

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ



ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
«Μυκοτοξίνες στους ξηρούς καρπούς»

Επιβλέπων καθηγητής: Αντωνόπουλος Διονύσιος

Φοιτήτριες:

Σαλίασι Άννα

A.M. 17175

Μπουλάρι Μπαρέσα

A.M. 17169

Αθήνα, 2022

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ/ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Οι κάτωθι υπογεγραμμένες Άννα Σαλίασι του Μπουγιάρ, με αριθμό μητρώου 17175 και η Μπαρέσα Μπουλάρι με αριθμό μητρώου 17169 φοιτήτριες του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, δηλώνουμε υπεύθυνα ότι:

«Είμαστε συγγραφείς αυτής της πτυχιακής και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχαμε για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες κάναμε χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνουμε ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από εμάς αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μας, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μας ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μας».

Ο/Η Δηλών/ούσα



Ο/Η Δηλών/ούσα



Επιβλέπων καθηγητής: Αντωνόπουλος Διονύσιος

Μέλος Επιτροπής: Μπατρίνου Ανθμία

Μέλος Επιτροπής: Χούχουλα Δήμητρα

Περίληψη

Οι μυκοτοξίνες αποτελούν δευτερεύοντα προϊόντα ορισμένων μυκήτων και συνήθως οι άνθρωποι και τα ζώα τις προσλαμβάνουν μέσω της τροφής τους. Οι αφλατοξίνες, η φουμονισίνη, η ωχρατοξίνη Α είναι μερικές από την μεγάλη ποικιλία διαφορετικών μυκοτοξινών, που εντοπίζονται σε καλλιέργειες και μολύνουν τη συγκομιδή. Οι μυκοτοξίνες επηρεάζουν σημαντικά την υγεία των ανθρώπων, πλήττοντας όργανα, όπως το συκώτι ή τα νεφρά, ενώ μπορούν να αποβούν και θανατηφόρες για πολλά ζώα. Τα τρόφιμα που μολύνονται από μυκοτοξίνες είναι πολλά και οι ξηροί καρποί είναι ένα από τα πιο συχνά. Έχουν αναπτυχθεί ποικίλοι τρόποι ανίχνευσης και ταυτοποίησης μυκοτοξινών, ενώ πλέον υφίσταται και νομοθετικό πλαίσιο γύρω από αυτές. Ειδικά σε αναπτυσσόμενες χώρες, οι επιπτώσεις από τις μυκοτοξίνες είναι αρκετά σοβαρές και για αυτό κρίνεται απαραίτητο να συμβεί κάποια αλλαγή στον τρόπο αντιμετώπισης τους.

Abstract

Mycotoxins are secondary products of certain fungi. Humans and animals usually consume mycotoxins via food. Aflatoxins, fumonisin, ochratoxin A are some of the great arrays of mycotoxins, that are found in the field, contaminating the harvest. Mycotoxins significantly affect human health, affecting organs such as the liver or kidneys, and can be fatal to many animals. There are a lot of food and feed that mycotoxins contaminate and one of the most common one is the nuts and seeds. Various ways of detecting and identifying mycotoxins have been developed, and there is now a legal framework around them. Especially in developing countries, the effects of mycotoxins are quite serious and therefore it is necessary to make a change in the way they are treated.

Πίνακας περιεχομένων

Περίληψη.....	0
Abstract	4
Κεφάλαιο 1 ^ο Εισαγωγή.....	8
1.1 Πλαίσιο έρευνας.....	8
1.2 Ιστορική αναδρομή.....	10
1.3 Στόχοι εργασίας	11
1.4 Παράθεση κεφαλαίων	12
Κεφάλαιο 2 ^ο Μύκητες και Μυκοτοξίνες.....	13
2.1 Είδη μυκήτων	13
2.2 Ξεχωριστή αναφορά όλων των μυκήτων.....	17
2.3 Μυκοτοξίνες.....	20
2.3.1 Φυσικές και Χημικές ιδιότητες.....	23
2.3.2 Αφλατοξίνες	25
2.3.3 Ωχρατοξίνη Α.....	27
2.3.4 Φουμονισίνες.....	29
2.3.5 Τριχοθεκένια	32
2.3.6 Πατουλίνη.....	36
2.3.7 Ζεαραλεόνη	37
Κεφάλαιο 3 ^ο Παθογένεια	40
3.1 Παθογόνα αίτια και επιπτώσεις σε ζώα και ανθρώπους	40
3.2 Επιπτώσεις σε γεωργικές καλλιέργειες	53
Κεφάλαιο 4 ^ο Ξηροί καρποί.....	56
4.1 Κύριες τροφές ανάπτυξης μυκοτοξινών	56
4.2 Ξηροί καρποί-ορισμός.....	60
4.3 Χρήσεις ξηρών καρπών.....	61
4.4 Φιστίκια	63
4.4.1 Τα κελυφωτά φιστίκια	64
4.5 Αμύγδαλα	65
4.6 Φουντούκια	68
Κεφάλαιο 5 ^ο Ανίχνευση μυκοτοξινών	70
5.1 Νομοθεσία Διεθνής.....	70

5.1.1 Νομοθεσία στην Ευρώπη	71
5.2 Προσδιορισμός μυκοτοξινών	73
5.2.1 Δειγματοληψία	74
5.2.2 Εκχύλιση.....	74
5.3 Μέθοδοι ανάλυσης.....	77
5.3.1 Συμβατικές μέθοδοι.....	78
5.3.2 Υγρή χρωματογραφία/φασματομετρία μάζας (LC/MS)	79
5.3.3 Δοκιμασίες βασισμένες σε φασματομετρία μάζας	79
5.3.4 Ανοσοχημική μέθοδος Elisa.....	81
5.3.5 Ταχείες Μέθοδοι	81
5.3.6 Άλλες μέθοδοι υπό διερεύνηση.....	83
5.3.7 Φασματοσκοπία υπέρυθρης (IR).....	84
Κεφάλαιο 6ο Συμπεράσματα	85
6.1 Τρόποι αντιμετώπισης	85
6.2 Προτάσεις για μελλοντικές έρευνες	92
6.3 Συμπέρασμα	95
Βιβλιογραφία.....	97

Πίνακας εικόνων

Εικόνα 1: Εργοτισμός σε σιτηρά	10
Εικόνα 2: Είδη μυκήτων	13
Εικόνα 3: Είδη μυκήτων	16
Εικόνα 4: Aspergillus	19
Εικόνα 5: Αφλατοξίνες B1, B2, G1, G2	25
Εικόνα 6: Μύκητες θεώρηση από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο	26
Εικόνα 7: Ομάδα από ωχρατοξίνες	28
Εικόνα 8: Φουμονισίνη-χημική δομή	29
Εικόνα 9: Τριχοθεκένια	32
Εικόνα 10: Σημαντικά τριχοθεκένια	34
Εικόνα 11: Πατουλίνη	37
Εικόνα 12: Ζεαραλεόνη	38
Εικόνα 13: Αλυσίδα επίδρασης μυκοτοξινών	40
Εικόνα 14: Μυκοτοξίνες στο αίμα	42
Εικόνα 15: Δράση των μυκοτοξινών σε διαφορετικά ανθρώπινα όργανα	43
Εικόνα 16: Μυκοτοξίνες σε ζωτροφές	47
Εικόνα 17: Μυκοτοξίνες σε ζωτροφές	49
Εικόνα 18: Ζωοτροφή μολυσμένη με μυκοτοξίνες	51
Εικόνα 19: Μεταφορά μόλυνσης	57
Εικόνα 20: Είδη ξηρών καρπών	61
Εικόνα 21: Ξηροί καρποί πολλών ειδών	62
Εικόνα 22: Φυστίκια	65
Εικόνα 23: Αμύγδαλα	66
Εικόνα 24: Φουντούκια	68

Κεφάλαιο 1^ο Εισαγωγή

Στο φυσικό κόσμο υφίστανται χιλιάδες φυσικές τοξικές ουσίες, γνωστές για τις έκδηλες επιπτώσεις στην υγεία των ανθρώπων και των θηλαστικών γενικότερα. Οι φυσικές τοξίνες μάλιστα έχουν ονομαστεί ως *φυτοφάρμακα της φύσης*, καθώς προσδίδουν στον οργανισμό, που τις παράγει ένα εξελικτικό πλεονέκτημα σε σχέση με άλλους οργανισμούς στο ίδιο οικοσύστημα. Μάλιστα, επειδή η ανθρώπινη διατροφή εμπεριέχει τουλάχιστον 10000 φορές περισσότερες φυσικές τοξίνες, σε σχέση με τις τεχνητές, που κατασκευάζει ο άνθρωπος, φαίνεται ότι οι τοξίνες αυτές συνιστούν μεγαλύτερο κίνδυνο για την υγεία του ανθρώπου και των ζώων. Μια σημαντική ομάδα των φυσικών αυτών τοξινών είναι και οι μυκοτοξίνες, που αποτελούν παραπροϊόντα διάφορων μυκήτων (Roger A. et al, 1993).

1.1 Πλαίσιο έρευνας

Τις τελευταίες δεκαετίες, η ευαισθητοποίηση των καταναλωτών σχετικά με την ποιότητα και την ασφάλεια των τροφίμων αυξάνεται σταθερά, ειδικά σχετικά με τους πιθανούς κινδύνους για την υγεία τους που προέρχονται από τοξικούς ρύπους και όχι από τη χημική σύνθεση των τροφίμων. Τα τρόφιμα είναι μήτρες που μπορούν εύκολα να μολυνθούν από μικροοργανισμούς, παράσιτα και χημικές ουσίες που μπορεί να είναι επιβλαβείς για την ανθρώπινη υγεία. Ο προσδιορισμός τους είναι ζωτικής σημασίας προκειμένου να διασφαλιστεί η ασφάλεια των τροφίμων, ειδικά στην περίπτωση των χημικών προσμίξεων. Από αυτή την άποψη, η ανάπτυξη κατάλληλων αναλυτικών διαδικασιών για τον προσδιορισμό τους, ειδικά όταν υπάρχουν χημικές προσμείξεις σε πολύ χαμηλά επίπεδα, είναι βασικό ζήτημα. Η μόλυνση των τροφίμων έχει αποκτήσει

σημαντική σημασία από τότε που δόθηκε ο ορισμός της μόλυνσης των τροφίμων. Μεταξύ των πολυάριθμων μολυσματικών ουσιών, οι μυκοτοξίνες μπορεί να είναι επικίνδυνες και αόριστες. Οι μυκοτοξίνες είναι δευτερογενείς μεταβολίτες που προκύπτουν από επιθέσεις σε καλλιέργειες τόσο στο χωράφι όσο και κατά την αποθήκευση από μυκοτοξικά φυτοπαθογόνα μυκήτων (Husain et al., 2020. Thanushree et al., 2019).

Οι μυκοτοξίνες μπορούν να προκαλέσουν δηλητηρίαση (μυκοτοξίκωση) και αντιπροσωπεύουν σοβαρούς κινδύνους για την υγεία των ζώων και των ανθρώπων, όπως θα παρουσιαστεί στην παράγραφο για την παθογένεια τους. Ο Οργανισμός Τροφίμων και Γεωργίας (FAO) έχει υπολογίσει ότι περίπου το 25% των παγκόσμιων καλλιεργειών είναι μολυσμένες με μούχλα και ως εκ τούτου δυνητικά επηρεάζονται από μυκοτοξίνες και οι σχετικές οικονομικές απώλειες υπολογίζονται σε δισεκατομμύρια δολάρια. Πολλές μυκοτοξίνες είναι σταθερές και παραμένουν σε μολυσμένα προϊόντα για μεγάλο χρονικό διάστημα ακόμη και μετά τον θάνατο ή την αδρανοποίηση του αντίστοιχου μυκοτοξινογόνα μύκητα. Μια έρευνα σε επιστημονικές βάσεις δεδομένων αποκαλύπτει ότι το ενδιαφέρον για τις μυκοτοξίνες αυξάνεται με τα χρόνια και υπάρχουν πάρα πολλές δημοσιεύσεις σχετικά με αυτό το θέμα και αυτή η τάση ενδεχομένως να αυξηθεί περαιτέρω (Husain et al., 2020. Thanushree et al., 2019).

1.2 Ιστορική αναδρομή

Η ετυμολογία της λέξης “μυκοτοξίνη” προέρχεται από τον συνδυασμό της ελληνικής λέξης “μύκητας” και της λατινικής λέξης “toxicum” δηλαδή δηλητήριο. Οι μυκοτοξίνες κατατάσσονται στους φυσικούς μολυσματικούς παράγοντες και είναι δευτερογενείς τοξικοί μεταβολίτες που αναπτύσσονται από μύκητες, απαντώνται σε διάφορα είδη τροφίμων και ζωοτροφών. Η επιμόλυνση μιας σοδειάς από μυκοτοξικό μύκητα είναι ένα κοινό πρόβλημα, καθώς σημειώνεται ότι περίπου το 25% των



Εικόνα 1: Εργωτισμός σε σιτηρά

τροφίμων σε παγκόσμιο επίπεδο επιμολύνονται ετησίως, ενώ ο βαθμός κινδύνου από την εκάστοτε επιμόλυνση των αγροτικών προϊόντων ποικίλει.

Ο εργωτισμός είναι η πρώτη μυκοτοξίνη, που εμφανίστηκε στον άνθρωπο στα βιβλικά χρόνια. Αρχικά ανακαλύφθηκε με άλλη ονομασία, ως *τοξικό σιτάρι*, χωρίς να είναι γνωστό το αίτιο, που προκαλούσε όλα τα συμπτώματα. Το 1875 παρόλα αυτά, εξακριβώθηκε ότι υπεύθυνο για τον εργωτισμό ήταν το σκληρότιο του μύκητα *Claviceps*, με το οποίο είχαν επιμολυνθεί ορισμένοι κόκκοι από δημητριακά και είχαν προκληθεί πολλαπλοί θάνατοι σε ολόκληρη την Ευρώπη. Η μυκοτοξίνη του εργωτισμού συνιστά μια ομάδα αλκαλοειδών, που εμφανίζονται στην κορυφή των αγροτικών προϊόντων, όπως είναι το σιτάρι και η σίκαλη. Ο Ergot επίσης φαίνεται να ήταν υπεύθυνος και για την ασθένεια με την ονομασία *St Antony's fire*, η οποία

ξέσπασε κατά τη διάρκεια του Μεσαίωνα και πήρε αυτή την ονομασία λόγω της συμπτωματολογίας των ασθενών, η οποία περιλάμβανε μια αίσθηση καύσους στα άκρα του σώματος. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο Ergot δεν έπαψε να απασχολεί την ανθρωπότητα, καθώς υπήρξε αιτία για ποικίλα οικονομικά προβλήματα σε όλη την Ευρώπη, ακόμα και για την έγερση πολεμικών επεισοδίων στη Ρωσία, το 1924 και το 1944, στη Γαλλία το 1953, αλλά και στην Ιρλανδία το 1929 (Bennett and Klich 2003).

Οι μυκοτοξίνες υπόκεινται στην κατηγορία των δευτερογενών τοξινών ώστε να διαχωρίζονται από τις πρωτογενείς τοξίνες (αμινοξέα, νουκλεϊκά οξέα, πρωτεΐνες) που είναι καταλυτικές για όλους τους ζωντανούς οργανισμούς και για την ανάπτυξη των φυτών. Παρόλο που έχουν ανιχνευθεί εκατοντάδες διαφορετικές μυκοτοξίνες με μεγάλο ενδιαφέρον στις φυσικοχημικές τους ιδιότητες, μόνο μερικές από αυτές αφορούν την ασφάλεια των τροφίμων. Αναλυτικότερα η δομή των μυκοτοξινών είναι απλή και αποτελείται από αλειφατικές ή κυκλικές οργανικές ουσίες. Έχει βρεθεί ότι ένας μύκητας μπορεί να παράγει πολλά είδη μυκοτοξινών όπως και μια μυκοτοξινή παράγεται από πολλούς μύκητες. Οι μυκοτοξίνες είναι ανθεκτικές ουσίες διότι θεωρούνται σταθερές ουσίες από χημική άποψη και εξαιτίας αυτού είναι δύσκολο να καταστραφούν.

1.3 Στόχοι εργασίας

Η παρούσα εργασία στοχεύει στην ανάλυση της φύσης, της προέλευσης, των ιδιοτήτων και της δράσης των τοξινών, που παράγονται από μύκητες και ονομάζονται μυκοτοξίνες. Ανατρέχοντας στη σύγχρονη ελληνική και ξενόγλωσση βιβλιογραφία, συντελέστηκε μια ανασκόπηση με στόχο την συλλογή πληροφοριών και την παράθεση των απαραίτητων στοιχείων, που απαιτούνται για την κατανόηση της λειτουργίας των μυκοτοξινών. Στο πλαίσιο αυτό χρησιμοποιήθηκαν διαδικτυακές πλατφόρμες, όπως το *PubMed*, το *Google Scholar*, όπου εισάχθηκαν λέξεις κλειδιά, όπως: Μυκοτοξίνες,

μυκοτοξιγενικοί μύκητες, ιδιότητες, τρόπος δράσης, *mycotoxins*, *fungi*, *nuts*, *consequenses* κα.

1.4 Παράθεση κεφαλαίων

Στο κεφάλαιο 1 περιλαμβάνεται η εισαγωγή, καθώς και μια ιστορική αναδρομή, μαζί με τους στόχους της παρούσας εργασίας. Στο κεφάλαιο 2 αναλύεται το βασίλειο των μυκήτων και πιο συγκεκριμένα οι μύκητες, που παράγουν μυκοτοξίνες, ενώ στη συνέχεια γίνεται ενδελεχής αναφορά στις πιο συχνές και επικίνδυνες μυκοτοξίνες, στις ιδιότητες τους και στην προέλευση τους. Στο κεφάλαιο 3 αναλύεται περισσότερο ο τρόπος δράσης των μυκοτοξινών και ο τρόπος, που έχουν επηρεάσει και επηρεάζουν την ανθρώπινη και τη ζωική υγεία, αλλά και την οικονομία. Στο κεφάλαιο 4 γίνεται μια περιγραφή των ξηρών καρπών και των μυκοτοξινών, που τείνουν να τους επιμολύνουν συχνότερο, ενώ αναφέρονται οι ιδιότητες των ξηρών καρπών γενικά. Στο κεφάλαιο 5 γίνεται μια περιγραφή των σύγχρονων εργαστηριακών μεθόδων απομόνωσης, ταυτοποίησης και απομάκρυνσης των μυκοτοξινών σε χημικό επίπεδο. Τέλος το κεφάλαιο 6 περιλαμβάνει ορισμένους τρόπους αντιμετώπισης της εξάπλωσης και των επιπτώσεων, που προκύπτουν από τις μυκοτοξίνες, ενώ ταυτόχρονα αναφέρονται και προοπτικές για το μέλλον, που παρουσιάζονται πολλά υποσχόμενες.

Κεφάλαιο 2ο Μύκητες και Μυκοτοξίνες

2.1 Είδη μυκήτων

Οι μύκητες είναι ευκαρυωτικοί οργανισμοί, που τρέφονται με οργανικές χημικές ουσίες, οι οποίοι παρουσιάζουν μεγάλη ετερογένεια, από νηματώδεις μορφές μέχρι και μονοκύτταρους οργανισμούς και δεν έχουν χλωροφύλλη. Συνεπώς οι μύκητες δεν διενεργούν φωτοσύνθεση. Οι μύκητες χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: τους μάκρομυκητες, όπως είναι τα μανιτάρια και τους μικρομυκητες Σε αντίθεση με άλλους μικροοργανισμούς, οι μύκητες δεν δημιουργούν την δική τους τροφή, αλλά επωφελούνται από τα θρεπτικά συστατικά άλλων ζωντανών η νεκρών υλικών ξενιστών. Οι μικρομυκητες έχουν τρεις κύριες μορφολογικές διακρίσεις:

- Μονοκύτταροι ή βλαστομύκητες(ζύμες/ *yeast*)
- Μυκηλιακοί ή υφομήκυτες (μούχλα)
- Δίμορφοι μύκητες (ψευδοϋφές)



Εικόνα 2: Είδη μυκήτων¹

¹ <https://en.wikipedia.org/wiki/Fungus>

Οι Δίμορφοι μύκητες, όπως είναι το *Histoplasma* και ο *Blastomyces dermatitidis* είναι σε θέση να προσλάβουν κάθε φορά διαφορετική μορφή, είτε ζύμης είτε μούχλας, ανάλογα με τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος στο οποίο αναπτύσσονται (θερμικός διμορφισμός). Η ζύμη παράγεται μέσα στο σώμα του ξενιστή (in vitro στους 37ο C), ενώ η μούχλα σχηματίζεται στο περιβάλλον ή σε κάποιο τεχνητό μέσο, όπως είναι ένα κλειστό δωμάτιο. Η ψευδοϋφές στους μύκητες αυτούς αποτελούνται από αλυσίδες επιμηκών κυττάρων, σε ελλειψοειδές σχήμα, τα οποία συνδέονται με περίσφιξη. Χαρακτηριστικό παράδειγμα μύκητα, που δημιουργεί ψευδοϋφές είναι ο *Candida albicans* (Samanta I, 2015).

Οι βλαστομύκητες, δηλαδή οι μύκητες που σχηματίζουν ζύμες, είναι μονοκύτταροι οργανισμοί, οι οποίοι ξεπερνούν σε μέγεθος συνήθως τα περισσότερα βακτήρια (1-5 μm). Χαρακτηρίζονται από την ποικιλομορφία τους, καθώς μπορεί να έχουν σφαιρική, ελλειπτική ή επιμήκη μορφή. Στο εργαστήριο και γενικά κατά την καλλιέργεια των μυκήτων αυτών σχηματίζονται αποικίες, που ομοιάζουν με βακτηριακές και περιέχουν ποσότητα υγρασίας και βλέννης. Οι μύκητες αυτοί αναπαράγονται με εκβλάστηση. Τόσο στις ζύμες όσο και στη μορφή με τις ψευδοϋφές η διαίρεση του πυρήνα και ο σχηματισμός των απαιτούμενων για την αναπαραγωγική διαδικασία διαφραγμάτων, συντελείται κοντά στην περιοχή εκβλάστησης της αποικίας. Τα εκβλαστήματα μπορούν να επιμηκυνθούν και να απελευθερωθούν ως βλαστοσπόρια (Adl SM et al, 2012).

Όσο αφορά τους υφομύκητες, κατά την ανάπτυξη τους σε τεχνητό διάμεσο, ολόκληρο το σώμα της μούχλας ορίζεται ως θαλλός. Ο θαλλός είναι βασικό στοιχείο των υφομυκήτων και διαχωρίζεται σε δύο κομμάτια: το βλαστικό και το αναπαραγωγικό. Το βλαστικό κομμάτι του θαλλού ονομάζεται μυκήλιο και αποτελείται από ένα πλέγμα διακλαδισμένων ή μη υφών. Οι υφές αποτελούν μια κατασκευή, που ομοιάζει με

σωλήνα και εμπεριέχει ένας αυλό, που περιβάλλεται από συμπαγές τοίχωμα. Οποιοδήποτε κομμάτι του μυκηλίου έχει τη δυνατότητα να απορροφήσει τροφή. Αξίζει να αναφερθεί επίσης ότι σε μερικούς μύκητες όπως οι Zygomycetes, υφίσταται μια δομή, που ομοιάζει με ρίζα και ονομάζεται ριζοειδές, η οποία συνδέεται στο υπόστρωμα και απορροφά τροφή κατά αυτόν τον τρόπο (Samanta I., 2012).

Οι όροι μούχλα και ζυμομύκητες δεν έχουν ταξινομική σημασία, αλλά είναι χρήσιμοι για την περιγραφή των περισσότερων κυρίαρχων μορφών των μυκήτων. Οι όροι αυτοί επίσης δεν αλληλοαποκλείονται, αφού πολλοί μύκητες σχηματίζουν μούχλα στην κανονική σαπροβική ανάπτυξή τους, αλλά ταυτόχρονα μοιάζουν με ζύμη υπό τροποποιημένες συνθήκες ανάπτυξης ή σε ζωικούς ιστούς. Επιπλέον, τυχόν μύκητες των οποίων η κυρίαρχη μορφή είναι η μαγιά ή οι ζύμη, μπορεί να εμφανίσουν δομές που μοιάζουν με μούχλα, όταν καλλιεργούνται υπό κατάλληλες συνθήκες (Moore and Jaciow, 1979). Πολλοί μύκητες είναι παθογόνα φυτών, που καλλιεργούνται για τροφή, ενώ μικρότερος αριθμός είναι παράγοντες ασθενειών στα ζώα και στους ανθρώπους. Επιτίθενται και καταστρέφουν ακατέργαστα προϊόντα με αποτέλεσμα μεγάλη οικονομική ζημία. Από την άλλη πλευρά, είναι χρήσιμοι στον άνθρωπο ως μαγιά τροφίμων (πηγή πρωτεϊνών, βιταμινών και αμινοξέων), χρησιμοποιούμενη μαγιά για ψήσιμο και δευτερεύουσα πηγή τροφής, συμπεριλαμβανομένων των μανιταριών (Talbot, 1971)



Εικόνα 3: Είδη μυκήτων²

Οι μύκητες αναπαράγονται και διασκορπίζονται με την παραγωγή σπορίων. Τα σπόρια είναι δυνατόν να παραχθούν είτε με σεξουαλική είτε με α-σεξουαλική αναπαραγωγή. Είναι ακόμα γεγονός ότι πολλοί μύκητες έχουν χάσει πλέον την ικανότητα τους να αναπαράγονται με σεξουαλικό τρόπο και για αυτό το λόγο παράγουν μόνο α-σεξουαλικά σπόρια. Τα σπόρια συμβάλλουν στην διάδοση και μεταφορά των μυκήτων στο φυσικό περιβάλλον. Τα περισσότερα χερσαία είδη μυκήτων διαθέτουν σπόρια, τα οποία μεταφέρονται με τη βοήθεια του αέρα, ενώ οι μύκητες που ζουν σε υδάτινο περιβάλλον παράγουν σπόρια, τα οποία είναι κατάλληλη για μεταφορά στις υδάτινες συνθήκες (Raghukumar et al, 2017).

Η αναπαραγωγή με τη βοήθεια σπορίων είναι ο ακρογωνιαίος λίθος της οικολογίας των μυκήτων. Παρά το γεγονός ότι ένα σπόριο έχει πολύ μικρές πιθανότητες να βρεθεί σε κατάλληλο υπόστρωμα, προκειμένου να αναπτυχθεί, ο αριθμός των σπορίων που

² <https://en.wikipedia.org/wiki/Fungus>

παράγονται είναι τέτοιος, που επιτρέπει, ακόμα και σε μέτρια υποστρώματα, την ανάπτυξη του είδους. Μόνο λίγοι μύκητες καταφέρνουν να επιβιώσουν χωρίς σπόρια, χρησιμοποιώντας μόνο τα μικκύλια και τα σκληρότια τους. Αξίζει να αναφερθεί ότι τα σπόρια μπορούν να διαχωριστούν σε ξένο σπόρια, τα σπόρια δηλαδή που μεταφέρονται από το μέρος προέλευσης τους και τα μέμνοσπορια, τα σπόρια που παραμένουν στο σημείο, όπου δημιουργήθηκαν. Ακόμα ένα από τα σημαντικά προϊόντα των σπορίων είναι οι μυκοτοξίνες (Webster et al, 2007).

2.2 Ξεχωριστή αναφορά όλων των μυκήτων

Κατά παράδοση οι μύκητες που έχουν τοξικογενή δράση και παράγουν μυκοτοξίνες, οι οποίες επιμολύνουν πολλαπλά γεωργικά σιτηρά, διακρίνονται σε δύο ομάδες. Η πρώτη είναι οι μύκητες του «αγρού», που εισβάλλουν στις καλλιέργειες (π.χ. *Cladosporium*, *Fusarium*, *Alternaria spp.*) και αποκτούν επανειλημμένως πρόσβαση στα σιτηρά κατά τη διάρκεια της φυτικής ανάπτυξης, ενώ η δεύτερη είναι οι μύκητες της «αποθήκης» (π.χ. *Aspergillus*, *Penicillium spp.*), οι οποίοι εκμεταλλεύονται τη συγκομιδή κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης ή της ωρίμανσης της.

Οι μύκητες της «αποθήκης» είναι πολύ πιο συχνόι σε παρτίδες, που προσβάλλονται από έντομα στα αποθηκευμένα προϊόντα, επειδή τα έντομα δημιουργούν υγρασία και διανέμουν σπόρια μυκήτων στο εμπόρευμα. Οι μύκητες αποθήκευσης απαιτούν σχετική υγρασία τουλάχιστον 65% (ή υδάτινη δραστηριότητα $a_w = 0,65$), που ισοδυναμεί με περιεκτικότητα σε υγρασία ισορροπίας 13% στους κόκκους των δημητριακών. Αυτοί αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες μεταξύ 10 και 40°C. Κάθε είδος μύκητα έχει το δικό του βέλτιστο κλίμα και απαιτήσεις για την ανάπτυξη τους (Multon, 1988)

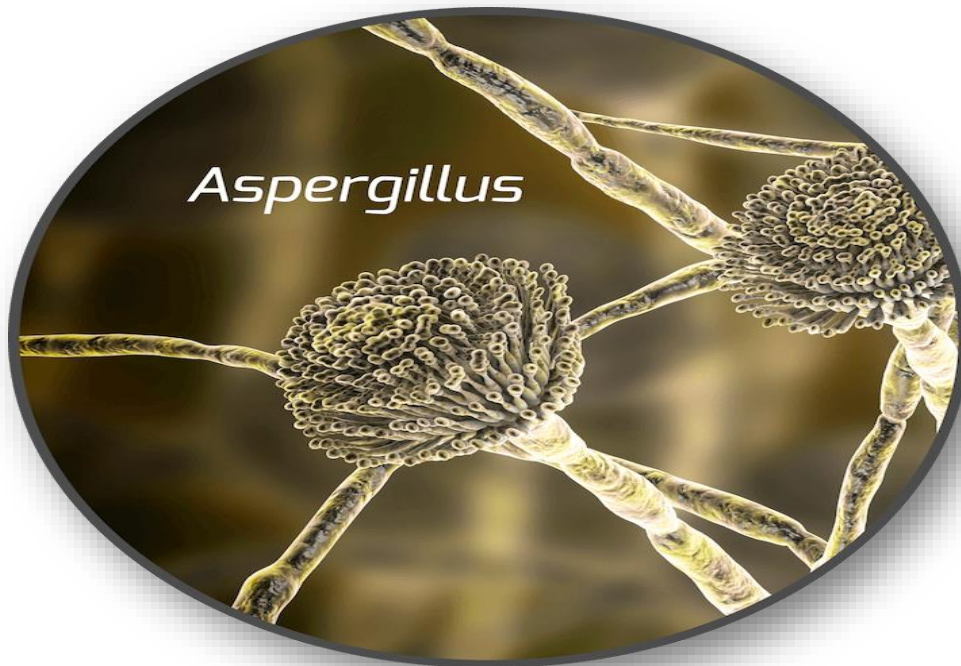
Στο παρόν ο παραπάνω διαχωρισμός δεν φαίνεται να είναι πλέον τόσο αυστηρός, διότι σύμφωνα με τον Miller (1995), διακρίνονται τέσσερις τύποι μυκήτων, που παράγουν μυκοτοξίνες, οι οποίοι διακρίνονται σε:

1. Φυτικά παθογόνα, όπως ο *Fusarium graminearum* και *Alternaria alternata*
2. Μύκητες που αναπτύσσονται και παράγουν μυκοτοξίνες σε φυτά που βρίσκονται σε στρες ή είναι περασμένης ηλικίας, όπως ο *F. moniliforme* και *Aspergillus flavus*
3. Μύκητες που αρχικά αποικίζουν το φυτό και αυξάνουν την ευαισθησία της πρώτης ύλης στην μόλυνση, μετά την συγκομιδή, πχ *A. flavus*
4. Μύκητες, που βρίσκονται στο έδαφος ή πάνω σε ύλη αποσυντιθέμενων φυτών, η οποία βρίσκεται στον πυρήνα του χωραφιού και αργότερα απομυζούν από τα αποθηκευμένα σιτηρά, αν το επιτρέψουν οι συνθήκες, πχ *P. verrucosum* και *A. ochraceus*

Το γένος *Penicillium* είναι ένα από τα κυρίαρχα στην μυκητιακή χλωρίδα και σε αυτό ανήκουν πολλά μυκοτοξιγενή είδη, όπως είναι: *P. crustosum*, *P. chrysogenum*, *P. hirsutum*, *P. expansum*, *P. roqueforti*, *P. viridicatum*, *P. commune*, *P. aurantiogriseum*, *P. citrinum*, *P. verrucosum*, *P. cyclopium*, *P. canescens*, *P. madriti*, *P. palitans*, *P. thomii*, *P. baarnense*, *P. fennelliae*, *P. frequentans*. Αυτοί οι μύκητες έχει παρατηρηθεί ότι παράγουν μεγάλο αριθμό τοξινών, όπως η κιτρινίνη, το κυκλοπιαζονικό οξύ, η ωχρατοξίνη Α, η πατουλίνη, το πενικιλλικό οξύ, η πενιτρέμη Α, η ροκεφορτίνη, η φρεκεντίνη, η ρουμπρατοξίνη, η παλιταντίνη, το μυκοφενολικό οξύ, η βιομελλεΐνη, η γλιοτοξίνη και η κιτρεοβιριδίνη.

Συμπληρωματικά οι μύκητες του γένους *Fusarium* και πιο συγκεκριμένα τα είδη: *F. moniliforme*, *F. sporotrichioides*, *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. oxysporum* *F. fusarioides*,. είναι υπεύθυνοι για την παραγωγή φουμονισινών, μποβερικίνης,

εννιατίνης, μονιλιφορμίνης και του φουσαρικού οξέος. Οι μύκητες του γένους *Aspergillus*, όπως: *A. ochraceus*, *A. auricomus*, *A. melleus*, *A. alliaceus*, *A. ostianus*, *A. cervinus*, *A. wentii* και *A. sclerotiorum* παράγουν επίσης μια σειρά από μυκοτοξίνες αρκετά σημαντικές.



Εικόνα 4: *Aspergillus*³

Ακόμα οι μύκητες *Alternaria*, *Helminthosporium*, *Pyrenophora* (σεξουαλική κατάσταση: *Drechslera*), *Phoma*, *Zygosporium*, *Cladosporium*, και *Claviceps* συνιστούν γένη σαπροβικών μυκήτων και είναι γνωστοί για την παραγωγή επικίνδυνων μυκοτοξινών, όπως είναι οι κυτοχλασίνες και το τενοαζονικό οξύ (Ismail & Papenbrock, 2015).

³ <https://www.adisseo.com/en/products/mycotoxin-management/>

2.3 Μυκοτοξίνες

Οι μυκοτοξίνες είναι φυσικοί, δευτερεύοντες μεταβολίτες, χαμηλού μοριακού βάρους, που παράγονται από μύκητες σε γεωργικά προϊόντα, τόσο κατά τη διάρκεια της σοδειάς, όσο και κατά την διάρκεια αποθήκευσης, κάτω από μια ευρεία γκάμα περιβαλλοντολογικών συνθηκών. Φαίνεται να έχουν ταυτοποιηθεί τουλάχιστον 200 διαφορετικά είδη υφομυκήτων, όπως οι *Aspergillus*, *Penicillium* και *Fusarium*, που είναι υπεύθυνοι για την παραγωγή μυκοτοξινών. Ακόμα έχει ανακαλυφθεί, μέχρι και τη σύγχρονη εποχή, μια πλειάδα από διαφορετικές μυκοτοξίνες. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι οι μυκοτοξίνες παρουσιάζουν μια μεγάλη δομική ποικιλομορφία, η οποία προσδίδει κάθε φορά διαφορετικές χημικές και φυσικοχημικές ιδιότητες και αποτελούν μια ετερογενή ομάδα, με κύριο κοινό χαρακτηριστικό τις επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου και άλλων σπονδυλωτών γενικά (Bennett, 1987).

Οι μυκοτοξίνες εξαιτίας της διαφορετικής χημικής δομής τους και της βιοσυνθετικής προέλευσης τους είναι δύσκολο να ταξινομηθούν. Παρόλα αυτά έχει γίνει ταξινόμηση και οι κλινικοί ιατροί τις έχουν ταξινομήσει σε: ηπατοτοξίνες, νεφροτοξίνες, νευροτοξίνες, ανοσοτοξίνες. Ανάλογά δηλαδή με το όργανο που επηρεάζουν λαμβάνουν και το αντίστοιχο όνομα. Οι βιολόγοι τις κατατάσσουν σε γενικές ομάδες όπως αλλεργιογόνα, καρκινογόνα, μεταλλαξιογόνα. Τέλος οι χημικοί προσπάθησαν να τις τοποθετήσουν ανάλογα με τις χημικές δομές τους (λακτόνες, κουμαρίνες) και οι μυκητολόγοι από τους μύκητες που τα παράγουν (τοξίνες *Aspergillus*, τοξίνες *Penicillium*). Καμία από τις αναφερόμενες ταξινομήσεις δεν είναι ωστόσο τελείως ικανοποιητική και αντιπροσωπευτική (Bennett & Klich, 2003).

Οι μυκοτοξίνες έχουν δυνητική τοξική δραστηριότητα και μια μεγάλη ποικιλία επιδράσεων στην ανθρώπινη υγεία, αλλά και στην υγεία πολλών ζώων. Επι παραδείγματι, αναφέρονται επιδράσεις τοξικότητας σε κύτταρα, νεφρά, νευρολογικές

δομές, ενώ ταυτόχρονα μπορεί να έχουν καρκινογόνες και μεταλλαξογόνες δράσεις και συχνά μπορεί να καταστείλουν το ανοσοποιητικό σύστημα. Παρά το γεγονός ότι η μυκοτοξίκωση μπορεί να προκληθεί από την άμεση κατανάλωση επιμολυσμένων τροφίμων από τον άνθρωπο και τα ζώα, αξίζει να σημειωθεί ότι η προσθήκη των μυκοτοξινών ή των μεταβολιτών τους στη διατροφή, με ελεγχόμενο τρόπο, είναι μια ιδέα, που δεν πρέπει να εγκαταλειφθεί (Rudolf et al, 2008).

Η τοξικολογική δράση εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως είναι η φύση της μυκοτοξίνης καθώς και η δόση, ο τρόπος εισόδου, ο χρόνος έκθεσης και η ευαισθησία του είδους, που προσβάλλεται. Η ευαισθησία, με τη σειρά της, επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες: γενετικοί και φυσιολογικοί παράγοντες όπως η ηλικία, οι ορμόνες, η διατροφή, η εντερική μικροχλωρίδα, οι λοιμώξεις, ο παρασιτισμός και η περιβαλλοντική έκθεση, συμπεριλαμβανομένων των καιρικών συνθηκών και των χημικών (Pitt J. et al, 2000).

Τα δυνητικά υγειονομικά προβλήματα, που μπορούν να προκληθούν από την κατανάλωση μυκοτοξινών από τον άνθρωπο και τα ζώα είναι αναγνωρισμένα από μεγάλους εθνικούς και διεθνείς οργανισμούς, όπως ο *World Health Organisation (WHO)* και ο *Food and Agriculture Organisation (FAO)* και για αυτό έχουν επιβληθεί ποικίλα ρυθμιστικά όρια για μεγάλες ομάδες μυκοτοξινών, αλλά και για επίλεκτες συγκεκριμένες μυκοτοξίνες. Οι δύο αυτοί οργανισμοί συνέθεσαν μαζί τον *Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA)*, ένα επιστημονικό συμβουλευτικό σώμα, το οποίο παρέχει μηχανισμούς αξιολόγησης της τοξικότητας των διατροφικών προσθέτων, των υπολειμμάτων κτηνιατρικών φαρμάκων, καθώς και τον μολυσματικών παραγόντων. Ο *JECFA* αξιολόγησε μεταξύ άλλων και τους κινδύνους, που συσχετίζονται με ποικίλες μυκοτοξίνες, συμπεριλαμβανομένης της φουμονισίνης B1, B2 και B3, της ωχρατοξίνης A, της δεοξυνιβαλενόλης, της T-2 τοξίνης, της HT-2

τοξίνης και της αφλατοξίνης M1 (WHO, 2002). Στη συγκεκριμένη αναφορά αναλύεται και επεξηγείται η φύση κάθε τοξίνης ξεχωριστά, συμπεριλαμβανομένης και της ικανότητας απορρόφησης και έκκρισης της, ενώ επισυνάπτονται τοξικολογικές μελέτες και γενικές εκτιμήσεις για τις αναλυτικές μεθόδους, τη δειγματοληψία, τα σχετικά ζητήματα πρόσληψης και μηχανισμούς ελέγχου.

Αξίζει να αναφερθεί, ότι ενώ όλες οι μυκοτοξίνες προέρχονται από μύκητες, τα τοξικά παράγωγα των μυκήτων δεν ορίζονται μόνο ως μυκοτοξίνες. Ο στόχος και η συγκέντρωση του μεταβολίτη είναι δύο καθοριστικοί παράγοντες για την ταυτοποίηση των παραγώγων. Τα προϊόντα των μυκήτων, που είναι τοξικά για τα βακτήρια, όπως για παράδειγμα η πενικιλίνη, ονομάζονται αντιβιοτικά. Αντίστοιχα τα προϊόντα μυκήτων, που στοχεύουν φυτά ονομάζονται φυτοτοξίνες, από τους παθολόγους των φυτών. Οι μυκοτοξίνες παράγονται από τους μύκητες και είναι τοξικές σε σπονδυλωτά και διάφορες άλλες ομάδες ζώων σε μικρές συγκεντρώσεις. Άλλα παράγωγα των μυκήτων, όπως η αιθανόλη, που είναι τοξική σε μεγάλες συγκεντρώσεις, δεν θεωρούνται μυκοτοξίνες (Bennett, 1987).

Οι μυκοτοξίνες συνιστούν μια ομάδα χημικών ενώσεων μικρού μοριακού βάρους, χαρακτηρίζονται από δομική ποικιλομορφία και προκύπτουν από το δευτερεύον μεταβολισμό των υφομυκήτων ή της μούχλας, η οποία κάτω από τις κατάλληλες συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας μπορούν να αναπτυχθούν πάνω σε πολλά τρόφιμα και να θέσουν σε απειλή την ανθρώπινη και ζωική υγεία. Ως δευτερεύοντες μεταβολίτες, οι μυκοτοξίνες δεν έχουν κάποια ιδιαίτερη σημασία πρωταρχικά για την ανάπτυξη των μυκήτων. Οι διαφορετικές δομές κάθε μυκοτοξίνης ποικίλουν από μια απλή ένωση C₄, όπως είναι η μονιλοφορμίνη, μέχρι και ένα πολύπλοκο σύμπλοκο, όπως είναι η φωμοψίνη (Dinis et al., 2007). Στην παρούσα φάση, είναι γνωστές πάνω από 300 διαφορετικές μυκοτοξίνες, ενώ η επιστημονική κοινότητα, φαίνεται να

εστιάζει κυρίως στις ενώσεις, οι οποίες έχουν καρκινογόνο δράση ή/ και είναι τοξικές. Η έκθεση του ανθρώπου σε μυκοτοξίνες μπορεί να τελεστεί με διαφορετικού τρόπους, όπως για παράδειγμα με την κατανάλωση τροφίμων, φυτικής προέλευσης, που έχουν επιμολυνθεί με μυκοτοξίνες ή με την κατανάλωση προϊόντων ζωικής προέλευσης, όπως κρέας και αυγά, στα οποία έχει μεταφερθεί ποσότητα μυκοτοξίνης (CAST, 2003). Τέλος, σύμφωνα με τον Jarvis (2002), ο άνθρωπος μπορεί να εκτεθεί σε μυκοτοξίνες ακόμα και μέσω του αέρα και της σκόνης, που μπορεί να εμπεριέχει μυκοτοξίνες.

2.3.1 Φυσικές και Χημικές ιδιότητες

Οι μυκοτοξίνες είναι μόρια χαμηλού μοριακού βάρους ($M_w < 700$), τοξικά ακόμη και αν υπάρχουν σε χαμηλές συγκεντρώσεις (Haschek & Voss, 2013). Παρά το γεγονός ότι εκατοντάδες ενώσεις ταξινομούνται ως μυκοτοξίνες και έχουν απομονωθεί και χαρακτηριστεί χημικά μέχρι στιγμής, μόνο περίπου 50 από αυτές έχουν μελετηθεί λεπτομερώς. Οι μυκοτοξίνες είναι τόσο χημικά όσο και τοξικογονικά ετερογενής. Υφίστανται τόσες διαφορές στη χημική τους δομή, στα μονοπάτια της βιοχημικής σύνθεσης, στην προέλευση τους και στις βιολογικές τους επιπτώσεις στον άνθρωπο και στα ζώα, που καθιστούν τη μοναδική συστηματοποίησή τους ουσιαστικά αδύνατη. Οι πιο εξέχοντες εκπρόσωποι των μυκοτοξινών είναι η αφλατοξίνη B1, η ωχρατοξίνη A, δεοξυनिβαλενόλη, τοξίνες HT-2 και T-2, ζεαραλενόνη, φουμονισίνη B1, κιτρίνη, πατουλίνη και εργοταμίνη. Οι χημικές δομές των μυκοτοξινών κυριαρχούν στα τρόφιμα και τις ζωοτροφές. Από χημική άποψη, με βάση τη βιολογική τους προέλευση και δομή οι μυκοτοξίνες ταξινομούνται σε κυκλοπεπτίδια, πολυκετοξέα, τερπένια και μυκοτοξίνες αζωτούχων μεταβολιτών (Ferrante, Sciacca, & Conti, 2012). Οι περισσότερες μυκοτοξίνες είναι χημικά σταθερές και έτσι τείνουν να επιβιώνουν την αποθήκευση και την επεξεργασία, ακόμη και όταν μαγειρεύονται σε αρκετά υψηλές θερμοκρασίες, όπως αυτές που επιτυγχάνονται κατά το ψήσιμο του ψωμιού ή κατά την

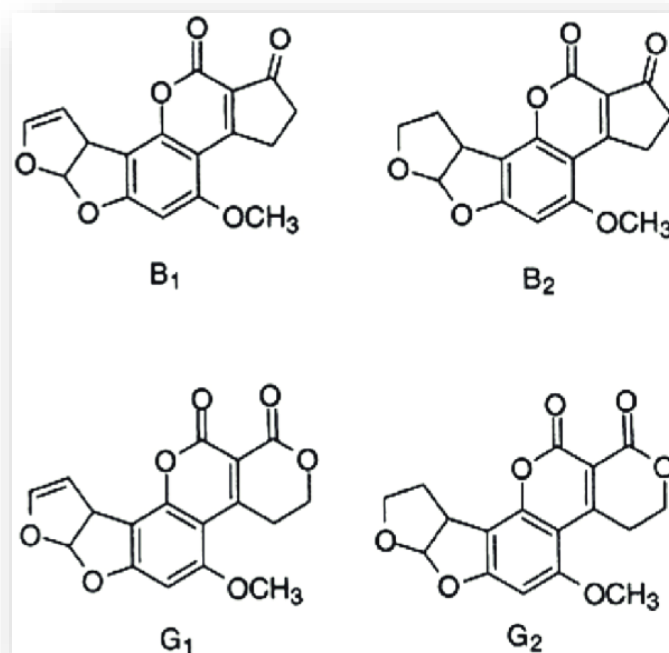
παραγωγή δημητριακών πρωινού. Κατά αυτόν τον τρόπο, καθίσταται σημαντικό να αποφευχθούν οι συνθήκες, που δυνητικά μπορούν να οδηγήσουν στο σχηματισμό μυκοτοξινών. Κάτι τέτοιο βέβαια δεν είναι πάντα δυνατό και δεν επιτυγχάνεται πάντα στην πράξη. Επίσης είναι γνωστό ότι οι μυκοτοξίνες είναι εξαιρετικά δύσκολο να αφαιρεθούν από ένα προϊόν. Συνεπώς η καλύτερη μέθοδος ελέγχου είναι με βεβαιότητα η πρόληψη (Bullerman et al., 1984).

Η παρουσία ενός μύκητα, που είναι αναγνωρισμένος ότι παράγει τοξίνες δεν συνεπάγεται στην πραγματικότητα, ότι η σχετική τοξίνη θα είναι απαραίτητα παρούσα, καθώς πολλοί διαφορετικοί παράγοντες εμπλέκονται στη διαμόρφωσή των μυκοτοξινών. Αντιστοίχως, η απουσία οποιασδήποτε ορατής μούχλας δεν συνιστά εγγύηση ότι το προϊόν είναι ελεύθερο από τις τοξίνες, καθώς η μούχλα μπορεί να έχει ήδη εξαφανιστεί και η τοξίνη να έχει παραμείνει άθικτη. Οι μύκητες γενικά τείνουν να αναπτύσσονται σε απομονωμένους θύλακες, οι οποίοι δεν είναι ομοιόμορφα κατανεμημένοι στα αποθηκευμένα εμπορεύματα. Επομένως είναι σημαντικό να αναπτυχθεί ένα πρωτόκολλο για να διασφαλιστεί ότι εάν ληφθεί δείγμα για ανάλυση είναι αντιπροσωπευτικό ολόκληρης της αποστολής. Η απλή δειγματοληψία έχει αναφερθεί γενικά ότι δίνει πολύ χαμηλές εκτιμήσεις για τη μυκοτοξίνη, που μπορεί να εμπεριέχεται. Στην πραγματικότητα, σχεδόν το 90% του σφάλματος στις μυκοτοξικές αναλύσεις θα μπορούσε να αποδοθεί στον τρόπο συλλογής του αρχικού δείγματος. Δεδομένου ότι οι μυκοτοξίνες δεν κατανέμονται ομοιόμορφα στους κόκκους ή σε μικτές τροφές, η λήψη δείγματος τροφής ή σιτηρών που θα δώσει ουσιαστικό αποτέλεσμα στις αναλύσεις μυκοτοξινών αναφέρεται ότι είναι δύσκολη [42,43]. Ακόμη, το γεγονός ότι οι περισσότερες μυκοτοξίνες είναι τοξικές σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις απαιτεί την ανάπτυξη ευαίσθητων και αξιόπιστων μεθόδων για τον εντοπισμό τους. Η δειγματοληψία και η ανάλυση είναι υψίστης σημασίας, δεδομένου

ότι εάν δεν επιτευχθεί μια ικανοποιητική επαληθευμένη ανάλυση, αυτό μπορεί να οδηγήσει στην αποδοχή μη αποδεκτών αποστολών ή στην εσφαλμένη απόρριψη αποδεκτών. Λόγω των ποικίλων δομών αυτών των ενώσεων δεν είναι δυνατή η χρήση μιας τυπικής τεχνικής για την ανίχνευση όλων των μυκοτοξινών, καθώς η κάθε μια θα απαιτήσει διαφορετική μέθοδο. Αυτό που λειτουργεί καλά για κάποια μόρια μπορεί να είναι ακατάλληλο για άλλα με παρόμοιες ιδιότητες, ή για το ίδιο μόριο σε διαφορετικό περιβάλλον (Martin et al, 2006).

2.3.2 Αφλατοξίνες

Οι αφλατοξίνες απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν πρώτη φορά μετά τον θάνατο περισσότερων από 100.000 γαλοπούλων (νόσος της γαλοπούλας *X*), οι οποίες κατανάλωσαν μολυσμένα από μούχλα φυστίκια στο γεύμα τους. Οι κυριότερες αφλατοξίνες ονομάζονται B1, B2, G1, G2. Η ονοματολογία αυτή δόθηκε με βάση τον φθορισμό των τοξινών σε υπεριώδες

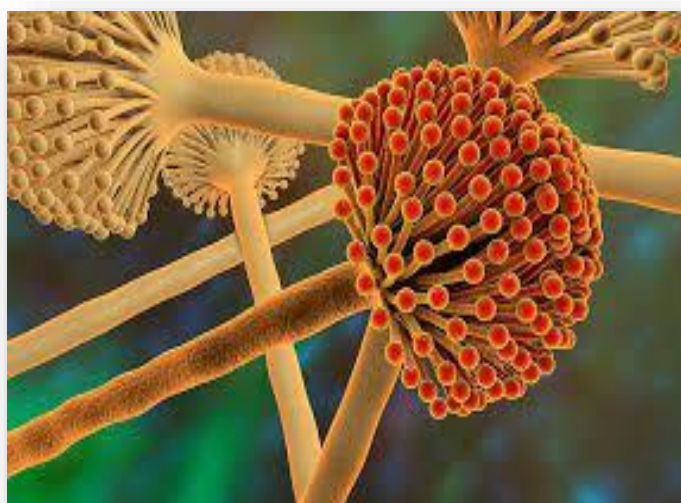


Εικόνα 5: Αφλατοξίνες B1, B2, G1, G2

φως (μπλε ή πράσινο), καθώς και με βάση την χρωματογραφική κινητικότητα τους, κατά τη διεξαγωγή χρωματογραφίας λεπτού στρώματος. Επίσης σημαντικές μυκοτοξίνες είναι οι M1 και M2, οι οποίες παράγονται στο γάλα και γενικότερα στα γαλακτοκομικά προϊόντα (D'Mello & MacDonald, 1997).

Η αφλατοξίνη B1 είναι η μυκοτοξίνη με την ισχυρότερη καρκινογόνο δράση και συνήθως είναι η κύρια αφλατοξίνη, που παράγεται από τοξικογόνα στελέχη (Squire, 1981). Οι αφλατοξίνες είναι παράγωγα διφουρανοκουμαρίνης, που παράγονται από την πολυκετιδική οδό, από πολλά διαφορετικά στελέχη, όπως ο *A. flavus* και ο *A. parasiticus* κυρίως. Άλλωστε ο *A. Flavus* αποτελεί ένα πολύ κοινό μολυνσματικό παράγοντα στη γεωργία. Κάποια ακόμα είδη, που παράγουν αφλατοξίνες, αλλά απαντώνται πιο σπάνια είναι τα *Aspergillus bombycis*, *Aspergillus ochraceoroseus*, *Aspergillus nomius* και *Aspergillus pseudotamari* (Peterson et al., 2001).

Η μόλυνση με αφλατοξίνη έχει βρεθεί ότι συνδέεται με την αυξημένη θνησιμότητα των ζώων της φάρμας και συνεπώς οδηγεί στην μείωση της αξίας των σιτηρών ως ζωοτροφή, αλλά και ως εμπόρευμα εξαγωγής. Τα γαλακτοκομικά προϊόντα μπορούν έμμεσα να λειτουργήσουν ως πηγή της αφλατοξίνης. Αυτό συμβαίνει επειδή όταν μια αγελάδα καταναλώσει ζωοτροφή, η οποία έχει μολυνθεί με αφλατοξίνη, μέσω του



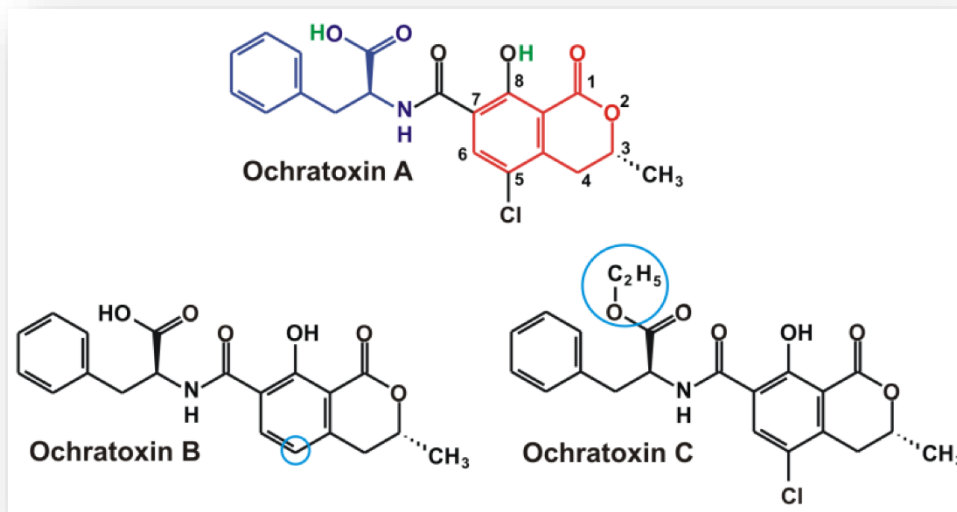
Εικόνα 6: Μύκητες θεώρηση από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο

μεταβολισμού του ζώου συντελείται μια βιομετατροπή της αφλατοξίνης B1 σε υδροξυλική μορφή, η οποία ονομάζεται αφλατοξίνη M1 (Van Egmond, 1989).

Η αφλατοξίνη έχει συνδεθεί τόσο με καρκινογένεση όσο και με τοξικότητα γενικά, στον άνθρωπο και στους ζωικούς πληθυσμούς. Οι ασθένειες, που προκαλούνται από την κατανάλωση αφλατοξίνης μπορούν να ονομαστούν *αφλατοξικώσεις*. Οι οξείες αφλατοξικώσεις μπορούν να οδηγήσουν ακόμα και στο θάνατο, ενώ οι χρόνιες μπορούν να προκαλέσουν νεοπλασματικά σύνδρομα, καταστολή του ανοσοποιητικού και μερικά ακόμα παθολογικά συμπτώματα, που θα αναλυθούν και στο κεφάλαιο 3. Ένας πρωταρχικός στόχος της αφλατοξίνης B1 στον οργανισμό είναι το ήπαρ, το οποίο μπορεί να υποστεί πλήγμα, όταν πρόκειται για πουλερικά, ψάρια, τρωκτικά και άλλα πρωτεύοντα θηλαστικά, με εξαίρεση τον άνθρωπο. Αυτό συνεπάγεται ότι κάθε είδος έχει αρκετά διαφορετικό βαθμό αντοχής και ανθεκτικότητας στις μυκοτοξίνες. Ακόμη αξίζει να σημειωθεί ότι σε ένα συγκεκριμένο είδος, το εύρος της απόκρισης στην είσοδο αφλατοξίνης στον οργανισμό επηρεάζεται από την ηλικία, το φύλο, το βάρος, τη διατροφή, την έκθεση στους μολυσματικούς παράγοντες και την παρουσία άλλων μυκοτοξινών και φαρμακολογικά ενεργών ουσιών στον οργανισμό (Cullen & Newberne, 1994).

2.3.3 Ωχρατοξίνη A

Οι ωχρατοξίνες είναι δευτερογενείς μυκητιακοί μεταβολίτες και προέρχονται από το γένος *Aspergillus* και πενικιλιο και πιο συγκεκριμένα από το είδος *penicillium verrucosum*. Από χημική άποψη οι ωχρατοξίνες από μια κουμαρική ομάδα η οποία ενώνεται μέσω μια καρβοξυλικής ομάδας με την L - B - -φαινυλαλανίνη. (Miller 1995), (Paul Bayman1 & James L. Baker2).



Εικόνα 7: Ομάδα από ωχρατοξίνες

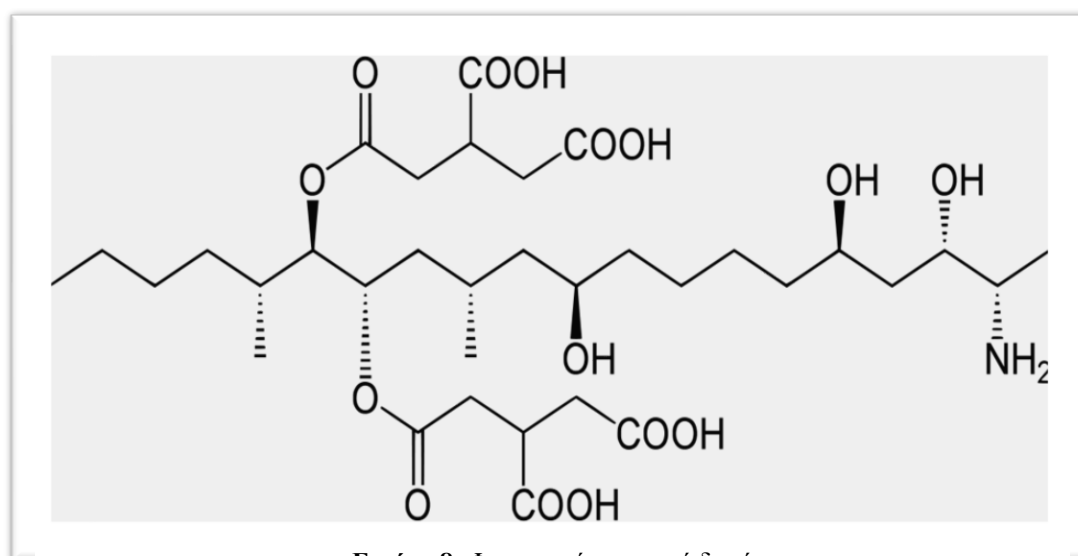
Μέλη από τις ωχρατοξίνες έχουν βρεθεί ως μεταβολίτες πολλών διαφορετικών ειδών *Aspergillus*, περιλαμβάνοντας τον *Aspergillus alliaceus*, *Aspergillus auricomus*, *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus*, *Aspergillus niger*, ο οποίος χρησιμοποιείται για την παραγωγή ενζύμων και κιτρικού οξέος ώστε να εξασφαλίζεται η ασφαλής κατανάλωση από τον άνθρωπο, προϋποθέτει να μην παράγονται από τα βιομηχανικά στελέχη. Συγκεκριμένα η ωχρατοξίνη A έχει βρεθεί ότι περιέχεται στο κριθάρι, βρώμη, σίκαλη, καφέ, σιτάρι και σε αλλά πολλά φυτικά προϊόντα, αλλά και στο κρασί λόγω της μόλυνσης των σταφυλιών από *Aspergillus*. Η ωχρατοξίνη A σύμφωνα με έρευνες έχει ονομαστεί ως νευροτοξίνη φέροντας επικίνδυνες συνέπειες για όλα τα είδη ζώων αλλά ακόμα και για τους ανθρώπους χωρίς να είναι απόλυτα βέβαιο ακόμα. Εκτός από τα ήδη αναφερόμενα προσδίδονται και άλλες ονομασίες όπως η ηπατική τοξίνη, τερατογόνο και καρκινογόνο, και τέλος έχει αναδειχθεί ότι εμποδίζει την παραγωγή του μιτοχονδριακού ATP και διεγείρει την υπεροξειδωση των λιπιδίων. Η ωχρατοξίνη, η οποία εντοπίζεται κυρίως στους ζωικούς ιστούς αλλά και στο γάλα, και η οποία είναι υπεύθυνη για τον θάνατο πολλών χοίρων στις

σκανδιναβικές χώρες αλλά και για τον θάνατο πολλών πουλερικών προκαλώντας νευροπάθεια (Bennett & Klich, 2003).

Εν κατακλείδι, παρόλο που η ωχρατοξίνη Α χρησιμοποιείται καθώς ενέχει κέρδη και πλεονεκτήματα για την οικονομία, θα πρέπει να ελεγχθεί εξαιτίας των ασθενειών με τις οποίες έχει συνδεθεί. Πιο συγκεκριμένα, η οξεία νεφροπάθεια, οι ανοσοκατασταλτικές ιδιότητες και οι τερατογόνοι και καρκινογόνα αποτελέσματα σε όλα τα ζώα σε συνδυασμό με την μεταφορά της μέσω της τροφής στο άνθρωπο αποτελούν βασική και καίρια μέριμνα ώστε να πραγματοποιηθούν περαιτέρω έρευνες και μέθοδοι μείωσής της ωχρατοξίνης από τους ειδικούς επιστήμονες (Bennett & Klich, 2003).

2.3.4 Φουμονισίνες

Η ανακάλυψη των φουμονισινών (Gelderblom et al., 1988) ήταν μια σημαντική ανακάλυψη που τερμάτισε την έρευνα για τον εντοπισμό της μυκοτοξίνης που προκαλεί τις ασθένειες των ζώων που σχετίζονται με τον αραβόσιτο ή τις ζωοτροφές μολυσμένες με *Fusarium verticillioides* (πρώην *F. moniliforme* Sheldon) ή *F. proliferatum*. Αυτά τα δύο είδη είναι οι πιο σημαντικοί παραγωγοί φουμονισίνης, αν και άλλα *Fusarium* και τουλάχιστον ένα είδος *Aspergillus* (*A. niger*) παράγουν μικρές



Εικόνα 8: Φουμονισίνη-χημική δομή

ποσότητες. Πάνω από 28 φουμονισίνες εντοπίστηκαν μέχρι το 2002 (Rheeder et al., 2002). Νέα στερεοϊσομερή όπως το *epi*-FB3 και το *epi*-FB4 και νέες ουσίες όπως η φουμονισίνη B6 (Månsson et al., 2010) συνεχίζουν να ανακαλύπτονται και η δομική επιβεβαίωση είναι πιθανή. Η φουμονισίνη B1 (FB1) είναι το κυρίαρχο ισομερές και συνήθως αντιπροσωπεύει το 60% ή περισσότερο των φουμονισινών στον αραβόσιτο. Τα FB2 και FB3 εμφανίζονται σε μικρότερες ποσότητες με το FB2 να είναι το πιο διαδεδομένο. Ωστόσο, ένας μικρός αριθμός διαλυμάτων μυκήτων παράγει κυρίως FB2 ή FB3 και δεν είναι καθόλου FB1. Οι φουμονισίνες έχουν αποδειχθεί ότι προκαλούν ασθένειες ζώων, συμπεριλαμβανομένης της τοξικότητας του ήπατος και των νεφρών και καρκινογένεση στα τρωκτικά και υπάρχουν ενδείξεις ότι αποτελούν κίνδυνο για την υγεία των ανθρώπων υπό ορισμένες συνθήκες (Gelderblom et al., 1991. Howard et al., 2001. Månsson et al., 2010).

Η χημική δομή των φουμονισινών μοιάζει πολύ με εκείνη των σφιγγοειδών βάσεων σφιγγανίνη (Sa) και σφιγγοσίνη (So). Δεν υπάρχουν μέχρι σήμερα στοιχεία ότι οι φουμονισίνες υφίστανται ηπατικό μεταβολισμό Φάσης I ή Φάσης II. Οι φουμονισίνες που έχουν μια πρωτογενή αμινομάδα στη θέση C2 αναστέλλουν ανταγωνιστικά τη βιοσύνθεση *de novo* κεραμιδίου (N-ακυλο σφιγγοσίνη) (Wang et al., 1999).

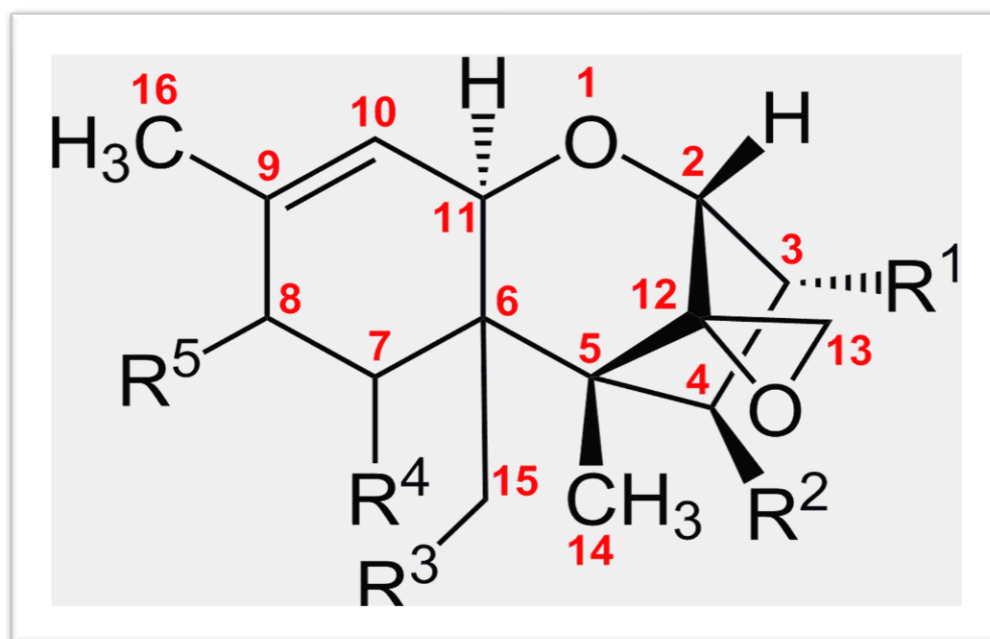
Η μονιλοφορμίνη είναι κυτταροτοξική και φαίνεται να αναστέλλει την πρωτεϊνική σύνθεση και τα ένζυμα, να προκαλεί χρωμοσωμικές βλάβες και να προκαλεί καρδιακή ανεπάρκεια στα θηλαστικά και τσα πουλερικά (Bryden et al., 2001). Η μονιλοφορμίνη έχει βρεθεί παγκοσμίως ευρύ σε δείγματα δημητριακών. Στον τον αραβόσιτο οι μύκητες που παράγουν μονιλοφορμίνη είναι οι *F. proliferatum* και *F. subglutinans*, ενώ ο *F. avenaceum* και ο *F. tricinctum* είναι οι βασικές μύκητες, που προσβάλλουν τα δημητριακά, που καλλιεργούνται σε εύκρατα κλίματα. Στο σόργο, το κεχρί και το ρύζι,

ο *F. napiforme*, ο *F. nygamai*, ο *F. verticillioides* και ο *F. thapsinum* μπορούν να ευθύνονται για την παραγωγή μονιλιφορμίνης. Ορισμένα στελέχη του *F. oxysporum* παράγουν μια σημαντική ποσότητα μονιλιφορμίνης υπό εργαστηριακές συνθήκες. Ωστόσο, δεν υπάρχουν λεπτομερείς πληροφορίες για πιθανή παραγωγή σε λαχανικά και φρούτα (Schütt et al., 1998).

Η φουμονισίνη B1 έχει χαρακτηριστεί ως πιθανό καρκινογόνο για τον άνθρωπο (Ομάδα 2B) από τον Διεθνή Οργανισμό Έρευνας σχετικά με τον καρκίνο (2001). Αυτό σημαίνει ότι υπάρχουν επαρκή στοιχεία για καρκινογένεση σε πειραματόζωα, αλλά ανεπαρκή στοιχεία για καρκινογένεση στον άνθρωπο. Μια προσωρινή μέγιστη ανεκτή ημερήσια πρόσληψη φουμονισίνης B1 2μg/kg σωματικού βάρους έχει οριστεί από την Κοινή Επιτροπή Εμπειρογνομών του ΠΟΥ για τα Πρόσθετα Τροφίμων (JECFA) (Bolger et al., 2001). Η Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ εξέδωσε μια Οδηγία Βιομηχανίας για τις φουμονισίνες (άθροισμα των φουμονισινών B1+B2+B3) που κυμαίνονται από 2 (αποφλοιωμένα ξηρά λευκασμένα προϊόντα, περιεκτικότητα σε λίπος <2,25%) έως 4 ppm (αραβόσιτος για παραγωγή μασάζ ή ολική ή μερική αποβίωση ξηρά αλεσμένα προϊόντα). Τα μέγιστα επιτρεπόμενα επίπεδα φουμονισίνης (άθροισμα φουμονισινών B1+B2) στον αραβόσιτο και στα προϊόντα αραβοσίτου για ανθρώπινη κατανάλωση που ορίζονται από την Επιτροπή των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων (2007) κυμαίνονται από 0,2 (βρεφικές και βρεφικές τροφές) έως 1 (αραβόσιτος ή αραβόσιτος τρόφιμα για άμεση ανθρώπινη κατανάλωση) ppm.

2.3.5 Τριχοθεκένια

Τα τριχοθηκένια είναι τοξικοί δευτερογενείς μεταβολίτες που παράγονται από μια ποικιλία μυκήτων από την τάξη των Hyocreales, συμπεριλαμβανομένων των ειδών *Fusarium*, *Myrothecium*, *Stachybotrys* και *Trichoderma* (Wilkins et al., 2003). Τα τριχοθηκένια τύπου Α και τύπου Β που παράγονται από μια ομάδα ειδών *Fusarium* που μολύνουν τα τρόφιμα και τις ζωοτροφές. Αυτά τα είδη παράγουν και εκκρίνουν τριχοθηκένια κατά την αλληλεπίδρασή τους με τους φυτικούς ξενιστές (Kang & Buchenauer, 1999) ενώ προκαλούν μια ασθένεια των δημητριακών που ονομάζεται *Fusarium head blight* (FHB). Οι μύκητες *Fusarium* είναι ασκομύκητες και είναι ικανοί



Εικόνα 9: Τριχοθεκένια

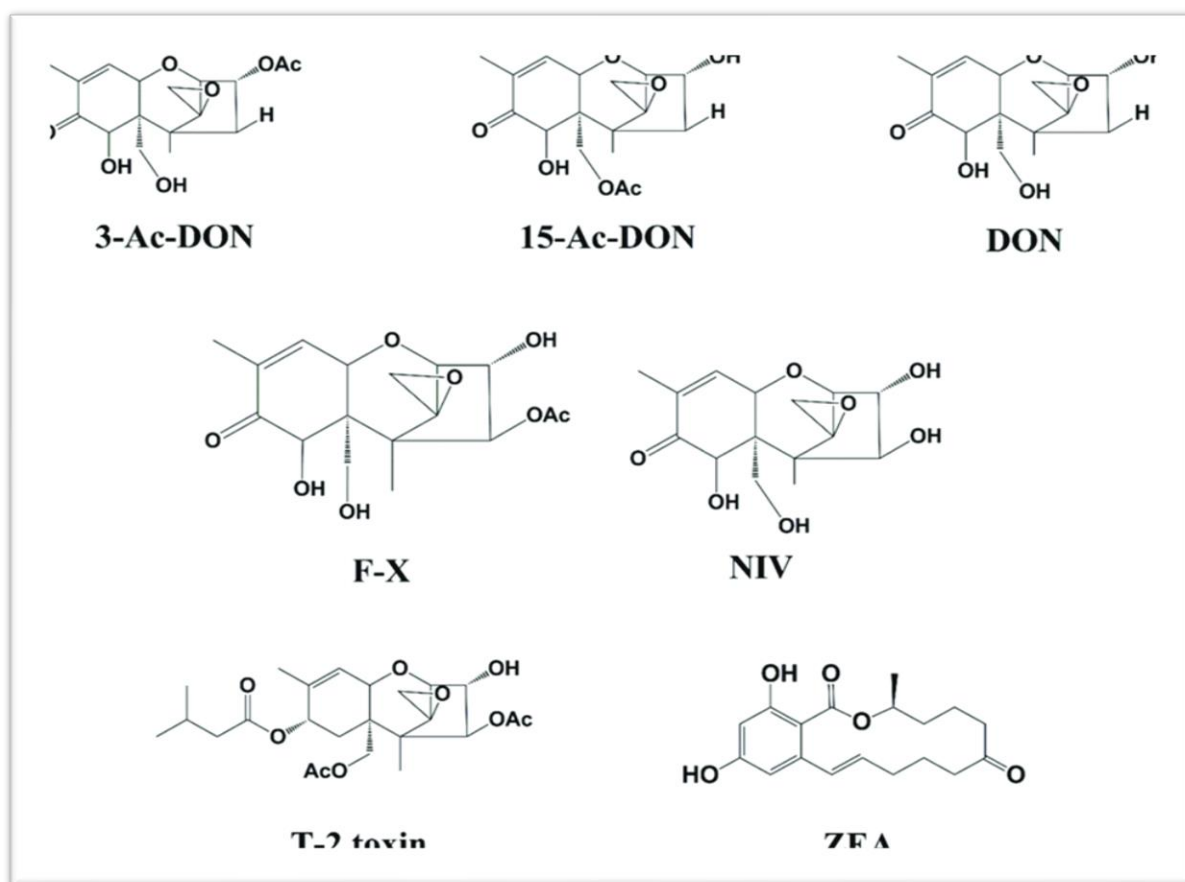
τόσο για σεξουαλική όσο και για ασεξουαλική αναπαραγωγή. Το τηλεόμορφο πολλών ειδών *Fusarium* ανήκει στο γένος *Gibberella*, αν και έχουν αναφερθεί τηλεόμορφα ορισμένων *Fusaria* σε άλλα γένη και σε πολλές περιπτώσεις δεν έχει εντοπιστεί σεξουαλικό στάδιο. Τούτου λεχθέντος, σύμφωνα με τον Διεθνή Κώδικα Βοτανικής Ονοματολογίας για τα φύκια, τους μύκητες και τα φυτά, η ονομασία των πλειόμορφων μυκήτων (με ασεξουαλικά και σεξουαλικά στάδια) εμπίπτει στον κανόνα «Ένας

μύκητας ένα όνομα» και η αποκλειστική χρήση του *Fusarium* είναι συνιστάται πλέον (από το 2013) για όλα τα είδη αυτού του σημαντικού γένους (Geiser et al, 2013).

Τα τριχοθεκένια είναι ενώσεις που περιέχουν δακτύλιοι σεσκιτερπενίου, οι οποίοι χαρακτηρίζονται από έναν πυρήνα 12,13-εποξυ-τριχοθεκ-9-ενίου. Έχουν διαφορετικά συστατικά στις θέσεις 3, 4, 7, 8 και 15 του μόριου. Τα τριχοθεκένια παράγονται κυρίως από πολλά είδη *Fusarium*, αλλά μπορούν επίσης να παραχθούν από μέλη άλλων γενών, όπως το *Myrothecium* (Tamm and Breitenstein, 1984) και *Trichothecium* (Jones and Lowe, 1960). Τα τριχοθεκένια περιλαμβάνουν την τοξίνη T-2, την διακετοξυσκιρπενόλη (DAS), τη δεοξυνιβαλενόλη (DON) και τη νιβαλενόλη. Τόσο η τοξίνη T-2 όσο και η DAS είναι οι πιο τοξικές και είναι διαλυτές σε μη πολικούς διαλύτες, όπως επί παραδείγματι ο οξικός αιθυλεστέρας και ο διαιθυλαιθέρας, ενώ η DON και η μητρική της ένωση, η νιβαλενόλη είναι διαλυτή σε πολικούς διαλύτες, όπως είναι οι αλκοόλες (Trenholm et al., 1986).

Η Δεοξυνιβαλενόλη (DON) είναι τύπος Β τριχοθεκένιου, ο οποίος σχετίζεται, κυρίως με τους μύκητες *Fusarium graminearum* και *Fusarium culmorum* (Goswami και Kistler 2004). Χαμηλές συγκεντρώσεις της Don μπορεί οδηγήσουν σε διαταραχές ανάπτυξης, ενώ υψηλότερες δόσεις είναι ικανές να προκαλέσουν ακόμα και εμετό. Σε ζωικά μοντέλα, η Don έχει επίσης αποδειχθεί ότι είναι ένας ισχυρός αναστολέας πρωτεϊνοσύνθεσης, ο οποίος είναι σε θέση να τροποποιήσει την κυτταρική ανοσία, τη χυμική ανοσία και την αντίσταση του ξενιστή, που τη φιλοξενεί (Bondy και Pestka 2000). Είναι επίσης γνωστό ότι η Don μπορεί να δεσμεύσει τη 60S ριβοσωμική υπομονάδα και κατά αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνει την αναστολή της σύνθεσης των πρωτεϊνών (Cundliffe και Davies, 1977). Οι κύριοι κίνδυνοι που εγκυμονεί η έκθεση της Don στον άνθρωπο αφορούν κυρίως το έντερο, το κεντρικό νευρικό και το ανοσοποιητικό συστήματα, όπως αναφέρεται και ανωτέρω. Πολλά τριχοθεκένια είναι

σε θέση να ενεργοποιήσουν τις ενδοκυτταρικές πρωτεϊνικές κινάσες, που μπορούν μεσολαβήσουν στην εκλεκτική γονιδιακή έκφραση καθώς και στην κυτταρική απόπτωση (υποχρεωτικός κυτταρικός θάνατος). In vitro και in vivo μελέτες έχουν δείξει ότι η έκθεση στη Don επάγει πρωτεϊνική κινάση MAPK, η οποία ενεργοποιείται με την μεσολάβηση του μιτογόνου, και έτσι την έκφραση ενός προφλεγμονώδους γονιδίου (Pestka 2010).



Εικόνα 10: Σημαντικά τριχοθεκένια⁴

Η Νιβαλενόλη (NIV) και το fusarenon X (FX, 4ANIV) εμφανίζονται στα ίδια εμπορεύματα ως DON, ενώ σε πολλές περιπτώσεις καλύπτονται από τις ίδιες έρευνες, λόγω του υψηλού βαθμού ομοιότητας τους. Η NIV συχνά ανιχνεύεται σε πολύ

⁴ <https://www.semanticscholar.org/paper/Trichothecene-biosynthesis-in-Fusarium-species%3A-and-Desjardins-Hohn/7ab45b41ac95604b60563c00099415e41ce35a3e>

χαμηλότερες συγκεντρώσεις από την DON, αλλά θεωρείται πιο τοξική. Σημαντικές πηγές είναι ο *Fusarium graminearum*, ο οποίος είναι ένας πολύ γνωστός παραγωγός της NIV και του FX στα δημητριακά. Σε εύκρατα κλίματα, ο *F. roae*, ο οποίος είναι σταθερός παραγωγός NIV (Thrane et al., 2004), μπορεί να είναι υπεύθυνος για την εμφάνιση της NIV στα δημητριακά. Ακόμα τα στελέχη του *F. culmorum*, που παράγουν NIV είναι λιγότερα σε αριθμό συνήθως και απομονώνονται από εκείνα που παράγουν τα παράγωγα της DON. Οι μύκητες *F. equiseti* και *F. crookwellense*, που βρίσκονται σε ορισμένα δείγματα δημητριακών και στα λαχανικά μπορεί επίσης να παράγουν NIV. Στις πατάτες, στελέχη του *F. venenatum* έχουν ανιχνευθεί να παράγουν NIV (Nielsen and Thrane, 2001)

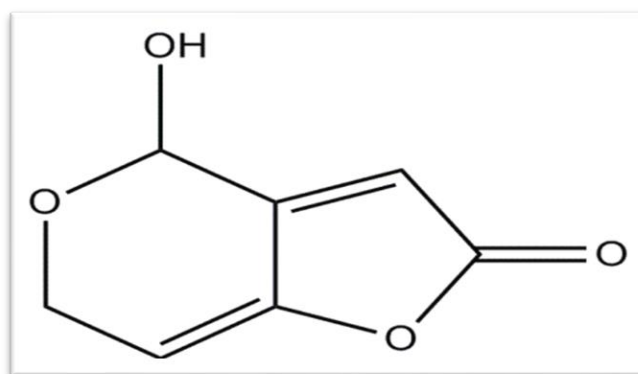
Η τοξίνη T-2 είναι ένα από τα πιο τοξικά τριχοθεκένια, ενώ η παράγωγη της τοξίνης HT-2 είναι λιγότερο τοξική. Λόγω της δομικής ομοιότητας αυτές οι τοξίνες περιλαμβάνονται συχνά στην ίδια αναλυτική μέθοδο. Σημαντικές πηγές είναι οι *Fusarium sporotrichioides* και *F. langsethiae*, οι οποίοι συχνά απομονώνονται από δημητριακά στην Ευρώπη, είναι σταθεροί παραγωγοί T-2 και HT-2 (Thrane et al., 2004). Μικρότερες πηγές, προέρχονται από μερικά στελέχη των *F. roae* και *F. sambucinum* που παράγουν T-2 και HT-2 (Nielsen και Thrane, 2001; Thrane et al., 2004).

Όσον αφορά την διακετοξυσκιπενόλη (DAS) και τα μονοακετυλιωμένα παράγωγα (MAS), αυτά αποτελούν μια τέταρτη ομάδα σημαντικών τριχοθεκενίων στα τρόφιμα. Σημαντικές πηγές των μυκοτοξινών αυτών είναι τα απομονωμένα στελέχη *Fusarium venenatum*, τα οποία συχνά παράγουν υψηλά επίπεδα DAS. Αυτό το είδος συχνά απομονώνεται από δημητριακά και πατάτες (Nielsen and Thrane, 2001). Τα προϊόντα απομόνωσης του *F. roae* επίσης συχνά παράγουν υψηλά επίπεδα DAS. Από την άλλη ο μύκητας *Fusarium equiseti*, εφόσον απομονωθεί μπορεί να παράγει DAS και MAS

σε υψηλές ποσότητες, αλλά αυτό το είδος σπάνια απομονώνεται από δημητριακά και λαχανικά. Οι *F. sporotrichioides* και *F. langsethiae* επίσης παράγουν DAS και MAS. Ωστόσο σε χαμηλότερα επίπεδα (Thrane et al., 2004). Τα προϊόντα απομόνωσης του *F. sambucinum* παράγουν DAS και MAS και είναι πιθανή αιτία για την ύπαρξη DAS στις πατάτες (Ellner, 2002)

2.3.6 Πατουλίνη

Η πατουλίνη είναι ένας τοξικός χημικός μολυντής, που προέρχεται από διάφορα είδη μούχλας, ειδικότερα *Aspergillus*, *Penicillium*, *Byssochlamys*. Από χημική δομή είναι μια β-ακόρεστη γ-λακτονη ένας δευτερεύον μεταβολίτης και μυκοτοξίνη, στην οποία συγκαταλέγονται πάνω από 60 είδη διαφορετικών μυκήτων. Η πατουλίνη ανιχνεύτηκε πρώτα από τους Birkinshaw και συνεργάτες, το 1943 από το *penicillium expansum* και το *penicillium expansum*, στην προσπάθεια εύρεσης και άλλων μυκήτων με αντιβιοτικές ιδιότητες, ωστόσο στις δεκαετίες του 1950 και του 1960 στις έρευνες που διεξήχθησαν έγινε γνωστό ότι παρά την αντιβακτηριακή και αντικη επίδραση της είναι ιδιαίτερα επιβλαβής για τα φυτά και τα ζώα, αυτό ήταν αρκετό ώστε να επαναχρησιμοποιείται ως μυκοτοξίνη και όχι ως αντιβιοτικό. Τα τρόφιμα που εμφανίζουν μόλυνση είναι κυρίως τα φρούτα όπως αχλαδιά και μήλα, τυποποιημένοι χυμοί φρούτων και κομπόστες. Ωστόσο, εμφανίζεται και σε ορισμένες περιπτώσεις σε θαλασσινά, μερικά λαχανικά και σε τυριά (Wright, 2015).



Εικόνα 11: Πατουλίνη⁵

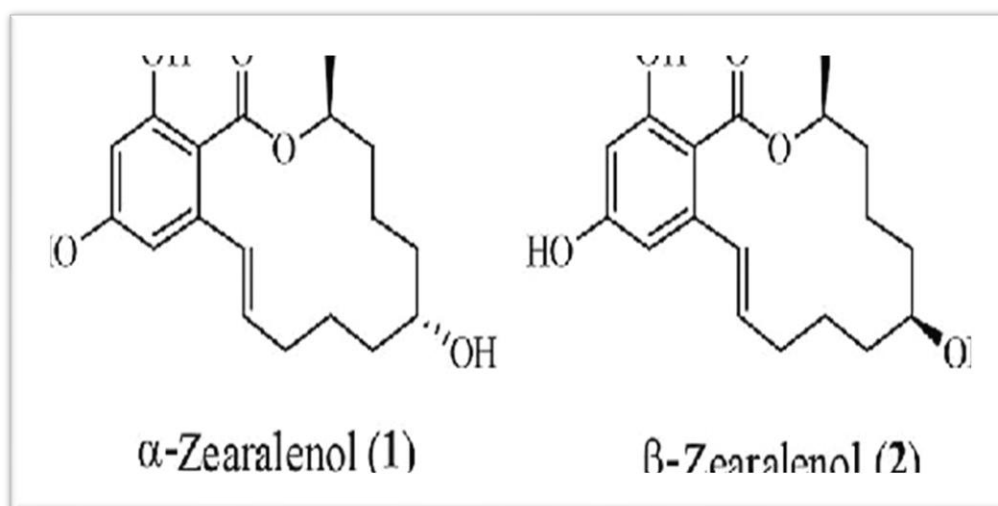
Η πατουλίνη παράγεται κυρίως από το *P. expansum*. Τα προϊόντα που βρέθηκαν μολυσμένα με πατουλίνη είναι κυρίως φρούτα και χυμοί φρούτων στην Ευρώπη και τη Βόρεια Αμερική. Η πατουλίνη είναι σημαντικά σταθερή στους χυμούς μήλων και σταφυλιών, αν και σε επίπεδα χαμηλότερα από αυτά που προκαλούν πιθανή απειλή για τον άνθρωπο. Πολλές χώρες έχουν θέσει ρυθμιστικά όρια για την πατουλίνη στους χυμούς φρούτων, που κυμαίνονται από 30 έως 50 ppb. Η τοξικότητα της πατουλίνης έχει μελετηθεί σε πολλά πειραματικά μοντέλα, όπως κοτόπουλο, ορτύκια, γάτα, βοοειδή, κουνέλι, ποντίκια και αρουραίους. Οι τοξικές επιδράσεις σε αυτά τα ζώα βρέθηκαν να είναι οίδημα και αιμορραγία στον εγκέφαλο και στους πνεύμονες, τριχοειδική βλάβη στο ήπαρ, τη σπλήνα και τα νεφρά, παράλυση κινητικών νεύρων και σπασμοί. Η πατουλίνη είναι επίσης ένας ανοσοκατασταλτικός παράγοντας που αναστέλλει πολλαπλές πτυχές της λειτουργίας των ακροφάγων.

2.3.7 Ζεαραλεόνη

Η ζεαραλενόνη (ZEN) παράγεται κυρίως από το *F. graminearum* και συγκαταλέγεται στις πιο ευρέως διαδεδομένες μυκοτοξίνες *Fusarium*. Συνδέεται κυρίως με το καλαμπόκι, το σιτάρι, το κριθάρι, το σόργο και άλλα δημητριακά. Η JECFA έχει ορίσει

⁵ https://www.researchgate.net/figure/Chemical-structure-of-patulin_fig1_316866233

PMTDI 0,5 mg kg⁻¹ σωματικού βάρους. Το ZEN έχει οιστρογονικές επιδράσεις σε οικόσιτους χοίρους και πειραματόζωα, είναι τερατογόνο σε ποντίκια και αρουραίους και προκαλεί χρωμοσωμικές ανωμαλίες σε καλλιεργημένα κύτταρα τροφικών. Την ικανότητα της ουσίας να προκαλεί καρκίνο δοκίμασε έρευνα με τη χορήγηση στη διαίτα σε ένα πείραμα σε ποντίκια και σε δύο πειράματα σε αρουραίους. Παρατηρήθηκε αυξημένη συχνότητα ηπατοκυτταρικών αδενωμάτων σε θηλυκά ποντίκια και αδενωμάτων υπόφυσης σε ποντικούς κάθε φύλου. Δεν παρατηρήθηκε αύξηση στη συχνότητα εμφάνισης όγκων σε αρουραίους (Bennett & Klich, 2003).



Εικόνα 12: Ζεαραλεόνη⁶

Η ζεαραλενόνη (ZEA) είναι μια μυκοτοξίνη που παράγεται από τα είδη *Fusarium* (*F. graminearum*, *F. cerealis*, κ.λπ.), τα οποία διανέμονται παγκοσμίως. Η λακτόνη ZEA ή 6-(10-υδροξυ-6-οξο-τρανς-1-ενδεκενίου) β-ρεζορκυλικού οξέος έχει μοριακό τύπο C₁₈H₂₂O₅, όπως φαίνεται και στην εικόνα 12. Τα τοξικογόνα είδη, όπως οι μύκητες *Fusarium*, συμπεριλαμβανομένου του *F. graminearum* (*Gibberella zae*), του *F. culmorum*, του *F. cerealis*, του *F. equiseti*, του *F. crookwellense* και του *F. semitectum*, είναι κύρια παθογόνα των φυτών δημητριακών και προκαλούν σήψη των αυτιών στον

⁶ https://www.researchgate.net/figure/Structures-of-a-zearalenol-1-and-b-zearalenol-2_fig2_321142186

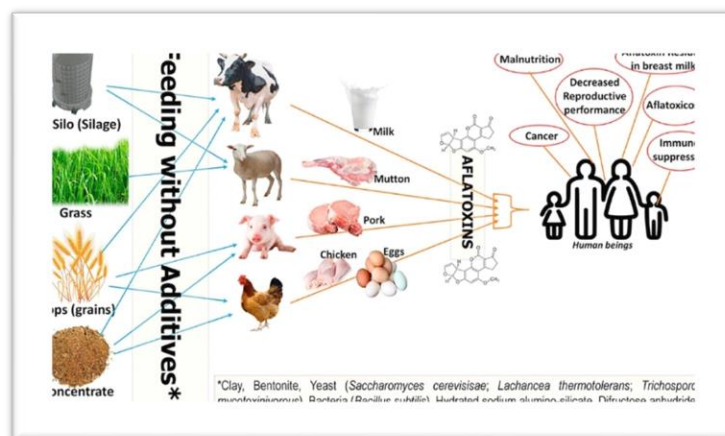
αραβόσιτο και κεφαλαλγία σε σιτάρι και κριθάρι. Η ζεαραλεόνη ανιχνεύεται συνήθως σε υψηλά επίπεδα σε δείγματα φυσικών ζωοτροφών, λόγω της ακατάλληλης αποθήκευσής τους, παρόλο που τα τοξικογόνα είδη *Fusarium* μολύνουν τα δημητριακά και οδηγούν σε συσσώρευση ZEA πριν από τη συγκομιδή (D'Mello et al., 1999. Bennett and Klich, 2003).

Η ζεαραλεόνη εμφανίζεται φυσικά σε γεωργικές καλλιέργειες, ιδιαίτερα στον αραβόσιτο. Αυτή η μυκοτοξίνη θα μπορούσε να μολύνει προϊόντα από κριθάρι, σιτάρι, βρώμη, ρύζι και σόργο. Δεδομένης της επικράτησης και της σταθερότητάς της στη θερμότητα (έως 160°C), Η ζεαραλεόνη δεν μπορεί να εξαλειφθεί πλήρως στην τροφική αλυσίδα. Αν και Η ζεαραλεόνη είναι μη στεροειδής, αυτή και τα παράγωγά της δρουν παρόμοια με την 17β-οιστραδιόλη (E2) αναστέλλοντας την έκκριση και απελευθέρωση στεροειδών ορμονών, διαταράσσοντας έτσι την ενδογενή οιστρογονική απόκριση κατά το στάδιο της προωορρηξίας και καταστέλλοντας την ωρίμανση των ωοθυλακίων. Η οιστρογονική δραστηριότητα της ζεαραλεόνης προκαλεί αρκετές αναπαραγωγικές διαταραχές σε κατοικίδια ζώα καθώς και υπεροιστρογόνα σύνδρομο στον άνθρωπο (Poore et al., 2015), τα οποία εξαρτώνται από τη δόση και τον χρόνο έκθεσης.

Κεφάλαιο 3ο Παθογένεια

3.1 Παθογόνα αίτια και επιπτώσεις σε ζώα και ανθρώπους

Η μυκοτοξίκωση σε ανθρώπους και ζώα χαρακτηρίζεται ως σχετιζόμενη με την τροφή, μη μεταδοτική, μη μεταφερόμενη, μη μολυσματική και μην ανιχνεύσιμη σε μικροοργανισμούς, πέρα από τους μύκητες. Τα κλινικά συμπτώματα συνήθως υποχωρούν μετά την απομάκρυνση της επιμολυσμένης τροφής. Είναι εύκολο να μολυνθούν από μυκοτοξίνες μια μεγάλη ποικιλία εμπορευμάτων, τόσο πριν όσο και μετά τη σοδειά (CAST, 2003). Οι αφλατοξίνες μπορούν να βρεθούν σε σιτάρι και φυστίκια, όπως και σε καρπούς δέντρων και αποξηραμένα φρούτα. Η ωχρατοξίνη ανιχνεύεται κυρίως στα δημητριακά, ενώ είναι πιθανό να δημιουργηθούν σημαντικές επιμολύνσεις στο κρασί και τα μπαχαρικά. Άλλα προϊόντα που πρέπει να ελέγχονται είναι τα φασόλια, οι ψημένοι σπόροι καφέ και κακάο, η βύνη και η μπύρα, το ψωμί και τα αρτοσκευάσματα, οι οίνοι, οι χυμοί από σταφύλι, τα μπαχαρικά, τα πουλερικά και τα συκώτια τόσο από κοτόπουλο όσο και από χοίρο και τέλος τα χοιρινά λουκάνικα (Milicevic et al., 2008).



Εικόνα 13: Αλυσίδα επίδρασης μυκοτοξινών⁷

⁷ <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0041010120300155>

Οι μυκοτοξικώσεις, όπως άλλωστε και όλα τα τοξικολογικά σύνδρομα, μπορούν να διακριθούν σε δύο κύριες κατηγορίες: την οξεία και τη χρόνια μυκοτοξίκωση. Η οξεία τοξικότητα κατά γενική ομολογία, έχει γοργό ξεκίνημα και μια τοξική απόκριση. Από την άλλη η χρόνια τοξικότητα χαρακτηρίζεται από έκθεση σε χαμηλή δόση της τοξίνης, σε αρκετά μεγάλο χρονικό διάστημα. Αυτού του είδους η έκθεση στον τοξικό παράγοντα μπορεί να οδηγήσει σε καρκινογένεση και διάφορα άλλα μη αναστρέψιμα αποτελέσματα στον οργανισμό (James, 2005).

Πριν από την ανακάλυψη και την εφαρμογή των σύγχρονων μεθόδων αλέσματος, τα είδη του *Fusarium*, έχουν κατηγορηθεί για την δημιουργία πολλαπλών εστιών μυκοτοξίκωσης στον άνθρωπο. Οι κόκκοι δημητριακών μάλιστα, που είχαν μολυνθεί με τους μύκητες *F. sporitrichoides* και *F. roae*, φαίνεται να εμπλέκονταν με το ξέσπασμα της Διατροφικής Τοξικής Αλευκίας (*Alimentary toxic aleukia, ATA*) στη Ρωσία από το 1932 έως και το 1947. Τα συμπτώματα περιλαμβάνουν υπεραιμία βλεννογόνου, άλγος στον οισοφάγο, λαρυγγίτιδα, ασφυξία, γαστρεντερίτιδα και ίλιγγο (Lewis et al, 2005).

Η αφλατοξίκωση είναι μια τοξική ηπατίτιδα, που οδηγεί στον ίκτερο και σε πολύ σοβαρές περιπτώσεις ακόμα και στο θάνατο. Πολλαπλά τέτοια περιστατικά έχουν κάνει την εμφάνιση τους σε χώρες όπως η Κένυα (1981,2001, 2004, 2005), η Ινδία και η Μαλαισία, σύμφωνα με τον Lewis et al (2005). Η αφλατοξίνη B1 έχει συνδεθεί εμπειριστωμένα με τον πρωτοπαθή καρκίνο του ήπατος στον άνθρωπο, ο οποίος λειτουργεί συνεργατικά με μόλυνση από τον ιό *HBV* και είναι πλέον επισήμως αναγνωρισμένη ως καρκινογόνος παράγοντας στο άνθρωπο (ομάδα 1 καρκινογόνο), από το *International Agency for Research on Cancer (IARC, 1993)*. Αυτός ο συνδυασμός αντιπροσωπεύει ένα πολύ σημαντικό καρκινικό πλήγμα στις αναπτυσσόμενες χώρες. Αυτό μάλιστα, τονίζεται περισσότερο, σύμφωνα με τον

Shepherd (2006), ο οποίος διεξήγαγε μια αναλυτική σύγκριση μεταξύ του κινδύνου για καρκινογένεση στον πληθυσμό της Κένυας και στον πληθυσμό της Γαλλίας.



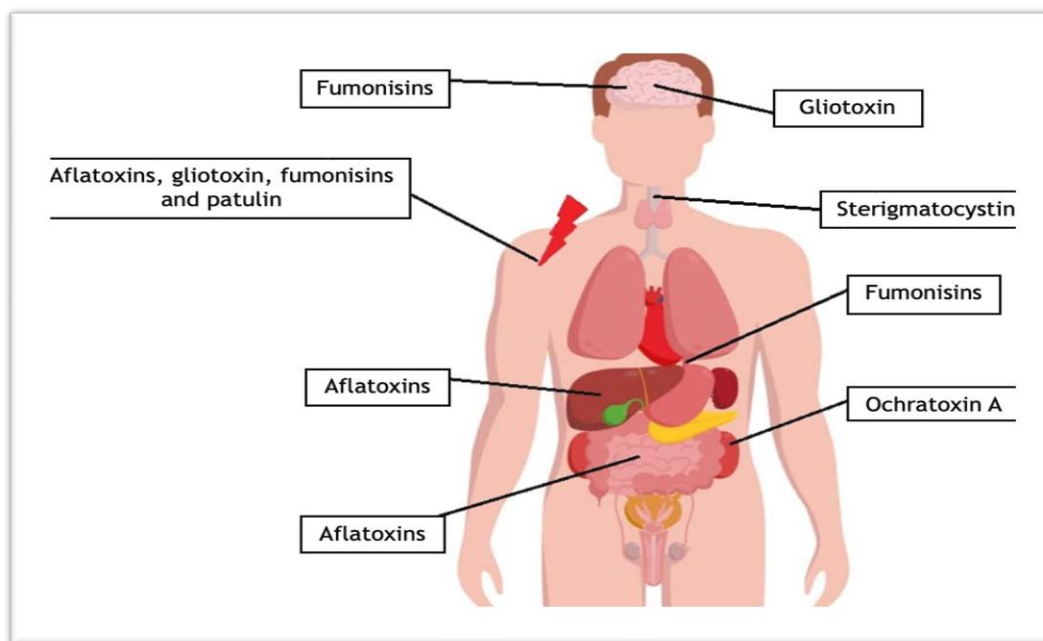
Εικόνα 14: Μυκοτοξίνες στο αίμα⁸

Ο πιο μεγάλος κίνδυνος όμως, που ελλοχεύει για τους ανθρώπους από την αφλατοξίνη προέρχεται από την χρόνια διατροφική έκθεση στις τοξίνες αυτές. Τέτοιου είδους εκθέσεις έχουν συνδεθεί στο παρελθόν με ανθρώπινα ηπατοκυτταρικά καρκινώματα, στην σύνθεση των οποίων ίσως συνέβαλε και ο ιός της ηπατίτιδας Β. Στην Κίνα και στην Υποσαχάρια Αφρική, υπολογίζονται περίπου 250000 θάνατοι, οι οποίοι προκλήθηκαν από ηπατοκυτταρικά καρκινώματα και αποδίδονται σε παράγοντες κινδύνου, όπως η υψηλή καθημερινή πρόσληψη Αφλατοξίνης και η υψηλή συχνότητα εμφάνισης της Ηπατίτιδας Β (Wild et al, 1992).

Επιπρόσθετα αξίζει να αναφερθεί ότι η αφλατοξίνες έχουν εντοπιστεί σε ιστολογικά παρασκευάσματα, που προέρχονται από παιδιά, τα οποία έπασχαν από σύνδρομο Reye και κβασιόρκορ (*Kwashiorkor*). Η ύπαρξη των αφλατοξινών σε αυτά τα περιστατικά οδηγεί στη θεώρηση ότι συνεισφέρουν στην επιδείνωση αυτών των ασθενειών. Πιο αναλυτικά το σύνδρομο Reye χαρακτηρίζεται από εγκεφαλοπάθεια και επηρεάζονται

⁸ <https://innovad-global.com/emerging-mycotoxins-significantly-present-highly-toxic-and-mostly-undetected-vivo-until-now>

ποικίλα σπλαχνικά μέρη, με κυριότερα τη διόγκωση του ήπατος και του νεφρού, αλλά και τη ανάπτυξη εγκεφαλικού οιδήματος. Όσο για το κβασιόρκορ, φαίνεται ότι οι αφλατοξίνες έχουν συνδεθεί με τη συγκεκριμένη νόσο εδώ και καιρό. Το κβασιόρκορ είναι μια ασθένεια, η οποία θεωρείται μια μορφή πρωτεϊνικού υποσιτισμού. Παρόλο αυτά ορισμένα χαρακτηριστικά της ασθένειας είναι γνωστές παθολογικές δράσεις των αφλατοξινών στα ζώα. Η αφλατοξίνη γενικά συνδέεται με τα μειωμένα επίπεδα της ανοσοσφαιρίνης A (IgA) στα παιδιά της Gambia (Turner et al, 2003). Δεν πρέπει να παραληφθεί επίσης ότι, σύμφωνα με τον Jiang et al (2005), ορισμένες αλλαγές στις διαφορικές κατανομές υποσυνόλων και λειτουργικές αλλοιώσεις συγκεκριμένων υποομάδων λεμφοκυττάρων έχουν συσχετιστεί με έκθεση σε αφλατοξίνες σε ενήλικες από τη Γκάνα. Αυτό συνεπάγεται ότι οι αφλατοξίνες θα μπορούσαν να προκαλέσουν έκπτωση της ανθρώπινης κυτταρικής ανοσίας, κάτι που θα μπορούσε να μειώσει την αντίσταση στις λοιμώξεις σημαντικά.



Εικόνα 15: Δράση των μυκοτοξινών σε διαφορετικά ανθρώπινα όργανα

Από τους άλλους παράγοντες κινδύνου για την υγεία, η νοσηρότητα και η θνησιμότητα που σχετίζονται με το μη ασφαλές σεξ, το μη ασφαλές νερό και τον καπνό σε εσωτερικούς χώρους, προέρχεται από μολυσματικές ασθένειες, όπως HIV/AIDS, μολυσματικές διάρροια και λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού, αντίστοιχα. Η ανοσολογική καταστολή που σχετίζεται με την αφλατοξίνη και πιθανώς το DON θα μπορούσε να επηρεάσει αρνητικά όλα αυτά τα αποτελέσματα. Η ρυθμιστική επίδραση των αφλατοξινών σε περιπτώσεις ανεπάρκειας ψευδαργύρου, σιδήρου και βιταμίνης Α στην ανθρώπινη υγεία είναι λιγότερο σαφής, αλλά στοιχεία από τη διατροφή των ζώων υποδηλώνει ότι θα μπορούσε να είναι αρκετά μείζονος σημασίας (Williams et al, 2004).

Από την άλλη πλευρά, οι φουμονισίνες έχουν εμπλακεί σε ένα περιστατικό οξείας τροφογενούς ασθένειας στην Ινδία, στο οποίο η εμφάνιση βορβορυγμού, κοιλιακού άλγους και διάρροιας σχετιζόταν με την κατανάλωση καλαμποκιού μολυσμένου με υψηλά επίπεδα φουμονισινών. Η Φουμονισίνη B1, το πιο άφθονο από τα πολυάριθμα ανάλογα φουμονισίνης, ταξινομήθηκε από το IARC ως καρκινογόνο της ομάδας 2B (πιθανώς καρκινογόνο στον άνθρωπο) (IARC, 2002). Οι φουμονισίνες, οι οποίες αναστέλλουν την πρόσληψη φυλλικού οξέος μέσω του υποδοχέα φυλλικού οξέος, έχουν επίσης εμπλακεί στην υψηλή συχνότητα εμφάνισης προβλημάτων του νευρικού σωλήνα σε αγροτικούς πληθυσμούς, που είναι γνωστό ότι καταναλώνουν μολυσμένο καλαμπόκι, όπως η πρώην περιοχή Transkei της Νότιας Αφρικής και περιοχές της Βόρειας Κίνας (Marasas et al, 2004).

Τόσο η DON (Δεοξυνιβαλενόλη) όσο και η ZEN (Ζεαραλενονη), που προέρχονται από τον τοξικό μύκητα *Fusaria* έχουν συνδεθεί με τοξικές ουσίες, που προκαλούν ψώρα στις ΗΠΑ, την Κίνα, την Ιαπωνία και την Αυστραλία. Τα συμπτώματα περιλάμβαναν ναυτία, έμετο και διάρροια. Η φουμονισίνη B1 συσχετίστηκε με ένα ξέσπασμα μιας

ασθένειας στην Ινδία με συμπτώματα οξύ κοιλιακού πόνου και διάρροιας. Οι φουμονισίνες έχουν επίσης εμπλακεί στον καρκίνο του οισοφάγου στην Κίνα (Yoshizawa et al., 1994). Ωστόσο, με περιορισμένες αιτιώδεις σχέσεις και την παρουσία αρκετών παραγόντων σύγχυσης, τα δεδομένα που συγκεντρώθηκαν από τον Διεθνή Οργανισμό Έρευνας για τον Καρκίνο (IARC), δεν φάνηκε να αρκούν για την διεξαγωγή βέβαιων συμπερασμάτων σε σχέση με την καρκινογόνο δράση της φουμονισίνης (Casegnaro και Wild, 1995).

Τα τριχοθεκένια έχουν προταθεί ως δυνητικά παράγοντες βιολογικού πολέμου. Για παράδειγμα, η τοξίνη T-2 ενοχοποιήθηκε ως ο χημικός παράγοντας της «κίτρινης βροχής» που χρησιμοποιήθηκε κατά της Λαϊκής Δημοκρατία του Λάος από το 1975 έως το 1981 (Peraica et al., 1999). Σε έρευνα παρόμοιων βιολογικών παραγόντων, που χρησιμοποιήθηκαν για πολεμικές διενέξεις, στην Καμπότζη από το 1978 έως το 1981, η τοξίνη T-2, η DON, η ZEN, η νιβαλενόλη και η DAS απομονώθηκαν από το νερό και δείγματα φύλλων που συλλέχθηκαν από τις πληγείσες περιοχές (Peraica et al., 1999). Τα κλινικά συμπτώματα που προηγήθηκαν του θανάτου περιλάμβαναν έμετο, διάρροια, αιμορραγία, δυσκολία στην αναπνοή, πόνο στο στήθος, φουσκάλες, πονοκέφαλο, κόπωση και ζάλη. Εκτός από τη νεφρική συμφόρηση, τα ευρήματα της αυτοψίας περιλάμβαναν νέκρωση του βλεννογόνου του στομαχιού και του άνω λεπτού εντέρου, των πνευμόνων και του ήπατος. Θα πρέπει ακόμα να σημειωθεί, ωστόσο, ότι η προέλευση των δειγμάτων της κίτρινης βροχής εξακολουθεί να αποτελεί αντικείμενο συζήτησης. Για παράδειγμα, μια θεωρία αποδίδει την ευθύνη για την αιτία της ασθένειας σε μη αναγνωρισμένους ενδημικούς παράγοντες. Αυτό συμβαίνει γιατί ανακαλύφθηκε ότι η κίτρινη βροχή είναι ένα εγγενές υλικό των περιττωμάτων της μέλισσας, το οποίο υπολείπεται μυκοτοξινών (Seeley et al., 1985).

Όσον αφορά τις επιπτώσεις των μυκοτοξινών στην υγεία των ζώων, πρώιμες μελέτες σχετικά με τις επιπτώσεις της οξείας αφλατοξίκωσης έδειξαν διαφορές τοξικότητας σε διαφορετικά ζωικά είδη. Στα μονογαστρικά ζώα (μη- μηρυκαστικά), έχουν παρατηρηθεί μεταβλητές αποκρίσεις σε όλες τις μυκοτοξίνες. Για παράδειγμα, οι χοίροι έχει αποδειχθεί ότι είναι πολύ ευαίσθητοι στην τοξίνη T-2, τη DON και τη ZEN. Τα πουλερικά επηρεάζονται επίσης αρνητικά τόσο από το T2 όσο και από το DON, αλλά είναι πολύ ανθεκτικά στις οιστρογονικές επιδράσεις της ZEN. Διαφορετικοί βαθμοί μυκοτοξίκωσης από φυσικές πηγές απαντώνται σε διαφορετικά ζωικά είδη, λόγω του μεγάλου φάσματος των συστατικών των ζωοτροφών, που χρησιμοποιούνται, αλλά και λόγω των πολλαπλών βιολογικών, χημικών και άλλων διαφορών, που υφίστανται μεταξύ των ειδών (Hussein and Brasel, 2001).

Οι επιπτώσεις των μυκοτοξινών στα ζώα συντροφιάς, όπως είναι οι σκύλοι και οι γάτες είναι αρκετά σοβαρές και μπορεί να οδηγήσουν ακόμη και σε θάνατο. Ήδη από το 1952, ένα κρούσμα ηπατίτιδας στους σκύλους συνδέθηκε άμεσα με την κατανάλωση μουχλιασμένων τροφών. Μετά την ανακάλυψη της αφλατοξίνης, ο παράγοντας, που ήταν υπεύθυνος για το συγκεκριμένο κρούσμα του 1952 αναγνωρίστηκε ως η AFB1 και τα συμπτώματα της αφλατοξίκωσης σε σκύλους διευκρινίστηκαν. Στη μελέτη περίπτωσης, τρία σκυλιά ένα αγρόκτημα στο Κούνισλαντ αρρώστησαν (σοβαρή κατάθλιψη, ανορεξία, και αδυναμία) και πέθαναν σε διαφορετικές χρονικές στιγμές, μέσα σε μόλις ένα μήνα, μετά την κατανάλωση μιας εμπορικής τροφής για σκύλους σε συνδυασμό με ψωμί μολυσμένο με AF. Το δείγμα εμετού από έναν από τους σκύλους περιείχε υψηλά επίπεδα AF (100 lg/g AFB1 και 40 lg/g AFG1) (Devegowda and Castaldo, 2000).



Εικόνα 16: Μυκοτοξίνες σε ζωοτροφές⁹

Η δεοξυνιβαλενόλη, ταυτόχρονα συνιστά μια σημαντική ανησυχία για την υγεία των ζώων συντροφιάς. Η συγκεκριμένη μυκοτοξίνη μπορεί να μολύνει τις τροφές για τα ζώα συντροφιάς, μέσω του καλαμποκιού ακόμη και μετά την επεξεργασία του. Εξαιτίας των διαφορετικών τρόπων απόκρισης στην τοξικότητα της DON στους σκύλους και τις γάτες, προτάθηκε ότι τα επίπεδα της DON στις τροφές για ζώα συντροφιάς δεν πρέπει να υπερβαίνουν 0,5 lg/kg. Σε μια μελέτη περίπτωσης, η τοξίνη T-2 χορηγήθηκε σε γάτες ενδοφλεβίως και οδήγησε σε υποογκαιμία και θάνατο, ενώ στις περιπτώσεις, που η τοξικότητα από την T-2 δεν επιφέρει τον θάνατο, ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων των γατιών φαίνεται να μειώνεται κατακόρυφα (Devegowda and Castaldo, 2000).

Όπως και με άλλα είδη, το νεφρό είναι το κύριο όργανο-στόχος των ωχρατοξινών σε σκύλους και γάτες. Σε μια μελέτη με σκύλους, παρατηρήθηκε άγχος και έμετος με μια δόση OTA 0,2 mg/kg. Σε δόσεις μεταξύ 0,2 και 3,0 mg/kg συμπτώματα δηλητηρίασης σε σκύλους περιλάμβαναν ανορεξία, πολυδιψία, πολυουρία, άγχος, κατάπτωση, και

⁹ <https://healthypets.mercola.com/sites/healthypets/archive/2019/09/09/mycotoxins-in-dog-food.aspx>

θάνατο, ενώ τα ευρήματα της νεκροψίας περιλάμβαναν επιθηλιακό εκφυλισμό (στα εγγύς σωληνάρια του νεφρού), βλεννοαιμορραγική εντερίτιδα (στο τυφλό, το κόλον και το ορθό) και νέκρωση των λεμφικών ιστών (στο σπλήνα, στις αμυγδαλές, στο θύμο αδένια και στους περιφερικούς λεμφαδένες) (Bird, 2000).

Από την άλλη πλευρά, τα μηρυκαστικά ζώα, όπως είναι για παράδειγμα, τα βοοειδή, τα πρόβατα, οι κατσίκες και τα ελάφια είναι λιγότερο γνωστά για την ευαισθησία τους στις αρνητικές επιπτώσεις των μυκοτοξινών σε σχέση με τα μη μηρυκαστικά ζώα. Ωστόσο, η παραγωγή βιολογικών προϊόντων (γάλα, βόειο κρέας ή μαλλί), η αναπαραγωγή και η ανάπτυξη μπορούν να μεταβληθούν, όταν τα μηρυκαστικά καταναλώνουν ζωοτροφές μολυσμένες με μυκοτοξίνες, για μεγάλα χρονικά διαστήματα

Οι αφλατοξίνες έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζουν αρνητικά την παραγωγική διαδικασία, τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος και τον ειδικό μεταβολισμό των βοοειδών. Η αύξηση της αφλατοξίνης στις ζωοτροφές βοοειδών έχει αποδειχθεί ότι μειώνει σημαντικά την πρόσληψη τροφής, κάθε φορά με δόσοεξαρτώμενο τρόπο (Choudhary et al., 1998). Η μειωμένη αποτελεσματικότητα των ζωοτροφών στα βοοειδή αποδίδεται στη μειωμένη λειτουργία του μηρυκαστικού μεταβολισμού. Αυτό συντελείται με τη μείωση της πέψης της κυτταρίνης, την παραγωγή πτητικών λιπαρών οξέων (δηλαδή το οξικό, το προπιονικό και το βουτυρικό οξύ) και την κινητικότητα της μεγάλης κοιλιάς των μηρυκαστικών (Diekman and Green, 1992). Είναι γεγονός ότι έχουν αναλυθεί και επεξηγηθεί ποικίλοι μηχανισμοί ανοσοκαταστολής των βοοειδών,



Εικόνα 17: Μυκοτοξίνες σε ζωοτροφές

λόγω της επίδρασης της αφλατοξίνης B1 in vitro. Επί παραδείγματι, ο Paul et al. (1977) κατέδειξε ότι η επίδραση της μυκοτοξίνης AFB1 κατέστειλε την, επαγόμενη από μιτογόνες ουσίες, διέγερση των περιφερειακών λεμφοκυττάρων.

Ταυτόχρονα σε μια άλλη μελέτη (Bodine et al., 1984), η AFB1 αποδείχθηκε ότι αναστέλλει τη βλαστογένεση λεμφοκυττάρων βοοειδών, ενώ στη των Cook et al. (1986), χρησιμοποιήθηκε ραδιοτηλεμετρία για τη μέτρηση την κινητικότητα της μεγάλης κοιλίας στα βοοειδή και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η χορήγηση AF (200–800 lg/kg) επιβράδυνε την κινητικότητα της μεγάλης κοιλίας με δοσοεξαρτώμενο τρόπο.

Από την άλλη πλευρά, οι ωχρατοξίνες φαίνεται ότι δεν προκαλούν σημαντική τοξικότητα στα βοοειδή, όταν αυτά προσλαμβάνουν φυσικές δόσεις, από την τροφή του. Μάλιστα η μελέτη έδειξε ότι το κριθάρι, που έχει μολυνθεί με φυσικό τρόπο από ωχρατοξίνη (390–540 lg/kg) και χαμηλά επίπεδα AFB1 (12–13 lg/kg) δεν προκάλεσε σημαντικά κλινικά συμπτώματα σε μοσχάρια 12 εβδομάδων. Βέβαια, η απουσία

τοξικής επίδρασης είναι πιθανό να οφείλονταν στη φυσική μικροβιακή αποικοδόμηση του μηρυκαστικού ζώου (Patterson et al., 1981).

Συμπληρωματικά με όλα τα προηγούμενα, οι αφλατοξίνες επηρεάζουν επίσης την ποιότητα του γάλακτος που παράγεται από αγελάδες γαλακτοπαραγωγής και έχουν ως αποτέλεσμα τη μεταφορά AFM1 από ζωοτροφές μολυσμένες με AF. Στη μελέτη του Veldman et al (1992), χρησιμοποιήθηκαν δέκα θηλάζουσες αγελάδες Holstein, στις οποίες δόθηκε AFB1 (13 mg ανά αγελάδα ημερησίως) μέσω του στομίου του μεγάλου στομαχιού για 7 ημέρες. Τα επίπεδα της AFM1 στο γάλα των αγελάδων της μελέτης κυμαίνονταν από 1,05 έως 10,58 ng/l. Οι αγελάδες, που υποβλήθηκαν σε αγωγή με AFB1 παρουσίασαν επίσης σημαντική μείωση στην παραγωγή γάλακτος. Το ποσοστό μεταφοράς της αφλατοξίνης αποδείχθηκε υψηλότερο (6,2 έναντι 1,8) στην πρώιμη γαλουχία (2- 4 εβδομάδες) σε σύγκριση με την όψιμη γαλουχία (34–36 εβδομάδες).

Ακόμα η τοξίνη T-2 πιστεύεται ότι προκαλεί ανοσοκαταστολή στα βοοειδή μειώνοντας τις συγκεντρώσεις των ανοσοσφαιρινών IgM, IgG και IgA στον ορό του αίματος, αλλά και τις λειτουργίες των ουδετερόφιλων, τη λεμφοκυτταρική βλαστογένεση και τέλος την απόκριση των λεμφοκυττάρων σε φυτοαιμοσυγκολλητίνη. Αυτή η τοξίνη, όπως αποδείχθηκε, ήταν δυνατό να προκαλέσει ακόμα και νέκρωση των λεμφικών ιστών. Ταυτόχρονα η ίδια τοξίνη T-2 έχει δειχθεί ότι μπορεί να είναι υπεύθυνη για την αύξηση της υπογονιμότητας και των πιθανών αποβολών, στο τελευταίο τρίμηνο της κύησης των βοοειδών, που καταναλώνουν μολυσμένη τροφή, ενώ οι μόσχοι που καταναλώνουν τοξίνη T-2 στην τροφή τους έχουν εμφανίσει έλκη στην κοιλιά, αλλά και εξάρθρωση της θηλής στην κοιλιά (Placinta et al., 1999).

Από την άλλη πλευρά, οι πρώτες μελέτες, που διεξάχθηκαν έδειξαν ότι τα πρόβατα είναι το πιο ανθεκτικό είδος στην μυκοτοξίκωση (Miller and Wilson, 1994). Ωστόσο, η εκτροφή προβάτων με ζωοτροφή μολυσμένη με αφλατοξίνη (2,5 mg/kg ή 5,0 mg/kg τροφής για 35 ημέρες) οδήγησε σε ηπατοτοξικότητα (Harvey et al., 1995). Σε μια άλλη μελέτη (Fernandez et al., 1997), τα αρνιά, που τροφοδοτούνταν με 2,5 mg/kg μολυσμένης με αφλατοξίνη τροφής ημερησίως για 21 ημέρες, τελικά εμφάνισαν



Εικόνα 18: Ζωοτροφή μολυσμένη με μυκοτοξίνες

συμπτώματα κλινικής αφλατοξίκωσης, συμπεριλαμβανομένων των ηπατικών και των νεφρικών αλλοιώσεων, αλλά και του αλλοιωμένου μεταβολισμού μετάλλων (πιο ειδικά: ασβεστίου, φωσφόρου, μαγνησίου κα) και αυξημένου μεγέθους και βάρους του ήπατος και των νεφρών.

Μια άλλη μελέτη του Ramos et al. (1996), με την ίδια ημερήσια δόση AF, εξέτασε τις συγκεντρώσεις μετάλλων στο πλάσμα την ημέρα 1, 2, 4 και 8 της αρχικής δόσης. Την 4η ημέρα της μέθης, ανιχνεύθηκαν σημαντικές μειώσεις στις συγκεντρώσεις μετάλλων στο πλάσμα). Οι επαγόμενες ανεπάρκειες μετάλλων, λόγω αφλατοξίκωσης αποδόθηκαν στη χαμηλότερη πρόσληψη τροφής και στις δυσλειτουργίες των νεφρών και του ήπατος, ως αποτέλεσμα δηλητηρίασης με AF. Ακόμα η έκθεση των αρνιών στην AF αποκάλυψε ορισμένες αλλαγές στους εξωγενείς παράγοντες πήξης του ζώου,

οι οποίες άλλωστε προσδιορίζονται και από την αυξημένη συγκέντρωση ινωδογόνου στο πλάσμα.

Οι μηχανισμοί της κυτταρικής ανοσοαπόκρισης των προβάτων, στην αφλατοξίνη δεν έχουν αναλυθεί ενδελεχώς. Οι μυκοτοξίνες, που παράγονται από τον *Fusaria* σε υψηλές δόσεις φαίνεται επίσης να έχουν κάποιες αρνητικές επιπτώσεις στα πρόβατα. Εκθέτοντας πρόβατα στη DON για 28 ημέρες, φαίνεται ότι δεν παρατηρήθηκαν αποτελέσματα στο κατά μέσο όρο ημερήσιο βάρος, αλλά ούτε στις αιματοκυτταρολογικές παραμέτρους ή ηπατική λειτουργία. Ωστόσο, παρατηρήθηκε ορισμένη απώλεια βάρους (0,6 έναντι 2,4 kg/ημέρα) μετά από 34 ημέρες σίτισης με DAS. Περαιτέρω απώλεια βάρους (2,7 έναντι 2,4 kg/ημέρα) αναφέρθηκε επίσης στις 34 ημέρες ταΐσματος αρνιών με τα ίδια επίπεδα DAS, και την προσθήκη αφλατοξίνης. Αυτά τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι οι δύο αυτές μυκοτοξίνες λειτούργησαν συνεργατικά (Harvey et al., 1995). Ακόμα έχει θεωρηθεί ότι τα υψηλά διατροφικά επίπεδα σε ζεάραλενονη για παρατεταμένες χρονικές περιόδους (δηλαδή τουλάχιστον 10 ημέρες) μπορεί να επηρεάσουν αρνητικά την αναπαραγωγική απόδοση των προβάτων μειώνοντας τη γονιμότητα και τα ποσοστά ωορρηξίας (Dicostanzo et al., 1996).

Την ίδια στιγμή, οι φουμονισίνες σε υψηλές δόσεις (11,1–45,5 mg/kg σωματικού βάρους) έχει αποδειχθεί ότι λειτουργούν ως οξείες και θανατηφόρες νεφροτοξικές και ηπατοτοξικές ουσίες σε πρόβατα. Θα πρέπει να σημειωθεί, ωστόσο, ότι τέτοια επίπεδα περιεκτικότητα σε φουμονισίνες δεν έχουν ανιχνευθεί ποτέ σε τροφές μολυσμένες. Τα πρόβατα μπορούν επίσης προσβληθούν από τοξίκωση από σίκαλη, η οποία είχε ως αποτέλεσμα τρέμουλο, μειωμένη παραγωγικότητα και σε ορισμένες περιπτώσεις θανάτου. Έχουν σημειωθεί ανά τα χρόνια, πολυετείς ταραχές με πρόβατα, που καταναλώνουν σίκαλη, η οποία έχει μολυνθεί από το *A. lolii*. Τα συμπτώματα

περιλαμβάνουν τρέμουλο με απώλεια συντονισμού και αδυναμία βάρδισης, ενώ έχει αποδειχθεί ότι το τρέμουλο, που προκύπτει από μολυσμένη με *A. lolii* σίκαλη, εμπειρείχε την τοξίνη Lolitrem B σε επίπεδα 2,0- 2,5 mg/kg (D'Mello and MacDonald, 1997) .

Είναι σημαντικό να κατανοήσουμε πώς η θερμική επεξεργασία επηρεάζει τις φουμονισίνες κατά την παρασκευή τροφίμων με βάση τον αραβόσιτο που καταναλώνονται σε μεγάλες ποσότητες από άτομα που ενδέχεται να διατρέχουν κίνδυνο για επιπτώσεις στην υγεία που σχετίζονται με τη φουμονισίνη. Οι φουμονισίνες θεωρούνται σταθερές στη θερμότητα, αν και έχουν αποδειχθεί μεταβλητές ποσότητες «απώλειας» φουμονισίνης κατά το ψήσιμο, το τηγάνισμα και άλλες διαδικασίες μαγειρέματος (Humpf & Voss, 2004). Το ποσό της «απώλειας» εξαρτάται από τη θερμοκρασία, το χρόνο μαγειρέματος, τη συνταγή και άλλες συνθήκες. Ωστόσο, σε πολλές περιπτώσεις οι μειώσεις είναι ανεπαρκείς για να μειώσουν ουσιαστικά την έκθεση. Για παράδειγμα, οι συγκεντρώσεις φουμονισίνης μειώθηκαν μόνο το 23% περίπου στον σκληρό χυλό Νότιας Αφρικής που παρασκευάζεται από εμπορικά αγορασμένο αλεύρι αραβοσίτου, και μικρότερες μειώσεις σημειώθηκαν κατά την παρασκευή ινδικού χυλού ή πολέντας στην Ιταλία (Shephard et al., 2002).

3.2 Επιπτώσεις σε γεωργικές καλλιέργειες

Υπάρχουν πολλά κριτήρια για την αξιολόγηση του οικονομικού αντίκτυπου των μυκοτοξινών σε ανθρώπους και ζώα. Οι εκτιμήσεις περιλαμβάνουν την απώλεια ζωής ανθρώπων και ζώων, το κόστος της υγειονομικής και κτηνιατρικής περίθαλψης, την απώλεια κτηνοτροφικής παραγωγής, την απώλεια κτηνοτροφικών καλλιεργειών και

ζωοτροφών, το ρυθμιστικό κόστος και το κόστος έρευνας, που επικεντρώνεται στην ανακούφιση των σημαντικών επιπτώσεων του ζητήματος της μυκοτοξικής μόλυνσης. Είναι γεγονός ότι οι μαθηματικοί τυποί για τον υπολογισμό του παγκόσμιου οικονομικού αντικτύπου ήταν δύσκολο να αναπτυχθούν και, ως εκ τούτου, οι περισσότερες εκθέσεις για τον οικονομικό αντίκτυπο αφορούν μόνο μία πτυχή της έκθεσης ή της μόλυνσης με μυκοτοξίνες (Hussein και Brasel, 2001).

Η παγκόσμια μόλυνση των τροφίμων και των ζωοτροφών με μυκοτοξίνες είναι ένα σημαντικό πρόβλημα. Μελέτες έχουν δείξει εκτεταμένη μόλυνση από μυκοτοξίνες τόσο σε αναπτυσσόμενες όσο και σε ανεπτυγμένες χώρες. Μελέτες επιτήρησης (Placinta et al., 1999) έδειξαν ότι η παγκόσμια μόλυνση των δημητριακών και άλλων τροφών με τις μυκοτοξίνες, που προέρχονται από τον μύκητα *Fusarium* συνιστά μια παγκόσμια ανησυχία. Στη Γιουγκοσλαβία, μελέτες για μυκοτοξικούς μύκητες στο νοπό γάλα έχουν ανέφερε ότι το 91% των δειγμάτων, που δοκιμάστηκαν ήταν μολυσμένα (Skrinjar et al., 1995). Στις ΗΠΑ, μια μελέτη, η οποία διεξήχθη σε επτά πολιτείες, στο μέσο και προς τα δυτικά της ηπείρου, το 1988-1989, έδειξε ότι υπήρχαν μυκοτοξίνες στο 19,5% των δειγμάτων καλαμποκιού, που αναλύθηκαν, πριν από οποιαδήποτε επαγόμενη περιβαλλοντική καταπόνηση και το 24,7% των δειγμάτων μετά την επαγωγή στρες (Russell et al., 1991). Ο Shane (1994) υπολόγισε, το 1980, ζημιές λόγω της αφλατοξίνης στο καλαμπόκι οκτώ νοτιοανατολικών πολιτειών. Οι ζημιές φάνηκε να ανέρχονται στα 97 εκατομμύρια δολάρια, με επιπλέον 100 εκατομμύρια δολάρια ζημιά, λόγω των απωλειών σε χοιροτροφεία, που τάιζαν τα ζώα με το μολυσμένο καλαμπόκι.

Επιπρόσθετα, η Ινδία είναι ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα χώρας στην οποία η οικονομία επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τις μυκοτοξίνες. Σε μια μελέτη στην περιοχή του Μπιχάρ από το 1985 έως το 1987 (Ranjan and Sinha, 1991), σχεδόν το

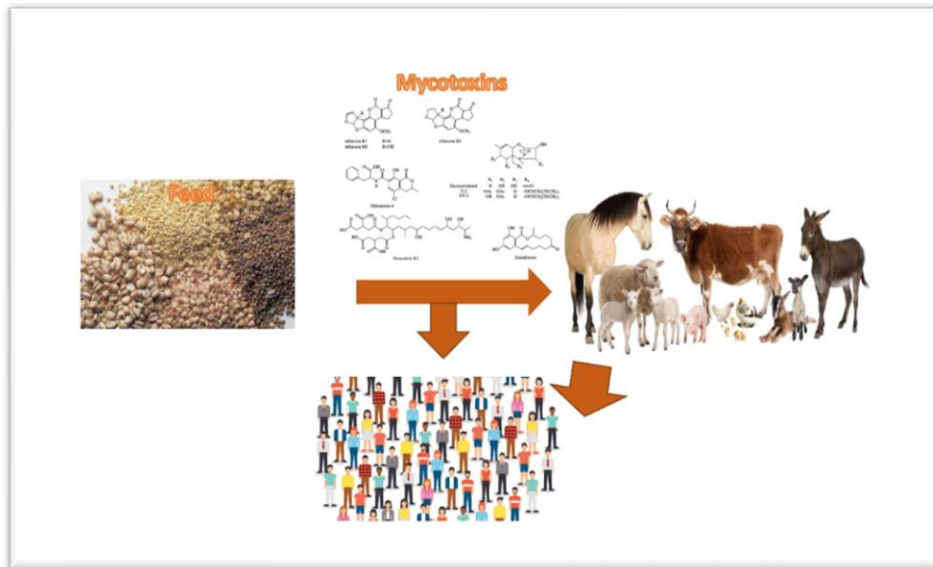
51% των 387 δειγμάτων, που δοκιμάστηκαν ήταν μολυσμένα με μούχλα. Από τα 139 δείγματα που περιείχαν αφλατοξίνες, τα 133 είχαν επίπεδα άνω των 20 lg/kg. Μια άλλη μελέτη του Phillips et al (1996), τα επίπεδα της αφλατοξίνης, που καταμετρήθηκαν έφταναν έως και 3700 lg/kg στο αλεύρι αραχίδας, που χρησιμοποιείται για την εκτροφή γαλακτοπαραγωγών βοοειδών. Οι ερευνητές βρήκαν επίσης ότι 21 από 28 δείγματα γαλακτοκομικών ζωοτροφών από φάρμες μέσα και γύρω από τη Ludhiana και το Punjab ήταν μολυσμένα με αφλατοξίνη B1 (AFB1), σε επίπεδα που κυμαίνονται από 50 έως 400 lg/kg (Dhand et al., 1998). Υπολογίστηκε ότι 10 εκατομμύρια δολάρια χάθηκαν στις εξαγωγές της Ινδίας μέσα σε μια δεκαετία λόγω μόλυνσης των καρπών με μυκοτοξίνες (Vasanthi and Bhat, 1998). Αυτά δείχνουν ότι οι επιπτώσεις στις γεωργικές καλλιέργειες από την επιμόλυνση με μυκοτοξίνες είναι σε δυνατόν να προκαλέσει σημαντικά οικονομικά πλήγματα.

Κεφάλαιο 4ο Ξηροί καρποί

4.1 Κύριες τροφές ανάπτυξης μυκοτοξινών

Οι μυκοτοξίνες εμφανίζονται στο χωράφι πριν από τη συγκομιδή. Η μόλυνση του χωραφιού πριν διεξαχθεί η συγκομιδή, μπορεί να συμβεί εάν καθυστερήσει η αποξήρανση και εάν κατά την αποθήκευση η περιεκτικότητα σε νερό υπερβαίνει το κρίσιμο επίπεδο, ευνοϊκό για την ανάπτυξη μούχλας. Άλλωστε η προσβολή από έντομα ή τρωκτικά διευκολύνει σημαντικά την εισβολή μούχλας στα αποθηκευμένα προϊόντα. Από τα πιο συνηθισμένα προϊόντα, που μολύνονται με μυκοτοξίνες είναι το γάλα, το τυρί και τα αυγά. Αυτό συμβαίνει ως αποτέλεσμα της κατανάλωσης μολυσμένων τροφών με αφλατοξίνες από ζώα. Η αφλατοξίνη M1 έχει βρεθεί στο ανθρώπινο γάλα. Παρόλα αυτά φαίνεται να είναι ασταθείς σε διεργασίες όπως αυτές για την παρασκευή τортίγιας που χρησιμοποιούν αλκαλικές συνθήκες ή οξειδωτικά στάδια (Goldblatt, 1969). Διάφορα αγροτικά και βιομηχανικά προϊόντα έχουν μολυνθεί κατά καιρούς, είτε από μύκητες που παράγουν αφλατοξίνες, είτε από τις ίδιες τις αφλατοξίνες.

Οι αφλατοξίνες έχουν βρεθεί σε καλλιέργειες τροφίμων, όπως είναι το φυτικόβούτυρο και άλλα προϊόντα φυτικού, τα δημητριακά πρωινού, το καλαμπόκι και το καλαμποκάλευρο, αλλά και μια ποικιλία από άλλα τρόφιμα και ζωοτροφές (Smith and Moss, 1985). Η σόγια φαίνεται να είναι η λιγότερη ευαίσθητη σε μόλυνση από αφλατοξίνες σε σχέση με άλλες καλλιέργειες (Pinto et al., 1991). Η μόλυνση από αφλατοξίνη σε σόγια και στα προϊόντα σόγιας είναι σπάνια στο εμπόριο των ΗΠΑ, αλλά είναι γεγονός ότι σε βρώσιμα φασόλια στην Αφρική και την Ταϊλάνδη έχουν βρεθεί ανιχνεύσιμα επίπεδα αφλατοξίνης (Smith and Moss, 1985). Οι υψηλότεροι κίνδυνοι μόλυνσης από αφλατοξίνες είναι το καλαμπόκι, υπ φιστίκι και ο βαμβακόσπορος.



Εικόνα 19: Μεταφορά μόλυνσης¹⁰

Το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα, τα αυγά και τα προϊόντα κρέατος μερικές φορές μολύνονται λόγω της κατανάλωσης ζωοτροφών μολυσμένων με αφλατοξίνες. Μετά την κατανάλωση από τα ζώα, οι Β αφλατοξίνες μεταβολίζονται σε Μ αφλατοξίνες και εκκρίνονται στο γάλα (van Egmond, 1994). Η αφλατοξίνη Μ1 μάλιστα παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον γιατί μπορεί να μεταδοθεί σε νεογέννητο μέσα από το ανθρώπινο γάλα (Moore-Landecker, 1996). Η αφλατοξίνη Μ1 έχει ανιχνευθεί σε μητρικό γάλα και συγκεκριμένα στο 99,5% του μητρικού γάλακτος από 445 άτομα στο Abudabi, βρέθηκαν 2-3 ng/l της Μ1. Ωστόσο, 43 δείγματα του ανθρώπινου μητρικού γάλακτος, που συλλέγεται από τρία νοσοκομεία στο Μπανγκόκ δεν είχε μολυνθεί με αφλατοξίνη Μ1 (Thanaboripat and Sukchareon, 1997).

Οι ωχρατοξίνες παράγονται από τα είδη *Aspergillus*, κυρίως από τον *A. ochraceus*, ο οποίος ακμάζει στις τροπικές περιοχές, όπου αναπτύσσεται το κακάο και ο καφές, ενώ ο *P. verrucosum* μπορεί να εξελιχθεί καλύτερα σε εύκρατες περιοχές, όπου αναπτύσσονται τα δημητριακά, όπως το κριθάρι (Carlile et al., 2001). Η ωχρατοξίνη Α

¹⁰ <https://www.mdpi.com/2072-6651/11/5/290/htm>

έχει αποδειχθεί ότι είναι μια ισχυρή νεφροτοξίνη σε όλα είδη ζώων που δοκιμάστηκαν, συμπεριλαμβανομένων των ψαριών, των πτηνών και των θηλαστικών. Η ωχρατοξίνη Α μολύνει μια ποικιλία από φυτικά και ζωικά προϊόντα αλλά πιο συχνά βρίσκεται σε αποθηκευμένους κόκκους δημητριακών (Abarca et al., 1994).

Η πατουλίνη παράγεται από το είδος του *Penicillium*, *Aspergillus* και *Byssochlamys*. Η πατουλίνη μπορεί να εμφανιστεί στα φρούτα και στους χυμούς φρούτων, όπως ο χυμός μήλου και ο χυμός γκρέιπφρουτ (van Egmond, 1989). Η κιτρινίνη και το πενικιλικό οξύ είναι τοξικά αντιβιοτικά που παράγονται από διάφορα είδη *Aspergillus* και *Penicillium*. Η κιτρινίνη έχει ανιχνευθεί σε φιστίκι, ντομάτα, καλαμπόκι, κριθάρι και άλλα δημητριακά (Sinha, 1993).

Τα τριχοθεκένια και η ζεαραλενόνη (F-2) είναι παράγωγα, που προκύπτουν από τα είδη του *Fusarium* σε καλαμπόκι, σιτάρι και άλλα δημητριακά (Moore-Landecker, 1996). Η Zearalenone, μια οιστρογονική μυκοτοξίνη, προκαλεί προβλήματα στο αναπαραγωγικά όργανα των ζώων εκτροφής, ιδίως στους χοίρους (van Egmond, 1989). Η ζεαραλενόνη εμφανίζεται ιδιαίτερα στο καλαμπόκι και στο σιτάρι και συχνά βρίσκεται μαζί με τη δεοξυνιβαλενόλη (εμετοξίνη). Η άλλη τοξίνη του μύκητα *Fusarium* είναι φουμονισίνη, η οποία παράγεται από τον *F. moniliforme* και άλλους σχετικούς μύκητες, και εντοπίζεται πιο συχνά στο καλαμπόκι (Chu και Li, 1994). Ο *F. moniliforme* είναι ένας από τους πιο συνηθισμένους μύκητες, που αποικίζει το καλαμπόκι σε όλο τον κόσμο. Ένας σημαντικός αριθμός από μυκοτοξίνες, που παράγονται από το *Fusarium* βρίσκονται συχνά στο καλαμπόκι, που συλλέγεται από την Κίνα και τη νότια Αφρική, όπου η συχνότητα του καρκίνου του οισοφάγου στους ανθρώπους είναι υψηλή (Carlile et al., 2001).

Οι ξηροί καρποί υπόκεινται σε μόλυνση από μια ποικιλία μικροοργανισμών, οι οποίοι μπορούν να προκαλέσουν αλλοίωση ή να παράγουν μεταβολίτες που είναι τοξικοί για

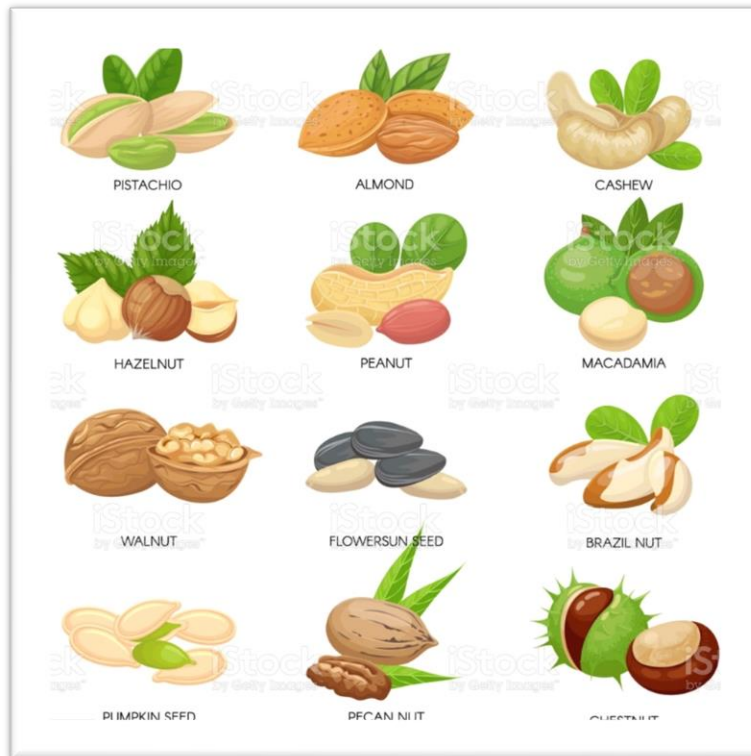
τον άνθρωπο, τα ζώα και τα πουλιά. Αν και σε πολλές περιπτώσεις οι πηγές των λοιμώξεων δεν είναι γνωστές, είναι γεγονός ότι αυτές επιδεινώνεται από παράγοντες, όπως η βλάβη από έντομα, η ξηρασία και υψηλές θερμοκρασίες. Μια έρευνα επίπτωσης έδειξε ότι η τα γένη μυκήτων, που βρέθηκαν πιο συχνά στους ξηρούς καρπούς ήταν τα *Aspergillus*, *Rhizopus* και *Penicillium* (Bayman et al., 2002a). Οι μυκοτοξιογόνοι μύκητες, που προκαλούν ιδιαίτερη ανησυχία είναι τα είδη του *Aspergillus*, που παράγουν ηπατοτοξικές αφλατοξίνες και νεφροτοξικές ωχρατοξίνες. Η διαλογή απομονωμένων μυκήτων από οπωρώνα με ξηρούς καρπούς, καρύδια και σύκα έδειξε ότι δεν βρέθηκε κανένα στέλεχος του *A. ochraceus* και του *A. melleus*, που παράγουν ανιχνεύσιμες ποσότητες ωχρατοξίνης A. Παρόλα αυτά όλα τα απομονωμένα στελέχη *A. alliaceus*, τα οποία ελήφθησαν μόνο από σύκα και όχι από ξηρούς καρπούς, παράγαν την τοξίνη (Bayman et al., 2002b).

Επιπρόσθετα η μεγαλύτερη ανησυχία είναι οι αφλατοξίνες B1 και G1, επειδή είναι προκαρκινογόνοι παράγοντες, λόγω της παρουσία του διπλού δεσμού στον τερματικό δακτύλιο φουρανίου, ο οποίος οξειδώνεται από ηπατικά ένζυμα σε εποξειδίο, το οποίο μπορεί να παρεμβάλλεται στο DNA (Eaton and Gallagher, 1994). Οι μεταβολίτες όπως η αφλατοξίνη B2, στην οποία ο διπλός δεσμός είναι κορεσμένος, αποτελούν πολύ λιγότερο σοβαρή απειλή, αν και η οξείδωση στις ακόρεστες ενώσεις και στη συνέχεια σε εποξειδία μπορεί να τεθεί ως υπόθεση. Η ανάπτυξη της οξείας τοξικότητας των αφλατοξινών δεν είναι ανησυχητικό φαινόμενο, ειδικά σε σχέση με τους ξηρούς καρπούς, που δεν αποτελούν βασικό συστατικό της διαίτας. Ωστόσο, πιθανότητα τέτοιας τοξικότητας υπάρχει πολύ πιο έντονα σε χώρες όπως η Κένυα, όπου η κατανάλωση μολυσμένου αραβοσίτου, ως βασικής τροφής, πρόσφατα οδήγησε σε 317 περιπτώσεις δηλητηρίασης και 125 θανάτους σε αγροτικές περιοχές (Lewis et al., 2005).

4.2 Ξηροί καρποί-ορισμός

Στην βοτανολογία γνήσιος καρπός είναι οι ώριμες και εξαλλοιωμένες και μεγεθυμένες ωοθήκες. Στο σχηματισμό του καρπού παίρνουν μέρος και άλλα στοιχεία του άνθους. Οι καρποί έχουν βοηθητικό ρόλο στην αναπαραγωγή των ανθόφυτων που προφυλάσσουν τα σπέρματα, βοηθούν στην διασπορά τους αλλά και ελέγχουν το χρόνο βλαστήσεως τους. Η ταξινόμηση τους και ο προσδιορισμός στα διάφορα φυτικά είδη διευκολύνεται λόγω της μεγάλης μορφολογικής σταθερότητας που διαθέτουν. Συγκεκριμένα η μορφολογία των καρπών σχετίζεται με τις δομές του άνθους και της ωοθήκης. Το περικάρπιο που περιβάλλει τον καρπό αναπτύσσεται από τα τοιχώματα της ωοθήκης δηλαδή τα καρπόφυλλα το οποίο διαχωρίζεται σε τρία στρώματα το ενδοκάρπιο, το εξωκάρπιο και το μεσοκάρπιο. Το εξωκάρπιο απαρτίζεται από πολύχρωμο υμένιο ή από την επιδερμίδα. Το αν ο καρπός θα ταξινομηθεί στους σαρκώδεις ή στους ξηρούς εξαρτάται από το πάχος των στρωμάτων. Στους σαρκώδεις οι καρποί χωρίζονται σε μονόχωρους και σε πολύχωρους στους οποίους περιέχονται οι ράγες, όπου το περικάρπιο τους είναι σαρκώδες, ενώ στους μονόχωρους περιέχονται οι δρύπες όπου το ενδοκάρπιο τους είναι λιθώδες (καρύδια, ελιές, αμύγδαλα, φυστίκια).

Η ταξινόμηση των καρπών που έχουν το περικάρπιο τους σκληρογυματικό θεωρείται πολύπλοκη, χωρίζονται λοιπόν σε μονόχωρους διαρρηκτούς και σε πολύχωρους διαρρηκτούς οι οποίοι είναι ο τυπικός καρπός της παπαρούνας δηλαδή η κάψα, ο τυπικός καρπός των φασολιών και των άλλων ψυχανθών. Στους μονόχωρους διαρρηκτούς περιέχεται το φουντούκι και το καρύδι.



Εικόνα 20: Είδη ξηρών καρπών¹¹

4.3 Χρήσεις ξηρών καρπών

Ένα καρύδι μπορεί να εξαπλώνεται μετά τον χειμώνα μέσω μικρών θηλαστικών, πουλιών ή ακόμα και από ανθρώπινη παρέμβαση και μετεγκατάσταση

. Υπάρχουν δύο είδη καρπών που καλλιεργούνται σε όλο τον κόσμο, οι καρποί των δέντρων και τα φιστίκια. Φυσικά οι καρποί των δέντρων είναι ξηροί καρποί με έναν σπόρο όπως τα αμύγδαλα, τα φουντούκια, τα καρύδια κλπ. Τα αμύγδαλα, τα φουντούκια, τα καρύδια, τα καρύδια της Βραζιλίας, το κουκουνάρι και τα φιστίκια είναι συνήθεις και απαραίτητοι βρώσιμοι καρποί. Τα φουντούκια είναι πλούσια πηγή πρωτεϊνών, υδατανθράκων, ακόρεστων λιπαρών οξέων, βιταμινών και απαραίτητων μετάλλων. Αυτά χρησιμοποιούνται ως ανθρώπινη τροφή από τις πρωτόγονες μέρες και η καλλιέργεια τους τελείται τουλάχιστον από τους ρωμαϊκούς χρόνους. Τα φιστίκια

¹¹ <https://www.bicycling.com/health-nutrition/a27112784/healthiest-nuts/>

είναι ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα από την ομάδα των αραχίδων και έχουν πλειάδα θρεπτικών συστατικών, όπως οι περισσότεροι ξηροί καρποί (Welna et al, 2008, Ros et al, 2006).

Το γένος *Corylus*, είναι η πηγή του φουντουκιού και περιέχει μεγάλη ποικιλία φυλλοβόλων ειδών θάμνων και δέντρων, τα οποία είναι σημαντικά συστατικά πολλών μέτριων δασών σε όλο το Βόρειο Ημισφαίριο. Διανέμεται δε, ευρέως στην Ευρώπη και την Ασία. (Caligiani et al, 2014, Sabeti et al, 2006).



Εικόνα 21: Ξηροί καρποί πολλών ειδών

Οι ξηροί καρποί γενικά χρησιμοποιούνται για την πρόσληψη αναγκαίων θρεπτικών συστατικών, όπως θα αναλυθεί και παρακάτω, αλλά πολύ συχνά χρησιμοποιούνται και για την βελτίωση της υγείας των ανθρώπων. Επί παραδείγματι το λάδι φουντουκιού μειώνει τα επίπεδα χοληστερόλης στο αίμα και επίσης ελέγχει τις ανεπιθύμητες ενέργειες της υπέρτασης (Tey et al, 2011). Ακόμη η παρουσία μονοακόρεστων και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων στο φουντούκι είναι καλός παράγοντας, που συμβάλει στην διατήρηση μια υγιούς καρδιάς. Συμπληρωματικά η καθημερινή διατροφή με φουντούκι μπορεί να συνεισφέρει στην ικανοποιητική μείωση της Λιποπρωτεΐνης Υψηλής Πυκνότητας (HDL) και αντίστοιχα στην αύξηση της Χαμηλής Πυκνότητας Λιποπρωτεΐνης (LDL) στο πλάσμα του αίματος, ενώ τα φαινολικά συστατικά του

φουντουκιού αυξάνουν την αντιοξειδωτικά δραστηριότητα στο πλάσμα. Αυτοί οι παράγοντες μεταβάλλουν άμεσα τα λιπίδια του πλάσματος στο σώμα. Αξίζει μάλιστα να σημειωθεί ότι το φουντούκι και οι υπόλοιποι ξηροί καρποί μπορούν να αξιολογηθούν περαιτέρω για θεραπεία & πρόληψη καρδιακών παθήσεων (Orem et al, 2008).

Ακόμη πολλοί ξηροί καρποί, όπως το αμύγδαλο και το φουντούκι συνιστούν αποτελεσματικό φάρμακο για τη διατήρηση υγιών νεύρων και ισορροπημένης λειτουργίας πολλών συστημάτων του σώματος (Ozkutlu et al, 2011). Μάλιστα πολλοί καρποί έχουν ακόμα και αντιμεταλλαξιγόνο και αντικαρκινική δράση, στην φρέσκια μορφή τους σε μεγαλύτερο ποσοστό. Για παράδειγμα, σε μια μελέτη το φρέσκο φουντούκι φαίνεται να έχει ισχυρή δράση, ιδιαίτερα σε σχέση με το θετικό μάρτυρα νατρίαζιδίου, που χρησιμοποιήθηκε ως καρκινογόνος ένωση. Αντίθετα οι δυνατότητες του αποξηραμένου φουντουκιού ήταν μέτριες (Masoumi et al, 2014).

Φυσικά οι ξηροί καρποί χρησιμοποιούνται επίσης ευρέως στην τροφική βιομηχανία, για την παραγωγή σοκολάτα, ζαχαροπλαστικών προϊόντων, αρτοπαρασκευασμάτων, παγωτών, γαλακτοκομικών προϊόντων, ενώ είναι δυνατόν να αποτελέσουν ιδανική προσθήκη σε πολλά πιάτα, όπως είναι τα δημητριακά πρωινού, το ψωμί, τα γιαούρτια, οι σούπες και οι σαλάτες. Αυτό συμβαίνει όχι μόνο λόγω της ωραίας γεύσης τους, αλλά και λόγω των θρεπτικών συστατικών και των απαραίτητων λιπαρών οξέων, που εμπεριέχουν, τα οποία καθιστούν την διατροφή ολοκληρωμένη και ισορροπημένη (Kornstriner et al, 2013).

4.4 Φιστίκια

Τα αράπικα φιστίκια κατάγονται από το φυτό που ονομάζεται αραχίδα, η αραχίδα ταξινομείται στην οικογένεια Leguminosae, θεωρείται από τα πιο σημαντικά

ελαιοπαραγωγικά φυτά καθώς σπόρος της αραχίδας αποτελείται από 40-60 % λάδι και από 20-30 % πρωτεΐνες. Η αραχίδα λοιπόν προέρχεται από την Βραζιλία (Ν. Αμερική). Η καλλιέργεια της αραχίδας επεκτείνεται κυρίως στις ΗΠΑ, στην Ινδονησία, στην Κίνα και στην Ινδία. Στην Ελλάδα η αραχίδα παράγεται κυρίως στις Σέρρες, στην Ηλεία και στην Μεσσηνία.

Ο διαχωρισμός της αραχίδας σε δυο τύπους πραγματοποιείται ανάλογα με τον σχηματισμό των λοβών δηλαδή κοντά ή μακριά στην βάση των φυτών και σχετικά με τρόπο ανάπτυξης του φυτού αν είναι δηλαδή έρπουσα ή όρθια. Ειδικά υπάρχουν τα εξής είδη:

1. **Brunch type** : τα φυτά έχουν όρθια ανάπτυξη και όπως και οι βλαστοί είναι όρθιοι και συναθροισμένοι. Οι λοβοί δημιουργούνται στο κεντρικό σημείο στο βλαστό του φυτού και όλοι μαζί, τα είδη που περιέχονται σε αυτόν τον τύπο έχουν πρόωρη ανάπτυξη και οι σπόροι τους έχουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε λάδι σε αντίθεση με τα είδη που περιέχονται στην έρπουσα ανάπτυξη. (Runner)
2. **Runner type** : τα φυτά που ανήκουν σε αυτή την κατηγορία έχουν έρπουσα ανάπτυξη και οι βλαστοί αγγίζουν το έδαφος και δεύτερον οι λοβοί τους δημιουργούνται μακριά από τον κεντρικό βλαστό, σε αντίθεση από τα είδη που ανήκουν στο Brunch type.

4.4.1 Τα κελυφωτά φιστίκια

Η φιστικιά θεωρείται το δέντρο με τις λιγότερες απαιτήσεις ως προς το κλίμα και το έδαφος, ο καρπός του το κελυφωτό φιστίκι έχει γίνει αρκετά γνωστός καθώς είναι από τους πιο γευστικούς καρπούς, οι οποίοι όταν ακόμα τρυφεροί τροποποιούνται για την

παρασκευή γλυκού του κουταλιού. Στην Ελλάδα η φιστικιά πρωτοεμφανίστηκε και καλλιεργήθηκε το 1960. Μετέπειτα στην διάδοση της καλλιέργεια της φιστικιάς βοήθησαν οι γεωπόνοι Ορφανίδης και Γεννάδιος του δημιουργώντας 1969 τα πρώτα φυτώρια σε Αττική, στη σημερινή Γεωπονική σχολή Αθηνών. Στη συνέχεια επεκτάθηκε και σε άλλες περιοχές εκτός από την Αίγινα και την αττική έγιναν ενέργειες για καλλιέργεια φιστικιάς σε Φθιώτιδα, Κορινθία, Εύβοια. Το 1968 στην κεντρική και βορειά Ελλάδα, Κυκλάδες και τέλος στην Κρήτη.



Εικόνα 22: Φυστίκια¹²

4.5 Αμύγδαλα

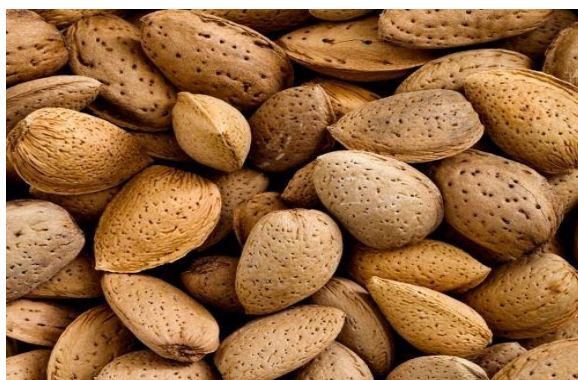
Η αμυγδαλιά είναι από τα πιο ιδιαίτερα δέντρα καθώς οι απαιτήσεις της προς το περιβάλλον είναι μεγάλες με αποτέλεσμα να υπάρχει περιορισμός στην καλλιέργειά της στις διάφορες περιοχές. Η αμυγδαλιά καλλιεργείται κυρίως για τους καρπούς της τα αμύγδαλα, τα οποία χρησιμοποιούνται ευρύτατα στην βιομηχανία σε πολλούς διαφορετικούς τομείς. Το αμύγδαλο χρησιμοποιείται για την παραγωγή αμυγδαλέλαιου το οποίο συμβάλλει στην παραγωγή πολλών καλλυντικών προϊόντων. Το αμύγδαλο η ψίχα χρησιμοποιείται ευρύτατα στην ζαχαροπλαστική για την παραγωγή κουφέτων, αμυγδαλόγαλα και αμυγδαλωτά. Η καλλιέργεια της αμυγδαλιάς

¹² <https://www.healthline.com/nutrition/are-pistachios-nuts>

πρωτοεμφανίστηκε από την μέση ανατολή πιο συγκεκριμένα απο το Ιράν καθώς το κλίμα ήταν ευεργετικό προς τις απαιτήσεις της αμυγδαλιάς δηλαδή ζεστό και ξηρό κλίμα. Μετέπειτα πραγματοποιήθηκε επέκταση της αμυγδαλιάς από τους Αιγύπτιους, στους Ρωμαίους και τους Έλληνες στην Νότια Αφρική και Βόρεια Ευρώπη.

Στην Ελλάδα τα πιο σημαντικά κέντρα καλλιέργεια της αμυγδαλιάς είναι οι νομοί της Μαγνησίας και της Λάρισας. Παρόλα αυτά καλλιεργείται και σε άλλες περιοχές πέρα αυτών των νομών, στα Νησιά Αιγαίου , Μακεδονία , Θεσσαλία , Εύβοια, Πελοπόννησο και Στερεά Ελλάδα.

Τα αμύγδαλα είναι μια από τις πιο πλούσιες πηγές βιταμίνης E, σε μορφή RRR- α -τοκοφερόλης και σημειώνονται ακόμη σε Διατροφικές Οδηγίες για Αμερικανούς στο πλαίσιο της αύξησης της πρόσληψης αυτού του «προβληματικού θρεπτικού συστατικού», με περίπου το 90% του γενικού πληθυσμού να αποτυγχάνει να καλύψει τη Συνιστάμενη Διαιτητική Δόση των 15 mg την ημέρα των 2-R στερεοϊσομερών μορφών αυτής της βιταμίνης. Οι Jambazian et al. (2005) υπέδειξαν τη βιοδιαθεσιμότητα της βιταμίνης E από τα αμύγδαλα, όταν έδωσαν σε 16 υγιείς εθελοντές 28g ή 58g την ημέρα (αντικαθιστώντας 10 και 20% της συνολικής ενεργειακής πρόσληψης αντίστοιχα), για 4 εβδομάδες. Τα αποτελέσματα αυτού του πειράματα έδειξαν αύξηση των συγκεντρώσεων της α -τοκοφερόλης στο πλάσμα κατά 13,7 και 18,7% αντίστοιχα. Αντίστοιχα με αυτά ευρήματα, οι Jenkins et al. (2005)



Εικόνα 23: Αμύγδαλα

παρατήρησαν σημαντική αύξηση στην αντίσταση της LDL-C στην οξείδωση, με την προσθήκη 36,5 ή 73g αμύγδαλα ημερησίως, στη συνήθη διατροφή 27 υπερλιπιδαιμικών ασθενών για 4 εβδομάδες.

Συμπληρωματικά ο ρόλος των φαινολικών οξέων και των πολυφαινολών, συμπεριλαμβανομένων των флаβονοειδών, στην προαγωγή της υγείας και στην πρόληψη από χρόνιες ασθένειες αποτελούν αντικείμενο μιας συνεχώς αυξανόμενης ερευνητικής δραστηριότητας. Τα αμύγδαλα περιέχουν μια ποικιλία από αυτά συστατικά, εντοπισμένα κυρίως στην επιφάνεια τους, συμπεριλαμβανομένων των флаβονολών (ισοραμνετίνη, καεμπφερόλη, κερσετίνη), των флаβανολών (κατεχίνη, επικατεχίνη), των флаβανονών (ναρινγενίνη), των ανθοκυανινών (κυανιδίνη, δελφινιδίνη), των προκυανιδινών (B2, B3) και των φαινολικών οξέων (καφεϊκό οξύ, φερουλικό οξύ, π-κουμαρικό οξύ, πρωτοκατεχουϊκό οξύ, βανιλικό οξύ). Οι флаβονόλες και флаβανόλες, που εμπεριέχονται στα αμύγδαλα έχει αποδειχθεί ότι εμφανίζονται βιοδιαθέσιμες σε χάμστερ, στα οποία και προσφέρουν αντιοξειδωτική προστασία έναντι της LDL-C οξείδωσης. *In vitro* οι αντιοξειδωτικές δράσεις αυτών των ενώσεων σε εκχυλίσματα αμυγδάλου έχουν αποδειχθεί σε δοκιμές απομάκρυνσης ριζών υδροξυλίου, υπεροξυλίου και υπεροξειδίου. Σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις, τα флаβονοειδή και τα φαινολικά οξέα που προέρχονται από την επιφάνεια του αμυγδάλου έχει βρεθεί ότι ενισχύουν την αντίσταση της LDL-C σε οξείδωση *in vitro* με δοσοεξαρτώμενο τρόπο. Είναι ενδιαφέρον μάλιστα ότι αυτές οι φαινολικές ενώσεις έχουν επίσης συσχετιστεί με συνεργιστικές αλληλεπιδράσεις στην οξειδωτικότητα της LDL-C *in vitro*, με βιταμίνες C και E, υποδηλώνοντας ότι μεμονωμένα τρόφιμα ή γεύματα που περιέχουν όλα αυτά τα θρεπτικά συστατικά μπορεί να παρέχουν περισσότερη από την αναμενόμενη αντιοξειδωτική δράση (Chen et al, 2005).

4.6 Φουντούκια

Η λέξη hazelnut (δηλαδή το φουντούκι) προέρχεται από την αγγλοσαξονική λέξη haesel (κάπα). Το φουντούκι είναι μέλος του γένους *Corylus*, το είδος *avellana* και ανήκει στην οικογένεια *Betulaceae*. Είναι πολύκλωνος θάμνος, ύψους 3-10 μ., έχει συρόμενα ή στριμμένα κλαδιά. Τα φύλλα του διαφέρουν αρκετά στο πάχος τους και η διακλάδωση είναι ανοργάνωτη. Το μέσο μήκος των φύλλων είναι 5-10 cm με διαφορετικό σχήμα, οβάλ προς στρογγυλό. Οι ξηροί καρποί αναπτύσσονται σε τσαμπιά του 1- 12, γενικά σε σχήμα σφαιρικό ή οβάλ. Ο ιδιαίτερος καρπός είναι καλυμμένος με κέλυφος διπλής στρώσης. Η ωριμότητα των ξηρών καρπών παίρνει τουλάχιστον 7 - 8 μήνες μετά τη γονιμοποίηση. Η ανθική βιολογία του φουντουκιού διαφέρει από άλλες φυτείες και σπάρτα. Σε αντίθεση με άλλα καλλιεργούμενα φυτά, τα φυτά της



Εικόνα 24: Φουντούκια

φουντουκιάς είναι διπλοειδή, ερμαφρόδιτα, επικονιασμένα με αέρα και ανθίζουν το μεσοχειμώνα, από τον Δεκέμβριο έως τον Μάρτιο στο Βόρειο ημισφαίριο. Οι σωλήνες γύρης αναπτύσσονται στη βάση του φυτού και ξεκουράζονται για πέντε μήνες. Η ωοθήκη γίνεται ώριμη την άνοιξη. Η γονιμοποίηση συμβαίνει όταν το καρύδι είναι περίπου το μισό του ώριμου μεγέθους (Amaral, 2006; Bennet et al, 1991).

Οικονομικά αλλά και εμπορικά, οι μέγιστες ποικιλίες φουντουκιού προέρχονται από την Ευρώπη στη σημερινή εποχή. Παρά την ανώτερη ποιότητα, την παραγωγή, το μεγαλύτερο μέγεθος και τα λεπτότερα κελύφη, το φουντούκι δεν μπορεί να αντέξει στους δύσκολους χειμώνες, αλλά και στον μύκητα της ασθένειας της ανατολικής φλεβίτιδας (Bocacci and Botta, 2009, Palme και Vendramin, 2002).

Τα φουντούκια είναι καλή πηγή λιπαρών οξέων, όπως άλλωστε και άλλοι ξηροί καρποί, όπως το αμύγδαλο, κάσιους κλπ. Το λιπιδικό κλάσμα, που συνθέτει το μεγαλύτερο μέρος του του φουντουκιού αποτελείται από μη πολικά και πολικά συστατικά. Οι τριακυλογλυκερόλες είναι τα κύρια μη πολικά λιπίδια που αντιπροσωπεύουν σχεδόν το 100% των συνολικών μη πολικών λιπιδίων στο φουντουκέλαιο. Είναι καλή πηγή μονοακόρεστων λιπαρών οξέων (MUFA) και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA). Περιέχουν κατά κύριο λόγο παλμιτικό οξύ, στεακικό οξύ, λινολεϊκό οξύ και λινολενικό οξύ. Τα ωμέγα-3 λιπαρά οξέα δεν συντίθενται από το ανθρώπινο σώμα, αλλά λαμβάνονται αποκλειστικά από τη διατροφή. Το α-λινολενικό οξύ είναι πρόδρομος για τα ωμέγα-3 λιπαρά οξέα. Το φουντούκι είναι καλή πηγή ότι PUFA (Ciemniewska et al, 2011, Kornstriner et al, 2013).

Αμινοξέα όπως το γλουταμικό οξύ, η αργινίνη, η αλανίνη και το ασπαρτικό οξύ υπάρχουν επίσης στο φουντούκι (Dmytryshyn et al, 2004, Feldman, 2002). Είναι επίσης καλή πηγή του συμπλέγματος βιταμίνης E & B1, B2 & B6 (Feldman, 2002). Διάφορες μελέτες κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα φουντούκια είναι εξαιρετική πηγή τα μέταλλα όπως το κάλιο, το φώσφορο, το ασβέστιο, το μαγνήσιο, το βόριο, ο χαλκός, το μαγγάνιο και το σελήνιο (Cosmulescu et al, 2013, Tripathi et al, 2013).

Κεφάλαιο 5ο Ανίχνευση μυκοτοξινών

5.1 Νομοθεσία Διεθνής

Σύμφωνα με πολλές επιστημονικές μελέτες σε όλο το κόσμο έχουν καταλήξει στο συμπέρασμα ότι από τις μυκοτοξίνες που παρουσιάζονται στα τρόφιμα είναι οι πιο επικίνδυνες θεωρούνται οι Αφλατοξίνες , συγκεκριμένα η αφλατοξίνη β1 , καθώς έχει διεξαχθεί ότι είναι η πιο τοξική, καρκινογόνα και ουσία ως προς τους ανθρώπους αλλά και άλλο τόσο για τα ζώα . Η χρόνια έκθεση ανθρώπων και ζώων σε αυτή την ουσία είναι δυνατόν να προκαλέσει μεγάλα προβλήματα υγείας όπως ηπατικές βλάβες, επηρεάζοντας σε κάποιες περιπτώσεις το αναπνευστικό σύστημα του ανθρώπου. Κατά συνέπεια λοιπόν η μόλυνση των τροφίμων από αυτές τις τοξίνες αποτελεί καίριο και ιδιαίτερο σημαντικό ζήτημα καθώς τίθεται σε παγκόσμιο επίπεδο , και συγκεκριμένα σε κάποιες αναπτυσσόμενες χώρες παρατηρείται η έλλειψη μέτρων ανίχνευσης και παρακολούθησης, με αποτέλεσμα πάνω από τέσσερα εκατομμύρια ανθρώπων να εκτίθενται σε μεγάλες περιεκτικότητες αφλατοξίνης. Οι παγκόσμιες αρχές υγείας έχουν κάνει έκκληση ότι ακόμα και η χρόνια έκθεση των ανθρώπων μέσω της τροφής σε αρκετές μικρές ποσότητες στις αφλατοξίνες αποτελεί σημαντικό κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία.

Έχουν εμφανιστεί τέτοια προβλήματα σε χώρες όπως η Κένυα το 2004 με αποτέλεσμα τον θάνατο 125 ατόμων και με ασθενείς από την αφλατοξίνη 307 περιπτώσεις. Παρόμοια περιστατικά εμφανίστηκαν και στην Ινδία το 1974. Δημιουργήθηκε λοιπόν για λόγους δημόσιας υγείας η για ελάττωση των μεγίστων επιπέδων αφλατοξινών σε πάρα πολλά τρόφιμα με σκοπό την μείωση της έκθεσης των ανθρώπων στις αφλατοξίνες μέσω της τροφής , τα επίπεδα λοιπόν καθορίστηκαν κάτω από 20 ppb, από την πλειοψηφία των χωρών.

Η Ευρωπαϊκή Επιτροπή όσον αφορά αναλυτικά τα προϊόντα θέσπισε μέγιστα επιτρεπτά όρια στους ξηρούς καρπούς και συγκεκριμένα στα φιστίκια συνίστανται 15 ppb για το σύνολο των αφλατοξινών και για την αφλατοξίνη β1 8 ppb η οποία ερευνάται ξεχωριστά από τις υπόλοιπες μυκοτοξίνες διότι είναι πιο βλαβερά. Στους υπόλοιπους ξηρούς καρπούς και στα αποξηραμένα φρούτα έχουν οριστεί 10 ppb για τις συνολικές μυκοτοξίνες και 5 ppb για την β1 αφλατοξίνη . Στις περιπτώσεις όμως που τα τρόφιμα προβλέπονται για άμεση ανθρώπινη κατανάλωση καθορίζονται ακόμη πιο αυστηρά μέγιστα επιτρεπτά όρια για τις συνολικές αφλατοξίνες κυμαίνονται 4 ppb ενώ για την β1 αφλατοξίνη 2 ppb (Jiujiang, 2012).

5.1.1 Νομοθεσία στην Ευρώπη

Σύμφωνα με πρόσφατες επιστημονικές μελέτες έχει γίνει αντιληπτό ότι είναι αδύνατον επιτευχθεί ο πλήρης εκτοπισμός των μυκοτοξινών και συγκεκριμένα της αφλατοξίνης , κατά τις διαδικασίες και της παραγωγής και αποθήκευσης . Για την προστασία της δημόσιας υγείας λοιπόν και συνιστάται να περιορίζεται η παρουσία τους άμεσα. Για την προστασία της δημόσιας υγείας θα πρέπει να γίνει ο προσδιορισμός των ορίων σε και αρκετά αυστηρό επίπεδο και σύμφωνα με αλιευτικές και μεταποιητικές πρακτικές με γνώμονα την πρόληψη από τους κινδύνους που θα επιφέρουν στους καταναλωτές.

Πλήθος μελετών έχουν υποδείξει ότι θα πρέπει σε κάποιες περιπτώσεις τα όρια να ορίζονται σε κατώτατο εφικτό επίπεδο καθώς η επιμόλυνση τροφίμων από ουσίες οι οποίες θεωρούνται γονιδιοτοξικά καρκινογόνες επόμενες και επικίνδυνες για τον πληθυσμό σε κάποιο βαθμό. Για να να υπάρξει ολοκληρωτικά η προστασία των καταναλωτών και της δημόσιας υγείας κρίνεται ακόμα απαραίτητο η τήρηση αυτών των μέτρων των εμπορών όλων των επιχειρήσεων . Για να καταστεί αυτό εφικτό από

του εμπόρου , σε τομείς όπου τα τρόφιμα έχουν υποστεί μεταποίηση, αραίωση κρίνεται απαραίτητο για την τήρηση των επιτρεπτών επιπέδων η παροχή συντελεστών αραίωσης και συμπύκνωσης συμβάλλοντας στην προστασία των καταναλωτών.

Για την προστασία των πιο ευαίσθητων ομάδων, όπως θεωρούνται τα βρέφη και για αυτό έχει καθοριστεί από την Ευρωπαϊκή νομοθεσία να νομοθετηθούν ακόμα πιο κατώτερα επιτρεπτά όρια αλλά και το κυριότερο και η αυστηρή επιλογή των πρώτων υλών για την παραγωγή παιδικών τροφών , για την εξασφάλιση ποιοτικών προϊόντων απαλλαγμένο από τοξικές ουσίες. Η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει ορίσει τα μέγιστα επιτρεπτά όρια στους ξηρούς καρπούς οι οποίοι προορίζονται για άμεση κατανάλωση η ως υπάρχοντα συστατικά σε τρόφιμα καθορίζεται λοιπόν για β1 αφλατοξίνη 2,0 mg/kg (ppb) , και για τις υπόλοιπες αφλατοξίνες δηλαδή την β1,β2,G1 και για την G2 ορίζεται 5,0 mg/kg (ppb), (Κανονισμός (ΕΚ) αριθμ. 1881/2006). Σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες έχει γίνει γνωστό ότι οι μέθοδοι διαλογής και άλλες φυσικές διαδικασίες συμβάλλουν στην μείωση των αφλατοξινών στους ξηρούς καρπούς συγκεκριμένα , αυτά που περιέχουν κέλυφος , στα αράπικα φιστίκια αλλά και σε ξηρά φρούτα. Για να σημειωθούν λοιπόν μείωση των επιδράσεων που επιφέρουν, θα πρέπει να θεσπιστεί αύξηση των περιεκτικότητας των αφλατοξινών στα συγκεκριμένα τρόφιμα καθώς δεν προορίζονται για άμεση κατανάλωση από τον ανθρώπινο πληθυσμό. Στην παραπάνω περίπτωση λοιπόν έχουν καθοριστεί τα μέγιστα επιτρεπόμενα μεγέθη για τις αφλατοξίνες σύμφωνα με την αποτελεσματικότητα των διαδικασιών που αναφέρθηκαν τα όρια τα οποία είναι : για τους ξηρούς καρπούς και συγκεκριμένα για τα αράπικα φιστίκια , αμύγδαλα και καρύδια 5,0 mg/kg (ppb) για την β1 αφλατοξίνη και 10,0 mg /kg (ppb) για το σύνολο των μυκοτοξινών.

Η Ευρωπαϊκή Αρχή εκτός απο την αφλατοξίνη καθόρισε και τα μέγιστα επιτρεπτά όρια για την εβδομαδιαία λήψη και για την Ωχρατοξίνη Α η οποία ανέρχεται σε 120 ng/kg

. Αναλυτικότερα σε μελέτες και πρακτικές που διεξήχθησαν ορίστηκαν μέγιστα επιτρεπτά όρια της Ωχρατοξίνης σε καρυκεύματα και ξηρούς και αποξηραμένους καρπούς 15 mg/kg. Τέλος η Επιστημονική Επιτροπή τροφίμων όρισε τα μέγιστα επιτρεπτά όρια και για τα γένη μυκήτων *fusarium*, μετά απο πολλές ανακατατάξεις και αλλαγές στις περιεκτικότητες, καθορίστηκε η Ζεαραλεόνη με 0,2 mg/kg , για τις φουμονισίνες ορίστηκε με 2 mg/kg, (Κανονισμός (ΕΚ) αριθμ. 1881/2006).

5.2 Προσδιορισμός μυκοτοξινών

Ο προσδιορισμός των μυκοτοξινων αποτελεί καίριο ζήτημα καθώς προκαλούν καταστροφικές συνέπειες στην υγεία των ανθρώπων και των ζώων εφόσον υπάρξουν στις τροφές . Εκτός απο τη συνέπειες στον τομέα της υγείας, οι μυκοτοξίνες επιφέρουν και οικονομικά προβλήματα , σύμφωνα με τον οργανισμό τροφίμων και γεωργίας (FAO) καθώς το 25 % των προϊόντων σε όλο τον κόσμο ανιχνεύθηκε μολυσμένο απο μυκοτοξίνες , με αποτέλεσμα να επιφέρει μεγάλες οικονομικές απώλειες. Για αυτό τον λόγο καθίστανται ιδιαίτερα σημαντικοί οι έλεγχοι για την επιβεβαίωση προϊόντων απαλλασσόμενων απο μολύνσεις στα επιτρεπόμενα όρια , για την πρόληψη οικονομικών απωλειών, καθώς με τους ελέγχους αποτρέπεται η απόρριψη προϊόντων δίχως προβλήματα και αποδοχή προϊόντων με ελαττώματα.

Οι μέθοδοι ανάλυσης μυκοτοξινών για την εφαρμογή τους απαιτείται να η επικύρωση τους από διεθνής οργανισμούς , ώστε να θεωρηθούν επίσημοι μέθοδοι πρέπει να αποτελούνται από τα εξής χαρακτηριστικά , ακρίβεια , ορθότητα , ευαισθησία , όριο προσδιορισμού. Έχει καταστεί απαραίτητό τα εργαστήρια να αξιοποιούν μεθόδους όπου τα ποσοστά επίδοσης θα είναι σύμφωνα με αυτά που ορίζει η νομοθεσία. Σύμφωνα με πηγές ορισμένα εργαστήρια έχουν λάβει διαπίστευση από αναγνωρισμένο φορέα ότι διεξάγουν ακριβή και υψηλής ποιότητας αποτελέσματα, έχοντας ορισμένα χαρακτηριστικά απαραίτητα, όρια ανίχνευσης, εκτιμήσεις

αβεβαιότητας μέτρησης, πηγή βαθμονομητή και τρόπος παρασκευής του , θα πρέπει να υπάρξει ένδειξη από το εργαστήριο ότι είναι διαπιστευμένο (Κανονισμός (ΕΚ) αριθμ. 401/2006, Hernandez, 2009).

5.2.1 Δειγματοληψία

Η δειγματοληψία αποτελεί την λήψη αντιπροσωπευτικού δείγματος από το σύνολο της παρτίδας, το οποίο θα προϋπέθετε η υπέθετε την ίση κατανομή των στοιχείων ωστόσο αυτό δεν είναι εφικτό σε πολλά τρόφιμα. Σύμφωνα με τον Ευρωπαϊκό κανονισμό (ΕΚ 401/2006), η δειγματοληψία κατέχει ιδιαίτερα σημαντική λειτουργία στην ακρίβεια, από την οποία τίθενται τα επίπεδα μυκοτοξινών, τα οποία σπάνια κατατάσσονται ομοιόμορφα, ιδιαίτερα άνιση πραγματοποιείται η κατανομή των μυκοτοξινών σε παρτίδα τροφίμων που περιέχουν κελυφωτά φιστίκια η αράπικα καθώς λόγω του μεγάλους μεγέθους τους. Στον κανονισμό αναγράφεται και ο τρόπος με τον οποίο πραγματοποιείται η δειγματοληψία (Κανονισμός (ΕΚ) αριθμ. 401/2006, Hernandez, 2009).

5.2.2.1 Προετοιμασία Δείγματος

Η προετοιμασία του δείγματος απαρτίζεται από συγκεκριμένες διαδικασίες, αρχικά γίνεται διαλογή ορισμένων τεμαχίων από το δείγμα ακολουθεί η άλεση και ομογενοποίηση με σκοπό την επίτευξη ενός ομογενοποιημένου δείγματος . Τέλος ακολουθεί ζύγιση ελάχιστης ποσότητας από το ομογενοποιημένο δείγμα με σκοπό να εφαρμοστεί για ανάλυση. (Κανονισμός (ΕΚ) αριθμ. 401/2006, Hernandez, 2009).

5.2.2 Εκχύλιση

Οι Αναλυτικοί μέθοδοι για την ανίχνευση μυκοτοξινών, προαπαιτούν πέρα από την προετοιμασία του δείγματος, και την εκχύλιση συγκεκριμένα την εξαγωγή μυκοτοξινών από στερεή μορφή σε υγρή φάση, αυτή θεωρείται μια από τις κατηγορίες

εκχύλισης, καθώς η εκχύλιση απαρτίζεται και απο την εκχύλιση στερεής φάσης. (Hernandez, 2009. Turner et al., 2009).

5.2.2.1 Εκχύλιση υγρού - υγρού

Η εκχύλιση υγρού - υγρού (*Liquid Liquid Extraction*) διεξάγεται κάνοντας χρήση την ανόμοια διαλυτότητα της της τοξίνης που πρόκειται να αναλυθεί η οποία βρίσκεται σε υγρή φάση, ολοκληρώνεται η εκχύλιση όταν υπάρχει ισορροπία μεταξύ των δύο φάσεων , και ο διαλύτης ανάγεται και αναλυόμενη ουσία μεταφέρεται για εξάτμιση ,για να μεταβεί σε συμπυκνωμένη μορφή. Ένας σημαντικός παράγοντας της διαδικασίας είναι η απομάκρυνση των μη πολικών προσμίξεων , όπως για παράδειγμα τα λιπίδια και η χοληστερίνη , για αυτό τον λόγο γίνεται χρήση διαλυτών όπως εξάνιο και κυκλοεξάνιο . Η διαδικασία είναι αρκετά αποδοτική για πολλές τοξίνες και αποτελεί αρκετά εύχρηστη διαδικασία καθώς διαθέτει τυπικό εργαστηριακό εξοπλισμό . Βέβαια αποτελεί ιδιαίτερα χρονοβόρα διαδικασία (Hernandez, 2009. Turner et al., 2009).

5.2.2.2 Εκχύλιση υγρού - στερεού

Η εκχύλιση υγρού στερεού αποτελεί βασική λειτουργία για την ανάλυση μυκοτοξινών. Η διαδικασία χρησιμοποιούνται δύο τεχνικές την ανάμιξη και τον κλονισμό. Αναλυτικότερα, η διαδικασία ακολουθείται απο την φόρτωση του δείγματος σε ένα διαλύτη, υπό μειωμένη πίεση, ακολουθεί ξέβγαλμα για την απομάκρυνση των ρύπων και στην συνέχεια εκλούση σε άλλο διαλύτη. Κατά την διάρκεια της διαδικασίας χρησιμοποιούνται φουσίγγια μίας χρήσης τα οποία είναι συσκευασμένα με πυριτική γέλη. Τα φουσίγγια περιέχουν διαφορετικές φάσεις συγκόλλησης απο c-18, φαινύλιο, αμινοπροπύλιο, επίσης ακόμα ανταλλάσσουν υλικά με δυο τρόπους ανιοντικά και κατιονικά σε υλικό συγγένειας (Hernandez, 2009. Turner et al., 2009).

5.2.3 Καθαρισμός

Ο καθαρισμός (*clean up*) του δείγματος αποτελεί ιδιαίτερα σημαντική διαδικασία για την επίτευξη ανάλυσης μυκοτοξινών, καθώς συνδέεται με την διαδικασία της εκχύλισης διότι το εκχύλισμα που αποκτήθηκε από την διαδικασία της εκχύλισης απαρτίζεται από ποσότητες μυκοτοξίνης και από τα συνεκχυλίσματα τα οποία λαμβάνονται από το φυσικό υπόστρωμα. (Αρβανιτογιάννης κ.α. 2008). Για την διαδικασία του καθαρισμού χρησιμοποιούνται οι στήλες ανοσοσυγγένειας (IAC) φυσίγγια εκχύλισης στερεάς φάσης. Οι στήλες ανοσοσυγγένειας (IAC) αποτελούνται από αντισώματα τα οποία είναι ενωμένα σε ένα αδρανές υλικό με σκοπό την δέσμευση της ουσίας που αναλύεται ενώ περνούν την ίδια στιγμή ακαθαρσίες του δείγματος. Οι εν λόγω στήλες θεωρούνται αρκετά ωφέλιμες και έχει προσφέρει αρκετές διευκολύνσεις στην διαδικασία του καθαρισμού, καθώς είναι εξαιρετικά εκλεκτικές, επιφέροντας καθαρά τελικά αποτελέσματα και εν τέλει έκλυσης της τοξίνης.

Αυτές οι στήλες ανοσοσυγγένειας θεωρούνται αρκετά ωφέλιμες και έχει προσφέρει αρκετές διευκολύνσεις στην διαδικασία του καθαρισμού, καθώς είναι εξαιρετικά εκλεκτικές, επιφέροντας καθαρά τελικά αποτελέσματα. Το πιο σημαντικό πλεονέκτημα που έχουν οι στήλες είναι η αποφυγή οικονομικών σπαταλών καθώς καταναλώνουν αρκετή ποσότητα διαλύτη σε σχέση με τις άλλες παραδοσιακές μεθόδους και μπορεί να αυτοματοποιηθεί. Αλλά, εφόσον διεξάγονται για μια χρήση, έχουν υψηλό κόστος και περιορισμένη χωρητικότητα. Τα φυσίγγια εξαγωγής στερεής φάσης αποτελούνται από ειδικές συσκευασίες με διάφορες χημικές επιφάνειες, διεξάγοντας ταχύ καθαρισμό και ελάχιστη κατανάλωση διαλυτών (Hernandez, 2009).

Είναι σημαντικό να υπογραμμιστεί ότι στις φυτικές μήτρες, ιδιαίτερα στα φρούτα, εξωτερικά προς το πρωτογενές και δευτερεύον κυτταρικό τοίχωμα υπάρχει μια δομή που ονομάζεται μεσαίο έλασμα, το οποίο αποτελείται κυρίως από πηκτίνη και πηκτικά

οξέα που συγκρατούν τα γειτονικά κύτταρα μαζί. Τα επικρατέστερα μονομερή αυτών των πολυμερών είναι το πολύ-γαλακτουρονικό οξύ και άλλοι πολυσακχαρίτες που μπορούν να μεθυλιωθούν περισσότερο ή λιγότερο. Η πηκτίνη, συγκεκριμένα, χρησιμοποιείται ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων ως πηκτωματοποιητής, σταθεροποιητής και πυκνωτικό για μαρμελάδες, ζελέ, ζαχαροπλαστεία και παραγωγή χυμού φρούτων (Srivastava & Malviya, 2011).

5.3 Μέθοδοι ανάλυσης

Όπως έχει καταστεί ήδη σαφές, η μόλυνση από μυκοτοξίνες των δημητριακών και των σχετικών προϊόντων που χρησιμοποιούνται για ζωοτροφές μπορεί να προκαλέσει δηλητηρίαση, ειδικά σε ζώα εκτροφής. Επομένως, απαιτούνται αποτελεσματικά αναλυτικά εργαλεία για την ποιοτική και ποσοτική ανάλυση των τοξικών μυκητιακών μεταβολιτών στις ζωοτροφές. Οι τρέχουσες μέθοδοι συνήθως περιλαμβάνουν ένα βήμα εξαγωγής, ένα βήμα καθαρισμού για τη μείωση ή την εξάλειψη των ανεπιθύμητων συνεξαγόμενων στοιχείων μήτρας και ένα βήμα διαχωρισμού με κατάλληλα ειδική ικανότητα ανίχνευσης. Οι ποσοτικές μέθοδοι ανάλυσης για τις περισσότερες μυκοτοξίνες χρησιμοποιούν καθαρισμό ανοσοσυγγένειας με διαχωρισμό υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) σε συνδυασμό με ανίχνευση UV ή/και φθορισμού. Ο έλεγχος δειγμάτων που έχουν μολυνθεί με μυκοτοξίνες πραγματοποιείται συχνά με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC), η οποία αποδίδει ποιοτικά ή ημιποσοτικά αποτελέσματα. Στις μέρες μας, οι συνδεδεμένες με ένζυμα ανοσοπροσροφητικές δοκιμασίες (ELISA) χρησιμοποιούνται συχνά για ταχεία διαλογή. Ένας αριθμός πολλά υποσχόμενων μεθόδων, όπως οι ανοσοδοκιμασίες πόλωσης φθορισμού, οι ράβδοι στάθμης, και ακόμη νεότερες μέθοδοι όπως οι βιοαισθητήρες και οι μη επεμβατικές τεχνικές που βασίζονται στην υπέρυθρη φασματοσκοπία, έχουν δείξει μεγάλες δυνατότητες για ανάλυση μυκοτοξινών.

Επί του παρόντος, υπάρχει μια ισχυρή τάση προς τη χρήση μεθόδων πολλαπλών μυκοτοξινών για την ταυτόχρονη ανάλυση αρκετών από τις σημαντικές μυκοτοξίνες *Fusarium*, η οποία επιτυγχάνεται καλύτερα με LC–MS/MS (υγρή χρωματογραφία με διαδοχική φασματομετρία μάζας). Παρακάτω ακολουθεί μία αναφορά στις βασικές μεθόδους ανάλυσης.

5.3.1 Συμβατικές μέθοδοι

Ο όρος «συμβατική μέθοδος» αναφέρεται συνήθως σε έναν χρωματογραφικό διαχωρισμό που συνδέεται με ένα κατάλληλο σύστημα ανίχνευσης, όπως είναι η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης. Οι επί του παρόντος χρησιμοποιούμενες ποσοτικές μέθοδοι για τον προσδιορισμό των ρυθμιζόμενων μυκοτοξινών, όπως οι φουμονισίνες, η ζεαραλεόνη, τα τριχοθηκένια τύπου A (π.χ. T2-τοξίνη) και -B τριχοθηκίνες (π.χ. δεοξυनिβαλενόλη), η ωχρατοξίνη A και οι αφλατοξίνες, σε τρόφιμα και ζωοτροφές χρησιμοποιούν κυρίως ανοσοσυγγένεια. Καθαρισμός με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (*High Pressure Liquid Chromatography*) ή αέρια χρωματογραφία (*Gas Chromatography*) σε συνδυασμό με μια ποικιλία ανιχνευτών, όπως ανίχνευση φθορισμού (FLD) είτε με στάδιο παραγωγοποίησης πριν ή μετά τη στήλη, ανίχνευση *Ultra Violet*, ιονισμό φλόγας ανίχνευση (FID), ανίχνευση σύλληψης ηλεκτρονίων (ECD) ή φασματομετρία μάζας (*Mass Spectroscopy*). Από το πλήθος των διαθέσιμων διαδικασιών, η Ευρωπαϊκή Επιτροπή Τυποποίησης (*CEN- European Committee for Standardization*) προσπαθεί να τυποποιήσει μεθόδους ανάλυσης μυκοτοξινών. Η CEN καθορίζει κριτήρια απόδοσης για τις μεθόδους μυκοτοξίνης συνήθως με βάση συνεργατικές μελέτες. Οι μέθοδοι CEN είναι επίσημες μέθοδοι αναφοράς και χρησιμοποιούνται για επίσημο έλεγχο και επιτήρηση και σε περιπτώσεις διαφωνίας. Υπάρχουν μέθοδοι εγκεκριμένες από την CEN για αφλατοξίνες, ωχρατοξίνη A, φουμονισίνες, πατουλίνη και δεοξυनिβαλενόλη, για παράδειγμα, σε διάφορα τρόφιμα.

Περαιτέρω μέθοδοι για διάφορες μυκοτοξίνες στις ζωοτροφές θα εκδοθούν στο εγγύς μέλλον (Gilbert & Anklam, 2002).

5.3.2 Υγρή χρωματογραφία/φασματομετρία μάζας (LC/MS)

Τα τελευταία 10 χρόνια, η υγρή χρωματογραφία/φασματομετρία μάζας έχει γίνει η καθολική προσέγγιση για την ανάλυση μυκοτοξινών, καθώς λίγο πολύ όλες οι πιθανές αναλυόμενες ουσίες είναι συμβατές με τις συνθήκες που εφαρμόζονται κατά τον διαχωρισμό και την ανίχνευση. Ωστόσο, η ανακάλυψη αυτής της προσέγγισης δεν συνέβη μέχρι τα μέσα της δεκαετίας του 1990, όταν κατάλληλες διεπαφές, όπως ο ιονισμός της ατμοσφαιρικής πίεσης, έγιναν προσβάσιμες σε καθημερινή βάση. Σε σύγκριση με τις συμβατικές τεχνικές ανίχνευσης, όπως η υπεριώδης ακτινοβολία ή ο φθορισμός, η φασματομετρία μάζας προσφέρει αυξημένη επιλεκτικότητα και ευαισθησία (αν και η ανίχνευση φθορισμού μπορεί να είναι πιο ευαίσθητη για ορισμένες μυκοτοξίνες, π.χ. αφλατοξίνες), σαφή επιβεβαίωση της μοριακής ταυτότητας της αναλυόμενης ουσίας και την επιλογή χρήσης isotop επισημασμένες ουσίες ως εσωτερικά πρότυπα. Επιπλέον, είναι δυνατό να διερευνηθεί η μοριακή δομή των μεταβολιτών και των συζυγών σακχάρων και να παραλειφθούν τα χρονοβόρα και επιρρεπή σε σφάλματα βήματα παραγωγοποίησης και καθαρισμού. Ωστόσο, πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι η μείωση της προετοιμασίας του δείγματος αναπόφευκτα τονίζει το μειοέκτημα του LC/MS, δηλαδή σχετικά χαμηλή ακρίβεια και ακρίβεια της μεθόδου λόγω της μη αναπαραγωγίσιμης και απρόβλεπτης επίδρασης συν-έκλυσης των συστατικών της μήτρας και των αναλυτών στην ένταση του σήματος (Krska et al., 2008).

5.3.3 Δοκιμασίες βασισμένες σε φασματομετρία μάζας

Με βελτιώσεις στις ευαισθησίες των ανιχνευτών και μειωμένο κόστος οργάνων, η οικονομική επιλογή ορισμένων χρωματογραφικών τεχνικών έχει βελτιωθεί δραματικά.

Αυτό ώθησε την ανάπτυξη σε τομείς όπως η υγρή χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (LC-MS), η οποία έχει επεκταθεί σημαντικά τα τελευταία χρόνια, όπως αναφέρεται στην προηγούμενη παράγραφο. Η χρήση υγρής χρωματογραφίας «υπεραπόδοσης» (UPLC) για τη συντόμευση του χρόνου ανάλυσης αναμένεται να συνεχιστεί. Έχουν περιγράψει πολλές μέθοδοι υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC)-MS που ανιχνεύουν πολλαπλές μυκοτοξίνες σε μία μόνο χρωματογραφική ανάλυση.

Τα συστατικά ενός δείγματος μπορεί να οδηγήσουν στην καταστολή ή ενίσχυση της διαδικασίας ιονισμού. Ανεξέλεγκτα, τέτοια φαινόμενα μπορεί να επηρεάσουν την ικανότητα του ανιχνευτή να ποσοτικοποιεί με ακρίβεια τις αναλυόμενες ουσίες. Για το λόγο αυτό, πολλές μέθοδοι που βασίζονται σε MS ενσωματώνουν στάδια καθαρισμού και/ή χρωματογραφίας για τη μείωση της ποσότητας της μήτρας που υπάρχει κατά την έκλυση της αναλυόμενης ουσίας. Οι Nonaka et al. (2009) απέδειξαν τη χρήση αυτοματοποιημένης μικροεκχύλισης στερεάς φάσης (SPME) για την απλοποίηση της προετοιμασίας δειγμάτων πριν από την ανάλυση LC-MS των αφλατοξινών από δείγματα τροφίμων. Ο αντίκτυπος των επιδράσεων μήτρας μπορεί επίσης να ελεγχθεί μέσω της χρήσης εσωτερικών προτύπων ή εξωτερικών προτύπων που ταιριάζουν με μήτρα. Ένα παράδειγμα είναι η χρήση προτύπων με ισοτοπική επισήμανση (Rychlik & Asam 2008). Ενώ το LC-MS στις πολλές του μορφές έχει κυριαρχήσει στην πρόσφατη χρωματογραφική βιβλιογραφία, άλλες χρωματογραφικές προσεγγίσεις συνεχίζουν να αναπτύσσονται, όπως η χρωματογραφία λεπτής στιβάδας υψηλής απόδοσης (Caputo et al. 2007). Για παράδειγμα, ο ιονισμός εκρόφησης λέιζερ υποβοηθούμενος από μήτρα (MALDI)-MS επιτρέπει την ανάλυση αναλυόμενων ουσιών που συν κρυσταλλώνονται με μήτρα σε μεταλλική πλάκα.

5.3.4 Ανοσοχημική μέθοδος Elisa

Η μέθοδος ELISA (ενζυμική προσροφορική δοκιμασία) θεωρείται από τις συχνές μεθόδους πάνω στην ανίχνευση μυκοτοξινών στα τρόφιμα. Η μέθοδος στηρίζεται αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μυκοτοξινών που λειτουργούν ως αντιγόνα και έπειτα ενώνονται με τα αντισώματα. Η ποσότητα του συζυγούς τοξίνης- ενζύμου που ενώνεται με τα αντισώματα αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για την δημιουργία χρώματος. Η elisa διεξάγεται με πολλούς τρόπους όπως άμεση δοκιμασία, η ανταγωνιστική άμεση ανάλυση, η ανταγωνιστική έμμεση διαδικασία.

Αυτή η τεχνική θεωρείται αρκετά εύκολη και γρήγορη στην χρήση και στην ανάλυση μυκοτοξινών. Ωστόσο παρουσιάζει ορισμένα μειονεκτήματα, το kit έχουν την δυνατότητα να προσδιορίσουν μόνο μια μυκοτοξίνη και έχει πλαισιωθεί για εφάπαξ χρήση, επιπρόσθετα μπορεί σε κάποιες περιπτώσεις να χρειαστούν δείγματα μολυσμένα με πολλαπλές μυκοτοξίνες με αποτέλεσμα η διαδικασία να καταλήξει να είναι αρκετά ακριβή. Επιπλέον κάθε πακέτο δοκιμής καθορίζεται από τον κατασκευαστή, και δεν είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθεί όλα τα επίπεδα μόλυνσης (Alshannaq & Yu, 2017).

5.3.5 Ταχείες Μέθοδοι

Τα kit ταχείας διάγνωσης χρησιμοποιούνται ιδιαίτερα στην ιατρική, σε ταινίες τεστ του εγκυμοσύνης και του αίματος. Ωστόσο τα τελευταία χρόνια εκτός από τον τομέα της ιατρικής παρατηρείται ανέλιξη στην χρήση γρήγορων δοκιμαστικών ταινιών για την ανίχνευση μολυσματικών παραγόντων στα τρόφιμα, όπως αλλεργιογόνα και μυκοτοξίνες (Alshannaq & Yu, 2017).

Το LFD αποτελείται αποκλειστικά από ένα μοναδικό στάδιο το οποίο περιλαμβάνει όλες τις γραμμές του δείγματος και την αρνητική γραμμή ελέγχου στην ίδια λωρίδα.

Η μέθοδος αποτελείται από τρία μέρη, μια πορώδη μεμβράνη ένα συζευγμένο και απορροφητικό επίθεμα. Η δοκιμή λειτουργεί ως μια ανοσοδοκιμασία ιδιαίτερα ανταγωνιστική καθώς δρα το αντίσωμα ως αντιδραστήριο σήματος. Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με φασματομετρικούς παράγοντες για την επίτευξη ποσοτικών αποτελεσμάτων. Ωστόσο, αυτή η μέθοδος δεν χρησιμοποιείται ιδιαίτερα καθώς τίθεται η δυσκολία στην λήψη σωστών αποτελεσμάτων με μεγάλη ευαισθησία και πέρα από αυτές τις δυσκολίες απαιτείται και υψηλό κόστος. (Alshannaq & Yu, 2017).

Το τεστ *dipstick* είναι άλλη μια δοκιμή για την ανίχνευση μυκοτοξινών που ανήκει στις ταχείες μεθόδους, η οποία παρουσιάζει πολλές ομοιότητες με την μέθοδο elisa. Η δοκιμή εκτελείται από ράβδους μέτρησης και συγκεκριμένα πρώτη δοκιμασία επιτεύχθηκε πάνω τρόφιμα με βάση το καλαμπόκι, για τη λήψη αποτελεσμάτων μισή ώρα η και περισσότερο. Μετέπειτα αναπτύχθηκε μια ανοσοδοκιμασία πολλαπλής στάθμης για τον προσδιορισμό πολλών μυκοτοξινών, παρόλα αυτά δεν προτιμώνται καθώς δεν παρουσιάζει μεγάλη ευαισθησία (Alshannaq & Yu, 2017).

Οι ανοσοδοκιμασίες ροής, οι οποίες εκτελούνται με μεμβράνες ροής παρουσιάζουν πολλές ομοιότητες στην διαδικασία ανίχνευσης μυκοτοξινών με την δοκιμασία LFD. Τα αποτελέσματα βέβαια δεν είναι ερμηνεύσιμα καθώς δεν απονέμονται με ακρίβεια. Έχουν αναπτυχθεί πολλές δοκιμές ταχείας ταινίας για την προσδιορισμό πολλών μυκοτοξινών πάνω σε πολλά ανόμοια τρόφιμα, παρόλα αυτά δεν θεωρούνται φερέγγυοι μέθοδοι καθώς παρουσιάζουν αστοχίες όπως διαθέτουν περιορισμένη ευαισθησία και είναι ανακριβείς (Alshannaq & Yu, 2017).

5.3.6 Άλλες μέθοδοι υπό διερεύνηση

Η τριχοειδής ηλεκτροφόρηση θεωρείται η τεχνική η οποία χρησιμοποιεί τον φθορισμό η την απορρόφηση UV για την διάσπαση των συστατικών σύμφωνα με το ηλεκτροχημικό δυναμικό. Στην πράξη η τεχνική χρειάζονται μικρές ποσότητες ρυθμιστικών και διαλυτών με αποτέλεσμα να αναπτύσσεται μόνο μικροί όγκοι αποβλήτων. Αν και με την ηλεκτροφόρηση, έχει γίνει εφικτή η ανίχνευση ορισμένων μυκοτοξινών συγκεκριμένα της Αφλατοξίνης, Φουμονισίνες, Ζεαραλεόνη, ωστόσο η τεχνική δεν χρησιμοποιείται καθώς διαθέτει περιορισμένη ευαισθησία.

Ηλεκτρονική μύτη (Electronic nose) είναι μια τεχνική η οποία λειτουργεί αντιγράφοντας το ανθρώπινο οσφρητικό σύστημα για την ανάλυση και ανίχνευση μυκοτοξινών. Η τεχνική αποτελείται από χημικά αντιδραστήρια τα οποία αποτελούνται από διαφορετικές ειδικότητες που αντιδρούν με τις διαφορετικές πτητικές ενώσεις, αυτές οι αλληλενέργειες δημιουργούν σήματα, τα οποία έχουν την ικανότητα να αξιοποιηθούν ως δακτυλικό αποτύπωμα των πτητικών μορίων που προέρχονται από τα αναλυόμενα δείγματα. Η διαδικασία καταλήγει στην ανίχνευση μυκοτοξινών, εφόσον έχει επιτευχθεί η δημιουργία του δακτυλικού αποτυπώματος ώστε να υπάρξει ποσοτικοποίηση των οσμών μέσω συστήματος αναγνώρισης προτύπων. Αυτή η τεχνική έχει αποδειχθεί αρκετά εύχρηστη των τοξιγόνων και μη τοξιγόνων μυκήτων. Η τεχνική παρόλα αυτά έχει επικεντρωθεί κυρίως στην ανίχνευση των τοξιγόνων μυκήτων και όχι της ίδιας της μυκοτοξίνης, καθώς η χρήση αυτής την τεχνολογίας για ανάλυση μυκοτοξινών εντοπίζεται σε αρκετά αρχικά στάδια ακόμη και είναι απαραίτητες αρκετές βελτιστοποιήσεις. Επιπρόσθετα, καθίσταται πιο δύσκολη η ανίχνευση των μυκοτοξινών διότι οι περισσότερες μυκοτοξίνες είναι μη πτητικές (Alshannaq & Yu, 2017).

5.3.7 Φασματοσκοπία υπέρυθρης (IR)

Η φασματοσκοπία υπέρυθρης ακτινοβολίας αποτελείται από μεθόδους που ενσωματώνουν αναλυτές υπέρυθρου IR που λειτουργούν σε συνδυασμό με την ανάλυση του κύριου συστατικού PCA δρώντας δίχως να απαιτείται προετοιμασία δείγματος για την ανίχνευση μυκοτοξινών. Αυτοί οι μέθοδοι εμφανίζουν αρκετά προτερήματα όπως ότι είναι αρκετά εύχρηστες με ταχεία αποτελέσματα και το σημαντικότερο δεν θεωρείται απαραίτητη η προετοιμασία του δείγματος. Παρόλα αυτά η φασματοσκοπία IR δεν έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως καθώς αντιμετωπίζει αρκετές δυσκολίες στην πράξη σε σχέση με την ανάλυση μυκοτοξινών όπως την ανομοιογενή καταμερισμό τους στην τροφική μήτρα, στον καταμερισμό μεγέθους σωματιδίων των αλεσμένων κόκκων και των ορίων ανίχνευσης των μυκοτοξινών τη μέθοδο (Alshannaq & Yu, 2017).

Κεφάλαιο 6ο Συμπεράσματα

6.1 Τρόποι αντιμετώπισης

Εκτός από τον άμεσο κίνδυνο για την υγεία, οι οικονομικές απώλειες και οι επιπτώσεις που προκύπτουν από τις μυκοτοξικώσεις είναι τεράστιες. Πολλές αναπτυσσόμενες χώρες έχουν συνειδητοποιήσει ότι η μείωση των επιπέδων των μυκοτοξινών στα τρόφιμα όχι μόνο θα μειώσει την οικονομική επιβάρυνση για την υγειονομική περίθαλψη, αλλά επίσης θα επιφέρει μια σειρά πλεονεκτημάτων, που αφορούν το διεθνές εμπόριο, όπως είναι οι εξαγωγές, προς τις ελκυστικές ευρωπαϊκές αγορές. Οι θεμελιώδεις παράγοντες απαραίτητοι για την ικανότητα της χώρας να προστατεύει τον πληθυσμό της από τις μυκοτοξίνες περιλαμβάνουν την ανόρθωση της πολιτικής βούλησης προς την αντιμετώπιση της έκθεσης σε μυκοτοξίνες και την ικανότητα ελέγχου των τροφίμων για μόλυνση (Wagacha & Muthomi, 2008).

Άμεσοι τρόποι αντιμετώπισης πρέπει να διαμορφωθούν στον τομέα της γεωργίας και στους χώρους παραγωγής και επεξεργασίας των τροφίμων. Οι αγρονομικές πρακτικές φαίνεται να έχουν σημαντική επίδραση στην μόλυνση ενός χωραφιού από μυκοτοξίνες. Συγκεκριμένα οι αγρονομικές πρακτικές περιλαμβάνουν μεθόδους, όπως η πρόιμη συγκομιδή, η καθαριότητα, η κατάλληλη αποθήκευση και άλλα, τα οποία αναλύονται στη συνέχεια.

Η πρόιμη συγκομιδή μειώνει τη μυκητιακή μόλυνση των καλλιεργειών στο χωράφι πριν από τη συγκομιδή και κατά συνέπεια τη μόλυνση των συγκομισμένων προϊόντων. Αν και οι περισσότεροι αγρότες στην Αφρική γνωρίζουν καλά την ανάγκη για πρόιμη συγκομιδή, ο απρόβλεπτος καιρός, ο περιορισμός εργασίας, η ανάγκη για μετρητά και η απειλή των κλεφτών, των τρωκτικών και άλλων ζώων αναγκάζουν τους αγρότες να θερίζουν σε ακατάλληλο χρόνο. Ταυτόχρονα έχει παρατηρηθεί ότι η πρόιμη συγκομιδή

και ο αλωνισμός των αραχίδων έχει ως αποτέλεσμα να ανιχνευθούν χαμηλότερα επίπεδα αφλατοξίνης και να επιτευχθούν υψηλότερες αποδόσεις (27%) σε σχέση με την καθυστερημένη συγκομιδή (Amyot, 1983).

Η ταχεία αποξήρανση των γεωργικών προϊόντων συνιστά μια πρακτική κρίσιμης σημασίας, καθώς επιτυγχάνει την μείωση των επιπέδων υγρασίας και κατά αυτόν τον τρόπο δημιουργεί λιγότερο ευνοϊκές συνθήκες, για την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό των μυκήτων. Ακόμα με αυτή την πρακτική μειώνονται και οι πιθανότητες προσβολής του χωραφιού από έντομα και παράσιτα (Lanyasunya et al., 2005). Μάλιστα αναφέρεται ότι η αποξήρανση συγκομισμένου αραβόσιτο, με περιεκτικότητα σε υγρασία 15,5% ή χαμηλότερη, σε 24–48 ώρες, αρκεί για να μειώσει τον κίνδυνο ανάπτυξης μυκήτων και της συνακόλουθης παραγωγής αφλατοξίνης. Ακόμα οι Awuah and Ellis (2002) απέδειξαν ότι όταν τα αράπικα φιστίκια αποξηράνονταν σε 6,6% επίπεδο υγρασίας, ήταν απαλλαγμένα από μύκητες ανεξάρτητα του τοπικού προστατευτικού μέσου αποθήκευσης που χρησιμοποιήθηκε για 6 μήνες. Αντίθετα σε ποσοστό 12% υγρασία, μόνο με τη χρήση του φυτού *Syzigium aromaticum* ήταν δυνατό να αποφευχθεί η επιμόλυνση και να προστατευτούν τα υγιή φυτά. Ωστόσο, όταν η περιεκτικότητα σε υγρασία αυξήθηκε στο 18,5%, η χρήση του φυτού αυτού, φαίνεται ότι δεν ήταν τόσο αποτελεσματική. Μια παρέμβαση με βάση την κοινότητα, στη Γουινέα της Δυτικής Αφρικής επικεντρώθηκε στην πλήρη αποξήρανση και τη σωστή αποθήκευση των αραχίδων σε φάρμες και χωριά και πέτυχε τη μείωση κατά 60% των μέσων επιπέδων αφλατοξίνης σε χωριά παρέμβασης (Turner et al., 2005). Κατά την αποθήκευση, τη μεταφορά και το εμπόριο, η συντήρηση χαμηλών επιπέδων υγρασίας θα πρέπει να διατηρηθεί, αποφεύγοντας διαρροές από στέγες και συμπύκνωση, η οποία είναι δυνατόν να προκύψει λόγω ανεπαρκούς εξαερισμού.

Συμπληρωματικά, αναφέρεται μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε στο Μπενίν από τους Fandohan et al. (2005) για τον προσδιορισμό της τύχης των αφλατοξινών και των φουμονισινών, μέσω της παραδοσιακής επεξεργασίας φυσικώς μολυσμένου αραβοσίτου και τροφίμων, με βάση τον αραβόσιτο. Αποδείχθηκε ότι η διαλογή, το ξετύλιγμα, το πλύσιμο και η σύνθλιψη σε συνδυασμό με την αφαίρεση του φλοιού των κόκκων αραβοσίτου ήταν αποτελεσματικά στην επίτευξη σημαντικής απομάκρυνσης μυκοτοξινών. Αυτή η προσέγγιση βασίζεται στον διαχωρισμό των μολυσμένων σιτηρών από τα υπόλοιπα και εξαρτάται από το βάρος της μόλυνσης, μόνο ενός μικρού αριθμού των σπόρων, έτσι ώστε με την αφαίρεση των φύλλων αυτών να είναι πολύ μικρότερη η συνολική μόλυνση. Η μελέτη της κατανομής της αφλατοξίνης στα φιστίκια δείχνει ότι ένα μεγάλο μέρος (80%) της τοξίνης εντοπίζεται συχνά με κάποιο μικρό και ζαρωμένο σπόρο ή σε κάποιο μουχλιασμένο και λεκιασμένο φυστίκι (Turner et al., 2005).

Επιπρόσθετα υψίστης σημασίας είναι η πρόληψη και η εφαρμογή βασικών υγειονομικών κανόνων. Ορισμένα μέτρα υγιεινής, όπως είναι η απομάκρυνση και η καταστροφή των υπολειμμάτων από την προηγούμενη συγκομιδή, βοηθούν στην ελαχιστοποίηση της μόλυνσης και της προσβολής των προϊόντων στο χωράφι. Ο καθαρισμός καταστημάτων πριν από τη φόρτωση νέων προϊόντων έχει αποδειχθεί ότι συσχετίζεται με μειωμένα επίπεδα αφλατοξίνης (Hell et al., 2000). Στο ίδιο πλαίσιο είναι απαραίτητο να δίνεται η δέουσα προσοχή στην ορθή αποθήκευση των προϊόντων. Προκειμένου να επιτευχθεί η διατήρηση της ποιότητας κατά την αποθήκευση, είναι απαραίτητο να αποτραπεί η βιολογική δραστηριότητα μέσω επαρκούς αποξήρανσης σε λιγότερο από 10% υγρασία, η εξάλειψη των δραστηριοτήτων των εντόμων, η οποία είναι δυνατόν να αυξήσει την περιεκτικότητα σε υγρασία μέσω της συμπύκνωσης της

υγρασίας, που προκύπτει από την αναπνοή, τις χαμηλές θερμοκρασίες και τις αδρανείς ατμόσφαιρες (Turner et al., 2005).

Η διαχείριση των εντόμων είναι επίσης ένα από τα πρώτα βήματα, προς τη δημιουργία βέλτιστων συνθηκών και τη διατήρηση υγιών συγκομιδών. Είναι γεγονός ότι το επίπεδο της ζημιάς από τα έντομα επηρεάζει σημαντικά την έκταση της μόλυνσης από μυκοτοξίνες. Μάλιστα, σύμφωνα με τους Avantaggio et al. (2002), η καταστροφή του καλαμποκιού από έντομα είναι ένας καλός προγνωστικός παράγοντας μόλυνσης από μυκοτοξίνες, που παράγονται από τον μύκητα *Fusarium*. Αυτό συμβαίνει διότι τα έντομα μεταφέρουν σπόρια μυκοτοξινών, που παράγουν οι μύκητες στις φυτικές επιφάνειες στο εσωτερικό του μίσχου των φυτών ή των πυρήνων. Ακόμη είναι πιθανό να δημιουργήσουν πληγές μόλυνσης, μέσω των διατροφικών τους συνηθειών (Munkvold, 2003). Ως εκ τούτου, η σωστή διαχείριση των παρασιτικών εντόμων, μέσω οποιασδήποτε κατάλληλης στρατηγικής ελέγχου θα μείωνε το πρόβλημα μόλυνσης από μυκοτοξίνες σημαντικά.

Ακόμη υφίστανται διάφορες πολιτιστικές πρακτικές, οι οποίες μπορούν να εφαρμοστούν σε βάθος χρόνου, συμπεριλαμβανομένης της αμειψισποράς, του οργώματος, της ημερομηνίας φύτευσης, της διαχείρισης της άρδευσης και της γονιμοποίησης. Παρόλα αυτά, σύμφωνα με τον Munkvold (2003), οι δράσεις αυτές κατά κύριο λόγο έχουν περιορισμένες επιδράσεις στη μόλυνση και την επακόλουθη συσσώρευση μυκοτοξινών στη συγκομιδή.

Σημαντική πρόοδος έχει γίνει στην καθιέρωση διαφόρων στρατηγικών βιοελέγχου για την αποφυγή επιμόλυνσης από μυκοτοξίνες. Επί παραδείγματι, η ανάπτυξη ατοξιγονικών μυκήτων βιοελέγχου, οι οποίοι μπορούν να ανταγωνιστούν με επιτυχία τους συγγενείς, τοξικογόνους μύκητες, σε περιβάλλον αγρού και να μειώσουν κατά αυτόν τον τρόπο τα επίπεδα μυκοτοξινών στις καλλιέργειες. Σε μια εφαρμογή στο πεδίο

της συγκομιδής, όπου χρησιμοποιήθηκαν μη τοξικά στελέχη του *A. flavus* και *A. parasiticus* τα επίπεδα της αφλατοξίνης μετά τη συγκομιδή, φαίνεται να μειώθηκαν κατά 95,9% (Cleveland et al., 2003). Ακόμη έχει αναφερθεί η χρήση βιολογικών παραγόντων για καταστολή των μολυσματικών στελεχών μυκήτων, που παράγουν φουμονισίνη. Παρατηρήθηκε, λοιπόν ότι επιτεύχθηκε η αναστολή του σχηματισμού φουμονισίνης από ατοξιγονικά στελέχη *F. verticillioides*, αν και τα τελευταία προκάλεσαν υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης της νόσου, όταν εφαρμόστηκαν στη συγκομιδή. Η παρατήρηση αυτή υπονοούσε ότι η ικανότητα παραγωγής φουμονισινών δεν απαιτείται για να προκαλέσει καταστροφή στη συγκομιδή και ότι εάν επιτευχθεί αποτελεσματικός αποικισμός φυτών με ατοξιγόνα στελέχη, αυτά θα μπορούσαν να αποκλείσουν τα ανταγωνιστικά στελέχη που παράγουν φουμονισίνη ή να εμποδίσουν την παραγωγή φουμονισινών γενικά.

Οι Luongo et al. (2005) ανέφεραν επίσης ότι, μέσω της σπορίωσης των τοξικογενών *F. verticillioides* και *F. proliferatum*, σε υπολείμματα αραβοσίτου ορισμένοι σαπροφυτικοί αποικισμοί τέθηκαν σε καταστολή, παρά το γεγονός ότι επρόκειτο για μη-παθογενετικούς μύκητες του είδους *Fusarium*. Ταυτόχρονα αξίζει να σημειωθεί ότι έχει παρατηρηθεί ο έλεγχος των μυκήτων που παράγουν φουμονισίνη, από διάφορα ενδοφυτικά βακτήρια. Ο ανταγωνιστικός αποκλεισμός, όπου τα βακτήρια αναπτύσσονται διακυτταρικά αποκλείοντας ή μειώνοντας την ανάπτυξη των μεσοκυττάρων υφών θεωρήθηκε ότι ήταν ο εμπλεκόμενος μηχανισμός στο συγκεκριμένο βιολογικό έλεγχο.

Οι Masoud και Kalsoft (2006) ανέφεραν *in vitro* αναστολή της παραγωγής ΟΤΑ από τον *A. ochraceus* από τρεις ζυμομύκητες (*Pichia anomala*, *Pichia kluyveri* και *Hanseniaspora uvarum*). Ακόμα ορισμένα μυκητιασικά στελέχη του *Trichoderma* έχει επίσης αποδειχθεί ότι ελέγχουν παθογόνους μύκητες, μέσω ποικίλων μηχανισμών,

όπως είναι ο ανταγωνισμός για θρεπτικά συστατικά και χώρο, η μυκητίαση, η αντιβίωση, η τροποποίηση ριζόσφαιρας, ο μυκοπαρασιτισμός, η βιογονιμοποίηση και η διέγερση μηχανισμών άμυνας των φυτών (Benitez et al., 2004). Ωστόσο η ικανότητα των μυκητιακών ανταγωνιστών να ελέγχουν τους τοξικογόνους τύπους εξαρτάται από τη διαφορική επίδραση των μακρο- και μικροκλιματικών συνθηκών στην αλληλεπίδραση ανταγωνιστή-παθογόνου μικροοργανισμού (Luongo et al., 2005).

Είναι σημαντικό να αναφερθούν ακόμη ορισμένα σημαντικά κριτήρια για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας του παράγοντα βιοελέγχου της μυκοτοξίνης, τα οποία περιλαμβάνουν την ικανότητα αποικισμού του υποστρώματος του κυττάρου-στόχου ή μέρος του φυτού και την ικανότητα δραστηριοποίησης κάτω από διάφορες περιβαλλοντικές συνθήκες στο χωράφι ή κατά την αποθήκευση, έτσι ώστε η ανάπτυξη του παράγοντα και αυτή του παθογόνου να συμπίπτουν και να συνάδουν με άλλες διαδικασίες ελέγχου, χωρίς να προκαλούν επιπτώσεις, που θέτουν σε κίνδυνο την ποιότητα τελικής χρήσης του εμπορεύματος (Bacon et al., 2001). Από αυτή την άποψη, τα ατοξιγονικά στελέχη του *F. verticillioides* και *F. proliferatum* θα ήταν ανώτεροι παράγοντες βιοελέγχου, για τοξικογόνα στελέχη, αφού καταλαμβάνουν την ίδια οικολογική θέση, όπως τα τοξικογόνα στελέχη στο φυτό ξενιστή και μοιράζονται παρόμοιες συνθήκες ανάπτυξης.

Ένας ακόμα τρόπος αντιμετώπισης της μόλυνσης από μυκοτοξίνες είναι η κατάλληλη χρήση χημικών προϊόντων, με σκοπό τον έλεγχο της σοδειάς. Για παράδειγμα, η κατάλληλη χρήση εντομοκτόνων, κατά τη διάρκεια της παραγωγικής διαδικασίας, μπορεί να ελαχιστοποιήσει τις μολύνσεις από μύκητες και της προσβολής από έντομα και κατά συνέπεια να μειώσει την μόλυνση από μυκοτοξίνες. Σύμφωνα με τους Matthies & Buchenauer (2000), υπάρχουν ορισμένα χημικά προϊόντα, που έχουν μυκητοκτόνο δράση και έχουν χρησιμοποιηθεί για τον περιορισμό και έλεγχο των

μηκύτων που παράγουν φουμινισίνη. Τέτοια μυκητοκτόνα είναι το *prochloraz*, το *epoxyconazole*, το *cyproconazole* και το *azoxystrobin*. Από την άλλη πλευρά ορισμένα μυκητοκτόνα, όπως η ιτρακοναζόλη και η αμφοτερικίνη Β έχουν χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν για τον αποτελεσματικό έλεγχο μηκύτων, που παράγουν αφλατοξίνες, όπως τα είδη *Aspergillus*. Παρόλα αυτά, η χρήση τέτοιων χημικών προϊόντων δεν ενθαρρύνεται ιδιαίτερα ως τρόπος αντιμετώπισης του συγκεκριμένου προβλήματος, καθώς είναι δυνατόν να προκαλέσουν ποικίλα περιβαλλοντικά προβλήματα, ενώ εγείρουν ζητήματα ως προς την ασφάλεια κατανάλωσης των τροφίμων, που θα προκύψουν, αλλά και ως προς την οικονομική επιβάρυνση των παραγωγών.

Από την άλλη πλευρά, η απολύμανση τροφίμων και ζωοτροφών, τα οποία έχουν μολυνθεί με μυκοτοξίνες θα μπορούσε να επιτευχθεί, είτε με χημειοπροστασία, είτε με εντερορρόφηση. Η χημειοπροστασία για τις αφλατοξίνες μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση ορισμένων χημικών ενώσεων, όπως το *oltipraz* και χλωροφυλλίνη, αλλά και με διαιτητικές παρεμβάσεις, όπως η κατανάλωση βλασταριών μπρόκολου και πράσινο τσάι, προϊόντα που είτε επιταχύνουν τις διαδικασίες αποτοξίνωσης ενός ζώου, είτε εμποδίζουν την παραγωγή του εποξειδίου, που οδηγεί σε χρωμοσωμική βλάβη. Αυτή ωστόσο, η παρέμβαση ενδέχεται να μην είναι βιώσιμη μακροπρόθεσμα στις περισσότερες αφρικανικές χώρες, καθώς περιλαμβάνει φαρμακευτικές θεραπείες, που είναι ακριβές, εκτός από τις πιθανές παρενέργειες. Η εντεροαπορρόφηση βασίζεται στην ανακάλυψη ορισμένων ορυκτών αργίλου, όπως το *Novasil*, το οποίο μπορεί να προσδεθεί επιλεκτικά με τις μυκοτοξίνες αρκετά σφιχτά και να τις απορροφήσει, για να αποτρέψει την απορρόφησή τους από τη γαστρεντερική οδό (Wang et al., 2005).

Υπάρχουν διαφορετικοί παράγοντες προσρόφησης, αλλά η αποτελεσματικότητά τους στην πρόσληψη της μυκοτοξίκωσης ποικίλλει. Οι επιλεγμένοι μοντοριλονίτες ασβεστίου έχουν αποδειχθεί ότι είναι οι πιο εκλεκτικοί και αποτελεσματικοί, μεταξύ

των εντεροροφητικών. Ωστόσο, με την εντερορρόφηση, υπάρχει ο κίνδυνος ότι οι μη ειδικοί παράγοντες προσρόφησης μπορεί να εμποδίσουν την πρόσληψη μικροθρεπτικών συστατικών από τα τρόφιμα. Τα αιθέρια έλαια και τα υδατικά εκχυλίσματα του *Aframomum danielli* επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι μειώνουν την ΟΤΑ στη σκόνη κακάο κατά 64% και 95%. Αν και το μόριο της ωχρατοξίνης είναι σταθερό, αναγνωρίζεται ότι περίπου το 40-90% της ΟΤΑ καταστρέφεται κατά το ψήσιμο των κόκκων καφέ (Aroyeun and Adegoke, 2007).

6.2 Προτάσεις για μελλοντικές έρευνες

Μια από τις πιο υποσχόμενες μακροπρόθεσμες στρατηγικές για την σημαντική απειλή μόλυνσης από μυκοτοξίνες στην Αφρική είναι το ζευγάρωμα, με στόχο την ανάπτυξη αντίστασης και αντοχής. Πηγές αντίστασης σε *A. flavus* και *Fusarium spp.*, ιδιαίτερα στον *F. Verticillioides*, έχουν εντοπιστεί και έχουν ενσωματωθεί στο κοινό και ιδιωτικό προγράμματα αναπαραγωγής και ζευγαρώματος (Munkvold, 2003). Δυνητικοί βιοχημικοί και γενετικοί δείκτες αντοχής έχουν εντοπιστεί σε καλλιέργειες, ιδιαίτερα στον αραβόσιτο, σε διάφορα μέρη του κόσμου, οι οποίοι χρησιμοποιούνται ως δείκτες επιλογής στο ζευγάρωμα, για μείωση της επίδρασης των μυκοτοξινών σε ανθρώπους και ζώα και την επίτευξη αντοχής στη μόλυνση από αφλατοξίνες. Ακόμα έχουν αναπτυχθεί πρωτότυπα γενετικά τροποποιημένων καλλιεργειών, τα οποία περιέχουν γονίδια για αντίσταση στις φυτοτοξικές επιδράσεις ορισμένων τριχοθεκενίων, συμβάλλοντας έτσι στη μείωση της λοιμογόνου δράσης των μυκήτων ή περιέχουν γονίδια, που κωδικοποιούν αναστολείς ανάπτυξης μυκήτων, προκειμένου να μειωθεί η μυκητιακή μόλυνση στις ΗΠΑ.

Επιπρόσθετα έχουν αναλυθεί εμπειριστατωμένα ομάδες γονιδίων, οι οποίες περιλαμβάνουν τα γονίδια, που διέπουν το σχηματισμό τριχοθεκενίων, φουμονισινών και αφλατοξινών και τίθενται στο στόχαστρο σε στρατηγικές, που αποσκοπούν στην αναστολή της βιοσύνθεσης αυτών των μυκοτοξινών (Cleveland et al., 2003). Μάλιστα ορισμένοι επιστήμονες στο Υπουργείο Γεωργίας των Ηνωμένων Πολιτειών έχουν εντοπίσει δύο σειρές αραβοσίτου, που είναι ανθεκτικές στο *A. flavus* και το *F. moniliforme* (Hamilton, 2000). Ωστόσο, φαίνεται πως οι εμπορικές ποικιλίες, που έχουν επαρκή επίπεδα αντίστασης στους μύκητες, που παράγουν μυκοτοξίνες είναι ελάχιστες, αν όχι ανύπαρκτες (Munkvold, 2003). Προκειμένου να επινοηθούν αποτελεσματικές στρατηγικές για τον έλεγχο των μυκητιακών μολύνσεων και την ελαχιστοποίηση της παραγωγής μυκοτοξινών στα φυτά ξενιστές, είναι απαραίτητο να αποκτηθεί μια καλύτερη γνώση της γενετικής μεταβλητότητας και της δομής του πληθυσμού σε ειδικό επίπεδο, αλλά και της ικανότητας ανίχνευσης πληθυσμών ή γενεών, οι οποίες μπορεί να προκύψουν και να διαθέτουν σημαντικά χαρακτηριστικά όσον αφορά το προφίλ των τοξινών ή τις προτιμήσεις του ξενιστή (Mule et al., 2005). Όλες οι παραπάνω μέθοδοι είναι πολλά υποσχόμενες και οι δυνατότητες τους μπορούν να αυξηθούν, κάτι που απαιτεί περισσότερη έρευνα, μελέτη και ευαισθητοποίηση.

Συμπληρωματικά, όσον αφορά τους έννομους κανονισμούς, που αφορούν τις μυκοτοξίνες, έχουν καθιερωθεί σε τουλάχιστον 15 χώρες, μεταξύ των οποίων είναι και η Αφρική, ούτως ώστε να προστατευτούν οι καταναλωτές από τις βαριές επιπτώσεις των μυκοτοξινών στην υγεία τους. Τα ανθρώπινα τρόφιμα μπορούν να περιλαμβάνουν έως και 4-30ppb αφλατοξίνης, ανάλογα και με τη χώρα, που βρίσκεται υπό εξέταση. Επί παραδείγματι, στις ΗΠΑ, το ανώτατο όριο υπολειμμάτων αφλατοξίνης, που επιτρέπεται για ανθρώπινη κατανάλωση είναι 20μg/kg, ενώ στην Ευρωπαϊκή Ένωση υπολογίζεται μόλις στο 4μg/kg (FDA, 2004, EC, 2006). Ένας από τους ιδιαίτερα

σημαντικούς μελλοντικούς στόχους είναι η δημιουργία παρόμοιων ορίων και νομοθεσιών σε όλες τις χώρες και ιδιαίτερα, στις αναπτυσσόμενες και σε εκείνες, που μαστίζονται συχνά από μολύνσεις μυκοτοξινών.

Τέλος μια πολύ σημαντική και μακροπρόθεσμη στρατηγική παρέμβασης, όπως έχει ήδη υποστηριχθεί από τον WHO (2006) είναι η επιτήρηση των προϊόντων και η ευαισθητοποίηση των πολιτών. Είναι επιτακτική ανάγκη για τις αφρικανικές χώρες να ενισχύσουν την εθνική επιτήρηση τους, να αυξήσουν της επιθεωρήσεις τροφίμων και ζωοτροφών, για να διασφαλιστεί η ασφάλεια των τροφίμων και να εφαρμόσουν πρακτικές τοπικής εκπαίδευσης και αρωγής, ούτως ώστε να εξασφαλιστεί ότι τα σιτηρά, τα τρόφιμα και οι ζωοτροφές συλλέγονται σωστά, αποξηραίνονται πλήρως και αποθηκεύονται σε κατάλληλες συνθήκες. Η επίγνωση της ύπαρξης και της λειτουργίας των μυκοτοξινών και των κινδύνων, στους οποίους θέτουν την υγεία των ανθρώπων και των ζώων γίνεται μέσω κρατικών φορέων, ιδιωτικών οργανισμών, μη κυβερνητικών οργανισμών, εθνικών δικτύων μέσω ενήμερωσης όπως ως ραδιόφωνα και τηλεοπτικά προγράμματα, καθώς και μέσω εφημερίδων και περιοδικών. Θα μπορούσαν ακόμη να προγραμματιστούν και σεμινάρια και εργαστήρια ως δίοδοι ανταλλαγής και διάδοσης πληροφοριών, μεταξύ των ερευνητών και του πληθυσμού αντίστοιχα.

Τέτοιες εκδηλώσεις χρησιμεύουν επίσης ως αφορμή για την αξιολόγηση των εργασιών του παρελθόντος και του παρόντος και για να καθοριστούν και να ενισχυθούν τομείς μελλοντικών μελετών. Ο WHO (2006), έχει θέσει σε εφαρμογή σχέδια, για να επικεντρωθεί σε έργα που θα διεξαχθούν στο πεδίο παραγωγής των τροφίμων και στην ενίσχυση της επιτήρησης, της ευαισθητοποίησης και της εκπαίδευσης των καταναλωτών σε θέματα, που σχετίζονται με τις μυκοτοξίνες, στην Αφρική μεταξύ άλλων. Είναι επιτακτική ανάγκη η κριτική αξιολόγηση των στρατηγικών παρέμβασης,

προκειμένου να ληφθούν υπόψη η βιωσιμότητα, η πολιτιστική αποδοχή, η οικονομική σκοπιμότητα, οι ηθικές συνέπειες και η συνολική αποτελεσματικότητα του δυναμικού παρέμβασης γενικά.

Αξίζει επίσης να σημειωθεί, μια συνάντηση ορισμένων ειδικών στα προβλήματα, που σχετίζονται με τις αφλατοξίνες και ιδιαίτερα στην Αφρική, η οποία διεξήχθη το 2005. Οι ειδικοί λαμβάνοντας υπόψη τις προκλήσεις και τις τρέχουσες ανάγκες, έκαναν ορισμένες συστάσεις που θα μπορούσαν να συμβάλουν καθοριστικά στην αντιμετώπιση ή και τη μείωση της μόλυνσης από μυκοτοξίνες στην ήπειρο της Αφρικής. Στη διαβούλευση επισημάνθηκε ότι, η επίτευξη μείωσης και ελέγχου των μυκοτοξινών εξαρτάται σημαντικά από τις συντονισμένες προσπάθειες όλων των παραγόντων, που λαμβάνουν μέρος στην αλυσίδα παραγωγής τροφίμων. Ως εκ τούτου, οι πολύ-επιστημονικές προσεγγίσεις είναι κρίσιμες. Προτάθηκε ακόμα η συνέχιση της ευαισθητοποίησης, για τις μυκοτοξίνες ως κυρίαρχο θέμα δημόσιας υγείας, ενώ ακόμη συζητήθηκε η ενίσχυση του εργαστηρίου και η επιτήρηση, αλλά και η δημιουργία συστημάτων έγκαιρης προειδοποίησης. Οι συμμετέχοντες εντόπισαν επίσης αρκετές ερευνητικές ανάγκες, μεταξύ των οποίων ήταν η ανάλυση κόστους-οφέλους των παρεμβάσεων και η έρευνα για την εμφάνιση μυκοτοξινών στα τρόφιμα. Επιπλέον, υπάρχουν σημαντική ανάγκη για αποτελεσματική, οικονομικά αποδοτική δειγματοληψία και αναλυτικές μέθοδοι, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανίχνευση μυκοτοξινών σε αναπτυσσόμενες χώρες (WHO, 2006).

6.3 Συμπέρασμα

Οι μύκητες μπορούν να δράσουν στην υγεία του ανθρώπου και των θηλαστικών με πολλούς διαφορετικούς τρόπους, όμως μια από τις πιο σημαντικές ασθένειες μυκητιακής αιτιολογίας, που έχει απασχολήσει τους επιστήμονες ανά τον κόσμο και το χρόνο είναι η μυκοτοξίκωση. Ο όρος μυκοτοξίνες είναι τεχνητός και αναφέρεται στους

τοξικούς αυτούς μεταβολίτες, που δρουν στα φυτά και στα σπονδυλωτά, ενώ παρουσιάζουν μεγάλη ετερογένεια. Οι μυκοτοξίνες, όπως αναλύθηκε ανωτέρω, διαθέτουν περίπλοκες δραστηριότητες στα διάφορα είδη, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται καρκινογένεση, ανοσοκαταστολή, παρεμπόδιση παραγωγής πρωτεϊνών, ακόμα και μεταβολικά σύνδρομα και θάνατο. Ταυτόχρονα πολύ συχνά οι οικονομικές συνέπειες από την καταστροφή των συγκομιδών είναι επίσης σοβαρές. Παρόλα αυτά, μέσα από τη βιβλιογραφική ανασκόπηση καθίσταται καταφανές ότι τα μηρυκαστικά ζώα, διαθέτουν μια σχετική αντοχή απέναντι στις δυσμενείς επιπτώσεις των μυκοτοξινών. Αυτή η αντοχή και ο τρόπος προσαρμογής των ζώων αυτών παρουσιάζουν αρκετό ενδιαφέρον και θα ήταν σημαντικό να αποτελέσουν το θέμα μελλοντικών ερευνών, αναλύοντας τα μεταβολικά μονοπάτια τους και εξετάζοντας όλους τους παράγοντες, που παίρνουν μέρος σε αυτά. Τα ευρήματα από τέτοιες μελέτες μπορεί να οδηγήσουν σε σημαντικές βιολογικές ανακαλύψεις, αλλά και να διευκολύνουν την αντιμετώπιση της εξάπλωσης και των επιπτώσεων των μυκοτοξινών σε όλο τον κόσμο. Ταυτόχρονα, ενώ οι μυκοτοξίνες έχουν προσδιοριστεί και από παγκόσμιους οργανισμούς ως καρκινογόνοι παράγοντες, ορισμένες από αυτές, όπως η ωχρατοξίνη Α, η οποία μάλιστα φαίνεται να έχει δυνατότητα να προκαλέσει νεοπλασματικά σύνδρομα, δεν διερευνώνται και δεν αναλύονται επαρκώς. Παράλληλα, τα νομοθετικά πλαίσια και οι κανονισμοί σε παγκόσμιο επίπεδο δεν έχουν ρυθμιστεί με τέτοιο τρόπο, ώστε να περιλαμβάνουν μέτρα και προφυλάξεις εναντίον όλων των διαφορετικών μυκοτοξινών. Ο μόνος τρόπος για να αυξηθούν οι γνώσεις σε σχέση με τις μυκοτοξίνες, να διεγερθεί γόνιμα η ευαισθητοποίηση των ανθρώπων και να καθοριστούν οι αναγκαίες και απαραίτητες ρυθμιστικές δράσεις και κανονισμοί είναι μέσω της συνεχούς ερευνητικής μελέτης.

Βιβλιογραφία

- Abarca M.L., Braugulat M.R., Castella G., Cabanes F.J. (1994). *Ochratoxin A production by strains of Aspergillus*. *App. Env. Microbiol.*, 60: 2650-2652.
- Alshannaq A, Yu JH. (2017). Occurrence, Toxicity, and Analysis of Major Mycotoxins in Food. *Int J Environ Res Public Health*. 13;14(6):632.
- Amaral J. (2006). *Characterization of several hazelnut (Corylusavellana L.) cultivars based in chemical, fatty acid and sterol composition*. *European Food Research and Technology*, ; 222(3):274-280.
- Amyot, J., (1983). *Social and Economic Aspects of Dryer Use for Paddy and Other Agricultural Produce in Thailand*. Chulalongkorn University Social Research Institute and International Development Research Center.
- Adl S.M., Simpson A.G.B., Lane C.E. (2012) *The revised classification of eukaryotes*. *J Eukaryot Microbiol* 59:429–493
- Aroyeun, S.O., Adegoke, G.O., (2007). *Reduction of ochratoxin A (OTA) in spiked cocoa powder and beverage using aqueous extracts and essential oils of Aframomum danielli*. *Afr. J. Biotechnol.* 6, 612–616.
- Avantaggio, G., Quaranta, F., Desidero, E., Visconti, A., (2002). *Fumonisin contamination of maize hybrids visibly damaged by Sesamia*. *J. Sci., Food Agric.* 83, 13–18
- Awuah, R.T., Ellis, W.O., (2002). *Effects of some groundnut packaging methods and protection with ocimum and syzygium powders on kernel infection by fungi*. *Mycopathologia* 154, 26–29.
- Bacon, C.W., Yates, I.E., Hinton, D.M., Meredith, F., (2001). *Biological control of Fusarium moniliforme in maize*. *Environ. Health Perspect.* 109, 325–332
- Barr DJS (1992) *Evolution and kingdoms of organisms from the perspective of a mycologist*. *Mycologia* 84:1–8

- Bayman, P., Baker, J.L., Mahoney, N.E., (2002)a. *Aspergillus on tree nuts: incidence and associations*. Mycopathologia 155, 161–169.
- Bayman, P., Baker, J.L., Doster, M.A., Michailides, T.J., Mahoney, N.E., (2002)β. *Ochratoxin production by the Aspergillus ochraceus group and Aspergillus alliaceus*. Applied and Environmental Microbiology 68, 2326–2329
- Benitez, T., Ana, M., Rincon, M., Carmen, L.A., Codon, C., (2004). *Biocontrol mechanisms of Trichoderma strains*. Int. Microbiol. 7, 249–260
- Bennett J. W. , Klich M. (2003). *Mycotoxins*. Clinical Microbiology Reviews 16:497-516.
- Bennett, J.W., (1987). *Mycotoxins, mycotoxicoses, mycotoxicology and mycopathology*. Mycopathologia 100, 3–5.
- Bennett, J. W., and Klich, M. (2003). *Mycotoxins*. Clin. Microbiol. Rev. 16, 497–516.
- Bird, C., (2000). *Detecting and Controlling Mycotoxins in Petfoods*. Technical Symposium on Mycotoxins. Alltech, Inc., Nicholasville, KY.
- Bocacci P, Botta R. (2009). *Investigating the origin of hazelnut (Corylusavellana L.) cultivars using chloroplast microsatellites.*, Genet Resour Crop Evol 56(6): 851-859.
- Bodine, A.B., Fisher, S.F., Gangjee, S., (1984). *Effect of aflatoxin B1 and major metabolites on phytohemagglutinin stimulated lymphoblastogenesis of bovine lymphocytes*. J. Dairy Sci. 67, 110–114.
- Bondy G.S., Pestka J.J. (2000) *Immunomodulation by fungal toxins*. J Toxicol Environ Health Part B 3(2):109–143.
- Bryden,W. L., Logrieco,A., Abbas, H. K., Porter, J. K., Vesonder, R. F., Richard, J. L., and Cole, R. J., (2001), *Other significant Fusarium mycotoxins*, in: *Fusarium*, APS Press, St. Paul, MN, pp. 360-392.
- Bullerman L.B., Schroeder L. L, Park K. Y. (1984) *Formation and Control of Mycotoxins in Food* .J. Food Prot. 47 637

- Caligiani A., Coisson J.D., Travaglia F, Acquotti D., Palla G., Palla, L., Arlorio M. (2014). *Application of 1H NMR for the characterisation and authentication of “Tonda Gentile Trilobata” hazelnuts from Piedmont (Italy)*. Food Chemistry , 148, 77-85.
- Carlile M.J., Watkinson S.C., Gooday G.W. (2001). *The Fungi*. 2nd ed. Academic Press, San Diego
- Casegnaro, M., Wild, C., (1995). *IARC activities in mycotoxin research*. Nat. Toxins 3, 327–331
- CAST, (2003). *Mycotoxins: Risks in Plant, Animal and Human Systems. Report No. 139*. Council for Agricultural Science and Technology, Ames, Iowa, USA
- Chen C.Y., Milbury P.E., Lapsley K., Blumberg J.B. (2005). *Flavonoids from almond skins are bioavailable and act synergistically with vitamins C and E to enhance hamster and human LDL resistance to oxidation*. J Nutr 135:1366–1373
- Choudhary, P.L., Sharma, R.S., Borkhataria, V.N., Desai, M.C., (1998). *Effect of feeding aflatoxin B1 on feed consumption through naturally contaminated feeds*. Ind. J. Anim. Sci. 68, 400–401.
- Chu F.S., Li G.Y. (1994). *Simultaneous occurrence of Fuminosin B1 and other mycotoxins in moldy corn collected from the People's Republic of China in regions with high incidence of esophageal cancer*, App. Env. Microbiol. 60: 847-852.
- Ciemniewska-Zytkiewicz H., Verardo V., Pasini, F. (2011). *Determination of lipid and phenolic fraction in two hazelnut (Corylusavellana L.) cultivars grown in Poland*. Food Chem. ; 168: 615-622.
- Cleveland, T.E., Dowd, P.F., Desjardins, A.E., Bhatnagar, D., Cotty, P.J., (2003). *United States Department of Agriculture–agricultural research service on pre-harvest prevention of mycotoxins and mycotoxigenic fungi in US crops*. Pest Manage. Sci. 59, 629– 642.

Cook, W.O., Richard, J.L., Osweiler, G.D., Trampel, D.W., (1986). *Clinical and pathologic changes in acute bovine aflatoxicosis: rumen motility and tissue and fluid concentrations of aflatoxins B1 and M1*. Am. J. Vet. Res. 47, 1817–1825.

Cosmulescu S, Botu M, Trandafir I. (2013). *The Mineral Source for Human Nutrition of Nuts in Different Hazelnut (CorylusavellanaL.) Cultivars*. Bot HortiAgrobo ; 41(1):250-254.

Cullen, J.M., Newberne, P.N., (1994). *Acute hepatotoxicity of aflatoxins*. Academic Press, San Diego, pp. 3–26.

Cundliffe E., Davies J.E. (1977) *Inhibition of initiation, elongation, and termination of eukaryotic protein synthesis by trichothecene fungal toxins*. Antimicrob Agents Chemother 11(3):491–499

Devegowda, G., Castaldo, D., (2000). *Mycotoxins: hidden killers in pet foods. Is there a solution? In: Technical Symposium on Mycotoxins*. Alltech, Inc., Nicholasville, KY

Dhand, N.K., Joshi, D.V., Jand, S.K., (1998). *Aflatoxins in dairy feeds/ ingredients*. Ind. J. Anim. Nutr. 15, 285–286

Dicostanzo, A., Johnston, L.W.H., Murphy, M., (1996). *A review of the effects of molds and mycotoxins in ruminants*. Prof. Anim. Sci. 12, 138–150.

Diekman, M.A., Green, M.L., (1992). *Mycotoxins and reproduction in domestic livestock*. J. Anim. Sci. 70, 1615–1627

D’Mello, J.P.F., MacDonald, A.M.C., (1997). *Mycotoxins*. Anim. Feed Sci. Technol. 69, 155–166.

DmytryshynSL, Dalai AK, ChaudhariST, MishraHK, Reaney MJ. (2004). *Synthesis & characterization of vegetable oil derived ester: evaluation for their dieses additive properties*. Bioresource Technol.;55-64.

Eaton, D.L., Gallagher, E.P., (1994). *Mechanisms of aflatoxin carcinogenesis*. Annual Review of Pharmacology and Toxicology 34, 135–172

Ellner, F. M., (2002), *Mycotoxins in potato tubers infected by Fusarium sambucinum*, *Mycotoxin Res.* 18:57-61.

Fandohan, P., Gnonlonfin, B., Hell, K., Marasas, W.F.O., Wingfield, M.J., (2005). *Natural occurrence of Fusarium and subsequent fumonisin contamination in preharvest and stored maize in Benin, West Africa.* *Int. J. Food Microbiol.* 99, 173–183.

Fernandez, A., Belio, R., Ramos, J.J., Sanz, M.C., Saez, T., (1997). *Aflatoxins and their metabolites in the tissues, faeces and urine from lambs feeding on an aflatoxin-contaminated diet.* *J. Sci., Food Agric.* 74, 161–168

Ferrante, M., Sciacca, S., & Conti, G. O. (2012). *Carcinogenic role of food by mycotoxins and knowledge gap.* In M. Pesheve, M. Dimitrov, & T. S. Stoycheva (Eds.), *Carcinogenic* (pp. 134-162). London: InTech

Feldman E. B. (2002). *The scientific evidence for a beneficial health relationship between walnuts and coronary heart disease.* *J Nutr* ; 132: 1062S-1101S.

Food and Drug Administration (FDA), (2004). *Compliance Guidance Manual.*

Geiser D.M., Aoki T., Bacon C.W., Baker S.E., Bhattacharyya M.K., Brandt M.E., Brown D.W., Burgess L.W., Chulze S., Coleman J.J., et al. (2013), *One fungus, one name: Defining the genus Fusarium in a scientifically robust way that preserves longstanding use.* *Phytopathology.* 103:400–408.

Gelderblom WCA, Jaskiewicz K, Marasas WFO, Thiel PG, Horak RM, Vleggaar R, Kriek NP (1988) *Fumonisinins – novel mycotoxins with cancer promoting activity produced by Fusarium moniliforme.* *Appl Environ Microbiol*,54: 1806–11.

Gelderblom WC, Kriek NP, Marasas WF, Thiel PG (1991) *Toxicity and carcinogenicity of the Fusarium moniliforme metabolite, fumonisin B1, in rats.* *Carcinogenesis*, 12: 1247–51.

Gilbert, J Anklam, E. (2002). *Validation of analytical methods for determining mycotoxins in foodstuffs.* *Trends in Analytical Chemistry*, 21: 468–486.

- Goldblatt LA (1969). *Aflatoxins*, Academic Press New York, pp. 1-40.
- Goswami R. S., Kistler H. C. (2004) *Heading for disaster: Fusarium graminearum on cereal crops*. *Mol Plant Pathol* 5(6):515–525.
- Haschek, W. M., & Voss, K. A. (2013). *Mycotoxins, Hanchek and Rousseaux's handbook of toxicologic pathology* (30 ed., pp. 1187-1258). Unites States of America: Elsevier Academic Press.
- Harvey, R.B., Edrington, T.S., Kubena, L.F., Elissalde, M.H., Rottinghaus, G.E., (1995). *Effect of aflatoxin and diacetoxyscirpenol in ewe lambs*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 54, 325–330.
- Howard PC, Eppley RM, Stack ME, Warbritton A, Voss KA, Lorentzen RJ, Kovach RM, Bucci TJ (2001) Fumonisin B1 carcinogenicity in a two-year feeding study using F344 rats and B6C3F1 mice. *Environ Health Perspect* 109 (Suppl. 2): 277–82.
- Hussein, H.S., Brasel, J.M., (2001). *Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals*. *Toxicology* 167, 101–134.
- Hussain S, Asi MR, Iqbal M, Khalid N, Wajih-Ul-Hassan S, Ariño A. (2020). Patulin mycotoxin in mango and orange fruits, juices, pulps, and jams marketed in Pakistan. *Toxins*. 12:52.
- International Agency for Research on Cancer (IARC), (1993). *Ochratoxin A. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins*, vol. 56. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France, pp. 489–521
- Ismaiel, A., & Papenbrock, J. (2015). *Mycotoxins: Producing Fungi and Mechanisms of Phytotoxicity*. *Agriculture*, 5(3), 492–537.

- Jambazian P.R., Haddad E., Rajaram S., Tanzman J., Sabate J. (2005). *Almonds in the diet simultaneously improve plasma alfatocopherol concentrations and reduce plasma lipids*. J Am Diet Assoc 105:449–454
- Jame B. (2005). *Public Awareness of Aflatoxin and Food Quality Control in Benin*. International Institute of Tropical Agriculture.
- Jarvis, B.B., (2002). *Chemistry and toxicology of molds isolated from water-damaged buildings. Mycotoxins and food safety*. Adv. Exp. Med. Biol. 504, 43–52.
- Jenkins D.J., Kendall C.W., Marchie A., Faulkner D.A., Wong J.M., de Souza R. (2005). *Direct comparison of a dietary portfolio of cholesterol-lowering foods with a statin in hypercholesterolemic participants*. Am J Clin Nutr 81:380–387
- Jiang, Y., Jolly, P.E., Ellis, W.O., Wang, J.S., Phillips, T.D., Williams, J.H., (2005). *Aflatoxin B1 albumin adduct levels and cellular immune status in Ghanaians*. Int. Immunol. 17, 807–814
- Jones, E.R.H., Lowe, G., (1960). *The biogenesis of tricothecen*. Chem. Soc. J. 63, 3959–3962.
- Kang Z., Buchenauer H. (1999). Immunocytochemical localization of fusarium toxins in infected wheat spikes by *Fusarium culmorum*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 55:275–288.
- Kornsteiner KM, Wagner KH, ElmadfaI. (2013). *Phytosterol content and fatty acid pattern of ten different nut types*. Int J Vitam Nutr Res ; 83(5):263-70.
- Krska, R., Schubert-Ullrich, P., Molinelli, A., Sulyok, M., MacDonald, S., Crews, C. (2008) *Mycotoxin analysis: An update, Food Additives & Contaminants: Part A*, 25:2, 152-163.
- Lanyasunya, T.P., Wamae, L.W., Musa, H.H., Olowofeso, O., Lokwaleput, I.K., (2005). *The risk of mycotoxins contamination of dairy feed and milk on smallholder dairy farms in Kenya*. Pak. J. Nutr. 4, 162–169.
- Lewis, L., Onsongo, M., Njapau, H., Schurz-Rogers, H., Lubber, G., Kieszak, S., Nyamongo, J., Backer, L., Dahiye, A.M., Misore, A., Decoet, K., Rubin, C., (2005). *Aflatoxin contamination*

of commercial maize products during an outbreak of acute aflatoxicosis in Eastern and Central Kenya. Environ. Health Perspect. 113, 1763–1767

Luongo, L., Galli, M., Corazza, L., Meekes, E., Haas, L., Plas, L.C., Kohl, J., (2005). *Potential of fungal antagonists for bio-control of Fusarium spp. in wheat and maize through competition in crop debris.* *Biocontrol Sci. Technol.* 15, 229–242.

Marasas, W.F.O., Riley, R.T., Hendricks, K.A., Stevens, V.L., Sadler, T.W., Gelineau-van Waes, J., Missmer, S.A., Cabrera, J., Torres, O., Gelderblom, W.C.A., Allegood, J., Martinez, C., Maddox, J., Miller, J.D., Starr, L., Sullards, M.C., Roman, A., Voss, K.A., Wang, E., Merrill, A.H., (2004). *Fumonisin disrupt sphingolipid metabolism, folate transport, and neural tube development in embryo culture and in vivo: a potential risk factor for human neural tube defects among populations consuming fumonisin contaminated maize.* *J. Nutr.* 134, 711–716.

Månsson M, Klejnstrup ML, Phipps RK, Nielsen KF, Frisvad JC, Gotfredsen CH, Larsen TD (2010) Isolation and NMR characterization of fumonisin B2 and a new fumonisin B6 from *Aspergillus niger*. *J Agr Food Chem*, 27: 949–53.

Masoud, W., Kaltoft, C.H., (2006). *The effects of yeasts involved in the fermentation of coffee arabica in East Africa on growth and ochratoxin A (OTA) production by Aspergillus ochraceus.* *Int. J. Food Microbiol.* 106, 229–234.

Masoumi M, Mehrabian S, Rahimi MK, Bagheri F, Masoumi H. (2014) *Evaluation of Antimutagenic and Anticarcinogenic Effects of Phenolic Compounds in Fresh and Dried Kernels of Pistachio, Hazelnut and Walnut.* *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* ;5(5):1311-1319.

Matthies, A., Buchenauer, H., (2000). *Effect of tebuconazole (folicur) and prochloraz (sportak) treatments on Fusarium head scab development, yield and deoxynivalenol (DON) content in grains of wheat following artificial inoculation with Fusarium culmorum.* *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 1, 33–52.

- Martin R. J, Lauren D. R., Smith W. A., Jensen D. J., Deo B. & Douglas J. A. (2006). *Factors influencing silymarin content and composition in variegated thistle (Silybum marianum)*, New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science
- Milicevic, D., Juric, V., Stefanovic, S., Jovanovic, M., Jankovic, S., (2008). *Survey of slaughtered pigs for occurrence of ochratoxin A and porcine nephropathy in Serbia*. Int. J. Mol. Sci. 9, 2169– 2183.
- Moore G.S., Jaciow DM (1979). *Mycology for the Clinical Laboratory*. Reston Publishing Company Virginia. pp. 161-198.
- Moore- Landecker E. (1996). *Fundamentals of the Fungi*. Prentice Hall International Inc., New Jersey
- Miller, J.D (1995). *Fungi and mycotoxins in grain: Implications for stored product research*. J. Stored Prod. Res. , 31, 1–16
- Mule, G., Gonzalez-jaen, M.T., Hornok, L., Nicholson, P., Waalwijk, C., (2005). *Advances in molecular diagnosis of toxigenic Fusarium species*. Food Addit. Contam. 22, 16–323.
- Multon JL (1988). *Preservation and Storage of Grains, Seeds and their By-Products*, Paris. p. 51.
- Munkvold, G.P., (2003). *Cultural and genetic approaches to managing mycotoxins in maize*. Ann. Rev. Phytopathol. 41, 99–116
- Nielsen, K. F., and Thrane, U., (2001), *Fast methods for screening of trichothecenes in fungal cultures using gas chromatography-tandem mass spectrometry*, J. Chromatogr. A 929:75-87.
- Orem, A., Balaban, F., Kural B.V., Orem C., Turhan I. (2008). *Hazelnut consumption protect low density lipoprotein (LDL) against oxidation and decrease plasma oxidized LDL level*. In: *Proceedings of the 77th Congress of the European Atherosclerosis Society, Istanbul, Turkey*; : 215.

Ozkutlu F., Dogru Y.Z., Ozenc N., Yazıcı G., Turan M., Akcay F. (2011) *The importance of Turkish hazelnut trace and heavy metal contents for human nutrition*. J Soil Sci Environ Manag ;2:25-33.

Palmé A.E., Vendramin G.G. (2002). *Chloroplast DNA variation, Postglacialdecolonization and hybridization in hazel, Corylusavellana*. Mol Ecol ; 11:1769-1779

Paul, P.S., Johnson, D.W., Mirocha, C.J., Soper, F.F., Thoen, C.C., Muscoplat, C.C., Weber, A.F., (1977). *In vitro stimulation of bovine peripheral blood lymphocytes: suppression of phytomitogen and specific antigen lymphocyte responses by aflatoxin*. Am. J. Vet. Res. 38, 2033–2035.

Peterson, S.W., Ito, Y., Horn, B.W., Goto, T., (2001). *Aspergillus bombycis, a new aflatoxigenic species and genetic variation in its sibling species, A. nomius*. Mycologia 93, 689–703. Peraica, M., Radic, B., Lucic, A., Pavlovic, M., 1999. Toxic effects of mycotoxins in humans. Bull. World Health Org. 77, 754–763.

Pestka J.J. (2010) *Deoxynivalenol-induced proinflammatory gene expression: mechanisms and pathological sequelae*. Toxins 2(6):1300–1317.

Phillips S., Wareing, P., Ambika, D., Shantanu, P., Medlock, V., (1996). *The mycoflora and incidence of aflatoxin, zearalenone and sterigmatocystin in dairy feed and forage samples from Eastern India and Bangladesh*. Mycopathologia 133, 15–21.

Pinto V.E.F., Vaamonde G., Brizzio S.B., Apro N. (1991). *Aflatoxin production in soybean varieties grown in Argentina*. J. Food Prot., 54: 542-545

Pitt J. I., Basilico J. C., Abarca M. L., Lopez C. (2000) *Mycotoxins and toxigenic fungi*. Medical Mycology 2000, 38, Supplement 1, 41–46

Placinta, C.M., D’Mello, J.P.F., MacDonald, A.M.C., (1999). *A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with Fusarium mycotoxins*. Anim. Feed Sci. Technol. 78, 21–37.

- Poor, M., Kunsagi-Mate, S., Sali, N., Koszegi, T., Szente, L., and Peles-Lemli, B. (2015). Interactions of zearalenone with native and chemically modified cyclodextrins and their potential utilization. *J. Photochem. Photobiol. B* 151, 63–68.
- Raghukumar, Seshagiri (2017). *Fungi in Coastal and Oceanic Marine Ecosystems // Fungi: Characteristics and Classification.* , 10.1007/978-3-319-54304-8(Chapter 1), 1–13.
- Ramos, J.J., Fernandez, A., Saez, T., Sanz, M.C., Marca, M.C., (1996). *Effect of aflatoxicosis on blood mineral constituents of growing lambs.* *Small Ruminant Res.* 21, 233–238.
- Ranjan, K.S., Sinha, A.K (1991). *Occurrence of mycotoxigenic fungi and mycotoxins in animal feed from Bihar, India.* *J. Sci., Food Agric.* 56, 39–47.
- Rheeder JP, Marasas WFO, Vismer HF (2002) Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species. *Appl Environ Microbiol* 68: 2101–5
- Ros E, Mataix J. (2006) *Fatty acid composition of nuts & implications for cardiovascular health.* *British Journal of Nutrient* ; 96:S29-S35.
- Rudolf Krska , Patricia Schubert-Ullrich , Alexandra Molinelli , Michael Sulyok , Susan MacDonald & Colin Crews (2008) *Mycotoxin analysis: An update,* *Food Additives and Contaminants,* 25:2, 152-163
- Russell, L., Cox, D.F., Larsen, G., Bodwell, K., Nelson, C.E., (1991). *Incidence of molds and mycotoxins in commercial animal feed mills in seven midwestern states 1988–1989.* *J. Anim. Sci.* 69, 5–12.
- Sabeti H. (2006). *Jungle, Trees & shrub in Iran.* 4th edition, Yazd University Press, , p806
- Samanta, Indranil (2015). *Veterinary Mycology // General Characteristics of Fungi.*
- Schütt, F., Nirenberg, H. I., and Deml, G., (1998). *Moniliformin production in the genus Fusarium,* *Mycotoxin Res.* 14:35-40.
- Seeley, T.D., Nowicke, J.W., Meselson, M., Guillemin, J., Akrotanakul, P., (1985). *Yellow rain.* *Sci. Am.* 253, 128–137.

- Shane, S.H., (1994). *Economic issues associated with aflatoxins*. The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance. Academic Press, San Diego, pp. 513–527.
- Shephard, G.S., (2006). *Mycotoxins in the context of food risks and nutrition issues*. The Mycotoxin Fact Book. Wageningen Academic, Wageningen, pp. 21–36.
- Sinha K.K. (1993). *Mycotoxins*. ASEAN Food J. 8: 87-93
- Skrinjar, M., Danev, M., Dimic, G., (1995). *Investigation on the presence of toxigenic fungi and aflatoxins in raw milk*. Acta Aliment. 24, 395–402.
- Smith J.E., Moss M.O. (1985). *Mycotoxins. Formation, Analysis and Significance*. John Wiley & Sons, Chichester.
- Squire, R.A., (1981). *Ranking animal carcinogens: a proposed regulatory approach*. Science 214, 877–880.
- Srivastava P, Malviya R. (2011). Sources of pectin, extraction and its applications in pharmaceutical industry – an overview. *Indian J Nat Prod Resour.* 2:10–8.
- Talbot P. H. B. (1971). *Principles of Fungal Taxonomy*. Macmillan London, pp. 3-10
- Tamm, C., Breitenstein, W., (1984). *The biosynthesis of mycotoxins*. Mycotoxins: A Study in Secondary Metabolism. Academic Press, New York, pp. 69–91.
- Tey SL, Brown RC, Chisholm AW, Delahunty CM, Gray AR, Williams SM. (2011) *Effects of different forms of hazelnuts on blood lipids and α -tocopherol concentrations in mildly hypercholesterolemia individuals*. Eur J Clin Nutr.; 65(1):117-24.
- Thanaboripat D., Sukchareon O. (1997). *Survey of aflatoxin in human breast milk*. J. KMITL, 5: 1-5.
- Thrane, U., Adler, A., Clasen, P.-E., Galvano, F., Langseth, W., Lew, H., Logrieco, A., Nielsen, K. F., and Ritieni, A., (2004), *Diversity in metabolite production by *Fusarium langsethiae*, *Fusarium poae*, and *Fusarium sporotrichioides**, Int. J. Food Microbiol. 95:257-266.

- Thanushree MP, Sailendri D, Yoha KS, Moses JA, Anandharamakrishnan C. (2019). Mycotoxin contamination in food: an exposition on spices. *Trends Food Sci Technol.* 93:69–80.
- Trenholm, H.L., Friend, D.W., Hamilton, R.M.G., Thompson, B.K., Hartin, K.E., 1(986). *Incedence and toxicology of deoxynivalenol as an emerging mycotoxin problem.* In: Proc. VI International Conf. on the Mycoses. Pan Amercian Health Organization, Washington, DC
- Tripathi K. D., (2013). *Essentials of medical Pharmacology.*7th ed., Jaypee Brothers Medical Publishers(P) LTD, New Delhi:,pp.492-494
- Turner, P., Sylla, A., Gong, Y., Diallo, M., Sutcliffe, A., Hall, A., Wild, C., (2005). *Reduction of exposure to carcinogenic aflatoxins by postharvest intervention measures in West Africa: a communitybased intervention study.* Lancet 365, 1950–1959.
- Van Egmond, H.P., (1989). *Aflatoxin M1: occurrence, toxicity, regulation.* In: Van Egmond, H.P. (Ed.), *Mycotoxins in Dairy Products.* Elsevier Applied Science, London, pp. 11–55
- Vasanthi, S., Bhat, R.V., (1998). *Mycotoxins in foods-occurrence, health and economic significance and food control measures.* Ind. J. Med. Res. 108, 212–224
- Wagacha, J.M., Muthomi, J.W., (2008). *Mycotoxin problem in Africa: current status, implications to food safety and health and possible management strategies.* Int. J. Food Microbiol. 124, 1–12
- Webster J., Weber R. W. S. (2007). *Introduction to Fungi.* Cambridge University press, New York
- Whelan J, Rust C (2006). *Innovative dietary sources of n-3 fatty acids.* Annual Review of Nutrition ; 26:75-103
- Williams, J., Phillips, T.D., Jolly, P.E., Stiles, J.K., Jolly, C.M., Aggarwal, D., (2004). *Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions.* Am. J. Clin. Nutr. 80, 1106–1122

Wild, C.P., Hudson, G.J., Sabbioni, G., Chapot, B., Hall, A.J., Wogan, G.N., Whittle, H., Montesano, R., Groopman, J.D., (1992). *Dietary intake of aflatoxins and the level of albumin-bound aflatoxin in peripheral blood in The Gambia, West Africa*. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 1, 229–234.

Wilkins, K., Nielsen, K.F., Din S.U. (2003), Patterns of volatile metabolites and nonvolatile trichothecenes produced by isolates of *Stachybotrys*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Trichothecium* and *Memnoniella*. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 10:162.

WHO. 2002. *Safety evaluation of certain mycotoxins in food*. Fifty-sixth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series 906. Geneva: World Health Organisation (WHO). Available: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_906.pdf. Accessed 10 July 2007

Yoshizawa, T., Yamashita, A., Luo, Y., (1994). *Fumonisin occurrence in corn from high- and low-risk areas for human esophageal cancer in China*. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 1626–1629.