαντικό μέρος τόσο του ανθρώπινου διατροφολογίου, όσο και εκείνου των αγροτικών ζώων και χρησιμοποιούνται συστηματικά από τη βιομηχανία ζωοτροφών. Ο άνθρωπος μολύνεται άμεσα από την κατανάλωση επιμολυσμένων προϊόντων φυτικής προέλευσης ή έμμεσα από την κατανάλωση επιμολυσμένων προϊόντων ζωικής προέλευσης. Η παγκόσμια εξάπλωση του προβλήματος των μυκοτοξικώνώσεων, η επικινδυνότητα για τη υγεία του ανθρώπου και των ζώων και οι οικονομικές απώλειες της κτηνοτροφικής παραγωγής καθιστούν την έρευνα για τις μυκοτοξίνες επίκαιρη και αναγκαία (Blout W.P., 1961).

Μέχρι σήμερα έχουν αναγνωριστεί 300-400 μυκοτοξίνες, ενώ τουλάχιστον 300 έχουν ήδη παραχθεί εργαστηριακά από καλλιέργειες μυκήτων. Τα κυριότερα γένη μυκήτων που παράγουν μυκοτοξίνες είναι τα *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* και *Claviceps*. Τα είδη *Aspergillus flavus* (Εικόνα 4) και *A. parasiticus* παράγουν τις αφλατοξίνες B1, B2, G1, G2, P1, Q1, B2a και G2a. Σημαντικότερη από αυτές θεωρείται η αφλατοξίνη B1 με ηπατοτοξικές και καρκινογόνες ιδιότητες για τον άνθρωπο και τα ζώα. Μετά την κατανάλωσή της με την τροφή μεταβολίζεται και ανιχνεύεται στο γάλα ως αφλατοξίνη M1. Ο μύκητας *Penicillium citrinum* και μερικά είδη *Aspergillus* (*A. terreus* και *A. niveus*) παράγουν τη μυκοτοξίνη κιτρινίνη (citrinin) η οποία είναι νεφροτοξική. Η ωχρατοξίνη A (ΟΤΑ) ανακαλύφθηκε το 1965 ως μεταβολίτης του μύκητα *Aspergillus ochraceus*. Παράγεται κυρίως από είδη *Aspergillus* (*A. alliaceus*, *A. carbonarius*, *A. glaucus*, *A. niger*) αλλά εμπλέκονται στην παραγωγή της και είδη *Penicillium* (*P. verrucosum*). (H.P.Van Egmond, 1989)



**Εικόνα 4:** Κονιδιοφόροι και κονίδια του μύκητα *Aspergillus flavus*, όπως διακρίνονται στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ([http://petridis58.blogspot.gr/2012/01/blog-post\\_22.html](http://petridis58.blogspot.gr/2012/01/blog-post_22.html)).

Η ωχρατοξίνη A θεωρείται ηπατοτοξική, τερατογόνος και καρκινογόνος, αλλά τα κύρια όργανα που προσβάλλει είναι οι νεφροί. Η ευρεία χρήση του *Aspergillus niger* για την παρασκευή κιτρικού οξέος και ενζύμων για ανθρώπινη κατανάλωση καθιστά πολύ σημαντικό τον έλεγχο για πιθανή παραγωγή ωχρατοξίνης A.

Από είδη του μύκητα *Claviceps* παράγεται η μυκοτοξίνη εργοτίνη, που έχει συσχετιστεί με τη γάγγραινα και την προσβολή του κεντρικού νευρικού συστήματος στον άνθρωπο και στα ζώα. (Teren J. *Et al.*, 1996).

Οι φουμονισίνες αποτελούν μια οικογένεια μυκοτοξινών που παράγονται από μύκητες των γενών *Fusarium* και *Alternaria*, με κυριότερο μέλος τη φουμονισίνη B1. Η τοξικότητα των φουμονισινών οφείλεται στο ότι επηρεάζουν το μεταβολισμό των σφιγγολιπιδίων. Έχουν ηπατοτοξική και καρκινογόνο δράση και στον άνθρωπο σχετίζονται με την εκδήλωση καρκίνου του οισοφάγου. Μύκητες των γενών *Fusarium*, *Mycothecium*, *Phomopsis*, *Trichoderma*, *Trichothecium* και άλλων, παράγουν μια ομάδα μυκοτοξινών που αριθμεί περισσότερα από 60 είδη και καλούνται τριχοθεσίνες. Από αυτά η δεοξυνιβαλενόλη (DON), η διακετοξυσκιρπενόλη (DAS) και η T-2, οι οποίες έχουν μελετηθεί περισσότερο, παράγονται από το γένος *Fusarium* και προκαλούν αιμορραγία, διάρροια, εμετό, ανορεξία, καθυστέρηση της ανάπτυξης, νευρομυϊκή διεγερσιμότητα και δερματίτιδες μετά τη μόλυνση. (Gelderblom W.C. *et al.*, 1988).

Η ζεαραλενόνη (ZON) είναι μια μη στεροειδής μυκοτοξίνη με οιστρογονική δράση. Παράγεται από ορισμένα είδη μυκήτων του γένους *Fusarium*, ανιχνεύεται συχνά στις μολυσμένες από μύκητες ζωοτροφές και έχει παγκόσμια εξάπλωση. Έχει την ιδιότητα να συνδέεται με τους υποδοχείς οιστρογόνων στους διάφορους ιστούς και να προκαλεί διαταραχές της αναπαραγωγικής δραστηριότητας στα παραγωγικά ζώα και κυρίως στις σύες. Στον άνθρωπο η παρουσία της ZON συνδέθηκε σε αδενοκαρκίνωμα και υπερπλασία του ενδομητρίου. Επίσης, ανιχνεύθηκε στο πλάσμα του αίματος νεαρών κοριτσιών με πρόωμη ψευδο-ενήβωση (pseudopuberty). Η ZON μεταβολίζεται κυρίως στο ήπαρ, είναι ηπατοτοξική και προκαλεί καρκίνο του ήπατος (Diekman M.A. & Green M.L., 1992).

Οι αυξημένες πιθανότητες μόλυνσης του ανθρώπου από μυκοτοξίνες μέσω της τροφής του, και οι ακόλουθοι κίνδυνοι για την υγεία του, έχουν κινητοποιήσει την επιστημονική κοινότητα στη μελέτη των μυκοτοξινών. Ιδιαίτερα επιβαρυντική για τον άνθρωπο είναι η αφλατοξίκωση (κυρίως η χρόνια έκθεση σε αφλατοξίνες), η οποία συνδέεται με την εμφάνιση καρκίνου του ήπατος και νεφροπάθειες. Οι Z τοξίνες με πιθανή καρκινογόνο δράση έχουν θεωρηθεί η ωχρατοξίνη A (νεοπλασίες του ουροποιητικού συστήματος), οι φουμονισίνες (καρκίνος του οισοφάγου) και η ZON (νεοπλασίες του ενδομητρίου). Τα αλκαλοειδή εργοτίνης (ergot alkaloids) προκαλούν οίδημα των άκρων, γάγγραινα και θάνατο ή προσβάλλουν το κεντρικό νευρικό σύστημα και προκαλούν παραισθήσεις και παράλυση.

Η υγεία και παραγωγικότητα των ζώων επηρεάζεται από τις μυκοτοξίνες σε διαφορετικό βαθμό, ανάλογα με το είδος τους. Τα μηρυκαστικά είναι πιο ανθεκτικά στην επίδραση των μυκοτοξινών



σε σύγκριση με άλλα είδη ζώων (χοίροι, πτηνά), διότι η μικροβιακή χλωρίδα της μεγάλης κοιλίας έχει την ικανότητα να μειώνει την τοξικότητά τους. Το πρόβατο θεωρείται ανθεκτικότερο της αγελάδας. Στην τελευταία, η κατανάλωση αφλατοξίνης B1 έχει ως επακόλουθο την απέκκρισή της με το γάλα ως M1 σε ποσοστό 0,5-3% της συγκέντρωσής της στις ζωοτροφές. Το γεγονός ότι το γάλα είναι ένα προϊόν που απευθύνεται στο ευρύ καταναλωτικό κοινό (στο οποίο περιλαμβάνονται και ευπαθείς ομάδες) σε συνδυασμό με τις καρκινογόνες ιδιότητες των αφλατοξινών καθιστούν ιδιαίτερα σημαντικό τον έλεγχο των αφλατοξινών B1 και M1 στα μηρυκαστικά. Η δεοξυनिβαλενόλη σύμφωνα με ορισμένους συγγραφείς συνδέεται με μείωση της γαλακτοπαραγωγής στα βοοειδή, παρότι υπάρχουν και αντίθετες απόψεις. Τέλος, η T-2 αναφέρθηκε ότι στα μεγάλα μηρυκαστικά προκαλεί αποβολές (προς το τέλος της κύησης) αιμορραγικό σύνδρομο και ανοσοκαταστολή μέσω της μείωσης της συγκέντρωσης των IgM, IgG και IgA στον ορό του αίματος (Hsu C. *et al.*, 1972).

Στα υποειδή, ο μεγαλύτερος κίνδυνος μόλυνσης προέρχεται από τη φουμονισίνη B1, η οποία είναι νευροτοξική και προκαλεί εκφυλιστική εγκεφαλοπάθεια (leukoencephalomalacia) με συμπτώματα, όπως πάρεση, ευερεθιστότητα, αταξία και αλλοιώσεις της λευκής ουσίας και του φλοιού του εγκεφάλου. Επίσης, η αφλατοξικώση B1 εκδηλώνεται με ανορεξία, νωθρότητα, χλωρότητα ή ακόμη και θάνατο (Hsu C. *et al.*, 1972).

Οι μυκοτοξικές αναφέρονται εδώ και πολλά χρόνια ως αιτιολογικοί παράγοντες απωλειών στην πτηνοτροφία. Τα πτηνά είναι ευαίσθητα στη μόλυνση κυρίως u945 από τις αφλατοξίνες, την OTA καθώς και τις τριχοθεσίνες T-2 και την DAS. Η αφλατοξίνη B1, μόνη της ή σε συνδυασμό με την OTA διαταράσσει την ανάπτυξη και αυξάνει τη θνησιμότητα των εμβρύων στις όρνιθες. Επιπλέον, προκαλεί απώλεια βάρους, καθυστέρηση της ανάπτυξης των ορνιθίων, διαταράσσει τη δραστηριότητα των ηπατικών ενζύμων, προκαλεί αύξηση του βάρους του ήπατος και των νεφρών, αιμορραγίες και νεκρώσεις ιστών. Η ανίχνευση B1, OTA και τριχοθεσινών στο σιτηρέσιο των πτηνών συνδυάζεται με αυξημένα περιστατικά σαλμονέλλωσης και κοκκιδίωσης λόγω ανοσοκαταστολής. Η κατανάλωση τροφής μολυσμένης με T-2 και DAS προκαλεί στα νεαρά πτηνά ανορεξία, απώλεια βάρους, καθώς και έλκη στις παρειές και στη στοματική κοιλότητα (Edrington T.S. *et al.*, 1995).

Ο χοίρος και ιδιαίτερα οι σύες συγκαταλέγονται μεταξύ των πλέον ευπαθών ζώων στη μόλυνση από μυκοτοξίνες. Παχυνόμενοι χοίροι που κατανάλωσαν σιτηρέσιο με αφλατοξίνες (κυρίως B1

και ίχνη G1, G2 και B2) σε συγκεντρώσεις 0,02-1,48 mg/Kg τροφής παρουσίασαν μείωση της ημερήσιας αύξησης βάρους και βλάβες στα ηπατικά κύτταρα. Ο Huff και οι συνεργάτες του διαπίστωσαν μείωση της ημερήσιας αύξησης βάρους των παχυνόμενων χοίρων, των οποίων το σιτηρέσιο ήταν μολυσμένο με αφλατοξίνη ή/και OTA (2 mg/Kg τροφής). Μάλιστα, η μείωση του ρυθμού αύξησης του σωματικού βάρους ήταν μεγαλύτερη όταν συνυπήρχαν και οι δύο τοξίνες, γεγονός που επιβεβαιώνει την αθροιστική δράση τους. Στις σύες, η ωχρατοξίκωση προκαλεί διαταραχές της νεφρικής λειτουργίας, πολυδιψία, πολουρία, ανορεξία αδυναμία και κινητική δυσλειτουργία. Η μυκοτοξίκωση από φουμονισίνη B1 χαρακτηρίζεται από ηπάτωση και οξύ πνευμονικό οίδημα που εκδηλώνεται με δύσπνοια, κυάνωση και τελικά, θάνατο. Από τις τριχοθεσίνες (Πίνακας 2), η DON προκαλεί άρνηση λήψης τροφής από τους χοίρους, καθυστέρηση στο ρυθμό αύξησης του σωματικού βάρους και σε μεγάλες συγκεντρώσεις εμετό, ενώ η T-2 προκαλεί δερματίτιδα και αυξημένη ευαισθησία στις λοιμώξεις. Η ζεαραλενόνη συνδέεται άμεσα με διαταραχές της λειτουργίας του αναπαραγωγικού συστήματος των σιών (κυρίως των νεαρών άνηβων). Η μυκοτοξίνη αυτή και οι μεταβολίτες της ( $\alpha$ - και  $\beta$ -ZEN) λόγω της χημικής ομοιότητάς τους με την οιστραδιόλη 17- $\beta$  έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν τους υποδοχείς των οιστρογόνων. Μάλιστα, η  $\alpha$ -ZEN έχει 10 έως 20 φορές μεγαλύτερη ικανότητα σύνδεσης με τους υποδοχείς της οιστραδιόλης 17- $\beta$  από τη ZON και περίπου, 100 φορές μεγαλύτερη από τη  $\beta$ -ZEN. Σύμφωνα με άλλους συγγραφείς, η  $\alpha$ -ZEN έχει 3 έως 4 φορές μεγαλύτερη οιστρογονική δράση από τη ZON. Γενικά, η υδροξυλίωση της ZON σε  $\alpha$ -ZEN αποτελεί διαδικασία ενεργοποίησης της τοξικότητας, ενώ η παραγωγή της  $\beta$ -ZEN καταλήγει σε απενεργοποίηση της τοξικότητας. Πειράματα σε επίμνες έδειξαν, ότι τα «cis-ισομερή» της ZON είναι πιο δραστικά από τα «trans-ισομερή» σε ό,τι αφορά στην οιστρογονική δράση τους, ενώ στην περίπτωση της  $\alpha$ -ZEN δεν παρατηρήθηκε ανάλογη διαφορά. Στις σύες, η κλινική εικόνα προσβολής από ZON περιλαμβάνει συμπτώματα υπεροιστρογονισμού όπως εξοίδηση των χειλέων του αιδοίου, οίδημα των μαστών, επιστροφές σε οίστρο σε σύντομα μεσοδιαστήματα, αναφροδισία, αποβολή, καθώς και γέννηση χοιριδίων με απαγωγή των οπισθίων άκρων (splay-leg), που αδυνατούν να θηλάσουν. Σε νεαρές άνηβες σύες, η μικρότερη δόση ZON που οδήγησε σε συμπτώματα υπεροιστρογονισμού ήταν 1 mg PO για 8 ημέρες. Σε ενήλικες σύες, η χορήγηση 50-100  $\mu$ g ZON/g τροφής προκάλεσε αιδοιοκολπίτιδα, πρόπτωση κόλπου, καθυστέρηση εκδήλωσης οίστρου, αγωνιμότητα, ψευδοκύηση ή/και αποβολή (Huff W.E. *et al.*, 1988).

Στον κάπρο, τα βιβλιογραφικά δεδομένα σχετικά με την επίδραση της ζεαραλενόνης είναι ανεπαρκή. Νεαροί κάπροι που λάμβαναν με την τροφή 500-600 ppm ζεαραλενόνης για τρεις μήνες, παρουσίασαν μείωση του βάρους των όρχεων κατά 30% σε σύγκριση με μάρτυρες. Νεαροί κάπροι που λάμβαναν 40 ppm ζεαραλενόνης, ανά ημέρα, για τέσσερις εβδομάδες παρουσίασαν μείωση της γενετήσιας ορμής και της συγκέντρωσης της τεστοστερόνης στο πλάσμα του αίματος. Ανάλογα προβλήματα παρατηρήθηκαν σε ενήλικες κάπρους που έλαβαν 200 ppm ζεαραλενόνης, ανά ημέρα, για χρονικό διάστημα 8 εβδομάδων. Σε αντίθεση με την τελευταία αναφορά, σημειώνεται, ότι η λήψη 200 ppm ζεαραλενόνης προκάλεσε μείωση της γενετήσιας ορμής σε νεαρούς κάπρους, αλλά στους ενήλικες δεν παρατηρήθηκε κανένα σύμπτωμα μυκοτοξίκωσης (Beasley V., 1999).

**Πίνακας 2.** Μέγιστα επιτρεπόμενα όρια για DON και ζεαραλενόνης σε ακατέργαστα σιτηρά και τελικά προϊόντα προοριζόμενα για ανθρώπινη κατανάλωση

	Μυκοτοξίνη (ppb)	
	DON	Ζεαραλενόνη
Ακατέργαστα σιτηρά (εκτός από σιτάρι, βρώμη και καλαμπόκι)	1250	100
Ακατέργαστο σιτάρι και βρώμη	1750	100
Ακατέργαστο καλαμπόκι	1750	200
Σιτάλευρο	750	75
Άλευρο καλαμποκιού	750	200
Ψωμιά, γλυκά, μπισκότα, σνάκς δημητριακών και δημητριακά προγεύματος	500	50
Επεξεργασμένα βασιζόμενα σε σιτηρά-τρόφιμα για έμβρυα, μικρά παιδιά και παιδικές τροφές	200	20

Τα μέγιστα όρια που θέτονται για τα μη-επεξεργασμένα σιτηρά απευθύνονται και σε σιτηρά που τοποθετούνται στην αγορά για επεξεργασία. Οι καρποί των σιτηρών θα πρέπει να καθαρίζονται, να αποξηραίνονται και/ή να γίνεται διαλογή τους πριν την τοποθέτηση τους στην αγορά. Αυτοί οι καρποί ταξινομούνται ως μη-επεξεργασμένα σιτηρά. Θα πρέπει να τεθούν τα μέγιστα όρια για τα μη-επεξεργασμένα σιτηρά, για την αποφυγή ισχυρά προσβεβλημένων σιτηρών που εισέρχονται στην τροφική αλυσίδα, αλλά και για την ενθάρρυνση όλων των μέτρων να ελαχιστοποιήσουν την προσβολή από τις μυκοτοξίνες του γένους *Fusarium* τόσο στο χωράφι, όσο και στα στάδια αποθήκευσης της αλυσίδας παραγωγής. Η επεξεργασία μπορεί να μειώσει τις μυκοτοξίνες που εμπεριέχονται σε διάφορα προϊόντα σιτηρών. Έτσι, τα όρια για τα επεξεργασμένα προϊόντα θα είναι επομένως χαμηλότερα. Τα όρια για τις μυκοτοξίνες του γένους *Fusarium* στα σιτηρά, όπως αναφέρθηκε ανωτέρω, εισάγονται διαμέσου της τροφικής αλυσίδας. Όλες οι επιχειρήσεις που χειρίζονται τρόφιμα, από καλλιεργητές μέχρι τους πωλητές, πρέπει να προσέχουν ώστε να παραμένουν μέσα στα επιτρεπόμενα όρια.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Στρατηγικές αντιμετώπισης των μυκοτοξινών**

### **2.1 Πριν τη συγκομιδή των αγροτικών προϊόντων**

Οι μύκητες έχουν την ικανότητα να προσβάλλουν και να αναπτύσσονται σε διάφορα φυτικά όργανα που έχουν ζημιωθεί και για αυτό το λόγο οι καλλιέργειες θα πρέπει να προστατεύονται ενάντια στις βλαβερές μηχανικές διεργασίες και στη δράση των εντόμων. Επιπλέον, για να αποφεύγεται η μόλυνση των φυτικών προϊόντων από τους τοξικογόνους μύκητες, οι εστίες μόλυνσης, όπως ζιζάνια, φυτικά υπολείμματα ή/και ρυπασμένα γεωργικά υλικά θα πρέπει να απομακρύνονται και να καταστρέφονται. Επιπλέον, η χρήση φυτοπροστατευτικών προϊόντων αποτελεί μία πολύ ελκυστική στρατηγική για την πρόληψη παραγωγής των μυκοτοξινών. Για παράδειγμα, κάποια μυκητοκτόνα, π.χ. το Switch στα σταφύλια, έχουν βρεθεί αποτελεσματικά στην παρεμπόδιση της ανάπτυξης των μυκήτων και την παραγωγή ΟΤΑ. Ωστόσο, γενικότερα τα μυκητοκτόνα θα πρέπει να επιλέγονται με προσοχή, επειδή κάποια, όπως το carbendazim, ενώ παρουσιάζονται αποτελεσματικά ενάντια στην ανάπτυξη του μύκητα, από την άλλη βρέθηκαν να συνεισφέρουν στην παραγωγή μυκοτοξινών, π.χ. ΟΤΑ (Codex Alimentarius Commission, 2003).

Ειδικότερα, οι καλλιέργειες στις θερμές περιοχές επηρεάζονται από περιόδους διαφορετικών περιβαλλοντικών συνθηκών. Για την αποφυγή της επιμόλυνσής τους από τις διάφορες μυκοτοξίνες, η υγρασία του περιβάλλοντος ανάπτυξης του φυτού και η καταπόνησή του από ξηρασία θα πρέπει να μειώνονται, ενώ οι καλλιεργητικές φροντίδες, όπως η κατάλληλη άρδευση, ισορροπημένη ανόργανη θρέψη και λίπανση θα πρέπει να εφαρμόζονται (Codex Alimentarius Commission, 2003).

Άλλοι κανόνες για την αντιμετώπιση των μυκοτοξινών στο επίπεδο του αγρού, στα πλαίσια της ορθής γεωργικής πρακτικής, είναι η αμειψισπορά, καθώς και η καλλιέργεια και συγκομιδή των γεωργικών προϊόντων υπό κατάλληλες συνθήκες και χρονική στιγμή συγκομιδής (π.χ. αραή φύτευση στον αγρό για δυνατότητα της μέγιστης ανάπτυξης και αποφυγή ακραίων περιόδων ξηρασίας) και το βαθύ όργωμα (FAO/WHO/UNEP, 1999b).

Τελευταία, νέες και ελπιδοφόρες στρατηγικές πριν την συγκομιδή διερευνούνται με τη χρήση της βιοτεχνολογίας, στις οποίες περιλαμβάνονται η παραγωγή φυτών που συντελούν στη μείωση της πιθανότητας εμφάνισης μυκητολογικής προσβολής, ο περιορισμός της ανάπτυξης τοξικογόνων μυκήτων και πρόληψη της παραγωγής τοξίνης. Σχετικό παράδειγμα έχουμε το καλαμπόκι της

Λάρισα. Είναι ένα καλαμπόκι στο γενετικό υλικό του οποίου έχει προστεθεί ένα γονίδιο ανθεκτικότητας στα λεπιδόπτερα έντομα. Με άλλα λόγια, πρόκειται για ένα καλαμπόκι το οποίο δεν χρειάζεται εντομοκτόνα. Το γονίδιο ανθεκτικότητας στα λεπιδόπτερα έντομα έχει προέλθει από έναν μικροοργανισμό, το βακτήριο *Bacillus thuringiensis*, και κωδικοποιεί για μια πρωτεΐνη η οποία σκοτώνει τα έντομα αυτά. Το καλαμπόκι αυτό έχει δημιουργηθεί στα εργαστήρια της εταιρείας Αγκρέβο, η οποία έλαβε την άδεια να το καλλιεργήσει πειραματικά στον Θεσσαλικό κάμπο (<http://www.tovima.gr/relatedarticles/article/?aid=103935>).

Τέλος, η βιολογική καταπολέμηση των τοξικογόνων μυκήτων, με τη χρήση μη- τοξικογόνων βιοανταγωνιστικών παραγόντων, όπως τα μη τοξινογόνα στελέχη *A. niger*, αποτελεί μια δυναμική και ασφαλή στρατηγική. Για παράδειγμα στον ασπέργιλλο υπάρχει το βιολογικό σκεύασμα AF36 που δεν είναι καρκινογόνο και δεν έχει και αφλατοξίνη και χρησιμοποιείται ως δραστικό συστατικό σε φυτοφάρμακα. Το AF36 είναι ένας μυκητισιακός ανταγωνιστής για τη μείωση της έκθεσης αφλατοξίνης [*Aspergillus flavus* strain AF36 (006456) Fact Sheet]. Επίσης το Aflaguard από την Syngenta είναι ένα βιολογικό έλεγχο της αφλατοξίνης και είναι το μοναδικό προϊόν στην αγορά που προσφέρονται ως προληπτικό για την αφλατοξίνη. Το προϊόν είναι στην πραγματικότητα μια μορφή *Aspergillus flavus* που είναι καλοήθεις (δεν κάνει αφλατοξίνες) που εφαρμόζεται στο πεδίο σε μια αρκετά μεγάλη ποσότητα στα μέσα της σεζόν. Angela McClure, 2012). Άλλα παραδείγματα βιολογικής καταπολέμησης τοξικογόνων μυκήτων είναι η χρήση ζυμών και η χρήση βακτηριών.

Όμως, η πιθανότητα χρήσης τοξικογόνων στελεχών προκαλεί ανησυχία σε οικολογικό και υγειονομικό επίπεδο.

## **2.2. Κατά τη διάρκεια της συγκομιδής των αγροτικών προϊόντων**

Αρχικά, η σωστή εμφάνιση και καθαριότητα του γεωργικού εξοπλισμού συνιστάται προκειμένου να αποφευχθούν όλα τα εμπόδια, τα οποία μπορούν να καθυστερήσουν το χρόνο συγκομιδής. Αργότερα, πρέπει να συλλέγονται μόνο τα ώριμα προϊόντα που δεν είναι προσβεβλημένα. Τα υπερώριμα, τα ζυμούμενα, τα αλλοιωμένα ή αυτά που έχουν πέσει στο έδαφος θα πρέπει να απορρίπτονται και να καταστρέφονται έξω από το χωράφι, γιατί είναι πιθανόν να περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις μυκοτοξινών. Επίσης, δεν ενδείκνυται η ανάμειξή τους με κακής ποιότητας προϊόντα ή άλλα αγροτικά προϊόντα (FAO/WHO/UNEP, 1999b).

### **2.3 Μετά τη συγκομιδή των αγροτικών προϊόντων**

Η πρόληψη είναι η καλύτερη μέθοδος για την αντιμετώπιση της ενδεχόμενης επιμόλυνσης των τροφίμων με μυκοτοξίνη πριν τη συγκομιδή. Όμως, η μίανση που γίνεται ή παραμένει κατά τη φάση αυτή, πριν τη συγκομιδή τους, και οι κίνδυνοι που συσχετίζονται με τις μυκοτοξίνες θα πρέπει να αντιμετωπίζονται και μετά τη συγκομιδή. Λεπτομερέστερα η αποθήκευση και επεξεργασία είναι οι κύριες διεργασίες, που η μίανση μπορεί να προληφθεί. Η αποθήκευση θα πρέπει να γίνεται κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες υγρασίας και θερμοκρασίας. Κατά τη διάρκεια αυτής της φάσης είναι σημαντική η αποφυγή αύξησης της υγρασίας του προϊόντος. Είναι σημαντικό να αποθηκεύονται τα προϊόντα τα οποία είναι πλήρως αποξηραμένα και διατηρούνται σε μία  $a_w < 0.70$  και σε θερμοκρασίες κάτω από 20°C, ή στη περίπτωση των μη συσκευασμένων τροφίμων σε θερμοκρασίες κάτω από 2-3°C. Επιπλέον, συνίσταται η χρήση μεταλλικών κιβωτίων, αντί ξύλινων. Πριν την επόμενη συγκομιδή, οι αποθήκες θα πρέπει να καθαρίζονται (Εικόνα 7) με σκοπό την αποφυγή μελλοντικής αλλοίωσης του προϊόντος (FAO/WHO/UNEP, 1999b).

Σε περίπτωση επιμόλυνσης κατά την επεξεργασία των προϊόντων, η μείωση των μυκοτοξινών μπορεί να επιτευχθεί με φυσικό διαχωρισμό ή χημική αδρανοποίηση μέσα από συγκεκριμένες διαδικασίες. Ο φυσικός διαχωρισμός έχει σκοπό να μειωθεί η συγκέντρωση μιας τοξίνης σε ένα προϊόν και δεν επιτρέπεται η ανάμιξή της και η αραίωση της με προϊόντα που δεν περιέχουν τοξίνη. Για αυτό και στην Ευρωπαϊκή Ένωση απαγορεύεται η αραίωση με μη μολυσμένα τρόφιμα (Directive 2002/32/EC). Για την αποφυγή επιμόλυνσης των τροφίμων με ΟΤΑ μελετήθηκε η δυνατότητα απομάκρυνσης των εξωτερικών μερών των τροφίμων, τα οποία έρχονται σε επαφή με τους μύκητες (Alldrick, 1996), ενώ οι θερμοκοί χειρισμοί, όπως κατάψυξη στους -20°C και απόψυξη στους 26°C, δεν εξαλείφουν πλήρως την ΟΤΑ. Από την άλλη, κατά τη χρήση UV και γ ακτινοβολίας μπορούν να συντελέσουν στη μείωση της παραγωγής κονιδίων. Παρόλα αυτά όμως, μόνο η χρήση γ ακτινοβολίας μπορεί να εξαλείψει τη μυκοτοξίνη (Aziz *et al.*, 2004; Deberghes *et al.*, 1993; Deberghes *et al.*, 1995).

Σχετικά με τη χημική αδρανοποίηση, η συγκέντρωση της ωχρατοξίνης στα σιτηρά μπορεί να μειωθεί με την εμβάπτιση των κόκκων σε διάλυμα αιθανόλης και την περιοδική εφαρμογή υπερήχων (Linder, 1992). Οι χειρισμοί με ενώσεις, όπως το αλκαλικό υπεροξείδιο υδρογόνου, το

υδροξείδιο νατρίου και το αμμώνιο με υδροξείδιο ασβεστίου, αποτελούν αξιόπιστες μεθόδους μείωσης της OTA (Scott, 1996).

Κατά την κρίσιμη φάση της αποθήκευσης των συγκομιζόμενων αγροτικών προϊόντων δεν θα πρέπει αυτή να λαμβάνει χώρα σε ακατάλληλες περιβαλλοντικές συνθήκες, να μην έχουν την ενδεικνυόμενη συσκευασία (σε ειδικές σακούλες) ή να υφίστανται αλλοιωμένα προϊόντα, τα οποία μπορεί να προκαλέσουν ενδεχόμενη μίανση των υπόλοιπων προϊόντων με μυκοτοξίνη κατά τη διάρκεια αυτής της φάσης.



*Εικόνα 7:* Παρουσίαση του ενδεδειγμένου τρόπου κατάστασης των αποθηκών φυτικών προϊόντων, για τη μείωση προβλημάτων από την επιμόλυνσή τους με μυκοτοξίνες (παλέτες, απόσταση από τοίχους, υγιεινή) (<http://www.menexopoulos.gr/gr/about.asp>).

#### **2.4 Μεταφορά των αγροτικών προϊόντων**

Όλες οι παραπάνω συνθήκες που αναφέρθηκαν κατά την αποθήκευση των συγκομιζόμενων αγροτικών προϊόντων θα πρέπει να ελέγχονται και κατά τη διάρκεια της μεταφοράς τους σε εισαγόμενες χώρες, καθώς και στα φυτά που μεταφέρονται, επίσης. Κανονικά, η διακίνηση σε εισαγόμενες χώρες συνήθως γίνεται με πλοίο, που η περιεκτικότητα σε υγρασία είναι πολύ υψηλή και η παρουσία εντόμων και τρωκτικών είναι σύνηθες φαινόμενο. Για αυτό είναι σημαντικό η ελαχιστοποίηση του χρόνου μεταφοράς και η αποφυγή έκθεσης των προϊόντων, που βρίσκονται σε κιβώτια, για μεγάλο χρονικό διάστημα στον ήλιο. Οι χώροι αποθήκευσης του πλοίου, θα πρέπει να διατηρούνται καθαροί και απολυμασμένοι, ενώ θα πρέπει να υπάρχουν



κατάλληλες συνθήκες υγρασίας. Τέλος, τα κιβώτια θα πρέπει να βρίσκονται μακριά από τοίχους και οι σάκκοι να τοποθετούνται πάνω σε παλέτες, για να αποφεύγεται η επαναυγραση του προϊόντος (FAO/WHO/UNEP, 1999b).

## **2.5 Επεξεργασία**

Μετά τις φάσεις συγκομιδής, ένα προϊόν υφίσταται πολλές αλλαγές κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας του στις γεωργικές βιομηχανίες. Σε αυτό το στάδιο, οι μυκοτοξίνες θα πρέπει να εξαλείφονται ή να αναστέλλεται ο σχηματισμός τους. Στις βιομηχανίες συνιστάται η εγκαθίδρυση ενός συστήματος αξιολόγησης των προμηθευτών (π.χ. λογισμικό Agro Advanced, που χρησιμοποιείται στην Εταιρεία Geoplant) με σκοπό την προμήθεια των πρώτων υλών στις βέλτιστες συνθήκες, όχι μόνο των προϊόντων που μεταφέρονται, αλλά και όλων των σχετικών παραπροϊόντων (FAO/WHO/UNEP, 1999b).

Κατά τα αρχικά στάδια της μεταφοράς τους είναι απαραίτητος ο καθαρισμός και η συλλογή των αλλοιωμένων προϊόντων και σε μεταγενέστερα στάδια η θερμική και χημική αδρανοποίηση των μυκοτοξινών. Επιπλέον, το περιεχόμενο της υγρασίας, ο αερισμός και η καθαριότητα θα πρέπει να ελέγχονται συνεχώς σε όλα τα στάδια της επεξεργασίας των προϊόντος (FAO/WHO/UNEP, 1999b).

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Αναλυτικές τεχνικές που χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό της ποσότητας των μυκοτοξινών στα αγροτικά τρόφιμα**

Διάφορες μέθοδοι για την ανάλυση μυκοτοξινών σε διάφορα τρόφιμα είναι διαθέσιμες και αναφέρονται στη βιβλιογραφία π.χ. TLC, HPLC, RIA, ELISA, SPR και ανοσοδοκιμές. Η τεχνική ανάλυσης των μυκοτοξινών με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (Thin layer chromatography, TLC) παλαιότερα χρησιμοποιούνταν εκτενέστατα και είχε προταθεί ως η επίσημη μέθοδος ανάλυσης αφλατοξινών στα κελυφωτά φιστίκια από τον AOAC. Αργότερα, σημειώθηκε σημαντική αύξηση στη χρήση της χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας υψηλής απόδοσης (HPTLC), η οποία έδωσε παρόμοια αποτελέσματα με την μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (High performance liquid chromatography, HPLC). Σήμερα, η σύγχρονη τάση είναι να χρησιμοποιείται η HPLC για την ανάλυση αφλατοξίνης (προτείνεται πλέον ως η επίσημη μέθοδος ανάλυσης αφλατοξινών AOAC), αλλά και άλλων μυκοτοξινών (π.χ. πατουλίνης σε χυμό μήλου, ωχρατοξίνης σε αραβόσιτο), λόγω της μεγαλύτερης ακρίβειας σε σχέση με την TLC και της σταθερότητας των αποτελεσμάτων σε σχέση με την μέθοδο της ELISA (Enzyme-linked immunosorbent). Το κυριότερο πλεονέκτημα της μεθόδου ανάλυσης με HPLC φαίνεται να είναι η δυνατότητα αυτοματοποίησης, όπως επίσης η ταχύτητα και η υψηλή ανάλυση. Από την άλλη πλευρά, οι τεχνικές ανοσοδιαγνωστικής, ELISA και RIA, επιδεικνύουν ταχύτητα και αξιοπιστία αποτελεσμάτων. Εντούτοις, η χρήση τους πλέον μπορεί να χαρακτηριστεί ως συμπληρωματική (Γεωργιάδη Μ., 1999).

Είναι γενικά αποδεκτό, ότι η υπεροχή και επικράτηση της HPLC ως μεθόδου για την ανάλυση μυκοτοξινών, σε σύγκριση με τις άλλες μεθόδους, και ιδιαίτερα τις ανοσοχημικές είναι ο υψηλός βαθμός εκλεκτικότητας και ακρίβειάς της. Η μέθοδος ανάλυσης με HPLC έχει εφαρμοστεί σε μια σειρά υποστρωμάτων και τροφίμων, για τον έλεγχο της παρουσίας σε αφλατοξίνες σε διάφορα τρόφιμα φυτικής προέλευσης, όπως σιτηρά, μυκηλιακά εκχυλίσματα, βαμβακόσπορο, κρασί, αραβόσιτο, ξηροί καρποί, μπαχαρικά κ.ά.. Παρόλα αυτά, η αναλυτική μέθοδος HPLC κοστίζει και απαιτεί πιο εξειδικευμένο και έμπειρο εργαστηριακό προσωπικό.

Τέλος, για τον ποσοτικό προσδιορισμό των μυκοτοξινών σε τρόφιμα περιλαμβάνουν τις ανοσοχημικές στήλες (HPLC) ή την αέρια χρωματογραφία (Gas chromatography, GC) σε συνδυασμό με μια μεγάλη ποικιλία ανιχνευτών, όπως ανιχνευτές φθορισμού (FLD), ιονισμού

φλόγας (FID), συλλήψεως ηλεκτρονίων (ECD), ανιχνευτές υπεριώδους (UV), καθώς επίσης και τη φασματοσκοπία μάζας (MS) (Γεωργιάδη Μ., 1999).

### **3.1 Μέθοδοι για τον ταυτόχρονο προσδιορισμό μυκοτοξινών στα τρόφιμα**

Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει πολλές προσπάθειες για την ανάπτυξη μεθόδων που αφορούν τον ταυτόχρονο προσδιορισμό μυκοτοξινών χρησιμοποιώντας την οργανολογία σε σειρά LC-MS/MS. Αυτή η τάση ήταν αποτέλεσμα της ανακάλυψης, ότι πολλές μυκοτοξίνες μπορούσαν να συνυπάρχουν σε ένα υπόστρωμα, καθώς επίσης ότι παρουσίαζαν συνεργιστική δράση με αποτέλεσμα να θέτουν σε κίνδυνο την υγεία του ανθρώπου. Επιπροσθέτως ήταν εξαιρετικά επιθυμητή η ανάπτυξη μιας μεθόδου, που θα επέτρεπε τον ταυτόχρονο προσδιορισμό όλων σχεδόν των μυκοτοξινών πραγματοποιώντας μία και μόνο ανάλυση. Αυτό θα μείωνε εξαιρετικά το κόστος, αλλά και το χρόνο της ανάλυσης (Spreijers G.J.H. & Spreijers M.H.M., 2004).

Αν και η φασματοσκοπία μάζας συχνά προσφέρει επαρκή επιλεκτικότητα και ευαισθησία, η εφαρμογή της στην ταυτόχρονη ανάλυση πολλών μυκοτοξινών παρεμποδίστηκε μόνο από τη διαφορετικότητα που παρουσιάζουν στις χημικές ιδιότητες τους οι τοξίνες, όπως οξύτητα, βασικότητα, πολικότητα. Για αυτό το λόγο έπρεπε να υπάρξουν συμβιβασμοί ως προς την επιλογή της κινητής φάσης, του μέσου εκχύλισης, αλλά και για τις πειραματικές συνθήκες (θερμοκρασία) (Spreijers G.J.H. & Spreijers M.H.M., 2004).

Το αρχικό ερέθισμα για την ταυτόχρονη ανάλυση μυκοτοξινών χρησιμοποιώντας LC/MS προήλθε από τον τομέα της μυκητολογίας. Εκεί η φασματοσκοπία μάζας χρησιμοποιήθηκε για να αναγνωρίσει συγκεκριμένα είδη χρησιμοποιώντας τους μεταβολίτες τους. Η τεράστια ανάπτυξη των βάσεων δεδομένων για την ποιοτική ανίχνευση μυκοτοξινών στην LC/MS οδήγησε στην ανάπτυξη και ποσοτικών μεθόδων, για τον ταυτόχρονο προσδιορισμό τοξινών σε υλικά κατασκευής κτηρίων, αλλά και σε είδη διατροφής. Ενώ η προηγούμενη μέθοδος είχε το μειονέκτημα της μικρής ανάκτησης για κάποιες αναλυόμενες ουσίες, η συγκεκριμένη μέθοδος παρουσίασε εξαιρετική ακρίβεια και επαναληψιμότητα. Το γεγονός αυτό αποδίδεται στην επεξεργασία που υφίσταται η πρώτη ύλη, αλλά και στη δημιουργία μιας καμπύλης βαθμονόμησης με το υπόστρωμα έχοντας σαν σκοπό την αντιστάθμιση των επιδράσεων που οφείλονται σε αυτό. Μερικά χρόνια αργότερα, η συγκεκριμένη μέθοδος εφαρμόστηκε με μεγάλη

επιτυχία στον ταυτόχρονο προσδιορισμό αφλατοξινών, ωχρατοξίνης Α, μετά από μια πολύ μικρή τροποποίηση του διαλύτη εκχύλισης. Μετά από αυτή την αρχική φάση οι επιστήμονες στόχευσαν στην ανάλυση τοξινών που προέρχονται από τον *Fusarium*. Ο Royer και οι συνεργάτες του ανέπτυξαν μια μέθοδο για την ταυτόχρονη ποσοτική ανάλυση ζεαραλενόνη, φουμοσίνη Β1, δεοξυνιβαλενόλη σε καλαμπόκι. Το όριο ανίχνευσης ήταν πολύ κατώτερο από αυτό που πρότεινε η Ευρωπαϊκή Ένωση. Υπήρχε όμως το πρόβλημα της χαμηλής ανάκτησης της ζεαραλενόνης.

Όλες οι προαναφερθείσες μέθοδοι εξαρτώνται άμεσα από τον τρόπο καθαρισμού, αλλά και από το μέσο εκχύλισης. Υπάρχουν όμως κάποιες κατηγορίες τοξινών, οι οποίες δεν είναι συμβατές με τις συγκεκριμένες πειραματικές συνθήκες (π.χ. οι φουμοσίνες δεν προσδιορίζονται από τις μεθόδους των Tanaka και Ren) και δεν είναι δυνατόν να προσδιοριστούν ούτε αλκαλοειδή εργοτίνης, ούτε κρυμμένες μυκοτοξίνες. Για να ξεπεράσουν αυτό το εμπόδιο, κάποιες από τις υπάρχουσες μεθόδους παρακάμπτουν το στάδιο του καθαρισμού και εισάγουν στο LC/MS ακατέργαστο εκχύλισμα. Αυτό προφανώς αυξάνει τις απαιτήσεις για την επιλεκτικότητα του ανιχνευτή, καθώς επίσης και την ανάγκη για έρευνα των επιδράσεων του υποστρώματος, κυρίως όταν αναλύονται τρόφιμα (Speijers G.J.H. & Speijers M.H.M., 2004).

Άλλες αναλυτικές τεχνικές, για παράδειγμα οι οπτικές μέθοδοι όπως η φασματοσκοπία FT-Raman, αποτελεί μία αρκετά αποτελεσματική τεχνική, όσον αφορά την ταυτοποίηση και τον ποσοτικό προσδιορισμό των διαφόρων κρυσταλλικών μορφών των μυκοτοξινών. Αυτό οφείλεται στο γεγονός, ότι απαιτεί πολύ μικρή προετοιμασία δείγματος με αποτέλεσμα να ελαχιστοποιείται η πιθανότητα εμφάνισης μετασχηματισμών στερεής κατάστασης των μετασταθών κρυσταλλικών μορφών, καθώς το σχήμα και το μέγεθος των σωματιδίων του δείγματος έχουν πολύ μικρή επίδραση. Οι συγκεκριμένες τεχνικές παρουσιάζονται να είναι πολύ υποσχόμενες για τη γρήγορη και μη καταστροφική ανάλυση μυκοτοξινών σε σιτηρά, καθώς επίσης επιτρέπουν την ελαχιστοποίηση του δείγματος εισαγωγής. Εντούτοις, μειονεκτήματα της μεθόδου αποτελούν η έλλειψη υλικών αναφοράς, αλλά και η μεγάλη επίδραση του υποστρώματος. Μια διαφορετική προσέγγιση αποτελούν οι πτητικές οργανικές ενώσεις μικρού μοριακού βάρους, που ελευθερώθηκαν ως προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού των μυκήτων, να προσροφούνται σε μια σειρά από ειδικούς χημικούς αισθητήρες και να μετρώνται με αισθητήρες οξειδίων μετάλλου (Logrieco *et al.*, 2005).

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Νομοθεσία περί παρουσίας μυκοτοξινών στα τρόφιμα**

### **4.1 Ευρωπαϊκή νομοθεσία**

Η Ευρωπαϊκή νομοθεσία κατατάσσει τις μυκοτοξίνες 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 διαφόρων μυκήτων και κατά συνέπεια δεν είναι δυνατό να απαλειφθούν πλήρως οι μυκοτοξίνες από τα τρόφιμα και τις ζωοτροφές. Συνιστάται επομένως να περιορίζεται η παρουσία τους στο κατώτατο εφικτό επίπεδο. Η μείωση της έκθεσης του ανθρώπου σε αυτού του είδους τις τοξικές ουσίες αποτελεί μέγιστη προτεραιότητα με ταυτόχρονη μείωση των ορίων. Λαμβάνοντας υπόψη τις παραπάνω επιπτώσεις στον άνθρωπο, θεωρείται σκόπιμο να περιοριστεί τόσο η συνολική περιεκτικότητα σε μυκοτοξίνες στα τρόφιμα, όσο και η περιεκτικότητα σε κάποιες συγκεκριμένες τοξίνες (αφλατοξίνη Β1). Επιπλέον, παρά το γεγονός ότι η αφλατοξίνη Μ1 θεωρείται ως γονοτοξική καρκινογόνος ουσία ίση ή λιγότερο επικίνδυνη από ότι η αφλατοξίνη Β1, 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 υπόψη 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 [Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1881/2006].

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 μυκοτοξίνες και συνεπώς δεν μπορεί να οριστεί ανεκτή ημερήσια πρόσληψη. Η Ε.Ε. έχει θεσπίσει νομοθετικά όρια στα υλικά που προορίζονται για χρήση ως τρόφιμα ή ως ζωοτροφές. Για τη θέσπιση των μέγιστων ορίων λαμβάνονται υπόψη πολλοί διαφορετικοί επιστημονικοί οργανισμοί, αρχές και άλλα σώματα, τα οποία συμπεριλαμβάνονται σε αυτή τη διαδικασία. Μία περίληψη για την τοξικολογική εκτίμηση των μυκοτοξινών με αναφορά στην επίδρασή τους στην υγεία του ανθρώπου και στο περιβάλλον

πραγματοποιείται με τη συνεργασία μεταξύ των ακόλουθων οργανισμών [Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1881/2006]:

- ✓ Διεθνές Πρόγραμμα για την Χημική Ασφάλεια (International Programm
- ✓ on Chemical Safety–IPCS, [www.who.int/pcs/](http://www.who.int/pcs/))
- ✓ Διεθνής Οργανισμός για την Έρευνα του Καρκίνου (International Agency
- ✓ on Research on Cancer–IARC, [www.iarc.fr](http://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](http://www.who.int/pcs/jecfa/jecfa.htm).)

Εντός της Ευρωπαϊκής Ένωσης, αυτή η εκτίμηση διεξάγεται υπ' ευθύνη της Επιστημονικής Επιτροπής για τα τρόφιμα ([http://europa.eu.int/comm/food/fs/cs/csfi/index\\_en.html](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, π.χ. για κελυφωτά φιστίκια που προορίζονται για άμεση κατανάλωση ή για χρήση ως συστατικά σε τρόφιμα είναι 2,0 μg/kg (ppb) για την αφλατοξίνη B1 και 4,0 μg/kg (ppb) για το άθροισμα των αφλατοξινών B1, B2, G1 και G2. Η Ευρωπαϊκή νομοθεσία αναγνωρίζει, ότι οι μέθοδοι διαλογής ή άλλες φυσικές διαδικασίες επιτρέπουν να μειωθεί η περιεκτικότητα σε μυκοτοξίνες 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 μυκοτοξίνες 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 μυκοτοξίνες έχουν καθοριστεί λαμβανομένης υπόψη της αποτελεσματικότητας των διαδικασιών που ακολουθούνται 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 μυκοτοξίνες 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 μυκοτοξίνες τρόφιμα, αλλά και να υπόκεινται σε χημικές κατεργασίες για την απομάκρυνσή τους.

Τα μέγιστα επιτρεπτά όρια για τις μυκοτοξίνες οι οποίες επιμολύνουν τα τρόφιμα παρουσιάζονται στις 2 παρακάτω εικόνες (Εικόνα 8 και Εικόνα 9) (<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:364:0005:0024:EL:PDF>).

#### Τμήμα 2: Μυκοτοξίνες

Τρόφιμα (*)		Μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα (μg/kg)		
		B <sub>1</sub>	Άθροισμα των ουραποξινών B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , C <sub>1</sub> και C <sub>2</sub>	M <sub>1</sub>
2.1	Αφλατοξίνες			
2.1.1	Αράπικα φιστίκια που υφίστανται κατεργασία διαλογής ή άλλη φυσική κατεργασία πριν από την κατανάλωση από τον άνθρωπο ή τη χρήση ως συστατικά σε τρόφιμα	8,0 (*)	15,0 (*)	—
2.1.2	Καρποί με κέλυφος που υφίστανται κατεργασία διαλογής ή άλλη φυσική κατεργασία πριν από την κατανάλωση από τον άνθρωπο ή τη χρήση ως συστατικά σε τρόφιμα	5,0 (*)	10,0 (*)	—
2.1.3	Αράπικα φιστίκια και ξηροί καρποί με κέλυφος και μεταποιημένα προϊόντα τους, που προορίζονται για άμεση κατανάλωση από τον άνθρωπο ή για χρήση ως συστατικά σε τρόφιμα	2,0 (*)	4,0 (*)	—
2.1.4	Ξηρά φρούτα που υφίστανται κατεργασία διαλογής ή άλλη φυσική κατεργασία πριν από την κατανάλωση από τον άνθρωπο ή τη χρήση ως συστατικά σε τρόφιμα	5,0	10,0	—
2.1.5	Ξηρά φρούτα και μεταποιημένα προϊόντα τους που προορίζονται για άμεση κατανάλωση από τον άνθρωπο ή για χρήση ως συστατικά σε τρόφιμα	2,0	4,0	—
2.1.6	Όλα τα δημητριακά και όλα τα προϊόντα που παράγονται από δημητριακά, συμπεριλαμβανομένων των μεταποιημένων προϊόντων με βάση τα δημητριακά, εκφρουρισμένων των τροφίμων που παρατίθενται στα σημεία 2.1.7, 2.1.10 και 2.1.12	2,0	4,0	—
2.1.7	Αραβόσιτος που υφίσταται κατεργασία διαλογής ή άλλη φυσική κατεργασία πριν από την κατανάλωση από τον άνθρωπο ή τη χρήση ως συστατικά σε τρόφιμα	5,0	10,0	—
2.1.8	Νωπό γάλα (*), θερμακά επεξεργασμένο γάλα και γάλα για την πυρμασκήλη προϊόντων με βάση το γάλα	—	—	0,050

Εικόνα 8: Μέγιστα επιτρεπτά όρια μυκοτοξινών.

	Τρόφιμα (f)	Μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα (μg/kg)		
2.1.9	Τα εξής είδη καρυκευμάτων: <i>Carum sp.</i> (ξηροί καρποί ολόκληροι ή αλεσμένοι, συμπεριλαμβανομένου του τσίλι, του τσίλι σε σκόνη, του καγιέν και της πάπρικας) <i>Piper sp.</i> (καρποί συμπεριλαμβανομένου του λευκού και μαύρου πιπεριού) <i>Mentha piperita</i> (μυοχοκάρυδο) <i>Zingiber officinale</i> (πιπερόριζα) <i>Cuscuta lanata</i> (κουρκούνη ή χρυσόριζα)	5,0	10,0	—
2.1.10	Μεταποιημένα τρόφιμα με βάση τα δημητριακά και παρόμοιες τροφές για βρέψη και ειδικά παιδιά (†) (‡)	0,10	—	—
2.1.11	Παρασκευάσματα για βρέψη και παρασκευάσματα δεύτερης βρεφικής ηλικίας, συμπεριλαμβανομένου του γάλακτος για βρέψη και του γάλακτος δεύτερης βρεφικής ηλικίας (†) (‡)	—	—	0,025
2.1.12	Διαιτητικά τρόφιμα για ειδικούς ιατρικούς σκοπούς (†) (‡) που προορίζονται ειδικά για βρέψη	0,10	—	0,025

**Εικόνα 9:** Συνέχεια της εικόνας 8 για μέγιστα επιτρεπτά όρια μυκοτοξινών.

## **4.2 Παγκόσμια νομοθεσία**

Τα πορίσματα των επιστημονικών μελετών από όλο τον κόσμο συντείνουν στο ότι η παρουσία μυκοτοξινών 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 Ε.Ε. Νομοθετικοί κανονισμοί για τις μυκοτοξίνες υπάρχουν σε πάνω από 100 χώρες παγκοσμίως (Whitaker T.B. *et al.*, 2005). 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 (Yu J. *Et al.*, 2008). 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. 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 στα 4 ppb για το άθροισμα των αφλατοξινών, όπως προαναφέρθηκε. Αυτό σημαίνει, ότι στην ΕΕ τα όρια είναι 5 φορές χαμηλότερα από ό,τι στις Η.Π.Α.. Παράλληλα, ο αρμόδιος αμερικανικός φορέας έχει θεσπίσει 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.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Αναμφισβήτητα, οι μυκοτοξίνες είναι δυνατό να προκαλέσουν ανεπανόρθωτες βλάβες στους ανθρώπους και στα ζώα. Για το λόγο αυτό είναι επιτακτική ανάγκη ο περιορισμός και η εξάλειψή τους. Για την ελαχιστοποίηση των κινδύνων που προκύπτουν από τις μυκοτοξίνες, η πρόληψη είναι η προτιμότερη μέθοδος. Μερικές πρακτικές που δύναται να περιορίζουν την προσβολή των φυτικών προϊόντων από μύκητες στο χωράφι και στους χώρους αποθήκευσης είναι οι εξής: 1) χρήση καλής ποιότητας σπόρου, 2) χρήση υβριδίων που είναι ανθεκτικά σε έντομα και μύκητες, 3) έλεγχος του εδάφους πριν τη σπορά της νέας φυτείας για παρουσία φυτικών υπολειμμάτων της προηγούμενης καλλιεργητικής περιόδου προσβεβλημένων με μύκητες, 4) αμειψισπορά, 5) κατάλληλη άρδευση της φυτείας σε περιόδους θερμού και ξηρού καιρού, ώστε να μην καταπονούνται τα φυτά, 6) καταπολέμηση ζιζανίων, 7) βιολογική καταπολέμηση με μη-τοξικογόνους μύκητες του ίδιου γένους, 8) χρήση εγκεκριμένων εντομοκτόνων, για τον περιορισμό του πληθυσμού των εντόμων, 9) αποφυγή μηχανικής ζημιάς των σπόρων κατά τη συγκομιδή, 10) γρήγορη και κατάλληλη αποξήρανση των σπόρων, ώστε να μειωθεί το ποσοστό υγρασίας τους σε ασφαλή επίπεδα (12-13% για δημητριακούς και 17% για ελαιούχους σπόρους), 11) κατάλληλη ενσίρωση (συμπύεση του υλικού για δημιουργία αναερόβιου περιβάλλοντος, προσθήκη γαλακτοβάκιλων για μείωση του pH), 12) κατάλληλες συνθήκες αποθήκευσης [καθαρός εξοπλισμός (ταϊστρες-σιλό κ.λ.π.), καθαροί και κλειστοί χώροι αποθήκευσης, ώστε να αποτρέπουν την είσοδο βροχής-εντόμων-πουλιών-τροκτικών (δίχτυα σε παράθυρα), καλή κυκλοφορία του αέρα σε όλη την επιφάνεια του υλικού, διατήρηση χαμηλής θερμοκρασίας & υγρασίας, χρήση εγκεκριμένων βιοκτόνων για μείωση πληθυσμού εντόμων, τρωκτικών που είναι φορείς μυκήτων, προκαλούν μηχανικές βλάβες στους σπόρους ευνοώντας την προσβολή από μύκητες, αυξάνουν τα επίπεδα θερμοκρασίας και υγρασίας ενώ τα περιττώματά τους είναι υποστρώματα για ανάπτυξη μυκήτων], 13) χρήση συντηρητικών ουσιών που μειώνουν το pH (οργανικά οξέα), 14) συστηματικός οπτικός έλεγχος για ενδεχόμενη παρουσία σαπροφυτικών μυκήτων, 15) συστηματική και αντιπροσωπευτική δειγματοληψία του υλικού και διεξαγωγή χημικών αναλύσεων για μυκοτοξίνες, 16) απομάκρυνση της σκόνης και ξένων υλών, 17) διατήρηση αποθεμάτων σιτηρών για μικρά χρονικά διαστήματα, και 18) απομάκρυνση της ζωοτροφής που έχει προσκολληθεί στα τοιχώματα των αποθηκευτικών χώρων (άναμμα του σπόρου).

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Allison A.C., Eugui E.M., 2000. Mycophenolate mofetil and its mechanism of action. *Immunopharmacology* 47, 85-118.
- Anonymous, 2012. *Aspergillus flavus* strain AF36 (006456) fact sheet. Environmental Protection Agency.
- Beasley V., 1999. *Veterinary Toxicology*. International Veterinary Information Service, Ithaca, New York, USA.
- Bennett J.W., Klich M., 2003. Mycotoxins, *Clin. Microb. Rev.* 16, 497-516.
- Blackwell B.A., Savard M.E., 2000. Mycotoxins: Natural products of agriculture importance. *Can. Chem. News* 2000, 15-17.
- Blout W.P., 1961. Turkey "X" Disease. *Turkeys* 9: 55-58.
- Calvo A.M., Wilson R.A., Bok J.W., Keller N.P., 2002. Relationship between Secondary metabolism and fungus development. *Microb. Mol. Biol. Rev.* 66, 447-459.
- Codex Alimentarius Commission, 2003. Report of the 34<sup>th</sup> session of the codex committee on food additives and contaminants. Codex Alimentarius Commission Alinorm 03/12 appendix XII, 100-104.
- Cole R.J., Cox R.H., 1981. *Handbook of toxic fungal metabolites*. Academic Press, New York.
- Diekman M.A., Green M.L., 1992. Mycotoxins and reproduction in domestic livestock. *J Anim Sci.* 70, 1615-1627.
- D'Mello, J.P.F., Macdonald A.M.C., 1997. Mycotoxins. *An. Feed. Sc. Tech* 69, 155-166.
- Edrington T.S., Harvey R.B., Kubena L.F., 1995. Toxic effects of aflatoxin B1 and ochratoxin A, alone and in combination, on chicken embryos. *Bull Environ Contam Toxicol.* 54, 331-336.
- European Mycotoxins Awareness Network (EMAN).
- FAO/WHO/UNEP, 1999b. Mycotoxin prevention and decontamination, corn- a case study. Third joint FAO/WHO/UNEP International Conference On Mycotoxins, 6b, 1-11.
- Gelderblom W.C., Jaskiewicz K., Marasas W.F., Thiel P.G., Horak R.M., Vleggaar R., Kriek N.P., 1988. Fumonisin--novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Appl Environ Microbiol.* 54, 1806-1811.
- Hsu I.C., Smalley E.B., Strong F.M., Ribelin W.E., 1972. Identification of T-2toxin in moldy corn associated with a lethal toxicosis in dairy cattle. *Appl. Microbiol.* 24, 684-690.

- Huff W.E., Kubena L.F., Harvey R.B., Doerr J.A., 1988. Mycotoxin interactions in poultry and swine. *J Anim Sci.* 66, 2351-2355.
- Logrieco A., Arrigan D.W.M., Brengel-Pesce K., Siciliano P., Tothill I., 2005. DNA arrays, electronic noses and tongues, biosensors and receptors for rapid detection of toxigenic fungi and mycotoxins: A review. *Food Additives and Contaminants* 22, 335-344.
- McClure A., 2012. Extension corn and soybean specialist comments off (<http://news.utcrops.com/2012/05/aflaguard-for-aflatoxin-prevention-in-corn/#sthash.H8igRw0q.dpuf>)
- Miller J.D., Trenholm H.L., Mycotoxins in grain, Compounds others than Aflatoxins, Aegan Press, U.S.A. 1994, p.3.
- Speijers G.J.H., Speijers M.H.M, 2004. Combined toxic effects of mycotoxins. *Toxicology Letters* 153, 98..
- Teren J., Varga J., Hamari Z., Rinyu E., Kevei F., 1996. Immunochemical detection of ochratoxin A in black *Aspergillus* strains. *Mycopathologia* 134, 171-176.
- Yu J., Payne G.A., Campbell B.C., Guo B., Cleveland T.E., Robens J.F., Keller N.P., Bennett J.W., Nierman W.C., 2008. Mycotoxin Production and Prevention of Aflatoxin Contamination in Food and Feed. CRC Press, pp. 457-472.
- Van Egmond H.P., 1989. Aflatoxin M1: occurrence, toxicity, regulation. In Van Egmond H.P. (Ed.) *Mycotoxins in dairy products*. Elsevier Applied Science, London, pp. 11-55.
- Whitaker T.B., Slate A.B., Johansson A.S., 2005. Sampling feeds for mycotoxin analysis. In: *The mycotoxin Blue Book*. Nottingham University Press, Duarte Diaz (Ed.), pp.1-21.
- Γεωργιάδη Μ., 2009. Μελέτη του προβλήματος των αφλατοξινών σε κελυφατά φαστίκια. Μεταπτυχιακή Μελέτη, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1881/2006 της Επιτροπής της 19<sup>ης</sup> Δεκεμβρίου 2006 «για καθορισμό μέγιστων επιτρεπτών επιπέδων για ορισμένες ουσίες, οι οποίες επιμολύνουν τα τρόφιμα».
- <http://www.tovima.gr/relatedarticles/article/?aid=103935>
- [http://efe.aua.gr/congress/congress16\\_greek\\_abstracts\\_efe.pdf](http://efe.aua.gr/congress/congress16_greek_abstracts_efe.pdf)
- <http://thesis.ekt.gr/thesisBookReader/id/9018#page/1/mode/2up>