



ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ
ΙΔΡΥΜΑ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ
ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**“ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΕΣ ΜΕΙΩΣΗΣ ΚΑΙ ΕΞΑΛΕΙΨΗΣ
ΤΩΝ ΜΥΚΟΤΟΞΙΝΩΝ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ”**

Σπουδαστής:

Πισσάνος Σταύρος-Σπυρίδων

Αριθμός μητρώου:

2005-136

Επιβλέπουσα καθηγήτρια: Αγριοπούλου Σοφία

Καλαμάτα 2013

Έγκριση

Υπογραφή

Επιβλέπων:	
Μέλος εξεταστικής επιτροπής:	
Μέλος εξεταστικής επιτροπής:	

Πίνακας περιεχομένων	
Πρόλογος	4
Κεφάλαιο 1 – Ποιες είναι οι μυκοτοξίνες	6
1.1 – Εισαγωγή.....	6
1.2 – Κατηγοριοποίηση.....	6
1.3 – Τι πρόβλημα προκαλούν οι μυκοτοξίνες.....	9
1.4 – Συνθήκες που ευνοούν την ανάπτυξη των μυκοτοξινών.....	12
1.5 – Προέλευση και εμφάνιση των μυκοτοξινών.....	13
Κεφάλαιο 2 – Αιτίες που προκαλούν την ανάπτυξη των μυκοτοξινών.....	17
2.1 – Εισαγωγή.....	17
2.2 – Ανάλυση των συνθηκών ανάπτυξης.....	20
2.3 – Απαιτήσεις και προτιμήσεις για την ανάπτυξη των μυκοτοξινών.....	21
Κεφάλαιο 3 – Τρόποι επίλυσης του προβλήματος.....	28
3.1 – Εισαγωγή.....	28
3.2 – Επισκόπηση των μεθόδων.....	30
3.3 – Φυσικές μέθοδοι.....	32
3.4 – Τεχνητές μέθοδοι.....	36
Κεφάλαιο 4 – Ποια είναι η τάση του προβλήματος.....	40
4.1 – Ασθένειες και προβλήματα.....	40
4.2 – Εκτίμηση ανεκτών ορίων.....	41
Κεφάλαιο 5 – Πειραματικές μέθοδοι καταπολέμησης των μυκοτοξινών και τα αποτελέσματά τους.....	49
5.1 – Εισαγωγή.....	49
5.2 – Δειγματοληπτικές μέθοδοι.....	59
5.3 – Ανοσολογικές μέθοδοι.....	62
5.4 – Χημικές μέθοδοι.....	63
5.5 – Φυσικές μέθοδοι.....	66
5.6 – Βιολογικές μέθοδοι.....	68
Συμπεράσματα.....	70
Βιβλιογραφία.....	72

Πρόλογος

Οι μυκοτοξίνες είναι ουσίες που παράγονται από ορισμένα είδη μυκήτων όταν αυτοί αναπτύσσονται σε τρόφιμα υπό κατάλληλες συνθήκες. Έχουν εντοπιστεί δεκάδες είδη μυκοτοξινών, που διαφέρουν από χημική άποψη, αλλά έχουν σαν κοινή ιδιότητα ότι μολύνουν τρόφιμα και ζωοτροφές και είναι τοξικές για ανθρώπους και ζώα. Ο αριθμός των ειδών των μυκήτων έχει υπολογιστεί ότι είναι πάνω από 100.000, ενώ τα είδη των μυκήτων που παράγουν μυκοτοξίνες στις ζωοτροφές είναι σχετικά λίγα, περίπου 220. Μέσα στην χρόνια τοξική δράση τους περιλαμβάνεται η καρκινογένεση καθώς και ηπατικές, νεφρικές και άλλες βλάβες.

Είναι οργανικές χημικές ουσίες, αλειφατικές ή κυκλικές, απλής σχετικά δομής με σχετικά απλό αριθμό ατόμων άνθρακα και μοριακού βάρους. Είναι παράγωγα ή συγγενείς ενώσεις με την κουμαρίνη, τα τερπενοειδή, τις ανθρακινόνες, τα μακρολίδια, τα στεροειδή, και τα τετρονικά οξέα.

Η δράση τους στους ζώντες οργανισμούς είναι ηπατοτοξική, νεφροτοξική, αιμοτοξική, νευροτοξική, δερματοτοξική και πολλές έχουν καρκινογόνες ή οιστρογόνες ιδιότητες. Μερικές φορές έχουν αντιβιοτική δράση κατά των μικροβίων και καταστρέφουν την μικροβιακή χλωρίδα λ.χ. η πενικιλίνη είναι η μυκοτοξίνη του μύκητα *Penicillium chrysogenum* (δηλαδή της χλωραμφενικόλης). Ένα πρόβλημα που δεν έχει μελετηθεί αρκετά είναι η δράση, λόγω ενδεχόμενης συνεργίας, δυο μυκοτοξινών που υπάρχουν μαζί στην ίδια ζωοτροφή. Πιθανώς οι μυκοτοξίνες που υπάρχουν σε μη τοξικές ποσότητες στις τροφές όταν είναι μόνες, να γίνονται τοξικές όταν δρουν μαζί όπως συμβαίνει με πολλά αντιβιοτικά. Οι συγκεντρώσεις των μυκοτοξινών οι οποίες είναι σημαντικές για την υγεία των ζώων και των ανθρώπων, μετριοούνται συνήθως σε $\mu\text{g}/\text{Kg}$ τροφής (ppb).

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των μυκήτων και κατ' επέκταση των μυκοτοξινών είναι η υγρασία, η θερμοκρασία, ο αερισμός, οι γενετικές διαφορές και το μέγεθος της μόλυνσης. Έτσι οι ευνοϊκότερες συνθήκες ανάπτυξης τους είναι όταν η υγρασία είναι υψηλή (πάνω από 70%), η θερμοκρασία μεταξύ 20°C με 30°C, ενώ μπορούν να επιζήσουν και σε θερμοκρασίες μεταξύ 0-60°C. Επίσης ευνοϊκές συνθήκες ανάπτυξής τους, δημιουργεί το αναερόβιο περιβάλλον, ενώ συντελεί σε

μεγάλο βαθμό και το είδος του μύκητα αφού υπάρχουν και μύκητες που χρειάζονται ειδικές συνθήκες για να αναπτυχθούν. Τέλος ο αριθμός των μυκήτων επηρεάζει και το βαθμό ανάπτυξής τους, έτσι ώστε όσο μεγαλύτερος ο αριθμός τους τόσο μεγαλύτερη και η ανάπτυξη που παρουσιάζεται.

Οι μυκοτοξίνες μπορούν να παραχθούν και να αναπτυχθούν τόσο στις καλλιέργειες στα χωράφια, όσο συνηθέστερα στις ζωτροφές οι οποίες είναι αποθηκευμένες διότι το οξυγόνο που υπάρχει σε συνθήκες αποθήκευσης είναι μειωμένο, ευνοώντας την μυκητιακή ανάπτυξη. Επίσης η ανάπτυξη των μυκήτων λαμβάνει μέρος και σε βιομηχανικά επεξεργασμένες τροφές. Η ευαισθησία των ζώων στις μυκοτοξίνες, ποικίλει, αναλόγως του είδους του ζώου, της ηλικίας, του φύλου, της θρεπτικής κατάστασης, και της φυλής. Οι μυκοτοξίνες, οι οποίες όπως προαναφέρθηκε σχηματίζονται κατά τη διάρκεια της ανάπτυξεως ορισμένων μυκήτων, είτε απεκκρίνονται μέσα στο υλικό που αναπτύσσεται ο μύκητας, είτε κατακρατούνται στο εσωτερικό του κυττάρου των μυκήτων και ελευθερώνονται μετά τη θραύση του μυκηλίου.

Υπάρχουν αναφορές ότι έχουν δοκιμαστεί ή χρησιμοποιηθεί και σαν βιολογικά όπλα. Υπάρχουν ανεπιβεβαίωτες πληροφορίες ότι χρησιμοποιήθηκαν στην Νοτιοανατολική Ασία το 1983, ενώ στη σύρραξη Ιράν-Ιράκ στη δεκαετία του 1980 ανεξάρτητες ιατρικές πηγές διαγνώσανε συμπτώματα οξείας μυκοτοξίνωσης σε στρατιώτες που έλαβαν μέρος σε απόρρητες επιχειρήσεις. Το ίδιο έγινε και στον Πόλεμο του Κόλπου, χωρίς ποτέ να επιβεβαιωθεί από το Αμερικανικό υπουργείο άμυνας.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 – ΠΟΙΕΣ ΕΙΝΑΙ ΟΙ ΜΥΚΟΤΟΞΙΝΕΣ

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ξεκινώντας στα τέλη του 1800 και συνεχίζοντας στα μέσα του 1900, η έννοια του «δευτερογενούς μεταβολισμού» μεταξύ των μυκήτων και άλλων μικροβίων άρχισε να κερδίζει την αποδοχή. Μια σημαντική έννοια στο συνολικό μεταβολισμό των οργανισμών αυτών είναι ότι οι ενώσεις δεν έχουν χρησιμοποιηθεί ως συστατικά του σώματος του οργανισμού, αλλά συχνά, κυμαίνονταν στο "μέσο", στο οποίο ο οργανισμός μεγάλωνε. Την ίδια στιγμή, η έννοια της αντιβίωσης γινόταν σημαντική και το εύρημα ότι τα "αντιβιοτικά" των μυκήτων θα μπορούσαν να είναι τοξικά για τα ζωικά είδη οδήγησε σε πολλά προτεινόμενα αντιβιοτικά που μέχρι τότε δεν εισέρχονταν στην αγορά, επειδή αποκλείονταν λόγω της τοξικότητάς τους στην κλινική χρήση τους. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου ήρθε η πρώτη γενική αναγνώριση ότι οι μυκητιακοί «δευτερογενείς μεταβολίτες» θα μπορούσαν να είναι σημαντικοί φορείς σε νόσους των ζώων και των ανθρώπων. Πριν από αυτή τη περίοδο, η δηλητηρίαση από τα μανιτάρια και τον εργοτισμό ήταν οι μόνες γνωστές μυκοτοξίνες. Σήμερα, η λέξη μυκοτοξίνη σημαίνει απλά μια τοξίνη που παράγεται από έναν μύκητα. Ο όρος προέρχεται από τη λέξη μυκοτοξίκωση, η οποία χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τους Forgacs and Carl (1955), και σημαίνει μια ασθένεια που προκαλείται από τοξίνες των μυκήτων. Το τελευταίο δεν περιλαμβάνει δηλητηριάσεις μανιταριών, τα οποία προκύπτουν από την εκούσια κατανάλωση μυκήτων θαλαίων (φορείς) στα τρόφιμα, και ως εκ τούτου, δεν θα πρέπει να συζητηθεί περαιτέρω.

1.2 ΚΑΤΗΓΟΡΙΟΠΟΙΗΣΗ

Οι κύριες κατηγορίες των μυκοτοξινών περιλαμβάνουν τις αφλατοξίνες, τις τριχοθισίνες, τις φουμονισίνες, την ζεαραλενόνη, την ωχρατοξίνη Α και τα αλκαλοειδή. Οι τοξίνες από το γένος *Stachybotrys* είναι επίσης υποψήφιες για πιθανή συμπερίληψη στον κατάλογο των μεγάλων μυκοτοξινών επειδή θεωρείται από πολλούς ότι συμμετέχουν σε εσωτερικά προβλήματα της ποιότητας του αέρα σε όλο

τον κόσμο. Οι περισσότερες ανησυχητικές μυκοτοξίνες παράγονται από τρία γένη μυκήτων, συγκεκριμένα τα *Aspergillus*, *Penicillium* και *Fusarium*. Οι περισσότερες που παράγουν μύκητες δεν είναι επιθετικά παθογόνες στα φυτά. Ωστόσο, οι μυκοτοξίνες παράγονται από διάφορα γένη στα φυτά κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου, όταν οι πύλες εισόδου παρέχονται και οι περιβαλλοντικές συνθήκες είναι οι κατάλληλες.

Πιο ειδικά, στην πιο επικίνδυνη κατηγορία, οι αφλατοξίνες (AFs) είναι τοξίνες που επιδρούν στον άνθρωπο και στην υγεία των ζώων μέσω της κύρωσης και της οξείας βλάβης στο συκώτι, την επαγωγή όγκου, καθώς και τις ανοσοκατασταλτικές, μεταλλαξιογόνες, τερατογενικές και καρκινογενικές επιδράσεις (Deshpande, 2002). Παράγονται κυρίως από το *Aspergillus flavus* και το *Aspergillus parasiticus*, είναι εξαιρετικά σταθερές στη ξήρανση, την αποθήκευση και την επεξεργασία των φαγητών και των ζωοτροφών (Ding, Li, Bai & Zhou, 2012; Ellis, Smith, Simpson & Oldham, 1991). Στην αναγνωρισθείσα οικογένεια των αφλατοξινών, τα πιο σημαντικά μέλη είναι οι αφλατοξίνες B_1 , B_2 , G_1 και G_2 . Ανάμεσά τους, η αφλατοξίνη B_1 (AFB₁) είναι η πιο δυνητικά τερατογόνα, μεταλλαξιογόνα και ηπατοκαρκινογόνος ένωση, και έχει αναγνωριστεί ως κατηγορία 1 καρκινογόνα από το International Agency for Research on Cancer (IARC) (1993). Οι αφλατοξίνες είναι γνωστό ότι είναι η αιτία της οξείας αφλατοξίκωσης στους ανθρώπους.

Οι τριχοθισίνες είναι μια οικογένεια σχεδόν 150 δομικών ενώσεων (Grove 1988) που παράγονται από διάφορα γένη μυκήτων, όπως *Fusarium*, *Cephalosporium*, *Myrothecium*, *Stachybotrys*, *Trichoderma* και άλλα. Πολλές φυσικές τριχοθισίνες παράγονται σε τρόφιμα και ζωοτροφές από είδη *Fusarium*, π.χ., δεσοξυνιβαλενόλη (DON : μερικές φορές αναφέρεται ως *vomitoxin*), τοξίνη T-2, νιβαλενόλη, διακετοξυσκιρπενόλη. Σε μερικά χρόνια καλλιέργειας, η μόλυνση από DON σε καλαμπόκι και σιτάρι ήταν σημαντική. Φυσική μόλυνση των τροφίμων και ζωοτροφών από την T-2 τοξίνη στις Ηνωμένες Πολιτείες σπανίως έχει αναφερθεί, αλλά ανιχνεύεται πιο συχνά σε κόκκους στην Ευρώπη. Η τοξικολογία της T-2 τοξίνης έχει μελετηθεί εκτενώς.

Οι φουμονισίνες είναι μυκοτοξίνες, οι οποίες παράγονται από τον μύκητα *F. verticillioides* (Gelderblom et al 1988b). Αυτός ο οργανισμός εμπλέκεται στην παραγωγή των ιπποειδών λευκοεγκεφαλομαλακίας και πνευμονικού οιδήματος σε χοίρους. Αυτές οι τοξίνες είναι πολυκετίδια τα οποία είναι δομικά όμοια με τη σφινγκανίνη. Οι φουμονισίνες φαίνεται να παρενοχλούν το μεταβολισμό του σφινγγολιπιδίου, ο οποίος μπορεί να οδηγήσει μυκοτοξικώσεις επαγόμενες από τη φουμονισίνη (D'arco et al., 2009).

Η ζεαραλενόνη είναι ένα οιστρογόνο από μυκοτοξίνες, προκαλεί αιδοιοκολπίτιδα και οιστρογονική έκκριση σε χοίρους. Η ζεαραλενόνη παράγεται κατά κύριο λόγο από το *F. graminearum*, το οποίο εμφανίζεται φυσικά σε υψηλής υγρασίας καλαμπόκι και έχει βρεθεί σε μουχλιασμένο σανό και σε περιβλήματα καρπών. Φυσιολογικές αντιδράσεις σε χοίρους εμφανίζονται όταν το επίπεδο ζεαραλενόνης στο καλαμπόκι ζωοτροφών υπερβαίνει περίπου 1 χιλιοστόγραμμα (mg) / κίλο (kg) (Kurtz and Mirocha 1978). Η ζεαραλενόνη μπορεί να μεταδοθεί στα χοιρίδια γάλακτος από την χοιρομητέρα, προκαλώντας οιστρογενισμό των νεαρών χοιρών. Η παραγωγή της ζεαραλενόνης ευνοείται από την υψηλή υγρασία και τις χαμηλές θερμοκρασίες, συνθήκες που εμφανίζονται συχνά στις μεσοδυτικές πολιτείες κατά τη διάρκεια της συγκομιδής το φθινόπωρο (Christensen et al 1977; Council for Agricultural Science and Technology 1979).

Οι ωχρατοξίνες είναι μια ομάδα των δομικά όμοιων μεταβολιτών που παράγονται από το *A. ochraceus* και άλλα συναφή είδη, καθώς και από το *Penicillium*

verrucosum καθώς και ορισμένα άλλα είδη *Penicillium*. Η μεγάλη αυτή ομάδα από μυκοτοξίνες περιέχει την ωχρατοξίνη Α. Η ωχρατοξίνη αυτή έχει προταθεί ως παράγοντας στην αιτιολογία μιας ανθρώπινης ασθένειας που είναι γνωστή ως βαλκανική ενδημική νεφροπάθεια (Krogh 1977 : Smith and Moss 1985).

Τα αλκαλοειδή παράγονται από διάφορα είδη *Claviceps*, ένα γένος των μυκήτων που εισβάλλει στο θηλυκό τμήμα του φυτού ξενιστή και αντικαθιστά την ωοθήκη με μία μάζα ιστού που ονομάζεται σκληρώτιο. Τα αλκαλοειδή αποτελούν τη μεγαλύτερη ομάδα μυκητιακών ενώσεων που περιέχουν άζωτο και χωρίζονται σε τέσσερις μεγάλες ομάδες με βάση τις χημικές ομοιότητές τους : (1) τις κλαβίνες, (2) τα λυσεργικά οξέα, (3) τα αμίδια λυσεργικού οξέος και (4) τις εργοπεπτίνες (Řeháček and Sajdl 1990).

Η τοξίνη T-2 εικαστικά σχετίζεται με μία ασθένεια του παρελθόντος μεγάλης σημασίας στη Ρωσία γνωστή ως τοξική τροφική αλευκία. Είναι ιδιαίτερου ενδιαφέροντος ότι η DON έχει αποδειχθεί ότι παράγει τη νόσο σε ποντίκια με ιστολογικές αλλαγές σχεδόν ταυτόσημες με την ανθρώπινη σπειραματονεφροπάθεια. Η ασθένεια είναι γνωστή ως σταχυβοτροτυξίκωση και θεωρείται ότι προκαλείται από επιλεγμένες τριχοθισίνες που παράγονται από το *Stachybotrys chartarum*. παρόλα αυτά μια πραγματική σχέση αιτίου και αποτελέσματος δεν έχει τεκμηριωθεί. Ομοίως, οι φουμονισίνες φαίνεται να είναι η πιο πιθανή αιτία του ανθρώπινου καρκίνου του οισοφάγου, αλλά αυτό δεν έχει αποδειχθεί συμπερασματικά.

Υπάρχουν ακόμα κάποιες αρκετά γνωστές μυκοτοξίνες μικρότερης κατηγορίας, όπως το κυκλοπιαζονικό οξύ (CPA) το οποίο αρχικά απομονώθηκε από μία καλλιέργεια που χαρακτηρίζεται ως *Cyclospium Penicillium*, το οποίο έγινε γνωστό κατά τη διάρκεια ελέγχων ρουτίνας σε τοξικογόνα καλούπια (Holzarfel 1968). Επίσης, η μυκοτοξίνη στεριγματοκυστίνη παράγεται από διάφορα είδη *Aspergillus* και *Bipolaris* καθώς και από το *Penicillium luteum*. Χημικώς, η στεριγματοκυστίνη μοιάζει με τις αφλατοξίνες και είναι ένας πρόδρομος στην βιοσύνθεση της αφλατοξίνης (Hsieh et al 1973). Η γλυτοτοξίνη είναι μια ιδιαίτερα ανοσοκατασταλτική ένωση που παράγεται από μια ευρεία ποικιλία μυκήτων.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η γλυτοτοξίνη παράγεται από τον οργανισμό κατά τη σύσταση του *Aspergillus fumigatus*, μιας παθογόνου κατάστασης που είναι αιτιολογικός παράγοντας της αναπνευστικής νόσου γνωστή ως ασπεργίλλωση σε γαλοπούλες (Richard et al 1996a). Η ένωση αυτή ανήκει σε μια ομάδα από μεταβολίτες μυκήτων, ορισμένες από τις οποίες είναι τοξικές, και ονομάζονται επιπολυθειοδιοξοπιπεραζίνες. Η κιτρινίνη είναι μια κίτρινη μυκοτοξίνη που παράγεται από αρκετά είδη *Penicillium* και *Aspergillus*, συμπεριλαμβανομένων των στελεχών του *Penicillium verrucosum* που παράγουν ωχρατοξίνη. Όπως η ωχρατοξίνη Α, έτσι και η κιτρινίνη προκαλεί βλάβες στα νεφρά σε πειραματόζωα παρόμοια με τους χοίρους καθώς και νεφροπάθεια. Μπορεί να αλληλεπιδρούν συνεργατικά με την ωχρατοξίνη Α, όπως φαίνεται από τις περιπτώσεις νεφροπάθειας των χοίρων στη Δανία (Krogh 1977). Τέλος, η πατουλίνη είναι μια μυκοτοξίνη που παράγεται κατά κύριο λόγο από είδη *Penicillium* και *Aspergillus* αλλά η παραγωγή της δεν περιορίζεται σε αυτά τα γένη (Scott 1994). Οι περιορισμένες τοξικές ιδιότητές της είναι μεγάλης σημασίας επειδή εμφανίζεται σε μήλα και σε χυμό μήλου. Παρά το γεγονός ότι μπορεί να παραχθεί σε άλλους χυμούς που βρῖθουν από τοξικογόνα είδη μυκήτων, η φυσική εμφάνιση σε χυμούς πλην το χυμό μήλου δεν είναι ένα σημαντικό πρόβλημα.

Η σύγχρονη μυκητολογία ξεκίνησε με την ανακάλυψη των αφλατοξινών στις αρχές του 1960. Η νόσος που οφείλεται σε αλκαλοειδή (εργοτισμός), ωστόσο, είχε γίνει γνωστή από τον Μεσαίωνα. Επί του παρόντος, οι τοξικοί μεταβολίτες των

μυκήτων θεωρείται ότι ανέρχονται σε χιλιάδες. Οι μυκοτοξίνες είναι υπεύθυνες για πολλές ανθρώπινες ασθένειες αλλά και των ζώων. Και η φύση των παθογόνων φυτών σε πολλές από τις μυκοτοξίνες που παράγουν οι μύκητες προκαλούν ανησυχία για την ασφάλεια των τροφών και τις εμπορικές επιπτώσεις στα σιτηρά και στο εμπόριο των τροφίμων και των ζωοτροφών. Η εμφάνιση των μυκοτοξινών εξαρτάται από ευνοϊκές συνθήκες που ικανοποιούνται για την παραγωγή των μυκήτων και ειδικά των μυκοτοξινών καθώς επίσης φαίνεται να περιορίζεται σε ορισμένες περιβαλλοντικές θέσεις και σε συγκεκριμένες καλλιέργειες. Η παρουσία των μυκοτοξινών σε εμπορεύματα είναι προς το παρόν αναπόφευκτη και, ως εκ τούτου, για να αποφευχθεί η εμφάνισή τους στην αλυσίδα τροφίμων απαιτούνται στρατηγικές διαχείρισης που θα απέτρεπαν τα μολυσμένα προϊόντα στην είσοδο των τροφίμων και των εγκαταστάσεων επεξεργασίας των ζωοτροφών.

Σήμερα, σε όλο τον κόσμο υπάρχουν κανονισμοί για τις μυκοτοξίνες, αλλά θα πρέπει να εναρμονιστούν από χώρα σε χώρα, ιδίως για τη βελτίωση των εμπορικών διαπραγματεύσεων. Πάνω από 77 χώρες γνωρίζουν για τη ρύθμιση των μυκοτοξινών και ο Οργανισμός Τροφίμων και Γεωργίας (FAO) επισημοποίησε τις πληροφορίες στον τομέα αυτό σε μια δημοσίευση του 2003. Το οικονομικό κόστος των μυκοτοξινών είναι αδύνατο να προσδιοριστεί με ακρίβεια, αλλά η αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) χρησιμοποιεί ένα υπολογιστικό μοντέλο για την εκτίμηση των ζημιών που οφείλονται σε επιλεγμένες μυκοτοξίνες.

Η κατανόηση των μηχανισμών δράσης των μυκοτοξινών στα ζώα ξενιστές σε κυτταρικό και βιοχημικό επίπεδο είναι σημαντική έχοντας ως συνολικό στόχο τη θεραπεία ή την αναστολή της δράσης των μυκοτοξινών, ελέγχοντας έτσι δυνητικά ασθένειες και θανάτους που αποδίδονται σε αυτές.

1.3 ΤΙ ΠΡΟΒΛΗΜΑ ΠΡΟΚΑΛΟΥΝ ΟΙ ΜΥΚΟΤΟΞΙΝΕΣ

Ο συνολικός αριθμός των μυκοτοξινών δεν είναι γνωστός, αλλά οι τοξικοί μεταβολίτες των μυκήτων ενδεχομένως θα μπορούσαν να ανέρχονται σε χιλιάδες. Ο αριθμός των μυκοτοξινών που πράγματι είναι γνωστό ότι εμπλέκονται στη νόσο είναι σημαντικά μικρότερος, αλλά ακόμη και αυτός είναι δύσκολο να εκτιμηθεί λόγω της ποικιλομορφίας των επιπτώσεων των μοναδικών ενώσεων σε ζωικά συστήματα. Δεν είναι μόνο οι μυκοτοξίνες που προκαλούν ανησυχία για ανθρώπινες και ζωικές παθήσεις, αλλά και η φύση αυτών των παθογόνων φυτών σε πολλές από τις μυκοτοξίνες που παράγουν μύκητες είναι σημαντικού οικονομικού ενδιαφέροντος στις καλλιέργειες. Τα αποτελέσματα των δραστηριοτήτων των φυτικών παθογόνων οργανισμών εγείρουν ανησυχίες για την ασφάλεια των τροφίμων και των επιπτώσεων του εμπορίου των σιτηρών καθώς επίσης της εμπορίας των τροφίμων και των ζωοτροφών. Ο Turner (1978) καταλογογράφησε περίπου 1200 δευτερογενείς μεταβολίτες που παράγονται από περίπου 500 είδη μυκήτων. Το 1983, οι Turner και Alderidge (1983) καταλογογράφησαν 2.000 περισσότερες μεταβολίτες που παράγονται από περίπου 1.100 είδη. Έτσι σύμφωνα με αυτή την εκτίμηση, κατά μέσο όρο, υπάρχουν περίπου δύο μοναδικοί δευτερογενείς μεταβολίτες ανά είδη μυκήτων.

Η συνήθης διαδρομή της έκθεσης από μυκοτοξίνες είναι η κατάποση ως τρόφιμο ή η πρόσμιξή της στις ζωοτροφές. Ωστόσο, η δερματική επαφή και η εισπνοή μπορούν επίσης να είναι σημαντικές οδοί έκθεσης. Οι άμεσες επιπτώσεις των μυκοτοξινών κυμαίνονται από οξεία ασθένεια μέχρι σοβαρές συνθήκες αλλοιωμένης υγείας που μπορεί να καταλήξουν στο θάνατο, ως αποτέλεσμα της έκθεσης στην τοξίνη. Αυτές οι συνθήκες είναι πιο πιθανό να εμφανιστούν μετά από έκθεση σε

υψηλά επίπεδα μιας από τις μυκοτοξίνες. Άλλες, πιο ύπουλες ή απόκρυφες συνθήκες (π.χ., καθυστέρηση της ανάπτυξης, μειωμένη ανοσία, μειωμένη αντίσταση στις ασθένειες, μειωμένη παραγωγή γάλακτος ή αυγών) ή περισσότερες χρόνιες εκδηλώσεις της νόσου (π.χ., σχηματισμός όγκου) μπορεί να προκύψουν από την παρατεταμένη έκθεση σε μικρές ποσότητες τοξίνης. Το χαμηλό επίπεδο της έκθεσης είναι μικρότερης ανησυχίας, όταν τα τρόφιμα και οι ζωοτροφές είναι καλύτερης ποιότητας και επομένως θα περιλαμβάνουν μικρότερες ποσότητες από μυκοτοξίνες. Μεγαλύτερη ανησυχία υπάρχει εκεί όπου οι πληθυσμοί εξαρτώνται από ένα βασικό συστατικό στη διατροφή τους. Αν κάτι έχει μολυνθεί κατά συρροή, οι καταναλωτές εκτίθενται σε μεγαλύτερες ποσότητες της μυκοτοξίνης σε μια δεδομένη χρονική περίοδο από ό, τι πληθυσμούς που καταναλώνει μια ευρεία ποικιλία τροφίμων. Φαίνεται να υπάρχει μεγάλη ποικιλομορφία μεταξύ των ζωικών ειδών στην ευαισθησία σε μια συγκεκριμένη μυκοτοξίνη που επηρεάζεται από παράγοντες όπως η ηλικία, το φύλο, το στέλεχος και η διατροφική κατάσταση. Έμμεση έκθεση των ανθρώπων σε μυκοτοξίνες είναι πιθανή, όταν καταναλώνονται τοξικά κατάλοιπα ή μεταβολίτες που εξακολουθούν να υπάρχουν στο γάλα, τα αυγά, ή τους βρώσιμους ιστούς.

Η συνειδητοποίηση σχετικά με τους κινδύνους των μυκοτοξινών και των προσμειξεων των τροφίμων και των ζωοτροφών αυξάνεται. Η συνειδητοποίηση του μεγέθους των κινδύνων αυτών ξεκίνησε στις αρχές της δεκαετίας του 1960 και έχει οδηγήσει σε μια τεράστια βιβλιογραφία σχετικά με τις πολλές πτυχές των μυκοτοξινών. Οι κίνδυνοι που συνδέονται με τις μυκοτοξίνες που υπάρχουν σε καλλιέργειες, τρόφιμα, ζωοτροφές και ζωικά προϊόντα εγείρουν ανησυχίες για την ασφάλεια των τροφίμων και τελικά έχει επιπτώσεις στο εμπόριο σιτηρών και την εμπορία των τροφίμων και των ζωοτροφών.

Πιο συγκεκριμένα, οι αφλατοξίνες, ειδικά οι AFB₁ και AFM₁, είναι οι πιο ισχυρές γνωστές μυκοτοξίνες, που μπορούν να παράγουν καρκινογένεσεις, τερατογένεσεις, ηπατοτοξίνες και ανοσοκατασταλτικές επιδράσεις σε ανθρώπους και ζώα (Guengerich, Johnson, Ueng, Yamazaki, & Shimada, 1996; Liu & Wu, 2010). Οι έρευνες κατέδειξαν ξεκάθαρα ότι το AFB₁ μπορεί να προκαλέσει τοξική ηπατίτιδα, νέκρωση, θάνατο των κυττάρων στο ήπαρ, ανοσοκαταστολή και ηπατικό καρκίνωμα (Mace, Augilar, Wang & Pfeifer, 1997; Mclean & Dutton, 1995; Robens & Richard, 1992). Η έκλυση οξύτατης τοξικότητας από τις αφλατοξίνες είναι ένα επαναλαμβανόμενο δημόσιο πρόβλημα υγείας και χρειάζεται να καταβληθεί μεγάλη προσπάθεια να εξαλείψουμε ή να μειώσουμε τη περιεκτικότητα των AFs σε τρόφιμα και ζωοτροφές. Αν οι αφλατοξίνες λαμβάνονται για μεγάλη περίοδο, ακόμα και σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, η υγεία των ανθρώπων και των ζώων θα ζημιωθεί σοβαρά. Ως εκ τούτου, οι συγκεντρώσεις των αφλατοξινών ελέγχονται ευρέως στα φαγητά και στις ζωοτροφές σε πολλές χώρες (Wu & Munkvold, 2008).

Όσον αφορά τις τριχοθισίνες, το 1980 και το 1981 στον Καναδά και το 1982 στις Ηνωμένες Πολιτείες, βρέθηκε DON σε σιτάρι που ήταν σοβαρά μολυσμένο με τον μύκητα *Fusarium graminearum*. Τα μαλακά σιτάρια το χειμώνα ήταν που επλήγησαν περισσότερο. Στον Καναδά, αποξηραμένο καλαμπόκι ανακαλύφθηκε ότι περιείχε επίπεδα DON ελαφρώς υψηλότερα από αυτά που βρέθηκαν στο σιτάρι (Trenholm et al 1985). Σε ορισμένες περιοχές των Ηνωμένων Πολιτειών, η ζεαραλενόνη βρέθηκε μαζί με DON σε σιτάρι με ψώρα : σε ορισμένες περιπτώσεις σήψης από *Gibberella* στο καλαμπόκι, η ζεαραλενόνη και το DON βρέθηκαν μαζί. Το 1993 και τα επόμενα έτη, εκτεταμένη εμφάνιση της DON σε σιτάρι και κριθάρι προκάλεσε σοβαρές οικονομικές απώλειες στις σιτοκαλλιέργειες στις Ηνωμένες Πολιτείες και το νότιο Καναδά (McMullen et al. 1997). Σε μερικά χρόνια

καλλιέργειας, η μόλυνση από DON σε καλαμπόκι και σιτάρι ήταν σημαντική. Φυσική μόλυνση των τροφίμων και ζωοτροφών από την τοξίνη T-2 στις Ηνωμένες Πολιτείες σπανίως έχει αναφερθεί, αλλά ανιχνεύεται πιο συχνά σε κόκκους στην Ευρώπη.

Οι φουμονισίνες έχουν περιγραφεί ως ικανές να αναπαράγουν την ασθένεια σε άλογα (Marasas et al 1988b). Υπάρχουν επίσης ενδείξεις που συνδέουν το *F. verticillioides* με μόλυνση καλαμποκιού στην υψηλή συχνότητα εμφάνισης του ανθρώπινου καρκίνου του οισοφάγου στη Νότια Αφρική και την Κίνα (Gelderblom et al 1988b, Yoshizawa et al 1994). Μία φουμονισίνη (B_1), που απομονώθηκε από το υλικό καλλιέργειας της *F. verticillioides*, αποδείχθηκε να έχει προωθημένη καρκινική δραστηριότητα σε αρουραίους (Gelderblom et al 1988a). Η λευκοεγκεφαλομαλάκια εμφανίζεται συνήθως σε άλογα στις Ηνωμένες Πολιτείες. Η *F. verticillioides* είναι μια σχεδόν καθολική κάτοικος του καλαμποκιού (Haliburton and Buck 1986). Η φουμονισίνη B_1 (FB_1) είναι η πιο τοξική και η πιο συχνά εμφανιζόμενη. Αυτή η μυκοτοξίνη έχει ταξινομηθεί από την International Agency for Research on Cancer (IARC) ως πιθανή καρκινογόνα για τους ανθρώπους και η χρόνια κατανάλωσή της από μολυσμένο καλαμπόκι έχει συνδεθεί με τον καρκίνο του οισοφάγου στους ανθρώπους (Wild and Gong, 2010). Το μέγιστο υπολειμματικό όριο που εκδόθηκε από την EFSA για τις συνολικές ποσότητες φουμονισινών σε προϊόντα αραβόσιτου για ανθρώπινη κατανάλωση είναι 2 mg/kg (Meca et al., 2010). Οι κυτταρικοί μηχανισμοί πίσω από την προκαλούμενη τοξικότητα της FB_1 περιλαμβάνουν επαγωγή του οξειδωτικού στρες, απόπτωση και κυτταροτοξικότητα.

Είτε το δεχτούμε, είτε όχι, υπάρχουν πάνω από 100.000 είδη μυκήτων, και η πλειοψηφία των γνωστών τοξικών ειδών προέρχονται από τρία αναγνωρισμένα γένη. Αυτά τα γένη είναι τα *Aspergillus*, *Penicillium* και *Fusarium*. Επίσης, οι περισσότερες από τις γνωστές μυκοτοξίνες δημιουργούνται από αυτά τα γένη.

Το γένος *Aspergillus* είναι σε μια μεγάλη, πολύ διαφορετική οικογένεια μυκήτων που βρίσκονται σε όλο τον κόσμο στον τομέα της διανομής, αλλά κυρίως βρίσκονται σε υποτροπικά και εύκρατα θερμά κλίματα. Μπορούν γενικά να θεωρούνται ως σαπρόφυτα που είναι σημαντικά στη θρεπτική ανακύκλωση. Η ανάπτυξή τους σε υψηλές θερμοκρασίες και χαμηλή ενεργότητα νερού (a_w , λόγος της τάσης ατμών του προϊόντος προς εκείνη του καθαρού ύδατος) επιτρέπει την συμμετοχή τους στον αποικισμό από μια ποικιλία καλλιεργειών, μερικές φορές με περιορισμένο παρασιτισμό ειδικά κάτω από ευνοϊκές συνθήκες. Μερικά από τα πιο οικονομικά και σημαντικά τοξικογόνα είδη μυκήτων ανήκουν σε αυτό το γένος.

Τα είδη του γένους *Penicillium* γενικά αναπτύσσονται και μπορεί να παράγουν μυκοτοξίνες σε ευρύτερη περιοχή θερμοκρασιών από ό, τι εκείνα του γένους *Aspergillus* (Omiński et al 1994). Το *Penicillium spp.* βρίσκεται άφθονο σε εύκρατα κλίματα. Τα είδη του γένους πιο συχνά συνδέονται με την αποθήκευση παρά με τη μόλυνση προ της συγκομιδής των σιτηρών (Sauer et al 1992).

Οι μύκητες του γένους *Fusarium* είναι ένα μεγάλο συγκρότημα με είδη προσαρμοσμένα σε ένα ευρύ φάσμα των οικολογικών ενδιατημάτων. Βρίσκονται σε παγκόσμιο επίπεδο στον τομέα της διανομής και πολλοί είναι σημαντικά παθογόνοι για τα φυτά. Ωστόσο, πολλά είδη έχουν επιβαρύνει το έδαφος και υπάρχουν ως σαπρόφυτα, σημαντικά στη διάσπαση των φυτικών υπολειμμάτων. Μερικά είδη είναι σημαντικοί παραγωγοί μυκοτοξινών, μερικά από τα οποία είναι παρόντα προ της συγκομιδής σε μολυσμένους σπόρους και άλλα φυτά.

Δύο άλλα μυκοτοξικά γένη που είναι σημαντικά είναι τα *Claviceps* και *Stachybotrys*. Και τα δύο είναι τρέχουσες και ιστορικής σημασίας. Ο εργοτισμός είναι μία από τις παλαιότερες γνωστές μυκοτοξικές και είναι ευθύνη των ανθρώπων και άλλων ζώων που καταναλώνουν σιτηρά, τα οποία έχουν μολυνθεί με

τα σκληρώτια του *Claviceps spp.*. Τα παράγωγα της ερυσιβόδους όλυρας σκληραίνουν τις μάζες, τους ιστούς των μυκήτων και περιέχουν τοξικά αλκαλοειδή που παράγονται από επιλεγμένα μέλη αυτού του γένους.

Ο *Stachybotrys* είναι ένα γένος στο οποίο υπάρχουν ορισμένα σαπροφυτικά είδη που είναι ιδιαίτερα κυτταρινολυτικά και παράγουν τοξίνες που περιέχονται στα κονίδια και άλλα σωματίδια που μπορεί να γίνουν αερομεταφερόμενα με αποτέλεσμα κάποιες ασθένειες που μεταφέρονται είτε μέσω της αναπνευστικής οδού ή στην πέψη. Έχουν περιγραφεί ασθένειες σε ζώα και ανθρώπους που προκύπτουν από την κατανάλωση μολυσμένων κόκκων ή των προϊόντων τους, άχυρο ή άλλα φυτικά υλικά που έχουν καταστεί υγρά για να υποστηρίξουν την ανάπτυξη και την παραγωγή τοξίνης αυτού του οργανισμού.

Αν και υπάρχουν και άλλα γένη των μυκήτων που παράγουν μυκοτοξίνες, αυτά που αναφέρονται παραπάνω είναι τα πιο κυρίαρχα.

Δεν είναι δυνατό να εκτιμηθεί με ακρίβεια το οικονομικό κόστος των μυκοτοξινών. Ωστόσο, ένας υπολογιστής με βάση το μοντέλο που χρησιμοποιείται κατά την παρουσίαση έδειξε το εκτιμώμενο ποσό της αξίας των τροφίμων και των απωλειών των ζωοτροφών, καθώς και τις προσπάθειες μετριασμού. Από αυτές τις μελέτες, το δυνητικό οικονομικό κόστος των ζημιών των καλλιεργειών από τις μυκοτοξίνες, στις Ηνωμένες Πολιτείες μόνο, είναι μεγάλο, με μέση τιμή από 932 εκατομμύρια δολάρια ετησίως. Οι μέσες δαπάνες για το μετριασμό υπολογίζεται ότι είναι περίπου 466 εκατομμύρια δολάρια και ο μέσος όρος προσομοίωσης δαπανών ζωικού κεφαλαίου ήταν περίπου 6 εκατομμύρια δολάρια ετησίως. Οι κυριότερες μυκοτοξίνες που χρησιμοποιούνται στις αξιολογήσεις αυτές είναι οι αφλατοξίνες, οι φουμονισίνες και η δεσοξυνιβαλενόλη. Όλες οι άλλες μυκοτοξίνες είναι πιθανό να έχουν επίδραση στις οικονομικές δαπάνες που δεν εξετάστηκαν, λόγω της έλλειψης επαρκών πληροφοριών. Ωστόσο, ακόμη και με τις λίγες μυκοτοξίνες που χρησιμοποιούνται και τις υποθέσεις που συμμετέχουν στο μοντέλο, οι μυκοτοξίνες θα μπορούσαν να επιβάλλουν ενδεχομένως υψηλό κόστος για την οικονομία.

1.4 ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΠΟΥ ΕΥΝΟΟΥΝ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΜΥΚΟΤΟΞΙΝΩΝ

Σε πολλές περιπτώσεις, οι μυκοτοξίνες σχηματίζονται κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου. Ωστόσο, μπορούν να σχηματίζονται ή και να αυξάνονται κατά τη διάρκεια της συγκομιδής, της ξήρασης και της αποθήκευσης. Ο πιο σημαντικός παράγοντας σε αυτή τη διαδικασία της παραγωγής των μυκοτοξινών είναι η διαθεσιμότητα του νερού για την ανάπτυξη του μύκητα που παράγει. Η θερμοκρασία, επίσης, είναι ένας σημαντικός παράγοντας. Έτσι, όταν η αλληλεπίδραση του φυτού και του μύκητα πραγματοποιείται, η υγρασία και η θερμοκρασία επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό την ανάπτυξη των φυτών, την υγεία και την ανταγωνιστικότητα του μυκοτοξιγενικού μύκητα.

Στην αποθήκευση των σιτηρών, οι παράγοντες της δραστηριότητας του ύδατος, ο εξαερισμός του υποστρώματος και η θερμοκρασία, οι συγκεντρώσεις ενοφθαλμίσματος, οι μικροβιακές αλληλεπιδράσεις, οι μηχανικές βλάβες και η προσβολή από έντομα μπορεί να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στην μόλυνση από μυκοτοξίνες.

Στο γένος του μύκητα *Aspergillus*, η κύρια κατηγορία των μυκοτοξινών, είναι οι αφλατοξίνες. Οι καλλιέργειες που επηρεάζονται συνήθως είναι το καλαμπόκι, το βαμβάκι, τα φυστίκια, και ορισμένα καρύδια. Ο μύκητας *Aspergillus flavus* είναι μια

αιτία της αποσύνθεσης στο ωτίο του καλαμποκιού, όπου τα κονίδια από το χόμα του οργανισμού μεταφέρονται με τα νημάτια του φυτού του καλαμποκιού και υπό κατάλληλες περιβαλλοντικές συνθήκες, μπορεί να εμφανιστούν λοιμώξεις. Η παραγωγή της αφλατοξίνης μπορεί να συνεχιστεί μέχρις ότου η υγρασία στο εσωτερικό φθάσει περίπου το 15%. Η μόλυνση στα φιστίκια εμφανίζεται κατά το συνδυασμό της υψηλής θερμοκρασίας και της χαμηλής υγρασίας.

Στο βαμβάκι, τα έντομα συχνά παίζουν σημαντικό ρόλο στην είσοδο του μύκητα στις κάψες του βαμβακιού. Στα φιστίκια, το φαινόμενο κατά το οποίο οι φλοιοί χωρίζονται επιτρέπει μια πύλη εισόδου για το μύκητα. Και στις δύο περιπτώσεις, όμως, καθώς και στα αμύγδαλα, η μόλυνση μπορεί να συνεπάγεται ζημία από προνύμφες εντόμων. Αν και δεν παρουσιάζονται πειστικές αποδείξεις για τα λεγόμενα σε όλες τις καλλιέργειες, οι υψηλές θερμοκρασίες φαίνεται να παίζουν ρόλο στη μόλυνση από αφλατοξίνες.

Μια σειρά από στρατηγικές ελέγχου για την μόλυνση από αφλατοξίνες σε καλλιέργειες που ερευνώνται περιλαμβάνουν έλεγχο προ της συγκομιδής για την καλλιέργεια, όπου είναι δυνατόν να γίνει θέσπιση προγραμμάτων αναπαραγωγής και εκτίμησης πιθανών παραγόντων βιολογικού ελέγχου.

1.5 ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΚΑΙ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΤΩΝ ΜΥΚΟΤΟΞΙΝΩΝ

Οι αφλατοξίνες πρωτίστως παρήχθησαν από τους τροφιμογενείς μύκητες *Aspergillus flavus* και *A. parasiticus* σε ευρεία ποικιλία από φυσικά υποστρώματα όπως σπόροι, ξηροί καρποί, προϊόντα φαγητού κλπ. (Giray, Girgin, Engin, Aydin & Sahin, 2007; Karami-Osboo, Mirabolfathy, Kamran, Shetab-Boushehri, & Sarkari, 2012). Επιπρόσθετα, όταν τα ζώα καταναλώνουν τροφή μολυσμένη με αφλατοξίνες, η αφλατοξίνη M_1 απεκκρίνεται στο γάλα (Nemati, Mehrgan, Hamed, & Masoud, 2010). Η εμφάνιση της ερυσιβώδους όλυρας των δημητριακών, είναι περιορισμένη και έχει ποσοστό 0,05% στα παράγωγά της και έχει προταθεί ως ένα μέγιστο αποδεκτό επίπεδο. Η εμφάνιση των αφλατοξινών λαμβάνει χώρα κατά κύριο λόγο στα φιστίκια, στο αραβοσιτέλαιο, στο βαμβακέλαιο, στα καρύδια Βραζιλίας, στα φιστίκια Αιγίνης, σε διάφορα μπαχαρικά, στα σύκα, και στη φοινικοκαρύα.

Η αφλατοξίνη M_1 (AFM_1) είναι σταθερή κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας του γάλακτος, της ωρίμανσης και της αποθήκευσης του τυριού, και ίσως να είναι παρούσα στο γάλα και στα γαλακτοκομικά προϊόντα. Ως εκ τούτου, η κατανάλωση του γάλακτος και των προϊόντων του αυξάνει το ρίσκο της έκθεσης αυτής της τοξίνης στον πληθυσμό. Το International Agency for Research on Cancer (IARC) περιλαμβάνει την AFM_1 ως μέλος μίας ομάδας 28 ενώσεων (πιθανά καρκινογενή για τον άνθρωπο). Η καρκινογόνος ικανότητα του AFM_1 θεωρείται πως είναι δέκα φορές χαμηλότερη από αυτή του AFB_1 (IARC, 2002). Παρ'όλο που οι μηχανισμοί τοξικότητας του AFM_1 στους ανθρώπους δεν είναι πλήρως κατανοητοί, η επαγωγή του καρκίνου του ήπατος είναι πιθανό ότι συμβαίνει από έναν παρόμοιο μηχανισμό με αυτόν του AFB_1 . Παρ'όλα αυτά, σε αντίθεση με το AFB_1 , η μυκοτοξίνη AFM_1 φαίνεται πως ασκεί άμεση κυτταροτοξική δράση στα ανθρώπινα κύτταρα τα οποία δεν απαιτούν προηγούμενη μεταβολική ενεργοποίηση (Klich, Mullaney, Daly, & Cary, 2000).

Το FDA έχει θεσπίσει συγκεκριμένες κατευθυντήριες γραμμές για τα επιτρεπόμενα όρια αφλατοξινών στα τρόφιμα για ανθρώπους και τη διατροφή των ζώων, θέτοντας οριακά επίπεδα που επιτρέπουν την απομάκρυνση των προϊόντων όταν αυτά είναι μολυσμένα με πιθανά μη ασφαλή επίπεδα αυτής της τοξίνης. Τα στάνταρ ορίζουν ένα μάξιμουμ 20 ppb των συνολικών αφλατοξινών στο φαγητό για

ανθρώπινη κατανάλωση, με εξαίρεση το γάλα, το οποίο έχει όριο 0.5 ppb για την αφλατοξίνη M_1 . Σύμφωνα με το Codex Alimentarius, τα μέγιστα επίπεδα της AFM_1 στο γάλα και στα γαλακτοκομικά προϊόντα δεν πρέπει να ξεπερνούν τα 0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb). Σύμφωνα με τους κανονισμούς της US από το FDA η περιεκτικότητα της AFM_1 στο γάλα δεν πρέπει να είναι μεγαλύτερη από 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Codex Alimentarius Commission, 2001). Παρ'όλα αυτά, η συνολική ποσότητα της κατάποσης της μόλυνσης δεν αντανakλά πάντα την ποσότητα που είναι διαθέσιμη στο σώμα για την απορρόφηση. Μόνο ένα συγκεκριμένο ποσοστό της μόλυνσης είναι βιοπροσβάσιμο. Η βιοπροσβασιμότητα καθορίζεται από την ποσότητα της χημικής ένωσης που απελευθερώθηκε από την κατάποση της μήτρας των τροφίμων μέσα στο γαστρεντερικό χυμό του σωλήνα και έγινε διαθέσιμο για επακόλουθη απορρόφηση από το έντερο (Versantvoort, Oomen, Van de Kamp, Rompelberg & Sips, 2005). Οι μελέτες σε ανθρώπους και ζώα έδειξαν ότι η βιοπροσβασιμότητα, και κατ'επέκταση, η βιοδιαθεσιμότητα των συστατικών των τροφίμων μπορεί να διαφέρουν σημαντικά σε σχέση με την πηγή του φαγητού, την επεξεργασία του ή την προετοιμασία του (Shim, Feruzzi, Kim, Janle & Santette, 2009; Van het Hof, West, Weststrate & Hautvast, 2000; Wienke, Marx & Beynen, 1999).

Η τριχοθισίνη T-2 βρίσκεται συχνότερα σε κόκκους στην Ευρώπη παρά στις Ηνωμένες Πολιτείες. Οι φουμονισίνες εμφανίζονται κυρίως στο καλαμπόκι και παράγονται από τον *F. verticillioides*, ένα σχεδόν καθολικό παθογόνο παράγοντα του καλαμποκιού. Αυτές οι τοξίνες είναι σε θέση να προκαλέσουν επιβλαβείς νόσους σε άλογα και χοίρους και έχει αποδειχθεί ότι είναι καρκινογόνες σε αρουραίους και ποντικούς. Η ζεαραλενόνη παράγεται κατά κύριο λόγο από τον *F. graminearum* και προκαλεί αιδοιοκολίτιδα και οιστρογονικές αντιδράσεις σε χοίρους. Επίσης, μπορεί να συνυπάρξει με το *DON* σε δημητριακά όπως σιτάρι, κριθάρι, βρώμη, και φυσικά το καλαμπόκι. Οι ωχρατοξίνες παράγονται πρωτίστως από το *Penicillium verrucosum* και προκαλούν σημαντικές ασθένειες σε ζώα, κυρίως χοίρους, και μπορεί να είναι η αιτία της ενδημικής νόσου των νεφρών σε χώρες των Βαλκανίων. Τα αλκαλοειδή της ερυσιβώδους όλυρας παράγονται κυρίως από διάφορα είδη του μύκητα *Claviceps* που είναι παθογόνος για τα φυτά και μπορούν να επεξεργαστούν τις τοξίνες σε εξειδικευμένες μάζες των μυκητιακών ιστών που ονομάζονται σκληρωτίες.

Η ανάπτυξη των ειδών του *Fusarium* στο καλαμπόκι είναι ένα κοινό περιστατικό και ως εκ τούτου, η παρουσία των *FB's* στα προϊόντα από καλαμπόκι, όπως κόκκους καλαμποκιού, νιφάδες και αλεύρι είναι ένα παγκόσμιο πρόβλημα (D'arco et al., 2009; Molinie et al., 2005). Επιπρόσθετα, αυτές οι τοξίνες επίσης εμφανίστηκαν σε σιτάρι, κριθάρι, σόργο και ρύζι (Mateo and Jimenez, 2000).

Το *Citreoviridin* αρχικά απομονώθηκε από καλλιέργειες καλουπιών που λαμβάνονται από το ρύζι και σχετίζεται με μια ασθένεια που ονομάζεται καρδιακό *beriberi* που παρουσιαζόταν για τρεις αιώνες στην Ιαπωνία (Ueno and Ueno 1972). Αυτή η μυκοτοξίνη εμφανίζεται επίσης στο καλαμπόκι και άλλα τρόφιμα και ζωοτροφές (Wicklow et al. 1988). Αρκετά είδη *Penicillium* και ένα είδος του *Aspergillus* έχουν αναφερθεί για την παραγωγή αυτής της μυκοτοξίνης. Το *Citreoviridin* προκαλεί παράλυση, δύσπνοια, καρδιαγγειακές διαταραχές, και την απώλεια της όρασης σε πειραματόζωα (Ueno 1974).

Οι μύκητες του είδους *Fusarium graminearum* είναι ένα σημαντικό παθογόνο για το σιτάρι, το κριθάρι και τη βρώμη και είναι ένας σημαντικός παραγωγός του *DON* σε αυτά τα δημητριακά. Αυτός ο οργανισμός είναι σε θέση να παράγει ζεαραλενόνη σε διάφορα προϊόντα όπως το καλαμπόκι. Ο οργανισμός επιβιώνει στα υπολείμματα των καλλιεργειών, που είναι πηγή εμβολίου για τη συγκομιδή του επόμενου έτους. Οι στρατηγικές ελέγχου για αυτές τις λοιμώξεις και την παραγωγή

μυκοτοξινών που ερευνώνται και περιλαμβάνουν την εξάλειψη των υπολειμμάτων στο χώμα γίνεται μέσα από τη βαθιά άροση, τη άρδευση κατά τη διάρκεια της ξηρασίας, την αναπαραγωγή των παθογόνων παραγόντων και φυσικά της γενετικής τεχνολογίας.

Τα είδη του *penicillium spp* είναι αυτά που κατά κανόνα συνδέονται με την αποθήκευση των καλλιεργειών και την παραγωγή μυκοτοξινών, όπως η ωχρατοξίνη. Η ωχρατοξίνη συνήθως σχηματίζεται κατά την αποθήκευση ή κατά τη διάρκεια της ξήρανσης ορισμένων προϊόντων που προορίζονται για επεξεργασία. Η ωχρατοξίνη Α εμφανίζεται τις περισσότερες φορές στο καλαμπόκι, το σιτάρι, το σόργο, τη βρώμη, το ρύζι, το κρασί, τη μπίρα και τον πράσινο καφέ. Οι ζωοτροφές στον Καναδά και την Ευρώπη μπορεί να είναι ιδιαίτερα μολυσμένες με ωχρατοξίνη Α, αλλά προφανώς μόνο χαμηλές συγκεντρώσεις εμφανίζονται στα δημητριακά στις ΗΠΑ. Περιορισμένη εμφάνιση στα βασικά γεωργικά προϊόντα πραγματοποιούν τα: στεριγματοκυστίνη, σποριδεσμίνη, Ρουμπρατοξίνη Β, κυτοχλασίνη και σλαφραμίνη.

Τα τοξικά αλκαλοειδή επίσης παράγονται από τα είδη του *Epiclhoe Neotyphodium*, όπου δύο από αυτά μπορεί να είναι ενδοφυτικά σε ορισμένα είδη φυτών, όπως η φεστούκα και η ήρα. Ο έλεγχος της ερυσιβώδους όλυρας επιχειρείται από τις πρακτικές διαχείρισης βοσκοτόπων και για τις ενδοφυτικές σχέσεις, γίνονται προσπάθειες ελέγχου που αποσκοπούν κατά κύριο λόγο στη μείωση της τοξικότητας του ενδοφυτικού μύκητα μέσω της επιλογής.

Στα επεξεργασμένα τρόφιμα, υπάρχουν περιορισμένες πληροφορίες σχετικά με την εμφάνιση των μυκοτοξινών, οι περισσότερες εκ των οποίων αφορούν τις αφλατοξίνες. Οι αφλατοξίνες μπορεί να εμφανιστούν στο γάλα και στα γαλακτοκομικά προϊόντα που παρασκευάζονται από γάλα, ως αποτέλεσμα της σίτισης μολυσμένων μερίδων στα βοοειδή γαλακτοκομικά προϊόντα. Οι αφλατοξίνες φαίνεται να μεταβολίζονται γρήγορα στα περισσότερα είδη ζώων και τα υπολείμματα σε βρώσιμα κρέατα είναι μάλλον περιορισμένα με αποτέλεσμα να υπάρχει μικρή ανησυχία για την ανθρώπινη υγεία από αυτή την πηγή έκθεσης. Η μόλυνση από *DON* στο σιτάρι έχει ως αποτέλεσμα την ανακάλυψη αυτών των μυκοτοξινών σε προϊόντα με βάση τα δημητριακά όπως το αλεύρι, το ψωμί, και κάποιες παιδικές τροφές. Η ωχρατοξίνη Α μπορεί να βρεθεί στο χοιρινό κρέας και το κρέας πουλερικών. Οι μυκοτοξίνες που περιέχονται σε μεταποιημένες τροφές προέρχονται από μυκοτοξίνες μολυσμένων προϊόντων και επίσης μπορεί να περάσουν μέσα από τα ζώα και εμφανίζονται στο κρέας, τα αυγά και το γάλα. Οι μυκοτοξίνες μπορεί να υπάρχουν σε προϊόντα τροφίμων, όπως το μητρικό γάλα ή μπορεί να αλλάξουν σε ένα άλλο τοξικό μεταβολίτη στο ζώο.

Το 1995, ερευνητές στην Ιταλία ανέφεραν μια προηγουμένως άγνωστη τοξίνη, την φουσαπρολιφερίνη, η οποία παράγεται από τα *Fusarium proliferatum* και *F. subglutinans* (Logrieco et al 1996, Manetti et al 1995, Ritieni et al 1995.). Είναι μία σεσκιτερπενική ένωση η οποία είναι τοξική στις γαρίδες άλμης (*Artemia salina*), στα έντομα και τις καλλιέργειες ανθρώπινων κυττάρων σε εργαστηριακές δοκιμασίες. Επίσης, έχει τερατογόνο δράση σε έμβρυα κοτόπουλου (Ritieni et al. 1997a). Η φουσαπρολιφερίνη έχει ανιχνευθεί σε δείγματα ζωοτροφών που σχετίζονται με την απόρριψή τους από τα ζώα (Munkvold et al. 1998), αλλά δεν υπάρχει άμεση απόδειξη ότι προκαλεί τα συμπτώματα της άρνησης της τροφής. Δεν υπάρχουν μελέτες διατροφής θηλαστικών που να έχουν διεξαχθεί μέχρι σήμερα.

Η φουσαπρολιφερίνη έχει ανιχνευθεί σε δείγματα καλαμποκιού από την Ιταλία (Ritieni et al. 1997b), την Πολωνία και τις Ηνωμένες Πολιτείες. Εμφανίζεται μερικές φορές με φουμονισίνες, μιοβερίκηνη, και / ή φουσαρικό οξύ (Munkvold et al 1998). Τα περισσότερα στελέχη του *F. proliferatum* και του *F. subglutinans* που έχουν

δοκιμαστεί έχουν την ικανότητα παραγωγής φουσαπρολιφερίνης σε καλλιέργειες (Moretti et al 1996). Παρά το γεγονός ότι η σημασία αυτής της ένωσης σε ζώα και στην ανθρώπινη υγεία παραμένει απροσδιόριστη, η οξεία τοξικότητα των γαρίδων άλμης υπερβαίνει εκείνη των περισσότερο γνωστών ενώσεων, όπως για παράδειγμα των φουμονισινών.

Τα *Penicillium roqueforti* και *P. caseicolum* (*P. camemberti*), χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία της μούχλας ή κάποιων ώριμων τυριών και έχει αποδειχθεί ότι παράγουν διάφορες τοξικές ενώσεις, συμπεριλαμβανομένων των ακόλουθων : πεινικίλλικό οξύ, ροκεφορτίνη, ισοφουμιγκακλαβίνη Α και Β, μυκοφαινολικό οξύ, και κυκλοπιαζονικό οξύ (Scott 1981). Η σημασία για τη δημόσια υγεία από τις διάφορες τοξίνες που παράγονται από τα *P. roqueforti* και *P. caseicolum* δεν είναι σαφής, λόγω της έλλειψης επιστημονικής έρευνας για τη σταθερότητα της ένωσης, την παραγωγή στον τομέα των γεωργικών προϊόντων και την τοξικότητα.

Παρά το γεγονός ότι τα προϊόντα μπορούν να υποστούν επεξεργασία σε διάφορα κλασματικά συστατικά με υγρή ή ξηρή άλεση, οι μυκοτοξίνες μπορούν ακόμη να εμφανιστούν σε επιλεγμένα κλάσματα σε διαφορετικές συγκεντρώσεις από ότι στο σύνολο του δείγματος μεταποιημένων κόκκων. Ακόμη και στη ζύμωση, οι μυκοτοξίνες δεν είναι στο κλάσμα της αιθανόλης, αλλά με βάση το ξηρό βάρος τους μπορούν να αυξηθούν στο αναλώσιμο προϊόν των δημητριακών. Στις μεθόδους παρασκευής, οι ζεαραλενόνη, το *DON*, η ωχρατοξίνη, η φουμονισίνη και η αφλατοξίνη μπορούν να βρεθούν στην μύρα. Ομοίως, το κρασί μπορεί να περιέχει ωχρατοξίνη Α. Τα ποικίλα αποτελέσματα εξαρτώνται από τις μυκοτοξίνες και το εμπόρευμα, καθώς δεν έχουν ληφθεί πληροφορίες σχετικά με την μείωση των μυκοτοξινών κατά τη διάρκεια των τεχνικών παρασκευής τροφίμων, όπως το ψήσιμο, το ξεφλούδισμα, το μαγείρεμα και την κονσερβοποίηση.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 – ΑΙΤΙΕΣ ΠΟΥ ΠΡΟΚΑΛΟΥΝ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΜΥΚΟΤΟΞΙΝΩΝ

2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι μυκοτοξίνες παράγονται από ένα μεγάλο αριθμό μυκήτων. Σε γενικές γραμμές, αυτοί οι μύκητες δεν είναι δυνητικά παθογόνοι, αλλά μερικά είδη μπορεί να εισβάλουν και να αποικίσουν στους ιστούς των φυτών πριν από τη συγκομιδή και την αποθήκευση. Οι δύο βασικοί παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη και την παραγωγή μυκοτοξινών, τόσο προ της συγκομιδής όσο και μετά τη συγκομιδή, είναι η θερμοκρασία και την υγρασία. Οι δύο αυτοί παράγοντες έχουν άμεσες επιπτώσεις στην οικολογία και την παθογένεια του μύκητα και συχνά είναι σημαντικές στην προδιάθεση του φυτού σε λοιμώξεις. Ενώ η πιο κοινή έκθεση σε μυκοτοξίνες έχει σχέση με την κατανάλωση των φυτικών σπόρων, υπάρχουν εξαιρέσεις. Το *Neotyphodium spp.* δημιουργεί μία ενδοφυτική σχέση με το φυτό και μπορεί να παράγει ινδόλη σε όλα τα υπέργεια τμήματα του ιστού. Ο *Stachybotrys* που είναι ένας μύκητας που έχει επανεμφανιστεί ως πιθανός κίνδυνος για την υγεία, συνδέεται με το υγρό οικοδομικό υλικό στα σπίτια. Η έκθεση σε μυκοτοξίνες που παράγονται από αυτό το μύκητα προέρχεται πιθανώς από την εισπνοή των κονιδίων του *Stachybotrys*. Δεν είναι ασυνήθιστο για ένα υπόστρωμα να είναι μολυσμένο με περισσότερα από ένα μύκητα ταυτόχρονα ή οι μύκητες να αποικίσουν ένα υπόστρωμα διαδοχικά καθώς οι συνθήκες ευνοούν ένα είδος πάνω από ένα άλλο.

Οι μυκοτοξίνες είναι μια σχετικά μεγάλη, ποικιλόμορφη ομάδα φυσικών μυκητιακών τοξινών, πολλές από τις οποίες έχουν έντονα ενοχοποιηθεί ως χημικοί παράγοντες τοξικών ασθενειών σε ανθρώπους και ζώα (Πίνακας 2.1). Είναι αβέβαιο ακριβώς πόσοι τοξικοί δευτερογενείς μεταβολίτες ή μυκοτοξίνες υπάρχουν. Η γνώση της εμφάνισης και της διανομής των τοξινών σε τρόφιμα και ζωοτροφές είναι σημαντική διότι η έκθεση σε άγνωστους βιοδραστικούς παραγόντες θα μπορούσε να είναι ένας σημαντικός παράγοντας σύγχυσης στις προσπάθειες για να αιτιολογηθούν χρόνιες ασθένειες σε ζώα και ανθρώπους.

Πίνακας 2.1

Εμπορεύματα στα οποία βρέθηκαν μυκοτοξίνες και τα αποτελέσματα που προκύπτουν σε ανθρώπους και ζώα(πηγή: Mycotoxin Cast Report e-book, 2003. Page 14, Table 2.1)

		Επίδραση των μυκοτοξινών	
μυκοτοξίνες	Εμπορεύματα που βρέθηκαν μολυσμένα	Επηρεαζόμενα είδη	Παθολογικές επιδράσεις
φλαβοξίνες B ₁ B ₂ G ₁ J ₂ M ₁ M ₂)	Φιστίκια, καλαμπόκι, σιτάρι, ρύζι, βαμβακόσπορος, φοινικοκαρυά, φιστίκια Αιγίνης, διάφορα τρόφιμα, γάλα, αυγά, τυρί, σύκα	Πτηνά Πάπιες, γαλοπούλες και νεοσσοί, νεοσσοί φασιανού, ώριμα κοτόπουλα, ορτύκια Θηλαστικά Νεαρά γουρούνια, κυοφορούσες χοιρομητέρες, σκυλιά, μοσχάρια, ώριμα βοοειδή, γάτες, πίθηκοι, άνθρωποι Ψάρια Ζώα εργαστηρίων	Ηπατοτοξικότητα(ζ στο συκώτι) Υπερπλασία χοληφόρου Αιμορραγία Εντερικός σωλήν Νεφρά Καρκινογενέσεις(όχι στο συκώτι)
τρινίνη	Σπόροι δημητριακών	Χοίροι, σκυλιά, ζώα εργαστηρίων	Νεφροτοξικότητα (σωληναριακή νέκρωση των νεφρών) Νεφροπάθεια χοίρα
κκλοπιαζονικό οξύ	Καλαμπόκι, φιστίκια, τυρί, κεχρί	Κότες, γαλοπούλες, χοίροι, αρουραίοι, ινδικό χοιρίδιο, άνθρωποι	Νέκρωση των μυών Εντερική αιμορραγία οίδημα Στοματικές βλάβες
κρατοξίνη Α	Σπόροι δημητριακών (σιτάρι, κριθάρι, βρώμη, καλαμπόκι), ξηρά φασόλια, μουχλιασμένα φιστίκια, τυρί, ιστοί των χοίρων, καφές, σταφίδες, σταφύλια, αποξηραμένα φρούτα, κρασί	Χοίροι, σκυλιά, πάπιες, κότες, αρουραίοι, άνθρωποι	Νεφροτοξικότητα (σωληναριακή νέκρωση των νεφρών) Νεφροπάθεια χοίρα Ήπια ηπατική βλάβη Εντερίτιδα Τερατογενέσεις Καρκινογενέσεις των νεφρών) Όγκοι ουροποιοσωλήνα
ατουλίνη	Μουχλιασμένα τρόφιμα, σάπια μήλα, χυμός μήλου, υπολείμματα άχυρου σίτου	Πτηνά Κότες, έμβρυα κοτόπουλων, ορτύκια Θηλαστικά Γάτες, βοοειδή, ποντίκια, κουνέλια, αρουραίοι, άνθρωποι Άλλα Γαρίδες άλμης, χρυσόψαρα, ζέβρες, προνύμφες των ψαριών	Οίδημα Εγκέφαλος Πνεύμονες Αιμορραγία Πνευμονία Βλάβη των τριχοειδών Συκώτι Σπλήνα Νεφρά Παράλυση των νεφρών κίνησης Σπασμοί Καρκινογενέσεις Αντιβιοτικά

κυλλικό οξύ	Αποθηκευμένο καλαμπόκι, σπόροι δημητριακών, αποξηραμένα φασόλια, μουχλιασμένος καπνός	Ποντίκια, αρουραίοι, έμβρυα κοτόπουλων, ορτύκια, γαρίδες άλμης	Ζημιές στο συκώτι (λιπαρό συκ νέκρωση κυττάρων) Ζημιές στα νεφρά Συμπτώματα δακτυλίτιδας με δρ στην καρδιά Διαστολή αιμοφόρων αγγείων Αντιδιουρητικός Οίδημα στο δέρμα κουνελιών Καρκινογενέσεις Αντιβιοτικά
itrem	Μουχλιασμένο τυρί κρέμα, Αγγλικά καρύδια, ψωμί για χάμπουργκερ, μύρα	Σκύλοι, ποντίκια, άνθρωποι	Τρέμουλο, θάνα έλλειψη συντονισμού αματηρή διάρροια
οιγατοκυστίνη	Πράσινος καφές, μουχλιασμένο σιτάρι, σπόροι, σκληριά τυριά, μπιζέλια, βαμβακόσπορος	Ποντίκια, αρουραίοι	Καρκινογενέσεις Ηπατοτοξίνες
ροθισίνες Γοξίνη T-2, ιακετοξυσκίρπενόλη, εοσολανιόλη, ιβαλενόλη, ιακετυλνιβαλενόλη, ιοξίνηβαλενόλη, οξίνη HT-2, ουζαρενόνη X	Καλαμπόκι, σιτάρι, ζωοτροφές εμπορίου, ανάμεικτες ζωοτροφές, κριθάρι, βρώμη	Χοίροι, βοοειδή, κοτόπουλα, γαλοπούλες, άλογα, αρουραίοι, σκύλοι, ποντίκια, γάτες, άνθρωποι	Πεπτικές διαταραχές (Εμετός, διάρροια, άρνηση στο φαγητό) Αιμορραγίες (στομάχι, καρδιά, έντερα, πνεύμονες, κύστες, νεφρά) Οίδημα Στοματικές βλάβες Δερματίτιδα Διαταραχές του αίμα (λευκοπενία)
οαλενόνη	Καλαμπόκι, μουχλιασμένο άχυρο, σφαιρίδια εμπορικών ζωοτροφών	Χοίροι, βοοειδή, κοτόπουλα, γαλοπούλες, αρνιά, αρουραίοι, ποντίκια, ινδικά χοιρίδια	Οιστρογενικές επιδράσεις (οίδημα του αιδοίου, πρόπτωση του κόλπου, διεύρυνση της μήτρας) Ατροφία όρχεων Ατροφία ωοθηκών, διεύρυνση των μαστικών αδένων Αποβολές

2.2 ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ

Η μόλυνση από μυκοτοξίνες είναι συχνά μια σύνθετη διαδικασία, ξεκινώντας από τον τομέα της ανάπτυξης, και συνεχίζοντας κατά τη διάρκεια της συγκομιδής, της ξήρασης και της αποθήκευσης (Wilson και Abramson 1992). Ο Christensen (1974) διαίρεσε τους μύκητες που αποικίζουν κόκκους σε δύο ομάδες, μύκητες εδάφους και μύκητες στον τομέα αποθήκευσης. Οι μύκητες αποθήκευσης ήταν εκείνοι που θα μπορούσαν να αυξηθούν σε διάφορες περιεκτικότητες υγρασίας, σε ισορροπία με σχετικές υγρασίες 70% έως 90%, όταν υπάρχει ελεύθερο νερό.

Σε αυτή την ταξινόμηση ανήκουν οι: *Alternaria*, *Cladosporium*, μύκητες του γένους *Fusarium* και *Helminthosporium*, οι οποίοι ταξινομήθηκαν ως μύκητες εδάφους, και οι *Aspergillus*, *Penicillium*, οι οποίοι ταξινομήθηκαν ως μύκητες αποθήκευσης. Η κατάταξη αυτή βασίζεται σε μελέτες που έγιναν σε εύκρατα κλίματα. Ωστόσο, κάτω από ζεστά, υγρά τροπικά και υποτροπικά κλίματα - ή ακόμη και σε εύκρατα κλίματα, στα οποία η καλλιεργητική περίοδος είναι ασυνήθιστα ζεστή και ξηρή, τα γένη *Aspergillus* και *Penicillium* μπορεί να μολύνουν τους σπόρους στο έδαφος (Wilson και Abramson 1992). Ίσως το καλύτερο παράδειγμα ενός είδους που μπορεί να μολύνει τους σπόρους τόσο στο έδαφος και στην αποθήκευση είναι το *Aspergillus flavus*. Σε εύκρατα κλίματα, ο μύκητας είναι κυρίως ένας μύκητας αποθήκευσης, αλλά στις νότιες Ηνωμένες Πολιτείες, το καλαμπόκι είναι πιο πιθανό να αποικιστεί προ της συγκομιδής σε σχέση με την αποθήκευση. Πολλά είδη του γένους *Fusarium*, καθώς και ορισμένα είδη του γένους *Penicillium*, μολύνουν επίσης κόκκους στο έδαφος καθώς και στην αποθήκευση.

Οι περιβαλλοντικές συνθήκες είναι εξαιρετικά σημαντικές στη μόλυνση από μυκοτοξίνες προ της συγκομιδής των σιτηρών και των ελαιούχων σπόρων. Η ανάπτυξη των φυτών, η υγεία και η ανταγωνιστικότητα των μυκοτοξικών μυκήτων, επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τη θερμοκρασία και την υγρασία. Λόγω της ποικιλίας μυκοτοξικών μυκήτων και τους οικοδεσπότες που αποικίζουν, υπάρχει ένα σύνολο συνθηκών που μπορεί να οριστεί ως ευνοϊκό για μόλυνση από μυκοτοξίνες. Η μόλυνση με αφλατοξίνη ευνοείται κατά τα έτη με άνω του μέσου όρου θερμοκρασίας και κάτω του μέσου όρου βροχοπτώσεων. Η ψώρα στην κεφαλή του σίτου, από την άλλη πλευρά, ευνοείται από θερμές και υγρές συνθήκες άνοιξης. Οι ζημιές από τα έντομα και τα πουλιά συμβάλλουν επίσης στη μόλυνση από μυκοτοξίνες.

Αρκετοί παράγοντες επηρεάζουν τη μόλυνση από μυκοτοξίνες των αποθηκευμένων σιτηρών, συμπεριλαμβανομένων και της δραστηριότητας του νερού, του αερισμού του υποστρώματος, τη θερμοκρασία, τις συγκεντρώσεις εμβολίου, τις μικροβιακές αλληλεπιδράσεις, τη μηχανική βλάβη και την προσβολή εντόμων (Ominski et al. 1994). Η θερμοκρασία, η υγρασία και η διαθεσιμότητα του νερού είναι οι πιο σημαντικοί παράγοντες που καθορίζουν τον αποικισμό των αποθηκευμένων σιτηρών από μύκητες (Wilson και Abramson 1992). Η υγρασία των δημητριακών μπορεί να εκφράζεται ως ποσοστό επί τοις εκατό υγρασία, ή ως a_w . Η ενεργότητα του νερού ορίζεται ως ο λόγος της τάσης ατμών του προϊόντος προς εκείνη του καθαρού νερού. Υποστρώματα με χαμηλή ενεργότητα νερού έχουν λίγο νερό διαθέσιμο για να υποστηρίξει την ανάπτυξη των μυκήτων. Η ενεργότητα ύδατος συσχετίζεται χονδρικά με την σχετική υγρασία ισορροπίας σε αποθηκευμένα προϊόντα (Wilson και Payne 1994).

Μια οικολογική διαδοχή των μυκήτων παρουσιάζεται συχνά ως a_w του κόκκου και την αλλαγή της θερμοκρασίας, επειδή οι μυκοτοξικοί μύκητες αναπτύσσονται μέσα σε σχετικά στενά όρια a_w . Λίγοι μύκητες μόνο αναπτύσσονται σε τιμές a_w κάτω από 0.70. Δεδομένου ότι η περιεκτικότητα του νερού στο υπόστρωμα αυξάνει πάνω

από 0,70, οι πιο ξεροί-στεγνοί μύκητες είναι σε θέση να αναπτυχθούν. Η παραγωγή νερού μέσω των μεταβολικών διεργασιών αυτών των ξερών μυκήτων οδηγεί σε ένα υπόστρωμα υγρασίας που μπορεί να υποστηρίξει την ανάπτυξη ενός ευρύτερου φάσματος ειδών μυκήτων. Ως εκ τούτου, σε πολλές περιπτώσεις, οι σπόροι μπορεί να έχουν μολυνθεί με περισσότερο από έναν μύκητα. Για παράδειγμα, η αύξηση του *A. restrictus* ξεκινά με a_w 0,70 ή ελαφρώς υψηλότερα, το είδος *A. glaucus* αρχίζει με a_w 0,80 έως 0,85 και πολλά είδη *Penicillium* και *Aspergillus* αρχίζουν να αναπτύσσονται σε a_w πάνω από 0,85 (Wilson και Payne 1994). Συχνά, οι μυκοτοξικοί μύκητες εισβάλλουν στο μικρόβιο ή στο έμβρυο των σπόρων με πολύ μικρό ποσοστό σε κάθε εισβολή των παρακείμενων ενδοσπέρμιων (Payne 1998, Sauer et al 1992).

Σε γενικές γραμμές, οι μυκοτοξικοί μύκητες δεν είναι δυνητικά παθογόνοι, αλλά συχνά είναι καλά προσαρμοσμένοι για την καλλιέργεια σε υποστρώματα με χαμηλή υγρασία και μπορούν να αποικίσουν εύκολα αποθηκευμένα σιτηρά. Πολλά είδη από έναν αριθμό γενών, ωστόσο, μπορεί να αποικίσουν και να παράγουν μυκοτοξίνες στην ανάπτυξη φυτικού ιστού.

Αυτή η ενότητα εστιάζει σε είδη από έξι γένη: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Claviceps*, *Stachybotrys* και *Neotyphodium*. Αυτά τα γένη επελέγησαν επειδή περιέχουν είδη μυκήτων που παράγουν μυκοτοξίνες μείζονος ενδιαφέροντος καθώς και επειδή είναι αντιπροσωπευτικά των μυκοτοξικών μυκήτων που κατοικούν σε διαφορετικές οικολογικές θέσεις. Τα γένη *Aspergillus*, *Fusarium* και *Penicillium* αντιπροσωπεύουν το μεγαλύτερο αριθμό των μυκοτοξικών μυκήτων και βρίσκονται συχνά σε αποθηκευμένα σιτηρά. Ορισμένα είδη των *Fusarium* και *Aspergillus* μπορεί επίσης να επιτεθούν σε κόκκους στο έδαφος. Σε αντίθεση με αυτό, η μόλυνση από *Claviceps spp.* και *Neotyphodium spp.* εμφανίζεται μόνο στο έδαφος. Τα *Neotyphodium spp.* διαφέρουν επίσης από άλλους μυκοτοξικούς μύκητες κατά το ότι είναι ενδόφυτα και αποικίζουν αγενείς ιστούς, καθώς και αναπαραγωγικούς ιστούς. Τα *Stachybotrys spp.* αντιπροσωπεύουν ένα ακόμη είδος μυκοτοξικών που παράγουν μύκητες. Αντίθετα με τους περισσότερους μύκητες που παράγουν μυκοτοξίνες, το *Stachybotrys* σπάνια αποικίζει δημητριακά, αλλά όταν γίνει είναι ανησυχητικό, διότι αποικίζει υγρό οικοδομικό υλικό, κυρίως σε σπίτια. Ο μύκητας διαφέρει επίσης επειδή τα ζώα και οι άνθρωποι προφανώς εκτίθενται στη μυκοτοξίνη που παράγεται με εισπνοή των κονιδίων πιο εύκολα από την κατάποση.

Πιο ειδικά, το γένος *Aspergillus* βρίσκεται σε μια μεγάλη, πολύ διαφορετική οικογένεια μυκήτων που βρίσκονται σε όλο τον κόσμο, αλλά κυρίως επικρατούν σε υποτροπικά και εύκρατα θερμά κλίματα. Μπορούν γενικά να θεωρούνται ως σαπρόφυτα που είναι σημαντικά στη θρεπτική ανακύκλωση. Η ανάπτυξή τους σε υψηλές θερμοκρασίες και χαμηλή ενεργότητα νερού (a_w , λόγος της τάσης ατμών του προϊόντος προς εκείνη του καθαρού ύδατος) επιτρέπει την συμμετοχή τους στον αποικισμό από μια ποικιλία καλλιεργειών, μερικές φορές με περιορισμένο παρασιτισμό ειδικά κάτω από ευνοϊκές συνθήκες. Μερικά από τα πιο οικονομικά και σημαντικά τοξικογόνα είδη μυκήτων ανήκουν σε αυτό το γένος.

2.3 ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΤΙΜΗΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΜΥΚΟΤΟΞΙΝΩΝ

Το γένος *Aspergillus* αντιπροσωπεύει μια μεγάλη οικογένεια των μυκήτων που καταλαμβάνει πολύ διαφορετικές οικολογικές θέσεις. Παρά το γεγονός ότι τα μέλη της διανέμονται σε όλο τον κόσμο, τα *Aspergillus spp.* εμφανίζονται πιο άφθονα μεταξύ του γεωγραφικού πλάτους 26° σε 35° βόρεια ή νότια του ισημερινού (Klich et al 1994). Έτσι, οι μύκητες είναι πιο συχνά εμφανιζόμενοι στις υποτροπικές χώρες και

στα ζεστά και εύκρατα κλίματα. Ενώ σε γενικές γραμμές θεωρούνται ως σαπρόφυτα, τα *Aspergillus spp.* αναπτύσσονται σε ένα μεγάλο αριθμό υποστρωμάτων και είναι πολύ σημαντικά στη θρεπτική ανακύκλωση. Η ικανότητά τους να αναπτύσσονται σε υψηλές θερμοκρασίες και με σχετικά χαμηλό a_w τα καθιστά κατάλληλα για να αποικίσουν μια σειρά καλλιεργειών δημητριακών και ξηρών καρπών. Υπό ευνοϊκές συνθήκες, ορισμένα είδη έχουν περιορισμένες παρασιτικές ικανότητες και μπορεί να αποικίσουν καλλιέργειες στο έδαφος.

Η εμφάνιση της μόλυνσης από αφλατοξίνες είναι σποραδική και εξαρτάται ιδιαίτερα από τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Μεγάλοι πληθυσμοί του *A. flavus* μολύνουν με αφλατοξίνη κάθε χρόνο τις καλλιέργειες στις νότιες Ηνωμένες Πολιτείες, αλλά τα σοβαρά κρούσματα σχετίζονται με άνω του μέσου όρου θερμοκρασίες και κάτω του μέσου όρου βροχοπτώσεις (Payne 1998, Widstrom 1996). Αυτές οι δύο περιβαλλοντικές συνθήκες συσχετίστηκαν με υψηλή συχνότητα της μόλυνσης από αφλατοξίνες στις φυτείες καλαμποκιού των ΗΠΑ το 1983 και το 1988 (Hugburgh 1991). Η υψηλή συχνότητα εμφάνισης της αφλατοξίνης έχει αναφερθεί, επίσης, στη νότια Κίνα, τη Νοτιοανατολική Ασία και την Αφρική (Hall and Wild 1994).

Η διαδικασία της μόλυνσης του *A. flavus* παρουσιάζεται πολύ καθαρά στο καλαμπόκι (Payne 1992, 1998). Το *Aspergillus flavus* βρίσκει ένα χώρο που κατοικούν μύκητες, οι οποίοι αναπαράγονται με αγενή κονίδια. Τα κονίδια μεταφέρονται με τα άνθη του καλαμποκιού από τον άνεμο ή τα έντομα και μπορούν να αναπτυχθούν μέσα στο ωτίο λίγο μετά την επικονίαση και αποικίζουν επιφάνειες του κόκκου (Payne 1998, Widstrom 1996). Εάν οι περιβαλλοντικές συνθήκες είναι ευνοϊκές, ο μύκητας μπορεί να εισβάλει απευθείας σε σπόρους και στάχυα ή μπορεί να εισέλθει μέσω πληγών που δημιουργούνται από τα έντομα. Σε κάθε περίπτωση, σημαντική μόλυνση και μόλυνση αφλατοξίνης δεν εμφανίζεται μέχρις ότου η υγρασία του πυρήνα να είναι κάτω από 32% (Payne 1998). Οι αφλατοξίνες μπορούν να συνεχίσουν να παράγονται στους κόκκους, μέχρις ότου η υγρασία φθάσει το 15% (Payne et al 1988). Παρά το γεγονός ότι τα έντομα δεν είναι απαραίτητα για μόλυνση από αφλατοξίνες, η παρουσία τους αυξάνει το επίπεδο της μόλυνσης και τα υψηλά επίπεδα αφλατοξίνης σχεδόν πάντα συνδέονται με τα έντομα τραυματισμού (Widstrom 1996).

Οι δύο επιτακτικοί όροι που επηρεάζουν τη μόλυνση με αφλατοξίνη είναι η θερμοκρασία και η υγρασία (Payne et al 1988, Widstrom 1996). Στο καλαμπόκι και τα φιστίκια, οι υψηλές θερμοκρασίες και η ξηρασία οδηγούν στα υψηλά επίπεδα της μόλυνσης από αφλατοξίνες (Payne 1998). Κάτω από συνθήκες όπου η υγρασία του εδάφους και η θερμοκρασία ήταν ελεγχόμενες, (Cole et al 1995) έδειξαν μειωμένη εμφάνιση της μόλυνσης. Οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι τα φιστίκια που καλλιεργούνται με την κατάλληλη υγρασία δεν έχουν αφλατοξίνες. Ομοίως, τα φιστίκια που καλλιεργούνται σε παρατεταμένη ξηρασία με θερμοκρασία μικρότερη από 25°C ή μεγαλύτερη από 32°C είναι απαλλαγμένα από αφλατοξίνη. Ο αποικισμός του *A. flavus* και η μόλυνση αφλατοξίνης μεγιστοποιείται στους 30.5°C.

Η υψηλή θερμοκρασία και οι συνθήκες ξηρασίας αυξάνουν το αερομεταφερόμενο εμβόλιο του μύκητα (Jones et al 1981, McGee et al 1996). Η αυξημένη ανάπτυξη και η αναπαραγωγή του μύκητα σε υψηλότερες θερμοκρασίες πιθανώς σχετίζονται με σχετικά υψηλή βέλτιστη θερμοκρασία. Ο μύκητας μπορεί να αυξηθεί πάνω από μια ευρεία περιοχή θερμοκρασιών (12° έως 48°C), αλλά η βέλτιστη για την ανάπτυξη θερμοκρασία είναι 37°C (Klich et al 1994). Οι υψηλότερες θερμοκρασίες και συνθήκες ξηρασίας, επίσης, μπορούν να ευνοήσουν το *A. flavus* πιο πολύ από άλλους μύκητες λόγω της ικανότητάς του να αναπτύσσεται σε

υποστρώματα με χαμηλή δραστηριότητα ύδατος. Ο μύκητας μπορεί να αυξήσει το a_w τόσο χαμηλά όσο τα -35 megapascals (MPa) (Klich et al 1994). Είναι ενδιαφέρον ότι η βέλτιστη θερμοκρασία για την παραγωγή αφλατοξίνης είναι μεταξύ 25° και 30°C (Ashworth et al 1969a, Maggon et al 1977). Η θερμοκρασία και το στρες της ξηρασίας, επίσης, πιθανόν να προδιαθέτουν το φυτό σε αυξημένη μόλυνση. Ωστόσο, λίγα είναι γνωστά για τους μηχανισμούς αυτούς.

Η επίδραση της θερμοκρασίας στην μόλυνση από αφλατοξίνες στον βαμβακόσπορο φαίνεται να είναι πιο πολύπλοκη και δυσνόητη (Payne 1998). Παρά το γεγονός ότι η μόλυνση από αφλατοξίνες στον βαμβακόσπορο είναι σπάνια ένα πρόβλημα στις νότιες Ηνωμένες Πολιτείες, μπορεί να είναι ένα σοβαρό πρόβλημα στη καλλιέργεια βαμβακιού στις δυτικές πολιτείες. Ο Ashworth et al. (1969b) έχει υποστηρίξει ότι οι υψηλές νυκτερινές θερμοκρασίες είναι σημαντικές. Οι υψηλές θερμοκρασίες τη μέρα και τη νύχτα, έχουν επίσης συσχετιστεί με υψηλότερα επίπεδα αφλατοξίνης στα αμύγδαλα (Doster και Michailides 1995).

Εκτός από το είδος του *A. flavus*, μια σειρά από άλλα είδη του *Aspergillus spp.* μπορούν να βρεθούν σε βασικά εμπορεύματα πριν από τη συγκομιδή ή συνηθέστερα, κατά την αποθήκευση. Ένα από τα πιο κοινά είδη *Aspergillus* είναι το *A. ochraceus*. Πρόσφατα, το είδος αυτό μετονομάστηκε σε *A. alutaceus* από τους Berkley and Curtis το 1875, (Kozakiewicz 1989). Αυτός ο μύκητας είναι περισσότερο γνωστός για την ικανότητά του να παράγει ωχρατοξίνη. Τα *A. ochraceus* και *Penicillium verrucosum* είναι οι μεγαλύτεροι παραγωγοί της ωχρατοξίνης. Ωστόσο, άλλοι μύκητες όπως τα *Aspergillus* και *Penicillium spp.* παράγουν επίσης ωχρατοξίνη (Samson 2001, Pier and Richard 1992). Το *Penicillium spp.* είναι πιθανώς πιο σημαντική πηγή μόλυνσης ωχρατοξίνης των σιτηρών από τον *Aspergillus spp.*

Τα είδη του γένους *Penicillium* γενικά αναπτύσσονται και μπορεί να παράγουν μυκοτοξίνες σε ευρύτερη περιοχή θερμοκρασιών από ό, τι εκείνα του γένους *Aspergillus* (Ominski et al 1994). Το *Penicillium spp.* βρίσκεται άφθονο σε εύκρατα κλίματα. Τα είδη του γένους πιο συχνά συνδέονται με την αποθήκευση παρά με τη μόλυνση προ της συγκομιδής των σιτηρών (Sauer et al 1992).

Οι μύκητες του γένους *Fusarium* είναι ένα μεγάλο συγκρότημα με είδη προσαρμοσμένα σε ένα ευρύ φάσμα των οικολογικών ενδιαιτημάτων. Βρίσκονται σε παγκόσμιο επίπεδο στον τομέα της διανομής και πολλοί είναι σημαντικά παθογόνοι για τα φυτά. Ωστόσο, πολλά είδη έχουν επιβαρύνει το έδαφος και υπάρχουν ως σαπρόφυτα, σημαντικά στη διάσπαση των φυτικών υπολειμμάτων. Μερικά είδη είναι σημαντικοί παραγωγοί μυκοτοξινών, μερικά από τα οποία είναι παρόντα προ της συγκομιδής σε μολυσμένους σπόρους και άλλα φυτά.

Οι μύκητες του γένους *Fusarium* είναι μια μεγάλη και πολύπλοκη γενιά με είδη που είναι προσαρμοσμένα σε ένα ευρύ φάσμα των οικοτόπων σε όλο τον κόσμο (Summerell et al 2001). Οι πληθυσμοί των μυκήτων του γένους *Fusarium* στα γεωργικά εδάφη μπορεί να είναι πολύ υψηλοί και περιλαμβάνουν σαπρόφυτα που διασπούν φυτικά υπολείμματα στο έδαφος, καθώς και παθογόνα που μπορούν να προκαλέσουν σήψεις και άλλες ασθένειες. Λόγω της σημασίας του ως ένα παθογόνο φυτό, πολλά είναι γνωστά για τους μύκητες του γένους *Fusarium*. Η σημερινή ονοματολογία έχει αναπτυχθεί σε μεγάλο βαθμό ως εργαλείο εργασίας των παθολόγων φυτών και άλλων που αναζητούν χρησιμότητα και πρακτικά συστήματα για τον ορθό προσδιορισμό των ειδών του γένους *Fusarium*. Η πρακτική αναγνώρισης βασίζεται σε μεγάλο βαθμό σε μορφολογικούς χαρακτήρες, όπως είναι η δομή και το χρώμα αποικίας, το μέγεθος του σπορίου και το σχήμα των στελεχών αυτών των μυκήτων που καλλιεργούνται υπό προσεκτικά ελεγχόμενες συνθήκες στο εργαστήριο. Αλλά επειδή ορισμένα είδη είναι μορφολογικά πολύ παρόμοια,

προκύπτει συχνά εσφαλμένη ταυτοποίηση, ειδικά από άτομα με περιορισμένη εμπειρία σε μύκητες αναγνώρισης (Burgess et al 1998, Marasas et al 1984b, Nelson et al 1983). Οι πρόσφατες εξελίξεις στον εντοπισμό και την ταξινόμηση των ειδών των μυκήτων του γένους *Fusarium* περιλαμβάνουν βιοχημικούς και γενετικούς δείκτες και την αγενή και σεξουαλική συμβατότητα μεταξύ των στελεχών (Leslie 1995, O'Donnell and Cigelnik 1997).

Αν και υπάρχουν δεκάδες είδη μυκήτων του γένους *Fusarium*, ένας μάλλον περιορισμένος αριθμός είναι υπεύθυνος για τη μεγαλύτερη μόλυνση από μυκοτοξίνες στα τροφίμα και τις ζωοτροφές (Marasas et al 1984b). Από τα διάφορα είδη του γένους *Fusarium*, τη μεγαλύτερη ανησυχία παρουσιάζουν εκείνα που παράγουν μυκοτοξίνες σε σιτάρι, καλαμπόκι, ρύζι, κριθάρι, βρώμη και άλλα δημητριακά που κυριαρχούν στην ανθρώπινη διατροφή και χρησιμοποιούνται ως συστατικά ζωοτροφών (Campbell et al 2000). Πολλά είδη μυκήτων του γένους *Fusarium* μπορεί να μολύνουν τις κεφαλές του σίτου και άλλων μικρόκοκκων δημητριακών κάτω από συνθήκες που προκαλούν ψώρα στην κεφαλή ή σήψη (Sutton 1982). Στις περισσότερες περιοχές του κόσμου, το *F. graminearum* είναι ο κύριος αιτιολογικός παράγοντας ψώρας στην κεφαλή των μικρόκοκκων, όπως σιτάρι, κριθάρι, σίκαλη, βρώμη (πίνακας 2.2), ωστόσο και άλλα είδη, π.χ., *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. sporotrichioides*, μπορεί να κυριαρχούν σε μικρούς κόκκους σε ορισμένες περιοχές και ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Το είδος *Fusarium graminearum* είναι σημαντικός αιτιολογικός παράγοντας στην εμφάνιση της κόκκινης σήψης της στάχυς. Αν και το *F. graminearum*, το *F. fujikuroi* και τα συναφή είδη μπορούν να προκαλέσουν καταστροφή του ωτίου του ρυζιού, τα ωτία στο σιτάρι συνήθως δεν μολύνονται.

Πίνακας 2.2

Κύρια μυκοτοξιγενικά είδη *Fusarium* σε κόκκους και μυκοτοξίνες που παράγονται (Πηγή: Mycotoxin cast report e-book 2003, page 25, table 3.1)

			verticillioides	fujikuroi	proliferatum	subglutinans	poae	sporotrichioides	acuminatum	graminearum	culmorum	crookwellense	avenaceum	equiseti
Ξενιστής	Περιοχή	Φουμονισίνες Τριχοθισίνες Ζεαραλενόνη	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Σιτάρι και μικροί σπόροι	Αφρική									+	+	+		
	Ασία		+				+		+	+	+	+	+	+
	Αυστραλία									+				
	Καναδάς						+	+	+	+	+	+	+	+
	Ευρώπη						+	+		+	+	+	+	+
	Μεξικό									+			+	+
	N.Αμερική H.Π.Α.		+				+		+	+	+			+
Αραβόσι- τος	Αφρική		+		+	+				+				
	Ασία		+		+			+		+				+
	Αυστραλία		+			+				+				
	Καναδάς		+		+	+	+	+	+	+			+	+
	Ευρώπη		+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

	Μεξικό Ν.Αμερική Η.Π.Α.		+			+							
			+		+	+			+	+			+
			+		+	+	+	+	+	+		+	+
Ρύζι	Ασία Η.Π.Α.		+	+						+			
				+									

Η ψώρα της κεφαλής στο σιτάρι και το κριθάρι έχουν μελετηθεί λεπτομερώς στο θερμοκήπιο και σε άλλα ελεγχόμενα περιβάλλοντα. Πρόωρη απώλεια του πράσινου χρώματος των ανθέων στην κεφαλή είναι το πρώτο σύμπτωμα της νόσου και υπό υγρές συνθήκες, οι λευκασμένοι ανθοί να μπορεί να είναι ορατοί λίγες ημέρες μετά τη μόλυνση. Αυτό το μείγμα με φωτεινό πράσινο και απαλό κίτρινο στα άνθη μολύνει τις κεφαλές και έτσι είναι εύκολο να ανιχνευθούν στο έδαφος. Η μόλυνση ενός σταχυιδίου κατά τα πρώτα στάδια της ανθοφορίας μπορεί να αποτρέψει την ανάπτυξη του πυρήνα. Αν το υγρό κλίμα επιμένει, το *F. graminearum* μπορεί να μολύνει ολόκληρη την κεφαλή και να παράγει μπλε-μαύρο περιθέσιο, μια ροζ μάζα μυκήλιου και μακροκονιδίων στην επιφάνεια του κεφαλιού. Αυτή η ροζ κρούστα στην επιφάνεια του κόκκου είναι η πηγή του φουζικλάδιου, το οποίο είναι το όνομα που δόθηκε για την ασθένεια αυτή (Arthur 1891).

Δύο άλλα μυκοτοξικά γένη που είναι σημαντικά είναι τα *Claviceps* και *Stachybotrys*. Και τα δύο είναι τρέχουσες και ιστορικής σημασίας. Ο εργοτισμός είναι μία από τις παλαιότερες γνωστές μυκοτοξικώσεις και είναι ευθύνη των ανθρώπων και άλλων ζώων που καταναλώνουν σιτηρά, τα οποία έχουν μολυνθεί με τα σκληρώτα του *Claviceps spp.* Τα παράγωγα της ερυσιβάδους όλυρας σκληραίνουν τις μάζες, τους ιστούς των μυκήτων και περιέχουν τοξικά αλκαλοειδή που παράγονται από επιλεγμένα μέλη αυτού του γένους.

Το *Stachybotrys* είναι ένα γένος στο οποίο υπάρχουν ορισμένα σαπροφυτικά είδη που είναι ιδιαίτερα κυτταρινολυτικά και παράγουν τοξίνες που περιέχονται στα κονίδια και άλλα σωματίδια που μπορεί να καταλήξουν αερομεταφερόμενα με αποτέλεσμα κάποιες ασθένειες να μεταφέρονται είτε μέσω της αναπνευστικής οδού ή στην πέψη. Ασθένειες έχουν περιγραφεί σε ζώα και ανθρώπους που προκύπτουν από την κατανάλωση μολυσμένων κόκκων ή των προϊόντων τους, σε άχυρο ή άλλα φυτικά υλικά που έχουν καταστεί υγρά για να υποστηρίξουν την ανάπτυξη και την παραγωγή τοξίνης αυτού του οργανισμού.

Πολλοί τύποι των τοξικών μεταβολιτών ελήφθησαν από εργαστηριακές καλλιέργειες μυκήτων. Οι περισσότεροι από αυτούς δεν είναι γνωστό ότι είναι αιτίες ανθρώπινων ή ζωικών ασθενειών, έτσι ώστε να παρατηρηθούν ως αξιοπερίεργα στο εργαστήριο. Οι μυκοτοξίνες που ενέχουν τον μεγαλύτερο δυνητικό κίνδυνο για την υγεία των ανθρώπων, των ζώων, των τροφίμων και των προσμειξεων των ζωοτροφών είναι οι αφλατοξίνες, οι τριχοθισίνες, οι φουμονισίνες, η ζεαραλενόνη, η ωχρατοξίνη Α και τα αλκαλοειδή. Ωστόσο, και άλλες μυκοτοξίνες θα πρέπει να συμπεριληφθούν. λόγω της συχνότητας εμφάνισής τους σε βασικά εμπορεύματα ή τα προϊόντα τους ή τη συνύπαρξη με άλλα σημαντικά παράγωγα των μυκοτοξινών. Αυτή η διευρυμένη λίστα περιλαμβάνει τα: κυκλοπιαζονικό οξύ, στεριγματικυστίνη, γλυτοτοξίνη, κιτρινίνη, πατουλίνη, φουζαρίνη C, φουζαρικό οξύ, πενικιλλικό οξύ, μυκοφαινολικά, ροκεφορτίνη, PR τοξίνη, και ισοφουμιγκακλαβίνες Α και Β.

Οι αφλατοξίνες μπορεί να παραχθούν με τέσσερα είδη του *Aspergillus*: *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius*, και *A. pseudotamarii* (Ito et al 2001, Kurtzman et al 1987, Payne 1998). Τέσσερις μεγάλες αφλατοξίνες - B_1 , B_2 , G_1 , και G_2 (B = μπλε και G = πράσινο φθορισμού, ενώ ο δείκτης ορίζει σχετική χρωματογραφική

κινητικότητα), συν δύο επιπλέον μεταβολικά προϊόντα, τα M₁ και M₂, δημιουργούν σημαντικά προβλήματα κατά την άμεση πρόσμειξή τους στα τρόφιμα και τις ζωοτροφές. Η τοξίνη M απομονώθηκε για πρώτη φορά από το γάλα των ζωικών παρασκευασμάτων, εξ ου και η ονομασία M.

Οι τριχοθισίνες είναι μια οικογένεια σχεδόν 150 δομικών ενώσεων (Grove 1988) που παράγονται από διάφορα γένη μυκήτων, όπως τα: *Fusarium*, *Cephalosporium*, *Myrothecium*, *Stachybotrys*, *Trichoderma* και άλλα. Πολλές φυσικές τριχοθισίνες παράγονται σε τρόφιμα και ζωοτροφές από είδη του *Fusarium*, π.χ., δεσοξυνιβαλενόλη (DON, μερικές φορές αναφέρεται ως *vomitoxin*), τοξίνη T-2, νιβαλενόλη, και διακετοξυσκιρπενόλη. Σε μερικά χρόνια καλλιέργειας, η μόλυνση από DON σε καλαμπόκι και σιτάρι ήταν σημαντική. Φυσική μόλυνση των τροφίμων και ζωοτροφών από την T-2 τοξίνη στις Ηνωμένες Πολιτείες σπανίως έχει αναφερθεί, αλλά ανιχνεύεται πιο συχνά σε κόκκους στην Ευρώπη.

Το είδος *Fusarium graminearum* έχει ένα ευρύ φάσμα υποδοχής και μπορεί να προκαλέσει μια ασθένεια στο ωτίο του καλαμποκιού. Η κόκκινη σήψη στο ωτίο του καλαμποκιού έχει αναφερθεί σε περιοχές καλλιέργειας σε όλο τον κόσμο, αλλά είναι ιδιαίτερα διαδεδομένη σε εύκρατα κλίματα όταν σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες και υγρός καιρός επικρατούν.

Η κόκκινη σήψη του ωτίου επηρεάζει επίσης το καλαμπόκι που καλλιεργείται στη βόρεια Ιταλία, την Ανατολική Ευρώπη και κυρίως την πρώην Σοβιετική Ένωση, τη Λαϊκή Δημοκρατία της Κίνας και την κεντρική και νότια Αφρική (Bottalico et al 1989, Chu και Li 1994, Marasas et al 1981, Marie 1981, Sutton 1982). Σε κάποιες επιδημίες που συνδέονται με τον δροσερό και υγρό καιρό, το *F. sporotrichioides* έχει ανακτηθεί από το καλαμπόκι με τα συμπτώματα σήψης του ωτίου (Neish et al 1983, Park et al 1996, Vigier et al 1997).

Υπάρχουν δύο διαδρομές εισόδου για τη μόλυνση του καλαμποκιού με *F. graminearum*. Πρώτον, τα σπόρια εκφόρτωσης μπορεί να μολύνουν το ωτίο μέσω των στημόνων. Ελεγχόμενοι εμβολιασμοί στο έδαφος έδειξαν ότι τα ωτία του καλαμποκιού είναι πιο ευαίσθητα στο *F. graminearum* από 4 έως 7 ημέρες μετά την εμφάνιση (Reid et al 1992). Δεύτερον, οι πληγές που προκαλούνται από τα πτηνά, τα έντομα ή τις ακραίες καιρικές συνθήκες μπορεί να αποτελέσουν ευκαιρία για την εισβολή μυκήτων. Τέτοια βλάβη στο ωτίο σχετίζεται θετικά με τη σήψη του ωτίου (Sutton 1982, Vigier et al 1997).

Τόσο η δεσοξυνιβαλενόλη όσο και η ζεαραλενόνη μπορούν να παραχθούν με πολλά στελέχη *F. graminearum* σε εργαστηριακές συνθήκες. Ωστόσο, η τεχνική δυσκολία και το κόστος της ποσοτικής ανάλυσης των μυκοτοξινών είναι περιορισμένο σε μεγάλης κλίμακας πειραμάτων εδάφους. Αντισώματα εναντίον DON και άλλες αναλυτικές δοκιμές έχουν γίνει όλο και περισσότερο διαθέσιμα, ούτως ώστε να διευκολύνουν τις αναλύσεις του εδάφους. Μελέτες στο σιτάρι και το καλαμπόκι που έχουν μολυνθεί με *F. graminearum* στο έδαφος δείχνουν ότι το σιτάρι μπορεί να έχει υψηλά επίπεδα DON αλλά συνήθως έχει ελάχιστη ή καθόλου ζεαραλενόνη, ενώ το καλαμπόκι μπορεί να μολυνθεί και με τις δύο τάξεις των μυκοτοξινών.

Σε επιστημονικές εκθέσεις βιβλιογραφίας της νόσου από το 1904 και μέσα από τη δεκαετία του 1970, είναι συχνά ασαφές κατά πόσον οι μύκητες που αναφέρονται ως *F. verticillioides* είναι στην πραγματικότητα *F. verticillioides*, *F. proliferatum* ή *F. subglutinans*. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου, το *F. verticillioides* θεωρήθηκε ότι είναι από τα πιο κοινά παθογόνα που επηρεάζουν τα ωτία του καλαμποκιού (Kommedahl and Windels 1981), αλλά είναι πιθανό ότι σε πολλές από αυτές τις παρατηρήσεις εμπλέκονται και τα τρία είδη συλλογικά. Αρκετές αναφορές από τις

βόρειες Ηνωμένες Πολιτείες και από τον Καναδά δείχνουν ότι το *F. subglutinans* μπορεί να είναι πιο διαδεδομένο από το *F. verticillioides* και ότι το *F. proliferatum* είναι επίσης πολύ συχνό (Abbas et al 1988b, Bullerman and Tsai 1994, Munkvold and Stahr 1994, Park et al 1996, Vigier et al 1997). Τα συμπτώματα της ασθένειας που προκαλούνται από αυτά τα τρία είδη είναι δυσδιάκριτα και κοινώς ονομάζονται σήψη του γένους *Fusarium* στο ωτίο. Άλλα είδη του γένους *Fusarium* απομονώνονται συχνά από τα ωτία του καλαμποκιού που παρουσιάζουν συμπτώματα σήψης.

Όλο τον εικοστό αιώνα, η σήψη του ωτίου των καλαμποκιών από μύκητες του γένους *Fusarium* έχει παρατηρηθεί ευρέως στις Ηνωμένες Πολιτείες και είναι τώρα η πιο κοινή ασθένεια στο καλαμπόκι στις Ηνωμένες Πολιτείες. Μύκητες του γένους *Fusarium*, όπως το *verticillioides*, μολύνουν καλαμπόκι σε όλο τον κόσμο. Οι κατανομές των *F. proliferatum* και *F. subglutinans* είναι λιγότερο καλά τεκμηριωμένες, αλλά αυτά τα είδη έχουν αναφερθεί από τις εύκρατες περιοχές σε κάθε ήπειρο. Η σήψη στο ωτίο από μύκητες του γένους *Fusarium* είναι κοινή στον Καναδά, αλλά τα επίπεδα φουμονισίνης γενικά βρίσκονται σε χαμηλή περιεκτικότητα σε φυσικά μολυσμένα καλαμπόκια (Vigier et al 1997).

Μύκητες του γένους *Fusarium*, όπως τα *F. proliferatum* και *F. subglutinans* επιβιώνουν σε υπολείμματα καλαμποκιού, τα οποία είναι ίσως η πιο σημαντική πηγή εμβολίου για τη μόλυνση του πυρήνα. Τα μακροκονίδια από το υπόλειμμα έχουν πιτσιλιστεί ή μεταφέρονται από τον άνεμο σε υπέργειες θέσεις στα φυτά. Δεν είναι βέβαιο αν η μόλυνση της ρίζας προκαλείται από τα κονίδια ή λόγω μυκηλιακής ανάπτυξης από το μολυσμένο υπόλειμμα. Αυτά τα είδη μυκήτων του γένους *Fusarium* μπορεί να συνδέονται με κάθε μέρος του φυτού του καλαμποκιού : ρίζες, κοτσάνια, φύλλα, στάχυα και κόκκους. Όταν η σήψη του ωτίου φαίνεται, οι κόκκοι μπορεί να είναι εμφανώς μουχλιασμένοι, σκοτεινοί, αλευρώδεις, με φουσκάλες και ρωγμές ή με λευκές ραβδώσεις. Σε σοβαρές λοιμώξεις, λευκά ή ροζ μυκήλια μπορεί να προχωρήσουν σε ολόκληρο το ωτίο, να αποικίσουν φλοιούς και να προσκολληθούν στην επιφάνεια του ωτίου.

Οι φουμονισίνες μπορεί να παράγονται από σχεδόν όλα τα στελέχη του *F. verticillioides* καθώς και από πολλά στελέχη του *F. proliferatum* κάτω από εργαστηριακές συνθήκες. Μετά από αναλύσεις στο κέλυφος των κόκκων έχουν βρεθεί φουμονισίνες σε εμφανώς μουχλιασμένα καλαμπόκια σε υψηλότερα επίπεδα σε σχέση με καλής ποιότητας καλαμπόκια (Shephard et al. 1996). Λόγω της τεχνικής δυσκολίας και του βάρους της ανάλυσης της φουμονισίνης, τα επιμέρους ωτία του καλαμποκιού μολύνονται με *F. verticillioides*. Σε μία πρόσφατη μελέτη (Desjardins et al 1998), η διανομή της φουμονισίνης B₁ σε συμπτωματικούς και ασυμπτωματικούς πυρήνες, προσδιορίστηκε από 116 επιμέρους στάχυα. Πάνω από ένα ευρύ φάσμα των επιπέδων φουμονισίνης, το 82 και το 100% της φουμονισίνης B₁ σε κάθε ωτίο είχε εντοπιστεί σε συμπτωματικούς πυρήνες.

Στα αλκαλοειδή, τα επιλεγμένα μέλη των ενώσεων εμπλέκονται είτε σε νευρικά σύνδρομα ή σε γάγγραινα στον άνθρωπο και τα ζώα που καταναλώνουν κόκκους ή προϊόντα δημητριακών που έχουν μολυνθεί με τα σκληρώτια του μύκητα. Ο εργοτισμός είναι μία από τις παλαιότερες γνωστές μυκοτοξικώσεις, αν και η εμφάνιση της νόσου έχει μειωθεί κατά την πάροδο του χρόνου. Το αλκαλοειδές της ερυσιβώδους όλυρας μπορεί να παράγεται από μύκητες του γένους *Claviceps* αλλά η σημασία της τοξικότητάς τους είναι λιγότερο γνωστή.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 – ΤΡΟΠΟΙ ΕΠΙΛΥΣΕΙΣ ΤΟΥ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΟΣ

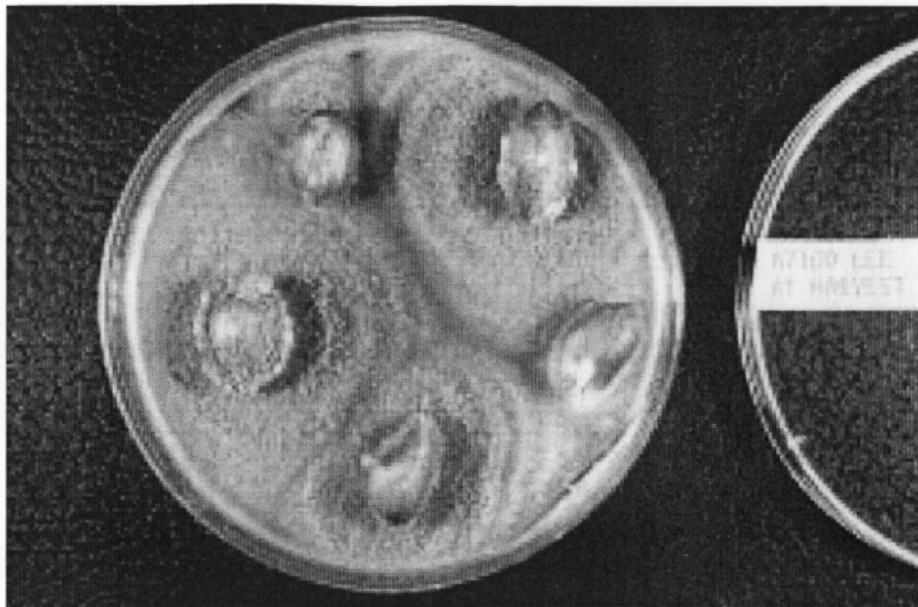
3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Αρκετά τρόφιμα και ζωοτροφές μπορούν να μολυνθούν με μυκοτοξίνες πριν την συγκομιδή, κατά τη διάρκεια μεταξύ συγκομιδής και αποξήρανσης, και κατά την αποθήκευση. Μερικές μυκοτοξίνες, πχ. αυτές που σχετίζονται με τον εργοτισμό, παράγονται αποκλειστικά στο χωράφι. Κάποιες άλλες μυκοτοξίνες μπορούν να μολύνουν τις καλλιέργειες πριν την συγκομιδή και, κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες, να προοδεύσουν από αυτό το σημείο. Οι αφλατοξίνες μπορούν να βρεθούν στο χωράφι πριν τη συγκομιδή, και η μόλυνση μπορεί να αυξηθεί κατά τη διάρκεια μετασυγκομιδτικών δραστηριοτήτων, πχ. αποξήρανση σπαρτών, ή κατά την αποθήκευση. Παρ'όλα αυτά, οι αφλατοξίνες μπορούν επίσης να μολύνουν τα αποθηκευμένα προϊόντα παρόλη την απουσία μόλυνσης του χωραφιού. Κάποιοι άλλοι μύκητες που παράγουν μυκοτοξίνες μολύνουν τις καλλιέργειες με τον ίδιο τρόπο.

Οι αφλατοξίνες έχουν βρεθεί να μολύνουν διάφορες καλλιέργειες, συχνά σε χαμηλά επίπεδα νανογραμμαρίων, παρόλο που ενίοτε μπορούν να βρεθούν σε επίπεδα δεκάδων ή εκατοντάδων νανογραμμαρίων (ng/g). Τα εμπορεύματα με υψηλό κίνδυνο μόλυνσης από αφλατοξίνη περιλαμβάνουν φιστίκια (Σχήμα 3.1), καλαμπόκι, βαμβακόσπορο, βραζιλιάνικα φιστίκια, φιστίκια Αιγίνης, μπαχαρικά και σύκα (Jelinek 1987). Τα εμπορεύματα με χαμηλότερο ρίσκο μόλυνσης από αφλατοξίνη περιλαμβάνουν αμύγδαλα, πεκάν, καρύδια και σταφίδες. Σόγια, φασόλια, όσπρια, σόργο, κεχρί, σιτάρι, βρώμη, κριθάρι και ρύζι είναι ανθεκτικά ή μόνο μετρίως ευαίσθητα στη μόλυνση από αφλατοξίνη στο χωράφι. Παρ'όλα αυτά, όλα αυτά τα εμπορεύματα είναι ευαίσθητα όταν αποθηκευτούν σε συνθήκες υψηλής υγρασίας και θερμοκρασίας. Έντομα ή τρωκτικά μπορούν να δημιουργήσουν μικροπροβλήματα που διευκολύνουν την εισβολή μούχλας σε κάποια αποθηκευμένα εμπορεύματα.

Σχήμα 2.1

Ανάπτυξη του *Aspergillus flavus* (κιτρινο-πράσινος μύκητας) από δύο από τις πέντε επιφάνειες αποστειρωμένων φιστικιών που τοποθετήθηκαν σε ένα θρεπτικό μέσο καλλιέργειας. (Πηγή: Mycotoxin cast report e-book, 2003, page 41, figure 4.1)



Πέρα από τις αφλατοξίνες, η μόλυνση των ζωοτροφών και των τροφίμων από μυκοτοξίνες είναι φτωχά μελετημένη. Οι αφλατοξίνες έχουν ανιχνευτεί στο γάλα, στο τυρί, στο καλαμπόκι, στα φιστίκια, στο σπόρο του βαμβακιού, στα βραζιλιάνικα φιστίκια, τα αμύγδαλα, το πεκάν, τα σύκα, τα μπαχαρικά και σε μια ποικιλία από άλλα φαγητά και ζωοτροφές. Παγκοσμίως, το καλαμπόκι, τα φιστίκια, και ο βαμβακόσπορος είναι τα προϊόντα που έχουν αναλυθεί πιο συχνά, τη στιγμή που τα φιστίκια, τα βραζιλιάνικα φιστίκια, τα σύκα και τα μπαχαρικά μας ενδιαφέρουν επίσης. Το γάλα, τα αυγά και τα προϊόντα του κρέατος μολύνονται κάποιες φορές επειδή τα ζώα έχουν καταναλώσει ζωοτροφές μολυσμένες με αφλατοξίνες.

Πέρα από τις αφλατοξίνες, η ωχρατοξίνη και οι μυκοτοξίνες *Fusarium* έχουν λάβει τη μεγαλύτερη προσοχή ως μολυντές φαγητών και ζωοτροφών. Αυτές οι μυκοτοξίνες τείνουν να εμφανίζονται στις πιο εύκρατες περιοχές των Ηνωμένων πολιτειών. Το DON, η ζεαραλενόνη, και οι φουμονισίνες είναι μία μεγαλύτερη οικονομική ανησυχία από την ωχρατοξίνη στους ζωοπαραγωγούς των Η.Π.Α.. Οι μυκοτοξίνες που παράγονται από τα γένη *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* και *Alternaria* μπορούν να μολύνουν προϊόντα. Παρ'όλα αυτά, η επίπτωση και η σχετική σημασία στην υγεία των ανθρώπων και των ζώων από αυτές τις διαφορετικές μυκοτοξίνες δεν έχει καθοριστεί.

Ενώ ο έλεγχος της εμφάνισης των μυκοτοξινών στα τελικά προϊόντα είναι δυνατός, μπορεί να μην είναι οικονομικά εφικτός. Ως εκ τούτου, οι ρυθμιστικοί φορείς αξιολογούν συνεχώς τα επίπεδα της επιτρεπόμενης έκθεσης στον άνθρωπο χρησιμοποιώντας μια διαδικασία αξιολόγησης του κινδύνου για τη δημιουργία ανεκτής ημερήσιας πρόσληψης των επιλεγμένων μυκοτοξινών. Σε ορισμένες περιπτώσεις, ορισμένοι βιοδείκτες μυκοτοξινών είναι διαθέσιμοι για τον προσδιορισμό της έκθεσης σε ορισμένους πληθυσμούς ατόμων. Αυτά τα είδη των αξιολογήσεων απαιτούνται για τη δημιουργία προβληματικών περιοχών για τη νόσο της μυκοτοξίνης σε όλο τον κόσμο.

Σήμερα, σε όλο τον κόσμο υπάρχουν κανονισμοί για τις μυκοτοξίνες, αλλά θα πρέπει να εναρμονιστούν από χώρα σε χώρα, ιδίως για τη βελτίωση των εμπορικών διαπραγματεύσεων. Πάνω από 77 χώρες γνωρίζουν για τη ρύθμιση των μυκοτοξινών και ο Οργανισμός Τροφίμων και Γεωργίας (FAO) αυτή τη στιγμή επισημοποιεί τις πληροφορίες στον τομέα αυτό για μια δημοσίευση του 2003. Οι μετά τη συγκομιδή

μέθοδοι για να μειωθεί ή να εξαλειφτεί η εμφάνιση των μυκοτοξινών μελετάται και οι διάφορες προσεγγίσεις, όπως φυσικές μέθοδοι διαχωρισμού και η αποτοξίνωση, η βιολογική και χημική αδρανοποίηση, και η μείωση της βιοδιαθεσιμότητας σε ζώα ξενιστές χρησιμοποιούνται και / ή διερευνώνται.

Σε πολλές περιπτώσεις, οι μυκοτοξίνες σχηματίζονται κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου : ωστόσο, μπορούν να σχηματίζονται ή και να αυξάνονται κατά τη διάρκεια της συγκομιδής, της ξήρασης και της αποθήκευσης. Το πιο σημαντικό σε αυτή τη διαδικασία της παραγωγής μυκοτοξινών είναι η διαθεσιμότητα του νερού για την ανάπτυξη του μύκητα που παράγει. Η θερμοκρασία, επίσης, είναι ένας σημαντικός παράγοντας. Έτσι, όταν η αλληλεπίδραση του φυτού και του μύκητα πραγματοποιείται, η υγρασία και η θερμοκρασία επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό την ανάπτυξη των φυτών, την υγεία και την ανταγωνιστικότητα του μυκοτοξιγενικού μύκητα.

Στην αποθήκευση των σιτηρών, οι παράγοντες της δραστηριότητας του ύδατος, ο εξαερισμός του υποστρώματος και της θερμοκρασίας, οι συγκεντρώσεις ενοφθαλμίσματος, μικροβιακών αλληλεπιδράσεων, μηχανικής βλάβης και η προσβολή εντόμων μπορεί να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στην μόλυνση από μυκοτοξίνες.

3.2 ΕΠΙΣΚΟΠΙΣΗ ΤΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ

Η έγκαιρη συγκομιδή, ο καθαρισμός και η ξήραση της σοδειάς, ο έλεγχος της θερμοκρασίας και της υγρασίας κατά την αποθήκευση και η χρήση αντιμυκητιασικών παραγόντων μπορούν να βοηθήσουν στη μείωση ή την εξάλειψη των μυκοτοξινών σε τρόφιμα και ζωοτροφές. Επιπλέον, οι ερευνητικές προσπάθειες για την κατανόηση των γενετικών και βιοσυνθετικών πτυχών της ανάπτυξης των μυκοτοξινών μπορεί να οδηγήσουν σε στρατηγικές ελέγχου στα σιτάρια. Ενώ οι ακριβείς λόγοι που οι μυκοτοξίνες παράγονται από μύκητες είναι άγνωστοι, ορισμένες μυκοτοξίνες φαίνεται να λειτουργούν σαν δυνητικοί παράγοντες μολυσματικότητας στην παραγωγή των ασθενειών τόσο στα φυτά όσο και τα ζώα.

Αν και οι γεωπονικές και άλλες πρακτικές στοχεύουν στη μείωση ή την εξάλειψη των μυκοτοξινών στο χώρο, εξακολουθούν να υπάρχουν σημαντικοί λόγοι για να εξετάσουμε μετά τη συγκομιδή μέσα για την εξάλειψη ή την αδρανοποίηση των μυκοτοξινών στα δημητριακά και άλλα βασικά προϊόντα. Οι προσεγγίσεις σε αυτό τον τομέα ποικίλουν και μπορεί να ταξινομηθούν ως φυσικά μέσα διαχωρισμού, φυσικές μέθοδοι αποτοξίνωσης, βιολογικές μέθοδοι αδρανοποίησης, χημικές μέθοδοι αδρανοποίησης και μείωση της βιοδιαθεσιμότητας των μυκοτοξινών στο ζώο ξενιστή.

Τα φυσικά μέσα διαχωρισμού περιλαμβάνουν μηχανικό διαχωρισμό σύμφωνα με τον οποίο μολύνονται τα σωματίδια του υποστρώματος και απομακρύνεται από την παρτίδα για να μειώσει τις μυκοτοξίνες. Αυτή η διαδικασία είναι συχνά ανέφικτη και ατελής. Ο διαχωρισμός πυκνότητας έχει δείξει μεταβλητή αποτελεσματικότητα ανάλογα με το εμπόρευμα και τις μυκοτοξίνες ενδιαφέροντος.

Οι φυσικές μέθοδοι αποτοξίνωσης έχουν χρησιμοποιηθεί με μεταβλητούς βαθμούς επιτυχίας. Η θερμική αδρανοποίηση έχει χρησιμοποιηθεί για τις αφλατοξίνες, αλλά αυτές είναι αρκετά σταθερές στη θερμότητα και έτσι έχει επιτευχθεί περιορισμένη επιτυχία. Η ακτινοβολήση είτε με ακτίνες γάμμα, είτε με μικροκύματα ή με υπεριώδες φως έχουν χρησιμοποιηθεί, κατά κύριο λόγο για αφλατοξίνες και γενικά έχουν μειώσει τις συγκεντρώσεις στα υποστρώματα που

δοκιμάστηκαν. Η εκχύλιση με διαλύτη είναι αποτελεσματική για τις αφλατοξίνες, αλλά είναι οικονομικά απαγορευτική και επομένως ανέφικτη.

Οι βιολογικές μέθοδοι αδρανοποίησης έχουν εφαρμοστεί σε αγροτεμάχια όπου μη τοξικογόνα στελέχη της συνάρτησης χρησιμοποιήθηκαν για τον βιοελέγχο. Αυτή η τεχνική έχει σημειώσει σημαντική επιτυχία στη μείωση των αφλατοξινών στο βαμβάκι, το καλαμπόκι και τα φιστίκια. Άλλοι οργανισμοί έχουν διερευνηθεί για τον προσδιορισμό της αποτελεσματικότητάς τους στην απενεργοποίηση αφλατοξινών. Ένα στέλεχος του *Eubacterium* έχει χρησιμοποιηθεί με σημαντική επιτυχία στην απενεργοποίηση τριχοθισινών με βιομετατροπή της ομάδας εποξειδίου του μορίου σε ένα λιγότερο τοξικό μόριο. Διαιτητικοί παράγοντες έχουν δείξει κάποια αποτελεσματικότητα στον επηρεασμό της τοξικότητας των επιλεγμένων μυκοτοξινών, και ειδικά των αφλατοξινών.

Οι χημικές μέθοδοι αποτοξίνωσης, οι οποίες σχετίζονται περισσότερο με τις αφλατοξίνες υποβαθμίζονται από την αμμωνιοποίηση. Αυτή η διαδικασία είναι σημαντικά αποτελεσματική στον βαμβακόσπορο και στα βαμβακονήματα και χρησιμοποιείται σε αρκετές πολιτείες για το σκοπό αυτό. Θεραπεία των αφλατοξινών B₁, G₁, M₁ και αφλατοξικόλη με όξινο θειώδες νάτριο καθιστά τα προϊόντα διαλυτά στο νερό, μειώνοντας έτσι ή εξαλείφοντας την τοξικότητα των αφλατοξινών. Ο οζονισμός έχει χρησιμοποιηθεί σε υποβαθμισμένες αφλατοξίνες σε γεύματα από καλαμπόκι και βαμβακόσπορο. Η μέθοδος είναι επίσης αποτελεσματική στην μείωση της DON και της μονιλοφορμίνης. Επίσης, έχει χρησιμοποιηθεί σε χημικό περιβάλλον για να αποτοξινώσει και να υποβαθμίσει το κυκλοπιαζονικό οξύ, την ωχρατοξίνη A, την πατουλίνη, το σεκαλονικό οξύ D και τη ζεαραλενόνη.

Η κατανόηση του μηχανισμού δράσης των μυκοτοξινών στο ζώο ξενιστή σε κυτταρικό και βιοχημικό επίπεδο είναι σημαντική για το συνολικό στόχο, που έχουν στόχο να θεραπεύουν ή τουλάχιστον να αναστέλλουν τη δράση των μυκοτοξινών, ελέγχοντας έτσι δυνητικά ασθένειες και τους θανάτους που αποδίδονται σε αυτές. Η δυσκολία της κατανόησης είναι η πολυπλοκότητα των αλληλεπιδράσεων που συμμετέχουν στις δηλητηριάσεις και τις σχέσεις με παράγοντες του ξενιστή, όπως η διατροφή και η ανοσολογική κατάσταση. Επιπλέον, οι μυκοτοξίνες μπορεί να αλληλεπιδρούν με άλλα θεραπευτικά ή προφυλακτικά μέτρα του ελέγχου των ασθενειών, ιδιαίτερα επειδή πολλές από τις μυκοτοξίνες είναι ανοσοκατασταλτικές και ορισμένες έχει αποδειχθεί ότι παρεμβαίνουν σε προγράμματα εμβολιασμού των ζώων. Ο πιθανός αριθμός των βιοχημικών στόχων για την ποικιλομορφία των μυκοτοξινών, χημικά και βιολογικά, προσφέρει μια πρόκληση στη συνολική κατανόηση του τρόπου δράσης τους. Άμεσα αποτελέσματα, ως εκ τούτου, δεν είναι προβλέψιμα για την επίτευξη των κατάλληλων μέτρων ελέγχου για δηλητηριάσεις που οφείλονται σε μυκοτοξίνες.

Είναι δύσκολο να γίνουν γενικές δηλώσεις σχετικά με τις στρατηγικές ελέγχου για τις μυκοτοξίνες που θα ισχύουν καθολικά, διότι οι μυκοτοξίνες παράγονται πριν και μετά τη συγκομιδή από μια διαφορετική ομάδα μυκήτων σε πολλά είδη καλλιεργειών. Επί του παρόντος, δεν υπάρχουν απόλυτοι έλεγχοι διαθέσιμοι για την εξάλειψη της μόλυνσης από μυκοτοξίνες. Η εμφάνιση μυκοτοξινών στο έδαφος μπορεί να μειωθεί με καλές γεωπονικές πρακτικές και φύτευση ανθεκτικών ποικιλιών. Αν και η κληρονομική αντίσταση σε συσσώρευση ορισμένων μυκοτοξινών έχει προσδιοριστεί, δεν είναι ακόμη διαθέσιμη επαρκής αντοχή σε εμπορικούς γονότυπους.

Οι τεχνικές συγκομιδής και αποθήκευσης μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για τον έλεγχο της εμφάνισης των μυκοτοξινών σε καλλιέργειες. Οι δύο πρωταρχικοί παράγοντες που επηρεάζουν το σχηματισμό μυκοτοξινών στην αποθήκευση είναι η

υγρασία ή η τιμή a_w και η θερμοκρασία. Άλλες διαδικασίες όπως καθαρισμός, έλεγχος των εντόμων, χρήση των αντιμυκητιασικών παραγόντων και διατήρηση της ακεραιότητας του περιβλήματος του σπόρου είναι σημαντικές στη μείωση ή τη διατήρηση των επιπέδων μυκοτοξινών στο ελάχιστο.

Οι μελέτες των μυκοτοξινών και των μυκοτοξικώσεων σχετίζονται με τη βελτίωση της ασφάλειας των τροφίμων. 100% ασφαλή προμήθεια τροφίμων, στην οποία δεν υπάρχει κανένας κίνδυνος, είναι ακατόρθωτο να βρεθεί. Ως εκ τούτου, θα πρέπει να στηριχθεί κάποια από την αποδοχή της προσφοράς τροφίμων, στη γνώση των επιπτώσεων από μυκοτοξίνες σε ανθρώπους και ζώα και τις δαπάνες που συνδέονται με την εμπορία ενός αποδεκτού εφοδιασμού τροφίμων. Πάνω από δύο δεκαετίες έχουν περάσει από την τελευταία ομάδα εργασίας και τις συγκεντρωτικές πληροφορίες, η οποία δημοσίευσε μια έκθεση σχετικά με μυκοτοξίνες (Council for Agricultural Science and Technology 1989). Όταν η έκθεση εκδόθηκε, είχε περάσει σχεδόν μια δεκαετία από το πρώτο Συμβούλιο Γεωργικών Επιστημών και Τεχνολογίας (CAST) και την έκθεση σχετικά με μυκοτοξίνες που δημοσιεύθηκε (Council for Agricultural Science and Technology 1979). Η συχνότητα των δημοσιεύσεων είναι αναγκαία για τη συσσώρευση νέων πληροφοριών, στην τοξικολογία, την ανάλυση και τον έλεγχο των μυκοτοξινών.

3.3 ΦΥΣΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Πολλά είδη μυκοτοξικών μυκήτων που αποικίζουν σιτηρά και ελαιούχες καλλιέργειες καλά προσαρμοσμένες αναπτύσσονται σε υποστρώματα με χαμηλή υγρασία. Για το λόγο αυτό, η καθυστερημένη συγκομιδή μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη μόλυνση με μυκοτοξίνες. Για παράδειγμα, οι συγκεντρώσεις αφλατοξίνης του καλαμποκιού στο χωράφι αυξάνει μέχρις ότου η υγρασία του πυρήνα είναι 16 έως 18% (Payne et al 1988). Η καθυστερημένη συγκομιδή μολυσμένων δημητριακών μπορεί να οδηγήσει σε μεγαλύτερες ποσότητες αφλατοξίνης (Jones et al 1981). Έτσι, η έγκαιρη συγκομιδή του μολυσμένου καλαμποκιού, που ακολουθείται από ξήρανση, μπορεί να βοηθήσει να αποφευχθεί η αύξηση της μόλυνσης με αφλατοξίνες. Μια τέτοια στρατηγική δεν είναι πάντοτε οικονομικά εφικτή λόγω του προστιθέμενου κόστους της ξήρανσης του κόκκου. Η κινητικότητα της παραγωγής φουμονισίνης στο καλαμπόκι δεν έχει καθοριστεί, αλλά τα *F. verticillioides* μπορούν να αναπτυχθούν σε κόκκους μέχρις ότου η περιεκτικότητα σε υγρασία φτάσει το 18 έως 20% (Munkvold and Desjardins 1997). Στα τέλη της σεζόν οι βροχές μετά τη λήξη των καλλιεργειών έχουν συσχετιστεί με αυξημένη αφλατοξίνη (Payne et al 1988) και μόλυνση από φουμονισίνες.

Κατά τη διάρκεια της συγκομιδής, είναι σημαντικό να προσαρμόσουμε κατάλληλα τους συνδυασμούς ώστε να αποτραπεί η υπερβολική βλάβη στους καρπούς, που μπορεί να προδιαθέτουν λοίμωξη κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Επιπλέον, δεδομένου ότι τα υψηλότερα επίπεδα των μυκοτοξινών συχνά συνδέονται με σπασμένους και κατεστραμμένους κόκκους από έντομα (Malone et al 1998b, Munkvold and Desjardins 1997), η προσεκτική ρύθμιση της θεριζοαλωνιστικής μπορεί να εξαλείψει τους μολυσμένους πυρήνες στον τομέα αυτό, με την ελάχιστη απώλεια (Munkvold and Desjardins 1997, Widstrom 1996). Συγκεκριμένα, οι υγιείς κόκκοι μπορούν να περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις φουμονισίνης (Munkvold and Desjardins 1997) και αφλατοξίνης (Jones et al 1980), οπότε η απομάκρυνση μόνον καταστρέφει τους κόκκους χωρίς να εξαλείψει τη μόλυνση από μυκοτοξίνες. Μια γενική μείωση του συνόλου των φουμονισινών (FB_1 και FB_2) σε ποσοστό 60%

ελήφθη με διαλογή και τη σοβαρότητα που χωρίζει το καλαμπόκι που εκκενώνεται από ένα σιλό αποθήκευσης (Malone et al. 1998a).

Τα σκληρώτια του *C. purpurea* και του *C. fusiformis* τείνουν να είναι μεγαλύτερα από τους σπόρους υποδοχής, ενώ τα *C. paspali* τείνουν να είναι περίπου το ίδιο μέγεθος. Η χρήση των τεχνικών κοσκινίσματος για να απαλλάξουμε τη σίκαλη και τους σπόρους σιταριού από τα μεγαλύτερα εργοτοειδή έχει προφανώς επιλεγμένα στελέχη των οποίων τα εργοτοειδή προσεγγίζουν πιο στενά το μέγεθος και το σχήμα των σπόρων (Tudzinsky et al 1995). Η συγκομιδή σιτηρών, κόκκων καφέ, φρούτων και καλλιεργειών ελαιούχων σπόρων θα πρέπει να ξηραίνεται αμέσως. Η τελική ασφαλής περιεκτικότητα σε υγρασία εξαρτάται από την καλλιέργεια και τις κλιματικές συνθήκες όπου το εμπόρευμα είναι αποθηκευμένο. Επιτρέποντας το καλαμπόκι να μολυνθεί με το *A. flavus* στον υγρό πυρήνα σε ποσοστό πάνω από 18% για περισσότερο από 4 έως 6 ώρες θα αυξήσει γρήγορα τη μόλυνση από αφλατοξίνες (Widstrom 1996). Φροντίδα επίσης, θα πρέπει να ληφθεί για να καθαριστούν τα δοχεία αποθήκευσης και τα κοιλώματα τρυπανιών, να διατηρηθούν καθαρά τα φορτηγά, τα ρυμουλκούμενα και να συνδυαστούν όλα τα παραπάνω για την ελαχιστοποίηση μελλοντικών μολύνσεων της καλλιέργειας (Widstrom 1996).

Είναι ευρέως αποδεκτό ότι οι σπόροι πρέπει να ξηραίνονται σε ποσοστό 15% ή χαμηλότερα πριν από την αποθήκευση. Η ξήρανση του καφέ φαίνεται να είναι κρίσιμη για την αποφυγή εμφάνισης ωχρατοξίνης. Η μόλυνση του καφέ με ωχρατοξίνη από το έδαφος φαίνεται να εμφανίζεται στη διαδικασία ξήρανσης. Η παραγωγή ωχρατοξίνης φαίνεται να εμφανίζεται όταν οι κόκκοι έχουν μια δραστηριότητα a_w 0,94 έως 0,80. Εάν ο χρόνος παραμονής σε αυτό το παράθυρο του a_w ξεπεράσει τις τρεις ημέρες, υπάρχει αυξημένη πιθανότητα για την εμφάνιση της ωχρατοξίνης στον καφέ (Frank 1999).

Η ανάπτυξη των μυκήτων μυκοτοξιογένετικότητας σε κόκκους επηρεάζεται από το a_w , τη θερμοκρασία υποστρώματος, τη βλάβη των σπόρων, τον εξαερισμό, το μυκητιακό εμβόλιο, τις μικροβιακές αλληλεπιδράσεις και τα έντομα (Ominski et al 1994). Η αποφυγή συσσώρευσης μυκοτοξινών στα αποθηκευμένα δημητριακά και τους ελαιούχους σπόρους εξαρτάται κυρίως από τον έλεγχο της υγρασίας. Εάν το προϊόν είναι πολύ ξηρό για να επιτρέψει την ανάπτυξη των μυκήτων και διατηρείται στεγνό, χωρίς περαιτέρω επιδείνωση, τότε θα συμβεί. Ωστόσο, αν υπάρχει έντομο ή δραστηριότητα τρωκτικών, υγρασία, συμπύκνωση ή διαρροές νερού, η ανάπτυξη των μυκήτων θα μπορούσε να οδηγήσει σε μόλυνση από μυκοτοξίνες.

Εάν οι συνθήκες αποθήκευσης είναι ευνοϊκές για τον *A. flavus*, οι συγκεντρώσεις αφλατοξίνης θα αυξηθούν στα αποθηκευμένα δημητριακά που είχαν προσβληθεί στο παρελθόν στο ίδιο έδαφος. Επιπλέον, ο μύκητας μπορεί να μολύνει άμεσα τα αποθηκευμένα σιτηρά. Η βλάστηση και η ανάπτυξη του *A. flavus* απαιτούν a_w μεγαλύτερη από 0,85 και θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 10°C (Marin et al 1998a). Τα χαμηλότερα όρια για την ανάπτυξη του *A. flavus* σε σπόρους για ορισμένες καλλιέργειες έχουν καθοριστεί (Sauer et al 1992) και φαίνονται στον Πίνακα 3.1. Το *Aspergillus ochraceus*, όπως και το *A. flavus*, μπορεί να μολύνει τους σπόρους στο χωράφι και στην αποθήκευση. Τα *Aspergillus ochraceus* και *A. flavus*, ωστόσο, διαφέρουν ως προς τα όριά τους για τη θερμοκρασία και a_w (Πίνακας 3.1). Το *Aspergillus ochraceus* μπορεί να βλαστήσει και να αναπτυχθεί σε 10°C με a_w 0,85 έως 0,87.

Πίνακας 3.1

Κατώτερο όριο υγρασίας για την ανάπτυξη του *Aspergillus spp.* και του *Penicillium spp.* σε σπόρους από έναν αριθμό φυτικών ειδών (Πηγή: *Mycotoxin cast report e-book, 2003, page 33, table 3.3*)

	<i>A.ochraceus</i>	<i>A.flavus</i>	<i>Penicillium spp.</i>
Φυτό	Περιεκτικότητα σε υγρασία των σιτηρών (%)		
Αμυλούχοι σπόροι σιτηρών	15,5-16	17-18	16,5-20
Σόγια	14,5-15	17-17,5	17-20
Ηλιάνθος, κάρδαμο, φιστίκια και ξηρά κοκοκάρυδα	9,0-9,5	10-10,5	10-15

Το *Penicillium spp.* μπορεί να αναπτυχθεί και να παράγει μυκοτοξίνες σε μία ευρύτερη περιοχή θερμοκρασιών από το *Aspergillus spp.* (Ominski et al 1994). Τα είδη του *Penicillium* είναι πιο άφθονα σε εύκρατες κλιματικές ζώνες, ενώ το *Aspergillus spp.* κυριαρχεί σε θερμότερα κλίματα. Η πατουλίνη που παράγεται από το *P. expansum* μπορεί να προκύψει μεταξύ 0 ° C και 24 ° C. Οι απαιτήσεις σε νερό για το *Penicillium spp.* διαφέρουν σε μεγάλο βαθμό μεταξύ των ειδών. Ορισμένα είδη μπορούν να αποικίσουν υποστρώματα χωρίς ελεύθερο νερό, ενώ άλλα μπορεί να εισβάλουν και να καταστρέψουν τα δημητριακά και τα προϊόντα με το περιεχόμενο υγρασίας τους σε ισορροπία με σχετικές υγρασίες 90% ή παραπάνω σε θερμοκρασίες από -2° έως 5° C (Sauer et al 1992) (Πίνακας 3.3). Έτσι, σε χαμηλές θερμοκρασίες και υψηλή υγρασία, ορισμένα είδη του *Penicillium* είναι πολύ ανταγωνιστικά με άλλους μύκητες.

Τα *Penicillium aurantiogriseum* και *P. verrucosum* απαιτούν a_w μόνο από 0,80 έως 0,82 για να αρχίσουν να αυξάνονται (Wilson and Abramson 1992). Οι Marin et al. (1998a) διαπίστωσαν ότι η βλάστηση των κονιδίων και η ανάπτυξη του *P. aurantiogriseum* θα μπορούσε να συμβεί στους 5°C σε a_w από 0,9 έως 0,95. Σε θερμοκρασίες μεταξύ 15°C και 25°C, θα μπορούσε να αυξηθεί σε a_w 0,85. Δεδομένου ότι οι μύκητες συνεχίζουν να αυξάνονται, η υγρασία απελευθερώνεται κατά τη διάρκεια του μεταβολισμού και επιτρέπει στο υπόστρωμα να αποικίζεται από άλλα είδη. Το *Penicillium spp.* είναι γνωστό ότι παράγει μια σειρά από μυκοτοξίνες σε διαφορετικά προϊόντα, αλλά μόνο λίγα βρίσκονται σε φυσικώς μολυσμένα σιτηρά (Wilson and Abramson 1992). Αυτές περιλαμβάνουν ωχρατοξίνες, κιτρινίνη, πενικιλικό οξύ και ξανθομεγνίνη. Παρά το γεγονός ότι αυτές οι μυκοτοξίνες αποδίδονται στο *Penicillium spp.*, οι περισσότερες παράγονται επίσης από το *Aspergillus spp.* (Wilson and Abramson 1992). Η ασθένεια του καλαμποκιού είναι γνωστή ως μπλε μάτι και μπορεί να προκληθεί από τα είδη, είτε του *Penicillium* είτε του *Aspergillus*. Εάν η ασθένεια, τα συμπτώματα της οποίας προκαλούνται από τη συσσώρευση σποριών των μυκήτων στο φύτρο ακριβώς κάτω από το περικάρπιο, εμφανίζεται στο έδαφος ή λίγο μετά την αποθήκευση, συνήθως οφείλεται στο *Penicillium spp.* Εάν η νόσος εμφανίζεται στο καλαμπόκι που αποθηκεύεται για μερικούς μήνες ή ένα χρόνο με 14 με 14,5% υγρασία, το πιθανότερο είναι ότι προκαλείται από το *A. restrictus* ή το *A. glaucus* (Sauer et al. 1992).

Η θερμοκρασία και η υγρασία μπορεί να μεταβληθεί με άλλους παράγοντες, όπως τα τρωκτικά και τη δραστηριότητα των εντόμων. Ως εκ τούτου, ο έλεγχος εντόμων και τρωκτικών είναι σημαντικός, διότι η δραστηριότητά τους σε αποθηκευμένα προϊόντα δημιουργεί ευνοϊκό μικροκλίμα για την ανάπτυξη των

μυκήτων. Μόλις αρχίσει η ανάπτυξη των μυκήτων, το νερό του μεταβολισμού είναι επαρκές για την περαιτέρω αύξηση και την ανάπτυξη μυκοτοξινών (Sauer et al 1992).

Όταν οι συνθήκες είναι ευνοϊκές για μυκητιασική μόλυνση των υποστρωμάτων δεν είναι ασυνήθιστο για περισσότερους από έναν μύκητα να συμμετέχουν. Στην αποθήκευση, τα δημητριακά συχνά αποικίζονται από μια διαδοχή του μύκητα, η αλληλουχία του οποίου καθορίζεται εν μέρει από τη θερμοκρασία και την υγρασία του κόκκου. Οι πιο ξεροφυτικοί μύκητες στα αποθηκευμένα δημητριακά είναι τα *A. glaucus* και *A. restrictus*, η οποία μπορεί να αυξηθεί όταν το a_w είναι τόσο χαμηλό όπως στο 0.7 (Lacey et al 1991). Καθώς η υγρασία των σιτηρών μέσω αυξήσεων μικροβιακής δραστηριότητας, η μετανάστευση υγρασίας, εντόμων ή δραστηριότητας από άλλα είδη μυκήτων, αρχίζει να αυξάνεται, μερικά είδη σιτηρών μπορούν να αποικίσουν σε συνθήκες μη βέλτιστες με αποτελέσματα την ανάπτυξη, επειδή μπορούν να ανταγωνιστούν τα άλλα είδη υπό αυτές τις συνθήκες. Για παράδειγμα, τα *P. aurantiogriseum* και *P. viridicatum* είναι πιο άφθονα στους 0°C και 1,0 a_w , αν και αναπτύσσονται καλύτερα σε καθαρή καλλιέργεια στους 25°C και 1,0 a_w (Lacey et al. 1991). Ομοίως, τα μέλη του *A. glaucus* είναι πιο πλούσια σε κόκκους στους 30°C και σε 0,7 a_w , αλλά αναπτύσσονται καλύτερα σε 30°C και 0,90 a_w .

Ο Marin et al. (1998b) συνέκρινε την επίδραση της θερμοκρασίας (10 έως 30°C) και του νερού δραστηριότητας (0,92 - 0,994) σε πειράματα που έγιναν σε χημικό περιβάλλον οι μικροβιακές αλληλεπιδράσεις των *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. graminearum*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *P. aurantiogriseum*, *P. griseofulvum* και *P. citrinum*. Τόσο η θερμοκρασία όσο και το a_w επηρέασαν την σχετική ανταγωνιστικότητα του κάθε στελέχους. Οι ερευνητές διαπίστωσαν, ωστόσο, ότι υπό τις συνθήκες που εξετάστηκαν, τα *F. verticillioides* και *F. proliferatum* ήταν σε θέση να κυριαρχήσουν σε διάφορους μύκητες και να μολύνουν καλαμπόκι. Το *F. proliferatum* ήταν πιο ανταγωνιστικό από το *F. Verticillioides*. Ωστόσο, στους 15°C, το *F. graminearum* είχε ένα ανταγωνιστικό πλεονέκτημα σε σχέση με τα άλλα δύο είδη. Τα *Aspergillus* και *Penicillium* έγιναν πιο ανταγωνιστικά σε χαμηλότερες a_w . Το *Aspergillus flavus*, για παράδειγμα, ήταν κυρίαρχο σε σχέση με το *F. verticillioides* και το *F. proliferatum* σε 30°C και με a_w 0.94. Ομοίως, το *A. ochraceus* και το *A. niger* ήταν κυρίαρχα συγκριτικά με το *F. verticillioides* και το *F. proliferatum* στους 15°C και με a_w 0.98. Λόγω της πιθανής αλληλεπίδρασης πολλών ειδών μυκήτων τα δημητριακά μπορεί να έχουν μολυνθεί με έναν αριθμό διαφορετικών μυκοτοξινών.

Η υγρή άλεση καλαμποκιού μολυσμένου με μυκοτοξίνες έχει μελετηθεί για να καθοριστεί η πιθανή μόλυνση των προϊόντων καλαμποκιού για ανθρώπινη κατανάλωση. Γενικά, αυτή η επεξεργασία διαχωρίζει τις μυκοτοξίνες στα χημικώς διαφορετικά προϊόντα που προκύπτουν από τη διαδικασία (Benett and Richard 1996). Οι κύριες μυκοτοξίνες που έχουν μελετηθεί είναι οι αφλατοξίνες, η ζεαραλενόνη, το DON, η τοξίνη T-2 και οι φουμονισίνες.

Η διαδικασία της ξηρής άλεσης διαχωρίζει συστατικά δημητριακών σε διάφορα μεγέθη σωματιδίων, έχοντας αποτέλεσμα σε κλάσματα, όπως κόκκους, φύτρα, πληγούρι και αλεύρι. Έτσι, το καλαμπόκι και το σιτάρι είναι τα κυρίως προϊόντα που υποβάλλονται σε αυτή τη διαδικασία και οι μυκοτοξίνες που εμφανίζονται σε αυτά τα προϊόντα προκαλούν ανησυχία για την πιθανή εμφάνισή τους σε διάφορα κλάσματα.

Η παραγωγή αιθανόλης από μολυσμένα με μυκοτοξίνες εμπορεύματα έχει προταθεί ως ένας τρόπος να χρησιμοποιηθούν τέτοιοι κόκκοι όταν η μόλυνση είναι υπερβολικά υψηλή για ενσωμάτωση σε ζωικό και ανθρώπινο φαγητό. Οι κύριες μυκοτοξίνες που εξετάστηκαν στις μελέτες της ζύμωσης περιλαμβάνουν αφλατοξίνες, ωχρατοξίνες, φουμονισίνες, ζεαραλενόνη και DON. Γενικά, εάν τα προϊόντα της ζύμωσης αποστάζονται σε αιθανόλη, δεν περιλαμβάνουν μυκοτοξίνες.

3.4 ΤΕΧΝΗΤΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Ανα καιρούς, έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες τεχνητές μέθοδοι πειραματικά για τη μείωση ή την εξάλειψη των μυκοτοξινών. Κάποιοι ερευνητές ανέφεραν ότι η FB₁ υποβαθμίζεται με τη θερμική επεξεργασία όπως το μαγείρεμα, και η έκταση της μείωσης των μυκοτοξινών εξαρτάται από τη θερμοκρασία, από τον χρόνο μαγειρέματος, το επίπεδο μόλυνσης και τη συγκέντρωση των αναγωγικών σακχάρων (Jackson et al., 1997). Για παράδειγμα, η FB₁ αντιδρά με τη γλυκόζη μέσω της αλιφατικής πρωτοταγής αμίνης (αντίδραση Maillard) δημιουργώντας N-(καρβοξυμεθυλο)φουμονισίνη B₁ μέσω θερμικής επεξεργασίας (Howard et al., 1998; Lu et al., 2002). Η βάση Schiff αρχικά που παρήχθη με τη αντίδραση της FB₁ και της D-γλυκόζης υποβλήθηκε μέσω της αναδιάταξης Amadori δημιουργώντας μία ακετοαμίνη, η οποία μεταγενέστερα οξειδώθηκε σε N-(καρβοξυμεθύλιο)φουμονισίνη B₁. Αυτή η αντίδραση εμφανίστηκε στην παραγωγή αποτοξίνωσης FB₁ in vitro (Meca et al., 2010).

Τα ισοθειοκυανικά (ITCs) είναι προϊόντα που προέρχονται από την ενζυματική υδρόλυση των γλυκοσινολυκών, τα οποία είναι θειούχα γλυκοσίδια που υπάρχουν στα φυτά της οικογένειας *Brassicaceae*. Αυτές οι ενώσεις συμβάλλουν στη χαρακτηριστική δριμύ γεύση αυτών των λαχανικών (Engel et al., 2002), και έχουν αναφερθεί ως πιθανά αντιμικροβιακά (Luciano and Holley, 2009). Το ισοθειοκυανικό αλλύλιο (AITC), το οποίο είναι το πιο μελετημένο ITC, εμφανίστηκε να αναστέλλει την ανάπτυξη των ζυμομυκήτων, της μούχλας και των βακτηρίων σε πολύ χαμηλά επίπεδα (Isshiki et al., 1992). Τα ITCs έχουν χαρακτηριστεί από την παρουσία της α-N=C=S ομάδας, της οποίας το κεντρικό άτομο άνθρακα είναι έντονα ηλεκτρόφιλο (Zhang, 2004). Αυτή η ηλεκτροφιλική φύση επιτρέπει στο ITC να δεσμεύει εύκολα θειόλη και αμινομάδες των αμινοξέων, πεπτιδίων και πρωτεϊνών, δημιουργώντας συζεύξεις (Luciano and Holley, 2009), διθειοκαρβαμιδικά και δομές θειουρίας (Cejpek et al., 2000). Οι φουμονισίνες περιέχουν μία ελεύθερη και μία διαθέσιμη αμινομάδα. Ως εκ τούτου, τα ITCs μπορούν να είναι καλοί υποψήφιοι για αντενέργεια στις μυκοτοξίνες.

Οι αντιμυκητιασικοί παράγοντες χαμηλής τοξικότητας θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν για να συμπληρωθούν ορθές πρακτικές διαχείρισης και όχι ως υποκατάστατο για την ασφαλή, καθαρή πρακτική χειρισμού των μικτών ζωοτροφών. Η ανάπτυξη μυκήτων και η μόλυνση από μυκοτοξίνες σε κόκκους υψηλής υγρασίας μπορούν να προληφθούν με προπιονικό οξύ ή μίγματα προπιονικού και οξικού οξέος (Sauer et al 1992). Η θεραπεία του κόκκου με αυτά τα οξέα είναι κάπως διαβρωτική, και μπορεί να δημιουργήσει προβλήματα κατά το χειρισμό επεξεργασμένων δημητριακών και ζωοτροφών. Τα υγρά ψεκάσματα είναι γενικά πιο αποτελεσματικά από τις ξηρές συνθέσεις του προπιονικού οξέος, αλλά οι ξηρές συνθέσεις είναι πιο εύκολες στη χρήση.

Επίσης, υπάρχει ένα επίκαιρο ενδιαφέρον στην ερεύνηση του προστατευτικού ρόλου των προβιοτικών μικροοργανισμών στους ανθρώπους (Salminen et al, 2004). Σύμφωνα με το σημερινό υιοθετούμενο ορισμό των FaO/Who (2001), τα προβιοτικά είναι ζωντανοί μικροοργανισμοί οι οποίοι όταν χορηγούνται σε επαρκείς ποσότητες αποφέρουν όφελος για την υγεία του ξενιστή. Ειδικά προβιοτικά στελέχη έχουν τεκμηριώσει τις ευεργετικές τους ιδιότητες όπως τις ανταγωνιστικές επιδράσεις ενάντια στα παθογενή, μικραίνοντας τη διάρκεια της βρεφικής διάρροιας που προκαλείται από ροταϊό και την ανοσοποιητική διαφοροποίηση (Isolauri, 1991; Salminen et al., 1998; Schiffrin et al., 1997). Επί πρόσθετα, τα προβιοτικά βακτηρίδια

και τα ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα που περιέχουν αυτούς τους οργανισμούς πιθανόν να κατέχουν αντιμεταλλαξιγόνες και αντικαρκινογόνες δραστηριότητες. Οι μηχανισμοί αυτών των δραστηριοτήτων παραμένουν αδιευκρίνιστοι, παρ'όλα αυτά η αλλοίωση των βακτηριακών ενζύμων των κοπράνων σχετίζονται με τη μετατροπή των προμεταλλαξιογόνων και των προκαρκινογόνων για την τελειοποίηση των καρκινογόνων και τα δεσμευτικά διατροφικά μεταλλαξιογόνα προτάθηκαν ως πιθανή εξήγηση (Ortghage et al., 1994).

Σε σύγκριση με τις φυσικές και τις χημικές μεθόδους, ο βιολογικός έλεγχος της αφλατοξίνης προσφέρει μια ελκυστική εναλλακτική για αποτελεσματική εξάλειψη των τοξινών και ασφαλή φρούρηση της ποιότητας των τροφίμων και των ζωοτροφών (Alberts et al., 2009). Μια στρατηγική που αναπτύχθηκε για την εξάλειψη της μόλυνσης από αφλατοξίνη είναι εφαρμόζοντας ανταγωνιστικά, μη τοξικά στελέχη από το *Aspergillus flavus* και/ή *A. parasiticus* για το έδαφος ή τις αναπτυσσόμενες καλλιέργειες (Abbas et al., 2006; Chang & Hua, 2007; Degola, Berni & Restivo, 2011; Dorner & Cole, 2002; Horn & Dorner, 2009). Μέχρι σήμερα, τρία μη αφλατοξιγενικά είδη του *A. flavus* έχουν προσαρμοστεί για να μειώσουν τη μόλυνση των καλλιεργειών με αφλατοξίνη στις Ηνωμένες Πολιτείες (Chang et al., 2012). Ένα από αυτά τα είδη, το AF36 έχει καταχωρηθεί ως βιολοιμοκτόνο με το United State Environment Protection Agency για τη διαχείριση των αφλατοξιγενικών μυκήτων κατά τη διάρκεια παραγωγής βαμβακιού (Jones, 2003). Επίσης αναφέρθηκε ότι άλλοι νηματοειδείς μύκητες μπορούν να επηρεάσουν τη συσσώρευση αφλατοξίνης. Για παράδειγμα, το *Aspergillus chevalieri* και το *A. candidus* μείωσαν την παραγωγή του AFB₁ από το *A. parasiticus* στο ρύζι (Boller & Schroeder, 1973, 1974). Το *A. oryzae* ανέστειλλε τη βιοσύνθεση του AFB₁ κατά τη διάρκεια της ζύμωσης σάλτσας σόγιας (Maing, Ayres & Koehler, 1973). Το *Aspergillus niger* μείωσε τα επίπεδα του AFB₁ σε μεγάλη έκταση (Cvetnic & Pepelinjak, 2007; Krishnamurthy & Shashikala, 2006). Τώρα, ένα μεγάλο ποσό ερευνών αποδεικνύουν ότι ο ανταγωνισμός εντός των ειδών είναι η πιο αποτελεσματική και ασφαλής προσέγγιση για τον έλεγχο της μόλυνσης από αφλατοξίνες. Παρ'όλα αυτά, ο αναφερόμενος μη-τοξιγενικός *Aspergillus spp.* κυρίως προήλθε από το έδαφος, ενώ τα στελέχη του που απομονώνονται από τα τρόφιμα σπάνια αναφέρονται.

Μια άλλη γενετική μηχανική προσέγγιση μεταβάλλει τη ριβοσωμική πρωτεΐνη που είναι ο στόχος της τριχοθισινικής σύνδεσης στους φυτικούς ιστούς. Οι Harris and Gleddie (2001) είχαν τροποποιήσει ένα γονίδιο ρυζιού για την παραγωγή μιας τριχοθισινικής ανεκτικής ριβοσωμικής πρωτεΐνης. Όταν μετασχηματίζεται σε καπνό, το τροποποιημένο γονίδιο ρυζιού διαθέτει διαγονιδιακές κυτταρικές καλλιέργειες με ανοχή στο τριχοθισινικό DON. Η έρευνα είναι σε εξέλιξη για να εκφράσει αυτό το γονίδιο στο καλαμπόκι και το σιτάρι, για να αξιολογήσει τα αποτελέσματά της για τα συμπτώματα της νόσου και τη συσσώρευση της τριχοθισίνης.

Μεταξύ βιολογικών και φυσικών πηγών, τα φαρμακευτικά φυτά και βότανα έχουν λάβει ευρεία θεώρηση σε σχέση με το σχετικά ασφαλές στάνταρ και τον εμπλουτισμό με μία ευρεία σειρά από διάφορα δομικά χρήσιμα συστατικά. Στο Ιράν, τα αέρια μέρη από ορισμένα είδη των *Satureja* και *Thymus* παρουσίασαν αξιοσημείωτες αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές δραστηριότητες, και ως εκ τούτου χρησιμοποιήθηκαν για θεραπεία διάφορων ασθενειών όπως η γαστρεντερίτιδα, λοιμώξεις του ανώτερου αναπνευστικού, λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος, διάρροια και πληγές καθώς και σε στοιχεία των τροφίμων, φαρμακευτικών, καλλυντικών και αρωματικών προϊόντων από βιομηχανίες (Amin, 1999; Bauer, Garbe, & Surburg, 2001; Hajhashemi, Ghannadi, & Pezeshkian, 2002; Zargari, 1990). Υπάρχει ένα έντονο ενδιαφέρον στο να

κατανοηθούν οι βιολογικές ιδιότητες των φαρμακευτικών φυτών για μία πιο ευρεία χρησιμοποίησή τους. Κάποια φυτά που ανήκουν στις οικογένειες *Lamiaceae*, *Asteraceae*, *Apiaceae*, *Myrtaceae* και *Lauraceae* βρέθηκαν να είναι ενεργά στη μείωση της μόλυνσης από AFB₁ κυρίως με αναστολή της ανάπτυξης του *A. Flavus* και της βιοσύνθεσης του AFB₁ (Atanda et al., 2007; Bluma, Amaiden, & Etcheverry, 2008; Marija & Nevena, 2009; Omidbeygi et al., 2007; Rasooli & Abyaneh, 2004; Reddy et al., 2009). Παρ' όλα αυτά, έχουμε λίγες πληροφορίες διαθέσιμες για τον υποβιβασμό της μόλυνσης από AFB₁ από φυτά.

Όσον αφορά τις χημικές μεθόδους, το όζον ως ισχυρό οξειδωτικό, χρησιμοποιείται για την καταστροφή οργανικών μορίων μέσω απευθείας οξείδωσης ή έμμεσης οξείδωσης (Hoigne & Bader, 1976; Hoigne & Bader, 1983). Στη μέθοδο απευθείας οξείδωσης τα μόρια του όζοντος διαλύονται σε νερό για να δημιουργήσουν ελεύθερες ρίζες, οι οποίες καταστρέφουν τα οργανικά μόρια. Το όζον, που έχει εγκριθεί από τη Διοίκηση Φαγητών και Ναρκωτικών της US (FDA) το 1997, ως Γενικά Αναγνωρισμένη ως Ασφαλής (GRAS) ουσία, χρησιμοποιείται στην επεξεργασία του φαγητού (Graham, 1997). Ο οζονισμός, μια νέα χημική μέθοδος για την καταστροφή των αφλατοξινών, έχει εγκριθεί ως αποτελεσματικός, και είναι επίσης ασφαλές χωρίς να παράγει τοξικά κατάλοιπα αφού το όζον γρήγορα αποσυντίθεται σε οξυγόνο (Akbas & Ozdemir, 2006; De Alencar et al., 2012; Inan, Pala & Doymaz, 2007; Moricz et al., 2008; Moricz et al., 2007; Zorlugenc et al., 2008). Παρ' όλα αυτά, λίγες έρευνες έχουν διεξαχθεί σχετικά με τον προσδιορισμό και την ανάλυση τοξικότητας για την υποβάθμιση των προϊόντων της AFB₁ που αποικοδομείται από υδατικό όζον.

Βασισμένες στην επίδραση του υδατικού όζοντος σε κάποιες οργανικές ουσίες, παλιότερες έρευνες πρότειναν την πιθανή ελάττωση προϊόντων AFB₁ από υδατικό όζον (McKenzie et al., 1997). Παρ' όλα αυτά, μόνο ένας μικρός αριθμός προϊόντων μπορεί να συναχθεί, και η προτεινόμενη μέθοδος είναι σχετικά απλή. Για να προχωρήσει η έρευνα, αυτό το άρθρο στοχεύει να επιτύχει τους ακόλουθους στόχους: 1) Αναλύει τη δομή και την τοξικότητα της υποβάθμισης των προϊόντων AFB₁ από το υδατικό όζον. 2) Παρέχει ενδείξεις για πιθανές έρευνες στην υποβάθμιση του AFB₁ σε δημητριακά που επεξεργάστηκαν με υδατικό όζον.

Η αναγνώριση των προϊόντων υποβάθμισης χρησιμοποιώντας παραδοσιακές μεθόδους δεν είναι δυνατόν να επιτύχει ικανοποιητικά αποτελέσματα. Στην ανάλυση των προϊόντων υποβάθμισης των αφλατοξινών έχει εφαρμοστεί ένα υψηλής ανάλυσης, υψηλής ευαισθησίας και υψηλής ταχύτητας υπερ-απόδοσης υγρής χρωματογραφίας τετραπολικό φασματόμετρο μάζας (UPLC Q-TOF MS), με ένα πρωτοποριακό διαχωρισμό μορίων και τεχνικής προσδιορισμού, (Liu, Jin, Tao, Shan, Huang et al., 2010; Liu, Jin, Tao, Shan, Liu et al., 2010; Wang et al., 2011). Η διάμετρος των σωματιδίων της στατικής φάσης του UPLC μειώθηκε σε λιγότερο από 2 μm, σε σύγκριση με αυτό από την υψηλής απόδοσης στατική φάση υγρής χρωματογραφίας (HPLC) (5μm). Αυτό προκαλεί υψηλή ταχύτητα και στενότερες χρωματογραφικές κορυφές, καλύτερη χρωματογραφική ανάλυση, και βελτιωμένη ευαισθησία και επιλεξιμότητα του UPLC. Η ενίσχυση της χρωματογραφικής ανάλυσης και ευαισθησίας είναι ιδιαίτερα σημαντική στην ανάλυση πολύπλοκων προϊόντων υποβάθμισης (Ren et al., 2007). Επί πρόσθετα, τα δεδομένα που δημιουργήθηκαν χρησιμοποιώντας UPLC Q-TDF MS παρέχουν ακριβείς πληροφορίες για την ανάλυση χημικών στοιχείων, καθώς τα στοιχεία για τα θραύσματα ιόντων που ελήφθησαν χρησιμοποιώντας Q-TOF MS μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να συναχθεί η δομή των προϊόντων. Με αυτόν τον τρόπο, μαζικές χρήσιμες πληροφορίες μπορούν να παρέχονται για την επιβεβαίωση της

δομής των προϊόντων ακόμα και αν τα σπάνια δείγματα δεν είναι διαθέσιμα. Το σύστημα UPLC Q-TOF MS παρέχει μία πλατφόρμα για ανάλυση των πολύπλοκων προϊόντων υποβάθμισης και αναγνώρισης της δομής της ένωσης (Liu, Jin, Tao, Shan, Huang et al., 2010; Liu, Jin, Tao, Shan, Liu et al., 2010).

Όσον αφορά άλλες μεθόδους, η θεραπεία με ακτίνες ιονισμού έχει εξεταστεί σαν μία αποτελεσματική μέθοδος για την συντήρηση των τροφίμων (Queiroz et al., 2002). Επίσης, η ακτινοβόληση καρυκευμάτων έχει χρησιμοποιηθεί για την επίτευξη απολύμανσης καθώς και για τη βελτίωση του χρόνου παραμονής του τροφίμου στα ράφια και την ασφάλεια των καρυκευμάτων (Suhaj et al., 2006). Διάφορες αναφορές διαφωνούν αναφορικά με την αποτελεσματικότητα της ακτινοβόλησης σε επίπεδα αφλατοξινών και ωχρατοξινών. Ορισμένοι ερευνητές ανέφεραν ότι οι ακτινοβολίες Γ μπορούν να μειώσουν τα επίπεδα μυκοτοξινών σε διάφορα φαγητά (Jalili et al., 2010a; Herzallah et al., 2008; Prado et al., 2003), ενώ άλλοι ανέφεραν ότι δεν υπάρχει αποτέλεσμα (Hooshmand and Klopenstein, 1995; Feuill, 1966).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 – ΠΟΙΑ ΕΙΝΑΙ Η ΤΑΣΗ ΤΟΥ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΟΣ

4.1 ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΚΑΙ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ

Οι άνθρωποι εκτίθενται σε μυκοτοξίνες κυρίως μέσω διαφόρων διαδρομών όπως η πρόσληψη (τα πιο εξέχοντα μέσα έκθεσης), η επαφή και η εισπνοή. Ιστορικοί λογαριασμοί αποκαλύπτουν ότι ο εργοτισμός ήταν μια από τις παλαιότερες αναγνωρισμένες μυκοτοξικές και, ενδεχομένως, μουχλιασμένοι κόκκοι είχαν εμπλακεί σε άλλες μυκοτοξικές. Οι αφλατοξίνες είναι γνωστές αιτίες της οξείας αφλατοξίκωσης στον άνθρωπο. Αλλά οι χρόνιες μορφές της αφλατοξίκωσης, ειδικά τα καρκινώματα, είναι πιο προβληματικά επειδή οι επιδημιολογικές αποδείξεις δεν είναι ξεκαθαρισμένες εξαιτίας άλλων παραγόντων όπως η ηπατίτιδα Β η οποία ίσως αλληλεπιδρά με τη διαδικασία της νόσου.

Η εμφάνιση των αφλατοξινών σε τρόφιμα και ζωοτροφές έχει μελετηθεί αρκετά καλά : ωστόσο, για τις υπόλοιπες από τις πιο κοινές μυκοτοξίνες, η εμφάνιση στα τρόφιμα είναι λιγότερο γνωστή. Οι ωχρατοξίνες και πολλές από τις τοξίνες *Fusarium* λαμβάνονται υπόψη σε μεγαλύτερο βαθμό τελευταία. Επίσης, μεγαλύτερη προσοχή έχει δοθεί στην τροφή των ζώων, εξαιτίας των μυκοτοξικών, οι οποίες αναγνωρίζονται περισσότερο καλά καθώς συμβαίνουν περισσότερο στα ζώα από ό, τι στους ανθρώπους.

Η εμφάνιση της ερυσιβώδους όλυρας των δημητριακών, είναι περιορισμένη και έχει ποσοστό 0,05% στα παράγωγά της και έχουν προταθεί ως ένα μέγιστο αποδεκτό επίπεδο. Η εμφάνιση των αφλατοξινών λαμβάνει χώρα κατά κύριο λόγο στα φιστίκια, στο αραβοσιτέλαιο, στο βαμβακέλαιο, στα καρύδια Βραζιλίας, στα φιστίκια Αιγίνης, σε διάφορα μπαχαρικά, και στα σύκα. Οι συγκεντρώσεις εξαρτώνται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου. Το DON είναι η πιο συχνά αναφερόμενη μυκοτοξίνη, εκτός από τις αφλατοξίνες. Οι υπόλοιπες τριχοθισίνες, όπως οι τοξίνες T-2 και η διακετοξισκιρπενόλη (DAS) είναι λιγότερο συχνές. Η ζεαραλενόνη εμφανίζεται σε καλαμπόκι, σιτάρι, κριθάρι, και κόκκους σόργου, αλλά συνήθως σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Επειδή το *F. verticillioides* είναι σχεδόν πανταχού παρών στο καλαμπόκι, τα χαμηλά επίπεδα των φουμονισινών είναι κοινά σε όλο τον κόσμο σε αυτό το αγαθό.

Στα επεξεργασμένα τρόφιμα, υπάρχουν περιορισμένες πληροφορίες σχετικά με την εμφάνιση των μυκοτοξινών, τα περισσότερα εκ των οποίων αφορούν τις αφλατοξίνες. Οι αφλατοξίνες μπορεί να εμφανιστούν στο γάλα και στα γαλακτοκομικά προϊόντα που παρασκευάζονται από γάλα, ως αποτέλεσμα της σίτισης μολυσμένων μερίδων στα βοοειδή γαλακτοκομικά προϊόντα. Οι αφλατοξίνες φαίνεται να μεταβολίζονται γρήγορα στα περισσότερα είδη ζώων και τα υπολείμματα σε βρώσιμα κρέατα είναι μάλλον περιορισμένα με αποτέλεσμα να υπάρχει μικρή ανησυχία για την ανθρώπινη υγεία από αυτή την πηγή έκθεσης. Η μόλυνση από DON στο σιτάρι έχει ως αποτέλεσμα την ανακάλυψη αυτών των μυκοτοξινών σε προϊόντα με βάση τα δημητριακά όπως το αλεύρι, το ψωμί, και κάποιες παιδικές τροφές. Η ωχρατοξίνη Α μπορεί να βρεθεί στο χοιρινό κρέας και το κρέας πουλερικών.

Η διάγνωση των μυκοτοξικών είναι δύσκολη, επειδή οι επιδράσεις που παρατηρήθηκαν δεν είναι αναγκαστικά μοναδικές σε μια δεδομένη μυκοτοξίνη, αλλά μπορεί να μοιράζονται και σε άλλες τοξικές ουσίες και κάποιους παθογόνους οργανισμούς. Επιπλέον, η διάγνωση επιχειρείται συνήθως με βάση τις πληροφορίες που συγκεντρώθηκαν σε πειραματικές μελέτες όπου χρησιμοποιήθηκαν ελεγχόμενα

κριτήρια. Στο φυσικό περιβάλλον τα περιστατικά δηλητηρίασης, καθώς και ένα εύρος από παράγοντες όπως περιβαλλοντικοί, θρεπτικοί, παράγοντες συμπεριφοράς και παράγοντες εκτροφής μπορεί να επηρεάσουν την κατάσταση της νόσου. Για να πετύχουμε την καλύτερη δυνατή διάγνωση, οι πληροφορίες πρέπει να συγκεντρώνονται από το ζώο (-α), τόσο από ζώντα ζώα όσο και μετά θάνατον, ενώ η διεξαγωγή πρέπει να γίνεται σε βάθος, με χημική εξέταση των ζωοτροφών που εμπλέκονται στη δηλητηρίαση.

Ο έλεγχος μυκοτοξινών στα τρόφιμα και τις ζωοτροφές είναι μια συνεχώς εξελισσόμενη διαδικασία, ιδιαίτερα όσο μαθαίνουμε περισσότερα για την εμφάνισή τους, τους περιβαλλοντικούς παράγοντες που επηρεάζουν το σχηματισμό τους και μεταβολές στις γεωπονικές πρακτικές. Όπως προαναφέρθηκε, οι προσμείξεις μυκοτοξινών είναι αναπόφευκτες και ως εκ τούτου μικρές ποσότητες μυκοτοξινών μπορεί να επιτρέπονται από το νόμο, εάν τα ποσά αυτά είναι γνωστό ότι είναι ασφαλή για την υγεία ανθρώπων και ζώων.

4.2 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΑΝΕΚΤΩΝ ΟΡΙΩΝ

Τα προγράμματα παρακολούθησης αξιολόγησης της εμφάνισης των μυκοτοξινών μαζί με τα διαθέσιμα τοξικολογικά δεδομένα χρησιμοποιούνται για να κάνουν μια εκτίμηση της έκθεσης των κινδύνων για τον άνθρωπο ή τα ζώα. Το αποτέλεσμα είναι η δημιουργία των ρυθμιστικών επιπέδων για επιλεγμένες μυκοτοξίνες, εφόσον υπάρχουν επαρκή στοιχεία που όπως περιγράφονται μπορούν να ληφθούν. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, η FDA ρυθμίζει τις μυκοτοξίνες σύμφωνα με το άρθρο 402 ή 406 του νόμου περί τροφίμων, φαρμάκων και καλλυντικών. Κάθε εκτίμηση κινδύνων βασίζεται στους κινδύνους ή στην τοξικότητα μιας μυκοτοξίνης και στον αναμενόμενο βαθμό έκθεσης των ατόμων ή των πληθυσμών. Αυτά που περιλαμβάνονται στην εκτίμηση έχουν έναν παράγοντα αβεβαιότητας, έτσι ώστε τα δεδομένα από μελέτες σε ζώα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για γίνει επέκταση στον άνθρωπο και έτσι να επιτευχθεί μια αποδεκτή ή ανεκτή ημερήσια πρόσληψη.

Το FDA έχει θεσπίσει συγκεκριμένες κατευθυντήριες γραμμές για τα επιτρεπόμενα όρια αφλατοξινών στα τρόφιμα για ανθρώπους και τη διατροφή των ζώων, θέτοντας οριακά επίπεδα που επιτρέπουν την απομάκρυνση των προϊόντων όταν αυτά είναι μολυσμένα με πιθανά μη ασφαλή επίπεδα αυτής της τοξίνης. Τα στάνταρ ορίζουν ένα μάξιμουμ 20 ppb των συνολικών αφλατοξινών στο φαγητό για ανθρώπινη κατανάλωση, με εξαίρεση το γάλα, το οποίο έχει όριο 0.5 ppb για την αφλατοξίνη M₁. Σύμφωνα με το Codex Alimentarius, τα μέγιστα επίπεδα της AFM₁ στο γάλα και στα γαλακτοκομικά προϊόντα δεν πρέπει να ξεπερνούν τα 0.05 μg/kg (ppb). Σύμφωνα με τους κανονισμούς της US από το FDA η περιεκτικότητα της AFM₁ στο γάλα δεν πρέπει να είναι μεγαλύτερη από 0.5 μg/kg (Codex Alimentarius Commission, 2001). Παρ'όλα αυτά, η συνολική ποσότητα της κατάποσης δεν αντανakλά πάντα την ποσότητα που είναι διαθέσιμη στο σώμα για την απορρόφηση. Μόνο ένα συγκεκριμένο ποσοστό της μόλυνσης είναι βιοπροσβάσιμο. Η βιοπροσβασιμότητα καθορίζεται από την ποσότητα της χημικής ένωσης που απελευθερώθηκε από την κατάποση της μήτρας των τροφίμων μέσα στο γαστρεντερικό χυμό του σωλήνα και έγινε διαθέσιμο για επακόλουθη απορρόφηση από το έντερο (Versantvoort et al., 2005). Οι μελέτες σε ανθρώπους και ζώα έδειξαν ότι η βιοπροσβασιμότητα, και κατ'επέκταση, η βιοδιαθεσιμότητα των συστατικών των τροφίμων μπορεί να διαφέρουν σημαντικά σε σχέση με την πηγή του φαγητού, την επεξεργασία του ή την προετοιμασία του (Shim et al., 2009; Van het Hof et al., 2000; Wienke, Marx & Beynen, 1999).

Παραδείγματα των τοξικολογικών δεδομένων μπορεί να περιλαμβάνουν πληροφορίες για οξεία τοξικότητα, τερατογένεση και τοξικότητα στην αναπαραγωγή, καθώς επίσης αποτελέσματα σχετικά με την ασυλία, και χρόνιες επιπτώσεις του μυκοτοξινών. Οι εκθέσεις αυτές χρησιμοποιήθηκαν για τη δημιουργία μιας ανεκτής ημερήσιας πρόσληψης των 12 $\mu\text{g} / \text{kg} / \text{ημέρα}$ για DON στον άνθρωπο. Για καρκινογόνες μυκοτοξίνες, όπως οι αφλατοξίνες, όμως, μια διεπιστημονική ομάδα ερεύνησε όλα τα πειραματικά στοιχεία για καρκινογένεση, μαζί με αποδεικτικά στοιχεία επιδημιολογικής μελέτης και διεξήγαγε την εκτίμηση των αλληλεπιδράσεων, τις δυναμικότητες και την έκθεση τους. Σε αυτές τις έρευνες, καθορίστηκε ότι υπάρχει πιθανή αλληλεπίδραση της έκθεσης της ηπατίτιδας Β με την πρόσληψη αφλατοξίνης στην ανάπτυξη του ανθρώπινου ηπατοκυτταρικού καρκίνου. Μετά από τα αποτελέσματα αυτά, οι προτάσεις για τον έλεγχο της αφλατοξίκωσης έχουν αυξηθεί. Τα επιδημιολογικά στοιχεία είναι σημαντικά σε πολλές από αυτές τις έρευνες για τον προσδιορισμό των κινδύνων και η εκτίμηση θα είναι ευκολότερη εάν οι βιοδείκτες διατίθενται για την αξιολόγηση της έκθεσης των ατόμων ή των πληθυσμών. Οι βιοδείκτες είναι διαθέσιμοι για χρήση σε μελέτες σχετικά με τις αφλατοξίνες, τις φουμονισίνες και τις ωχρατοξίνες. Για άλλες μυκοτοξίνες, ωστόσο, η χρήση των βιοδεικτών είναι πιο προβληματική ή και ανύπαρκτη. Τα προγράμματα ελέγχου για τις μυκοτοξίνες στις Ηνωμένες Πολιτείες είναι μέσα στους στόχους της αποστολής FDA και η αφλατοξίνη είναι μυκοτοξίνη πρωταρχικής σημασίας. Μία προσέγγιση της FDA που χρησιμοποιεί για τον έλεγχο της μόλυνσης από μυκοτοξίνες στα τρόφιμα και τις ζωοτροφές είναι η δημιουργία επιπέδων δράσης, π.χ., αφλατοξίνες και πατουλίνη, ως οδηγούς για να χρησιμοποιούνται όταν οι δράσεις εφαρμογής πρέπει να ληφθούν. Επίσης, για την ελαχιστοποίηση της έκθεσης, η FDA καθορίζει συμβουλευτικά επίπεδα για ορισμένες μυκοτοξίνες, όπως έχει γίνει για DON και φουμονισίνες. Υπάρχουν βέβαια κι άλλες μυκοτοξίνες που παρουσιάζουν ενδιαφέρον για την FDA και αξιολογούν συνεχώς την ανάγκη για κανονισμούς με βάση τα στοιχεία της έκθεσης και των κινδύνων.

Το 2011, ο αριθμός των κοινοποιήσεων της RASFF για τις μυκοτοξίνες μειώθηκε ελαφρά, κάτι που οφειλόταν σε μείωση των αναφερομένων κοινοποιήσεων των αφλατοξινών (βλ. πίνακα 4.1). Υπήρχαν πολύ λιγότερες κοινοποιήσεις σχετικά με τις αφλατοξίνες, δεδομένου ότι η κατάσταση όσον αφορά την παρουσία της αφλατοξίνης στα μπαχαρικά με καταγωγή την Ινδία ήταν πολύ βελτιωμένη το 2011 (41 κοινοποιήσεις) σε σύγκριση με το 2010 (97 κοινοποιήσεις). Αυτή η σημαντική βελτίωση είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της απαιτούμενης συχνότητας ελέγχου κατά την εισαγωγή.

Υπήρξε μια περαιτέρω μείωση στις κοινοποιήσεις των αφλατοξινών για τα καρύδια, τα προϊόντα των ξηρών καρπών και των σπόρων προς σπορά, για τρίτη συνεχόμενη χρονιά. Αυτό έχει σχέση με την αλλαγή της νομοθεσίας το 2010, σύμφωνα με την οποία τα ανώτατα επίπεδα για τις αφλατοξίνες στα αμύγδαλα, τα φουντούκια, τα φιστίκια και τα καρύδια Βραζιλίας έχουν ευθυγραμμιστεί με το μέγιστο επίπεδο του Codex Alimentarius και στη σημαντικά βελτιωμένη κατάσταση όσον αφορά τη μη συμμόρφωση ορισμένων προϊόντων από ορισμένες τρίτες χώρες (π.χ. φιστίκια από την Αργεντινή). Αυτό όμως ισοσταθμίζεται από την αύξηση των κοινοποιήσεων για τις αφλατοξίνες στις πρώτες ύλες ζωοτροφών. Αυτό οφείλεται κυρίως στις επαναλαμβανόμενες διαπιστώσεις υψηλών έως πολύ υψηλών επιπέδων αφλατοξινών στα φιστίκια για τη διατροφή των πουλιών από την Ινδία (106 κοινοποιήσεις), εκ των οποίων 83 είχαν αναφερθεί από το Ηνωμένο Βασίλειο ως απορρίψεις προϊόντων στα σύνορα.

Πίνακας 4.1

Κοινοποιήσεις μυκοτοξινών (Πηγή: Rasfi annual report 2011, page 18, table 4)

Κίνδυνος	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Αφλατοξίνες	288	762	839	946	801	705	902	638	649	585
Δεοξυνιβαλενόλη (DON)						10	4	3	2	11
Φουμονισίνες		15	14	2	15	9	2	1	3	4
Ωχρατοξίνη Α	14	26	27	42	54	30	20	27	34	35
Πατουλίνη				6	7		3			
Ζεαραλενόνη					1	6	2			
Σύνολο μυκοτοξινών	302	803	880	996	878	760	933	669	688	635

Οι περισσότερες κοινοποιήσεις σχετικά με τις αφλατοξίνες σχετίζονται με τους συνδυασμούς προέλευσης προϊόν / χώρα για τα οποία η επιβαλλόμενη αύξηση της συχνότητας των ελέγχων στις εισαγωγές είναι σε ισχύ. Ως εκ τούτου, ο αριθμός των κοινοποιήσεων έχει ενισχυθεί από την αυξημένη συχνότητα των ελέγχων που προέκυψε από το εντοπισμένο πρόβλημα.

Σε όλο τον κόσμο υπάρχουν κανονισμοί για τις μυκοτοξίνες και γενικά βασίζονται σε τοξικολογικά δεδομένα, την εμφάνιση και τη διανομή, καθώς και τα επιδημιολογικά δεδομένα. Υπάρχει ανάγκη να εναρμονισθούν οι κανόνες από χώρα σε χώρα, ιδίως όπου υπάρχουν εμπορικές συμβάσεις. Επίσης, είναι σημαντικό το γεγονός ότι οι κανονισμοί δεν είναι τόσο αυστηροί ώστε να θέσουν σε κίνδυνο την περιορισμένη προσφορά τροφίμων των αναπτυσσόμενων χωρών ή να κάνουν τα προϊόντα υπερβολικά ακριβά. Σε όλο τον κόσμο, τα νέα όρια και οι διατάξεις για τις μυκοτοξίνες έχουν τεθεί σε ισχύ και λόγω της απόκτησης των νέων δεδομένων, οι κανονισμοί αλλάζουν με γρήγορους ρυθμούς.

Οι αλλαγές στις γεωργικές πρακτικές παραγωγής και επεξεργασίας τροφίμων, μαζί με τις παγκόσμιες αλλαγές στο περιβάλλον και τη δημόσια πολιτική, μας προκαλούν την ανάπτυξη και την τελειοποίηση των στρατηγικών και των τεχνολογιών για την εξασφάλιση ασφαλών τροφίμων και ένα υγιές περιβάλλον. Η αυξανόμενη παγκοσμιοποίηση του εμπορίου προσθέτει μια νέα διάσταση στη σημασία των μυκοτοξινών όχι μόνο ως τοξίνες, αλλά και ως εμπόδια για το ελεύθερο εμπόριο μεταξύ των χωρών. Παρακάτω αναφέρονται οι τομείς της έρευνας και της δημόσιας πολιτικής που πρέπει να αντιμετωπιστούν ώστε η παροχή τροφίμων και των ζωοτροφών να είναι ασφαλέστερη στον εικοστό πρώτο αιώνα.

1. Δημόσια Πολιτική

- Ανάπτυξη ενιαίων προτύπων και προδιαγραφών για την μόλυνση από μυκοτοξίνες.
- Υποστήριξη κοινών διεθνούς συνεργασίας (FAO / WHO / UNEP) για να εγκρίνει τυποποιημένους κανονισμούς.
- Ανάπτυξη ενός ασφαλούς εφοδιασμού σε τρόφιμα για τους τοπικούς πληθυσμούς.

2. Ανίχνευση μυκοτοξινών

- Ανάπτυξη νέων τεχνολογιών για την ανάλυση μυκοτοξινών και τη βελτίωση της ανίχνευσης (με ειδικότητα) των μυκοτοξινών σε προπαρασκευασμένες τροφές.

- Ανάπτυξη βιολογικών δεικτών για ανθρώπινη και ζωική έκθεση σε εφάπαξ και πολλαπλές μυκοτοξίνες.

3. Αλληλεπιδράσεις του ανθρώπου και των ζώων

- Αξιολόγηση των μυκοτοξινών, όπως λοιμογόνου παράγοντες.
- Διερεύνηση της επίδρασης των μυκοτοξινών, όπως τα ανοσοκατασταλτικά.
- Αξιολόγηση των τοξικολογικών αλληλεπιδράσεων των τοξινών με τον ξενιστή.
- Εξέταση της διακύμανσης του πληθυσμού για την ευαισθησία σε μυκοτοξίνες.
- Αξιολόγηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μυκοτοξινών και των φαρμάκων, στη διατροφή και διαίτα.
- Αποτίμηση του ρόλου των φουμονισινών για τον άνθρωπο και τη συμμετοχή τους στον καρκίνο του οισοφάγου.
- Εκτίμηση των κινδύνων από την έκθεση λόγω της εμφάνισης της ωχρατοξίνης σε μια ποικιλία τροφίμων και περιβαλλοντικές θέσεις.

4. Αλληλεπιδράσεις Φυτών και μυκήτων

- Καθιέρωση καλύτερης κατανόησης των παραγόντων που επηρεάζουν το σχηματισμό μυκοτοξινών στον τομέα και στην αποθήκευση.
- Βελτίωση της κατανόησης της οικολογίας και της επιδημιολογίας της που παράγουν μυκοτοξίνες.
- Ανάπτυξη ήχου αγρονομικών πρακτικών διαχείρισης για να μειωθεί η μόλυνση από μυκοτοξίνες.
- Ανάπτυξη υποδοχής αντοχής των φυτών σε μυκοτοξίνες μυκήτων και στην εμφάνιση μυκοτοξινών.
- Ανάπτυξη μοντέλων για την πρόβλεψη καλύτερα του δυναμικού της μόλυνσης από μυκοτοξίνες.
- Διερεύνηση της γενετικής ρύθμισης και της βιοσύνθεσης των μυκοτοξινών από τους οργανισμούς που παράγουν.

5. Εσωτερική ποιότητα του αέρα

- Προσδιορισμός των μυκοτοξινών υπεύθυνων για τα προβλήματα της εσωτερικής ποιότητας του αέρα.
- Ανάπτυξη ήχου στα πρωτόκολλα δειγματοληψίας για την εκτίμηση του πληθυσμού των μυκήτων.
- Καθιέρωση ορίων αναπνευστικής έκθεσης σε μυκοτοξίνες.

6. Οικονομικές επιπτώσεις της μόλυνσης από μυκοτοξίνες

- Ανάπτυξη ακριβών εκτιμήσεων των ζημιών για μόλυνση από μυκοτοξίνες.

7. Βιοτρομοκρατία

- Αξιολόγηση ενδεχόμενων χρήσης των μυκοτοξινών, όπως βιοτρομοκρατικούς παράγοντες.
- Εκτίμηση των μυκοτοξινών μυκήτων της βιοτρομοκρατίας-πρακτόρων υποψηφίων.

Η αποφυγή εμφάνισης μυκοτοξινών στην τροφική αλυσίδα περιλαμβάνει την κατανόηση των στρατηγικών στοιχείων για τη διαχείριση των μυκοτοξινών. Αυτή η αντίληψη βασίζεται στα αποτελέσματα της έρευνας από τον ακαδημαϊκό χώρο, τη βιομηχανία, ιδιωτικές εταιρείες, και την κυβέρνηση. Αυτή η πληροφορία μπορεί να εφαρμοστεί για να καθιερώσει ένα πρόγραμμα διασφάλισης ποιότητας για τις μυκοτοξίνες σε ζωοτροφές και τρόφιμα, εγκαταστάσεις παραγωγής, για να προσπαθήσει να επιτύχει την ποιότητα των τροφίμων χωρίς μυκοτοξίνες για την ανθρώπινη και τη ζωική κατανάλωση. Είναι σημαντικές για την αποτελεσματική διαχείριση μυκοτοξινών, την ανίχνευση και την ποσοτικοποίηση.

Η FAPAS®, που διοργανώθηκε από το Κεντρικό Επιστημονικό Εργαστήριο, ένας εκτελεστικός οργανισμός του Υπουργείου Γεωργίας Αλιείας και Τροφίμων (MAFF) του Ηνωμένου Βασιλείου, (1990), έχει ελέγξει την επάρκεια των εργαστηρίων ανάλυσης των τοξινών στα τρόφιμα από το Σεπτέμβριο 1990. Το πρόγραμμα ξεκίνησε για τα εργαστήρια του Ηνωμένου Βασιλείου, αλλά επεκτάθηκε σε όλο τον κόσμο μετά από αιτήματα από τους αναλυτές σε άλλες χώρες που δεν είχαν ένα εγχώριο βασισμένο καθεστώς. Κατά τη διάρκεια των πρώτων δέκα ετών η λειτουργία της, περίπου 4.000 ομοιογένειες ελέγχθηκαν, τα υλικά δοκιμής εκδόθηκαν για την ανάλυση των αφλατοξινών, ωχρατοξίνης A και πατουλίνης. 79% των απαιτούμενων δεδομένων επιστράφηκαν από τους συμμετέχοντες και πάνω από 9.000 εκτιμήσεις επάρκειας έγιναν, εκ των οποίων οι 89% ήταν ικανοποιητικές.

Οι μυκοτοξίνες είναι ουσιαστικά αναπόφευκτες σε εμπορεύματα. Εντούτοις, μια σειρά από πρακτικές μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να αποφεύγεται η είσοδος τους στην τροφική αλυσίδα. Η κατανόηση των μυκοτοξινών έχει και θα συνεχίσει να προέρχεται από την ενοποίηση των ερευνητικών προσπαθειών από τον ακαδημαϊκό κόσμο, τη βιομηχανία, τις ιδιωτικές επιχειρήσεις και την κυβέρνηση. Σε πολλές περιπτώσεις, οι μελέτες είναι συνεργατικές, αν και σημαντικά αποτελέσματα, επίσης, έχουν ολοκληρωθεί ανεξάρτητα από τα πρόσωπα αυτά. Το αποτέλεσμα είναι μια ολοκληρωμένη, διεπιστημονική προσπάθεια να εντοπίσουν και να εφαρμόσουν στρατηγικές διαχείρισης μυκοτοξινών που συμβάλλουν στη μείωση της έκθεσης των ζώων και των ανθρώπων σε αυτές τις σημαντικές για την υγεία περιπτώσεις.

Στην έρευνα, το ρυθμιστικό για την ποιότητα των δραστηριοτήτων αξιοπιστίας, είναι σημαντικό να μετρηθεί με ακρίβεια η συγκέντρωση μιας μυκοτοξίνης σε ένα εμπόρευμα, έτσι ώστε σωστές αποφάσεις να μπορούν να ληφθούν. Ωστόσο, η δυσκολία στη λήψη ακριβών εκτιμήσεων των συγκεντρώσεων μυκοτοξινών σε ένα μεγάλο όγκο υλικού έχει αποδειχθεί από τους Whitaker et al. (1974a, 1974b, 1976, 1979b, 1992, 1994, 1995, 1998), τους Velasco et al. (1975), τον Waibel (1977) τους Knutti and Schlatter (1978), τον Brown (1974), τον Jewers (1982), τον Schatzki (1995), τους de Schatzki and Koe (1999), τον Campbell et al. (1986), τον Park et al. (1991c), τον Coker (1991) και το Food and Agriculture Organization (1993). Οι δοκιμές αποτελούνται γενικά από τρία στάδια :

1. λαμβάνεται ένα δείγμα από την παρτίδα,

2. το δείγμα κονιορτοποιείται για να μειωθεί το μέγεθος των σωματιδίων, τότε ένα επιμέρους δείγμα, ή αναλυτικό δείγμα, απομακρύνεται για ανάλυση και
3. η μυκοτοξίνη εκχυλίζεται και ποσοτικά.

Ο έλεγχος των επιπέδων των μυκοτοξινών στα τρόφιμα και τις ζωοτροφές είναι μια συνεχώς εξελισσόμενη διαδικασία. Η εμφάνιση των μυκοτοξινών επηρεάζεται από ορισμένους περιβαλλοντικούς παράγοντες. Ως εκ τούτου, η έκταση της μόλυνσης ενός συγκεκριμένου εμπορεύματος με μια συγκεκριμένη τοξίνη είναι απρόβλεπτη και θα ποικίλει ανάλογα με τη γεωγραφική θέση, τις γεωργικές πρακτικές και την ευαισθησία των προϊόντων σε εισβολή μυκήτων κατά τη διάρκεια προ της συγκομιδής, της αποθήκευσης ή / και σε περιόδους επεξεργασίας.

Οι μυκοτοξίνες μπορεί να εμφανίζουν διάφορες δυσμενείς τοξικολογικές εκδηλώσεις σε ανθρώπους και ζώα. Σε πολλές περιπτώσεις, οι επιπτώσεις των μυκοτοξινών στην ανθρώπινη υγεία, στα επίπεδα στα οποία οι άνθρωποι εκτίθενται μερικές φορές, δεν είναι γνωστά. Στις ανεπτυγμένες χώρες, οι οξείες τοξικές επιδράσεις των μυκοτοξινών σπάνια παρατηρούνται, επειδή οι πρόοδοι στην τεχνολογία επεξεργασίας και τα προγράμματα ποιοτικού ελέγχου, όπως η GAP και GMP εμποδίζουν σε μεγάλο βαθμό τα μολυσμένα τρόφιμα από την είσοδο του εφοδιασμού. Από την άποψη της δημόσιας υγείας, υπάρχει ανησυχία σχετικά με τις επιπτώσεις στην υγεία από τη μακροπρόθεσμη έκθεση σε χαμηλά επίπεδα των μυκοτοξινών στα τρόφιμα.

Επειδή η εμφάνιση των εν λόγω τοξινών στα τρόφιμα και τις ζωοτροφές δεν είναι απολύτως αναπόφευκτη, μικρές ποσότητες αυτών των ρύπων μπορεί να επιτρέπονται από το νόμο, εφόσον τα ποσά δεν θεωρούνται επιβλαβή για την υγεία ανθρώπων και ζώων. Η νομική βάση για τη ρύθμιση της τοξίνης ή δηλητηριωδών ουσιών σε τρόφιμα στις Ηνωμένες Πολιτείες είναι η Federal Food, Drug και Cosmetic Act, η οποία επιβάλλεται από το FDA. Σε ένα κεφάλαιο του παρόντος νόμου, ένα τρόφιμο θεωρείται νοθευμένο αν φέρει ή περιέχει δηλητηριώδη ή επιβλαβή ουσία που μπορεί να την καταστήσει επιβλαβή για την υγεία. Με την επιβολή αυτού του καταστατικού, η FDA μπορεί να απαγορεύσει την είσοδο και να αφαιρέσει από το διακρατικό εμπόριο, οποιοδήποτε τρόφιμο ή ζωοτροφή που είναι νοθευμένα. Μια στρατηγική που χρησιμοποιείται από τις Ηνωμένες Πολιτείες για την ελαχιστοποίηση των μυκοτοξινών στην προμήθεια τροφίμων είναι η θέσπιση κανονιστικού ορίου για ορισμένες μυκοτοξίνες σε διάφορα προϊόντα. Μόλις καθιερώνονται τα όρια αυτά, η βιομηχανία τροφίμων παρακολουθείται τακτικά για να διαπιστωθεί εάν είναι προσκολλημένο με τις καθιερωμένες κανονιστικές οριακές τιμές.

Η παγκόσμια εμφάνιση μυκοτοξινών στα τρόφιμα και τις ζωοτροφές έχει αναγνωριστεί από τον FAO και την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (WHO) για πολλά χρόνια. Πολλές χώρες σε όλο τον κόσμο έχουν θεσπίσει νομοθεσία για τα τρόφιμα, που θέτει όρια για τις συγκεντρώσεις των συγκεκριμένων μυκοτοξινών στα τρόφιμα. Τα αναλυτικά στοιχεία που προκύπτουν από τα προγράμματα παρακολούθησης τροφίμων σε συνδυασμό με τα διαθέσιμα τοξικολογικά δεδομένα που χρησιμοποιούνται για την κατασκευή βασιμμένων στην επιστήμη εκτιμήσεων του κινδύνου μπορεί να χρησιμεύσει ως βάση για τον καθορισμό ενός συγκεκριμένου κανονιστικού επιπέδου. Ο στόχος αυτού του κεφαλαίου είναι να δώσει μια γενική εικόνα για τη σημασία της χρήσης της επιστήμης με βάση εκτιμήσεις κινδύνου, σε συνδυασμό με την καθιέρωση ρυθμιστικών ορίων ως μια ιδανική προσέγγιση για την

ελαχιστοποίηση των επιπέδων της μόλυνσης από μυκοτοξίνες στον εφοδιασμό με τρόφιμα και ως εκ τούτου την προστασία της υγείας των καταναλωτών.

Πολλές μυκοτοξικώσεις έχουν ισχυρές, οξείες και χρόνιες βιολογικές δραστηριότητες, όπως προσδιορίζεται από μελέτες σε ζώα, σε βιολογικές δοκιμασίες σε πειράματα που έχουν γίνει σε χημικό περιβάλλον και σε ανθρώπινες επιδημιολογικές μελέτες. Αυτές οι ουσίες είναι παρούσες στην προμήθεια τροφίμων για ένα διακοπτόμενο διάστημα ή σε χρόνια βάση. Ρυθμιστικοί οργανισμοί ρυθμίζουν αναπόφευκτες προσμείξεις των τροφίμων, δηλαδή, εκείνη που δεν μπορούν να αποφευχθούν με καλές πρακτικές παρασκευής, η οποία συνήθως είναι η περίπτωση με μυκοτοξίνες. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, η FDA ρυθμίζει μυκοτοξίνες σύμφωνα με το άρθρο 402 ή 406 του Federal Food, Drug και Cosmetic Act (FDCA). Η FDA σταθμίζει τα οφέλη της διαθεσιμότητας των τροφίμων έναντι της πιθανότητας ότι μια πρόσμειξη στο εν λόγω τρόφιμο μπορεί να αποτελέσει κίνδυνο για την δημόσια υγεία (Bolger et al 1996). Ποσοτική εκτίμηση των κινδύνων για τις καρκινογόνες προσμείξεις και την αξιολόγηση της ασφάλειας για τους μη καρκινογόνους ρυπαντές είναι εργαλεία που χρησιμοποιούνται από το FDA για να εκτιμηθεί το ανώτατο όριο κινδύνου για τη δημόσια υγεία από το μολυσματικό παράγοντα.

Παγκόσμιες εγγυήσεις στη νομοθεσία για τα τρόφιμα για την υγεία των καταναλωτών και τα οικονομικά συμφέροντα των παραγωγών και των εμπόρων έχουν υπάρξει. Η νομοθεσία για τα τρόφιμα επιβάλλει συχνά τα όρια για τις συγκεντρώσεις συγκεκριμένων ρύπων, π.χ., μυκοτοξίνες, στα τρόφιμα. Οι επισκοπήσεις των κανονισμών για τις μυκοτοξίνες και οι λογικές τους έχουν δημοσιευθεί (Food and Agriculture Organization 1997, Gilbert 1991, Moy 1998, Stoloff et al 1991, Van Egmond 1989a,b 1991).

Η ανάγκη για νομοθεσία που επιβάλλει όρια στην συγκέντρωση μυκοτοξινών στα τρόφιμα και τις ζωοτροφές γενικά αναγνωρίζεται από τον βιομηχανοποιημένο κόσμο. Σχεδόν όλες οι χώρες με πλήρως αναπτυγμένες οικονομίες της αγοράς έχουν κανονισμούς. Σε αντίθεση, πολλές αναπτυσσόμενες χώρες όπου η επιβίωση είναι περισσότερο σημαντική δεν έχουν θεσπίσει κανονισμούς για τις μυκοτοξίνες, όπως φαίνεται παρακάτω στον πίνακα 4.2. Το πώς επιλέγονται τα όρια και για ποια εμπορεύματα εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως :

1. διαθεσιμότητα των τοξικολογικών δεδομένων,
2. διαθεσιμότητα των δεδομένων για την παρουσία μυκοτοξινών στα διάφορα προϊόντα,
3. ομοιογένεια της συγκέντρωσης σε μια παρτίδα,
4. διαθεσιμότητα των αναλυτικών μεθόδων,
5. νομοθεσία άλλων χωρών με τις οποίες υπάρχουν εμπορικές επαφές, και
6. ανάγκη για επαρκή εφοδιασμό τροφίμων.

Πίνακας 4.2

Επίπεδα δράσης του U.S. Food and Drug Administration για το σύνολο των αφλατοξινών στα τρόφιμα και τις ζωοτροφές (Πηγή: Mycotoxin cast report e-book, page 109, table 8.1)

Εμπόρευμα	Συγκέντρωση (ng/g)
Όλα τα προϊόντα, με εξαίρεση το γάλα, που καθορίζονται για τους	20

ανθρώπους	
Καλαμπόκι για μη ώριμα ζώα και βοοειδή γαλακτοπαραγωγής	20
Προϊόντα από καλαμπόκι και φιστίκια για εκτροφή βοοειδών, χοίρων, και ώριμων πουλερικών	100
Προϊόντα από καλαμπόκι και φιστίκια για φινίρισμα των χοίρων	200
Προϊόντα από καλαμπόκι και φιστίκια για φινίρισμα των βοοειδών	300
Γεύματα βαμβακόσπορου(ως συστατικό ζωοτροφών)	300
Όλες οι υπόλοιπες ζωοτροφές	20
Γάλα	0,5

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 – ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗΣ ΤΩΝ ΜΥΚΟΤΟΞΙΝΩΝ ΚΑΙ ΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΟΥΣ

5.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Αρκετά τρόφιμα και ζωοτροφές μπορούν να μολυνθούν με μυκοτοξίνες πριν την συγκομιδή, κατά τη διάρκεια μεταξύ συγκομιδής και αποξήρανσης, και κατά την αποθήκευση. Μερικές μυκοτοξίνες, πχ. αυτές που σχετίζονται με τον εργοτισμό, παράγονται αποκλειστικά στο χωράφι. Κάποιες άλλες μυκοτοξίνες μπορούν να μολύνουν τις καλλιέργειες πριν την συγκομιδή και, κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες, να προοδεύσουν από αυτό το σημείο. Οι αφλατοξίνες μπορούν να βρεθούν στο χωράφι πριν τη συγκομιδή, και η μόλυνση μπορεί να αυξηθεί κατά τη διάρκεια μετασυγκομιδιτικών δραστηριοτήτων, πχ. αποξήρανση σπαρτών, ή κατά την αποθήκευση. Παρ'όλα αυτά, οι αφλατοξίνες μπορούν επίσης να μολύνουν τα αποθηκευμένα προϊόντα κατά την απουσία μόλυνσης του χωραφιού. Κάποιοι άλλοι μύκητες που παράγουν μυκοτοξίνες μολύνουν τις καλλιέργειες με τον ίδιο τρόπο.

Πέρα από τις αφλατοξίνες, η μόλυνση των ζωοτροφών και των τροφίμων από μυκοτοξίνες είναι φτωχά μελετημένη. Αφλατοξίνες έχουν ανιχνευτεί στο γάλα, στο τυρί, στο καλαμπόκι, στα φιστίκια, στο σπόρο του βαμβακιού, στα βραζιλιάνικα φιστίκια, κέλυφη, αμύγδαλα, πεκάν, σύκα, μπαχαρικά και σε μια ποικιλία από άλλα φαγητά και ζωοτροφές. Παγκοσμίως, το καλαμπόκι, τα φιστίκια, και ο βαμβακόσπορος είναι τα προϊόντα που έχουν αναλυθεί πιο συχνά, τη στιγμή που τα κέλυφη, τα φιστίκια, τα βραζιλιάνικα φιστίκια, τα σύκα και τα μπαχαρικά μας ενδιαφέρουν επίσης. Το γάλα, τα αυγά και τα προϊόντα του κρέατος μολύνονται κάποιες φορές επειδή τα ζώα έχουν καταναλώσει ζωοτροφές μολυσμένες με αφλατοξίνες.

Η βιβλιογραφία που έχει δημοσιευτεί είναι γεμάτη με εκθέσεις του φυσικού φαινομένου των διαφόρων μυκοτοξινών σε τρόφιμα και ζωοτροφές. Η πρόθεση αυτής της ενότητας δεν είναι να συνοψίσει τις πληροφορίες αλλά να βάλει αυτές τις αναφορές του φυσικού φαινομένου και τις επιπτώσεις τους σε μια προοπτική.

Μετά την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας στο φαινόμενο των μυκοτοξινών, μπορούμε να καταλήξουμε σε διάφορα συμπεράσματα:

1. Πολυάριθμες εκθέσεις της μυκητιακής χλωρίδας σε τρόφιμα και ζωοτροφές τεκμηριώνουν τη συχνή παρουσία των πιθανά τοξιγενικών μυκήτων (Πίνακας 5.1). Αυτές οι αναφορές καθορίζουν τις ευνοϊκές ή περιοριστικές συνθήκες της ανάπτυξης των μυκήτων και του σχηματισμού των μυκοτοξινών.
2. Οι μυκοτοξίνες μπορούν να δημιουργηθούν σε μια ευρεία ποικιλία αγροτικών εμπορευμάτων (Πίνακας 2.1)
3. Η γνώση σχετικά με τη συχνότητα της μόλυνσης των τροφίμων και των ζωοτροφών ακόμα είναι περιορισμένη. Ωστόσο, είναι γνωστό ότι οι μυκοτοξίνες βρίσκουν το δρόμο τους μέσω των ανθρώπινων φαγητών (Πίνακας 5.2)
4. Οι άνθρωποι είναι λιγότερο εκτεθειμένοι στις μυκοτοξίνες στις ανεπτυγμένες χώρες απ' ότι στις αναπτυσσόμενες χώρες όπου οι πηγές τροφίμων είναι άφθονες, ο χειρισμός των τροφίμων και η τεχνολογία διατήρησης είναι πολύ

ανεπτυγμένη, και οι κανονισμοί και ο έλεγχος της ποιότητας των τροφίμων περιορίζει την έκθεση στις μυκοτοξίνες.

5. Ένα σημαντικό πρόβλημα με τις μυκοτοξίνες στις ανεπτυγμένες χώρες σχετίζεται με την υγεία των ζώων, διότι οι ζωοτροφές είναι πολύ πιθανόν να περιέχουν μυκοτοξίνες και έτσι η συμβαίνουν ζωικές μυκοτοξικώσεις αλλά είναι δύσκολο να διαγνωστούν εξαιτίας λεπτών ή μη ειδικών αντιδράσεων. Η κτηνιατρική βιβλιογραφία είναι μία πλούσια πηγή πληροφοριών σε γνωστά και πιθανά προβλήματα από μυκοτοξίνες.

Πίνακας 5.1

Περίληψη από επιλεγμένες αναφορές από δυνητικά τοξικές φόρμες από διάφορα τρόφιμα ή γεωργικά προϊόντα (Πηγή: Mycotoxin cast report e-book, 2003, page 37, Table 4.1)

Προϊόντα	Δυνητικά τοξικά γένη / είδη που βρέθηκαν		Πιθανές μυκοτοξίνες
Σιτάρι, αλεύρι, ψωμί, καλαμποκάλευρο, ποπκόρν	<i>Aspergillus flavus</i> <i>ochraceus versicolor</i> <i>Fusarium spp.</i>	<i>Penicillium citrinum</i> <i>citreo-viride cyclopium</i> <i>martensii patulum</i> <i>puberulum</i>	Αφλατοξίνες, ωχρατοξίνη Α, στεριγματοκυστίνη, πατουλίνη, πενικιλικό οξύ, δεοξυνιβαλενόλη, ζεαραλενόνη
Φιστίκια, πεκάν με κέλυφος	<i>Aspergillus flavus</i> <i>parasiticus</i> <i>ochraceus versicolor</i> <i>Fusarium spp.</i>	<i>Penicillium cyclopium</i> <i>expansum citrinum</i>	Αφλατοξίνες, ωχρατοξίνη Α, πατουλίνη, στεριγματοκυστίνη, τριχοθισίνες, κυτοχαλασίνες, ωοσπορεΐνη
Πίτες με κρέας, μαγειρεμένο κρέας, σκόνη κακάο, λυκίσκος, τυρί	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Penicillium verrucosum</i> <i>roqueforti patulum</i> <i>commune</i>	Αφλατοξίνες, ωχρατοξίνη Α, πατουλίνη, πενικιλικό οξύ
Γηρασμένο σαλάμι και λουκάνικα, χοιρομέρι εξοχής, μουχλιασμένα κρέατα, τυρί	<i>Aspergillus flavus</i> <i>ochraceus versicolor</i>	<i>Penicillium viridicatum</i> <i>cyclopium</i>	Αφλατοξίνες, ωχρατοξίνη Α, πατουλίνη, πενικιλικό οξύ, στεριγματοκυστίνη, πενιτρέμιο
Μαύρο και κόκκινο πιπέρι, μακαρόνια	<i>Aspergillus flavus</i> <i>ochraceus</i>	<i>Penicillium spp.</i>	Αφλατοξίνες, ωχρατοξίνη Α

Ξηρά φασόλια, σόγια, καλαμπόκι, σόργο, κριθάρι	<i>Aspergillus flavus</i> <i>ochraceus versicolor</i> <i>Alternaria</i>	<i>Penicillium cyclopium</i> <i>viridicatum citrinum</i> <i>expansum islandicum</i> <i>urticae</i>	Αφλατοξίνες, ωχρατοξίνη Α, στεριγματοκυστίνη, πενικιλικό οξύ, πατουλίνη, κιτρινίνη, γκρισεοφουλβίνη, αλτερναριόλη, αλτενουένη
Ψυγμένα και κατεψυγμένα αρτοσκευάσματα	<i>Aspergillus flavus</i> <i>versicolor</i>	<i>Penicillium cyclopium</i> <i>citrinum martensii</i> <i>olivino-viride palitans</i> <i>puberulum roqueforti</i> <i>urticae viridicatum</i>	Αφλατοξίνες, στεριγματοκυστίνη, ωχρατοξίνη Α, πατουλίνη, πενικιλικό οξύ, κιτρινίνη, πενιτρέμιο
Μουχλιασμένα τρόφιμα της αγοράς	<i>Penicillium cyclopium</i> <i>Fusarium oxysporum solani</i>	<i>Aspergillus spp.</i>	Πενικιλικό οξύ, τριχοθισίνες, αφλατοξίνες, πιθανότατα άλλες τοξίνες <i>Aspergillus</i> και <i>Penicillium</i>
Τρόφιμα αποθηκευμένα στο σπίτι, τοποθετημένα ή όχι στο ψυγείο	<i>Penicillium spp.</i>	<i>Aspergillus spp.</i>	Αφλατοξίνες, κοζικό οξύ, ωχρατοξίνη Α, πενιτρέμιο, πατουλίνη, πενικιλικό οξύ
Μήλα και προϊόντα τους	<i>Penicillium expansum</i>		Πατουλίνη

Πίνακας 5.2

Επιλεγμένα παραδείγματα από φυσική εμφάνιση των μυκοτοξινών σε επεξεργασμένα τρόφιμα (Πηγή: Mycotoxin cast report e-book, 2003, page 40, table 4.3)

Μυκοτοξίνη	Τρόφιμο	Χώρα	Μέσα επίπεδα από μολυσμένα δείγματα (μg/kg)	Επίπτωση	Αναφορ

Αφλατοξίνη	Φιστικοβούτυρο	Η.Π.Α.	14	17/104	Wood 1989
Αφλατοξίνη	Φιστικοβούτυρο	Ηνωμένο Βασίλειο	-	-	Jeline 1987
Αφλατοξίνη	Φιστικοβούτυρο	Φιλιπίνες	213	145/149	Diene 1981
Αφλατοξίνη	Γλυκά από φιστίκι	Φιλιπίνες	38	47/60	Diene 1981
Αφλατοξίνη	Γλυκά από φιστίκι	Η.Π.Α.(εισαγόμενα)	10	10/18	Wood 1989
Αφλατοξίνη	Ψημένα φιστίκια με κέλυφος	Η.Π.Α.	68	6/55	Wood 1989
Αφλατοξίνη	Καλαμπόκι	Η.Π.Α.	30	49/105	Jeline 1987
Αφλατοξίνη	Καλαμπόκι	Η.Π.Α.	20	12/28	Jeline 1987
Αφλατοξίνη	Καλαμπόκι	Φιλιπίνες	110	95/98	Diene 1981
Αφλατοξίνη	Προϊόντα από καλαμπόκι	Φιλιπίνες	32	22/32	Diene 1981
Αφλατοξίνη	Σπαγγέτι	Καναδάς	13	1	van Walbe et al.
Αφλατοξίνη	Αλεύρι σίτου	Γαλλία	0,25-150	20/100	Lafon and Lafon 1970
Αφλατοξίνη	Γάλα	Γερμανία	-	79/149	Kiern et al.
Αφλατοξίνη	Αποξηραμένο μη λιπαρό γάλα	Γερμανία	2,0	-	Polzh 1977
Αφλατοξίνη	Τυρί τσένταρ	Η.Π.Α., Γερμανία	-	-	Bulle 1981

Δεοξυνιβαλενόλη	Γεύμα καλαμποκιού	Καναδάς	110	35	Scott 1984
Δεοξυνιβαλενόλη	Καλαμποκάλευρο	Καναδάς	180	27	Scott 1984
Δεοξυνιβαλενόλη	Ποπκορν	Ιαπωνία (εισαγόμενα)	84,000	10/14	Tanaka et al. 1985
Δεοξυνιβαλενόλη	Αλεύρι σίτου	Ιαπωνία	38,000	26/36	Tanaka et al. 1985
Δεοξυνιβαλενόλη	Αλεύρι σίτου	Καναδάς	400	43	Scott 1984
Δεοξυνιβαλενόλη	Πουρο σιταριού	Καναδάς	170	14	Scott 1984
Δεοξυνιβαλενόλη	Μπισκότα	Καναδάς	120	35	Scott 1984
Δεοξυνιβαλενόλη	Ψωμί	Καναδάς	80	21	Scott 1984
Δεοξυνιβαλενόλη	Κράκερς	Καναδάς	270	20	Scott 1984
Δεοξυνιβαλενόλη	Δημητριακά πρωινού από σιτάρι	Καναδάς, Ολλανδία	86	36	Scott 1984; Schothor and Jeke 2001
Δεοξυνιβαλενόλη	Βρεφικά δημητριακά	Καναδάς	43	30	Scott 1984
Ωχρατοξίνη Α	Νεφρό χοίρου	Δανία	>25	9,8%	Leistner 1984
Ωχρατοξίνη Α	Νεφρό χοίρου	Δυτική Γερμανία	<3	18,1%	Leistner 1984
Ωχρατοξίνη Α	Αίμα χοίρου	Δυτική Γερμανία	<3	15,3%	Leistner 1984
Πατουλίνη	Χυμός μήλου	Καναδάς	1000	-	Scott et al. 1972

Πατουλίνη	Αχλάδια και πυρηνόκαρπα	Η.Π.Α.	-	-	Bucha et al.
Πενιτρέμιο Α	Τυρί κρέμα	Η.Π.Α.	-	1 δείγμα	Richa et al. 19
Στεριγματοκυστίνη	Τυρί γκούντα	Ολλανδία	5-600	9/39	North et al. 1

Στις Ηνωμένες Πολιτείες, το U.S. Food and Drug Administration (FDA) αναλύει ωμά αγροτικά προϊόντα για επιλεγμένες μυκοτοξίνες μέσω ενός επίσημου προγράμματος συμμόρφωσης και διερευνητικές δραστηριότητες επιτήρησης (Wood 1991; Wood and Trucksess 1998). Οι στόχοι του προγράμματος συμμόρφωσης είναι (1) να συλλεχθούν και να αναλυθούν δείγματα τροφίμων και ζωοτροφών για την εξακρίβωση της συμμόρφωσης με τα κανονικά επίπεδα του FDA. (2) Να αφαιρεθούν από το διακρατικό εμπόριο τα τρόφιμα που περιέχουν ανεπίτρεπτα επίπεδα αφλατοξινών. Και (3) καθορισμός της ευαισθητοποίησης των πιθανών προβλημάτων και των μέτρων ελέγχου που χρησιμοποιούνται από τους διανομείς, κατασκευαστές και μεταποιητές. Σε αντίθεση, ο ρόλος του διερευνητικού προγράμματος επιτήρησης είναι να συλλέξει έκθεση ανασκόπησης δεδομένων για μία συγκεκριμένη μυκοτοξίνη, για να χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με τα τοξικολογικά δεδομένα. Η παρακολούθηση στοχεύει στις περιφέρειες και τα εμπορεύματα που ιστορικά έχουν υψηλά επίπεδα μόλυνσης ή ως απάντηση σε νέες πληροφορίες σε προβλήματα μόλυνσης σε περιφέρειες ή σε προϊόντα που δεν επηρεάζονται.

Οι πίνακες 5.3 και 4.5 συνοψίζουν τα δεδομένα συμμόρφωσης της FDA για φιστίκια και καλαμπόκι, αντίστοιχα, από το 1987 έως το 1998. Σε πάνω από 95% παρτίδες φιστικιού, η μέση περιεκτικότητα σε αφλατοξίνες είναι αρκετά λιγότερη από τα 20 μέρη ανά δισεκατομμύριο (ppb) της κατευθυντήριας γραμμής της FDA (National Peanut Council 1988).

Πίνακας 5.3

Προϊόντα φιστικιών που εξετάστηκαν για αφλατοξίνες και τα επίπεδά τους (Πηγή: Mycotoxin cast report e-book 2003, page 42, table 4.4)

Έτος	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997
Φιστικοβούτυρο											
Αριθμός εξεταζόμενων	146	372	158	105	116	82	64	77	70	62	
Αριθμός θετικών	20	7	1	25	40	18	2	23	29	15	
% ποσοστό θετικών	14	2	1	24	34	22	3	30	41	24	

Ελάχιστο	3	3	17	1	1	1	4	2	1	2	3
Μέγιστο	181	37	17	42	14	9	5	15	18	13	10
Μέσος	26,45	18,86	17,00	10,04	4,98	2,56	4,50	5,35	5,90	6,47	5,7
Διάμεσος	12	18	17	5	3,5	1	4,5	5	6	6	5
Αποφλοιωμένα και καβουρδισμένα											
Αριθμός εξεταζόμενων	63	357	243	95	73	89	69	79	82	65	58
Αριθμός θετικών	2	9	0	20	12	10	2	4	6	0	2
% ποσοστό θετικών	3	3	0	21	16	11	3	5	7	0	3
Ελάχιστο	117	5	0	1	1	1	1	4	2	0	11
Μέγιστο	134	34	0	250	34	31	2	44	5	0	13
Μέσος	125,5	14,33	-	30,85	8,67	10,80	1,50	18,25	2,83	-	12,0
Διάμεσος	125,5	12	-	9	5,5	6,5	1,5	12,5	2,5	-	12
Στο κέλυφος και καβουρδισμένα											
Αριθμός εξεταζόμενων	15	80	52	14	16	19	13	19	5	14	20
Αριθμός θετικών	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
% ποσοστό θετικών	0	1	0	7	0	0	0	0	0	0	0
Ελάχιστο	0	6	0	12	0	0	0	0	0	0	0
Μέγιστο	0	6	0	12	0	0	0	0	0	0	0
Μέσος	-	6	-	12	-	-	-	-	-	-	-
Διάμεσος	-	6	-	12	-	-	-	-	-	-	-

Πίνακας 5.4

Εμφάνιση των αφλατοξινών σε τρόφιμα και ζωοτροφές που εισήχθησαν στις Ηνωμένες Πολιτείες την περίοδο 1987-1997 (Πηγή: Mycotoxin cast report e-book, 2003, page 43, table 4.5)

Εμπόρευμα	Αριθμός δειγμάτων που εξετάστηκαν	Αριθμός δειγμάτων που μολύνθηκαν	No. > 20 ng/g	Μέγιστο (ng/g)
Φαγητό για ανθρώπινη κατανάλωση				
Αμύγδαλα	85	2	1	46
Βερίκοκα/καρποί	49	7	7	310
Βραζιλιάνικοι ξηροί καρποί	158	29	16	1118
Ανάμεικτα ζαχαρωτά	363	50	22	555
Μπισκότα/κράκερ	177	27	14	77
Καλαμποκάλευρο	172	45	10	100
Διάφοροι εδώδιμοι σπόροι	144	5	3	318
Σύκα	156	7	4	174
Φουντούκια	170	7	4	351
Σπόροι λωτών για σπορά	41	4	1	23
Αμυγδαλωτά	38	18	12	101
Σπόροι πεπονιού	252	46	15	276
Μοσχοκάρυδο	44	9	5	37
Διάφοροι ξηροί καρποί	316	22	8	60
Φιστίκια	329	70	25	901
Προϊόντα φιστικιών	434	106	46	422

Πεκάν	141	8	6	725
Φιστίκια Αιγίνης	107	20	14	442
Σπόροι κολοκυθιάς	262	28	14	150
Σπόροι σησαμιού	432	6	1	41
Φαγητά σνακ	128	17	5	90
Ηλιόσποροι	20	3	2	125
Ζωοτροφές				
Καλαμπόκι	1320	5	1	231
Βαμβακόσπορος	192	3	3	154

Έχουμε περιορισμένες πληροφορίες διαθέσιμες για τη φυσική παρουσία των μυκοτοξινών σε επεξεργασμένα τρόφιμα (Jelinek et al. 1989; Scott 1984) και οι περισσότερες αφορούν τις αφλατοξίνες. Υπάρχει έλλειψη πληροφόρησης για τις τριχοθιίνες, τη ζεαραλενόνη και την κιτρινίνη. Παρ'όλα αυτά, υπάρχουν σημαντικά περισσότερα δεδομένα διαθέσιμα για την ωχρατοξίνη Α (European Commission 1997). Εξαιτίας της περιορισμένης γνώσης της παρουσίας της ωχρατοξίνης Α, δεν φαίνεται να είναι τόσο σοβαρό πρόβλημα για τις ΗΠΑ, όσο για κάποιες ευρωπαϊκές χώρες.

Επειδή αναπτύσσεται σε κλίμα με πολυετή μόλυνση από μυκοτοξίνες και χρησιμεύει ως ένα βασικό είδος διατροφής σε αρκετές χώρες, το καλαμπόκι πιθανόν είναι το εμπόρευμα με τη μεγαλύτερη παγκόσμια ανησυχία. Διαδικασίες που χρησιμοποιούνται για την επεξεργασία καλαμποκιού βοηθούν να μειωθεί η μόλυνση από αφλατοξίνες σε προκύπτοντα προϊόντα διατροφής. Το καλαμπόκι μπορεί να μολυνθεί με τοξίνες *Fusarium* και φαγητά που παράγονται από καλαμπόκι έχουν βρεθεί να είναι μολυσμένα με δεοξυνιβαλενόλη (Davis and Diener 1987; Trucksess et al. 1986) και φουμονισίνες (Dutton 1996; Kuiper-Goodman et al. 1996; Shephard et al. 1996). Η μόλυνση του καλαμποκιού και των προϊόντων του με DON έχει συσχετισθεί με δροσερές, υγρές συνθήκες πριν από τη συγκομιδή, κυρίως κατά τη διάρκεια της ανθοφορίας.

Η μόλυνση με DON στο σιτάρι μπορεί να εμφανιστεί όταν οι προ της συγκομιδής καιρικές συνθήκες ευνοούν την ανάπτυξη της ψώρας στο σιτάρι. Τα τρόφιμα που είναι επεξεργασμένα και βασισμένα στο σιτάρι και φαίνονται να είναι μολυσμένα με DON περιλαμβάνουν αλεύρι, ψωμί, σνακς, βρεφικές τροφές, δημητριακά πρωινού, πίτουρο και φύτρο σιταριού (Abouzied et al. 1991; Jelinek et al. 1989; Trucksess et al. 1986). Η κιτρινίνη και η ωχρατοξίνη βρέθηκαν σε μouxλιασμένο ψωμί (Davis and Diener 1987; Visconti and Bottalico 1983). Η ωχρατοξίνη Α βρέθηκε σε ψημένο καφέ και διάφορους τύπους κρασιού και μύρας.

Σε φρούτα και λαχανικά, οι μυκοτοξίνες βρέθηκαν να εμφανίζονται με φυσικό τρόπο πιο συχνά σε μήλα, τομάτες και τα επεξεργασμένα προϊόντα τους. Οι τοξίνες *Alternaria* - περιλαμβανομένων τενοουζονικό οξύ, αλτερναριόλη, και αλτερναριολικό

μέθυλο αιθέρα - βρέθηκαν σε μήλα, καρότα και προϊόντα τομάτας (Jelinek 1987). Η πατουλίνη είναι ένας συχνός μολυντής χυμού μήλου, πουρέ και ζυμωμένου μηλίτη (Stoloff 1975).

Καλαμπόκι μολυσμένο με αφλατοξίνες και βαμβακόσπορος σε μερίδες γαλακτοκομικών προϊόντων έχουν ως αποτέλεσμα μολυσμένο γάλα και προϊόντων του με αφλατοξίνη Μ₁, συμπεριλαμβανόμενου άπαχου ξηρού γάλακτος, τυριού και γιαουρτιού. Η φυσική παρουσία των μυκοτοξινών στα τυριά, το αποτέλεσμα της ανάπτυξης των μυκήτων, έχει αναφερθεί. Η στεριγματοκυστίνη έχει ανιχνευτεί στην κρούστα σκληρού τυριού (Northolt et al. 1980) και οι μεταβολίτες των *P.roqueforti* και *R.caseicola* σε τυριά μπλε και τύπου Καμαμπέρ έχουν αναφερθεί (Bullerman 1981; Leistner 1984; Scott 1981).

Οι μυκοτοξίνες και/ή οι μεταβολίτες τους σε κρέατα και προϊόντα τους μπορούν να εμφανιστούν ως κατάλοιπα της κατανάλωσης των τοξινών σε μολυσμένες ζωοτροφές ως αποτέλεσμα μυκητιακής ανάπτυξης σε συγκεκριμένα προϊόντα κρέατος πχ. ηλικιωμένα χοιρομέρια και παστά λουκάνικα (Pestka 1995). Η ωχρατοξίνη Α, η μυκοτοξίνη που βρίσκεται πιο συχνά ως κατάλοιπο σε χοιρινό και κρέας πουλερικών, προκαλεί τη μεγαλύτερη ανησυχία. Η ωχρατοξίνη Α έχει ανιχνευτεί σε συχνότητα εμφάνισης 84% στο αίμα των χοιρινών που αναπτόχθηκαν και σφάχθηκαν στο δυτικό Καναδά αλλά σε μετρήσιμα επίπεδα σε λιγότερο από 5% από τα δείγματα. Η ωχρατοξίνη Α έχει ανιχνευθεί σε αίμα, νεφρά, συκώτι και μυϊκό ιστό από σφαγμένους χοίρους σε διάφορες ευρωπαϊκές χώρες (European Commission 1997; Leistner 1984; van Egmond and Speijers 1994). Η ωχρατοξίνη Α έχει ανιχνευτεί σε εμφανώς φυσιολογικούς νεφρούς χοίρων που έχουν περάσει κρεατική επιθεώρηση και αποκτήθηκαν από κρεοπωλεία στη Δυτική Γερμανία (Leistner 1984).

Ενώ τα υπολλείματα των αφλατοξινών μπορούν να αποδεικνύονται πειραματικά σε ζωικά όργανα και ιστούς, αυτές οι μυκοτοξίνες μεταβολικά μειώθηκαν αρκετά γρήγορα και δεν συσσωρεύονται σε ανησυχητικές συγκεντρώσεις για την ανθρώπινη υγεία (Pestka 1995). Οι Prelusky et al. (1996a) κατέδειξαν ότι χαμηλό επίπεδο συσσώρευσης φουμονισίνης Β₁ συνέβη στο ήπαρ και τα νεφρά σε χοίρους που τράφηκαν με ραδιενεργή φουμονισίνη Β₁. Γενικά, η μεταφορά του DON και των άλλων τριχοθισινών όπως και της ζεαραλενόνης από τις ζωοτροφές στο γάλα, το κρέας ή τα αυγά από τρόφιμα ζώων είναι αμελητέα (Pestka 1995).

Τα λουκάνικα ευρωπαϊκού τύπου και παστά ζαμπόν εξοχής συχνά έχουν σκόπιμη ή συμπτωματική ανάπτυξη των μυκήτων στις εξωτερικές τους επιφάνειες. Τα περισσότερα φαίνεται πως είναι είδη από *Penicillium*, κάποια από τα οποία είναι ικανά να παράγουν μυκοτοξίνες. Ο Leistner (1984) στη Γερμανία βρήκε πατουλίνη, πενικιλλικό οξύ, ωχρατοξίνη Α και κυκλοπιαζονικό οξύ να είναι οι επικρατέστερες μυκοτοξίνες που παρήχθησαν από αυτόν το μύκητα. Η πατουλίνη και το πενικιλλικό οξύ δεν γίνεται να ανιχνευθούν στο κρέας, εξαιτίας της αλληλεπίδρασής τους με σουλφυδρυλικές ενώσεις στον ιστό.

Η βάση γνώσεων που συσσωρεύονται από την έρευνα μυκοτοξινών που ισχύει για τις στρατηγικές διαχείρισης είναι ογκώδης (Sinha and Bhatnagar 1998). Μια εξαιρετικά μακρά λίστα είναι διαθέσιμη στη βιβλιογραφία, μόνο ένα τμήμα του οποίου αναφέρεται στην παρούσα δημοσίευση. Η κατανόηση των μυκήτων οικολογίας θα βοηθήσει σημαντικά στην αντιμετώπιση των προβλημάτων των μυκοτοξινών. Η βιογεωγραφία των διαφόρων μυκήτων θα δείξει τη διανομή τους στη φύση και θα επιτρέψει την πρόβλεψη της εμφάνισής τους. Αυτό, σε συνδυασμό με τα δεδομένα ταξινομήσεως, θα μπορούσε να αποτελέσει ένα ισχυρό εργαλείο στην ανίχνευση μυκοτοξινών και στη διαχείριση (Backhouse et al 2001). Πολλές από τις πληροφορίες, ωστόσο, υποστηρίζουν τα βασικά στοιχεία των αρχών του HACCP

(Ανάλυση Κινδύνων Κρίσιμων Σημείων Ελέγχου), το πρόγραμμα για τη διαχείριση των μυκοτοξινών, όπως περιγράφεται από τον Lopez-Garcia (2001).

Αυτά τα στοιχεία έχουν ως εξής:

1. Εμφάνιση. Αυτό περιλαμβάνει την έρευνα, αναλυτικών και διαγνωστικών δεδομένων για τα βασικά προϊόντα που ενδεχομένως έχουν μολυνθεί από μυκοτοξίνες. Συχνά περιλαμβάνονται οι αναγκαίες προϋποθέσεις για τη δεδομένη μυκοτοξίνη (-ες) να είναι παρόντες, π.χ. καιρικές συνθήκες και άλλες περιβαλλοντικές συνθήκες που ενισχύουν την πιθανότητα εμφάνισης τοξινών.

2. Πρόληψη. Δεδομένου ότι οι πληροφορίες που συλλέγονται για την εμφάνιση, άλλα δεδομένα δεδουλευμένων σχετικά με τα μέσα για την πρόληψη της εμφάνισης ή τουλάχιστον τα επίπεδα μόλυνσης της μείωσης κάτω από αυτές της ανησυχίας.

3. Ανίχνευση. Μέσα από τη διεπιστημονική προσέγγιση, η τεχνολογική πρόοδος έχει αυξημένες πιθανότητες για την ανίχνευση μυκοτοξινών σε διάφορους φορείς. Για να αποφευχθεί η μόλυνση των ζωοτροφών και των τροφίμων, πρέπει να είμαστε σε θέση να ανιχνεύσουμε μυκοτοξίνες, όπου και αν εμφανίζονται.

4. Αποτοξίνωση. Διάφορες ολοκληρωμένες στρατηγικές για αποτοξίνωση υφίστανται είτε για την εξάλειψη ή τη μείωση της συγκέντρωσης κάποιων μυκοτοξινών από μία δεδομένη μήτρα ή τα μη τοξικά ή τα μη διαθέσιμα για απορρόφηση.

5.2 ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΠΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Τεράστια πρόοδος έχει γίνει τα τελευταία δέκα χρόνια στην κατανόηση των παραγόντων που επηρεάζουν την παραγωγή μυκοτοξινών και την ανίχνευση και διάγνυσή τους. Ωστόσο, οι μυκοτοξίνες συνεχίζουν να αποτελούν απειλή για την ασφάλεια των τροφίμων. Οι αλλαγές στις γεωργικές πρακτικές παραγωγής και επεξεργασίας τροφίμων, μαζί με τις παγκόσμιες αλλαγές στο περιβάλλον και τη δημόσια πολιτική, μας προκαλούν την ανάπτυξη και τελειοποίηση των στρατηγικών και τεχνολογιών για την εξασφάλιση ασφαλών τροφίμων και ενός υγιούς περιβάλλοντος. Η αυξανόμενη παγκοσμιοποίηση του εμπορίου προσθέτει μια νέα διάσταση στη σημασία των μυκοτοξινών όχι μόνο ως τοξίνες, αλλά και ως εμπόδια για το ελεύθερο εμπόριο μεταξύ των χωρών. Ένα σημαντικό αποτέλεσμα των μυκοτοξινών είναι η τεράστια αύξησή τους που σχετίζεται με προσφυγή στα δικαστήρια κατά τα τελευταία πέντε έως επτά έτη. Παρά το γεγονός ότι ορισμένες από τις αγωγές είναι αβάσιμες, πολλές δεν είναι, και έχει υπάρξει μια σημαντική αύξηση των απαιτήσεων των ασφαλιστικών και δικαστικών λόγω μυκοτοξινών. Όλα τα παραπάνω ευρήματα έχουν βοηθήσει στην πρόληψη και την αντιμετώπιση των μυκοτοξινών.

Υποθέτοντας ότι οι αμερόληπτες διαδικασίες δοκιμής που χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση μυκοτοξίνης, τυχαίες μεταβολές εξακολουθούν να υφίσταται μεταξύ επαναληπτικών εξετάσεων μυκοτοξινών στην ίδια μεγάλη μερίδα. Για παράδειγμα, τα

10 αποτελέσματα των δοκιμών αναπαράγονται με αφλατοξίνη από κάθε ένα από 12 παρτίδες μολυσμένου κέλυφους φυστικιού (Πίνακας 5.5) (Whitaker et al 1972). Κάθε δοκιμή έγινε με μετατροπή ενός δείγματος 5.45 kg σε μια υπο-δειγματοληψία μύλου που αναπτύχθηκε από την Υπηρεσία Γεωργικής Έρευνας του USDA (ARS) (Dickens and Satterwhite 1969, Dickens et al 1975), η εξαγωγή αφλατοξίνης από 280g επιμέρους δειγμάτων με τη μέθοδο AOAC II (Association of Official Analytical Chemists 1990) και τον ποσοτικό προσδιορισμό των αφλατοξινών πυκνομετρικώς με TLC (Association of Official Analytical Chemists 1990). Τα αποτελέσματα της δοκιμής αφλατοξίνης από κάθε παρτίδα κατατάσσονται από χαμηλό σε υψηλό, για να αποδείξουν πολλά σημαντικά χαρακτηριστικά για την αναπαραγωγή των αποτελεσμάτων των δοκιμών αφλατοξίνης από μια μολυσμένη παρτίδα. Άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι τα αποτελέσματα των δοκιμών αφλατοξίνης από άλλα εμπορεύματα συμπεριφέρονται με τρόπο παρόμοιο με εκείνα για τα φυστίκια (Schatzki 1995, Velasco et al 1975, Whitaker et al 1979b).

Πίνακας 5.5

Αναπαραγόμενα αποτελέσματα δοκιμών για δέκα δείγματα 5,45 kg για κάθε ένα από δώδεκα μολυσμένες παρτίδες από φιστίκια με κέλυφος (Πηγή: Mycotoxin cast report e-book 2003, page 97, table 7.2)

Αριθμός παρτίδας	Παρατηρούμενη συγκέντρωση αφλατοξίνης (ppb)										Μέσος (ppb)	Τυπική απόκλιση	Συντελεστής διακύμανσης (%)
1	0	0	0	0	0	0	0	6	10	14	3,0	5,2	172,9
2	0	0	0	0	2	4	8	14	28	43	9,9	14,7	148,0
3	0	0	0	0	0	0	0	16	40	69	12,5	23,7	189,6
4	0	0	0	0	0	3	8	26	52	70	15,9	25,4	160,0
5	0	0	0	0	3	13	19	41	43	69	18,8	24,3	129,0
6	0	0	3	12	12	12	12	25	63	103	24,2	33,1	136,7
7	0	0	3	4	4	5	15	60	106	165	36,2	57,0	157,5
8	0	0	32	32	34	37	55	67	77	134	46,8	39,5	84,5
9	0	3	5	19	32	49	87	91	127	168	58,1	57,9	99,7
10	4	7	40	41	55	60	75	95	99	230	70,6	64,6	91,5
11	0	4	6	17	36	80	133	148	192	216	83,2	82,9	99,6
12	18	50	53	72	82	108	112	127	182	191	99,5	56,3	56,6

Πρώτον, το ευρύ φάσμα μεταξύ των αποτελεσμάτων των δοκιμών από την ίδια παρτίδα αντανακλά την μεγάλη μεταβλητότητα που σχετίζεται με την εκτίμηση της αληθινής περιεκτικότητας σε μυκοτοξίνες μιας χύμα παρτίδας. Στον Πίνακα 7.2, η μεταβλητότητα περιγράφεται τόσο από την τυπική απόκλιση όσο και από τον συντελεστή μεταβλητότητας (CV). Το μέγιστο αποτέλεσμα της δοκιμής μπορεί να είναι όσο πέντε φορές η συγκέντρωση της παρτίδας (ο μέσος όρος των 10 αποτελεσμάτων των δοκιμών είναι η καλύτερη εκτίμηση της συγκέντρωσης παρτίδας). Δεύτερον, η ποσότητα της διακύμανσης μεταξύ των 10 αποτελεσμάτων δοκιμής φαίνεται να είναι μια συνάρτηση της συγκέντρωσης της παρτίδας. Καθώς αυξάνει η συγκέντρωση της παρτίδας, η τυπική απόκλιση μεταξύ των αποτελεσμάτων των δοκιμών αυξάνεται, αλλά το CV (τυπική απόκλιση) μειώνεται. Τρίτον, η κατανομή των 10 αποτελεσμάτων της δοκιμής για κάθε παρτίδα στον Πίνακα 7.2 δεν είναι πάντα συμμετρική σχετικά με την συγκέντρωση της παρτίδας (Whitaker et al 1972). Οι κατανομές είναι θετικά ασύμμετρες, πράγμα που σημαίνει ότι περισσότερο από το ήμισυ των αποτελεσμάτων της δοκιμής του δείγματος είναι κάτω από τη συγκέντρωση παρτίδας. Ωστόσο, η κατανομή γίνεται πιο συμμετρική καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση της παρτίδας. Αυτή η λοξότητα μπορεί να παρατηρηθεί μετρώντας τον αριθμό των αποτελεσμάτων των δοκιμών πάνω και κάτω από κάθε συγκέντρωση παρτίδας (Πίνακας 7.2). Ως συνέπεια αυτής της ασύμμετρης κατανομής, αν ένα μόνο δείγμα δοκιμάζεται από τη μολυσμένη παρτίδα, είναι υψηλότερο από μια πιθανότητα 50%, το αποτέλεσμα του δείγματος θα είναι χαμηλότερο από την πραγματική συγκέντρωση παρτίδας. Η ασυμμετρία είναι μεγαλύτερη για τα μικρά μεγέθη των δειγμάτων, έτσι η κατανομή γίνεται πιο συμμετρική όσο αυξάνεται το μέγεθος του δείγματος (Remington and Schrok 1970).

Μελέτες από τους Hart and Schabénberger (1998) και το U.S. Department of Agriculture/GIPSA (1983) που σχετίζονται με τον έλεγχο στο σιτάρι και κριθάρι για DON ανέφεραν ότι το βήμα δειγματοληψίας για αυτές τις μυκοτοξίνες δεν έχουν τόσο μεγάλη πηγή μεταβλητότητας όσο με την αφλατοξίνη και τη φουμονισίνη. Δεν είναι σαφές γιατί δεν είναι διαφορετική από την αφλατοξίνη. Ωστόσο, η συγκέντρωση του DON είναι περίπου 1.000 φορές μεγαλύτερη από ό, τι συνήθως αναφέρεται για την αφλατοξίνη. Αυτό υποδηλώνει ότι μεγαλύτερο ποσοστό των κόκκων στην παρτίδα είναι μολυσμένοι με DON από ότι στην περίπτωση για την αφλατοξίνη, που οδηγεί σε χαμηλότερη μεταβλητότητα δειγματοληψίας.

Μέθοδοι εκτός από την αύξηση του μεγέθους του δείγματος υπάρχουν για να μειωθεί η μεταβλητότητα που συνδέεται με τη δοκιμή ενός εμπορεύματος για την αφλατοξίνη. Τα διάφορα έξοδα που συνδέονται με κάθε μέθοδο, ώστε η προσεκτική μελέτη να καθορίζει τη διαδικασία δοκιμών που θα παρέχει την ελάχιστη μεταβλητότητα για ένα δεδομένο κόστος. Η βέλτιστη ισορροπία στο μέγεθος του δείγματος, ο βαθμός του θρυμματισμού, το μέγεθος του υποδείγματος, τον αριθμό και τον τύπο της ανάλυσης θα ποικίλει ανάλογα με το κόστος που εμπλέκονται με κάθε βήμα της διαδικασίας της δοκιμής των μυκοτοξινών. Σε γενικές γραμμές, το κόστος των σωστών διαδικασιών της δοκιμής των μυκοτοξινών θα αυξηθεί καθώς η συνολική διακύμανση θα μειωθεί.

Οι μέθοδοι αυτοί έχουν αναπτυχθεί για την πρόβλεψη του πωλητή και των κινδύνων του αγοραστή, ο συνολικός αριθμός των δεκτών παρτίδων και αυτών που απορρίπτονται, η ποσότητα των μυκοτοξινών στα αποδεχθέντα και απορριφθέντα και τα έξοδα που συνδέονται με τα προγράμματα ελέγχου μυκοτοξινών για αρκετά βασικά προϊόντα (Coker et al 1995, Food and Agriculture Organization 1993, Whitaker 1977, Whitaker et al 1974a, 1979b). Αυτές οι μέθοδοι έχουν χρησιμοποιηθεί από το USDA/AMS και τη βιομηχανία φυσιτικού για να σχεδιαστούν

προγράμματα δοκιμών αφλατοξίνης για φιστίκια με κέλυφος (Whitaker και Dickens 1979) και του FAO (1993) για το σχεδιασμό του σχεδίου της αφλατοξίνης για το καλαμπόκι και τα φιστίκια. Οι ρυθμιστικοί οργανισμοί έχουν επίσης τις μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση των υφιστάμενων προγραμμάτων ελέγχου αφλατοξίνης για φιστίκια (Whitaker et al 1995).

Για κάθε κατασκευαστή που χρησιμοποιεί ένα αγαθό ή πόρο μολυσμένο με μυκοτοξίνες, μια ποιότητα αξιοπιστίας των μυκοτοξινών (QA) θα πρέπει να ενσωματωθεί στο συνολικό πρόγραμμα διασφάλισης ποιότητας. Ένα τέτοιο πρόγραμμα για τις μυκοτοξίνες χρησιμοποιεί πληροφορίες από τα βασικά στοιχεία που αναφέρονται παραπάνω για να αναπτυχθεί ένα καλό πρόγραμμα διασφάλισης ποιότητας. Οι προφανείς λόγοι για να συμπεριλάβει αυτές τις αρχές QA για τις μυκοτοξίνες στο συνολικό πρόγραμμα είναι :

1. διατήρηση της ακεραιότητας του προϊόντος / της ποιότητας,
2. ελαχιστοποίηση των πιθανών διαφορών και
3. συμμόρφωση με τους κανονισμούς.

Οι κατασκευαστές των γεωργικών διαγνώσεων έχουν αναγνωρίσει την ανάγκη για ταχεία εξέταση των μεθόδων για τις μυκοτοξίνες σε τρόφιμα. Πολλά εμπορικά προϊόντα είναι τώρα διαθέσιμα για το σκοπό αυτό. Οι ταχείες μέθοδοι για την ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό σε γενικές γραμμές κατατάσσονται σε δύο ομάδες :

- σε αυτούς που βασίζονται σε αντισώματα για την ανίχνευση μυκοτοξινών (ανοσολογικές δοκιμασίες) και
- εκείνων που δεν το κάνουν.

5.3 ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Οι ανοσολογικές μέθοδοι διαφέρουν ανάλογα με το πώς το αντίσωμα χρησιμοποιείται στη δοκιμασία. Μια ειδική κατηγορία SPE χρησιμοποιεί αντισώματα που συνδέονται με ένα υπόστρωμα στερεάς φάσης για την απομόνωση μυκοτοξινών από την μήτρα των τροφίμων. Οι εκλουσθέντες τοξίνες παραγοντοποιούνται και στη συνέχεια ανιχνεύονται με ευαίσθητα φθοριόμετρα. Οι μυκοτοξίνες για τις οποίες οι στήλες ανοσοσυγγένειας είναι διαθέσιμες περιλαμβάνουν αφλατοξίνες, ωχρατοξίνες, φουμονισίνες, ζεαραλενόνη και DON. Πληροφορίες σχετικά με στήλες ανοσοσυνάφειας μυκοτοξίνες αναθεωρήθηκαν πρόσφατα από τους Scott and Trucksess (1997). Εκτός από τις στήλες ανοσοσυγγένειας, οι κατασκευαστές έχουν βρει τρόπους για να απομονώσουν τάχιστα μυκοτοξίνες χρησιμοποιώντας τροποποιημένες μορφές των παραδοσιακών στηλών SPE, π.χ. εκείνες που διατηρούν ακαθαρσίες και επιτρέπουν στον αναλύτη να περάσει. Όπως και με τις στήλες ανοσοσυγγένειας, οι εκλουσθέντες μυκοτοξίνες μπορούν να παραγωγοποιηθούν εάν είναι απαραίτητο και ποσοτικά με ένα φθοριόμετρο. Σε πολλές περιπτώσεις, το ίδιο φθοροόμετρο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να εκτελέσει τους δύο τύπους δοκιμασίας.

Η δεύτερη κατηγορία των ανοσολογικών δοκιμασιών είναι η ELISA. Ευαίσθητα πακέτα ELISA για μια ποικιλία των μυκοτοξινών - συμπεριλαμβανομένων των αφλατοξινών, ωχρατοξινών, φουμονισινών, ζεαραλενόνης και του DON - διατίθενται στο εμπόριο. Αρκετές πρόσφατες κριτικές περιέγραψαν την εφαρμογή των ELISA στην ανάλυση μυκοτοξινών (Chu 1996, Dietrich et al 1995, Pestka 1994). Τα περισσότερα εμπορικά προϊόντα ELISA για μυκοτοξίνες βασίζονται σε μια ανταγωνιστική, ετερογενή μορφή ELISA. Σε αυτή τη μορφή, η τοξίνη από το δείγμα

ανταγωνίζεται με μια σημασμένη τοξίνη (όπως μία συζυγής ενζυμική τοξίνη) για έναν περιορισμένο αριθμό δεσμευτικού αντισώματος τοποθεσιών. Όσο μεγαλύτερη είναι η ποσότητα της υπάρχουσας τοξίνης στο δείγμα, τόσο χαμηλότερη είναι η πρόσδεση της σημασμένης τοξίνης και τόσο χαμηλότερο το σήμα που παράγεται από τη δοκιμασία. Σε τέτοιες δοκιμασίες, η παρουσία της τοξίνης συνεπώς μετράται από την απουσία απόκρισης, δηλαδή, το χρώμα. Αυτή είναι η αχίλλειος πτέρνα των δοκιμών ELISA επειδή κάθε παράγοντας που μειώνει τη δέσμευση μεταξύ της σημασμένης τοξίνης και του αντισώματος μπορεί να είναι λάθος για την παρουσία της τοξίνης. Τέτοιοι παράγοντες μπορεί να περιλαμβάνουν δομικά σχετικές μυκοτοξίνες, αλλά μπορεί επίσης να περιλαμβάνουν συστατικά μήτρας που είναι εντελώς άσχετα με τις μυκοτοξίνες αλλά απλώς παρεμβαίνουν με συζυγείς συνδέσεις με το αντίσωμα με την απορρόφηση του προϊόντος σύζευξης ή αντισώματος, με μετουσίωση του αντισώματος ή με την αναστολή του ενζύμου. Για τους λόγους αυτούς, το πακέτο ELISA θα πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο με τρόφιμα για τα οποία έχουν ελεγχθεί εκτενώς και έχουν επιδειχθεί στην εργασία. Επίσης, επαρκείς έλεγχοι πρέπει να χρησιμοποιούνται για κάθε δοκιμή, για να διασφαλιστεί η εγκυρότητα του ποσοτικού προσδιορισμού. Ένας μηχανισμός έχει καθιερωθεί από την Association of Official Analytical Chemists (AOAC) Research Institute (2001) για την αξιολόγηση και την πιστοποίηση δοκιμασιών διαλογής μυκοτοξινών (<http://www.aoac.org/testkits/TKDATA5.HTM>). Το USDA/GIPSA (2001) εγκρίνει επίσης πακέτα για την ταχεία ανάλυση των μυκοτοξινών στα σιτάρια.

5.4 ΧΗΜΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Πολυάριθμες χημικές ουσίες έχουν δοκιμαστεί για την ικανότητά τους να αποικοδομούν ή να αποτοξινώνουν την αφλατοξίνη. Αυτές περιλαμβάνουν οξέα, βάσεις, αλδεΐδες, όξινα θειώδη, οξειδωτικούς παράγοντες και διάφορα αέρια (Anderson 1983, Feuill 1966, Goldblatt and Dollear 1977, 1979, Hagler 1991, Mann et al 1970, Park et al 1988, Phillips et al 1994, Samarajeewa et al 1991, Trager and Stoloff 1967). Αν και πολλές προτεινόμενες θεραπείες μπορούν να καταστρέψουν με επιτυχία την αφλατοξίνη, μπορεί να είναι ανέφικτες ή δυνητικά επιβλαβείς λόγω της γενιάς των τοξικών παραπροϊόντων ή / και της σημαντικής αλλοίωσης της ποιότητας του προϊόντος.

Η υποβάθμιση με τη χρήση αμμωνίας υποτίθεται ότι αποτελεί μια εφικτή μέθοδο για την αποτοξίνωση μολυσμένων με αφλατοξίνη προϊόντων. Η αμμωνιοποίηση περιλαμβάνει τη χρήση αέριας αμμωνίας ή υδροξειδίου του αμμωνίου και όταν πραγματοποιούνται υπό τις κατάλληλες συνθήκες, έχει αποδειχθεί σε ορισμένες περιπτώσεις, ότι μειώνονται τα επίπεδα αφλατοξίνης κατά περισσότερο από 99% (Brekke et al 1977, 1979, Dollear et al 1968, Gardner et al 1971, Masri et al 1969, Park et al 1984, Phillips et al 1994). Η αμμωνιοποίηση υποτίθεται ότι καταλήγει στην μετατροπή της αφλατοξίνης B₁ σε λιγότερο τοξικά προϊόντα, συμπεριλαμβανομένων των D₁ αφλατοξινών και ένα παράγωγο με μοριακό βάρος 206. Επειδή το αρχικό βήμα είναι αναστρέψιμο και ο δακτύλιος λακτόνης μπορεί να ματαρυστιστεί, είναι "εξαιρετικά σημαντικό" για να επιτρέψει στην αντίδραση να προχωρήσει στην ολοκλήρωση.

Μια άλλη αποτελεσματική μέθοδος αποικοδόμησης μυκοτοξινών βασίζεται στην αντίδραση με το αέριο όζον (O₃), ένα ισχυρό οξειδωτικό με μια προτίμηση για διπλούς δεσμούς. Αρκετές μελέτες δείχνουν ότι το φυσικό αέριο όζον (που παράγεται από εκκένωση στέμματος) υποβαθμίζει τις αφλατοξίνες στο καλαμπόκι και τον βαμβακόσπορο (Dollear et al 1968, Dwarakanath et al 1968) και σε υδατικό διάλυμα

(Maeba et al 1988.). Η διαδικασία αυτή έχει αποδειχθεί ότι αποικοδομεί άλλες μυκοτοξίνες όπως το DON (Young 1986, Young et al 1986) και τη μονιλιφορμίνη (Zhang and Li 1994). Μελέτες από τον Maeba et al. (1988) αναφέρουν ότι το φυσικό αέριο όζον διασπά χημικά και αποτοξινώνει αφλατοξίνες B₁, G₁, B₂ και G₂ (προς το παρόν ως καθαρά πρότυπα) σε πειράματα που γίνονται σε χημικό περιβάλλον.

Οι Luo et al. 2013 προσπάθησαν να πετύχουν οξώνωση της αφλατοξίνης B₁ σε υδατικό διάλυμα. Τα δεδομένα τοξικότητας έδειξαν ότι το AFB₁ έχοντας το δακτύλιο κυκλοπεντενόνη και το διπλό δεσμό C8-C9 δημιουργούν το βινυλαιθέρα στο τερματικό δακτύλιο φουρανίου. Το μισό φουράνιο του AFB₁, θεωρείται πως είναι η βάση της τοξικής και της καρκινογενετικής δραστηριότητας, και ο διπλός δεσμός στο τερματικό δακτύλιο φουρανίου είναι ένας σημαντικός προσδιορισμός της τοξικής δραστηριότητας. Έτσι, η αφαίρεση του διπλού δεσμού από τον τερματικό δακτύλιο φουρανίου είναι ένας σημαντικός στόχος της αποτοξίνωσης. Η ανάλυση των δομών των έξι προϊόντων υποβάθμισης που φαίνονται στο σχήμα 5.1 υποδεικνύουν ότι η επιπρόσθετη αντίδραση συνέβη στο διπλό δεσμό στο τερματικό δακτύλιο φουρανίου. Έτσι, οι δομές των προϊόντων υποβάθμισης φαίνεται να έχουν χαμηλότερη τοξικότητα από αυτά των AFB₁. Τα παλαιότερα τεστ τοξικότητας σε νεοσσούς γαλοπούλας, αρουραίους, και ανθρώπινα κύτταρα συκωτιού για μολυσμένο καλαμπόκι και φιστίκια με AFB₁ απέδειξαν ότι μετά τη θεραπεία με το όζον και το υδατικό όζον, η τοξικότητα ελαττώθηκε πάρα πολύ ή εξαφανίστηκε (McKenzie et al., 1998; Naguib et al., 2011; Prudente & King, 2002).

Σχήμα 5.1

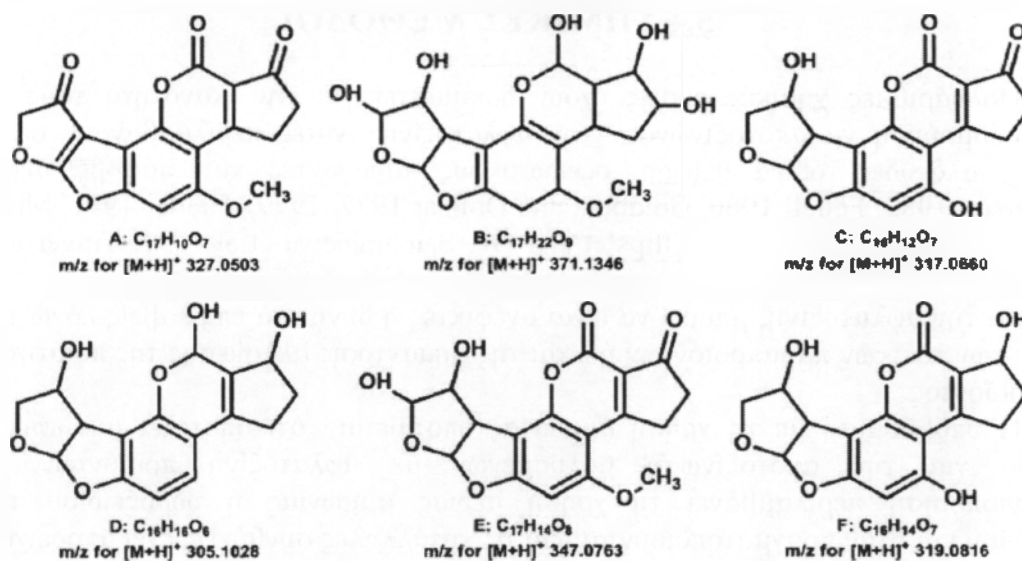


Fig. 6. Possible structure formulas of the degradation products of AFB₁.

Οι μυκοτοξίνες μπορούν να ανιχνευθούν χρησιμοποιώντας συνδυασμούς χρωματογραφικών και φασματομετρικών μεθόδων μάζας, συχνά με ελάχιστο καθαρισμό δείγματος (Huopalahti et al 1997, Musser 1996, Plattner 1995, Scott et al 1993).

Οι μέθοδοι αναφοράς έχουν διάφορους σκοπούς :

1. να επιβεβαιώσουν τα δείγματα που έχουν καθοριστεί για να περιέχουν μυκοτοξίνες, με βάση τις δοκιμές διαλογής,

2. να ποσοτικοποιήσουν με μεγαλύτερη ακρίβεια την ποσότητα της παρούσας τοξίνης.

Οι μέθοδοι αναφοράς για τις μυκοτοξίνες περιλαμβάνουν γενικά μια χρωματογραφική τεχνική, όπως HPLC, GC ή CPT για τον περαιτέρω ξεχωρισμό των μυκοτοξινών από τις ακαθαρσίες. Αν και οι ενόργανες μέθοδοι, όπως η GC συζευγμένη με φασματομετρία μάζας (GC-MS) μερικές φορές δεν απαιτούν ξεκαθάρισμα δείγματος (πλην εκχύλισης), στις περισσότερες περιπτώσεις, οι μυκοτοξίνες απομονώνονται χρησιμοποιώντας SPE στήλες. Μια εμπειριστατωμένη επανεξέταση των χρωματογραφικών μεθόδων δημοσιεύθηκε πρόσφατα (Sydenham and Shephard 1997).

Η HPLC είναι η πιο συχνή και ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος ανάλυσης μυκοτοξινών (Trucksess 1998). Οι μέθοδοι HPLC που είναι αρκετά ευαίσθητες και έχουν χαμηλά λογικά επίπεδα ανίχνευσης έχουν αναπτυχθεί για τις περισσότερες από τις μεγάλες μυκοτοξίνες, έτσι αυτές είναι καλές ποσοτικές μέθοδοι.

Η αέρια χρωματογραφία συχνά χρησιμοποιείται σε περισσότερες τεχνικές εργαστηρίων για ορισμένες από τις μυκοτοξίνες και για την ανάλυση των τριχοθισινών, όπως τύπου A που δεν επιδέχονται ανάλυση HPLC.

Αν και η TLC (χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας) είναι μια μέθοδος αναφοράς, συχνά χρησιμοποιείται ως δοκιμασία διαλογής μυκοτοξινών. Παρά το γεγονός ότι είναι ένα πολύ ισχυρό εργαλείο για τον προσδιορισμό της παρουσίας ενός ή περισσότερων μυκοτοξινών σε ένα δείγμα, η TLC δεν επιτρέπει κρίσιμη ποσοτικοποίηση που μπορεί να απαιτείται εάν η πυκνομετρία μπορεί να χρησιμοποιηθεί (Trucksess 2001).

Σε άλλες χημικές μεθόδους, ο Azaiez et al. 2013 έδειξε την ικανότητα ορισμένων φυσικών ενώσεων, γνωστές ως ισοθειοκυανικές (αλλύκη, βενζύλη και φενύλη), να αντιδρούν με τα FBs και να δημιουργούν διαφορετικά προϊόντα αντίδρασης. Αυτή η έρευνα μπορεί να θεωρηθεί ως η πρώτη όπου η αντίδραση μεταξύ των FBs και των ITCs αξιολογήθηκε. Περαιτέρω έρευνες θα πρέπει να εστιάσουν στην τοξικότητα των προϊόντων που παράγονται με την αντίδραση των FBs και των ITCs.

Οι Zhang et al. 2012 χρησιμοποίησαν όξινο ηλεκτρολυμένο οξειδωτικό νερό (AcEW) σε φιστίκια μολυσμένα με αφλατοξίνη B₁. Το AcEW μπορεί να απολυμάνει το περισσότερο AFB₁ από μολυσμένα με μύκητες φιστίκια σε κατάλληλη θεραπεία. Τα υψηλά επίπεδα του ACC είναι ο κύριος λόγος στην εξάλειψη του AFB₁, και το χαμηλό pH επίσης συμβάλλει στην απολύμανση του AFB₁ στα φιστίκια. Εξάλλου, το ACC στη μορφή του HClO είναι πιθανώς πιο αποτελεσματικό από το ACC στη μορφή του ClO στην εξάλειψη του AFB₁. Ωστόσο, για να πετύχουμε το καλύτερο αποτέλεσμα στην απολύμανση του AFB₁ και για να εξοικονομήσουμε ενέργεια ταυτόχρονα, η θεραπεία με AcEW πρέπει να πραγματοποιηθεί κάτω από ορισμένες συνθήκες. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αφού τα απολυμασμένα φιστίκια εμποτίστηκαν με διάλυμα AcEW (η αναλογία υγρού με στερεό ήταν 5:1 (v/m)) για 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, το περιεχόμενο του AFB₁ στα φιστίκια μειώθηκε από 34.80 μg/kg περίπου σε 5 μg/kg. Αυτό είναι περίπου 85% απολύμανση του AFB₁ από τα μολυσμένα δείγματα. Μετά από αυτήν την θεραπεία, το περιεχόμενο των απαραίτητων θρεπτικών συστατικών στα φιστίκια (πρωτεΐνες, λιπίδια και συστατικά υδατανθράκων) δεν άλλαξαν σημαντικά. Και αυτή η θεραπεία είχε μικρή επίδραση στην εμφάνιση των φωτεινά χρωματισμένων φιστικιών.

Οι αφλατοξίνες μπορούν να εξαχθούν αποτελεσματικότερα από μολυσμένους κόκκους χρησιμοποιώντας προσεκτικά επιλεγμένα μίγματα διαλυτών,

συμπεριλαμβανομένων των δυαδικών συστημάτων και τριτογενή. Το σημαντικότερο αυτής της μεθόδου μείωσης τοξίνης είναι η ελάχιστη επίδραση στην περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και στην θρεπτική αξία του μολυσμένου εμπορεύματος (Goldblatt and Dollear 1979, Rayner et al 1977). Παραδείγματα περιλαμβάνουν 95% αιθανόλης, 90% υδατικής ακετόνης, 80% ισοπροπανόλης, εξάνιο-αιθανόλη, εξάνιο-μεθανόλη, εξάνιο-ακετόνη-νερό και εξάνιο-αιθανόλη-νερό συνδυασμούς. Αν και αποτελεσματική, τέτοια θεραπεία θεωρείται πως έχει απαγορευτικό κόστος και είναι μη πρακτική για τις περισσότερες εφαρμογές (Shantha 1987). Ωστόσο οι Gorgan et al. (2013) δημιούργησαν διάλυμα αιθανόλης και αιθανόλης 70% από τα φαρμακευτικά φυτά *Thymus daenensis*, *Satureja khozistanica* και *S. Macrosiphonia* και βρήκαν ότι τα εκχυλίσματα αιθανόλης και αιθανόλης 70% από τα *T. Daenensis* και *S. Khozistanica* οδηγούν σε αισθητή αναστολή παραγωγής AFB₁ από το *A. Flavus*. Επιπρόσθετα, τα υδατικά εκχυλίσματα του *T. daenensis* καταστρέφουν τη δομή του AFB₁ και εισάγουν μία νέα πηγή στην υποβάθμιση του AFB₁. Παρ' όλα αυτά, το *T. daenensis* είναι από το πιο ενδημικό είδος στο Ιράν όπου χρησιμοποιείται ευρέως για διάφορους σκοπούς όπως τροφή, φαρμακευτικό είδος και βιομηχανικές εφαρμογές καλλυντικών και αρωμάτων. Ως εκ τούτου, οι υδατοδιαλυτές ενώσεις του *T. daenensis*, που είναι υπεύθυνες για την υποβάθμιση του AFB₁, πιθανόν δεν έχουν τοξικά περιεχόμενα και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως τροφή και διαδικασία τροφοδοσίας για τη μείωση των μολυσμένων υποστρωμάτων του AFB₁.

5.5 ΦΥΣΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Σχετικά με τον μηχανικό διαχωρισμό, τα επίπεδα τοξινών μειώνονται καθώς το καθαρό προϊόν έχει διαχωριστεί φυσικά από το μολυσμένο προϊόν στο καλαμπόκι και το σιτάρι, για παράδειγμα. Ωστόσο, αυτή η μέθοδος δεν είναι πολύ πρακτική λόγω της ατελούς απομάκρυνσης των μυκοτοξινών μολυσμένων με σπόρους και το αντίστροφο, αφαίρεση των καθαρών σιτηρών (Natarajan et al 1975, Phillips et al 1994). Σημαντικές μειώσεις στα επίπεδα αφλατοξίνης από την ηλεκτρονική αλλά και τη διαλογή με το χέρι φιστικιών έχουν αναφερθεί και χρησιμοποιούνται ευρέως (Dickens and Whitaker 1975, Natarajan et al 1975). Ακόμη και αν η πλήρης απομάκρυνση όλων των υπολειμματικών μολύνσεων δεν μπορεί να αναμένεται από μία ποικιλία μηχανικών μεθόδων διαχωρισμού, οι συγκεντρώσεις αφλατοξίνης μπορεί να μειωθούν σημαντικά μετά από αυστηρές στρατηγικές θεραπείας. Είναι ενδιαφέρον ότι, στην κατασκευή τυριών, η αφλατοξίνη M₁ εμφανίζεται κυρίως με την καζεΐνη, η οποία οδηγεί σε μια υψηλότερη συγκέντρωση στο τυρόπηγμα από τον ορό γάλακτος. Κατά συνέπεια, τα επίπεδα αφλατοξίνης στο τυρί μπορεί να εμπλουτιστούν σημαντικά, δηλαδή, κατά έναν παράγοντα 2.5 έως 3.3 σε μαλακά τυριά έναντι 3.9 έως 5.8 σε σκληρά τυριά (van Egmond 1994, Yousef and Marth 1989). Η αφλατοξίνη M₁ προφανώς δεν απενεργοποιείται σημαντικά κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης του τυριού.

Ο διαχωρισμός πυκνότητας των μολυσμένων σιτηρών και των ελαιούχων σπόρων περιλαμβάνει τη διαλογή και την καλή οριοθέτηση σε σχέση με τους μολυσμένους πυρήνες με επίπλευση. Το σημαντικό είναι ότι η μέθοδος αυτή μπορεί να μειώσει σημαντικά τις συγκεντρώσεις αφλατοξίνης (Cole 1989, Huff 1980, Huff and Hagler 1982). Φιστίκια που έχουν μολυνθεί με αφλατοξίνη ανταποκρίνονται θετικά στο διαχωρισμό πυκνότητας ώστε να επιπλέουν στο νερό της βρύσης. Αυτή η διαδικασία μπορεί να είναι συμβατή με την τρέχουσα υγρή πρακτική άλεσης και αλκαλικής επεξεργασίας του καλαμποκιού. Θα πρέπει να σημειωθεί, ωστόσο, ότι η εμφάνιση και το βάρος ενός συγκεκριμένου πυρήνα δεν δείχνουν πάντα την παρουσία

ή την απουσία της μυκοτοξινών. Η αφαίρεση των κατεστραμμένων κόκκων από το διαχωρισμό πυκνότητας έχει αποδειχθεί επίσης ότι επιτυγχάνει μείωση δεσοξυριβαλενόλης και ζεαραλενόνης στο καλαμπόκι και το σιτάρι (Jackson and Bullerman 1999). Οι Kelfkens et al. από το TNO στην Ολλανδία μείωσαν αποτελεσματικά το DON στο σιτάρι από την αναπτυγμένη Αεροδυναμική Τεχνολογία Διαχωρισμού, που ονομάζεται ASTER (de Koe 2001).

Επειδή οι αφλατοξίνες είναι θερμικά σταθερές, δεν έχουν καταστραφεί εντελώς από θερμικές επεξεργασίες, π.χ., με βραστό νερό, σε αυτόκαυστο (Christensen et al 1977). Μερική καταστροφή της αφλατοξίνης μπορεί να επιτευχθεί με το πετρέλαιο φρύξης ή ξηρό ψήσιμο φυσιτικών και γεύματα ελαιούχων σπόρων (Marth and Doyle 1979) ή το ψήσιμο καλαμποκιού (Conway et al 1978). Άλλες μελέτες που χρησιμοποιούν το ψήσιμο έδειξαν ότι οι συγκεντρώσεις αφλατοξίνης θα μπορούσαν να μειωθούν σε ξηρούς καρπούς και ελαιούχους σπόρους καλαμποκιού (Conway et al 1978). Η καταστροφή της αφλατοξίνης, ωστόσο, δεν είναι πλήρης (ούτε ομοιόμορφη) και επηρεάζεται από τη θερμοκρασία του εμπορεύματος, το διάστημα θέρμανσης και την περιεκτικότητα σε υγρασία (Mann et al. 1967). Σε αντίθεση με τις αφλατοξίνες, η θερμική επεξεργασία είναι συνήθως αναποτελεσματική για τη μείωση της περιεκτικότητας των φουμονισινών και της ζεαραλενόνης στα τρόφιμα (Jackson and Bullerman 1999).

Εκθέτοντας φυσικόλαιο σε μικρού μήκους κύματος και μεγάλου μήκους κύματος υπεριώδες φως έχει αναφερθεί ότι μειώνει τα επίπεδα αφλατοξίνης (Shantha and Sreenivasa 1977). Άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι η έκθεση σε ακτινοβολία γάμμα (2,5 rad) δεν υποβαθμίζει την αφλατοξίνη σε μολυσμένο γεύμα φυσιτικών, ενώ το υπεριώδες φως που παράγεται δεν επιφέρει καμία αλλαγή στον φθορισμό ή την τοξικότητα (Feuell 1977). Το φως του ήλιου (14 ώρες έκθεσης) κατέστρεψε μεταξύ 77 και 90% της αφλατοξίνης B₁, η οποία προστέθηκε σε νιφάδες αραχίδων, αν και μόνο κατά το ήμισυ η τοξίνη καταστρέφει το φυσικώς μολυσμένο προϊόν (Shantha 1987). Η έκθεση των αφλατοξινών στο υπεριώδες φως έχει αναφερθεί για την ενεργοποίηση αυτών των χημικών ουσιών στα μεταλλαξιογόνα (Stark et al 1990). Εφαρμόζοντας ακτινοβολία UV για 20 λεπτά στους 25°C μειώθηκε η συγκέντρωση της αφλατοξίνης M₁ σε μολυσμένο γάλα κατά 89,1% με την παρουσία του υπεροξειδίου κατά 0,05%, σε σύγκριση με το 60,7%, χωρίς υπεροξείδιο (Yousef and Marth 1989). Υπάρχει ανησυχία από κάποιους ότι αυτή η θεραπεία θα μπορούσε να προκαλέσει υπεροξειδωση και να οδηγήσει σε πιο τοξικά προϊόντα. Οι Farag et al. (1996) αναφέρουν ότι οι αφλατοξίνες B₁, B₂, G₁, G₂ ανταποκρίνονται στη θεραπεία με μικροκύματα, τόσο συστηματικά όσο και τροφικά. Το ποσοστό της καταστροφής μυκοτοξινών συσχετίστηκε θετικά με την ισχύ και το χρόνο έκθεσης. Οι Jalili et al. 2012 ακτινοβόλησαν με ακτίνες γάμμα μολυσμένο άσπρο και μαύρο πιπέρι με μυκοτοξίνες. Οι στατιστικές αναλύσεις έδειξαν ότι δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ της μείωσης των εκτιμώμενων μυκοτοξινών στο μαύρο και άσπρο πιπέρι μετά την ακτινοβόληση. Παρ'όλα αυτά, τα αποτελέσματα που ελήφθησαν από δύο μέρη ANOVA έδειξαν ότι οι επιδράσεις των ανεξάρτητων μεταβλητών, η δόση των ακτινών γάμμα και η περιεκτικότητα σε υγρασία, ήταν σημαντικές (p<0.05). Η ακτινοβόληση σε υψηλής περιεκτικότητας σε υγρασία πιπέρι δεν προκάλεσε ορατές αλλαγές στην ποιότητα του προϊόντος και η εμφάνιση των δύο δειγμάτων (12% και 18% περιεκτικότητα σε υγρασία) ήταν ίδια.

5.6 ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Οι στρατηγικές που μεταφέρουν την εστίαση από την απολύμανση του προϊόντος (μετά τη συγκομιδή) στην πρόληψη της παραγωγής αφλατοξίνης (προ της συγκομιδής) με τη χρήση βιολογικών ελέγχων έχουν αναφερθεί. Μη τοξικογόνο στελέχος των *Aspergillus flavus* και *A. parasiticus* μπορεί να ανταγωνιστεί με τοξικογόνο (άγριου τύπου) στέλεχος και μειώνει σημαντικά τη μόλυνση από αφλατοξίνες στα φιστίκια και στον βαμβακόσπορο (Cole and Cotty 1990). Οι μικροοργανισμοί, π.χ., ζύμες, μύκητες και τα βακτήρια, έχουν ελεγχθεί ως προς την ικανότητά τους να τροποποιήσουν ή να απενεργοποιούν την αφλατοξίνη. Το *Flavobacterium aurantiacum* (NRRL B-184) αποδείχθηκε ότι αφαιρεί σημαντικά την αφλατοξίνη από ένα υγρό μεταφοράς χωρίς να παράγει τοξικά υποπροϊόντα ή τους μεταβολίτες τους (Ciegler et al 1966). Οι ίδιοι ερευνητές διαπίστωσαν ότι ορισμένα οξέα παραγωγής καλουπιών μπορούν να καταλύουν την ενυδάτωση της αφλατοξίνης B₁ σε B_{2a} (ένα λιγότερο τοξικό προϊόν). Οι Hao et al. (1987) ανέφεραν ότι το *F. aurantiacum* αφαιρεί την αφλατοξίνη B₁ από το γάλα φιστικιού. Αυτό το βακτήριο αναπτύχθηκε σε απολιπασμένο και μερικώς αποβουτυρωμένο γάλα φιστικιών και δεν παρεμποδίστηκε από την αφλατοξίνη. Οι αφλατοξίνες στους μολυσμένους σπόρους αποικοδομούνται με ζύμωση (Dam et al 1977), αλλά γίνεται ενσίρωση μολυσμένων καλαμποκιών υψηλής υγρασίας, η οποία όμως δεν ήταν τόσο αποτελεσματική.

Στην περίπτωση των τριχοθισινών, είναι γνωστό ότι ο 12 με 13-εποξειδίου δακτύλιος είναι υπεύθυνος για τις τοξικές τους δραστηριότητες και η απομάκρυνση αυτής της ομάδας εποξειδίου συνεπάγεται σημαντική απώλεια της τοξικότητας. Αρκετοί συγγραφείς που περιγράφουν αυτή την αποεποξειδιωτική αντίδραση των μηρυκαστικών ή της εντερικής χλωρίδας (He et al 1992, Kollarczik et al 1994, Yoshizawa et al 1983), αλλά και οι Binder et al. (2000) ήταν οι πρώτοι που πέτυχαν την απομόνωση ενός καθαρού βακτηριακού στελέχους (ένα νέο στέλεχος του *Eubacterium*), το οποίο είναι σε θέση να βιομετατραπεί στην ομάδα εποξειδίου τριχοθισινών. Η ενεργός μετατροπή του DON σε μικτές καλλιέργειες θα μπορούσε να απομονωθεί από βόειο πρώτο στόμαχο, χρησιμοποιώντας αναερόβιες τεχνικές που περιγράφονται από τον Hungate (1969) και των μέσων σύμφωνα με τους Caldwell and Bryant (1966), τα οποία είχαν τροποποιηθεί για τους σκοπούς του ελέγχου.

Η απόδοση της τελικής σύνθεσης (π.χ., σταθεροποιημένα βακτήρια) ελέγχθηκε σε δοκιμές σίτισης, οι οποίες διεξήχθησαν υπό την εποπτεία του Πανεπιστημίου Κτηνιατρικής στη Βιέννη της Αυστρίας. Εξαιρετικά σημαντικά αποτελέσματα ($P < 0,001$) ελήφθησαν σε δοκιμές σίτισης χοιριδίων με μόλυνση από 2,5 ppm DON. Η δοκιμή ξεκίνησε την 25^η ημέρα της ζωής των ζώων που ζύγιζαν 6,7 κιλά. Μετά από 45 ημέρες, τα ζώα που είχαν τραφεί με μολυσμένη τροφή απέκτησαν βάρος μέχρι 16,4 kg σε ένα ρυθμό μετατροπής της τροφής (FCR) από 2,0, ενώ οι ομάδες που είχαν λάβει αμόλυνη τροφή συν διάφορες συγκεντρώσεις BBSH 797 ζύγιζαν μεταξύ 22,3 και 23,6 kg και FCR από 1.6.

Θα μπορούσε να αποδειχθεί σε πειράματα που γίνονται σε χημικό περιβάλλον ότι η βακτηριακή απομόνωση BBSH 797 είναι σε θέση να βιομετατρέψει τις τριχοθισίνες σε λιγότερο τοξικούς αποεποξεικούς μεταβολίτες. Αποτελέσματα της μελέτης του εδάφους δείχνουν επίσης ότι το GGSB 797 μπορεί να βελτιώσει την απόδοση μειώνοντας τα αποτελέσματα της DON σε αναπτυσσόμενα χοιρίδια και κοτόπουλα υπό πραγματικές συνθήκες και μπορεί να αποδειχθεί ευεργετική στην προληπτική διαχείριση τέτοιων μολύνσεων μυκοτοξινών. Οι Schatzmayr et al. (2000) χρησιμοποίησαν ακατέργαστα παρασκευάσματα ενζύμων και καθαρή καρβοξυπεψιδάση A για την υποβάθμιση της ωχρατοξίνης σε μη τοξικά προϊόντα.

Οι Nino et al. 2013 προσπάθησαν να αξιολογήσουν την ικανότητα των προβιοτικών στελεχών να μειώσουν την βιοπροσπελασιμότητα της αφλατοξίνης M₁ σε τεχνητά μολυσμένο γάλα χρησιμοποιώντας πεπτικό μοντέλο *in vitro*. Παρ'όλο που τα αποτελέσματα που βρέθηκαν σε αυτήν την εργασία είναι προκαταρκτικά, είναι χρήσιμα για να αξιολογηθεί η ικανότητα των προβιοτικών βακτηρίων να συνδεθούν και να αφαιρέσουν μεταλλαξιγόνες τοξίνες όπως την αφλατοξίνη M₁. Άλλωστε, τα αποτελέσματά έδειξαν ότι τα προβιοτικά στελέχη τέσταραν την ικανότητα να δεσμεύσουν το AFM₁ σε PBS και να μειώσουν τη βιοπροσπελασιμότητά τους σε αποβουτυρωμένο γάλα ως μοντέλο για μήτρα τροφίμων. Παρ'όλο που τα δοκιμαζόμενα στελέχη έδειξαν ικανότητα να απομακρύνουν το AFM₁ σε διαφορετικές επωαστικές περιόδους, η σύνδεση του AFM₁ ήταν μία αντιστρέψιμη διαδικασία από τη στιγμή που όλα τα στελέχη που δοκιμάστηκαν απελευθέρωσαν μία μικρή μερίδα από δεσμευμένο AFM₁ μετά από μία πλύση με PBS. Οι ποικιλίες σε δεσμευτικές ικανότητες μεταξύ των γενών προτείνουν ότι οι διαφορετικές θέσεις σύνδεσης μπορούν να είναι παρούσες σε διαφορετικά γένη και μπορούν να υπάρχουν διαφορές μεταξύ θέσεων σύνδεσης σε κάθε βακτήριο.

Οι διαιτητικοί παράγοντες που επηρεάζουν την τοξικότητα της αφλατοξίνης B₁ έχουν παρουσιαστεί ευρέως και συνεχίζουν να είναι μια περιοχή της ενεργού έρευνας. Αυτοί οι παράγοντες μπορούν να ταξινομηθούν σε δύο κατηγορίες: θρεπτικά και μη θρεπτικά συστατικά των τροφίμων. Από τις πρώτες, το ενδιαφέρον έχει κατευθυνθεί προς την παρουσία των δοτών μεθυλίου, όπως χολίνη και μεθειονίνη (συχνά σε συνδυασμό με φολικό οξύ) στη διαίτα, όπως καλύτερευση παραγόντων επαγωγής της ηπατικής προνεοπλαστικών εστιών. Η ανεπάρκεια σε πρωτεΐνη έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζει την συχνότητα εμφάνισης αυτών των εστιών. Οι φυτικές λιπαρές ουσίες (καθώς και οι επιπτώσεις των κορεσμένων έναντι των ακόρεστων λιπών), βιταμίνες (π.χ. βιταμίνη A, φολικό οξύ, καροτίνη), και ιχνοστοιχεία όπως το σελήνιο φαίνεται να διαφοροποιούν την ηπατοκαρκινογένεση της αφλατοξίνης B₁. Παραδείγματα διατροφικών συστατικών που μπορεί να χαρακτηριστούν ως μη θρεπτικά περιλαμβάνουν βουτυλιωμένη υδροτολουίνη, βουτυλοϋδροξυανισόλη, ελλαγικό οξύ (ένα φαινολικό φυτών), η ινδόλη-3-καρβινόλη (ένα συστατικό των σταυρανθών λαχανικών), διάφορα εκχυλίσματα σκόρδου, και καψαΐκίνη. Για μια διεξοδική συζήτηση, ο αναγνώστης παραπέμπεται στις ακόλουθες αξιολογήσεις (Cullen and Newberne 1994, Eaton et al 1994, Galvano et al 2001, Kensler et al 1994, Rogers 1994).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι μυκοτοξίνες είναι ένα παγκόσμιο πρόβλημα που μολύνοντας τα τρόφιμα περνάει στα ζώα και τους ανθρώπους και τους προκαλεί διάφορες ασθένειες που μπορούν να επιφέρουν θάνατο. Αποτελούνται από διάφορες ουσίες, και αυτό τις καθιστά δύσκολο στο να τις αντιμετωπίσουμε. Τα τρόφιμα μπορεί να μολυνθούν κατά την ανάπτυξή τους (από τις περιβαλλοντικές συνθήκες), κατά τη συγκομιδή τους ή από κακούς χειρισμούς κατά την αποθήκευσή τους. Η καταπολέμησή τους είναι δύσκολη και έχουν γίνει πειράματα και προσπάθειες εδώ και πολλές δεκαετίες για να βρεθούν οι αιτίες μόλυνσης και οι τρόποι της καταπολέμησης των μυκοτοξινών. Οι ερευνητές έχουν καταλήξει στο συμπέρασμα ότι η πλήρης απομάκρυνση των μυκοτοξινών είναι αδύνατη, γι αυτό γίνονται προσπάθειες ώστε τα τρόφιμα να περιέχουν όσο το δυνατόν λιγότερες ανεκτές για τον οργανισμό ποσότητες μυκοτοξινών.

Το πρόβλημα είναι μαζικό, γιατί οι μυκοτοξίνες μολύνουν τρόφιμα μαζικής κατανάλωσης, όπως για παράδειγμα τα δημητριακά, τα οποία αποτελούν βασική πρώτη ύλη για ζωοτροφές σε ζώα που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση, ή για τα δημητριακά που προορίζονται για περαιτέρω επεξεργασία για βρώση. Επίσης τα ζώα μπορεί να μολυνθούν απευθείας από μολυσμένα φυτά τα οποία βρίσκονται ελεύθερα στο περιβάλλον το οποίο βόσκουν τα ζώα. Γι αυτό το λόγο, τα κράτη όρισαν από κοινού νομοθεσία για τον εντοπισμό μολυσμένων τροφίμων ούτως ώστε αυτά να απορριφθούν και οι χώρες στις οποίες βρέθηκαν αυτά τα τρόφιμα να συμμορφωθούν και να δημιουργήσουν τμήματα ελέγχου για μυκοτοξίνες.

Η ανάγκη για τον εντοπισμό τροφίμων μολυσμένων με μυκοτοξίνες έχει οδηγήσει σε πολλαπλούς τρόπους ελέγχου ακόμα και κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης των φυτών. Τα αυξανόμενα ευρήματα μυκοτοξινών σε τρόφιμα έχει οδηγήσει σε αυτήν την ανάγκη. Ο έλεγχος περιλαμβάνει φυσικές, χημικές και βιολογικές μεθόδους.

Η έγκαιρη συγκομιδή, ο καθαρισμός και η ξήρανση της σοδειάς, ο έλεγχος της θερμοκρασίας και της υγρασίας κατά την αποθήκευση και η χρήση αντιμυκητιασικών παραγόντων μπορούν να βοηθήσουν στη μείωση ή την εξάλειψη των μυκοτοξινών σε τρόφιμα και ζωοτροφές.

Ωστόσο, για να αποφύγουμε την περαιτέρω αύξηση των μολυσμένων ευρημάτων, έχει αναπτυχθεί ένα μεγάλο σύστημα το οποίο μετά από διάφορα πειράματα, μπορεί να υποβαθμίσει τις μυκοτοξίνες. Αυτό εξαρτάται από τα δεδομένα που έχουμε διαθέσιμα, όπως τι μυκοτοξίνη έχουμε να αντιμετωπίσουμε, ώστε να χρησιμοποιήσουμε τα κατάλληλα μέτρα, ή εάν η δράση που πρέπει να πάρουμε είναι ικανή να καταστρέψει ποιοτικά, θρεπτικά και χρωματικά το προϊόν. Γι αυτό, έχουν πραγματοποιηθεί ενδελεχή πειράματα σε διάφορα προϊόντα ώστε να διαπιστωθεί με πιο τρόπο θα αντιμετωπιστεί κάθε μυκοτοξίνη, και ποιο τρόφιμο είναι πιο ανεκτικό στα πειράματα.

Η πρόοδος που έχει επιτευχθεί για την αντιμετώπιση και υποβάθμιση των μυκοτοξινών στα τρόφιμα είναι μεγάλη, ωστόσο είναι απαραίτητο να συνεχιστούν οι πειραματικές έρευνες διότι οι μυκοτοξίνες είναι πολύπλοκοι μικροοργανισμοί, κάθε κατηγορία της χρήζει διαφορετικής αντιμετώπισης και οι μέθοδοι που έχουν ανακαλυφθεί μέχρι τώρα δεν είναι 100% αποτελεσματικοί με αποτέλεσμα την απόρριψη μεγάλων παρτίδων με τρόφιμα ειδικά από τις αναπτυσσόμενες χώρες που

είτε δεν έχουν την οικονομική δυνατότητα να πραγματοποιήσουν ελέγχους είτε λόγω της οικονομικής ανέχειας αποφεύγουν επίτηδες την πραγματοποίηση των ελέγχων.

Οι μέθοδοι που έχουν χρησιμοποιηθεί για την πρόληψη και την απομάκρυνση των μυκοτοξινών περιλαμβάνουν φυσικούς, χημικούς και βιολογικούς τρόπους καταπολέμησης. Πολλές μέθοδοι απορρίφθηκαν ως οικονομικά ασύμφωρες, κάποιες αλλοίωσαν τα συστατικά των τροφίμων, ενώ άλλες απλά δεν ήταν αποτελεσματικές. Υπάρχει μεγάλη ποικιλία στις μεθόδους που χρησιμοποιούνται, αλλά για να πετύχουμε ασφαλή απομάκρυνση των μυκοτοξινών από τα τρόφιμα πιθανόν να χρειάζεται συνδυασμός μεθόδων.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abbas, H. K., C. J. Mirocha, R. A. Meronuck, J. D. Pokorny, S. L. Gould, and T. Kommedahl. 1988b. Mycotoxins and *Fusarium* species associated with infected ears of corn in Minnesota. *Appl Environ Microbiol* 54:1930–1933.
- Abbas, H. K., Zablotowicz, R. M., Bruns, H. A., & Abel, C. A. (2006). Biocontrol of aflatoxin in corn by inoculation with non-aflatoxigenic *Aspergillus flavus* isolates. *Biocontrol Science and Technology*, 16(5), 437–449.
- Abouzied, M. M., J. I. Azcona, W. E. Braselton, and J. J. Pestka. 1991. Immunochemical assessment of mycotoxins in 1989 grain foods: Evidence for deoxynivalenol (vomitoxin) contamination. *Appl Environ Microbiol* 57:672–677.
- Akbas, M. Y., & Ozdemir, M. (2006). Effect of different ozone treatments on aflatoxin degradation and physicochemical properties of pistachios. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 2099e2104.
- Alberts, J. F., Gelderblom, W. C. A., Botha, A., & van Zyl, W. H. (2009). Degradation of aflatoxin B1 by fungal laccase enzymes. *International Journal of Food Microbiology*, 135(1), 47–52.
- Amin, G. (1999). *Popular medicinal plants of Iran, Vol. 1*. Tehran: Research Deputy of Health Ministry.
- Anderson, R. A. 1983. Detoxification of aflatoxin-contaminated corn. Pp. 87–90. In U. Diener, R. Asquith, and J. Dickens (Eds.). *Aflatoxin and Aspergillus flavus in Corn*. Southern Cooperative Series Bulletin 279. Auburn University, Auburn, Alabama.
- Arthur, J. C. 1891. *Wheat Scab*. Purdue University Agricultural Experiment Station Bulletin. Pp. 129–132. Purdue University, West Lafayette, Indiana.
- Ashworth, L. J., J. L. McMeans, and C. M. Brown. 1969a. Infection of cotton by *Aspergillus flavus*: the influences of temperature and aeration. *Phytopathology* 59:669–673.
- Ashworth, L. J., J. L. McMeans, and C. M. Brown. 1969a. Infection of cotton by *Aspergillus flavus*: the influences of temperature and aeration. *Phytopathology* 59:669–673.
- Association of Official Analytical Chemists. 1990. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. K. Helrich (Ed.). 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Inc., Arlington, Virginia.
- Association of Official Analytical Chemists Research Institute. 2001. *Mycotoxin Screen Assay Test Kits*. Association of Official Analytical Chemists, Gathersburg, Maryland. <<http://www.aoac.org/testkits/TKDATA5.HTM>> (10 October 2001)
- Atanda, O. O., Akpan, I., & Oluwafemi, F. (2007). The potential of some spice essential oils in the control of *A. parasiticus* CFR 223 and aflatoxin production. *Food Control*, 18(5), 601e607.
- Azaiez I., G. Meca , L. Manyes , F.B. Luciano and M. Fernandez-Franzön. 2013. Study of the chemical reduction of the fumonisins toxicity using allyl, benzyl and phenyl isothiocyanate in model solution and in food products. *Toxicon* 63 (2013) 137–146

- Backhouse, D., L. W. Burgess, and B. A. Summerell. 2001. Biogeography of *Fusarium*. Pp. 122–137. In B. A. Summerell, J. F. Leslie, D. Backhouse, W. L. Bryden, and L. W. Burgess (Eds.). *Fusarium: Paul E. Nelson Memorial Symposium*. APS Press, St. Paul, Minnesota.
- Bauer, K., Garbe, D., & Surburg, H. (2001). *Common fragrance and flavor materials: Preparation, properties and uses*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH.
- Bennett, G. A. and J. L. Richard. 1996. Influence of processing on *Fusarium* mycotoxins in contaminated grains. *Food Technol May* 1996:235–238.
- Binder, E. M., D. Heidler, G. Schatzmayr, N. Thimm, E. Fuchs, M. Schuh, R. Krska, and J. Binder. 2000. Microbial detoxification of mycotoxins in animal feed. Mycotoxins and Phycotoxins in Perspective at the Turn of the Millennium. *Proceedings of the 10th International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins*, Guarujá, Brazil, May 21–25, 2000.
- Bluma, R. V., Amaiden, M. R., & Etcheverry, M. (2008). Screening of Argentine plant extracts: impact on growth parameters and aflatoxin B1 accumulation by *Aspergillus section Flavi*. *International Journal of Food Microbiology*, 122(1e2), 114e125.
- Bolger, P. M., C. D. Carrington. and S. H. Henry. 1996. Risk assessment for risk management and regulatory decision-making at the U.S. Food and Drug Administration. In A. Fan and L. Chang (Eds.). *Toxicology and Risk Assessment: Principles, Methods, and Application*. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Boller, R. A., & Schroeder, H. W. (1973). Influence of *Aspergillus chevalieri* on production of aflatoxin in rice by *Aspergillus parasiticus*. *Phytopathology*, 63, 1507-1510.
- Boller, R. A., & Schroeder, H. W. (1974). Influence of *Aspergillus candidus* on production of aflatoxin in rice by *Aspergillus parasiticus*. *Phytopathology*, 64, 121-123.
- Bottalico, A., A. Logrieco, and A. Visconti. 1989. *Fusarium* species and their mycotoxins in infected corn in Italy. *Mycopathologia* 107:85–92.
- Bullerman, L. B. 1981. Public health significance of molds and mycotoxins in fermented dairy products. *J Dairy Sci* 63:2439–2452.
- Bullerman, L. B. and W. J. Tsai. 1994. Incidence and levels of *Fusarium moniliforme*, *Fusarium proliferatum* and fumonisins in corn and corn-based foods and feeds. *J Food Prot* 57:541– 546.
- Brekke, O. L., R. O. Sinnhber, A. J. Peplinski, J. H. Wales, G. B. Putnam, D. J. Lee, and A. Ciegler. 1977. Aflatoxin in Corn: Ammonia inactivation and bioassay with rainbow trout. *Appl Environ Microbiol* 34:34–37.
- Brown, G. H. 1974. The distributions of total aflatoxin levels in composited samples of peanuts. *Food Technol Australia* 36:128– 130.
- Caldwell, D. R. and M. P. Bryant. 1966. Medium without rumen fluid for nonselective enumeration and isolation of rumen bacteria. *Applied Microbiol* 14:794–801.
- Campbell, A. D., T. B. Whitaker, A. E. Pohland, J. W. Dickens, and D. L. Park. 1986. Sampling, sample preparation, and sampling plans for foodstuffs for mycotoxin analysis. *Pure Appl Chem* 58:305–314.

- Campbell, H., T. M. Choo, B. Vigier, L. Underhill. 2000. Mycotoxins in barley and oat samples from eastern Canada. *Can J Plant Sci* 80(4):977–980
- Cejpek, K., Valusek, J., Velisek, J., 2000. Reactions of allyl isothiocyanate with alanine, glycine, and several peptides in model systems. *J. Agric. Food Chem.* 48, 3560–3565.
- Chang, P.-K., Abbas, H. K., Weaver, M. A., Ehrlich, K. C., Scharfenstein, L. L., & Cotty, P. J. (2012). Identification of genetic defects in the atoxigenic biocontrol strain *Aspergillus flavus* K49 reveals the presence of a competitive recombinant group in field populations. *International Journal of Food Microbiology*, 154(3), 192-196.
- Chang, P. K., & Hua, S. S. T. (2007). Nonafatoxigenic *Aspergillus flavus* TX9-8 competitively prevents aflatoxin accumulation by *A. flavus* isolates of large and small sclerotial morphotypes. *International Journal of Food Microbiology*, 114(3), 275-279.
- Christensen, C. M. 1974. *Storage of Cereal Grains and Their Products*. 2nd ed. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, Minnesota.
- Christensen, C. M., C. J. Mirocha, and R. A. Meronuck. 1977. *Molds, Mycotoxins, and Mycotoxicoses*. Agricultural Experiment Station Miscellaneous Report 142. University of Minnesota, St. Paul.
- Chu, F. S. 1996. Recent studies on immunoassays for mycotoxins. Pp. 294–313. In R. C. Beier and L. H. Stanker (Eds.). *Immunoassays for Residue Analysis*. ACS Symposium Series 621. American Chemical Society, Washington, D.C.
- Chu, F. S. and G. Y. Li. 1994. Simultaneous occurrence of fumonisin B1 and other mycotoxins in moldy corn collected from the People's Republic of China in regions with high incidences of esophageal cancer. *Appl Environ Microbiol* 60:847–852.
- Ciegler, A., E. B. Lillehoj, R. E. Peterson, and H. H. Hall. 1966. Microbial detoxification of aflatoxin. *Appl Microbiol* 14:934–939.
- Codex Alimentarius Commission. (2001). *Comments submitted on the draft maximum level for aflatoxin M1 in milk*. Codex committee on food additives and contaminants 33rd session, Hague, The Netherlands.
- Coker, R. D. 1991. Recent developments in methods of sampling and analysis of mycotoxins. Pp. 115–121. In B. R. Champ, E. Highly, A. D. Hocking, and J. I. Pitt (Eds.). *Fungi and Mycotoxins in Stored Products*. Australian Center for International Agricultural Research Proceedings No. 36, Bangkok, Thailand, April 23–26, 1991.
- Coker, R. D., M. J. Nagler, G. Blunden, A. J. Sharkey, P. R. Defize, G. B. Derksen, and T. B. Whitaker. 1995. Design of sampling plans for mycotoxins in food and feeds. *Natural Toxins* 3:257–262.
- Cole, R. J. 1989. Technology of aflatoxin decontamination. Pp. 177–184. In S. Natori, K. Hashimoto, and Y. Ueno (Eds.). *Mycotoxins and Phycotoxins '88*. Elsevier Scientific Publishing Co., Amsterdam.
- Cole, R. J. and P. J. Cotty. 1990. Biocontrol of aflatoxin production by using biocompetitive agents. Pp. 62–66. In *Perspectives on Aflatoxin in Field Crops and Animal Food Products in the United States (ARS-83)*. National Technical Information Services, Springfield, Virginia.
- Cole, R. J., J. W. Dorner, and C. C. Holbrook. 1995. Advances in mycotoxin elimination and resistance. Pp. 456–474. In H. E. Pattee and H. T. Stalker

(Eds.). *Advances in Peanut Science*. American Peanut Research and Education Society, Stillwater, Oklahoma.

- Conway, H. F., R. A. Anderson, and E. B. Bagley. 1978. Detoxification of aflatoxin-contaminated corn by roasting. *Cereal Chem* 55:115–117.
- Council for Agricultural Science and Technology. 1979. *Aflatoxin and Other Mycotoxins: An Agricultural Perspective*. Report No. 80. Council for Agricultural Science and Technology, Ames, Iowa.
- Council for Agricultural Science and Technology. 1989. *Mycotoxins: Economic and Health Risks*. Report No. 116. Council for Agricultural Science and Technology, Ames, Iowa.
- Council for Agricultural Science and Technology. 2003. *Mycotoxins: Risks in Plant, Animal, and Human Systems*. Council for Agricultural Science and Technology, Ames, Iowa, USA
- Cullen, J. M. and P. M. Newberne. 1994. Acute hepatotoxicity of aflatoxins. Pp. 3–26. In L. D. Eaton and J. D. Groopman (Eds.). *The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance*. Academic Press, New York.
- Cvetnic, Z., & Pepeljnjak, S. (2007). Interaction between certain moulds and aflatoxin B1 producer *Aspergillus Flavus* NRRL 3251. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 58(4), 429-434.
- D'Arco, G., Fernandez-Franzon, M., Font, G., Damiani, P., Mañes, J., 2009. A survey of fumonisins B1, B2 and B3 in conventional and organic retail corn products in Spain and Italy and estimated dietary exposure. *Food Add. Contam.* 2, 146–153.
- Dam, R., S. W. Tam, and L. D. Satterlee. 1977. Destruction of aflatoxins during fermentation and by-product isolation from artificially contaminated grain. *Cereal Chem* 54:705–714.
- Davis, N. D. and U. L. Diener. 1987. Mycotoxins. Pp. 517–570. In L. R. Beuchat (Ed.). *Food and Beverage Mycology*. 2nd ed. Van Nostrand Reinhold Company, Inc., New York.
- De Alencar, E. R., D'Antonino Faroni, L. R., Ferreira Soares, N.d. F., da Silva, W. A., & da Silva Carvalho, M. C. (2012). Efficacy of ozone as a fungicidal and detoxifying agent of aflatoxins in peanuts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92, 899e905.
- de Koe, W. J. 2001. Occurrence, regulation and determination of DON in the EU. *Proceedings of the International Wheat Quality Conference-II*, Manhattan, Kansas, USA, May 20–24, 2001. In press.
- Degola, F., Berni, E., & Restivo, F. M. (2011). Laboratory tests for assessing efficacy of atoxigenic *Aspergillus flavus* strains as biocontrol agents. *International Journal of Food Microbiology*, 146(3), 235-243.
- Desjardins, A. E., R. D. Plattner, M. Lee, and L. E. Clafflin. 1998. Distribution of fumonisins in maize ears infected with strains of *Fusarium moniliforme* that differ in fumonisin production. *Plant Dis* 82:953–958.
- Deshpande, S. S. (2002). Fungal toxins. In S. S. Deshpande (Ed.), *Handbook of food toxicology* (pp. 387e456). New York: Marcel Decker.
- Dickens, J. W. and J. B. Satterwhite. 1969. Subsampling mill for peanut kernels. *Food Technol* 23:90–92.

- Dickens, J. W. and T. B. Whitaker. 1975. Efficacy of electronic color sorting and hand picking to remove aflatoxin contaminated kernels from contaminated lots of shelled peanuts. *Peanut Sci* 2:45–50.
- Dietrich, R., E. Schneider, E. Usleber, and E. Märtlbauer. 1995. Use of monoclonal antibodies for the analysis of mycotoxins. *Natural Toxins* 3:288–293.
- Ding, X., Li, P., Bai, Y., & Zhou, H. (2012). *Aflatoxin B1 in post-harvest peanuts and dietary risk in China*. *Food Control*. 23, 143e148.
- Dollear, F. G., G. E. Mann, L. P. Codifer, Jr., J. K. Gardner, Jr., S. P. Koltun, and H. L. E. Vix. 1968. Elimination of aflatoxins from peanut meal. *J Am Oil Chem Soc* 45:862–865.
- Dorner, J. W., & Cole, R. J. (2002). Effect of application of nontoxigenic strains of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* on subsequent aflatoxin contamination of peanuts in storage. *Journal of Stored Products Research*, 38(4), 329-339.
- Doster, M. A. and T. J. Michailides. 1995. The relationship between date of hull splitting and decay of pistachio nuts by *Aspergillus* species. *Plant Dis* 79:766–769.
- Dutton, M. F. 1996. Fumonisin, mycotoxins of increasing importance: Their nature and their effects. *Pharmacol Ther* 70:137–161.
- Dwarakanath, C.T., E. T. Rayner, G. E. Mann. and F. G. Dollear. 1968. Reduction of aflatoxin levels in cottonseed and peanut meals by ozonation. *J Am Oil Chem Soc* 45:93-95.
- Eaton, D. L., H. S. Ramsdell, and G. E. Neal. 1994. Biotransformation of aflatoxins. Pp. 45–72. In D. L. Eaton and J. D. Groopman (Eds.). *The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance*. Academic Press, New York.
- Ellis, W. O., Smith, J. P., Simpson, B. K., & Oldham, J. H. (1991). *Aflatoxins in food: occurrence, biosynthesis, effects on organisms, detection, and methods of control*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 30, 403e439.
- Engel, E., Batty, C., Le Corre, D., Souchon, I., Martin, N., 2002. Flavor-active compounds potentially implicated in cooked cauliflower acceptance. *J. Agric. Food Chem.* 50, 6459–6467.
- European Commission. 1997. *Reports on Tasks for Scientific Cooperation. Assessment of dietary intake of ochratoxin A by the population of EU Member States*. Report EUR 17523 EN. European Commission, Directorate-General for Industry, Brussels, Belgium.
- European Commission. 2011. RASFF The Rapid Alert System for Food and Feed. 2011 *Annual Report*
- Farag, R. S., M. M. Rashed, and A. A. Abo-Hagger. 1996. Aflatoxin destruction by microwave heating. *Intl J Food Sci Nutri* 47:197–208.
- Feuell, A.J., 1966. Aflatoxin in ground nuts. Problems of detoxification. *Trop. Sci.* 8, 61–70.
- Feuell, A. J. 1977. Aflatoxin in groundnuts. IV. Problems of detoxification. *Trop Sci* 8:61.
- Frank, M. 1999. HACCP and its mycotoxin control potential: An evaluation of Ochratoxin A in coffee production. Pp. 1–11. *Proceedings of the Third Joint FAO/WHO/UNEP International Conference on Mycotoxins*, Tunis.

- Food and Agriculture Organization. 1993. *Sampling Plans for Aflatoxin Analysis in Peanuts and Corn*. FAO Food and Nutrition Paper 55. Rome, Italy. 76 pp.
- Food and Agriculture Organization. 1997. *Worldwide Regulations for Mycotoxins 1995. A Compendium*. FAO Food and Nutrition Paper 64, Rome, Italy.
- Forgacs, J. and W. T. Carll. 1955. Preliminary mycotoxic studies on hemorrhagic disease in poultry. *Vet Med* 50:172.
- Galvano, F., A. Piva, A. Ritieni, and G. Galvano. 2001. Dietary strategies to counteract the effects of mycotoxins: A review. *J Food Protect* 64:120–131.
- Gardner, H. K., Jr., S. P. Koltun, F. G. Dollear, and E. T. Rayner. 1971. Inactivation of aflatoxins in peanut and cotton seed meals by ammoniation. *J Am Oil Chem Soc* 48:70–73.
- Gelderblom, W. C. A., P. G. Thiel, and K. J. van der Merwe. 1988a. The role of rat liver microsomal enzymes in the metabolism of the fungal metabolite, fusarin C. *Food Chem Toxicol* 26:31–36.
- Gelderblom, W. C. A., K. Jaskiewicz, W. F. O. Marasas, P. G. Thiel, R. M. Horak, R. Vlegaar, and N. P. J. Kriek. 1988b. *Fumonisin: Novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by Fusarium moniliforme*. *Appl Environ Microbiol* 54:1806–1811.
- Gilbert, J. 1991. Regulatory aspects of mycotoxins in the European Community and the USA. Pp. 194–197. In B. R. Champ, E. Higley, A. D. Hocking, and J. Pitt (Eds.). *Fungi and Mycotoxins in Stored Products*. Australian Center for International Agricultural Research Proceedings No. 36. Canberra, Australia.
- Giray, B., Girgin, G., Engin, A. B., Aydın, S., & Sahin, G. (2007). Aflatoxin levels in wheat samples consumed in some regions of Turkey. *Food Control*, 18(1), 3e29.
- Goldblatt, L. A. and F. G. Dollear. 1977. Detoxification of contaminated crops. Pp. 139–150. In J. V. Rodricks, C. W. Hesseltine, and M. A. Mehlman (Eds.). *Mycotoxins in Human and Animal Health*. Pathotox Publishers, Inc., Park Forest South, Illinois.
- Goldblatt, L. A. and F. G. Dollear. 1979. Modifying mycotoxin contamination in feeds: Use of mold inhibitors, ammoniation, roasting. Pp. 167–184. *In Interactions of Mycotoxins in Animal Production*. National Academy of Sciences, Washington, D.C.
- Gorran Akbar, Mohsen Farzaneh, Mahmud Shivazad, Maryam Rezaeian, Alireza Ghassempour. 2013. Aflatoxin B₁-reduction of *Aspergillus flavus* by three medicinal plants (Lamiaceae). *Food Control* 31 (2013) 218-223
- Graham, D. M. (1997). Use of ozone for food processing. *Food Technology*, 51, 72e75.
- Grove, J. F. 1988. Non-macrocytic trichothecenes. *Natural Products Reports* 5:187–209.
- Guengerich, F. P., Johnson, W. W., Ueng, Y. F., Yamazaki, H., & Shimada, T. (1996). Involvement of cytochrome P450, glutathione S-transferase, and epoxide hydrolase in the metabolism of aflatoxin B₁ and relevance to risk of human liver cancer. *Environmental Health Perspectives*, 104(Suppl. 3), 557e562.

- Hagler, W. M., Jr. 1991. Potential for detoxification of mycotoxin contaminated commodities. Pp. 253–269. In G. Bray and D. Ryan (Eds.). *Mycotoxins, Cancer and Health*. Louisiana State University Press, Baton Rouge.
- Hajhashemi, V., Ghannadi, A., & Pezeshkian, S. K. (2002). Antinociceptive and antiinflammatory effects of *Satureja hortensis* L. extracts and essential oil. *Journal of Ethnopharmacology*, 82(2e3), 83e87.
- Haliburton, J. C. and W. B. Buck. 1986. *Equine leucoencephalomalacia: An historical review*. Pp. 75–79. In J. L. Richard and J. R. Thurston (Eds.). *Diagnosis of Mycotoxicoses*. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht.
- Hall, A. J. and C. P. Wild. 1994. Epidemiology of aflatoxin-related disease. Pp. 233–258. In D. L. Eaton and J. D. Groopman (Eds.). *The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance*. Academic Press, San Diego, California.
- Hao, S. Y. Y., R. E. Brackett, and T. O. M. Nakayama. 1987. Removal of aflatoxin B1 from peanut milk by *Flavobacterium aurantiacum*. P. 15. In *Summary and Recommendations of the International Workshop on Aflatoxin Contamination of Groundnut*. ICRISAT Center, India.
- Harris, L. J. and S. C. Gleddie. 2001. A modified Rp13 gene from rice confers tolerance of the *Fusarium graminearum* mycotoxin deoxynivalenol to transgenic tobacco. *Physiol Mol Plant Pathol* 58:173–181.
- Hart, P. L. and O. Schabenberger. 1998. Variability of vomitoxin in truckloads of wheat in a wheat scab epidemic year. *Plant Dis* 82:625–630.
- He, P., L. G. Young, C. Forsberg. 1992. Microbial transformation of deoxynivalenol (Vomitoxin). *Appl Environ Microbiol* 58:3857–3863.
- Herzallah, S., Alshawabkeh, K., AL Fataftah, A., 2008. Aflatoxin Decontamination of Artificially Contaminated Feeds by Sunlight, g-Radiation, and Microwave Heating, Poultry Science Association. *J. Appl. Poultry Res.* 17, 515–521.
- Hoigne, J., & Bader, H. (1976). The role of hydroxyl radical reactions in ozonation processes in aqueous solutions. *Water Research*, 10, 377e386.
- Hoigne, H., & Bader, H. (1983). Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water. II. Dissociating organic compounds. *Water Research*, 17, 185e194.
- Hooshmand, H., Klopenstein, C.F., 1995. Effects of gamma irradiation on mycotoxin disappearance and aminoacid contents of corn, wheat, and soybeans with different moisture contents. *Plant Foods Hum. Nutr.* 47, 227–238.
- Horn, B. W., & Dorner, J. W. (2009). Effect of nontoxigenic *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* on aflatoxin contamination of wounded peanut seeds inoculated with agricultural soil containing natural fungal populations. *Biocontrol Science and Technology*, 19(3), 249-262.
- Howard, P.C., Churchwell, M.I., Couch, L.H., Marques, M.M., Doerge, D.R., 1998. Formation of N-(carboxymethyl)fumonisin B1, following the reaction of fumonisin B1 with reducing sugars. *J. Agric. Food Chem.* 46, 3546–3557.
- Huff, W. E. 1980. A physical method for the segregation of aflatoxin contaminated corn. *Cereal Chem* 57:236–238.

- Huff, W. E. and W. M. Hagler. 1982. Evaluation of density segregation as a means to estimate the degree of aflatoxin contamination of corn. *Cereal Chem* 59(2):152–153.
- Hungate, R. E. 1969. A roll tube method for cultivation of strict anaerobes. Pp. 117–132. In J. R. Norris and D. W. Ribbons (Eds.). *Methods in Microbiology*. Academic Press Inc., New York.
- Huopalahti, R. P., J. Ebel, Jr., and J. D. Henion. 1997. Supercritical fluid extraction of mycotoxins from feeds with analysis by LC/UV and LC/MS. *J Liq Chromatog Relat Technol* 20:537– 551.
- Hurburgh, C. R., Jr. 1991. Aflatoxin in midwestern corn. Pp 343– 357. In *Aflatoxin in Corn: New Perspectives*. Iowa State University Research Bulletin No. 599. Iowa State University, Ames.
- Hsieh, D. P. H., M. T. Lin, and R. C. Yao. 1973. Conversion of sterigmatocystin to aflatoxin B₁. *Biochem Biophys Res Comm* 52:992–997.
- Holzapfel, C. W. 1968. The isolation and structure of cyclopiazonic acid, a toxic metabolite of *Penicillium cyclopium* Westing. *Tetrahedron* 24:2101–2119.
- Inan, F., Pala, M., & Doymaz, I. (2007). Use of ozone in detoxification of aflatoxin B₁ in red pepper. *Journal of Stored Products Research*, 43, 425e429.
- International Agency for Research on Cancer. (1993). Some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. Lyon, France; IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans.
- International Agency for Research on Cancer. (2002). World Health Organization. IARC *monograph on the evaluation of carcinogenic risk to humans*, Vol. 82, p.168e171.
- Isolauri, E. (1991). A human *Lactobacillus* strain (*Lactobacillus casei* sp. strain GG) promotes recovery from acute diarrhea in children. *Pediatrics*, 88, 90e97.
- Isshiki, K., Tokuoka, K., Mori, R., Chiba, S., 1992. Preliminary examination of allyl isothiocyanate vapor for food preservation. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 56, 1476–1477.
- Ito, Y., S. W. Peterson, D. T. Wicklow, and T. Goto. 2001. *Aspergillus pseudotamarii*, a new aflatoxin producing species in *Aspergillus* section *flavi*. *Mycological Res* 105:233–239.
- Jackson, L. S. and L. B. Bullerman. 1999. Effect of processing on *Fusarium* mycotoxins. *Adv Exp Med Biol* 459:243–261.
- Jackson, L.S., Katta, S.K., Fingerhut, D.D., DeVries, J.W., Bullerman, L.B., 1997. Effects of baking and frying on the fumonisin B₁ content of corn-based foods. *J. Agric. Food Chem.* 45, 4800–4805.
- Jalili, M., Jinap, S., Adzahan, N., 2010a. Effect of gamma radiation on reduction of mycotoxins in blackpepper. *Food Control* 21, 1388–1393.
- Jalili M., S. Jinap, M. Noranizan. 2012. Aflatoxins and ochratoxin a reduction in black and white pepper by gamma radiation. *Radiation Physics and Chemistry* 81 (2012) 1786–1788
- Jelinek, C. F. 1987. Distribution of mycotoxin — *An analysis of worldwide commodities data, including data from FAO/WHO/ UNEP food contamination monitoring programme*. Joint FAO/ WHO/UNEP Second International

- Conference on Mycotoxins. Bangkok, Thailand, September 28 to October 3, 1987.
- Jelinek, C. F., A. E. Pohland, and G. E. Wood. 1989. Worldwide occurrence of mycotoxins in foods and feeds — and update. *J Assoc Off Anal Chem* 72:223–230.
 - Jewers, K. 1982. Mycotoxins in foods: The application of survey and quality control. *J Royal Soc Hlth* 102:114–118.
 - Jones, R. K., H. E. Duncan, G. A. Payne, and K. J. Leonard. 1980. Factors influencing infection by *Aspergillus flavus* in silk-inoculated corn. *Plant Dis* 64:859.
 - Jones, R. K., H. E. Duncan, and P. B. Hamilton. 1981. Planting date, harvest date, and irrigation effects on infection and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in field corn. *Phytopathology* 71:810.
 - Jones, J. (2003). *Aspergillus flavus* AF36: exemption from the requirement of a tolerance, final rule. *Fed Regist*, 68, 41535-41541.
 - Karami-Osboo, R., Mirabolfathy, M., Kamran, R., Shetab-Boushehri, M., & Sarkari, S. (2012). Aflatoxin B1 in maize harvested over 3 years in Iran. *Food Control*, 23(1), 271e274.
 - Kensler, T. W., E. F. Davis, and M. G. Bolton. 1994. Strategies for chemoprotection against aflatoxin-induced liver cancer. Pp. 281–306. In L. D. Eaton and J. D. Groopman (Eds.). *The Toxicology of Aflatoxins, Human Health, Veterinary Agricultural Significance*. Academic Press, New York.
 - Klich, M. A., L. H. Tiffany, and G. Knaphus. 1994. Ecology of the aspergilli of soils and litter. Pp. 329–353. In M. A. Klich and J. W. Bennett (Eds.). *Aspergillus Biology and Industrial Applications*. Butterworth-Heinemann, Boston.
 - Klich, M. A., Mullaney, E. J., Daly, C. B., & Cary, J. W. (2000). Molecular and physiological aspects of aflatoxin and sterigmatocystin biosynthesis by *A. tamarii* and *A. ochraceoroseus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53, 605e609.
 - Knutti, R. and C. Schlatter. 1978. Problems of determining aflatoxin in peanuts: Suggestions for a sampling and analysis plan for inspection of imports. *Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene* 69:264–274.
 - Kollarczik, B., M. Gareis, and M. Hanelt. 1994. In vitro transformation of the *Fusarium* mycotoxins deoxynivalenol and zearalenone by the normal gut microflora of pigs. *Natural Toxins* 2:105–110.
 - Kommedahl, T. and C. E. Windels. 1981. Root-, stalk-, and earinfecting *Fusarium* species on corn in the USA. Pp. 94–103. In P. E. Nelson, T. A. Toussoun, and R. J. Cook (Eds.). *Fusarium: Diseases, Biology, and Taxonomy*. The Pennsylvania State University Press, University Park, Pennsylvania.
 - Kozakiewicz, Z. 1989. *Aspergillus* species on stored products. *Mycol Papers* 161:1–188.
 - Krishnamurthy, Y. L., & Shashikala, J. (2006). Inhibition of aflatoxin B1 production of *Aspergillus flavus*, isolated from soybean seeds by certain natural plant products. *Letters in Applied Microbiology*, 43(5), 469-474.

- Krogh, P. 1977. Ochratoxins. Pp. 489–498. In J. V. Rodricks, C. W. Hesseltine, and M. A. Mehlman (Eds.). *Mycotoxins in Human and Animal Health*. Pathotox Publishers, Inc., Park Forest South, Illinois.
- Kuiper-Goodman, T, P. M. Scott, N. P. McEwen, G. A. Lombaert, and W. Ng. 1996. Risk assessment of fumonisins in corn-based foods in Canada. Pp. 369–393. In L. S. Jackson, J. W. DeVries, and L. B. Bullerman (Eds.). *Fumonisins in Food*. New York.
- Kurtz, H. J. and C. J. Mirocha. 1978. Zearalenone (F2) induced estrogenic syndrome in swine. Pp. 1256–1264. In T. D. Wyllie and L. G. Morehouse (Eds.). *Mycotoxic Fungi, Mycotoxins, Mycotoxicoses. Vol. 2*. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Kurtzman, C. P., B. W. Horn, and C. W. Hesseltine. 1987. *Aspergillus nomius*, a new aflatoxin-producing species related to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamaris*. *Antonie van Leeuwenhoek* 53:147–158.
- Lacey, J., N. Ramakrishna, A. Hamer, N. Magan, and I. C. Marfleet. 1991. Grain fungi. Pp. 121–177. In D. K. Aurora, K. G. Mukerji, and E. H. Marth (Eds.). *Handbook of Applied Mycology*. Vol. 3. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Leistner, L. 1984. Toxigenic Penicillia occurring in feeds and foods. In H. Kurata and Y. Ueno (Eds.). Pp. 162–171. *Toxigenic Fungi — Their Toxins and Health Hazard*. Elsevier Science Publishing Company, Inc., New York.
- Leslie, J. F. 1995. *Gibberella fujikuroi*: Available populations and variable traits. *Can J Botany* 73:S282–S291.
- Liu, R., Jin, Q., Tao, G., Shan, L., Huang, J., Liu, Y., et al. (2010). Photodegradation kinetics and byproducts identification of the aflatoxin B1 in aqueous medium by ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, 45, 553e559.
- Liu, R., Jin, Q., Tao, G., Shan, L., Liu, Y., & Wang, X. (2010). LC-MS and UPLCquadrupole time-of-flight MS for identification of photodegradation products of aflatoxin B1. *Chromatographia*, 71, 107e112.
- Logrieco, A., A. Moretti, F. Fornelli, V. Fogliano, A. Ritieni, M. F. Caiaffa, G. Randazzo, A. Bottalico, and L. Macchia. 1996. Fusaproliferin production by *Fusarium subglutinans* and its toxicity to *Artemia salina*, SF-9 insect cells, and human B lymphocytes. *Appl Environ Microbiol* 62:3378–3384.
- Lopez-Garcia, R. 2001. Mycotoxin management: An integrated approach. Pp. 261–277. In W. J. de Koe, R. A. Sampson, H. P. van Egmond, J. Gilbert, and M. Sabino (Eds.). *Mycotoxins and Phycotoxins in Perspective at the Turn of the Millennium*. W. J. de Koe (Publisher), Wageningen, The Netherlands.
- Lu, Y., Clifford, L., Hauck, C.C., Hendrich, S., Osweiler, G., Murphy, P.A., 2002. Characterization of fumonisin B(1)-glucose reaction kinetics and products. *J. Agric. Food Chem.* 50, 4726–4733.
- Luciano, F.B., Holley, R.A., 2009. Enzymatic inhibition by allyl isothiocyanate and factors affecting its antimicrobial action against *Escherichia coli* O157:H7. *Int. J. Food Microbiol.* 131, 240–245.
- Luo Xiaohu, Ren Wang, Li Wang, Yong Wang, Zhengxing Chen. 2013. Structure elucidation and toxicity analyses of the degradation products of aflatoxin B1 by aqueous ozone. *Food Control* 31 (2013) 331-336

- Mace, K., Augilar, F., Wang, J. S., & Pfeifer, A. M. (1997). AFB1 induced DNA adduct formation and p53 mutation in CYP450 expressing human liver cell lines. *Carcinogenesis*, 18(7), 1291-1297.
- Maeba, H., Y. Takamoto, M. Kamimura, and T. Miura. 1988. Destruction and detoxification of aflatoxins with ozone. *J Food Sci* 53:667–668.
- Maing, I. Y., Ayres, J. C., & Koehler, P. E. (1973). Persistence of aflatoxin during the fermentation of soy sauce. *Applied Microbiology*, 25(6), 1015-1017.
- Malone, B. M., C. W. Humphrey, T. R. Romer, and J. L. Richard. 1998b. One-step solid-phase extraction cleanup and fluorometric analysis of deoxynivalenol in grains. *JAOAC Intl* 81:448–452.
- Manetti, C., V. Fogliano, A. Ritieni, A. Santini, G. Randazzo, A. Logrieco, L. Mannina, and A. L. Segre. 1995. Determination of the structure of fusaproliferin by 1H-NMR and distance geometry. *Struct Chem* 6:183–189.
- Mann, G. E., L. P. Codifer, Jr., and F. G. Dollear. 1967. Effect of heat on aflatoxins in oilseed meals. *J Agric Food Chem* 15:1090.
- Mann, G. E., L. P. Codifer, Jr., H. K. Gardner, S. P. Koltun, and F. G. Dollear. 1970. Chemical inactivation of aflatoxins in peanut and cotton seed meals. *J Am Oil Chem Soc* 47:173–176.
- Marasas, W. F. O., F. C. Wiener, S. J. van Rensburg, and D. J. van Schalkwyk. 1981. Mycoflora of corn produced in human esophageal cancer areas in Transkei, southern Africa. *Phytopathology* 71:792–796.
- Marasas, W. F. O., P. E. Nelson, and T. A. Toussoun. 1984b. *Toxigenic Fusarium Species: Identity and Mycotoxicology*. The Pennsylvania State University Press, University Park, Pennsylvania.
- Marasas, W. F. O., T. S. Kellerman, W. C. A. Gelderblom, J. A. W. Coetzer, P. G. Thiel, and J. J. van der Lugt. 1988b. Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B1, isolated from *Fusarium moniliforme*. *Onderstepoort J Vet Res* 55:197–203.
- Maric, A. 1981. *Fusarium* diseases of wheat and corn in eastern Europe and the Soviet Union. Pp. 77–93. In P. E. Nelson, T. A. Toussoun, and R. J. Cook (Eds.). *Fusarium: Diseases, Biology, and Taxonomy*. The Pennsylvania State University Press, University Park.
- Marin, S., V. Sanchis, R. Saenz, A. J. Ramos, I. Vinas, and N. Magan. 1998a. Ecological determinants for germination and growth of some *Aspergillus* and *Penicillium spp.* from grain. *J Appl Microbiol* 84:25–36.
- Marin, S., V. Sanchis, A. J. Ramos, I. Vinas, and N. Magan. 1998b. Environmental factors, in vitro interactions, and niche overlap between *Fusarium moniliforme*, *F. proliferatum*, and *F. graminearum*, *Aspergillus* and *Penicillium* species from maize grain. *Mycol Res* 102:831–837.
- Marija, M. S., & Nevena, T. N. (2009). Antimicrobial effects of spices and herbs essential oils. *Acta Periodica Technologica*. APTEFF, 40, 195e209.
- Marth, E. H. and M. P. Doyle. 1979. Update on molds: Degradation aflatoxin. *Food Technol* 33:81–87.
- Masri, M. S., H. L. E. Vix, and L. A. Goldblatt. 1969. Process for detoxifying substances contaminated with aflatoxin. United States Patent 3,429,709.

- Mateo, J.J., Jiménez, M., 2000. Trichothecenes and fumonisins produced in autoclaved tiger nuts by strains of *Fusarium sporotrichioides* and *Fusarium moniliforme*. *Food Microbiol.* 17, 167–176.
- McGee, D. C., O. M. Olanya, and G. M. Hoyos. 1996. Populations of *Aspergillus flavus* in the Iowa cornfield ecosystems in years not favorable for aflatoxin contamination of corn grain. *Plant Dis* 80:742–746.
- McKenzie, K. S., Sarr, A. B., Mayura, K., Bailey, R. H., Miller, D. R., Rogers, T. D., et al. (1997). Oxidative degradation and detoxification of mycotoxins using a novel source of ozone. *Food and Chemical Toxicology*, 35, 807e820.
- McKenzie, K. S., Kubena, L. F., Denvir, A. J., Rogers, T. D., Hitchens, G. D., Bailey, R. H., et al. (1998). Aflatoxicosis in turkey poults is prevented by treatment of naturally contaminated corn with ozone generated by electrolysis. *Poultry Science*, 77, 1094e1102.
- Mclean, M., & Dutton, M. F. (1995). Cellular interactions and metabolism of aflatoxin: an update. *Pharmacology & Therapeutics*, 65(2), 163-192
- McMullen, M., R. Jones, and D. Gallenberg. 1997. Scab of wheat and barley: A re-emerging disease of devastating impact. *Plant Dis* 81:1340–1348.
- Meca, G., Fernanández-Franzón, M., Ritieni, A., Font, G., Ruiz, M.J., Mañes, J., 2010. Formation of fumonisin B1-glucose reaction product, in vitro cytotoxicity, and lipid peroxidation on kidney cells. *J. Agric. Food Chem.* 58, 1359–1365.
- Molinié, A., Faucet, V., Castegnaro, M., Pfohl-Leszkowicz, A., 2005. Analysis of some breakfast cereals on the French market for their contents of ochratoxin A, citrinin and fumonisin B1: development of a method for simultaneous extraction of ochratoxin A and citrinin. *Food Chem.* 92, 391–400.
- Moretti, A., A. Logrieco, A. Bottalico, A. Ritieni, V. Fogliano, and G. Randazzo. 1996. Diversity in beauvericin and fusaproliferin production by different populations of *Gibberella fujikuroi* (*Fusarium* Section *Liseola*). *Sydowia* 48:44–56.
- Moricz, A. M., Adanyi, N., Horvath, E., Ott, P. G., & Tyihak, E. (2008). Applicability of the BioArena system to investigation of the mechanisms of biological effects. *JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC*, 21, 417e422.
- Moricz, A. M., Ott, P. G., Billes, F., Otta, K. H., & Tyihak, E. (2007). The influence of L-ascorbic acid on the antibacterial-toxic activity of aflatoxins on adsorbent layer. *Journal of Applied Microbiology*, 103, 2525e2532.
- Moy, G. G. 1998. Roles of national governments and international agencies in the risk analysis of mycotoxins. Pp. 483–496. In K. K. Sinha and D. Bhatnagar (Eds.). *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety*. Marcel Dekker, New York.
- Munkvold, G. P. and A. E. Desjardins. 1997. Fumonisins in maize: Can we reduce their occurrence? *Plant Dis* 81:556–565.
- Munkvold, G. P. and H. M. Stahr. 1994. Ear rots and mycotoxins in Iowa corn. *Phytopathology* 84:1064 (abstract).
- Munkvold, G. P., H. M. Stahr, A. Logrieco, A. Moretti, and A. Ritieni. 1998. Occurrence of fusaproliferin and beauvericin in *Fusarium*-contaminated livestock feed in Iowa. *Appl Environ Microbiol* 64:3923–3926.

- Musser, S. M. 1996. Quantitation and identification of fumonisins by liquid chromatography/mass spectrometry. Pp. 65–74. In L. S. Jackson, J. W. Devries, and L. B. Bullerman (Eds.). *Fumonisins in Food*. Plenum Press, New York.
- Naguib, K. M., Hassan, N. S., El-Nekeety, A. A., Ibrahim, M. I., Mohamed, S. R., & Abdel-Wahhab, M. A. (2011). Safety use of ozone gas in the degradation of aflatoxin in tobacco and prevention its toxicity in rats. *Toxicology Letters*, 205, S144.
- Natarajan, K. R., K. C. Rhee, C. M. Cater, and K. F. Mattil. 1975. Distribution of aflatoxins in various fractions separated from raw peanuts and defatted peanut meal. *J Am Oil Chem Soc* 52:44–47.
- National Peanut Council. Peanut Quality Task Force. 1988. U.S. *Peanut Quality: An industry Commitment: Consensus Report of the Peanut Quality Task Force*. National Peanut Council. 48 pp.
- Neish, G. A., E. R. Farnworth, R. Greenhalgh, and J. C. Young. 1983. Observations on the occurrence of *Fusarium* species and their toxins in corn in eastern Ontario. *Can J Plant Pathol* 5:11–16.
- Nelson, P. E., T. A. Toussoun, and W. F. O. Marasas. 1983. *Fusarium Species: An Illustrated Manual for Identification*. The Pennsylvania State University Press, University Park, Pennsylvania.
- Nemati, M., Mehran, M. A., Hamed, P. K., & Masoud, A. (2010). A survey on the occurrence of aflatoxin M₁ in milk samples in Ardabil, Iran. *Food Control*, 21(7), 1022e1024.
- Niño-Serrano J.C., A. Cavazos-Garduño , A. Hernandez-Mendoza , B. Applegate , M.G. Ferruzzi , M.F. San Martin-González , H.S. García. 2013. Assessment of probiotic strains ability to reduce the bioaccessibility of aflatoxin M₁ in artificially contaminated milk using an *in vitro* digestive model. *Food Control* 31 (2013) 202-207
- Northolt, M. D., H. P. van Egmond, P. Soentoro, and E. Deijll. 1980. Fungal growth and presence of sterigmatocystin in hard cheese. *J Assoc Off Anal Chem* 63:115–117.
- O'Donnell, K. and E. Cigelnik. 1997. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. *Mol Phylogenet Evol* 7:103–116.
- Omidbeygi, M., Barzegar, M., Hamidi, Z., & Naghdibadi, H. (2007). Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. *Food Control*, 18(12), 1518e1523.
- Ominski, K. H., R. R. Marquardt, R. N. Sinha, and D. Abramson. 1994. Ecological aspects of growth and mycotoxin production by storage fungi. Pp. 287–312. In J. D. Miller and H. L. Trenholm (Eds.). *Mycotoxins in Grain: Compounds Other than Aflatoxin*. Eagan Press, St. Paul, Minnesota.
- Orrhage, K., Sillerstrom, E., Gustafsson, J. A., Nord, C. E., & Rafter, J. (1994). Binding of mutagenic heterocyclic amines by intestinal and lactic acid bacteria. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanism of Mutagenesis*, 311, 239e248.
- Park, D. L., L. S. Lee, and S. A. Kolton. 1984. Distribution of ammonia-related aflatoxin reaction products in cottonseed meal. *J Am Oil Chem Soc* 61:1071–1074.

- Park, D. L., L. S. Lee, R. L. Price, and A. E. Pohland. 1988. Review of the decontamination of aflatoxins by ammoniation: Current status and regulation. *J Assoc Off Anal Chem* 71:685–703.
- Park, D. L., S. M. Rua, Jr., M. J. Weuc, E. S. Rigsby, H. Njapau, T. B. Whitaker, and K. V. Jorgensen. 1991c. Determination of sampling variation for aflatoxin concentrations in whole cottonseed. P. 243. In *Proceedings of the Association of Official Analytical Chemists*. 105th AOAC Annual Meeting, Phoenix, Arizona, August 14–21, 1991.
- Park, J. J., E. B. Smalley, and F. S. Chu. 1996. Natural occurrence of *Fusarium* mycotoxins in field samples from the 1992 Wisconsin corn crop. *Appl Environ Microbiol* 62:1642–1648.
- Payne, G. A. 1992. Aflatoxin in maize. *Crit Rev Plant Sci* 10(5):423–440.
- Payne, G. A. 1998. Process of contamination by aflatoxin-producing fungi and their impact on crops. Pp. 279–306. In K. K. S. Sinha and D. Bhatnagar (Eds.). *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety*. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Payne, G. A., W. M. Hagler, Jr, and C. R. Adkins. 1988. Aflatoxin accumulation in inoculated ears of field-grown maize. *Plant Dis* 72:422–424.
- Pestka, J. J. 1994. Application of immunology to the analysis and toxicity assessment of mycotoxins. *Food Agric Immunol* 6:219– 234.
- Pestka, J. J. 1995. Fungal toxins in raw and fermented meats. Pp. 194–216. In G. Campbell-Platt and P. E. Cook (Eds.). *Fermented Meats*. Blackie Academic and Professional, Glasgow, U.K.
- Phillips, T. D., B. A. Clement, and D. L. Park. 1994. Approaches to reduction of aflatoxin in foods and feeds. Pp. 383–406. In L. D. Eaton and J. D. Groopman (Eds.). *The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary Agricultural Significance*. Academic Press, New York.
- Plattner, R. D. 1995. Detection of fumonisins produced in *Fusarium moniliforme* cultures by HPLC with electrospray MS and evaporative light scattering detectors. *Natural Toxins* 3:294– 298.
- Prado, G.,Carvalho, E.P.D.,Oliveira, M.S.,Madeira, J.G.C.,Morais, V.D.,Correa, R.F., Cardoso, V.N.,Soares, T.V.,Silva, J.F.M.D.,Gonc-alves, R.C.P.,2003. Effect of gamma irradiation on the inactivation of aflatoxin B1 and fungal flora in peanut. *Braz.J.Microbiol.* 34,138–140.
- Prelusky, D. B., J. D. Miller, and H. L. Trenholm. 1996a. Disposition of ¹⁴C-derived residues in tissues of pigs fed radiolabelled fumonisin B1. *Food Addit Contam* 13:155–162.
- Prudente, A. D., Jr., & King, J. M. (2002). Efficacy and safety evaluation of ozonation to degrade aflatoxin in corn. *Journal of Food Science*, 67, 2866e2872.
- Queirol, M.A.P.,Neto,J.T.,Arthur,V.,Wiendl,F.M.,Villavicencio,A.H.,2002. Gamma radiation, cold and four different wrappings to preserve ginger rhizomes, *Zingiber officinallis* Roscoe. *Radiat. Phys. Chem.*63,341–343.
- Rasooli, I., & Abyaneh, M. R. (2004). Inhibitory effects of thyme oils on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *Food Control*, 15(6), 479e483.
- Rayner, E. T., S. P. Koltun, and F. G. Dollear. 1977. Solvent extraction of aflatoxins from contaminated agricultural products. *J Am Oil Chem Soc* 54:242A–244A.

- Reddy, K. R. N., Reddy, C. S., & Muralidharan, K. (2009). Potential of botanicals and biocontrol agents on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* infecting rice grains. *Food Control*, 20(2), 173e178.
- Rehacek, Z. and P. Sajdl. 1990. Ergot alkaloids: chemistry, biological effects, biotechnology. In *Bioactive Molecules*. Vol. 12. Elsevier, New York.
- Reid, L. M., A. T. Bolton, R. I. Hamilton, T. Woldemariam, and D. E. Mather. 1992. Effect of silk age on resistance of maize to *Fusarium graminearum*. *Can J Plant Pathol* 14:293–298.
- Remington, R. D. and M. A. Schrok. 1970. *Statistics and Applications to the Biological and Health Sciences*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.
- Ren, Y., Zhang, Y., Shao, S., Cai, Z., Feng, L., Pan, H., et al. (2007). Simultaneous determination of multi-component mycotoxin contaminants in foods and feeds by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1143, 48e64.
- Richard, J. L., T. J. Dvorak, and P. F. Ross. 1996a. Natural occurrence of gliotoxin in turkeys infected with *Aspergillus fumigatus* Fresenius. *Mycopathologia* 134:167–170.
- Ritieni, A., V. Fogliano, G. Randazzo, A. Scarallo, A. Logrieco, A. Moretti, L. Mannina, and A. Bottalico. 1995. Isolation and characterization of fusaproliferin, a new toxic metabolite from *Fusarium proliferatum*. *Natural Toxins* 3:17–20.
- Ritieni, A., S. M. Monti, G. Randazzo, A. Logrieco, A. Moretti, G. Peluso, R. Ferracane, and V. Fogliano. 1997a. Teratogenic effects of fusaproliferin on chicken embryos. *J Agric Food Chem* 45:3039–3043.
- Ritieni, A., A. Moretti, A. Logrieco, A. Bottalico, R. Giacomino, S. M. Monti, R. Ferracane, and V. Fogliano. 1997b. Occurrence of fusaproliferin, fumonisin B1 and beauvericin in maize from Italy. *J Agric Food Chem* 45:4011–4016.
- Robens, J. F., & Richard, J. L. (1992). Aflatoxins in animal and human health. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*(127), 69-94.
- Rogers, A. E. 1994. Nutritional modulation of aflatoxin carcinogenesis. Pp. 207–232. In L. D. Eaton and J. D. Groopman (Eds.). *The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance*. Academic Press, New York.
- Salminen, S., Boyley, C., Boultron-Ruault, M. C., Cummings, J. H., Frank, A., Gibson, G. R., et al. (1998). Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Journal of Nutrition*, 80, 147e171.
- Salminen, S., Ouwehand, A. C., Von Wright, A., & Daly, C. (2004). Future aspects of research and product development of lactic acid bacteria. In S. Salminen, A. Von Wright, & A. C. Ouwehand (Eds.), *Chapter 2: Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects* (3rd ed.). New York: Marcel Dekker, Inc.
- Samarajeewa, U., A. C. Sen, S. Y. Fernando, E. M. Ahmed, and C. I. Wei. 1991. Inactivation of aflatoxin B1 in corn meal, copra meal and peanuts by chlorine gas treatment. *Food Chem Toxicol* 29:41–47.
- Sauer, D. B., R. A. Meronuck, and C. M. Christensen. 1992. Microflora. Pp. 313–340. In D. B. Sauer (Ed.). *Storage of Cereal Grains and Their Products*. 4th ed. American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, Minnesota.
- Schatzki, T. F. 1995. Distribution of aflatoxin in pistachios. 2. Distribution in freshly harvested pistachios. *J Agric Food Chem* 1566–1569.

- Schatzki, T. F. and W. J. de Koe. 1999. *Distribution of aflatoxin in pistachios. Seller's and Buyer's Risk*. Pp. A-E. American Chemical Society, Washington, D.C.
- Schatzmayr, G., J. Binder, N. Thimm, D. Heidler, R. Braun, and E. M. Binder. 2000. IUPAC *Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins* (Abstract). Guariyá, Brazil, May 21–25, 2000.
- Schiffrin, E. J., Brassart, D., Servin, A. L., Rochat, F., & Donnet-Hughes, A. (1997). Immune modulation of blood leucocytes in humans by lactic acid bacteria: criteria for strain selection. *American Journal of Clinical Nutrition*, 66, 515e520.
- Scott, P. M. 1981. Toxins of *Penicillium* species used in cheese manufacture. *J Food Prot* 44:702–710.
- Scott, P. M. 1984. The occurrence of vomitoxin (deoxynivalenol, DON) in Canadian grains. Pp. 182–189. In H. Kurata and Y. Ueno (Eds.). *Toxic fungi — Their Toxins and Health Hazard*. Elsevier Scientific Publishing Company, Inc., New York.
- Scott, P. M. 1994. *Penicillium* and *Aspergillus* toxins. Pp. 261– 285. In J. D. Miller and H. L. Trenholm (Eds.). *Mycotoxins in Grain: Compounds Other Than Aflatoxin*. Eagan Press, St. Paul, Minnesota.
- Scott, P. M. and M. W. Trucksess. 1997. Application of immunoaffinity columns to mycotoxin analysis. *J Assoc Off Anal Chem Intl* 80:941–949.
- Scott, P. M., S. R. Kanhere, and D. Weber. 1993. Analysis of Canadian and imported beers for *Fusarium* mycotoxins by gas chromatography-mass spectrometry. *Food Addit Contam* 10:381–389.
- Shantha, T. 1987. Detoxification of groundnut seed and products in India. P. 16. In *Summary and Recommendations of the International Workshop on Aflatoxin Contamination of Groundnut*. ICRISAT Center, India.
- Shantha, T. and M. Sreenivasa. 1977. Photo-destruction of aflatoxin in groundnut oil. *Indian J Technol* 15:453.
- Shephard, G. S., P. G. Thiel, S. Stockenstrom, and E. W. Sydenham. 1996. Worldwide survey of fumonisin contamination of corn and corn-based products. *J Assoc Off Anal Chem Intl* 79:671–687.
- Shim, S. M., Ferruzzi, M. G., Kim, Y., Janle, E. M., & Santerre, C. R. (2009). Impact of phytochemical-rich foods on bioaccessibility of mercury from fish. *Food Chemistry*, 112, 46e50.
- Sinha, K. K. and D. Bhatnagar (Eds.). 1998. *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety*. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Stark, A. A., Y. Gal, and G. Shaulsky. 1990. Involvement of singlet oxygen in photoactivation of aflatoxins B₁ and B₂ to DNA binding forms in vivo. *Carcinogenesis* 11:529–534.
- Stoloff, L. 1975. Patulin, a contaminant of apple juice. *New York State Ag Expt Sta Spec Report* 19:51–54.
- Stoloff, L. 1986. A rationale for the control of aflatoxin in human foods. Pp. 457-472. In P.S. Steyn and R. Vleggaar (Eds.). *Mycotoxins and Phycotoxins*. A collection of invited papers presented at the Sixth International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins, Pretoria, Republic of South Africa, July 22-25, 1985. Elsevier Scientific Publishing Co., Amsterdam, The Netherlands.

- Stoloff, L., H. P. van Egmond, and D. L. Park. 1991. Rationales for the establishment of limits and regulations for mycotoxins. *Food Addit Contam* 8:213–222.
- Subaj, M., Racova, J., Polovka, M., Brezova, V., 2006. Effect of γ -irradiation on antioxidant activity of black pepper (*Piper nigrum* L.). *Food Chem.* 97,696–704.
- Summerell, B. A., J. F. Leslie, D. Backhouse, W. L. Bryden, and L. W. Burgess. 2001. *Fusarium: Paul E. Nelson Memorial Symposium*. APS Press, St. Paul, Minnesota. 392 pp.
- Sutton, J. C. 1982. Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. *Can J Plant Pathol* 4:195–209.
- Sydenham, E. W. and G. S. Shephard. 1997. Chromatographic and allied methods of analysis for selected mycotoxins. Pp. 65–146. In J. Gilbert (Ed.). *Progress in Food Contaminant Analysis*. Chapman and Hall, New York.
- Trager, W. and L. Stoloff. 1967. Possible reactions for aflatoxin detoxification. *J Agric Food Chem* 15:679–681.
- Trenholm, H. L., B. K. Thompson, K. E. Hartin, R. Greenhalgh, and A. J. McAllister. 1985. Ingestion of vomitoxin (deoxynivalenol)-contaminated wheat by nonlactating dairy cows. *J Dairy Sci* 68:1000–1005.
- Trucksess, M. W. 1998. Mycotoxins. *JAOAC Intl* 81:128–137.
- Trucksess, M. W. 2001. Rapid analysis (thin layer chromatographic and immunochemical methods) for mycotoxins in foods and feeds. In W. J. de Koe, R. A. Samson, H. P. van Egmond, J. Gilbert, and M. Sabino. *Mycotoxins and Phycotoxins in Perspective at the Turn of the Millennium. Proceedings of the Tenth International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins*, Guarujá, Brazil, May 21–25, 2000,.
- Trucksess, M. W., G. E. Wood, R. M. Eppley, K. Young, C. K. Cohen, S. W. Page, and A. E. Pohland. 1986. Occurrence of deoxynivalenol in grain and grain products. In S. Barry, G. Llewellyn, and C. O’Rear (Eds.). *Biodeterioration* 6:243–247. The Cambrian News Ltd., Aberystwyth.
- Tudzynski, P., K. B. Tenberge, and B. Oeser. 1995. *Claviceps purpurea*. Pp. 161–187. In K. Kohmoto, U. S. Singh, and R. P. Singh (Eds.). *Pathogenesis and Host Specificity in Plant Diseases: Histopathological, Biochemical, Genetic and Molecular Bases*. Elsevier Science Ltd., Tarrytown, New York.
- Turner, W. B. 1978. *Fungal Metabolites*. Academic Press, London, U.K.
- Turner, W. B. and D. C. Alderidge. 1983. *Fungal Metabolites II*. Academic Press, London, U.K.
- U.S. Department of Agriculture. 1983. *Grain Inspection Handbook, Grain Grading Procedures*. Grain Inspection Packers and Stockyard Administration, Washington, D.C.
- U.S. Department of Agriculture. 2001. (<http://www.usda.gov/gipsa/programsfgis/inspwgh/commodities/proccom2.htm>) P. 171. (20 June 2002)
- Ueno, Y. 1974. Citreoviridin from *Penicillium citreoviride* Biourge. Pp. 283–302. In I. F. H. Purchase (Ed.). *Mycotoxins*. Elsevier, New York.
- Ueno, Y. and I. Ueno. 1972. Isolation and acute toxicity of citreoviridin, a neurotoxic mycotoxin of *Penicillium citreoviride* Biourge. *Jpn J Exp Med* 42:91–105.

- van Egmond, H. P. 1989a. Aflatoxin M1 occurrence, toxicity, regulation. Pp. 11–55. In H. P. van Egmond (Ed.). *Mycotoxins in Dairy Products*. Elsevier Applied Science Publishers LTD, Barking, Essex, England.
- van Egmond, H. P. 1989b. Current situation on regulations for mycotoxins. Overview of tolerances and status of standard methods of sampling and analysis. *Food Addit Contam* 6:139–188.
- van Egmond, H. P. 1991. Regulatory aspects of mycotoxins in Asia and Africa. Pp. 198–204. In B. R. Champ, E. Higley, A. D. Hocking, and J. Pitt (Eds.). *Fungi and Mycotoxins in Stored Products*. Australian Center for International Agricultural Research Proceedings No. 36. Canberra, Australia.
- van Egmond, H. P. 1994. Aflatoxins in milk: In foods and feeds. Pp. 365–382. In L. D. Eaton and J. D. Groopman (Eds.). *The Toxicology of Aflatoxins, Human Health Veterinary Agricultural Significance*. Academic Press, New York.
- van Egmond, H. P. and G. J. A. Speijers. 1994. Survey of data on the incidence of ochratoxin A in food and feed worldwide. *J Natural Toxins* 1994:125–144.
- Van het Hof, K. H., West, C. E., Weststrate, J. A., & Hautvast, J. G. (2000). Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoids. *Journal of Nutrition*, 130, 503e506.
- Velasco, J., T. B. Whitaker, and M. E. Whitten. 1975. Sampling cottonseed lots for aflatoxin contamination. *J Am Oil Chem Soc* 52:191–195.
- Versantvoort, C. M., Oomen, A. G., Van de Kamp, E., Rempelberg, C. J., & Sips, A. J. (2005). Applicability of an in vitro digestion model in assessing the bioaccessibility of mycotoxins from food. *Food and Chemical Toxicology*, 43, 31e40.
- Vigier, B., L. M. Reid, K. A. Seifert, D. W. Stewart, and R. I. Hamilton. 1997. Distribution and prediction of *Fusarium* species associated with maize ear rot in Ontario. *Can J Plant Pathol* 19:60–65.
- Visconti, A. and A. Bottalico. 1983. High levels of ochratoxin A and B in moldy bread responsible for mycotoxicosis in farm animals. *J Agric Food Chem* 31:1122–1123.
- Waibel, J. 1977. Sample size for the determination of aflatoxin in peanuts. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 73, Jahrgang Heft 11:353–357.
- Wang, F., Xie, F., Xue, X., Wang, Z., Fan, B., & Ha, Y. (2011). Structure elucidation and toxicity analyses of the radiolytic products of aflatoxin B1 in methanol-water solution. *Journal of Hazardous Materials*, 192, 1192e1202.
- Whitaker, T. B. 1977. Sampling granular foodstuffs for aflatoxin. *Pure Appl Chem* 49:1709–1711.
- Whitaker, T. B. and J. W. Dickens. 1979. Evaluation of the Peanut Administrative Committee testing program for aflatoxin in shelled peanuts. *Peanut Sci* 6:7–9.
- Whitaker, T. B., J. W. Dickens, and R. J. Monroe. 1972. Comparison of the observed distribution of aflatoxin in shelled peanuts to the negative binomial distribution. *J Am Oil Chem Soc* 49:590–593.
- Whitaker, T. B., J. W. Dickens, and R. J. Monroe. 1974a. Variability of aflatoxin test results. *J Am Oil Chem Soc* 51:214–218.
- Whitaker, T. B., J. W. Dickens, E. H. Wiser, and R. J. Monroe. 1974b. Development of a method to evaluate sampling plans used to estimate

- aflatoxin concentrations in lots of shelled peanuts. Information Bulletin, Technical Report Number 10. *Intl Union of Pure and Applied Chem.* 7 pp.
- Whitaker, T. B., M. E. Whitten, and R. J. Monroe. 1976. Variability associated with testing cottonseed for aflatoxin. *J Am Oil Chem Soc* 53:502–505.
 - Whitaker, T. B., J. W. Dickens, and R. J. Monroe. 1979b. Variability associated with testing corn for aflatoxin. *J Amer Oil Chem Soc* 56:789–794.
 - Whitaker, T. B., J. W. Dorner, F. E. Dowell, and F. G. Giesbrecht. 1992. Variability associated with chemically testing screened farmers' stock peanuts for aflatoxin. *Peanut Sci* 19:88–91.
 - Whitaker, T. B., F. E. Dowell, W. M. Hagler, Jr., F. G. Giesbrecht, and J. Wu. 1994. Variability associated with sampling, sample preparation, and chemical testing of farmers' stock peanuts. *J Assoc Off Anal Chem Intl* 77:107–116.
 - Whitaker, T. B., J. Springer, P. Defize, W. J. de Koe, and R. Coker. 1995. Evaluation of sampling plans used in the United States, United Kingdom, and The Netherlands to test raw shelled peanuts for aflatoxin. *J Assoc Off Anal Chem Intl* 78:1010–1018.
 - Whitaker, T. B., M. Trucksess, A. S. Johansson, F. G. Giesbrecht, W. M. Hagler, Jr., and D. T. Bowman. 1998. Variability associated with testing shelled corn for fumonisin. *J Assoc Offic Anal Chem Intl* 81:1162–1168.
 - Widstrom, N. W. 1996. The aflatoxin problem with corn grain. Pp 219–280. In D. Sparks (Ed.). *Advances in Agronomy*. Academic Press, New York.
 - Wienke, J. H., Marx, J. M., & Beynen, A. C. (1999). The concept of iron bioavailability and its assessment. *European Journal of Nutrition*, 38, 51e75.
 - Wild, C.P., Gong, Y.Y., 2010. Mycotoxins and human disease: a largely ignored global health issue. *Carcinogenesis* 31, 71–82.
 - Wilson, D. M. and D. Abramson. 1992. Mycotoxins. Pp. 341–391. In D. B. Sauer (Ed.). *Storage of Cereal Grains and Their Products*. American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, Minnesota.
 - Wilson, D. M. and G. A. Payne. 1994. Factors affecting *Aspergillus flavus* group infection and aflatoxin contamination of crops. Pp. 309–325. In D. L. Eaton and J. D. Groopman (Eds.). *The Toxicology of Aflatoxins*. Academic Press, New York.
 - Wood G.E. 1991. Mycotoxins in food and feed in the United States. *J Anim Sci* 70:3941-3949.
 - Wu, F., & Munkvold, G. P. (2008). Mycotoxins in ethanol co-products: modeling economic impacts on the livestock industry and management strategies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 3900e3911.
 - Xu Dan , Hongxin Wang, Yinzhi Zhang, Zhendong Yang, Xiulan Sun. 2013. Inhibition of non-toxigenic *Aspergillus niger* FS10 isolated from Chinese fermented soybean on growth and aflatoxin B1 production by *Aspergillus flavus*. *Food Control* (2013), doi: 10.1016/j.foodcont.2012.12.013.
 - Yoshizawa, T., H. Takeda, and T. Oli. 1983. Structure of a novel metabolite from deoxynivalenol, a trichothecene mycotoxin, in animals. *Agric Biolog Chem* 47(9):2133–2135.
 - Yoshizawa, T., A. Yamashita, and Y. Luo. 1994. Fumonisin occurrence in corn from high- and low-risk areas for human esophageal cancer in China. *Appl Environ Microbiol* 60(5):1626–1629.
 - Young, J. C. 1986. Reduction in levels of deoxynivalenol on contaminated corn by chemical and physical treatment. *J Agric Food Chem* 34:465–467.

- Young, J. C., L. M. Subryan, D. Potts, M. E. McLaren, and F. H. Gobran. 1986. Reduction in levels of deoxynivalenol in contaminated wheat by chemical and physical treatment. *J Agric Food Chem* 34:461–465.
- Yousef, A. E. and E. H. Marth. 1989. Use of ultraviolet energy to degrade aflatoxin M1 in raw or heated milk with and without added peroxide. *J Dairy Sci* 69:2243–2247.
- Zargari, A. (1990). *Medicinal plants*, Vol. 1. Tehran: Tehran University Press.
- Zhang, Y., 2004. Cancer-preventive isothiocyanates: measurement of human exposure and mechanism of action. *Mutat. Res.* 555, 173–190.
- Zhang, H. and J. Li. 1994. Detoxification of moniliformin. *Acta Microbiologica Sinica* 34:119–123.
- Zhang Qian, Ke Xiong, Eizo Tatsumi, Li-te Li, Hai-jie Liu. 2012. Elimination of aflatoxin B1 in peanuts by acidic electrolyzed oxidizing water. *Food Control* 27 (2012) 16-20
- Zorlugenc, B., Zorlugenc, F. K., Oeztekin, S., & Evliya, I. B. (2008). The influence of gaseous ozone and ozonated water on microbial flora and degradation of aflatoxin B1 in dried figs. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 3593e3597.