

**ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΟΖΟΝΤΟΣ ΣΤΗΝ ΜΕΙΩΣΗ
ΤΩΝ ΜΥΚΟΤΟΞΙΝΩΝ ΣΕ ΚΑΡΥΚΕΥΜΑΤΑ ΚΑΙ
ΞΗΡΟΥΣ ΚΑΡΠΟΥΣ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ
ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΘΕΟΧΑΡΟΠΟΥΛΟΣ**

**ΚΑΛΑΜΑΤΑ
2013**

**ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΟΖΟΝΤΟΣ ΣΤΗΝ ΜΕΙΩΣΗ
ΤΩΝ ΜΥΚΟΤΟΞΙΝΩΝ ΣΕ ΚΑΡΥΚΕΥΜΑΤΑ ΚΑΙ
ΞΗΡΟΥΣ ΚΑΡΠΟΥΣ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ
ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΘΕΟΧΑΡΟΠΟΥΛΟΣ**

**Εξεταστική Επιτροπή : ΑΓΡΙΟΠΟΥΛΟΥ ΣΟΦΙΑ (επιβλέπουσα)
(μέλος)
(μέλος)**

**ΚΑΛΑΜΑΤΑ
2013**

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στη Καθηγήτρια κ. Αγριοπούλου Σοφία για την δυνατότητα που μου έδωσε να πραγματοποιήσω την πτυχιακή μου εργασία και για το πολύτιμο χρόνο που διέθεσε για την περάτωση της παρούσας εργασίας.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ακόμα, όλους του καθηγητές του Τεχνικού Εκπαιδευτικού Ιδρύματος Πελοποννήσου για τις πολύτιμες γνώσεις που μου προσέφεραν όλα αυτά τα χρόνια.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στον Κονταξή Γιώργο για την ανυπολόγιστη ηθική υποστήριξη του καθώς και για την συμβολή του στην ολοκλήρωση της μελέτης αυτής.

Τέλος, θέλω να εκφράσω ένα τεράστιο ευχαριστώ στην οικογένεια μου, για την στήριξη και την εμπιστοσύνη που μου έδειξε όλα αυτά τα χρόνια των σπουδών μου. Πέραν όμως από την πολύτιμη αυτή στήριξη, μου έδωσαν όλα τα εφόδια ώστε να γίνω ένας σωστός Άνθρωπος και αυτό είναι κάτι που δεν μαθαίνεται, αλλά μεταδίδεται.

Πίνακας Περιεχομένων

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	3
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	5
ABSTRACT.....	6
Σκοπός	7
1. Μυκοτοξίνες.....	8
1.1 Είδη μυκοτοξινών	10
1.2 Οχρατοξίνες.....	10
1.3 Τριχοθισίνες.....	12
1.4 Ζεαραλενόνες	13
1.5 Φουμονισίνες	14
2. Αφλατοξίνες.....	16
2.1 Διαχωρισμός των αφλατοξινών	16
2.2 Φυσικές και χημικές ιδιότητες αφλατοξινών	19
2.3 Βιολογικές επιδράσεις.....	21
2.4 Τοξικές, καρκινογόνες και μεταλλαξιγόνες ιδιότητες των αφλατοξινών 22	
2.5 Μέθοδοι ανίχνευσης σε ξηρούς καρπούς	23
2.6 Τρόποι ελέγχου των αφλατοξινών	24
2.7 Το πρόβλημα των αφλατοξινών στην Ελλάδα – αναλύσεις και έρευνα	24
2.8 Γενικοί κανονισμοί Ευρωπαϊκής Ένωσης και άλλων χωρών	26
3. Προσδιορισμός αφλατοξινών σε διάφορα προϊόντα ανά τον κόσμο	27
3.1 Φουντούκια	27
3.2 Ξηροί καρποί και αποξηραμένα φρούτα.....	28
3.3 Πάπρικα	29
3.4 Κελυφώδη φιστίκια	30
3.5 Μπαχαρικά.....	30
4. Χρήση όζοντος σε διαδικασίες επεξεργασίας τροφίμων	32
4.1 Το όζον ως χημικό στοιχείο	32
4.2 Μέθοδοι παραγωγής όζοντος (O ₃)	32
4.3 Φυσικές και χημικές ιδιότητες όζοντος (O ₃)	33
4.4 Οξειδοαναγωγικές ιδιότητες.....	34
4.5 Επίδραση όζοντος σε τρόφιμα.....	35
4.6 Όζον και ασφάλεια.....	36
4.7 Όζον και αφλατοξίνες.....	37
5. Ανάλυση επίδρασης O ₃ σε καρυκεύματα και ξηρούς καρπούς	38
5.1 Το κόκκινο πιπέρι	38
5.2 Πειραματική ανάλυση.....	39
5.3 Ανάλυση πειραματικών δεδομένων	41
5.4 Πειραματική εφαρμογή σε φιστίκια	42
5.5 Πειραματική εφαρμογή σε σπόρους καλαμποκιού	43
6. Επιδράσεις του όζοντος στον ανθρώπινο οργανισμό.....	45
Βιβλιογραφία.....	46

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι μυκοτοξίνες είναι μια κατηγορία τοξινών που συναντώνται στα τρόφιμα και που δημιουργούνται κυρίως από μύκητες του γένους *Aspergillus*, *Fusarium* και *Penicillium*. Οι μύκητες αυτοί εμφανίζονται στα τρόφιμα για διάφορους λόγους και σε διάφορα στάδια της παραγωγής και της επεξεργασίας τους. Οι μυκοτοξίνες που είναι τα άμεσα παράγωγά τους είναι μια γενική κατηγορία τοξινών την οποία την αποτελούν διάφορες ουσίες όπως οι τριχοθεσίνες, οι φουμονισίνες, οι οχρατοξίνες, οι ζεαραλενόνες και οι αφλατοξίνες.

Οι αφλατοξίνες είναι η κατηγορία των μυκοτοξινών που παρουσιάζει και το μεγαλύτερο ενδιαφέρον τόσο στην ανάλυση τους όσο και στους τρόπους πρόληψης και απομάκρυνσής τους από τα τρόφιμα. Ο λόγος που έχει δοθεί έμφαση στις συγκεκριμένες τοξίνες είναι οι έντονες αρνητικές επιδράσεις που έχουν στους ζωντανούς οργανισμούς και ιδιαίτερα στον άνθρωπο. Μελέτες που έχουν διεξαχθεί έχουν δείξει ότι οι συγκεκριμένες τοξίνες είναι ιδιαίτερα επιβλαβείς για την υγεία και είναι υπεύθυνες ακόμα και για την εμφάνιση καρκίνου. Η μόλυνση από το συγκεκριμένο είδος μπορεί να προξενήσει σοβαρά προβλήματα και να οδηγήσει ακόμη και στο θάνατο. Το γεγονός αυτό έχει δημιουργήσει την ανάγκη ύπαρξης μεθόδων ανίχνευσης των αφλατοξινών σε τρόφιμα και έχει οδηγήσει τους διεθνείς οργανισμούς δημόσιας υγείας να συντάξουν πίνακες ανώτατων ορίων εμφάνισης αφλατοξινών για τα διάφορα τρόφιμα. Επιπλέον έχει γίνει επιτακτική και η ανάγκη για την εύρεση μεθόδων απομάκρυνσης των υψηλών ποσοστών αφλατοξινών από τα τρόφιμα, με τέτοιο τρόπο ώστε να μην προκαλούν αλλοιώσεις στις οργανοληπτικές ιδιότητες των τροφίμων. Μια από αυτές τις μεθόδους που αναλύεται στην μελέτη αυτή είναι η επεξεργασία με την χρήση όζοντος η οποία τα τελευταία χρόνια έχει δώσει ενθαρρυντικά αποτελέσματα για την επίλυση του προβλήματος αυτού.

ABSTRACT

Mycotoxins are a group of toxins usually found in food and created by the presence of moulds *Aspergillus Fusarium* and *Penicillium*. These moulds are found in food for a variety of reasons and in several stages of production and food processing. Mycotoxins are the direct derivatives of these moulds and they form a larger group of toxins that includes several compounds such as trichothenes, fumonisins, ochratoxins, zearalenone and aflatoxins.

Aflatoxins are a group of mycotoxins that hold the greater interest. Their analysis, finding ways to prevent their appearance and removing them from food are matters that concern the scientific community. The reason that scientists focus mainly on aflatoxins is the intense effect they have on living organisms and especially on humans. Studies have shown that these particular toxins affect greatly human health and in some cases they are suspects even for carcinogenesis. Aflatoxin infection can lead to serious health issues and even lead to death. This particular fact alone has created the need for methods of detection of aflatoxins and has also led the international health associations to form lists of maximum limits of concentration of aflatoxins in groups of food. Another important issue that has posed a great deal of concern in the scientific communities is finding methods used to reduce the levels of aflatoxins without affecting their properties. Such a method that is described in this study is ozonation, a process that ozone is used to remove aflatoxins from certain compounds, which in the past few years has led to very promising results for the solution of this major issue.

Σκοπός

Η εργασία αυτή εκπονήθηκε στα πλαίσια του προγράμματος σπουδών της σχολής Τεχνολογίας Τροφίμων του ΤΕΙ Καλαμάτας, Η εργασία παραθέτει στοιχεία βασισμένα σε μελέτες που έχουν γίνει σχετικά με την επίδραση του όζοντος στη μείωση των μυκοτοξινών γενικότερα με μεγαλύτερη εστίαση στις αφλατοξίνες.

Η χρήση όζοντος στις προσπάθειες μείωσης των επιπέδων των τοξινών που παρουσιάζονται κατά την φύλαξη κυρίως γεωργικών προϊόντων όπως ξηροί καρποί, σιτηρά και μπαχαρικά είναι μια νέα μέθοδος που παρουσιάζει αρκετό ενδιαφέρον και ολοένα κερδίζει έδαφος σε σχέση με άλλες τεχνικές.

Στην εργασία αυτή αρχικά θα γίνει αναφορά στις μυκοτοξίνες γενικότερα και ειδικότερα στις αφλατοξίνες με σκοπό να μπορέσει ο αναγνώστης να κατανοήσει την επιτακτική ανάγκη μείωσής τους κατά την αποθήκευση των γεωργικών προϊόντων όπως άλλωστε προβλέπεται τόσο από τους διεθνείς όσο και από τους ευρωπαϊκούς κανονισμούς που αφορούν την δημόσια υγεία.

Επιπλέον θα αναλυθεί η μέθοδος απομάκρυνσης των αφλατοξινών σε ξηρούς καρπούς και καρυκεύματα με την χρήση όζοντος (O_3) και θα παρατεθούν τα αποτελέσματα εργαστηριακών ερευνών που έχουν διεξαχθεί για την μείωση των τοξινών αυτών.

1. Μυκοτοξίνες

Οι μυκοτοξίνες είναι δευτερογενείς μεταβολίτες που παράγονται από την εμφάνιση μούχλας σε τρόφιμα. Η παραγωγή τους μπορεί να λάβει χώρα σε διάφορα στάδια, από την καλλιέργεια πριν τη συγκομιδή, μετά τη συγκομιδή, κατά την αποθήκευση έως και την επεξεργασία υπό μεγάλο εύρος κλιματικών αλλαγών. Κατά κύριο λόγο παράγονται από μύκητες του γένους *Aspergillus*, *Fusarium* και *Penicillium*. Οι μυκοτοξίνες έχει αναφερθεί ότι προκαλούν καρκινογενέσεις, τερατογενέσεις και δερματικά προβλήματα. Ο ανθρώπινος οργανισμός μπορεί να εκτεθεί στις τοξίνες αυτές είτε άμεσα από κατανάλωση τροφών που έχουν προσβληθεί από τους μύκητες αυτούς είτε έμμεσα από κατανάλωση ζωικών προϊόντων που προέρχονται από ζώα τα οποία έχουν καταναλώσει τροφές που εμπεριέχουν τοξίνες.



Εικ. (1)

Η Καρποφορία Του Μύκητα *Aspergillus*

Το σύνδρομο που σχετίζεται με την κατανάλωση προϊόντων που περιέχουν μυκοτοξίνες από τον άνθρωπο αλλά και από τα ζώα ονομάζεται "μυκοτοξίκωση". Η μυκοτοξίκωση δεν είναι μια νέα πάθηση και μάλιστα στοιχεία για την ύπαρξή της έχουμε τόσο από τους αρχαίους χρόνους όσο και από τον μεσαίωνα. Ωστόσο οι μυκοτοξίνες δεν θεωρούνταν απειλή για την υγεία των ανθρώπων και των ζώων μέχρι το 1960 που έλαβε χώρα η ανακάλυψη της αφλατοξίνης. Μέχρι σήμερα

περισσότερες από 400 ουσίες έχουν απομονωθεί έχουν χωριστεί σε ομάδες και καταχωρηθεί ως μυκοτοξίνες. Από αυτές πάνω από 12 ομάδες ελέγχονται συχνά ως πιθανές απειλές για την δημόσια υγεία. Οι ομάδες που συναντώνται πιο συχνά σε τροφές είναι οι αφλατοξίνες και οι οχρατοξίνες, οι οποίες παράγονται κυρίως από τον μύκητα *Aspergillus*, οι τριχοθεσίνες, οι ζεαραλενόνες και οι φουμονισίνες οι οποίες παράγονται από τον μύκητα *Fusarium* και η Πατουλίνη που είναι παράγωγο του *Penicillium*. Οι μέθοδοι που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον έλεγχο των μυκοτοξινών είναι κυρίως προληπτικές και εστιάζουν στην προσπάθεια χρήσης σπόρων στους οποίους οι μύκητες εμφανίζονται σε πολύ χαμηλά επίπεδα, έλεγχο των εντόμων και των ασθενειών που μπορούν να παρουσιαστούν στα φυτά και με την εφαρμογή κατάλληλης άρδευσης. Επιπλέον, συγκεκριμένα η παραγωγή αφλατοξινών μπορεί να αποτραπεί με μεθόδους καλής συγκομιδής, αποξήρανσης και αποθήκευσης¹.

Στις μεθόδους προφύλαξης συμπεριλαμβάνονται και η ανάπτυξη αμυνών των φυτών μέσω γενετικής μηχανικής καθώς και χρήσης βιοελεγχόμενων παραγόντων οι οποίοι έχουν ως στόχο τα ρυθμιστικά γονίδια της παραγωγής μυκοτοξινών². Ωστόσο η πρόληψη δεν έχει πάντα αποτέλεσμα υπό συγκεκριμένες συνθήκες καλλιέργειας και αποθήκευσης. Για το λόγο αυτό όταν παρατηρηθεί ότι το προϊόν έχει προσβληθεί από μυκοτοξίνες θα πρέπει να εφαρμοστούν διαφορετικά μέτρα για να ελαττωθεί όσο το δυνατό περισσότερο ο κίνδυνος έκθεσης στους μύκητες αυτούς.

Στην περίπτωση που το προϊόν εκτεθεί σε τέτοιου είδους μύκητες άλλα μέτρα πρέπει να εφαρμοστούν για να μειώσουν τον κίνδυνο. Οι απαιτούμενες προσεγγίσεις για την επίλυση του προβλήματος περιλαμβάνουν φυσικούς, χημικούς ή βιολογικούς τρόπους απομάκρυνσης και για να είναι αποδεκτές θα πρέπει, όπως είναι κατανοητό, να πληρούν ορισμένα κριτήρια όπως την ικανότητα να αφαιρούν, να καταστρέφουν ή να απενεργοποιούν την τοξίνη, να μην καταστρέφουν τις οργανοληπτικές ιδιότητες ή την διατροφική αξία του προϊόντος, να μην τροποποιούν τις τεχνολογικές ιδιότητές του και να καταστρέφουν αν αυτό είναι εφικτό ακόμη και τους σπόρους από μύκητες που τυχόν υπάρχουν³.

¹ Keith A. Scudamore, "Principles and applications of mycotoxin analysis" Mycotoxins, chapter 7, p.157-178

² Dwarakanath C.T., Rayner E.T., Mann G.E., Dollear F.G., "Reduction of Aflatoxin Levels in Cottonseed and Peanut Meals by Ozonization, (1968), chapter 45, p.93-95

³ McKenzie K.S., Sarr A.B., Mayaura K., Bailey R.H., "Oxidative degradation and detoxification of mycotoxins using a novel source of ozone", (1997), chapter 35, p.807-820



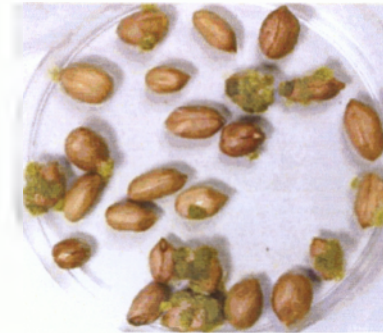
Εικ.(2)

(2): Το φυτό αραχίδα (*Arachis*).



Εικ.(3)

(3) Ο (υπόγειος) καρπός της αραχίδας (φιστίκια αράπικα).



Εικ.(4)

(4) Φιστίκια αράπικα (*Peanuts, groundnuts*) στα οποία έχει αναπτυχθεί ευρωτίαση (μούχλα)

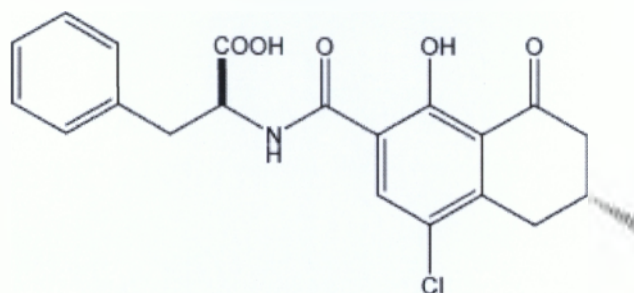
1.1 Είδη μυκοτοξινών

Όπως ήδη αναφέρθηκε πολλές ουσίες έχουν χαρακτηριστεί ως μυκοτοξίνες με κυριότερες και πιο συχνά βρισκόμενες σε τροφές τις αφλατοξίνες και τις οχρατοξίνες, οι οποίες παράγονται κυρίως από τον μύκητα *Aspergillus*, τις τριχοθεσίνες, τις ζεαραλενόνες και τις φουμονισίνες οι οποίες παράγονται από τον μύκητα *Fusarium* και την Πατουλίνη που είναι παράγωγο του *Penicillium*. Στην παράγραφο αυτή θα αναλυθούν τα σημαντικότερα είδη τοξινών ορισμένα από τα οποία είναι σημαντικά και επιβλαβή για τον ανθρώπινο οργανισμό των οποίων οι τιμές στα προς κατανάλωση προϊόντα ελέγχονται με βάση διεθνείς κανονισμούς.

1.2 Οχρατοξίνες

Ένα από τα είδη των επιβλαβών μυκοτοξινών είναι οι οχρατοξίνες. Οι οχρατοξίνες συναντώνται σε 3 τύπους Α, Β και C (ΟΤΑ, ΟΤΒ, ΟΤC) και παράγονται από διάφορα είδη των μυκήτων *Aspergillus* και *Penicillium*. Αυτά τα είδη μυκήτων απαντώνται κυρίως στις μεσογειακές χώρες λόγω των κλιματικών συνθηκών που επικρατούν, αυξημένη υγρασία και θερμοκρασία, όπου ευνοούν την ανάπτυξη τους⁴.

⁴ Prudente A.D., Evaluation of Aflatoxin-related products from ozonated corn, (2008), p.7-9



Εικ. (5)

Χημικός τύπος οχρατοξίνης

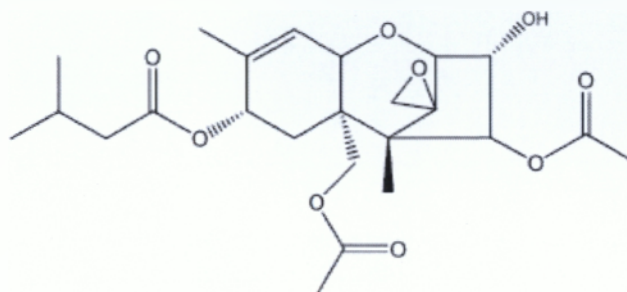
Η οχρατοξίνη Α (ΟΤΑ) της μυκοτοξίνης έχει συγκεντρώσει το μεγαλύτερο ενδιαφέρον σε σχέση με τους άλλους δυο λόγω της ιδιαίτερως υψηλότερης τοξικότητας του σε σύγκριση με την οχρατοξίνη Β (ΟΤΒ) αλλά και λόγω του ραγδαίου σχηματισμού του από την οχρατοξίνη C (ΟΤC). Έρευνες που έχουν γίνει σε αρουραίους και ποντίκια έχουν δείξει ότι είναι υπεύθυνη για την εμφάνιση καρκίνου και υπάρχουν σοβαρές ενδείξεις ότι συμβάλλει ως καταλυτικός παράγοντας σε ορισμένες ασθένειες που προσβάλλουν τον ανθρώπινο οργανισμό. Παραδείγματα τέτοιων ασθενειών αναφέρονται ενδεικτικά, η Βαλκανική Ενδημική Νευροπάθεια η οποία είναι μια πάθηση των νεφρών και συνδέεται με τον καρκίνο των νεφρών σε ανθρώπους αλλά και η αναστολή του ανοσοποιητικού με αποτέλεσμα την αργή αντίδραση των αντισωμάτων. Η οχρατοξίνη Α (ΟΤΑ) εμφανίζεται σε μεγάλη ποικιλία προϊόντων όπως δημητριακά, μύρα, κρασί, κακάο, καφές, αποξηραμένα φρούτα, χυμούς σταφυλιών και μπαχαρικά, και σε διάφορες ποσότητες αλλά σε σχετικά χαμηλά επίπεδα. Το διεθνές ινστιτούτο έρευνας κατά του καρκίνου έχει χαρακτηρίσει την οχρατοξίνη Α (ΟΤΑ) ως πιθανή αιτία εμφάνισης καρκίνου στον άνθρωπο από το 1993. Ο παγκόσμιος οργανισμός υγείας έχει θέσει όριο ανοχής ημερήσιας πρόσληψης οχρατοξίνης Α (ΟΤΑ) στα 14 ng/ kg και στην ευρωπαϊκή ένωση οι κανονισμοί για την περιεκτικότητα οχρατοξίνης Α ανά κατηγορία προϊόντος φαίνονται στον πίνακα που ακολουθεί.

Προϊόν	Μέγιστη επιτρεπόμενη συγκέντρωση (μg/kg)
Ακατέργαστα δημητριακά	5
Κατεργασμένα δημητριακά προς άμεση κατανάλωση	3
Αποξηραμένα φρούτα	10

Πίνακας 1

1.3 Τριχοθισίνες

Μια άλλη ομάδα είναι οι τριχοθισίνες οι οποίες είναι μια ομάδα από 190 διαφορετικούς μεταβολίτες οι οποίοι μπορούν να παραχθούν από ένα μεγάλο αριθμό μυκήτων⁵.



Εικ. (6)

Χημικός τύπος τριχοθισίνης

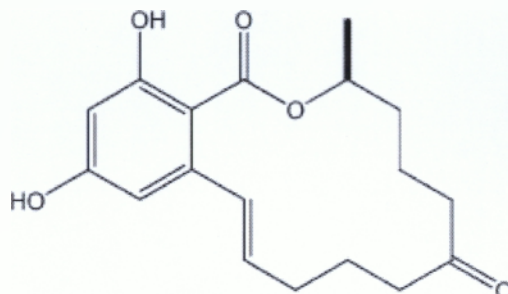
Στους μύκητες αυτούς περιλαμβάνονται οι *Fusarium*, *Myrothesium*, *Phomopsis*, *Stachybotris*, *Trichoderma* και *Trichotecium*. Οι τριχοθεσίνες ομαδοποιούνται σε 4 βασικές ομάδες από τις οποίες οι τύποι Α και Β αντιπροσωπεύουν τις πιο σημαντικές.

Οι τοξίνες αυτές βρίσκονται κυρίως σε τρόφιμα όπως σε σιτηρά και κυρίως στο σιτάρι, το καλαμπόκι και τη βρώμη και έχει παρατηρηθεί ότι πιθανώς εμποδίζουν την σύνθεση ευκαριωτικών πρωτεϊνών. Επιπλέον διακόπτουν τη σύνθεση του DNA και του RNA και επηρεάζουν κύτταρα διαχωρισμού όπως τα κύτταρα του δέρματος. Μπορούν επίσης να μειώσουν τα επίπεδα αντισωμάτων και ορισμένων άλλων χημικών παραγόντων. Η κατανάλωση μεγάλων δόσεων από οικόσιτα ζώα προκαλεί ναυτία, εμετό και διάρροια ενώ σε μικρότερες ποσότητες ορισμένα ζώα όπως οι χοίροι παρουσιάζουν απώλεια βάρους και ανορεξία. Μεγάλος αριθμός ασθενειών έχει συσχετιστεί άμεσα με την δηλητηρίαση από τις συγκεκριμένες τοξίνες προς το παρόν όμως δεν έχουν θεσπιστεί συγκεκριμένα ανώτατα όρια συγκέντρωσής τους.

⁵ Prudente A.D., Evaluation of Aflatoxin-related products from ozonated corn, (2008), p.10-12

1.4 Ζεαραλενόνες

Η ζεαραλενόνη είναι μια μη-στεροειδή οιστρογενής μυκοτοξίνη και παράγεται από συγκεκριμένα είδη του γένους *Fusarium*.



Εικ. (7)

Χημικός τύπος ζεαραλενόνης

Σπόροι που έχουν εκτεθεί στους μύκητες αυτούς ενδέχεται να εμφανίσουν ελαφρό ροζ χρώμα το οποίο συνοδεύεται τις περισσότερες φορές και από μια ροζ κολλώδη ουσία⁶.

Η συγκεκριμένη μυκοτοξίνη εμφανίζεται συνήθως στο καλαμπόκι αλλά μπορεί επίσης να εμφανιστεί και σε άλλα σιτηρά όπως, η βρώμη και η σίκαλη υπό παρατεταμένες συνθήκες κρύου και υγρασίας σε θερμά κλίματα. Η μυκοτοξίνη αυτή δεν θεωρείται ιδιαίτερα τοξική και σύμφωνα με μελέτες που έχουν γίνει υπάρχουν ελάχιστες ενδείξεις ότι είναι υπεύθυνη για την εμφάνιση καρκίνου. Ωστόσο έχει δοθεί ιδιαίτερο ενδιαφέρον επειδή είναι η κατ' εξοχή μυκοτοξίνη η οποία προκαλεί στειρότητα, αποβολή και άλλα προβλήματα αναπαραγωγής στα θηλαστικά και ιδιαίτερα στους χοίρους.

Στον πίνακα 2 που ακολουθεί παρουσιάζονται ενδεικτικά για ορισμένες κατηγορίες τροφών τα ανώτατα όρια συγκέντρωσης που έχουν οριστεί για τις ζεαραλενόνες.

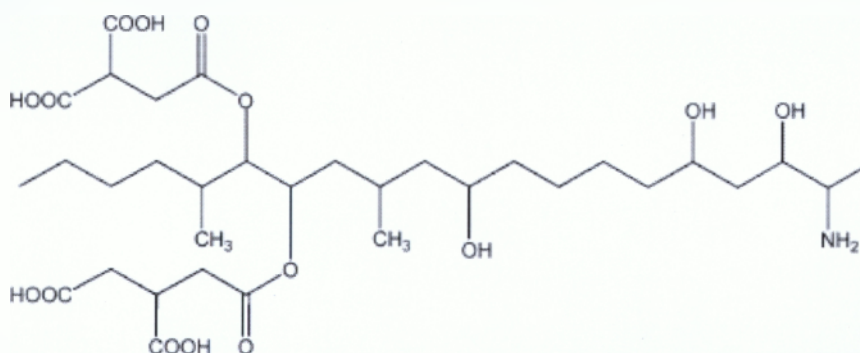
⁶ Prudente A.D., Evaluation of Aflatoxin-related products from ozonated corn, (2008), chapter 12

Προϊόν	Μέγιστη επιτρεπόμενη συγκέντρωση (µg/kg)
Ακατέργαστα δημητριακά	100
Ακατέργαστος αραβόσιτος	200
Αλεύρι από δημητριακά	75
Αλεύρι αραβοσίτου, αραβοσιτέλαιο	200
Ψωμί, μπισκότα και παράγωγα δημητριακών	50
Τρόφιμα με βάση τον αραβόσιτο	50
Επεξεργασμένες τροφές για νήπια με βάση τον αραβόσιτο	20
Επεξεργασμένες τροφές για νήπια με βάση δημητριακά και παιδικές τροφές	20

Πίνακας 2

1.5 Φουμονισίνες

Οι φουμονισίνες είναι τα βασικά παράγωγα του μύκητα *Fusarium verticillioides*. Οι κυριότεροι τύποι της είναι οι FB₁, FB₂ και FB₃ οι οποίες προσβάλλουν κυρίως το καλαμπόκι.



Εικ. (8)

Χημικός τύπος φουμονισίνης

Πολλές από τις ασθένειες που προσβάλλουν τα ζώα οφείλονται στην τοξίνη αυτή, για παράδειγμα, μια από τις σοβαρότερες ασθένειες των αλόγων που προκαλεί μαλάκυνση της φαιάς ουσίας του εγκεφάλου οφείλεται στην μόλυνση από τον

συγκεκριμένο μύκητα⁷. Επίσης πνευμονικό οίδημα σε χοίρους προκαλείται από τις φουμονισίνες όπως και κακοήθεις όγκοι που εμφανίζονται σε ζωτικά όργανα όπως το συκώτι, οι νεφροί και ο οισοφάγος.

Στον πίνακα 3 που ακολουθεί παρουσιάζονται ενδεικτικά για ορισμένες κατηγορίες τροφών τα ανώτατα όρια συγκέντρωσης που έχουν οριστεί για τις ζεαραλενόνες.

Προϊόν	Μέγιστη επιτρεπόμενη συγκέντρωση (μg/kg)
Πλήρως απεντομομένα ξηρά προϊόντα καλαμποκιού	2
Μερικώς απεντομομένα ξηρά προϊόντα καλαμποκιού	4
Ξηρό αλεσμένο καλαμπόκι	4
Καθαρισμένο καλαμπόκι που προορίζεται για μαζική παραγωγή	4
Καθαρισμένο καλαμπόκι που προορίζεται για παρασκευή pop-corn	3

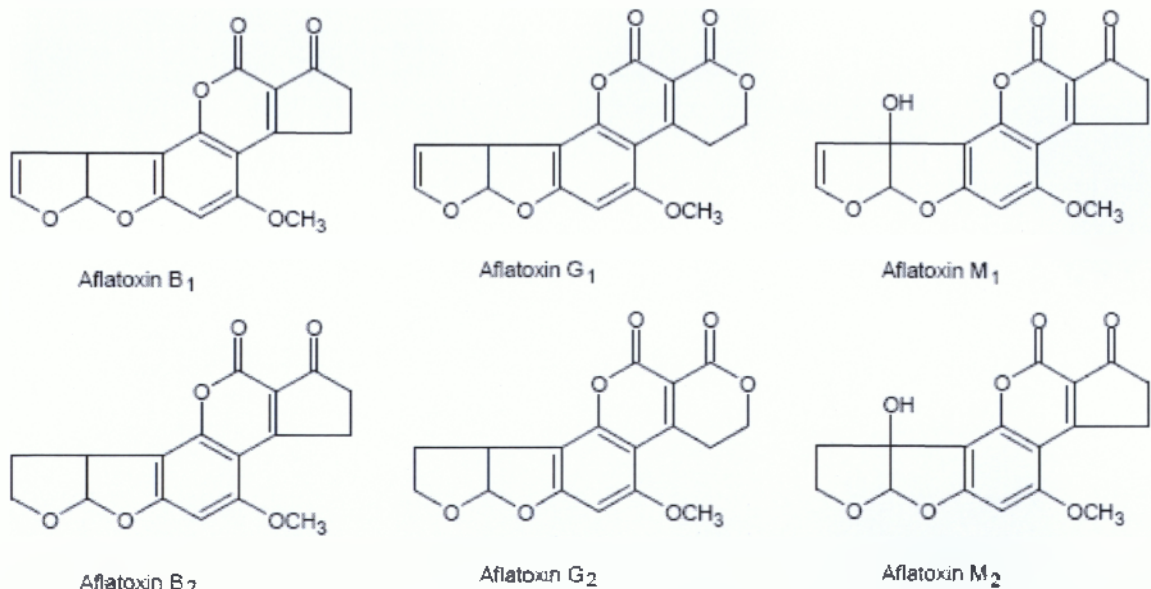
Πίνακας 3

⁷ Prudente A.D., Evaluation of Aflatoxin-related products from ozonated corn, (2008), p.13-19

2. Αφλατοξίνες

2.1 Διαχωρισμός των αφλατοξινών

Οι αφλατοξίνες αποτελούν μια ομάδα μυκοτοξινών οι οποίες παράγονται κυρίως από τους μύκητες *Aspergillus flavus* και *Aspergillus parasiticus*. Οι αφλατοξίνες είναι κυρίως καρκινογενείς ενώσεις και παρουσιάζονται κυρίως σε σιτηρά. Ο μύκητας *Aspergillus flavus* συνήθως παράγει αφλατοξίνες τύπου B₁ και B₂ και οι τιμές της τοξικότητας του ποικίλουν αρκετά. Ο μύκητας *Aspergillus parasiticus* ο οποίος προσβάλλει κυρίως στα φιστίκια είναι υπεύθυνος επιπλέον και για την παραγωγή αφλατοξινών τύπου G₁ και G₂. Σε αντίθεση με τον *Aspergillus flavus* ο *Aspergillus parasiticus* παράγει κατά κύριο λόγο πολύ υψηλότερα ποσοστά αφλατοξινών. Οι τοξίνες αυτές θεωρούνται ως μια αναπόφευκτη μόλυνση η οποία μπορεί να συμβεί καθ όλη τη διάρκεια μιας καλλιέργειας, από την ανάπτυξη, την συγκομιδή, την αποθήκευση μέχρι την τελική κατανάλωση.



Εικ. (9)

Χημικοί τύποι των αφλατοξινών

Οι αφλατοξίνες ανακαλύφθηκαν ως αποτέλεσμα μιας επιδημίας ηπατικής νέκρωσης που παρουσιάστηκε στην Αγγλία το 1960 και είχε ως αποτέλεσμα τον θάνατο 100.000 πουλερικών. Μέχρι σήμερα 17 είδη αφλατοξινών έχουν απομονωθεί

ωστόσο μόνο 4 από αυτά προξενούν μεγαλύτερη ανησυχία και αυτές είναι οι B₁, B₂, G₁ και G₂. Τα γράμματα που έχουν χρησιμοποιηθεί για την ονομασία τους έχουν προέρθει από τον έντονο χρωματισμό τους (Blue, Green).

Ιδιαίτερα η αφλατοξίνη B₁ είναι αυτή που βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση και για το λόγο αυτό ελέγχεται αυστηρότερα από τους οργανισμούς τροφίμων. Η σειρά τοξικότητας των αφλατοξινών έχει ως εξής: B₁>B₂>G₁>G₂ (McLean και Dutton, 1995). Δύο άλλοι τύποι αφλατοξινών είναι οι M₁ και M₂ οι οποίοι παράγονται από υδρογόνωση των B₁ και B₂ αντίστοιχα. Οι M₁ και M₂ συναντώνται κυρίως στο γάλα, για το λόγο αυτό έχουν χαρακτηριστεί με το γράμμα M (Milk), και στα υπόλοιπα γαλακτοκομικά προϊόντα που έχουν προέλθει από ζώα τα οποία έχουν καταναλώσει τροφές μολυσμένες από αφλατοξίνες.

Η αφλατοξίνη η οποία έχει προκαλέσει την μεγαλύτερη ανησυχία είναι η B₁ λόγω της παρουσίας της σε μεγάλο εύρος προϊόντων, της επικράτησης της σε σχέση με τις υπόλοιπες φυσικά παραγόμενες αφλατοξίνες, της υψηλής τοξικότητας της και των καρκινογενέσεων που προξενεί.

Ιδιαίτερα η B₁ είναι υπεύθυνη για σοβαρές βλάβες σε ευρύ φάσμα οργανισμών και το ήπαρ είναι ένα από τα πρώτα όργανα τα οποία προσβάλλονται από την τοξίνη αυτή. Έχουν παρατηρηθεί περιπτώσεις ηπατικής νέκρωσης, λιπώδους διήθησης αλλά και ηπατικής ανεπάρκειας ιδιαίτερα σε πουλερικά αλλά και χοιρινά τα οποία έχουν τραφεί με τροφές που περιείχαν την συγκεκριμένη αφλατοξίνη. Σε μερικές περιπτώσεις μάλιστα οι βλάβες από την κατανάλωση τροφών μολυσμένων με την τοξίνη αυτή έχει επεκταθεί και σε άλλα ζωτικά όργανα όπως η καρδιά, οι νεφροί, το πάγκρεας, η χοληδόχος κύστη και η σπλήνα.

Παρόλο που τα υψηλά ποσοστά τοξικότητας των αφλατοξινών είναι αξιοσημείωτα αυτό που έχει προκαλέσει τους μεγαλύτερους προβληματισμούς είναι η πιθανή σύνδεση της αφλατοξίνης B₁ με την εμφάνιση καρκίνου. Πολλές έρευνες έχουν γίνει σε πρωτεύοντα θηλαστικά εστιασμένες στην επίδραση της συγκεκριμένης αφλατοξίνης για να αποδειχθεί αν έχουν πράγματι καρκινογενή δράση και αν κατ'επέκταση έχουν την ίδια επίδραση στον άνθρωπο και πρέπει να σημειωθεί ότι τα αποτελέσματα των ερευνών αυτών δεν είναι καθόλου ενθαρρυντικά. Ωστόσο η άμεση σύνδεση μεταξύ του συγκεκριμένου τύπου τοξίνης και της εμφάνισης καρκίνου δεν έχει επιβεβαιωθεί τα ποσοστά καρκίνου σε περιοχές με υψηλή έκθεση σε αφλατοξίνες έχουν οδηγήσει τους διεθνείς οργανισμούς υγείας να επιβάλλουν ανώτατα επιτρεπτά επίπεδα των τοξινών αυτών σε όλα τα τρόφιμα⁸.

⁸ Prudente A.D., Evaluation of Aflatoxin-related products from ozonated corn, (2008), p.4-7

Η ένταση του φθορισμού των αφλατοξινών όταν βρίσκονται σε υπεριώδες φως κατέστησε δυνατό τον διαχωρισμό τους σε ιδιαίτερα μικρές συγκεντρώσεις με την βοήθεια φυσικοχημικών μεθόδων. Έτσι μικροποσότητες της τάξης των 0,1 ng μπορούν να εντοπιστούν με την χρήση χρωματογραφίας λεπτού στρώματος. Συγκεντρώσεις της τάξης 1μg/kg της αφλατοξίνης Β₁ μπορούν πλέον να εντοπιστούν στα διάφορα είδη αγροτικών προϊόντων. Ωστόσο για να μπορεί να πιστοποιηθεί ο τύπος της αφλατοξίνης η εμφάνιση των χρωματογραφημάτων είναι αναγκαίο να γίνει με διαφορετικούς διαλύτες και με την χρήση χημικών παραγώγων. Ήδη στις Η.Π.Α. ο οργανισμός χημικών αναλυτών (Association of Official Analytical Chemists) έχει υιοθετήσει επίσημες μεθόδους για τον καθορισμό του τύπου της αφλατοξίνης σε φιστίκια, φυσικοβούτηρο και βαμβακόσπορο και βρίσκονται σε ανάπτυξη μέθοδοι για άλλα αγροτικά προϊόντα. Ο καθορισμός μπορεί επίσης να προέλθει και από άλλες βιολογικές αναλύσεις και για την επιβεβαίωσή τους χρησιμοποιούνται ακόμα τα αποτελέσματα βιοαναλύσεων σε παπάκια καθώς επίσης και τα επίπεδα τοξικότητας σε έμβρυα που περιέχονται σε αυγά. Μέχρι και σήμερα αναπτύσσονται νέες τεχνικές ανάλυσης μιας και είναι επιτακτική η ανάγκη για την ύπαρξη απλών και γρήγορων μεθόδων για την ανίχνευση αφλατοξινών στα διάφορα προϊόντα έτσι ώστε να μπορέσει να αποφευχθεί τόσο η μίξη των καθαρών με τα μολυσμένα όσο και να αποφευχθούν καθυστερήσεις στην επεξεργασία τους.

2.2 Φυσικές και χημικές ιδιότητες αφλατοξινών

Στον πίνακα 4 που ακολουθεί συνοψίζονται τα βασικά χαρακτηριστικά των αφλατοξινών

Αφλατοξίνη	Μοριακός τύπος	Μοριακό βάρος	Σημείο τήξης, °C	Πηγές και Ιδιότητες
B1	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	312,28	268-269	Παράγεται από τον <i>Aspergillus flavus</i> και τον <i>Aspergillus parasiticus</i> . Κυανός φθορισμός (425nm). Θεωρείται ως η ισχυρότερη καρκινογόνος ουσία για το ήπαρ.
B2	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314,29	286-289	Παράγεται από τον <i>Aspergillus flavus</i> και τον <i>Aspergillus parasiticus</i> . Κυανός φθορισμός (425nm).
G1	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328,28	244-246	Παράγεται από τον <i>Aspergillus parasiticus</i> . Πράσινος φθορισμός (450 nm).
G2	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330,29	237-240	Παράγεται από τον <i>Aspergillus parasiticus</i> . Πράσινος φθορισμός (450 nm).
M1	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328,28	299	Μεταβολίτης της B1 στους ανθρώπους και τα ζώα. Βρίσκεται στο μητρικό γάλα σε ποσότητες ng.
M2	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330,29	293	Μεταβολίτης της B2 στους ανθρώπους και τα ζώα. Βρίσκεται στο γάλα (και σε γαλακτοκομικά προϊόντα) βοοειδών που τρέφονται με τροφές μολυσμένες με B2.

Πίνακας 4

Η επίδραση διάφορων φυσικών και χημικών παραγόντων στις αφλατοξίνες έχει εξετασθεί αρκετά ώστε να διαπιστωθεί το κατά πόσο είναι δυνατόν να απαλλαχθούν οι τροφές από αυτές με κάποια φυσική ή χημική διαδικασία.

Έχει παρατηρηθεί ότι η θερμότητα επηρεάζει τις αφλατοξίνες σε συνδυασμό με την παρουσία υγρασίας. Έτσι ενώ σε ξηρά κατάσταση είναι σταθερές μέχρι το σημείο τήξης τους με την παρουσία υγρασίας σύντομα καταστρέφονται, πιθανώς με υδρόλυση της λακτονικής ομάδας και στη συνέχεια με αποκαρβοξυλίωση.

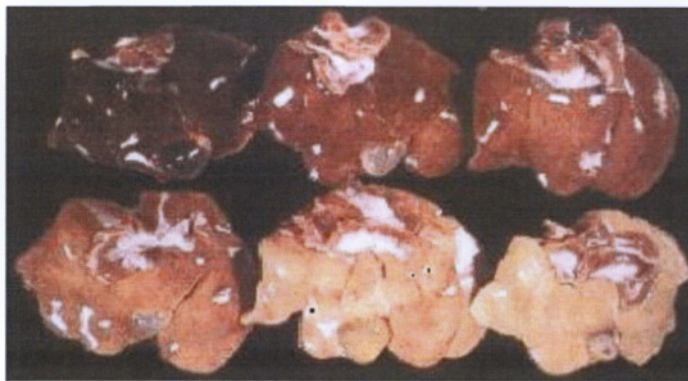
Επιπλέον τα αλκάλια είναι μια ομάδα που επιδρά στις αφλατοξίνες. Η παρουσία αλκαλίων καταστρέφει τις αφλατοξίνες με υδρόλυση του λακτονικού δακτυλίου. Ωστόσο φαίνεται ότι η υδρόλυση αυτή είναι αντιστρεπτή. Παρουσία οξέος επανασχηματίζεται ο λακτονικός δακτύλιος. Σε υψηλότερες θερμοκρασίες τα αλκάλια αποσπούν τη μεθοξυλική ομάδα ($\text{CH}_3\text{O}-$) από τον αρωματικό δακτύλιο. Εκτός από τα αλκάλια και ισχυρά ανόργανα οξέα αντιδρούν με τις αφλατοξίνες B_1 και G_1 με προσθήκη ύδατος στο διπλό δεσμό του ακραίου φουρανικού δακτυλίου και τις μετατρέπουν σε B_{2a} και G_{2a} αντίστοιχα⁹.

Αντιδράσεις συμβαίνουν και με την χρήση τόσο οξειδωτικών όσο και αναγωγικών μέσων. Οξειδωτικά μέσα όπως υποχλωριώδες νάτριο, υπερμαγγανικό κάλιο, χλώριο, υπεροξείδιο του υδρογόνου, υπερβορικό νάτριο όταν αντιδράσουν με τις αφλατοξίνες φαίνεται πως αλλοιώνουν τα μόρια τους και παρατηρείται εξαφανισμός του χαρακτηριστικού φθορισμού τους. Ωστόσο τα προϊόντα της οξείδωσης που πραγματοποιείται δεν έχουν ταυτοποιηθεί συστηματικά. Αντίστοιχη επίδραση έχει και η χρήση αναγωγικών μέσων. Με υδρογόνωση των αφλατοξινών B_1 και G_1 πραγματοποιείται η μετατροπή τους σε αφλατοξίνες τύπου B_2 και G_2 , αντίστοιχως ενώ με την χρήση ισχυρότερων αναγωγικών μέσων όπως το τετραϋδροβορικό νάτριο (NaBH_4) ανάγεται η κετονική ομάδα ($-\text{CO}-$) του κυκλοπεντενικού δακτυλίου των αφλατοξινών B_1 και B_2 (προς $-\text{CH}_2-$) παρέχοντας τις αφλατοξινές RB_1 και RB_2 (Reduced B_1 , B_2).

⁹ Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Χημείας, Φυσικοχημικές Ιδιότητες Αφλατοξίνης, http://www.chem.uoa.gr/chemicals/chem_afلاتoxins.htm

2.3 Βιολογικές επιδράσεις

Η έκθεση του ανθρώπου και των ζώων σε μύκητες (ευρώτας, μούχλα) μπορεί να οδηγήσει σε **μυκοτοξίκωση** (mycotoxicosis), μια παθολογική κατάσταση που μπορεί να εκδηλωθεί με μια μεγάλη ποικιλία συμπτωμάτων όπως αναπνευστική δυσκολία και βήχας, δυσκολία στην κατάποση και αίσθημα πνιγμού. Επιπλέον έχουν παρατηρηθεί και επιδράσεις σε δείκτες φυσικής κατάστασης όπως διαταραχές στις τιμές χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων, εμφάνιση υψηλής καρδιαγγειακής πίεσης, καρδιακή αρρυθμία. Έχουν επίσης αναφερθεί και προβλήματα σε ζωτικά όργανα όπως πόνοι στην κύστη, στο ήπαρ, στο σπλήνα ή στα νεφρά, οξείς κοιλιακοί πόνοι, κάψιμο στους πνεύμονες και στον λάρυγγα αλλά και σε ορισμένες περιπτώσεις η μυκοτοξίκωση έχει θεωρηθεί υπεύθυνη για σοβαρές παθολογικές καταστάσεις όπως πνευμονικά οιδήματα, διόγκωση των λεμφαδένων και εμφάνιση καρκίνου οι οποίες έχουν οδηγήσει ακόμη και στον θάνατο.



Εικ. (10)

Ήπατα ποντικίων με χορήγηση αφλατοξίνης B_1 σε σταθερά αυξανόμενες ποσότητες

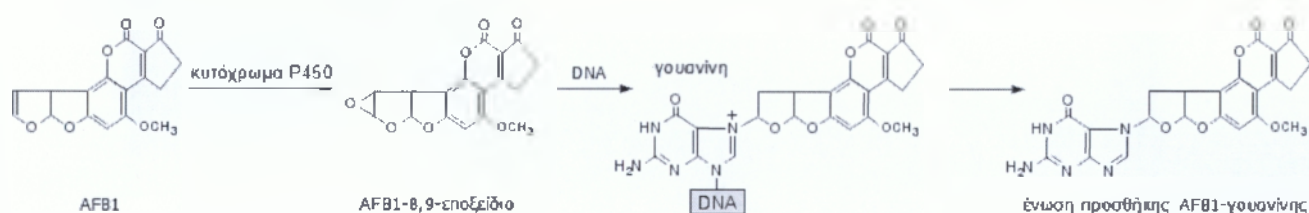
Στην εικόνα 10 φαίνονται ήπατα ποντικίων στα οποία χορηγήθηκε η αφλατοξίνη B_1 σε αυξανόμενες ποσότητες. Το επάνω αριστερά είναι φυσιολογικό ενώ το κάτω δεξιά είναι του ποντικιού που του χορηγήθηκε η μεγαλύτερη ποσότητα AFB_1 .

Οι τοξικές ιδιότητες των αφλατοξινών εμφανίζονται διαφορετικά ανάλογα με το είδος του τεστ, την δοσολογία και την διάρκεια έκθεσης σε αυτές. Η αφλατοξίνη B_1 έχει ερευνηθεί περισσότερο από οποιαδήποτε άλλη και έχει αποδειχθεί ότι είναι η πιο τοξική από όλες τις υπόλοιπες στα περισσότερα είδη ζώων. Η υπερπλασία της χοληδόχου κύστης είναι η πιο χαρακτηριστική και η πιο πρώιμη διαγνώσιμη επίδραση των αφλατοξινών. Η παρουσία της αφλατοξίνης B_1 έχει διαπιστωθεί ότι είναι η πιο πιθανή για την πρόκληση της συγκεκριμένης πάθησης και ακολουθείται

από τις G₁, B₂ και G₂ με σειρά πιθανότητας. Σε όλα τα είδη τα οποία μελετήθηκαν η ευαισθησία αυξάνει καθώς αυξάνεται και η ηλικία τους. Σε έρευνες που έγιναν σε διάφορα είδη σχετικά με την χρόνια έκθεση για μεγάλες χρονικές περιόδους σε έναν ή και περισσότερους τύπους αφλατοξίνης παρατηρήθηκε εμφάνιση καρκίνου¹⁰.

2.4 Τοξικές, καρκινογόνες και μεταλλαξιογόνες ιδιότητες των αφλατοξινών

Συνοπτικά, ο μηχανισμός της τοξικής δράσης των αφλατοξινών έχει ως εξής: Οι αφλατοξίνες στον οργανισμό με την επίδραση των ενζύμων της ομάδας του κυτοχρώματος P450 μεταβολίζονται στο ήπαρ προς διάφορα προϊόντα μεταξύ των οποίων βρίσκεται και μια εποξειδική ένωση. Ο μεταβολίτης αυτός σχηματίζει ένωση προσθήκης (adduct) με τη γουανίνη (G) του DNA και του RNA, γεγονός που οδηγεί σε αποπουρίνωση και θραύση της αλυσίδας των νουκλεϊνικών οξέων με αποτέλεσμα να διακοπεί η σύνθεση απαραίτητων πρωτεϊνών και DNA σε ιστούς ζωτικών οργάνων, όπως στο ήπαρ, στα έντερα και στον μυελό των οστών



Εικ. (11)

Σχηματισμός ένωσης προσθήκης αφλατοξίνης B₁ - γουανίνης

Η επικινδυνότητα των αφλατοξινών αυξάνεται ιδιαίτερα σε περιπτώσεις ατόμων που πάσχουν από ηπατικές νόσους. Έρευνες έδειξαν ότι κατά τη μόλυνση με τον ιό ηπατίτιδας (Hepatitis B virus, HBV), η έκθεση σε αφλατοξίνες αυξάνει τον κίνδυνο για ηπατοκυτταρικό καρκίνο (hepatocellular carcinoma, HCC). Ο ιός HBV καθιστά δύσκολο τον μεταβολισμό των αφλατοξινών από τα ηπατοκύτταρα και έτσι η ένωση προσθήκης αφλατοξίνης M₁-DNA παραμένει για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα στο ήπαρ αυξάνοντας την πιθανότητα βλάβης του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53. Θεωρείται ότι ο εμβολισμός κατά της ηπατίτιδας των κατοίκων περιοχών της Ασίας και της Αφρικής όπου ενδημεί ο ιός HBV, θα μειώσει

¹⁰ Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Χημείας, Φυσικοχημικές Ιδιότητες Αφλατοξίνης, http://www.chem.uoa.gr/chemicals/chem_afلاتoxins.htm

σημαντικά τις ηπατικές βλάβες σε πληθυσμούς που συχνά τρέφονται με μουχλιασμένα τρόφιμα¹¹.

Ο προσδιορισμός των αφλατοξινών στον άνθρωπο γίνεται με δύο τεχνικές. Στην πρώτη μετρείται η ένωση προσθήκης AFM₁-γουανίνης στα ούρα. Η παρουσία αυτού του προϊόντος μεταβολισμού δείχνει έκθεση σε αφλατοξίνες κατά τις προηγούμενες 24 ώρες. Παρόλα αυτά δεν είναι αρκετά καλή μέθοδος λόγω της διάσπασης της ένωσης προσθήκης με το χρόνο. Η δεύτερη τεχνική στηρίζεται στον προσδιορισμό της ένωσης προσθήκης AFB₁-αλβουμίνης στο πλάσμα του αίματος. Ο προσδιορισμός είναι ακριβέστερος και είναι θετικός κατά 90% στα θετικά δείγματα και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για μακροχρόνιες εκθέσεις, αφού παραμένει θετικός για 2-3 μήνες μετά την έκθεση σε αφλατοξίνες¹².

2.5 Μέθοδοι ανίχνευσης σε ξηρούς καρπούς

Οι ξηροί καρποί είναι μια από τις μεγαλύτερες διατροφικές πηγές αφλατοξινών για τον ανθρώπινο οργανισμό. Για τον λόγο αυτό πολλές έρευνες έχουν διεξαχθεί για την ανίχνευση και τον ακριβή υπολογισμό της περιεκτικότητας των ξηρών καρπών και των παραγώγων τους σε αφλατοξίνες που προορίζονται για κατανάλωση από το ευρύ κοινό με προσπάθεια να αποτιμηθεί η επικινδυνότητα που ενέχεται στην κατανάλωση τους.

Τα λαμβανόμενα δείγματα επιλέγονται με τέτοιο τρόπο έτσι ώστε να είναι όσο το δυνατό πιο αντιπροσωπευτικά. Συνεπώς θα πρέπει να αντικατοπτρίζουν τόσο την εισαγωγή όσο και την εγχώρια παραγωγή και επιπλέον θα πρέπει να καλύπτουν όλο το φάσμα των παρεχόμενων προς κατανάλωση ειδών, για παράδειγμα φιστίκια, φιστικοβούτυρο, καρύδια, κουκουνάρια, αμύγδαλα και φιστίκια Αιγίνης. Τα δείγματα μετά την κατηγοριοποίηση τους τοποθετούνται σε πλαστικές σακούλες και φυλάγονται σε θερμοκρασία -4°C μέχρι την ανάλυσή τους.

Όλα τα δείγματα που βρίσκονται σε στερεή μορφή αλέθονται σε μορφή σκόνης και ανάλογα με την περιεκτικότητα σε λιπαρά και υγρασία κατηγοριοποιούνται σε μορφή σκόνης ή σε μορφή βουτύρου και φυλάγονται στην ίδια θερμοκρασία μέχρι την επεξεργασία τους.

¹¹ Rustemeyer S. M., Lamberson W. R., Ledoux D. R., Rottinghaus G. E., Shaw D. P., Cockrum R. R., Kessler K. L., Austin K. J. and Cammack K. M., " Effects of dietary aflatoxin on the health and performance of growing barrows", (2010), p.13-24

¹² Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Χημείας, Φυσικοχημικές Ιδιότητες Αφλατοξίνης, http://www.chem.uoa.gr/chemicals/chem_aflatoxins.htm

2.6 Τρόποι ελέγχου των αφλατοξινών

Όπως έχει αναφερθεί, ίχνη του μύκητα *Aspergillus*, ο οποίος είναι υπεύθυνος για την εμφάνιση των αφλατοξινών, μπορούν να συναντηθούν παντού. Αυτό όμως που δημιουργεί το κύριο πρόβλημα είναι ο βαθμός και τα επίπεδα μόλυνσης στα διάφορα προϊόντα και έχει κατ' επέκταση σοβαρό αντίκτυπο στην οικονομία κάθε χώρας. Είναι λοιπόν κατανοητό ότι θα πρέπει να γίνονται έλεγχοι και μελέτες σε όλα τα επίπεδα παραγωγής ενός προϊόντος από την σπαρά, τη συγκομιδή, κατά την διάρκεια της αποθήκευσης, τη συσκευασία μέχρι το τελικό προϊόν να καταλήξει στον καταναλωτή. Τα αποτελέσματα ερευνών δείχνουν ότι τα επίπεδα μόλυνσης τείνουν να αυξάνονται κατά την μεταφορά πιθανότατα λόγω μικρών κλιματικών αλλαγών στους χώρους φύλαξης των πλοίων. Ένας τρόπος αντιμετώπισης αυτού του φαινομένου είναι η μεταφορά των προϊόντων σε φορτηγά-ψυγεία έτσι ώστε η θερμοκρασία τους να διατηρείται σταθερή μέχρι την άφιξη τους στον τελικό προορισμό¹³.

Πολλές μέθοδοι και τεχνικές βρίσκονται υπό δοκιμή για την απαλλαγή των καρπών και των σιτηρών από την παρουσία αφλατοξινών. Μερικές από αυτές εστιάζονται στην πρόληψη ενώ ορισμένες στην θεραπεία αφού διαπιστωθεί ότι τα προϊόντα έχουν υποστεί μόλυνση¹⁴.

Ορισμένες μέθοδοι αναφέρονται ενδεικτικά :

- Βελτίωση των μεθόδων διαλογής
- Συσκευασία των προϊόντων σε κενό αέρος
- Επεξεργασία με την χρήση όζοντος (O₃)
- Υποκατάστατα λιπασμάτων
- Επιλογή σπόρων από συγκεκριμένες ποικιλίες που παρουσιάζουν ανεπτυγμένη ανοχή
- Πρόωρη συγκομιδή και χρήση συγκεκριμένων τεχνικών
- Τεχνικές ξηρού περιβάλλοντος

2.7 Το πρόβλημα των αφλατοξινών στην Ελλάδα – αναλύσεις και έρευνα

Στην Ελλάδα σοβαρό εμφανίζεται το πρόβλημα παρουσίας των αφλατοξινών ιδιαίτερα στα γεωργικά προϊόντα. Για τον λόγο αυτό επιστήμονες εξετάζουν εδώ και δεκαετίες τις σωστές πρακτικές για την αποφυγή της μόλυνσης των σιτηρών, των ξηρών καρπών κ.λπ., από μύκητες, όπως και τις συγκεντρώσεις των

¹³ Goldblatt, L.A., "Chemistry and control of Aflatoxins", (1980), p.333-335

¹⁴ Heathcote J.G., Hibbert J.R., "Aflatoxins: Chemical and biological aspects", (1978)

αφλατοξινών στο γάλα και σε άλλα τρόφιμα. Συστηματικά ελέγχονται οι εισαγωγές σιτηρών και ξηρών καρπών (φιστίκια) από χώρες της Ασίας και Αφρικής, όπου η εμφάνιση των αφλατοξινών είναι συχνή λόγω της αυξημένης υγρασίας στους καρπούς και των υψηλών θερμοκρασιών. Σημειώνεται ότι με διάφορες ανοσοχημικές τεχνικές, όπως η ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbant Assay), ο προσδιορισμός των αφλατοξινών στα τρόφιμα αποτελεί πλέον μια σχετικά απλή αναλυτική διαδικασία ενώ ακριβέστερες μετρήσεις πραγματοποιούνται κατά κανόνα με υγρή χρωματογραφία (HPLC).

Οι επίσημοι φορείς ελέγχου δεν δημοσιεύουν στοιχεία για την παρουσία της αφλατοξίνης B₁ (AFB₁), εφόσον οι τιμές της δεν υπερβαίνουν τα ανώτερα επιτρεπτά όρια. Από έρευνες όμως που πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Χημείας Τροφίμων του Τμήματος Χημείας στο Πανεπιστήμιο Αθηνών, γνωρίζουμε τα εξής:

Κατά το χρονικό διάστημα 1995-1996 ελέγχθηκαν 81 δείγματα γάλακτος από την Ελληνική Αγορά. Τα 32 δείγματα γάλακτος περιείχαν AFM₁ (παράγωγο της AFB₁) σε επίπεδα από 2,5 έως 5 ng/L, 31 περιείχαν μόνο ίχνη ενώ μόνο 9 υπερέβαιναν τα 5 ng/L, που ορίζει η νομοθεσία για την AFM₁.

Από το 2003 έως το 2006 και με αφορμή έρευνες σχετικές με τη βιοσύνθεση της AFB₁ σε τρόφιμα Ελληνικού ενδιαφέροντος, όπως είναι οι ελιές, εξετάστηκε ένας μεγάλος αριθμός δειγμάτων ελιάς, όπου η παρουσία της AFB₁ θεωρείται αμελητέα. Υψηλές συγκεντρώσεις AFB₁ βρέθηκαν σε δείγματα που ήταν εμφανώς μouxλιασμένα. Οι έρευνες αυτές απέδειξαν ότι από μόνες τους οι ελιές δεν αποτελούν ευνοϊκό υπόστρωμα βιοσύνθεσης των αφλατοξινών.

Κατά την περίοδο 1995-1996 εξετάστηκαν 50 δείγματα ελαιολάδου και η AFB₁ βρέθηκε σε 36 δείγματα, αλλά σε πολύ χαμηλά επίπεδα (2,8-15,7 ng/Kg) και μόνο ένα δείγμα περιείχε 46 ng/Kg. Κατά την περίοδο 1998-2001 εξετάστηκαν άλλα 50 δείγματα ελαιολάδου, 11 περιείχαν ίχνη AFB₁ και μόνο ένα δείγμα υπερέβαινε τα όρια (60 ng/Kg). Αυτό αποτελεί πολύ σημαντική βελτίωση δεδομένου ότι παλαιότερες μετρήσεις που είχαν γίνει στο εξωτερικό (1977) είχαν δείξει πολύ υψηλότερες συγκεντρώσεις AFB₁ (5-10 μg/Kg) στα Ελληνικά και Ισπανικά ελαιόλαδα.

Η βιοσύνθεση της AFB₁ στα τρόφιμα είναι ένα εξαιρετικά πολύπλοκο φαινόμενο και είναι πολλοί οι παράγοντες που επηρεάζουν την εμφάνισή της όπως για παράδειγμα το είδος του μύκητα, το είδος του τροφίμου, οι συνθήκες του περιβάλλοντος και η παρουσία άλλων συστατικών που μπορούν να δράσουν καταλυτικά και να επιταχύνουν την διαδικασία ανάπτυξης της. Επομένως, εκτός από τον συστηματικό έλεγχο, το σύστημα HACCP (Hazard Analysis and Critical

Control Point: Ανάλυση Κινδύνων και Κρίσιμα Σημεία Ελέγχου) πρέπει να εφαρμόζεται σε κάθε παραγωγική διαδικασία στον αγρό, στο εργοστάσιο, αλλά και κατά τη συσκευασία των τροφίμων. Το σημαντικότερο είναι η πρόληψη της μόλυνσης των τροφίμων και η αποφυγή αποθήκευσης σε συνθήκες υψηλών θερμοκρασιών και υγρασίας.

2.8 Γενικοί κανονισμοί Ευρωπαϊκής Ένωσης και άλλων χωρών

Η Ευρωπαϊκή Ένωση με τον κανονισμό N. 178/2002 παραθέτει τις γενικές αρχές και απαιτήσεις που αφορούν την ασφάλεια τροφίμων. Με την ίδρυση του Ευρωπαϊκού Οργανισμού Ασφάλειας Τροφίμων (European Food Safety Authority) έχουν τεθεί και οι βασικές διαδικασίες σε θέματα ασφάλειας που αφορούν τα τρόφιμα. Η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει επιλέξει αυστηρά μέτρα για την εξασφάλιση της δημόσιας υγείας τα οποία εφαρμόζονται τόσο στις εσωτερικές αγορές όσο και στις εισαγωγές από το εξωτερικό και συνεπώς συμβάλλουν στην καθιέρωση και την ανάπτυξη διεθνών προτύπων και κατώτατων επιπέδων ασφαλείας. Η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (European Food Safety Authority-EFSA) βρίσκεται σε άμεση συνεργασία με την Επιστημονική Επιτροπή παρέχοντας αντικειμενική άποψη σε θέματα ασφάλειας τροφίμων.

Η Ε.Ε. έχει βασίσει τα όρια που έχουν τεθεί για τα επίπεδα των αφλατοξινών σε επιστημονικά στοιχεία τα οποία αφορούν την επίδραση των αφλατοξινών στην εμφάνιση διαφόρων μορφών καρκίνου. Οι επιστημονικές έρευνες ωστόσο δέχονται έντονες επικρίσεις και υπόκεινται σε αρνητικά σχόλια από την εμπορική κοινότητα αλλά και από τις χώρες παραγωγής μιας και τα όρια που έχουν τεθεί εμποδίζουν τις εξαγωγές πολλών προϊόντων που δεν πληρούν τις απαραίτητες προϋποθέσεις.

Άλλες χώρες έχουν θέσει τα ανώτατα όρια εμφάνισης των αφλατοξινών σε πολύ χαμηλότερα επίπεδα από αυτά της Ε.Ε. Για παράδειγμα οι Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής έχουν ορίσει τα ανώτατα επιτρεπόμενα όρια παρουσίας των αφλατοξινών στο δεκαπλάσιο από αυτά που ορίζει η Ευρωπαϊκή Ένωση. Το γεγονός αυτό έχει ως αποτέλεσμα πολλά από τα προϊόντα που απορρίπτονται από την ευρωπαϊκή αγορά να στέλνονται σε άλλες χώρες όπως η Ρωσία, οι Η.Π.Α. και πολλές Ασιατικές χώρες.

3. Προσδιορισμός αφλατοξινών σε διάφορα προϊόντα ανά τον κόσμο

3.1 Φουντούκια

Όλα τα άγρια είδη του γένους *Corylus* παράγουν φαγώσιμους καρπούς και για τον λόγο αυτό πολλά είδη καλλιεργούνται για την παραγωγή φουντουκιού. Οι καλλιεργήσιμες φουντουκιές αναπτύσσονται καλύτερα σε περιοχές με ήπιους και υγρούς χειμώνες και δροσερά καλοκαίρια. Τα φουντούκια είναι καρποί ιδιαίτερα διαδεδομένοι και χρησιμοποιούνται ευρέως ως συστατικά σε μια μεγάλη ποικιλία τροφών τόσο ακατέργαστα όσο και κατεργασμένα.

Παρόλο που οι καρποί με σκληρό περίβλημα είναι δυσκολότερο να προσβληθούν από μύκητες ο σχηματισμός αφλατοξινών εξακολουθεί να είναι δυνατό να συμβεί. Ιδιαίτερα τα φουντούκια μπορούν να προσβληθούν σε διάφορα στάδια της επεξεργασίας τους. Για τον λόγο αυτό πολλές χώρες έχουν θεσπίσει ανώτατα όρια επιπέδων αφλατοξίνης τόσο στα φουντούκια όσο και σε πολλούς ξηρούς καρπούς που προορίζονται για κατανάλωση από ανθρώπους. Το Ευρωπαϊκό Συμβούλιο έχει θεσπίσει ανώτατα όρια επιπέδων συνολικής αφλατοξίνης αλλά και πιο συγκεκριμένα αφλατοξίνης B₁ σε φουντούκια, καρύδια, ξηρά φρούτα και όλα σε όλα τα προϊόντα τους. Τα όρια αυτά για συνολική παρουσία αφλατοξινών είναι 4μg/kg ενώ για την αφλατοξίνη B₁ είναι 2μg/kg.

Ειδικά για τα φουντούκια οι έρευνες που έχουν γίνει εστιάζουν κυρίως στην εύρεση της αποτελεσματικότερης μεθόδου ανίχνευσης αφλατοξινών καθώς επίσης και μέθοδοι αφαίρεσης και καθαρισμού του προϊόντος από τις αφλατοξίνες. Οι κυριότερες μέθοδοι και διαδικασίες που έχουν μελετηθεί είναι η ELISA, η υγρή χρωματογραφία με ανίχνευση φθορισμού και η υγρή χρωματογραφία με ιονισμό. Ως μέθοδοι αφαίρεσης των αφλατοξινών είναι η ομογενοποίηση, η αφαίρεση με την χρήση υπερήχων, η αφαίρεση με MSDP (matrix solid phase dispersion). Τα αποτελέσματα των ερευνών αυτών οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η πιο αποτελεσματική ασφαλής μέθοδος για τους συγκεκριμένους καρπούς είναι η αφαίρεση με τη χρήση υπερήχων. Ωστόσο λόγω της ανομοιογένειας που εμφανίζεται στο μολυσμένο μείγμα εμφανίζονται διαφοροποιήσεις στα αποτελέσματα και δεν επιτυγχάνεται πλήρης ομοιογένεια.

3.2 Ξηροί καρποί και αποξηραμένα φρούτα

Οι κλιματικές συνθήκες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ποιότητα των τροφίμων. Σε χώρες όπου οι κλιματικές συνθήκες χαρακτηρίζονται από έντονες συνθήκες υψηλής υγρασίας και θερμοκρασίας καθώς και από ανεπαρκείς συνθήκες φύλαξης των προϊόντων, συμβάλλουν κατά μεγάλο ποσοστό στην εμφάνιση αφλατοξινών.

Λόγω των σημαντικών κινδύνων για την δημόσια υγεία που ενέχει η παρουσία αφλατοξινών στις τροφές είναι σημαντική η συλλογή στοιχείων για την παρουσία τους σε τρόφιμα που προέρχονται από τέτοιες χώρες. Ιδιαίτερη προσοχή έχει δοθεί τελευταία στην παρουσία αφλατοξινών σε γεωργικά προϊόντα και κυρίως ξηρούς καρπούς και αποξηραμένα φρούτα για τα οποία έχει αναφερθεί ότι έχουν παρουσιαστεί διάφορα είδη μυκοτοξινών και ιδιαίτερα αφλατοξίνες. Στον πίνακα 5 που ακολουθεί φαίνονται τα ποσοστά περιεκτικότητας σε αφλατοξίνες από διάφορα δείγματα τα οποία αναλύθηκαν με την χρήση υγρής χρωματογραφίας.

Είδος	Συχνότητα εμφάνισης (%)	Περιεκτικότητα σε AFB ₁ (μg/kg) ± απόκλιση (%)	Μέγιστα επίπεδα AFB ₁ (μg/kg)
Φιστίκια	5	0.17 ± 0.1	0.17
Καρύδια	30	360 ± 7.6	2500
Ξηρά σύκα	5	0.28 ± 0.1	0.28
Σταφίδες	20	10.7 ± 2.3	13.9

Πίνακας 5

Όπως φαίνεται και από τον παραπάνω πίνακα η εμφάνιση της αφλατοξίνης B₁ στα δείγματα φιστικιών που αναλύθηκαν ήταν σε συχνότητα 1 μολυσμένου δείγματος ανά 20 σε περιεκτικότητα της τάξης του 0.17 μg/kg. Το αποτέλεσμα αυτό δείχνει χαμηλή εμφάνιση της συγκεκριμένης αφλατοξίνης στο δείγμα των φιστικιών μιας και από άλλες μελέτες που έχουν διεξαχθεί σε χώρες όπως η Συρία, η Κίνα και η Μποτσουάνα έχει παρατηρηθεί ποσοστό εμφάνισης της AFB₁ μέχρι και 78%.

Στα δείγματα σταφίδας τα αναλυτικά αποτελέσματα έδειξαν ποσοστό μόλυνσης της τάξης του 20% και οι συγκεντρώσεις της AFB₁ κυμαίνονταν από 3.2 μέχρι 13.9 μg/kg. Όλα τα θετικά δείγματα υπερέβησαν το μέγιστο επιτρεπόμενο όριο των 2 μg/kg που έχει οριστεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση παρόλο που οι σταφίδες δεν θεωρούνται το πλέον κατάλληλο υπόστρωμα για την ανάπτυξη του μύκητα *A. flavus* ο οποίος είναι υπεύθυνος για την παρουσία της AFB₁.

Η παρουσία της AFB₁ στα ξηρά σύκα ήταν της τάξης του 5% και από αυτά μόνο το 15% βρέθηκε να ξεπερνά σε περιεκτικότητα τα ανώτατα όρια με βάση τον Ευρωπαϊκό κανονισμό ενώ αντίστοιχα στο δείγμα των καρυδιών το 30% βρέθηκε να είναι μολυσμένο με τα επίπεδα της AFB₁ να κυμαίνονται από 0.56 έως και 2500 μg/kg. Από αυτά το 20% ξεπέρασε το ανώτατο όριο των 2 μg/kg.

Από τα αποτελέσματα των ερευνών γίνεται κατανοητό ότι όταν οι παραδοσιακές συνθήκες επεξεργασίας και φύλαξης που χρησιμοποιούνται είναι ελλιπείς οδηγούν στην εμφάνιση μυκοτοξινών και ιδιαίτερα αφλατοξίνης τόσο σε ξηρούς καρπούς όσο και σε αποξηραμένα φρούτα και για το λόγο αυτό είναι ευθύνη των Αρχών να θεσπίσουν κανονισμούς για τους τρόπους επεξεργασίας των τροφών αυτών.

3.3 Πάπρικα

Η πάπρικα είναι ένα μπαχαρικό το οποίο προέρχεται από την επεξεργασία της κόκκινης πιπεριάς και το οποίο μπορεί να προσβληθεί από αφλατοξίνες σε οποιοδήποτε στάδιο της παραγωγής του, από την συγκομιδή, κατά την αποξήρανση και κατά την φύλαξή του.

Το 2004 η Ουγγρική κυβέρνηση απαγόρευσε προϊόντα που περιείχαν αλεσμένη πάπρικα μετά από ευρήματα αφλατοξινών σε δείγματα τα οποία ξεπερνούσαν τα επιτρεπόμενα όρια. Η πάπρικα είχε εισαχθεί στην ευρωπαϊκή ένωση από χώρες παραγωγής όπως η Βραζιλία δια μέσου της Ισπανίας. Σε συνέχεια της επισήμανσης της Ουγγαρίας το Ηνωμένο Βασίλειο πρότεινε στην Ευρωπαϊκή Επιτροπή την διεξαγωγή έρευνας σε ευρέως χρησιμοποιούμενα μπαχαρικά με σκοπό να θεσπιστούν νέα ανώτατα επιτρεπόμενα όρια εμφάνισης μυκοτοξινών και αφλατοξινών σε αυτά.

Στην Βραζιλία οι έρευνες που έχουν διεξαχθεί δε δείγματα πάπρικας δείχνουν υψηλά ποσοστά συγκέντρωσης σε αφλατοξίνες της τάξης του 85%. Ο εκτεταμένος βαθμός παρουσίας αφλατοξινών στην πάπρικα που παράγεται στην Βραζιλία οφείλεται κυρίως στο τροπικό και υποτροπικό κλίμα της στο οποίο καλλιεργείται η κόκκινη πιπεριά. Τα υψηλά επίπεδα υγρασίας σε συνδυασμό με τις υψηλές θερμοκρασίες που επικρατούν στην περιοχή προσφέρουν ένα ιδανικό περιβάλλον για την ανάπτυξη μούχλας και την εμφάνιση μυκοτοξινών.

Η κατανάλωση πάπρικας στην Βραζιλία είναι αρκετά χαμηλή σε σύγκριση με ευρωπαϊκές χώρες όπως η Ουγγαρία και οι Βαλκανικές χώρες γενικότερα. Το

μεγαλύτερο μέρος της παραγωγής της προορίζεται για εξαγωγή και συνεπώς οι αρχές της Βραζιλίας δείχνουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον στην εφαρμογή μεθόδων αλλά και στη διεξαγωγή ερευνών σχετικά με μεθόδους διασφάλισης ενός καθαρού προϊόντος μιας και αποτελεί μια μεγάλη πηγή εσόδων για την χώρα.

3.4 Κελυφώδη φιστίκια

Οι μύκητες του γένους *Aspergillus* συχνά προκαλούν την αποσύνθεση του πυρήνα των κελυφωτών φιστικιών και αυτό τα εντάσσει στους πλέον ευπαθείς ξηρούς καρπούς σε αφλατοξίνες. Η εμφάνιση αφλατοξινών σε κελυφώδη φιστίκια έχει ερευνηθεί σε διάφορες χώρες και σύμφωνα με τα αποτελέσματα των ερευνών αυτών το 2.2% του δείγματος βρέθηκε μολυσμένο στο Μεξικό, το 9.5% στη Σουηδία, το 2% στην Ιαπωνία και αντίστοιχα ποσοστά αφλατοξινών βρέθηκαν σε καρπούς που προέρχονταν από την Μεγάλη Βρετανία και την Τουρκία.

Το Ιράν είναι μια από τις μεγαλύτερες σε παραγωγή κελυφωτών φιστικιών στον κόσμο και το μεγαλύτερο μέρος της σοδειάς εξάγεται σε άλλες χώρες και κυρίως στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Για τον λόγο αυτό έχει μεγάλη σημασία για τις Ιρανικές αρχές να διεξάγονται έρευνες οι οποίες να ελέγχουν την ποιότητα της παραγωγής αλλά και τα επίπεδα μυκοτοξινών που παρουσιάζονται για να μπορεί το προϊόν τους να είναι βιώσιμο και ανταγωνιστικό. Έρευνες που έγιναν σε δείγματα έδειξαν ότι περίπου στο 13.6% των καρπών η παρουσία αφλατοξίνης είναι μεγαλύτερη από τα ανώτατα επιτρεπόμενα όρια που έχει θεσπίσει η Ευρωπαϊκή Κοινότητα.

Τα τελευταία χρόνια οι Ιρανικές αρχές έχουν θεσπίσει αυστηρούς κανονισμούς για να μπορέσουν να ελέγξουν τα επίπεδα αφλατοξινών σε όλα τα στάδια της παραγωγής. Ωστόσο όταν η πρόληψη δεν επαρκεί θα πρέπει να εφαρμοστούν διορθωτικές διαδικασίες αφαίρεσης των αφλατοξινών και οι Ιρανικές αρχές εστιάζουν τις έρευνές τους και προς νέες τέτοιου είδους τεχνικές.

3.5 Μπαχαρικά

Παρόλο που έχουν γίνει αρκετές μελέτες για την παρουσία αφλατοξινών σε διάφορα είδη τροφών και γεωργικών προϊόντων ελάχιστες είναι αυτές που έχουν εστιάσει στα μπαχαρικά τα οποία χρησιμοποιούνται ολοένα και περισσότερο στην καθημερινή διατροφή και κατέχουν ένα σημαντικό ρόλο στην παγκόσμια οικονομία. Επιπλέον μελέτες που έχουν γίνει πάνω στο θέμα των αφλατοξινών έχουν δείξει ότι κατά το μαγείρεμα τόσο με συμβατικούς τρόπους όσο και με την χρήση μικροκυμάτων τα επίπεδα τους δεν μειώνονται και οι αφλατοξίνες δεν αποσυντίθενται σε θερμοκρασίες βρασμού.

Παρόλο που ανώτατα επιτρεπτά όρια για την παρουσία των αφλατοξινών σε καρπούς, δημητριακά και αποξηραμένα φρούτα είχαν θεσπιστεί στην Ευρώπη από το 1998 η ένταξη των μπαχαρικών στις λίστες αυτές πραγματοποιήθηκε μόλις το 2002.

Μελέτες που έγιναν στο Γενικό Χημείο της Ιταλίας στη Μπολόνια για την παρουσία αφλατοξινών σε πολλά είδη μπαχαρικών και βοτάνων τα οποία είχαν συλλεχθεί από το 2000 μέχρι το 2005 κατέληξαν ότι στο 7% του συνολικού δείγματος βρέθηκαν ίχνη αφλατοξίνης και μόνο στο 2% τα ίχνη αυτά υπερέβαιναν τα όρια. Από τις μελέτες όμως αυτές ένα επιπλέον σημαντικό ζήτημα προέκυψε. Η ανίχνευση αφλατοξινών με την μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας είναι μια επίπονη διαδικασία μιας και τα μπαχαρικά περιέχουν συστατικά με έντονους χρωματισμούς τα οποία παρεμβαίνουν στα αποτελέσματα των χρωματογράφων μιας και εξάγονται και αυτά κατά την διαδικασία εξαγωγής των αφλατοξινών. Για την αποφυγή του προβλήματος αυτού χρησιμοποιήθηκαν ανοσοσυγγενείας στήλες οι οποίες είναι ένας απλός και εύκολος τρόπος επίλυσης.

Στην Κορέα πολλά είδη μπαχαρικών χρησιμοποιούνται ευρέως και κυρίως το κόκκινο πιπέρι σε σκόνη το οποίο παρασκευάζεται από κόκκινες πιπεριές με διαδικασίες οι οποίες ευνοούν την ανάπτυξη μυκοτοξινών. Στις έρευνες που έχουν διεξαχθεί πάνω από 80 είδη μπαχαρικών έχουν εξεταστεί με μεθόδους όπως της Ιταλίας για να μπορέσει να αντιμετωπιστεί το πρόβλημα της παρεμβολής λόγω των υψηλού χρωματισμού στοιχείων που εξάγονται κατά την εξαγωγή των αφλατοξινών. Τα αποτελέσματα των ερευνών στην Κορέα δείχνουν την παρουσία αφλατοξίνης στα μπαχαρικά ωστόσο τα ποσοστά είναι εν γένει χαμηλότερα από αυτά που έχουν παρουσιάσει μελέτες που έχουν γίνει σε χώρες των οποίων το κλίμα είναι πιο τροπικό από της Κορέας. Οι ερευνητές λοιπόν καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι ξεκάθαρα ένας από τους βασικότερους παράγοντες που τα μπαχαρικά στην Κορέα παρουσιάζουν μικρότερα ποσοστά σε αφλατοξίνες είναι οι υψηλότερες θερμοκρασίες και τα χαμηλότερα ποσοστά υγρασίας του κλίματος της παρόλο που οι συνθήκες παραγωγής, επεξεργασίας, φύλαξης και συσκευασίας δεν παρουσιάζουν διαφορές από άλλες χώρες παραγωγής των προϊόντων αυτών.

4. Χρήση όζοντος σε διαδικασίες επεξεργασίας τροφίμων

4.1 Το όζον ως χημικό στοιχείο

Το όζον (ο χημικός τύπος O_3) είναι τριατομικό μόριο, το οποίο αποτελείται από τρία άτομα οξυγόνου. Τα μονατομικά άτομα οξυγόνου ενώνονται με διατομικά άτομα οξυγόνου και σχηματίζουν το όζον O_3 . Το όζον είναι αέριο με ελαφρά κυανό χρώμα αντιληπτό σε μεγάλες συγκεντρώσεις ή/και μεγάλα στρώματα, με δυσάρεστη οσμή σε σχετικά μεγάλες συγκεντρώσεις, η οποία θυμίζει κάπως την οσμή του χλωρίου, όπως και του λευκού φωσφόρου κατά την οξειδωσή του. Ο Μοριακός τύπος του όζοντος είναι O_3 και η Σχετική Μοριακή Μάζα του είναι 47,998. Το σημείο βρασμού είναι στους $-111,9\text{ }^\circ\text{C}$ και το σημείο τήξης στους $-192,5\text{ }^\circ\text{C}$. Είναι λίγο διαλυτό στο νερό και όπως είναι ασταθές και εύκολα διασπάται δεν αφήνει υπολείμματα, η διαλυτότητα του στο νερό είναι $0,105\text{ g}/100\text{ mL}$ ($0\text{ }^\circ\text{C}$) και η διπολική του ροπή $0,5337\text{ D}$.

4.2 Μέθοδοι παραγωγής όζοντος (O_3)

Το όζον μπορεί να παραχθεί είτε από μεθόδους που χρησιμοποιούν ως πρώτη ύλη υγρά (H_2O) είτε από μεθόδους που χρησιμοποιούν τα αέρια (O , O_2) οι οποίες περιλαμβάνουν κυρίως την χρήση στεφάνης ιονισμού και διέγερση υπεριώδους ακτινοβολίας στα 185 nm .

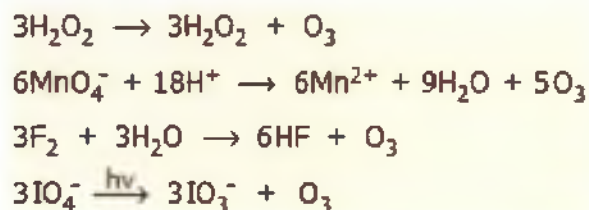


Η ίδια αντίδραση είναι αυτή που δημιουργεί το όζον στην στρατόσφαιρα. Και στην περίπτωση αυτή η αντίδραση $O_3 + O \rightarrow 2O_2$ μειώνει την απόδοση. Η αντίδραση διάσπασης του όζοντος καταλύεται από ορισμένες ελεύθερες ρίζες ($OH\cdot$, $NO\cdot$, $Cl\cdot$, $Br\cdot$) και το καταλυτικό αυτό φαινόμενο αποτελεί τη βασική αιτία της καταστρεπτικής δράσης των χλωροφθορανθράκων (CFC) και άλλων ενώσεων επί της σπιβάδας του όζοντος.

Υπάρχουν πολλές μέθοδοι για την παραγωγή του όζοντος όπως η ηλεκτρική εκκένωση του οξυγόνου (O_2), η ηλεκτρόλυση του νερού (H_2O) και διάφορες άλλες θερμικές, φωτοχημικές και ραδιοχημικές μέθοδοι. Για βιομηχανική χρήση το όζον παράγεται κυρίως από οξυγόνο εν τω γεννάσθαι (O) ή από ατμοσφαιρικό οξυγόνο

(O₂) σε μια διαδικασία στεφάνης ιονισμού. Κατά την διαδικασία αυτή αέρας ή καθαρό οξυγόνο τροφοδοτείται μέσα σε μια μονάδα η οποία μετατρέπει το οξυγόνο σε όζον χρησιμοποιώντας υψηλή τάση. Ένα ενδιαφέρον χαρακτηριστικό του όζοντος είναι ότι αποσυντίθεται γρήγορα (χρόνος ημιζωής 20-50 λεπτά) σε μονοατομικό οξυγόνο χωρίς να αφήνει υπολείμματα.

Μερικές αντιδράσεις σχηματισμού όζοντος φαίνονται παρακάτω.



Εικ. (12)

Αντιδράσεις Σχηματισμού

Χημική αντίδραση που να παρέχει καθαρό όζον δεν είναι γνωστή. Όζον παράγεται (κατά κανόνα σε μικρά ποσοστά) σε πολλές από τις χημικές αντιδράσεις παραγωγής οξυγόνου, όπως κατά τη διάσπαση του H₂O₂, την αντίδραση υπερμαγγανικών αλάτων με θειικό οξύ, την αντίδραση φθορίου με το νερό, η οποία παρέχει σχετικώς μεγαλύτερα ποσοστά όζοντος, τη θερμική διάσπαση υπεριοξικού οξέος ή τη φωτοχημική διάσπαση διαλυμάτων του ίδιου ή των αλάτων του. Είναι χαρακτηριστική η οσμή του όζοντος που σχηματίζεται υπεράνω υδατικών διαλυμάτων υπεριοξικού οξέος ή αλάτων του, όταν τα διαλύματα αυτά εκτίθενται στο ηλιακό φως χωρίς να φυλάσσονται σε σκοτεινόχρωμες φιάλες.

Σε κάθε περίπτωση, λόγω της αστάθειας και της εξαιρετικά έντονης οξειδωτικής δράσης του, το όζον παράγεται πάντοτε επί τόπου και δεν αποτελεί σε καμία περίπτωση διακινούμενο χημικό αντιδραστήριο. Στο εμπόριο διατίθενται φθηνές συσκευές παραγωγής όζοντος σε χαμηλές συγκεντρώσεις

4.3 Φυσικές και χημικές ιδιότητες όζοντος (O₃)

Το όζον είναι αέριο ανοικτού κυανού χρώματος, το οποίο γίνεται αισθητό μόνο σε μεγάλες συγκεντρώσεις του και μεγάλη οπτική διαδρομή. Η οσμή του είναι χαρακτηριστική δριμεία που θυμίζει την οσμή του λευκού φωσφόρου και του χλωρίου. Η σύντομη εισπνοή O₃ σε μεγάλες σχετικά συγκεντρώσεις (π.χ. από οικιακό οζονιστήρα) αφήνει την αίσθηση της οσμής του για αρκετή ώρα μετά την εισπνοή και στη συνέχεια μπορεί να απευαισθητοποιήσει την όσφρηση. Η οσμή

του Ο₃ στα όρια που γίνεται αισθητή μπορεί να θεωρηθεί έως και ευχάριστη, αφού δίνει την αίσθηση φρέσκου και καθαρού αέρα.

Διασπάται ταχύτατα σε όξινα διαλύματα, ενώ είναι πολύ σταθερότερο σε αλκαλικά. Οπότε, σε θερμοκρασία δωματίου ο χρόνος ημιζωής του σε διαλύματα NaOH 1, 5 και 20 M είναι αντιστοίχως 2 min, 40 min και 83 h.

4.4 Οξειδοαναγωγικές ιδιότητες

Το όζον είναι ισχυρότατο οξειδωτικό μέσο και μόνο το φθόριο, το ατομικό οξυγόνο, η ρίζα OH και τα υπερξενικά ιόντα (XeO₄⁴⁻) είναι πιο οξειδωτικά από αυτό.

Ως απολυμαντικό το όζον είναι 1,5 φορά δυνατότερο από το χλώριο (Cl) και είναι αποτελεσματικότερο για ένα κατά πολύ μεγαλύτερο φάσμα μικροοργανισμών. Για τον λόγο αυτό έχουν πραγματοποιηθεί πολλές έρευνες για την επίδραση όζοντος σε μορφή αερίου για την μείωση των επιπέδων αφλατοξινών σε μολυσμένα γεωργικά προϊόντα. Οι μελέτες αυτές έχουν αποδείξει την θετική επίδραση του όζοντος σε μολυσμένα προϊόντα ιδιαίτερα για τους τύπους B₁ και G₁ οι οποίοι αποδείχθηκαν ευαίσθητοι στην παρουσία όζοντος και παρουσίασαν μείωση της τάξης του 1.1 mg/l σε περιβάλλον όζοντος για 5 min¹⁵.

Το όζον χρησιμοποιείται για να διατηρήσει την ποιότητα τόσο των λαχανικών όσο και των ξηρών καρπών μετά την συγκομιδή. Με βάση μελέτες που έχουν εκπονηθεί έχει αποδειχθεί ότι ο χρόνος αποθήκευσης μπορεί να διπλασιαστεί όταν τα προϊόντα διατηρούνται σε ένα περιβάλλον στο οποίο υπάρχει παρουσία όζοντος 2-3 μg/kg.

Ωστόσο κατά την διάρκεια πειραμάτων έχει παρατηρηθεί διαφορά στους ρυθμούς μείωσης μεταξύ των αφλατοξινών AFB₁, AFG₁ και AFB₂, AFG₂ η οποία υποδηλώνει μια ροπή του όζοντος να ενωθεί στον διπλό δεσμό μεταξύ των ανθράκων C8-C9 ο οποίος υπάρχει στις AFB₁, AFG₁ αλλά όχι στις AFB₂, AFG₂ και συνεπώς η διπολική φύση του Ο₃ οδηγεί στην αντίδρασή του με τον διπλό δεσμό μέσω ενός Creegie μηχανισμού. Μιας και οι αφλατοξίνες AFB₂, AFG₂ δεν διαθέτουν τον συγκεκριμένο δεσμό η αντίδρασή τους με το όζον επηρεάζει άλλα τμήματα των μορίων τους. Τα υποπροϊόντα των αντιδράσεων είναι κυρίως διοξείδιο του άνθρακα (CO₂) και νερό (H₂O).

¹⁵ Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Χημείας, Φυσικοχημικές Ιδιότητες Αφλατοξίνης, http://www.chem.uoa.gr/chemicals/chem_ aflatoxins.htm

4.5 Επίδραση όζοντος σε τρόφιμα

Η μόλυνση των τροφίμων από διάφορους μικροοργανισμούς αποτελεί ένα μόνιμο πρόβλημα και μέχρι τώρα αντιμετωπιζονταν με την χρήση οξέων, υπεροξειδίων, χλωρίου και άλλων οξειδωτικών τα οποία όμως παρά την αποτελεσματικότητα τους παρουσίαζαν και σημαντικά μειονεκτήματα. Η χρήση όζοντος για την επεξεργασία τροφών γίνεται ολοένα και πιο θελκτική μιας και το όζον μπορεί να χρησιμοποιηθεί ενάντια πολλών μικροοργανισμών χωρίς να επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό τις τροφές. Διάφορες κατηγορίες στις οποίες το όζον έχει αποδειχθεί να είναι αποτελεσματικό είναι όλα τα γνωστά μέχρι τώρα βακτήρια και μύκητες, τα πρωτόζωα συμπεριλαμβανομένων και των αμοιβάδων και επιπλέον παρουσιάζει την μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα ενάντια στα κρυπτοσπορίδια σε σχέση με οποιονδήποτε άλλο εξυγιαντικό παράγοντα με ορισμένους ωστόσο περιορισμούς.

Γενικά το όζον μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε διάφορους τομείς των βιομηχανιών τροφίμων όπως στην απολύμανση του νερού πριν την εμφιάλωση, στον καθαρισμό του νερού από ανεπιθύμητες ουσίες όπως ο σίδηρος, το αρσενικό, διάφορα νιτρίδια και άλλες οργανικές ενώσεις, στην απολύμανση από βακτήρια, μύκητες και πρωτόζωα σε επιφάνειες που έρχονται σε επαφή με τρόφιμα αλλά και στην απολύμανση του αέρα σε εργοστάσια επεξεργασίας τροφίμων.

Το όζον ωστόσο μπορεί να έχει και αρνητικές επιρροές στα τρόφιμα και ιδιαίτερα στον τομέα της καλλιέργειας. Παρουσιάζει έντονη φυτοτοξική δράση λόγω της ικανότητας διείσδυσης στους πόρους των φύλλων των φυτών και της οξειδωτικής του δράσης σε πολλά ένζυμα και βιομόρια. Οι οξειδωτικές δράσεις επιδρούν στην ανάπτυξη των φυτών και δένδρων (μείωση της φωτοσυνθετικής ικανότητας), μειώνουν την απόδοση της αγροτικής παραγωγής και έχουν αρνητικές επιπτώσεις στην ανάπτυξη δασών. Βέβαια θα πρέπει να σημειωθεί ότι ακόμη και αυτές οι αρνητικές επιδράσεις που παρουσιάζει αν συγκριθούν με τις αρνητικές επιδράσεις άλλων μέσων αντιμετώπισης μόλυνσεων σε τρόφιμα όπως φυτοφάρμακα και χλώριο είναι σε αισθητά μικρότερη κλίμακα.

4.6 Όζον και ασφάλεια

Για αρκετά χρόνια η χρήση του όζοντος αντιμετωπιζόταν με δισταγμό λόγω ελλειπών μέτρων ασφαλείας για μεγάλες συγκεντρώσεις του αερίου. Πολλές έρευνες είχαν εστιάσει στο να αποδείξουν ότι το όζον είναι ένα επικίνδυνο στοιχείο και τα αποτελέσματά τους έδειχναν ότι η συνεχής εισπνοή του ήταν υπαίτια για την εμφάνιση χρόνιων βρογχίτιδων και άλλων αναπνευστικών προβλημάτων. Ωστόσο στις μέρες μας με τα νέα πρότυπα ασφαλείας που έχουν αναπτυχθεί οι γεννήτριες όζοντος είναι πλέον απόλυτα ασφαλείς και πολλές παγκοσμίου κύρους βιομηχανικές μονάδες επεξεργασίας τροφίμων και ύδατος επιθυμούν να τις εντάξουν στις μεθόδους που χρησιμοποιούν για απολύμανση.

Σύμφωνα με ιατρικές μελέτες η χρήση όζοντος έχει αποδειχθεί να είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική σε διάφορους τομείς της υγείας. Μειώνει την υπερευαισθησία του ανοσοποιητικού στο άσθμα, επιταχύνει την δράση των φυσικών αντιοξειδωτικών σε διαδικασίες επούλωσης, υπερτερεί σε σχέση με αντιβιοτικές θεραπείες για τις μολύνσεις που παρουσιάζονται σε ασθενείς που πάσχουν από διαβήτη όχι μόνο λόγω της μεγαλύτερης αποτελεσματικότητάς του αλλά και λόγω της απουσίας ανεπιθύμητων παρενεργειών. Επιπλέον μπορεί να συντελέσει στην αναστροφή της καρκινογένεσης των κυττάρων και για τον λόγο αυτό χρησιμοποιείται σε καρκινοπαθείς παράλληλα με χημειοθεραπείες και θεραπείες ακτινοβολίας¹⁶.

Καθώς λοιπόν η τεχνολογία εξελίσσεται η χρήση του όζοντος κερδίζει συνεχώς έδαφος σε διάφορους επιστημονικούς τομείς μιας και τα αποτελέσματα που παρουσιάζουν οι μελέτες που διεξάγονται εμφανίζονται ιδιαίτέρως ενθαρρυντικά.

¹⁶ Cutler M., "Making food and water safer than ever before with ozone. (2006), p.1-7

4.7 Όζον και αφλατοξίνες

Το όζον ή τριατομικό οξυγόνο (O_3) είναι ένας ισχυρά απολυμαντικός και αντιοξειδωτικός παράγοντας ο οποίος αντιδρά με τον διπλό δεσμό του αρωματικού δακτυλίου που βρίσκεται ανάμεσα στο 8^ο και 9^ο άτομο άνθρακα της αφλατοξίνης μέσω ηλεκτροφιλικής επίθεσης. Η αντίδραση αυτή έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό πρωτευόντων οζονιδίων τα οποία στη συνέχεια με ανακατανομή μετατρέπονται σε μονο-οζονοειδή παράγωγα.

Πειράματα τα οποία έχουν διεξαχθεί σε διάφορα γεωργικά προϊόντα έχουν δείξει ότι με την χρήση του όζοντος μπορεί να επιτευχθεί σημαντική μείωση στη συγκέντρωση αφλατοξινών σε ποσοστά της τάξης έως 95%. Πειράματα έχουν επιπλέον διεξαχθεί και σε δευτερογενές επίπεδο, δηλαδή την σίτιση οικόσιτων ζώων με τροφές οι οποίες είχαν υποστεί επεξεργασία με την μέθοδο της οζονοποίησης¹⁷. Τα αποτελέσματα των ερευνών αυτών ήταν επίσης ενθαρρυντικά μιας και οι μετρήσεις της φυσικής τους κατάστασης βρέθηκαν σε φυσιολογικά επίπεδα σε αντίθεση με το δείγμα των ζώων που είχαν τραφεί με μολυσμένες τροφές και τα οποία παρουσίασαν μείωση του βάρους τους και σοβαρά προβλήματα στα ζωτικά τους όργανα.

Από τις χημικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα κατά την αποτοξίνωση μολυσμένων δειγμάτων διαφόρων ουσιών δεν έχουν παρατηρηθεί επιβλαβή παράγωγα και επιπλέον δεν υπάρχουν ενδείξεις επαναφοράς των αφλατοξινών στην τοξική μορφή τους μετά από την αδρανοποίησή τους. Για τους λόγους αυτούς η χρήση όζοντος εμφανίζεται ως μια πολλά υποσχόμενη στρατηγική επεξεργασίας τροφίμων με σκοπό την αποβολή των αφλατοξινών¹⁸.

¹⁷ McKenzie K.S., Sarr A.B., Mayaura K., Bailey R.H., "Oxidative degradation and detoxification of mycotoxins using a novel source of ozone", (1997), chapter 35, p.807-820

¹⁸ Proctor A.D., Ahmedna M., Kumar J.V., Goktepe I., "Degradation of aflatoxins in peanut kernels/flour by gaseous ozonation and mild heat treatment", (2004), chapter 21, p.786-793

5. Ανάλυση επίδρασης O₃ σε καρυκεύματα και ξηρούς καρπούς

5.1 Το κόκκινο πιπέρι

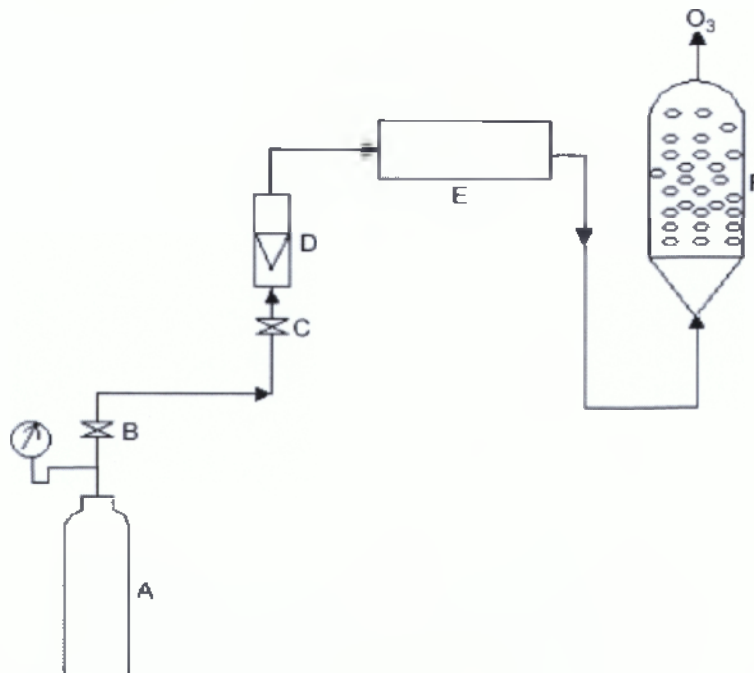
Το κόκκινο πιπέρι το οποίο καλλιεργείται ευρέως ανά τον κόσμο είναι ένα από τα κύρια αγροτικά προϊόντα. Η παραδοσιακή επεξεργασία περιλαμβάνει την αποξηράνση ολόκληρου του καρπού σε ανοιχτό χώρο με έκθεση σε ηλιακό φως. Η διαδικασία αυτή διαρκεί για περίπου 8-10 ημέρες και είναι μια κοινή μέθοδος η οποία ωστόσο παρουσιάζει σοβαρά μειονεκτήματα όπως η χρονική καθυστέρηση, η μόλυνση από κόκκους σκόνης, άμμου και χώματος, η εμφάνιση εντόμων και οι καιρικές συνθήκες. Πολλά από τα είδη μυκήτων τα οποία συναντώνται στο αποξηραμένο κόκκινο πιπέρι που παράγονται έχουν εμφανιστεί λόγω της μεθόδου αυτής και έχουν οδηγήσει με την σειρά τους στην εμφάνιση των αφλατοξινών. Για την επίλυση του προβλήματος αυτού το προϊόν πρέπει να αποξηρανθεί όσο το δυνατόν γρηγορότερα και η επαφή του με το έδαφος να είναι ελάχιστη. Η θερμοκρασία αποθήκευσης, η σχετική υγρασία και η σύνθεση του προϊόντος είναι παράμετροι με ιδιαίτερη σημασία μιας και σε αυτές βασίζεται η εμφάνιση των αφλατοξινών. Το κόκκινο πιπέρι όπως και τα περισσότερα μπαχαρικά αλλά και οι ξηροί καρποί μπορούν να αποτελέσουν κίνδυνο για την δημόσια υγεία μιας και συνήθως προστίθενται σε τροφές χωρίς να υποστούν περαιτέρω επεξεργασία. Το όριο που έχει θέσει η Ευρωπαϊκή Επιτροπή για την παρουσία αφλατοξινών στα μπαχαρικά είναι 5mg/kg. Το κόκκινο πιπέρι είναι προϊόν πολύ ευαίσθητο και για τον λόγο αυτό παρουσιάζει εύκολα μόλυνση από αφλατοξίνες όταν εκτίθεται σε ακατάλληλες συνθήκες επεξεργασίας.

5.2 Πειραματική ανάλυση

Παρακάτω αναλύεται ένα πείραμα αποτοξίνωσης μολυσμένης ποσότητας κόκκινου πιπεριού από την αφλατοξίνη B₁.

Το δείγμα που έχει χρησιμοποιηθεί για την πειραματική έρευνα είναι το κόκκινο πιπέρι. Η κόκκινη πιπεριά από όπου παράγεται το κόκκινο πιπέρι έχει καλλιεργηθεί στην περιοχή Kahramanmaraş της Τουρκίας. Το επίπεδο υγρασίας στο δείγμα προσδιορίστηκε στο τριπλάσιο μέσω ξήρανσης του σε φούρνο κενού στους 70°C με σταθερό βάρος.

Το αέριο όζον παράχθηκε από μια γεννήτρια στεφάνης ιονισμού τύπου Fischer Ozone-502 generator με την χρήση καθαρού οξυγόνου. Η γεννήτρια είχε δυνατότητα παραγωγής 16mg/l όζοντος με ρυθμό ροής καθαρού οξυγόνου στα 35ml/min σε θερμοκρασία δωματίου (25°C). Όσο η ροή οξυγόνου ήταν 50 και 70 ml/min η παραγωγή όζοντος έφτανε τα 33 και 66 mg/l αντίστοιχα. Η πειραματική διάταξη φαίνεται στο σχήμα που ακολουθεί.



Εικ. (13)
 Πειραματική διάταξη

Τα τμήματα της διάταξης είναι:

A Δοχείο οξυγόνου

- B, C Βαλβίδες εισαγωγής
- D Μετρητής ροής αερίου
- E Γεννήτρια παραγωγής όζοντος
- F Αντιδραστήρας όζοντος



Εικ. (14)

Γεννήτρια παραγωγής όζοντος και δοχείο αντιδραστήρα

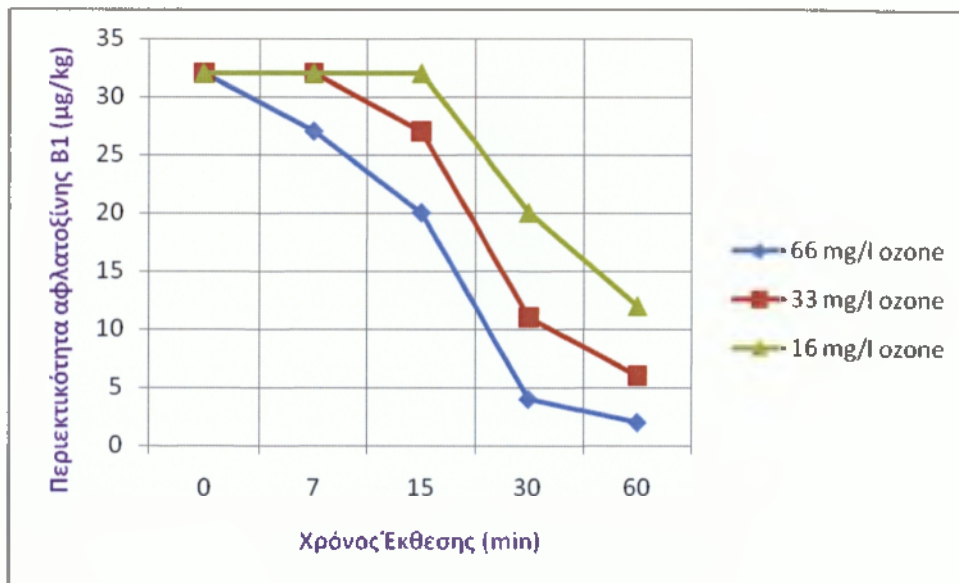
Ποσότητα 150 g τεμαχισμένου δείγματος τοποθετείται σε έναν αντιδραστήρα όζοντος με προκαθορισμένη ροή εισόδου αερίου οξυγόνου. Το οξυγόνο εισέρχεται στον πυθμένα της γεννήτριας παραγωγής όζοντος και το εμπλουτισμένο με όζον αέριο τροφοδοτεί τον χώρο από την κορυφή. Για να είναι δυνατή η μέγιστη επαφή του αερίου και του δείγματος ο αντιδραστήρας ανακινείται συχνά κατά την διάρκεια της διαδικασίας. Το τεμαχισμένο δείγμα εκτίθεται σε όζον διαφορετικών συγκεντρώσεων και για διαφορετικούς χρόνους σε σταθερή θερμοκρασία (25°C) και με 60% σχετική υγρασία. Μετά το πέρας της επεξεργασίας τα δείγματα αποθηκεύτηκαν σε σακούλες πολυαιθυλενίου οι οποίες σφραγίστηκαν με θερμική μέθοδο και αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για να αναλυθούν. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε σε μέρος του δείγματος πριν υποστεί επεξεργασία¹⁹.

¹⁹ Inan F., Pala M., Use of ozone in detoxification of Aflatoxin B₁ in red pepper, (2007), chapter 43, p.425-429

Το δείγμα χωρίστηκε σε δόσεις των 50g και το κάθε πείραμα εκτελέστηκε 3 φορές. Η περιεκτικότητα του δείγματος σε αφλατοξίνη Β₁ πριν την επεξεργασία μετρήθηκε στα 32 μg/kg και η περιεκτικότητα του σε υγρασία ήταν της τάξης του 12.7%.

5.3 Ανάλυση πειραματικών δεδομένων

Μετά από έκθεση σε όζον με συγκέντρωση 16 mg/l για χρόνο 60 λεπτών τα επίπεδα αφλατοξίνης μειώθηκαν στα 12 μg/kg ενώ κατά την έκθεσή του σε όζον με συγκέντρωση 33 mg/l για το ίδιο χρονικό διάστημα η παρουσία της αφλατοξίνης ήταν 6 μg/kg. Κατά την έκθεση του δείγματος σε συγκέντρωση όζοντος 66 mg/l η μετρούμενη αφλατοξίνη ήταν 4 μg/kg και 2 μg/kg για χρόνο 30 και 60 λεπτών αντίστοιχα γεγονός το οποίο υποδεικνύει μείωση κατά 93%. Στη γραφική παράσταση που ακολουθεί φαίνεται η μείωση της συγκέντρωσης της αφλατοξίνης σε συνάρτηση με τον χρόνο έκθεσης για τις διαφορετικές συγκεντρώσεις του όζοντος.



Εικ. (15)

Γραφική Παράσταση

Τα πειραματικά αυτά δεδομένα επιβεβαιώνουν για μια ακόμα φορά τα αποτελέσματα προγενέστερων ερευνών στις οποίες παρατηρήθηκαν μειώσεις στα επίπεδα αφλατοξίνης Β₁ από 56 έως και 95%. Πρέπει να σημειωθεί ότι σε κανένα από τα μέρη του δείγματος δεν παρατηρήθηκαν αλλοιώσεις στην υφή, την εμφάνιση, το χρώμα και την γεύση²⁰.

²⁰ Inan F., Pala M., Use of ozone in detoxification of Aflatoxin B₁ in red pepper, (2007), chapter 43, p.425-429

5.4 Πειραματική εφαρμογή σε φιστίκια

Τα φιστίκια είναι ένα από τα είδη τα οποία επηρεάζονται και προσβάλλονται εύκολα από τις αφλατοξίνες. Για τον λόγο αυτό διάφορες έρευνες και πειράματα έχουν διεξαχθεί για την μείωση των επιπέδων αφλατοξινών σε αυτά. Οι συμβατικές μέθοδοι που έχουν χρησιμοποιηθεί, ωστόσο είτε είναι αναποτελεσματικές είτε ενώ παρέχουν θετικά αποτελέσματα στον τομέα της μείωσης των αφλατοξινών προκαλούν στα είδη αυτά σημαντική μείωση των επιπέδων των πρωτεϊνών τους με αποτέλεσμα να χάνουν μεγάλο μέρος των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών όσο και κατά συνέπεια μέρος της αξίας τους.

Είναι λοιπόν κατανοητό ότι θα πρέπει να βρεθούν μέθοδοι μείωσης των αφλατοξινών οι οποίες δεν θα επηρεάζουν τις ιδιότητες του προϊόντος. Η χρήση του όζοντος έχει δώσει αρκετά θετικά αποτελέσματα και οι ιδιότητες των φιστικιών έχουν διατηρηθεί σε ικανοποιητικά επίπεδα.

Στις μελέτες που έχουν διεξαχθεί χρησιμοποιήθηκαν δείγματα φιστικιού υπό διάφορες συνθήκες υγρασίας, θερμοκρασίας και για διαφορετικούς χρόνους. Στο δείγμα φιστικιού η περιεκτικότητα σε αφλατοξίνη Β₁ ήταν 54 ppb και η υγρασία του μετρήθηκε σε 7.2%.

Η παραγωγή του όζοντος έγινε σε γεννήτρια στεφάνης ιονισμού και οδηγήθηκε σε δοχείο που περιείχε το μείγμα προς μελέτη το οποίο είχε χωρητικότητα 3 λίτρων. Η θερμοκρασία του δοχείου διατηρήθηκε σταθερή με ένα σύστημα ελέγχου ροής θερμού αέρα στα τοιχώματα του δοχείου²¹.

Για την επίτευξη των επιπέδων υγρασίας έγινε σταδιακή μίξη των δειγμάτων με αποσταγμένο νερό για 10 λεπτά. Από την διαδικασία αυτή το δείγμα του φιστικιού κατάφερε να αναπτύξει ποσοστό υγρασίας της τάξης του 30%.

Τα ενυδατωμένα δείγματα μεταφέρθηκαν στο δοχείο μείξης της γεννήτριας όζοντος και θερμάνθηκαν καταλλήλως προτού ξεκινήσει η εισαγωγή του όζοντος στο δοχείο με ροή 25 mg ανά λεπτό. Μετρήσεις των επιπέδων αφλατοξίνης στα δείγματα έγιναν στα 15, 30 και 60 λεπτά και οι συγκεντρώσεις αφλατοξίνης για τους χρόνους αυτούς ήταν 43ppb, 17ppb και 3ppb αντίστοιχα.

²¹ Ali Sheibani, Hassan S., Ghaziaskar S., " Pressurized fluid extraction for quantitative recovery of aflatoxins B1 and B2 from pistachio", (2008), Food control 20, p.124-128

Όπως είναι εμφανές από τα πειραματικά δεδομένα η χρήση όζοντος για την μείωση της περιεκτικότητας αφλατοξίνης παρουσίασε πολύ ενθαρρυντικά αποτελέσματα μιας και στο τέλος της διεξαγωγής του πειράματος τα επίπεδα αφλατοξίνης ήταν τέτοια ώστε να μην αποτελούν κίνδυνο για την υγεία. Επιπλέον θα πρέπει να σημειωθεί ότι από τεστ που διεξήχθησαν στα δείγματα δεν παρουσιάστηκε μείωση στα επίπεδα των πρωτεϊνών τους ούτε και αξιοσημείωτες μεταβολές στα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά.

Θα πρέπει λοιπόν να σημειωθεί ότι και για την περίπτωση των φιστικιών η επεξεργασία με όζον δίνει μια καλή λύση στο πρόβλημα μόλυνσης από αφλατοξίνες χωρίς να επηρεάζει τα προϊόντα αυτά με τρόπο τέτοιο ώστε να τα απογυμνώνει από τις φυσικές ιδιότητες τους.

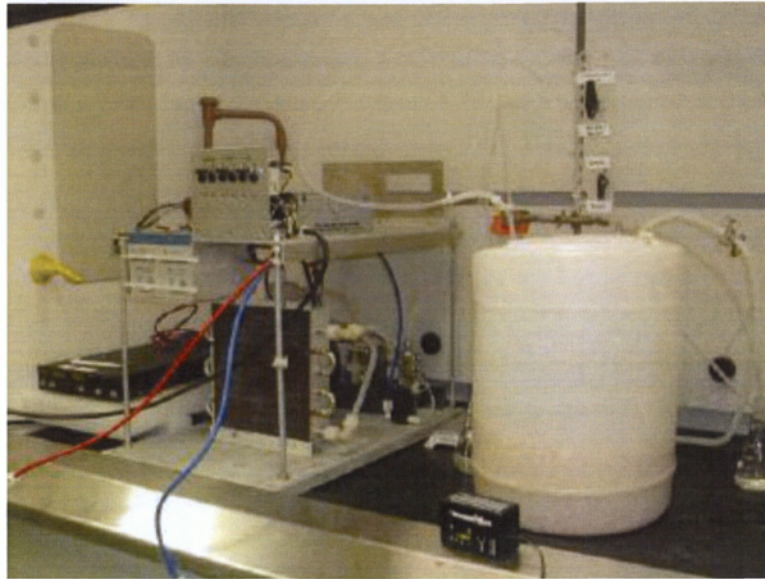
5.5 Πειραματική εφαρμογή σε σπόρους καλαμποκιού

Η συγκεκριμένη μελέτη διεξήχθη με σκοπό την παρατήρηση της επίδρασης του όζοντος και των παραγώγων των αφλατοξινών σε σπόρους καλαμποκιού. Τα δείγματα του καλαμποκιού βάρους 10 κιλών χωρίστηκαν σε δύο μέρη και μόνο το ένα από αυτά υπέστη μόλυνση από αφλατοξίνες. Τα δύο μέρη του δείγματος επεξεργάστηκαν ξεχωριστά με όζον σε αέρια μορφή. Κάθε δείγμα καλαμποκιού τοποθετήθηκε σε έναν αντιδραστήρα χωρητικότητας 30 γαλονιών κατασκευασμένο από πολυαιθυλένιο. Αέριο όζον περιεκτικότητας 10-12% κατά βάρος εισχώρησε στο δοχείο με ροή περίπου 2 l/min. Τα δείγματα παρέμειναν στο δοχείο για 96 ώρες και δέχονταν ανάδευση κάθε 30 min.

Ο λόγος για τον οποίο χρησιμοποιήθηκαν αυτά τα δύο διαφορετικά δείγματα είναι για να μπορέσει να γίνει η σύγκριση και ο καθορισμός της αποτελεσματικότητας της διαδικασίας χρήσης όζοντος στην μείωση των αφλατοξινών αλλά και την επίδραση του όζοντος στην ποιότητα του δείγματος από την σκοπιά της ασφάλειας²². Το δείγμα υπέστη άλεση έτσι ώστε οι κόκκοι του να είναι της τάξης του 1 mm καθώς επίσης και αύξηση των επιπέδων υγρασίας στο 13%. Μέρος του δείγματος βάρους 500g διαλέχτηκε τυχαία από το σύνολο για να καθοριστεί το επίπεδο των αφλατοξινών. Το υπόλοιπο δείγμα τοποθετήθηκε στο δοχείο στο οποίο

²² Prudente A.D., Evaluation of Aflatoxin-related products from ozonated corn, (2008), p.46-19

εισχώρησε αέριο όζον περιεκτικότητας 17% κατά βάρος με ροή περίπου 175 ml/min. Τα δείγματα παρέμειναν στο δοχείο για 96 ώρες και αναδεύονταν κάθε 12 ώρες. Στο σχήμα που ακολουθεί φαίνεται η πειραματική διάταξη.



Εικ. (16)
Πειραματική διάταξη

Τα αποτελέσματα του πειράματος αυτού έδειξαν ότι η επεξεργασία με όζον πράγματι μειώνει της περιεκτικότητα σε αφλατοξίνη μέχρι και 95% και σχηματίζει υδροδιαλυτά υποπροϊόντα τα οποία δεν παρουσιάζουν τοξικές ιδιότητες αλλά ούτε και εμπεριέχουν μεταλλαξιογόνες ουσίες²³. Επιπλέον τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώνουν και άλλες έρευνες που έχουν διεξαχθεί στο παρελθόν οι οποίες υποστηρίζουν ότι η χρήση του όζοντος είναι μια πολύ αποτελεσματική και ασφαλής μέθοδος επεξεργασίας μιας και δεν εντοπίστηκαν δηλητηριώδη παράγωγα ούτε κατά την διάρκεια της διαδικασίας ούτε και στο τελικό προϊόν.

²³ Ribeiro D., Henry P., "Science of Food and Agriculture", (2012), chapter 92, p.899-905

6.Επιδράσεις του όζοντος στον ανθρώπινο οργανισμό

Το όζον ως ισχυρό οξειδωτικό στοιχείο επηρεάζει άμεσα τον ανθρώπινο οργανισμό. Τα αποτελέσματα των ερευνών σχετικά με την χρήση για την απομάκρυνση επιβλαβών τοξινών για την δημόσια υγεία όπως έχει ήδη αναφερθεί είναι αρκετά ενθαρρυντικά και η χρήση του σε διάφορα στάδια παραγωγής και φύλαξης ευπαθών προϊόντων κερδίζει συνεχώς έδαφος²⁴. Για τον λόγο αυτό έρευνες σχετικά με την επίδραση του στον ανθρώπινο οργανισμό διεξάγονται για να δείξουν αν οι υψηλές ή χαμηλές συγκεντρώσεις σε όζον αποτελούν κίνδυνο για την υγεία.

Τα αποτελέσματα αυτών των ερευνών δείχνουν πως τόσο οι χαμηλές όσο και οι υψηλές συγκεντρώσεις όζοντος έχουν διαβρωτικό χαρακτήρα. Οι υψηλές συγκεντρώσεις έχουν ως αποτέλεσμα την άμεση οξείδωση και τον κυτταρικό θάνατο ενώ από την άλλη οι χαμηλές συγκεντρώσεις επηρεάζουν αρνητικά τον μεταβολισμό του ανθρώπινου σώματος και οδηγούν σε πρόωρη κυτταρική γήρανση. Επιπλέον η αέρια μορφή του όζοντος είναι υπεύθυνη για διάφορα φαινόμενα που σχετίζονται με το αναπνευστικό σύστημα όπως βήχας, πόνοι στο στήθος και ερεθισμός της ρινικής κοιλότητας.

Η χρήση του όζοντος έχει συνδεθεί με την ανεπιθύμητη παρουσία βρωμικών ιόντων τα οποία θεωρούνται ως "ύποπτοι καρκινογόνοι παράγοντες". Τα βρωμικά ιόντα δεν αποτελούν κανονικό συστατικό των φυσικών υδάτων, αλλά σχηματίζονται κατά την αντίδραση βρωμιούχων ιόντων με το όζον σύμφωνα με την αντίδραση: $\text{Br}^- + 3\text{O}_3 \rightarrow \text{BrO}_3^- + 3\text{O}_2$. Τα βρωμιούχα ιόντα αποτελούν κανονικό συστατικό των φυσικών πηγών ύδατος που βρίσκονται σε παραθαλάσσιες περιοχές και υπάρχει διείσδυση θαλάσσιου ύδατος (το θαλάσσιο ύδωρ περιέχει περίπου 65 mg Br/L). Διαπιστώθηκε αναλογική συσχέτιση μεταξύ ποσότητας διαβιβαζόμενου όζοντος και συγκέντρωσης παραγόμενων βρωμικών ιόντων.

²⁴ Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1881/2006 της Επιτροπής της 19^{ης} Δεκεμβρίου 2006 «για καθορισμό μέγιστων επιτρεπτών επιπέδων για ορισμένες ουσίες οι οποίες επιμολύνουν τα τρόφιμα»

Βιβλιογραφία

1. Cutler M., "Making food and water safer than ever before with ozone", (2006)
2. Dwarakanath C.T., Rayner E.T., Mann G.E., Dollear F.G., "Reduction of Aflatoxin Levels in Cottonseed and Peanut Meals by Ozonization, (1968), chapter 45
3. Goldblatt, L.A., "Chemistry and control of Aflatoxins", (1980)
4. Heathcote J.G., Hibbert J.R., "Aflatoxins: Chemical and biological aspects", (1978)
5. Inan F., Pala M., Use of ozone in detoxification of Aflatoxin B₁ in red pepper, (2007)
6. Keith A. Scudamore, "Principles and applications of mycotoxin analysis" Mycotoxins, Taplow, Maidenhead, Berkshire UK, chapter 7, p.157-178
7. McKenzie K.S., Sarr A.B., Mayaura K., Bailey R.H., "Oxidative degradation and detoxification of mycotoxins using a novel source of ozone", (1997), chapter 35
8. Proctor A.D., Ahmedna M., Kumar J.V., Goktepe I., "Degradation of aflatoxins in peanut kernels/flour by gaseous ozonation and mild heat treatment", (2004), chapter 21
9. Prudente A.D., Evaluation of Aflatoxin-related products from ozonated corn, (2008)
10. Ribeiro D., Henry P., "Science of Food and Agriculture", (2012), chapter 92
11. Rustemeyer S. M., Lamberson W. R., Ledoux D. R., Rottinghaus G. E., Shaw D. P., Cockrum R. R., Kessler K. L., Austin K. J. and Cammack K. M., " Effects of dietary aflatoxin on the health and performance of growing barrows", (2010)
12. Sheibani A., Hassan S., Ghaziaskar S., " Pressurized fluid extraction for quantitative recovery of aflatoxins B₁ and B₂ from pistachio", (2008), Food control 20, p.124-128
13. Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1881/2006 της Επιτροπής της 19ης Δεκεμβρίου 2006 «για καθορισμό μέγιστων επιτρεπτών επιπέδων για ορισμένες ουσίες οι οποίες επιμολύνουν τα τρόφιμα»

Παραπομπή σε Ιστοσελίδες

- 1Α. Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Χημείας, Φυσικοχημικές Ιδιότητες Αφλατοξίνης, <http://www.chem.uoa.gr/>
- 2Α. UVE Photochemical Reactor, UV-Derivatization Module for Aflatoxin Analysis, www.lctech.de
- 3Α. Aflatoxins, Bad Bug Book, Foodborne Pathogenic Microorganisms and natural Toxins Handbook, www.usda.gov