

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ
ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Εκτίμηση της αποτελεσματικότητας των μυκοδεσμευτικών
παραγόντων ως αναστολείς της δράσης των μυκοτοξινών»**

Ματzaβίνος Αθανάσιος

ΒΟΛΟΣ 2024

**«Εκτίμηση της αποτελεσματικότητας των μυκοδεσμευτικών
παραγόντων ως αναστολείς της δράσης των μυκοτοξινών»**

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

1) Ελένη Γκολομάζου, Αν. Καθηγήτρια, Προστασία-Ευζωία Ιχθύων, Τμήμα Γεωπονίας

Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών,

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Επιβλέπων.

2) Παναγιώτα Παναγιωτάκη, Καθηγήτρια, Υδατοκαλλιέργειες, Τμήμα Γεωπονίας

Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών,

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Μέλος.

3) Γεώργιος Ρήγος, Διευθυντής Ερευνών, Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας,

Βιοτεχνολογίας και Υδατοκαλλιεργειών (ΙΘΑΒΒΥΚ), Μέλος.

Περιεχόμενα

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	5
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	7
1.1 Μυκοτοξίνες	7
1.1.1 Βασικές μυκοτοξίνες.....	9
1.1.2 Αφλατοξίνη - Κίνδυνοι Δημόσια Υγεία και περιορισμοί	10
1.1.3 Αντιμετώπιση μυκοτοξινών	15
1.2 Το καλαμπόκι ως πρώτη ύλη στις ζωοτροφές	15
1.3.1 Ατταπουλγίτης.....	19
1.3.2 Χρήση ατταπουλγίτη σε καλαμπόκι.....	20
1.4 Φασματοσκοπία εγγύς υπερύθρου (FT-NIR)	21
1.5 Σκοπός της παρούσας διατριβής.....	25
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	26
2.1 Πειραματικό πρωτόκολλο.....	26
2.2 Προκατεργασία και ανάλυση δείγματος.....	26
2.3 Στατιστική ανάλυση.....	33
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	34
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	36
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	41

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ασφάλεια των τροφίμων αποτελεί προτεραιότητα για την ανθρωπότητα. Μια σημαντική απειλή για την ασφάλεια των τροφίμων αποτελούν οι μυκοτοξίνες, που παράγονται από μύκητες οι οποίες μολύνουν τις καλλιέργειες αγρού και μολύνουν τα ακατέργαστα γεωργικά προϊόντα καθώς και τα μεταποιημένα τρόφιμα και ζωοτροφές. Αυτές οι μυκητιακές τοξίνες παρουσιάζουν μια σειρά από δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία των ζώων, ακόμη και σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, και έχουν συνδεθεί με περιπτώσεις οξείας και χρόνιας δηλητηρίασης ανθρώπων και αγροτικών ζώων από την ιστορική εποχή. Οι μυκοτοξίνες όχι μόνο θέτουν σε κίνδυνο την υγεία των καταναλωτών και των ζώων, αλλά αποτελούν επίσης πρόβλημα για το διεθνές εμπόριο και σημαντικό ζήτημα για τους εθνικούς και διεθνείς ρυθμιστικούς φορείς, οι οποίοι πρέπει να αντιμετωπίσουν την ανάγκη να καθορίσουν όρια για την περιεκτικότητα σε μυκοτοξίνες στα τρόφιμα και τις ζωοτροφές και να εναρμονίσουν τα πρότυπα σε όλο τον κόσμο, λαμβάνοντας υπόψη τόσο την ασφάλεια των καταναλωτών όσο και τις κοινωνικές και οικονομικές επιπτώσεις των ρυθμιστικών μέτρων. Η εμφάνιση μυκοτοξινών δεν μπορεί να αποφευχθεί πλήρως, αλλά ορισμένα μέτρα που αποσκοπούν στην ελαχιστοποίηση των επιπέδων μυκοτοξινών και της έκθεσης σε μυκοτοξίνες μπορούν να εφαρμοστούν σε πολλαπλά σημεία της αλυσίδας τροφίμων και ζωοτροφών. Ο πρωταρχικός στόχος της μελέτης ήταν η διερεύνηση της αποτελεσματικότητας του ατταπουλγίτη στον μετριασμό της συγκέντρωσης των μυκοτοξινών σε σπόρους καλαμποκιού. Αν και τα αποτελέσματα έδειξαν μερική επιτυχία στην αντιμετώπιση των επιπτώσεων της επιμόλυνσης με φουμονισίνες, η περαιτέρω ανάλυση και ερμηνεία των αποτελεσμάτων είναι απαραίτητη για την πλήρη κατανόηση των ειδικών επιδράσεων της επεξεργασίας με ατταπουλγίτη στους σπόρους καλαμποκιού που έχουν επηρεαστεί από μυκοτοξίνες. Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν μια πολλά υποσχόμενη κατεύθυνση για μελλοντική έρευνα με σκοπό τη βελτιστοποίηση της χρήσης του ατταπουλγίτη για την αντιμετώπιση της μόλυνσης από μυκοτοξίνες σε γεωργικά πλαίσια, οδηγώντας δυνητικά σε βελτιωμένη ποιότητα σπόρων και απόδοση της καλλιέργειας.

Λέξεις-κλειδιά: Μυκοτοξίνες, Μυκοδεσμευτικοί παράγοντες, Ατταπουλγίτης, Ιχθυοκαλλιέργειες

ABSTRACT

Food safety is one of the greatest priorities for humanity. A major threat to food safety is mycotoxins, produced by fungi that contaminate field crops and contaminate raw agricultural products as well as processed food and feed. These fungal toxins exhibit a range of adverse effects on animal health, even at very low concentrations, and have been associated with cases of acute and chronic poisoning of humans and farm animals since historical times. Mycotoxins not only pose a risk to consumer and animal health, but are also a problem for international trade and an important issue for national and international regulators, who must address the need to set limits for mycotoxin content in food and feed and to harmonise standards worldwide, taking into account both consumer safety and the social and economic impact of regulatory measures. The occurrence of mycotoxins cannot be completely avoided, but certain measures aimed at minimizing mycotoxin levels and exposure to mycotoxins can be implemented at multiple points in the food and feed chain. The primary objective of this study was to investigate the effectiveness of attapulgite in mitigating mycotoxin concentration in corn grain. Although the results showed partial success in counteracting the effects of fumonisin contamination, further analysis and interpretation of the results are necessary to fully understand the specific effects of attapulgite treatment on mycotoxin-affected corn grain. These findings suggest a promising direction for future research to optimize the use of attapulgite to address mycotoxin contamination in agricultural contexts, potentially leading to improved seed quality and crop yield.

Keywords: Mycotoxins, Mycobacteria, Mycotoxin binding, Attapulgite, Fish farms

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Μυκοτοξίνες

Οι μυκοτοξίνες είναι δευτερογενείς μεταβολίτες που παράγονται από μύκητες οι οποίοι μπορούν να μολύνουν όλα τα στάδια της τροφικής αλυσίδας και είναι τοξικοί ή καρκινογόνοι για τα ζώα και τον άνθρωπο. Ένα χαμηλό επίπεδο μυκοτοξινών στα τρόφιμα θεωρείται γενικά αναπόφευκτο εξαιτίας 1) των ασυνήθιστων καιρικών συνθηκών, 2) ζημιές από έντομα-παράσιτα, 3) και η ακατάλληλη αποθήκευση συγκομιδής μπορούν να αυξήσουν την ποσότητα των μυκοτοξινών στις καλλιέργειες, προκαλώντας εκτεταμένες ανθρώπινες ασθένειες. Παρόλο που έχουν υλοποιηθεί διάφορες δράσεις για τη διαχείριση της μυκητιακής μόλυνσης, οι τοξινογόνοι μύκητες είναι πανταχού παρόντες στη φύση και έτσι εμφανίζονται συχνά στα τρόφιμα ως συνέπεια της μόλυνσης ευαίσθητων υποστρωμάτων. Έχει αναφερθεί ότι το 25% των καλλιεργειών στον κόσμο υφίστανται ζημιές από μούχλα ή ανάπτυξη μυκήτων.

Στο πλαίσιο της ασφάλειας των τροφίμων, ο κίνδυνος ορίζεται ως η εκτίμηση της πιθανότητας/πιθανότητας εμφάνισης μιας δυσμενούς επίπτωσης στην υγεία του ανθρώπου, σταθμισμένης ως προς τη σοβαρότητά της, η οποία μπορεί να προκύψει από την έκθεση σε έναν βιολογικό, χημικό ή φυσικό παράγοντα στα τρόφιμα. Η ανάλυση κινδύνου είναι ένα επιστημονικό εργαλείο που εφαρμόζεται στην ασφάλεια των τροφίμων και περιλαμβάνει τρία ξεχωριστά μέρη: α) εκτίμηση κινδύνου: λεπτομερής ανάλυση της εμφάνισης γνωστών ή δυνητικών δυσμενών επιπτώσεων στην υγεία από την έκθεση του ανθρώπου σε κινδύνους για τα τρόφιμα- β) διαχείριση κινδύνου: διαδικασία στάθμισης εναλλακτικών επιλογών πολιτικής υπό το πρίσμα της εκτίμησης του κινδύνου και των στρατηγικών ελέγχου και των ρυθμιστικών δράσεων- γ) επικοινωνία κινδύνου: ανταλλαγή πληροφοριών και απόψεων σχετικά με τις επιλογές και τις δράσεις διαχείρισης κινδύνου μεταξύ των διαχειριστών κινδύνου, των καταναλωτών και άλλων ενδιαφερόμενων υποκειμένων (FAO, 2004).

Οι κανονισμοί βασίζονται κυρίως στις αναφερθείσες τοξικές επιδράσεις. Για τις σημαντικότερες μυκοτοξίνες (δεοξυνιβαλενόλη (DON), ζεαραλενόνη, τοξίνες T-2 και HT-2, αφλατοξίνες (AFs), ωχρατοξίνη Α (OTA), πατουλίνη (PAT), φουμονισίνες (FBs)), η Κοινή Επιτροπή Εμπειρογνομώνων FAO/WHO για τα Πρόσθετα Τροφίμων (JECFA) έχει διερευνήσει την επικινδυνότητα και τον κίνδυνο σε διάφορες συνόδους (WHO,

1990-WHO, 2002). Η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA) έχει επίσης αξιολογήσει τις μυκοτοξίνες στα τρόφιμα και τις ζωοτροφές σε διάφορες γνωμοδοτήσεις.

Για την αξιολόγηση του κινδύνου, η έκθεση του πληθυσμού (ή υποομάδων του πληθυσμού) στις μυκοτοξίνες συγκρίνεται με τη σχετική κατευθυντήρια τιμή που βασίζεται στην υγεία, όπως η ανεκτή ημερήσια πρόσληψη (TDI) ή η προσωρινή μέγιστη ανεκτή ημερήσια πρόσληψη (PMTDI). Μια TDI ή μια PMTDI προκύπτει από τον προσδιορισμό της υψηλότερης δόσης που δεν έχει καμία επίδραση στα πιο ευαίσθητα είδη που δοκιμάστηκαν και την εφαρμογή ενός συντελεστή ασφάλειας ή αβεβαιότητας.

Τα παιδιά μπορεί να αποτελούν μια ιδιαίτερα ευάλωτη κατηγορία σε σχέση με την κατανάλωση μυκοτοξινών, δεδομένου ότι καταναλώνουν περισσότερα τρόφιμα από τους ενήλικες όταν εκφράζονται ανά κιλό σωματικού βάρους (ΣΒ) (Health Council of the Netherlands, 2004), με συνέπεια μεγαλύτερη έκθεση σε τοξικές ενώσεις. Τα παιδιά έχουν περισσότερο χρόνο να αναπτύξουν χρόνιες ασθένειες, καθώς έχουν περισσότερα μελλοντικά έτη ζωής από τους ενήλικες (FAO, 2005). Επιπλέον, τα παιδιά έχουν διαφορετική φυσιολογία σε σύγκριση με τους ενήλικες. Η πτυχή αυτή συζητήθηκε σε έκθεση που δημοσίευσε η ολλανδική Αρχή Ασφάλειας Τροφίμων και Καταναλωτικών Προϊόντων (Health Council of the Netherlands, 2004)

1.1.1 Βασικές μυκοτοξίνες

Έχουν εντοπιστεί αρκετές μυκοτοξίνες και αυτές που έχουν σημαντική σημασία στις ζωοτροφές παράγονται κυρίως από τα πέντε γένη μυκήτων *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Claviceps* και *Alternaria*. Περίπου 400 ενώσεις έχουν ταυτοποιηθεί ως μυκοτοξίνες (Palumbo et al. 2020).

Οι μυκοτοξίνες συνήθως κατηγοριοποιούνται με βάση τον τύπο του μύκητα που τις παράγει ή την ονομασία τους. Ανάλογα με τον τύπο της μυκοτοξίνης και τον μύκητα που την παράγει, μπορούν να επηρεάζουν διάφορα γεωργικά προϊόντα. Ορισμένες από τις κύριες κατηγορίες μυκοτοξινών στα γεωργικά προϊόντα περιλαμβάνουν (Matejova et al. 2016):

Αφλατοξίνες: Οι αφλατοξίνες είναι μυκοτοξίνες που παράγονται από ορισμένους μύκητες του γένους *Aspergillus*. Συχνά βρίσκονται σε καλλιέργειες όπως αραχίδες, φυστίκια, αμύγδαλα και σπόροι καλαμποκιού.

Ωχρατοξίνες: Οι ωχρατοξίνες είναι μυκοτοξίνες που παράγονται από διάφορα είδη μυκητιακών στελεχών *Aspergillus* και *Penicillium*. Βρίσκονται συχνά σε δημητριακά, καφέ, σταφίδες και κρασί.

Fusarium μυκοτοξίνες οι οποίες είναι τοξικοί μεταβολίτες του γένους *Fusarium* και παράγουν τις παρακάτω επικίνδυνες μυκοτοξίνες:

- **Φουμονισίνες (FBs):** Οι φουμονισίνες είναι γνωστές για την τοξικότητά τους και τον αρνητικό τους αντίκτυπο στην υγεία του ανθρώπου και των ζώων. Αυτές οι μυκοτοξίνες μπορεί να βρίσκονται σε διάφορα γεωργικά προϊόντα και τρόφιμα. Οι δύο κύριες φουμονισίνες είναι η Φουμονισίνη B1 (Fumonisin B1) η οποία είναι η πιο κοινή και τοξική από τις φουμονισίνες. Βρίσκεται κυρίως σε καλαμπόκι και προϊόντα που παράγονται από το καλαμπόκι, όπως αλεύρι καλαμποκιού. Και η Φουμονισίνη B2 (Fumonisin B2) η οποία είναι μια παραλλαγή της φουμονισίνης B1 και έχει παρόμοιες τοξικές ιδιότητες. Οι φουμονισίνες είναι επιβλαβείς για τον οργανισμό, καθώς έχουν συσχετιστεί με διάφορα προβλήματα υγείας, συμπεριλαμβανομένων των νευρολογικών προβλημάτων και ανθεκτικότητας σε ορισμένους καρκίνους. Επομένως, είναι σημαντικό να υπάρχει προσεκτικός έλεγχος και πρόληψη στη γεωργία και την τροφική αλυσίδα για να μειωθεί ο κίνδυνος εκθέσεως σε αυτές τις μυκοτοξίνες. (Matejova et al. 2016)

- Ζεαραλενόνη (ZEN): Η ζεαραλενόνη επηρεάζει κυρίως τον καλαμπόκι και τα σιτηρά (Matejova et al. 2016)

- Τριχοθηκένια τα οποία είναι μια ομάδα μυκοτοξινών που παράγονται από μύκητες των ειδών *Fusarium*, *Dendrochium*, *Myrothecium*, *Trichothecium*, *Trichoderma*, *Stachybotrys*, *Cephalosporium*, and *Verticimonosporium*. Επηρεάζουν το καλαμπόκι το σιτάρι, το κριθάρι και άλλα συστατικά που χρησιμοποιούνται ως συστατικά στις ιχθυοτροφές. Τα δυο πιο σημαντικά τριχοθηκένια στην μυκοτοξίνωση των ζώων συμπεριλαμβανομένου και των ψαριών είναι η Δεσοξυνιβαλενόλη (DON) και η T-2 Toxin (Matejova et al. 2016).

Αυτές οι μυκοτοξίνες μπορούν να προκαλέσουν προβλήματα υγείας και να μειώσουν την ποιότητα και την ασφάλεια των γεωργικών προϊόντων. Συνεπώς, είναι σημαντικό να υπάρχει προσεκτική παρακολούθηση και έλεγχος στην αλυσίδα τροφίμων και στην αγροτική παραγωγή για τη μείωση του κινδύνου της μυκοτοξίνης και την προστασία της υγείας των καταναλωτών.

1.1.2 Αφλατοξίνη - Κίνδυνοι Δημόσια Υγεία και περιορισμοί

Ίσως, η πιο γνωστή από αυτές τις τροφιμογενείς μυκοτοξίνες είναι η αφλατοξίνη, επειδή προκαλεί καρκίνο του ήπατος στον άνθρωπο και σε άλλα ζωικά είδη. Άλλες σημαντικές για τη γεωργία μυκοτοξίνες είναι η φουμονισίνη, η δεοξυνιβαλενόλη και τα τριχοθηκένια, η ζεαραλενόνη και η ωχρατοξίνη Α.

Η αφλατοξίνη, η πρώτη μυκοτοξίνη που ταυτοποιήθηκε, ανακαλύφθηκε το 1960, αφού περισσότερες από 100 000 γαλοπούλες πέθαναν από την κατανάλωση μολυσμένου αλεύρου φυστικιών στο Ηνωμένο Βασίλειο. Η αφλατοξίνη παράγεται από τους μύκητες *Aspergillus flavus* και *A. parasiticus* και μολύνει το καλαμπόκι, τους ξηρούς καρπούς (π.χ. αμύγδαλα και φιστίκια) και τους βαμβακόσπορους. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας κατατάσσει τα "φυσικά απαντώμενα μείγματα αφλατοξινών" ως καρκινογόνο για τον άνθρωπο της ομάδας 1, δηλαδή τα στοιχεία είναι σαφή ότι η αφλατοξίνη προκαλεί καρκίνο στον άνθρωπο. Παγκοσμίως, η αφλατοξίνη ευθύνεται για περισσότερους από 100 000 θανάτους από καρκίνο του ήπατος ετησίως, οι περισσότεροι από τους οποίους συμβαίνουν σε χώρες χαμηλού και μεσαίου εισοδήματος, όπου το καλαμπόκι και τα

φιστίκια αποτελούν βασικά διατροφικά προϊόντα. Επιπλέον, τα γαλακτοπαραγωγά ζώα που καταναλώνουν αφλατοξίνη B1 (την πιο καρκινογόνο μορφή της αφλατοξίνης) στην τροφή τους εκκρίνουν στο γάλα τον μεταβολίτη αφλατοξίνη M1 (AFM1), αν και ο κίνδυνος καρκίνου από την AFM1 για τον άνθρωπο είναι εξαιρετικά χαμηλός. Σε υψηλές δόσεις τόσο στον άνθρωπο όσο και στα ζώα, η αφλατοξίνη μπορεί επίσης να προκαλέσει δυσλειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, διαταραχή της ανάπτυξης των παιδιών και οξεία ηπατική ανεπάρκεια.

Επειδή η αφλατοξίνη ρυθμίζεται στα ανθρώπινα τρόφιμα, στις τροφές κατοικίδιων ζώων και στις ζωοτροφές στις Ηνωμένες Πολιτείες, δεν εγκυμονεί τόσο κινδύνους για την υγεία των ανθρώπων και των ζώων όσο ζητήματα αποβλήτων τροφίμων που μπορούν να οδηγήσουν σε σοβαρές οικονομικές απώλειες. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων έχει ορίσει ένα επίπεδο δράσης για την επιτρεπόμενη αφλατοξίνη στα ανθρώπινα τρόφιμα στα 20 µg/kg. Ενώ αυτό το επίπεδο δράσης εξασφαλίζει την ασφάλεια των τροφίμων για τους Αμερικανούς καταναλωτές, σημαίνει επίσης οικονομικές απώλειες για τους Αμερικανούς καλλιεργητές καλαμποκιού όταν το καλαμπόκι τους υπερβαίνει αυτό το όριο. Τότε, είτε πωλείται με έκπτωση ως ζωοτροφή είτε απορρίπτεται ως ολική απώλεια ως απόβλητο τροφίμων. Αυτό αποτέλεσε πρόβλημα σε έτη όπως το 2012, όταν τα ζεστά και ξηρά καλοκαίρια αύξησαν τον κίνδυνο αφλατοξίνης σε όλη τη ζώνη του καλαμποκιού (Jawada et al. 2018), είχαν ως αποτέλεσμα απώλειες για τους καλλιεργητές καλαμποκιού από την άποψη της σπατάλης τροφίμων, ή ακινητοποιημένες τιμές σιτηρών που ξεπερνούν το 1 δισεκατομμύριο δολάρια ΗΠΑ

Άλλες μυκοτοξίνες στο καλαμπόκι προκαλούν ασθένειες σε ανθρώπους και ζώα. Η φουμονισίνη, που παράγεται από τα *F. verticillioides* και *F. proliferatum* στο καλαμπόκι, έχει συνδεθεί με καρκίνο του οισοφάγου, ελαττώματα του νευρικού σωλήνα στα μωρά, διαταραχές στην ανάπτυξη των παιδιών και ασθένειες του εγκεφάλου και των πνευμόνων στα ζώα. Η δεοξυνιβαλενόλη και άλλα τριχοθηκένια, που παράγονται από το *F. graminearum* και το *F. culmorum* σε μια ποικιλία δημητριακών, συμπεριλαμβανομένου του καλαμποκιού, του σιταριού, του κριθαριού και της βρώμης, προκαλούν επιπτώσεις στην υγεία που κυμαίνονται από γαστρεντερικές ασθένειες (μια κοινή ονομασία για τη δεοξυνιβαλενόλη είναι "εμετοξίνη"), απόρριψη τροφίμων και ζωοτροφών και ανοσοτοξικότητα. Η ζεαραλενόνη, που παράγεται από τους ίδιους μύκητες υπό διαφορετικές συνθήκες αγρού, προκαλεί οιστρογονικές επιδράσεις. Η ωχρατοξίνη A, μια

νεφρική τοξίνη, παράγεται τόσο από τα είδη *Penicillium* όσο και από τα είδη *Aspergillus* σε πολλά τρόφιμα, συμπεριλαμβανομένου του καλαμποκιού.

Από τότε που εντοπίστηκαν και χαρακτηρίστηκαν αυτές οι μυκοτοξίνες, διάφορες γεωργικές παρεμβάσεις έχουν προσπαθήσει να μειώσουν την παρουσία τους στα τρόφιμα, ιδίως στο καλαμπόκι, καθώς είναι βασική καλλιέργεια παγκοσμίως και ιδιαίτερα ευάλωτη στη μόλυνση από τοξινογόνους μύκητες. Από τη δεκαετία του 1990, το βιοτεχνολογικό καλαμπόκι - συγκεκριμένα το μεταλλαγμένο καλαμπόκι - έχει φυτευτεί στις Ηνωμένες Πολιτείες και σε όλο τον κόσμο. Οι πρωταρχικοί σκοποί αυτών των πρώτων μεταλλαγμένων ποικιλιών καλαμποκιού ήταν η προστασία από έντομα-εχθρούς και η ανοχή σε ζιζανιοκτόνα, για τη βελτίωση των αποδόσεων και τη μείωση των γεωργικών εισροών και των απαιτήσεων σε εργασία. Όμως, η μείωση των μυκοτοξινών ανακαλύφθηκε ως δευτερεύον όφελος του καλαμποκιού στα τέλη της δεκαετίας του 1990: η μειωμένη ζημιά από έντομα σήμαινε λιγότερες πληγές εισόδου για τους τοξινογόνους μύκητες να μολύνουν το καλαμπόκι. Σήμερα, ειδικά για τον σκοπό της μείωσης των μυκοτοξινών, η επαγόμενη από τον ξενιστή γονιδιακή αποσιώπηση (HIGS) των φυτοπαθογόνων μέσω τεχνολογιών RNA-παρεμβολής (RNAi) και τεχνολογιών γονιδιακής επεξεργασίας εφαρμόζεται στο καλαμπόκι και σε άλλες καλλιέργειες σε εργαστηριακές συνθήκες και σε συνθήκες αγρού.

Εκτιμάται ότι περίπου 5 δισεκατομμύρια άνθρωποι παγκοσμίως υποφέρουν από ανεξέλεγκτη έκθεση στην αφλατοξίνη (Klingelhöfer et al. 2018). Οι επιπτώσεις της αφλατοξίνης στην υγεία διαπερνούν την Αφρική και την Ανατολική Ασία. Οι επιπτώσεις αυτές θα μπορούσαν να μετριαστούν με την αποτελεσματική χρήση των σημερινών γεωργικών γνώσεων και των πρακτικών δημόσιας υγείας. Η συζήτηση για το πρόβλημα αυτό και τα μέτρα αντιμετώπισής του πρέπει να περιλαμβάνει το υποκείμενο ζήτημα της ανεπάρκειας τροφίμων και των γενικότερων οικονομικών προκλήσεων στις αναπτυσσόμενες χώρες.

Έχουν αναπτυχθεί διάφορες παρεμβάσεις για τη μείωση και την πρόληψη της τοξικότητας της αφλατοξίνης. Αυτές κυμαίνονται από μεθόδους ελέγχου της αφλατοξίνης στη γεωργική πρακτική μέσω χημειοπροστατευτικών διατροφικών συστατικών έως τον εμβολιασμό κατά του HBV. Οι γεωργικές παρεμβάσεις για τη μείωση της αφλατοξίνης θα μπορούσαν να γίνουν είτε σε συνθήκες πριν από τη συγκομιδή (στον αγρό) είτε μετά τη συγκομιδή (ζήρανση, αποθήκευση, μεταφορά κ.λπ.).

Εν τω μεταξύ, υπάρχει αυξανόμενο ερευνητικό ενδιαφέρον για τη χρήση ορισμένων ουσιών που είναι διαθέσιμες στα τρόφιμα και τα φυσικά προϊόντα για τη μείωση των δυσμενών επιπτώσεων της αφλατοξίνης στον οργανισμό. Δεσμεύοντας την αφλατοξίνη στο γαστρεντερικό σωλήνα ή επάγοντας ένζυμα που εμπλέκονται σε μονοπάτια μεταβολισμού της αφλατοξίνης, διάφορες ουσίες μπορούν να μειώσουν τη βιοδιαθεσιμότητα της αφλατοξίνης στον άνθρωπο.

Η κατανόηση του κόστους και της αποτελεσματικότητας των διαφόρων παρεμβάσεων για τον έλεγχο της αφλατοξίνης μπορεί να βοηθήσει τους υπεύθυνους λήψης αποφάσεων - είτε πρόκειται για κυβερνητικούς φορείς χάραξης πολιτικής είτε για αγρότες ή καταναλωτές - να κατανέμουν τους πόρους με τον καλύτερο δυνατό τρόπο, ιδίως σε συνθήκες έλλειψης. Τρεις μελέτες περίπτωσης για τη σχέση κόστους-αποτελεσματικότητας του ελέγχου της αφλατοξίνης στις Ηνωμένες Πολιτείες: δύο παράγοντες βιοελέγχου (Afla-Guard™ σε αραχίδες και AF36 σε βαμβακόσπορο) και μια διαγονιδιακή καλλιέργεια (αραβόσιτος Bt). Ωστόσο, η αξιολόγηση αυτή περιορίστηκε στις Ηνωμένες Πολιτείες και ενδέχεται να μην έχει την ίδια εφαρμογή παγκοσμίως. Η παρούσα μελέτη εξετάζει τα διαθέσιμα δεδομένα σχετικά με το κόστος και την αποτελεσματικότητα των παρεμβάσεων που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για τον έλεγχο της αφλατοξίνης από παγκόσμια άποψη.

Επειδή τα περισσότερα προβλήματα αφλατοξίνης αρχίζουν και αναπτύσσονται στον αγρό, απαιτούνται στρατηγικές για την πρόληψη της μόλυνσης των αναπτυσσόμενων φυτών από τοξινογόνους μύκητες (Palumbo R. et al. 2019) Η ανάπτυξη γενετικής ανθεκτικότητας στους *Aspergillus* στον αραβόσιτο και στα αραχίδια αποτελεί υψηλή προτεραιότητα. Παγκοσμίως, τα πλεονεκτήματα της χρήσης ανθεκτικών γονότυπων φυτών περιλαμβάνουν άμεσα οφέλη για την υγεία και τα οικονομικά οφέλη, την έλλειψη επιπτώσεων στις καλλιέργειες ή το περιβάλλον και τη δυνατότητα χρήσης αυτών των γονότυπων σε συνδυασμό με άλλες στρατηγικές ελέγχου της αφλατοξίνης.

Έχουν εντοπιστεί πηγές ανθεκτικότητας σε καθένα από αυτά τα παθογόνα και έχουν ενσωματωθεί σε δημόσια και ιδιωτικά προγράμματα αναπαραγωγής και έχουν επεκταθεί ώστε να συμπεριλάβουν γραμμές βλαστικού πλάσματος από την Αφρική. Έχουν εντοπιστεί δυνητικοί βιοχημικοί και γενετικοί δείκτες ανθεκτικότητας σε καλλιέργειες, ιδίως στον αραβόσιτο, οι οποίοι χρησιμοποιούνται ως επιλέξιμοι δείκτες στην αναπαραγωγή για ανθεκτικότητα στη μόλυνση από αφλατοξίνες (Accinelliet al. 2014).

Διάφορες πρωτεΐνες που σχετίζονται με την ανθεκτικότητα (RAPs) περιλαμβάνουν, μεταξύ άλλων, πρωτεΐνες σφαιρίνης-2, άφθονες πρωτεΐνες της όψιμης εμβρυογένεσης (LEA3 και LEA14), μια αντιοξειδωτική υπεροξειδοξίνη που σχετίζεται με το στρες (PER1), πρωτεΐνες θερμικού σοκ (HSP17.2), μια πρωτεΐνη που ρυθμίζεται από το κρύο (COR) και μια αντιμυκητιασική πρωτεΐνη αναστολέα της θρυψίνης (TI). Τώρα που έχει ολοκληρωθεί η αλληλούχιση του γονιδιώματος του *A. flavus* και έχουν εντοπιστεί γονίδια που ενδεχομένως κωδικοποιούν ένζυμα που εμπλέκονται στην παραγωγή αφλατοξινών, η γονιδιωματική ως εργαλείο για την καταπολέμηση της βιοσύνθεσης των αφλατοξινών έχει κερδίσει πολύ έδαφος (Bhatnagar et al. 2006)

Ο βιοέλεγχος της αφλατοξίνης αναφέρεται στη χρήση οργανισμών για τη μείωση της συχνότητας εμφάνισης *Aspergillus* σε ευαίσθητες καλλιέργειες, ώστε να μειωθεί η μόλυνση από αφλατοξίνη. Η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος βιοελέγχου χρησιμοποιεί ατοξινογόνα στελέχη *Aspergillus* που μπορούν να αποκλείσουν ανταγωνιστικά τα τοξινογόνα στελέχη από τον αποικισμό των καλλιεργειών. Αυτές οι μέθοδοι βιοελέγχου έχουν χρησιμοποιηθεί σε αραβόσιτο, αραχίδες και βαμβακόσπορο παγκοσμίως. Είναι σημαντικό ότι στην Αφρική έχουν βρεθεί μη τοξινογόνα στελέχη *A. flavus*, τα οποία υπόσχονται τον έλεγχο της αφλατοξίνης στον αφρικανικό αραβόσιτο (Atehnkeng et al. 2008). Οι μέθοδοι βιοελέγχου, αν και εφαρμόζονται στον αγρό, μπορούν να οδηγήσουν σε μείωση της αφλατοξίνης στις καλλιέργειες για διάστημα έως και έξι μηνών μετά τη συγκομιδή.

Οι καλλιεργητικές πρακτικές, συμπεριλαμβανομένης της αμειψισποράς, της κατεργασίας του εδάφους, της ημερομηνίας φύτευσης και της διαχείρισης της άρδευσης και της λίπανσης, μπορούν επίσης να συμβάλουν στην πρόληψη της μόλυνσης από *Aspergillus* και της επακόλουθης συσσώρευσης αφλατοξινών μειώνοντας το στρες των φυτών. Αυτές οι πρακτικές μπορούν να έχουν σημαντικές επιπτώσεις στη μόλυνση και την επακόλουθη συσσώρευση μυκοτοξινών. Τελικά, ένας συνδυασμός στρατηγικών πριν από τη συγκομιδή, όπως περιγράφεται παραπάνω, μπορεί να απαιτείται επαρκώς για την πρόληψη της μόλυνσης από μυκοτοξίνες στον αγρό (Tyska d. et. al. 2021).

1.1.3 Αντιμετώπιση μυκοτοξινών

Έχουν χρησιμοποιηθεί στρατηγικές για την πρόληψη της ανάπτυξης των μυκήτων και την απομάκρυνση της τοξίνης από τα τρόφιμα. Οι στρατηγικές, περιλαμβάνουν την ακτινοβολήση, την επεξεργασία με ουδέτερο ηλεκτρολυμένο οξειδωτικό νερό, τη μικροβιακή αναστολή και αποικοδόμηση και την προσρόφηση σε συνθετικά και βιολογικά υλικά. Ενώ ορισμένες προσεγγίσεις μπορεί να είναι απλές, αποτελεσματικές και φιλικές προς το περιβάλλον, μπορεί να παρουσιάζουν προβλήματα, όπως η απώλεια θρεπτικών συστατικών και οργανοληπτικών ιδιοτήτων, οι ανάγκες για ειδικό εξοπλισμό ή η εισαγωγή μη βρώσιμων προσροφητικών ουσιών στο σύστημα. Ως εκ τούτου, υπάρχει ανάγκη να διερευνηθεί η πρόληψη των μυκοτοξινών της απολύμανσης με υλικά που είναι κατάλληλα/ασφαλή για τρόφιμα, βιώσιμα και ευρέως διαδεδομένα. Για παράδειγμα, προηγούμενη μελέτη μας έδειξε ότι η ανάπτυξη του *A. flavus* αναστέλλεται από πολυφαινόλες που εξάγονται από υποπροϊόντα φλούδας εσπεριδοειδών.

Τα τελευταία χρόνια, τα γεωργικά υποπροϊόντα έχουν δείξει καλή ικανότητα προσρόφησης διαφόρων μυκοτοξινών σε ρυθμιστικά διαλύματα. Οι Greco et al. (2019), χρησιμοποίησαν ένα μικτό διάλυμα που περιείχε $1 \mu\text{g ml}^{-1}$ από κάθε AFB1, ζεαραλενόνη (ZEN), ωχρατοξίνη A (OTA) και φουμονισίνη B1 (FB1), και διαπίστωσε ότι η φλούδα ροδιού (55%), η φλούδα πλατάνου (67%), η φλούδα αμυγδάλου (87%), τα χαρούπια (100%) και οι πυρήνες σταφυλιών (94%) είχαν ισχυρή προσρόφηση στην AFB1, ακολουθούμενη από τη ZEN, ενώ οι σπόροι ροδιού (86%), τα υπολείμματα λεμονιού (50-74%) και τα υπολείμματα πορτοκαλιού (51-61%) παρουσίασαν ισχυρότερη προσρόφηση στο ZEN σε σύγκριση με τις άλλες τρεις μυκοτοξίνες.

1.2 Το καλαμπόκι ως πρώτη ύλη στις ζωοτροφές

Το καλαμπόκι ή αραβόσιτος (*Zea mays*) είναι μια από τις πιο διαδεδομένες καλλιέργειες στον κόσμο. Το 2019, η παραγωγή καλαμποκιού παγκοσμίως ήταν περίπου 1,15 δισεκατομμύρια τόνοι. Οι κυριότερες περιοχές παραγωγής είναι η Αμερική (49,20%), η Ασία (32,10%), η Ευρώπη (11,60%) και η Αφρική (7,10%) (FAOSTATS, 2021). Ως σημαντικά υποπροϊόντα, για κάθε 100 κιλά κόκκων καλαμποκιού μπορούν να παραχθούν περίπου 18 κιλά κόκκων καλαμποκιού και 6-7 κιλά πίτουρο καλαμποκιού (Accinelli et al. 2014). Αυτά τα υποπροϊόντα καλαμποκιού έχουν χρησιμοποιηθεί ως πρώτη ύλη για

ζωοτροφές, παραγωγή βιοκαυσίμων, δομικά υλικά, απορροφητικά για χημικά απόβλητα, πετροχημική βιομηχανία και υποστρώματα ζύμωσης.

Η προσρόφηση διαφόρων χημικών ουσιών σε ανθρακωμένους ή τροποποιημένους κόκκους καλαμποκιού έχει διερευνηθεί στο παρελθόν. Βρέθηκε ότι ο κόκκος καλαμποκιού ($1,2 \text{ mg mL}^{-1}$) που ανθρακώθηκε με H_2SO_4 προσροφά σχεδόν 100% μπλε του μεθυλενίου σε 1 ώρα (Jawada, 2018). Παρομοίως, ο τροποποιημένος με H_3PO_4 κόκκος καλαμποκιού (μετά από εκχύλιση ακατέργαστου πολυσακχαρίτη) προσρόφησε έως και 97,5% του πράσινου του μαλαχίτη σε δόση $5 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$. Ο βιοάνθρακας που παράγεται από πυρόλυση του κολοβώματος καλαμποκιού στους 350°C και 450°C απομάκρυνε το 8-73% των ιόντων Pb^{2+} με διαφορετικές συγκεντρώσεις ($0,25\text{-}3 \text{ mg mL}^{-1}$) δόσεων προσροφητικού υλικού.

Η υπόθεση πίσω από την ικανότητα προσρόφησης των πλούσιων σε φυτικές ίνες γεωργικών υποπροϊόντων σχετίζεται με τις άφθονες λειτουργικές ομάδες φυτικών πολυσακχαριτών και λιγνίνης που περιέχουν. Οι ομάδες αυτές προτείνεται να είναι τα ενεργά κέντρα προσρόφησης. Το κυτταρικό τοίχωμα του καλαμποκιού αποτελείται κυρίως από κυτταρίνη, διασυνδεδεμένη με ημικυτταρίνες και λιγνίνη. Η αναλογία αυτών των πολυσακχαριτών, καθώς και η σύνθεση των ημικυτταρινών, ποικίλλει σε μεγάλο βαθμό μεταξύ των διαφόρων ποικιλιών καλαμποκιού. Κατά μέσο όρο, η κυτταρίνη, η λιγνίνη και οι ημικυτταρίνες αντιπροσωπεύουν έως και 42%, 35% και 46% αντίστοιχα. Μεταξύ των ημικυτταρινών, η ξυλάνη έχει βρεθεί ότι καταλαμβάνει το 26% έως 33% του συνολικού ξηρού βάρους του κυτταρικού τοιχώματος και είναι η ημικυτταρίνη με τη μεγαλύτερη αφθονία στο κυτταρικό τοίχωμα του κολοβώματος. Όταν οι μονάδες ξυλάνης έχουν πλευρικές ομάδες αραβινόζης (2,4% έως 3,6% στο κολοκύθι καλαμποκιού), οι πολυσακχαρίτες χαρακτηρίζονται ως αραβινοξυλάνη. Αυτοί οι πολυσακχαρίτες και η λιγνίνη περιέχουν άφθονα υδροξύλια, εστέρες, πυρανικούς δακτυλίους κ.λπ., οι οποίοι μπορεί να είναι οι λειτουργικές ομάδες που εμπλέκονται στην προσρόφηση της αφλατοξίνης.

Η τεχνολογία προσρόφησης αποτελεί σημαντική προσέγγιση για την απομάκρυνση επικίνδυνων υλικών μικρών μορίων από μήτρες. Για παράδειγμα, έχει αποδειχθεί ότι οι άργιλοι είναι αποτελεσματικοί προσροφητές της AFB1 και χρησιμοποιούνται ως τεχνολογικά πρόσθετα στις ζωοτροφές (Jaynes et al. 2007). Πρόσφατα, η βιοαπορρόφηση έχει γίνει μια ελκυστική επιλογή έναντι άλλων τεχνολογιών λόγω της

υψηλής απόδοσης και της εξαιρετικής ασφάλειας που παρουσιάζει, καθώς και λόγω του ότι είναι φιλική προς το περιβάλλον. Η προσρόφηση σε μικροοργανισμούς έχει αποδειχθεί ότι είναι μια πολλά υποσχόμενη τεχνολογία. Για παράδειγμα, η προσρόφηση της AFB1 σε προϊόντα με βάση τη μαγιά θα μπορούσε να προσφέρει εναλλακτικές λύσεις αντί για αργίλους και άλλα πρόσθετα. Επιπλέον, η προσρόφηση του AFB1 στην επιφάνεια βακτηρίων γαλακτικού οξέος έχει προταθεί ότι γίνεται μέσω υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων, οι οποίες ενισχύονται με τον ηχοβολισμό των βακτηρίων (Mousavifard, & Hashemi, 2022). Ωστόσο, μπορεί να είναι δύσκολη η σύγκριση μεταξύ των μελετών λόγω της διαφοροποίησης της καλλιέργειας και των μεθοδολογιών προσρόφησης. Μελέτες έχουν δείξει ότι η βιομάζα από διάφορα γεωργικά υποπροϊόντα θα μπορούσε να προσροφήσει επικίνδυνα υλικά, ωστόσο, υπάρχουν ελάχιστα δεδομένα σχετικά με την αποτοξίνωση της AFB1 με προσρόφηση σε μη απανθρακωμένα υποπροϊόντα καλαμποκιού. Επιπλέον, λίγες μελέτες διερευνούν τον μηχανισμό της προσρόφησης. Ως εκ τούτου, η παρούσα εργασία διεξήχθη για να διερευνηθεί η σκοπιμότητα της χρήσης φυσικών και απλά παρασκευασμένων υποπροϊόντων καλαμποκιού ως προσροφητικών ουσιών για τη μείωση της περιεκτικότητας σε AFB1 από υδατικά διαλύματα. Ο μηχανισμός προσρόφησης χαρακτηρίστηκε μέσω προσαρμογής μοντέλου προσρόφησης και διερεύνησης της προσρόφησης των επιμέρους συστατικών του κυτταρικού τοιχώματος. Συζητάμε τις δυνατότητες των υποπροϊόντων καλαμποκιού ως αποτελεσματικών βιοπροσροφητικών μέσων της AFB1, συμπεριλαμβανομένων των πλεονεκτημάτων και μειονεκτημάτων τους σε σύγκριση με τις υπάρχουσες τεχνολογίες. Η παρούσα εργασία κατέδειξε επίσης την εφαρμογή της σκόνης καλαμποκιού για την αποτοξίνωση της AFB1 σε διάφορες μήτρες τροφίμων (δημητριακά και γαλακτοκομικά ποτά) και τα αποτελέσματα πρότειναν μια νέα προσέγγιση για τη μείωση της AFB1 από υγρά και στερεά τρόφιμα πριν από την κατανάλωση.

1.3 Μυκοδεσμευτικά

Τα κτηνοτροφικά μυκοδεσμευτικά είναι ορισμένες τεχνικές ή πρακτικές που χρησιμοποιούνται στη γεωργία και την κτηνοτροφία για να ελαχιστοποιήσουν την επίδραση των μυκήτων στα ζώα. Οι μύκητες μπορούν να προκαλέσουν ασθένειες στα

ζώα, και η μυκοδέσμευση είναι μια σημαντική πρακτική για την πρόληψη τέτοιων προβλημάτων (Moyosore et. al. 2020).

Η μυκοδέσμευση μπορεί να περιλαμβάνει τη χρήση ειδικών τροφών ή προσθέτων στη διατροφή των ζώων που μπορούν να αντιμετωπίσουν τους μύκητες, ή ακόμη και τη χρήση συγκεκριμένων μεθόδων εκτροφής ζώων που μειώνουν τον κίνδυνο μυκητιάσεων. Σε ορισμένες περιπτώσεις, η χρήση φυτικών εκχυλισμάτων ή αποστειρωμένων υλικών μπορεί να βοηθήσει στον έλεγχο των μυκήτων στα κτηνοτροφικά περιβάλλοντα. Η κτηνοτροφία είναι μια σημαντική δραστηριότητα που αφορά την εκτροφή ζώων για την παραγωγή τροφής, γάλακτος, κρέατος και άλλων προϊόντων. Είναι εντυπωσιακό πως οι τεχνικές και οι πρακτικές εξελίσσονται για να βελτιώσουν την παραγωγικότητα και την υγεία των ζώων. Με την πρόοδο της επιστήμης και της τεχνολογίας, οι κτηνοτρόφοι χρησιμοποιούν πιο προηγμένες μεθόδους για τη διαχείριση της διατροφής, την υγεία και την ευημερία των ζώων τους (Kihal et al. 2023). Επιπλέον, η βιώσιμη κτηνοτροφία γίνεται όλο και πιο σημαντική με στόχο τη μείωση του οικολογικού αποτυπώματος και τη διατήρηση του περιβάλλοντος. Το ζωικό κεφάλαιο παρέχει όχι μόνο τροφή αλλά και πολλές άλλες πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται σε διάφορες βιομηχανίες, όπως η κατασκευή και η φαρμακευτική βιομηχανία. Οι εξελίξεις στον τομέα της κτηνοτροφίας έχουν ευρύ φάσμα επιπτώσεων στην κοινωνία και την οικονομία.

Η κατανάλωση ζωοτροφών που περιέχουν υψηλά επίπεδα μυκοτοξινών μπορεί να οδηγήσει σε ασθένειες στα ζώα, μειωμένη παραγωγικότητα και ακόμη και θνησιμότητα. Γι' αυτό το λόγο, η χρήση μυκοδεσμευτικών είναι σημαντική. Τα μυκοδεσμευτικά μπορούν να είναι συστατικά που προστίθενται στις ζωοτροφές για να αναχαιτίσουν την ανάπτυξη των μυκήτων που παράγουν μυκοτοξίνες. Αυτό μπορεί να βοηθήσει στη μείωση των επιπέδων μυκοτοξινών στις ζωοτροφές και να διασφαλίσει υγιή συνθήκες διατροφής για τα ζώα, προωθώντας έτσι την υγεία και την ασφάλειά τους.

Τα κυριότερα κτηνοτροφικά μυκοδεσμευτικά που χρησιμοποιούνται συνήθως περιλαμβάνουν:

- 1) Βενζοεινολικό οξύ (BHA): Μια ομάδα ενώσεων που χρησιμοποιούνται για τη μείωση της ανάπτυξης μυκήτων σε ζωοτροφές.

- 2) Προβιοτικά: Βοηθητικά συστατικά που προάγουν την υγιή εντερική χλωρίδα στα ζώα, μειώνοντας έτσι τη δυνατότητα ανάπτυξης μυκήτων.
- 3) Κοκκιδιοστατικά: Ουσίες που αναστέλλουν την ανάπτυξη των μυκήτων στις ζωοτροφές, όπως το προπιονικό οξύ ή τα προϊόντα που περιέχουν προπιονικό άλας.
- 4) Αντιοξειδωτικά: Ορισμένα από τα αυτά τα συστατικά χρησιμοποιούνται για να προστατεύσουν τις ζωοτροφές από την οξείδωση, που μπορεί να ευνοεί την ανάπτυξη μυκήτων.
- 5) Αντιμυκητιακά φάρμακα ή συμπληρώματα διατροφής: Σε ορισμένες περιπτώσεις, χρησιμοποιούνται συμπληρώματα διατροφής ή φάρμακα που προλαμβάνουν την ανάπτυξη μυκήτων στα ζώα.

Ωστόσο, η χρήση κτηνοτροφικών μυκοδεσμευτικών εξαρτάται από τον τύπο των ζώων, το περιβάλλον, τις συνθήκες εκτροφής και τις απαιτήσεις της κτηνοτροφίας. Επίσης, η χρήση αυτών των προϊόντων πρέπει να συμμορφώνεται με τις οδηγίες και τους κανονισμούς που ισχύουν σε κάθε χώρα.

1.3.1 Ατταπουλγίτης

Ο ατταπουλγίτης είναι ένας από τους πιο διαδεδομένους και χρησιμοποιούμενους παράγοντες στην κτηνοτροφία. Χρησιμοποιείται ευρέως σε ζωοτροφές για διάφορα είδη ζώων, όπως πουλερικά, χοίρους, βοοειδή και άλλα κτηνοτροφικά ζώα. Είναι ένας τύπος κτηνοτροφικού μυκοδεσμευτικού που χρησιμοποιείται για τον έλεγχο των μυκήτων σε ζωοτροφές. Ανήκει στην κατηγορία των ουσιών που αναστέλλουν την ανάπτυξη των μυκήτων (Palumbo et. al. 2019).

Χρησιμοποιείται συχνά στην παραγωγή ζωοτροφών ως συμπλήρωμα για την πρόληψη της ανάπτυξης μυκήτων, όπως των μυκήτων του είδους *Aspergillus*, που μπορούν να παράγουν αφλατοξίνες. Η αφλατοξίνη είναι μια τοξίνη που παράγεται από ορισμένους μύκητες και είναι επιβλαβής για την υγεία των ζώων και των ανθρώπων που καταναλώνουν τα προϊόντα αυτών των ζώων.

Ο σκοπός της χρήσης του είναι να διατηρήσει τις ζωοτροφές απαλλαγμένες από μύκητες και αφλατοξίνες, βοηθώντας έτσι στην πρόληψη προβλημάτων υγείας στα ζώα και στη

διασφάλιση υγιών συνθηκών διατροφής. Συνήθως προστίθεται στις ζωοτροφές κατά την παραγωγή τους για να παραμείνουν απαλλαγμένες από μύκητες και αφλατοξίνες κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης και της χρήσης τους.

Η σωστή δοσολογία και η συμμόρφωση προς τους κανονισμούς και τις οδηγίες είναι σημαντικές για να εξασφαλιστεί η αποτελεσματικότητα και η ασφάλεια των ζωοτροφών. Πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ότι η χρήση ατταπουλγίτη και άλλων κτηνοτροφικών μυκοδεσμευτικών προϊόντων πρέπει να γίνεται με σύνεση και με βάση τις κατάλληλες οδηγίες και προτάσεις ειδικών, προκειμένου να διασφαλιστεί η υγεία των ζώων και η ασφάλεια των τελικών προϊόντων που προορίζονται για κατανάλωση.

1.3.2 Χρήση ατταπουλγίτη σε καλαμπόκι

Η χρήση του ατταπουλγίτη στο καλαμπόκι μπορεί να γίνει κυρίως κατά τη διατήρηση του καλαμποκιού ή των προϊόντων καλαμποκιού που προορίζονται για ζωοτροφές. Ο στόχος είναι να αποτραπεί η ανάπτυξη μυκήτων που παράγουν μυκοτοξίνες κατά την αποθήκευση του καλαμποκιού (Accinelli C. et al. 2014).

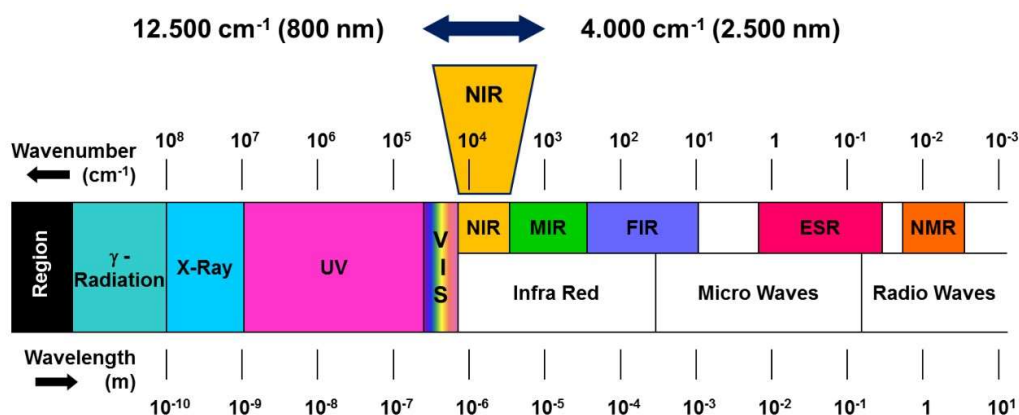
Συνήθως, ο ατταπουλγίτης προστίθεται στο καλαμπόκι ή στα προϊόντα του κατά τη συγκομιδή ή κατά την αποθήκευση, προτού αυτά τα προϊόντα χρησιμοποιηθούν ως ζωοτροφές. Αυτό μπορεί να γίνει με διάφορους τρόπους:

- 1) Επίσπευση αποθήκευσης: Μερικές φορές, ο ατταπουλγίτης εφαρμόζεται αμέσως μετά τη συγκομιδή του καλαμποκιού για να εμποδίσει την ανάπτυξη μυκήτων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης.
- 2) Εφαρμογή σε προϊόντα ζωοτροφών: Σε ορισμένες περιπτώσεις, ο ατταπουλγίτης μπορεί να προστίθεται σε άλλα συστατικά που χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία ζωοτροφών, συμβάλλοντας έτσι στην αποφυγή της μυκητιάσεων.

Η ακριβής διαδικασία χρήσης του ατταπουλγίτη στο καλαμπόκι μπορεί να διαφέρει ανάλογα με το περιβάλλον, τις πρακτικές καλλιέργειας και τις οδηγίες που ακολουθούνται από τον κάθε κτηνοτρόφο ή παραγωγό. Επίσης, η χρήση οποιουδήποτε κτηνοτροφικού μυκοδεσμευτικού πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους κανονισμούς και τις οδηγίες που ισχύουν στην κάθε περιοχή.

1.4 Φασματοσκοπία εγγύς υπέρυθρου (FT-NIR)

Η υπέρυθρη περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος εκτείνεται από το τέλος του ορατού φάσματος ως την περιοχή των μικροκυμάτων, δηλαδή μεταξύ 0,7 μm έως 300 μm , και διακρίνεται σε τρεις περιοχές (Εικόνα 1):



Εικόνα 1. Μήκη κύματος φάσματος ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας.

- Το εγγύς υπέρυθρο (NIR) φάσμα κυμαίνεται μεταξύ 0,8 μm έως 2,5 μm και αντιστοιχεί στους κυματαριθμούς $12.500\text{-}4.000 \text{ cm}^{-1}$.
- Το μέσο υπέρυθρο (MIR) φάσμα κυμαίνεται μεταξύ 2,5 μm έως 25 μm και αντιστοιχεί στους κυματαριθμούς $4.000\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$.
- Το άπω υπέρυθρο (FIR) φάσμα κυμαίνεται μεταξύ 25 μm έως 300 μm και αντιστοιχεί στους κυματαριθμούς $400\text{-}10 \text{ cm}^{-1}$.

Η εγγύς υπέρυθρη περιοχή (NIR) παρέχει πληροφορίες για τη μελέτη των υπερτονικών (overtones) και των αρμονικών δονήσεων ή δονήσεων συνδυασμού (harmonic or combination vibrations). Στο μέσο υπέρυθρο φάσμα (MIR) παρατηρούνται οι βασικές μεταβολές στη δόνηση των μορίων λόγω απορρόφησης ακτινοβολίας, ενώ η άπω υπέρυθρη περιοχή (FIR) παρέχει πληροφορίες για τις μοριακές περιστροφές και τις δονήσεις βαρέων ατόμων και κρυσταλλικού πλέγματος (δονήσεις υποκαταστάτη-μετάλλου).

Η μέθοδος της υπέρυθρης φασματοσκοπίας βασίζεται στην απορρόφηση υπέρυθρης ακτινοβολίας από τα μόρια μιας ένωσης τα οποία διεγείρονται σε υψηλότερες στάθμες δόνησης ή περιστροφής. Η προέλευση των απορροφήσεων στο IR φάσμα είναι αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας με το ηλεκτρικό δίπολο ενός μορίου. Η απορρόφηση του φωτός στην περιοχή του εγγύς υπέρυθρου συνδέεται με τις κινήσεις των μοριακών δομών. Οι χημικές συνδέσεις, όπως οι συνδέσεις C-H, N-H και O-H, έχουν χαρακτηριστικές απορροφήσεις σε αυτή την περιοχή. Επειδή η κάθε χημική ουσία έχει μοναδικά χαρακτηριστικά στο φάσμα NIR, η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό της σύνθεσης ενός δείγματος.

Οι αναλύσεις στη φασματοσκοπία NIR συνήθως περιλαμβάνουν τη χρήση μαθηματικών μοντέλων και στατιστικών μεθόδων για την ερμηνεία των φασμάτων και την πρόβλεψη των συστατικών του δείγματος.

Τα φασματοφωτόμετρα υπέρυθρης ακτινοβολίας ταξινομούνται σε δύο βασικές κατηγορίες:

- i. τα συμβατικά φασματοφωτόμετρα διασποράς (classical dispersive IR Spectrometers),
- ii. τα φασματοφωτόμετρα υπέρυθρου μετασχηματισμού Fourier με συμβολόμετρο (Fourier Transform IR Spectrometers).

Η οργανολογία ενός κλασικού φασματοφωτομετρικού συστήματος IR αποτελείται από τα εξής βασικά τμήματα:

- 1) Μία πηγή που εκπέμπει ακτινοβολία σε όλη την υπέρυθρη περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος και η οποία μπορεί να είναι μία λάμπα με νήμα Ni-Cr (Nicrome) ή Nerst (μείγμα ZrO και άλλων οξειδίων σπάνιων γαιών) ή λυχνία Globar που κατασκευάζεται από καρβίδιο του πυριτίου και έχει πολύ μεγαλύτερη ένταση.
- 2) Έναν μονοχρωμάτορα, του οποίου το στοιχείο διασποράς (dispersive element) είναι συνήθως ένα πρίσμα ή φράγμα περίθλασης.
- 3) Έναν ανιχνευτή υπέρυθρου, ο οποίος είναι συνήθως θερμικός ανιχνευτής (π.χ. θερμοζεύγος) ή φωτοαγώγιμος.

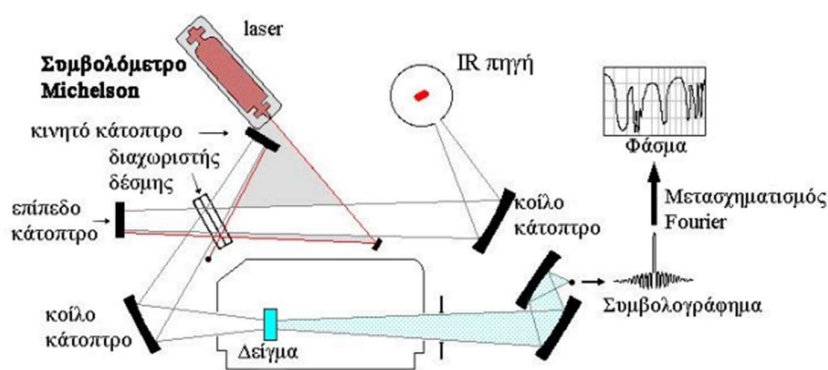
4) Ένα οπτικό σύστημα κάτοπτρων.

Η αρχή λειτουργίας ενός κλασικού φασματοφωτόμετρου απορρόφησης IR διπλής δέσμης μπορεί να περιγραφεί ως εξής: Η υπέρυθη ακτινοβολία που εκπέμπεται από την πηγή διαχωρίζεται αφού υποστεί ανάκλαση από ένα σύστημα επίπεδων κάτοπτρων σε δύο δέσμες όπου η μία διέρχεται μέσω του συστήματος αναφοράς (τυφλό) και η άλλη διέρχεται από το δείγμα. Οι δύο δέσμες ανακλώνται από ένα σύστημα περιστρεφόμενων κατόπτρων το οποίο εναλλάσσεται προκαλώντας την περιοδική διέλευση της δέσμης μέσω του δείγματος και της δέσμης αναφοράς, για να προσπέσει τελικά στον μονοχρωμάτορα. Καθώς οι δέσμες εναλλάσσονται, το κάτοπτρο περιστρέφεται αργά και διαφορετικές συχνότητες υπέρυθρης ακτινοβολίας καταλήγουν στον ανιχνευτή, ο οποίος μετατρέπει την ενέργεια της IR ακτινοβολίας σε ηλεκτρικό σήμα καταγράφοντας το φάσμα.

Τα φασματοφωτόμετρα διασποράς αντικαταστάθηκαν από τα φασματοφωτόμετρα υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (FT-NIR). Το βασικό πλεονέκτημα της FTIR φασματοσκοπίας βασίζεται στη χρήση συμβολόμετρου αντί μονοχρωμάτορα, το οποίο επιτρέπει να κατευθύνονται στον ανιχνευτή όλες οι συχνότητες ταυτόχρονα και όχι διαδοχικά, μόνο μία τη φορά, υπερνικώντας κατ' αυτόν τον τρόπο τις αδυναμίες και τους περιορισμούς των συμβατικών φασματοφωτόμετρων διασποράς. Το σχηματικό διάγραμμα ενός τυπικού φασματοφωτομέτρου FTIR με συμβολόμετρο Michelson (Michelson interferometer) παρουσιάζεται στην Εικόνα 2, όπου διακρίνονται τα εξής τρία βασικά μέρη: η πηγή της υπέρυθρης ακτινοβολίας, το συμβολόμετρο και ο ανιχνευτής υπερύθρου.

- Η πηγή laser χρησιμοποιείται για τη δημιουργία εσωτερικής αναφοράς, τη μέτρηση των κυματαριθμών και τη ρύθμιση της διάρκειας των παλμών. Το συμβολόμετρο αποτελεί την καρδιά του φασματοφωτόμετρου FTIR, του οποίου η χρήση, παρέχει σημαντικά πλεονεκτήματα έναντι της χρήσης ενός μονοχρωμάτορα στην καταγραφή του IR φάσματος. Το συμβολόμετρο Michelson είναι ένα από τα πιο διαδεδομένα και ευρέως χρησιμοποιούμενα συμβολόμετρα, το οποίο, αποτελείται από δύο κάτοπτρα M1 και M2, από το οποία το ένα παραμένει σταθερό (fixed mirror), ενώ το άλλο είτε κινείται με σταθερή ταχύτητα είτε σταματά περιοδικά και για μικρά χρονικά διαστήματα (moving mirror). Τα επίπεδα των δύο κάτοπτρων είναι κάθετα μεταξύ τους, ενώ ανάμεσα στο σταθερό

και στο κινούμενο κάτοπτρο υπάρχει ένας διαχωριστής δέσμης 50/50 (beam splitter). Ο διαχωριστής δέσμης είναι ένα ημιδιαφανές κάτοπτρο το οποίο αποτελείται από υλικό που δεν απορροφά στην υπέρυθρη περιοχή, με ανακλαστικότητα και διαπερατότητα 50% αντίστοιχα. Η υπέρυθρη ακτινοβολία που εκπέμπεται από την πηγή κατευθύνεται στον διαχωριστή δέσμης όπου διαχωρίζεται σε δύο δέσμες, εκ των οποίων η μία προσπίπτει στο σταθερό κάτοπτρο ενώ η άλλη στο κινητό και στη συνέχεια, αφού αντανακλαστούν, επιστρέφουν στον διαχωριστή δέσμης όπου συμβάλλουν. Μετά τη συμβολή ένα τμήμα της ακτινοβολίας οδηγείται στον θάλαμο του δείγματος, ενώ το υπόλοιπο τμήμα επιστρέφει στην πηγή ακτινοβολίας. Το αποτέλεσμα είναι ότι περίπου το μισό κάθε δέσμης καταλήγει στον ανιχνευτή, παρόλο που διέσχισαν διαφορετικές διαδρομές. Το συμβολογράφημα αποτελεί ένα φάσμα στον χώρο του χρόνου (time domain spectrum) που καταγράφει τις μεταβολές της απόκρισης του ανιχνευτή (ένταση) συναρτήσει του χρόνου κατά την κατοπτρική σάρωση, και παρέχει πληροφορίες για όλη την υπέρυθρη φασματική περιοχή στην οποία αποκρίνεται ο ανιχνευτής. Το συμβολογράφημα υπόκειται σε μαθηματική επεξεργασία με τη χρήση του μετασχηματισμού Fourier, όπου τελικά μετατρέπεται στο ληφθέν φάσμα IR, το οποίο αναπαριστά την ένταση συναρτήσει της συχνότητας (frequency domain spectrum) (Cen and He 2007, McMullin et al., 2015, Tyska et al., 2021).



Εικόνα 2. Τυπική διάταξη φασματοφωτόμετρου FT-IR.

1.5 Σκοπός της παρούσας διατριβής

Σκοπός της παρούσας διατριβής είναι η διερεύνηση της μυκοδεσμευτικής δράσης του ατταπουλγίτη σε δείγματα καλαμποκιού φυσικά επιμολυσμένα με μυκοτοξίνες. Η συγκέντρωση των μυκοτοξινών θα μετρηθεί με την τεχνική της Φασματοσκοπίας εγγύς υπερύθρου (FT-NIR). Για το σκοπό αυτό η μυκοδεσμευτική του δράση θα αξιολογηθεί σε διαφορετικές χρονικές στιγμές και θα γίνει εκτίμηση της συγκέντρωσης που μειώθηκε συγκριτικά με την αρχική συγκέντρωση του δείγματος.

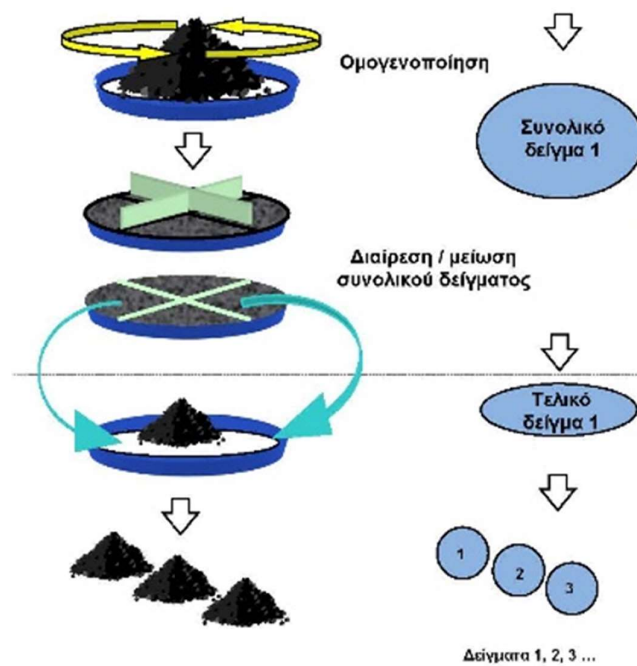
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Πειραματικό πρωτόκολλο

Ο πειραματισμός πραγματοποιήθηκε σε τέσσερα δείγματα καλαμποκιού σε ποσότητα ενός κιλού το καθένα ως εξής: Τα δείγματα αρχικά μετρήθηκαν με την τεχνική NIR πριν την προσθήκη του μυκοδεσμευτικού παράγοντα. Στη συνέχεια στο κάθε δείγμα προστέθηκαν 5g ατταπουλγίτη (σύνθεση: attapulgit + oxidizing magnesium, activated carbon). Πραγματοποιήθηκε πολύ καλή ανάδευση και τα δείγματα μετρήθηκαν για τη συγκέντρωση μυκοτοξινών στις 5 ώρες και στις 24 ώρες μετά την προσθήκη του ατταπουλγίτη. Σε κάθε δείγμα πραγματοποιήθηκαν τρεις μετρήσεις σε κάθε χρονική στιγμή. Η συγκέντρωση των μυκοτοξινών υπολογίστηκε σε $\mu\text{g/kg}$.

2.2 Προκατεργασία και ανάλυση δείγματος

Η δειγματοληψία αντιπροσωπευτικού δείγματος πραγματοποιήθηκε με την μέθοδο του τετραμερισμού (σταυρού) και λήψη περίπου 100 g υποδείγματος για ανάλυση. Η δειγματοληψία τετραμερισμού παρουσιάζεται στην Εικόνα 3.



Εικόνα 3. Μέθοδος δειγματοληψίας με τετραμερισμό του δείγματος.

Στη συνέχεια ακολούθησε άλεση του υποδείγματος καλαμποκιού στο μύλο άλεσης ZM 200 Ultra Centrifugal Mill της εταιρείας Retsch με διάμετρο κοπής 1mm (Εικόνα 4).



Εικόνα 4. Μύλος άλεσης ZM 200 Ultra Centrifugal Mill, Retsch.

Το αλεσμένο δείγμα συλλέχθηκε και τοποθετήθηκε στον ειδικό περιέκτη (Εικόνα 5) του συστήματος φασματοσκοπίας εγγύς υπερύθρου Tango FT-NIR της εταιρίας Bruker για την ανίχνευση των μυκοτοξινών (Εικόνα 6).

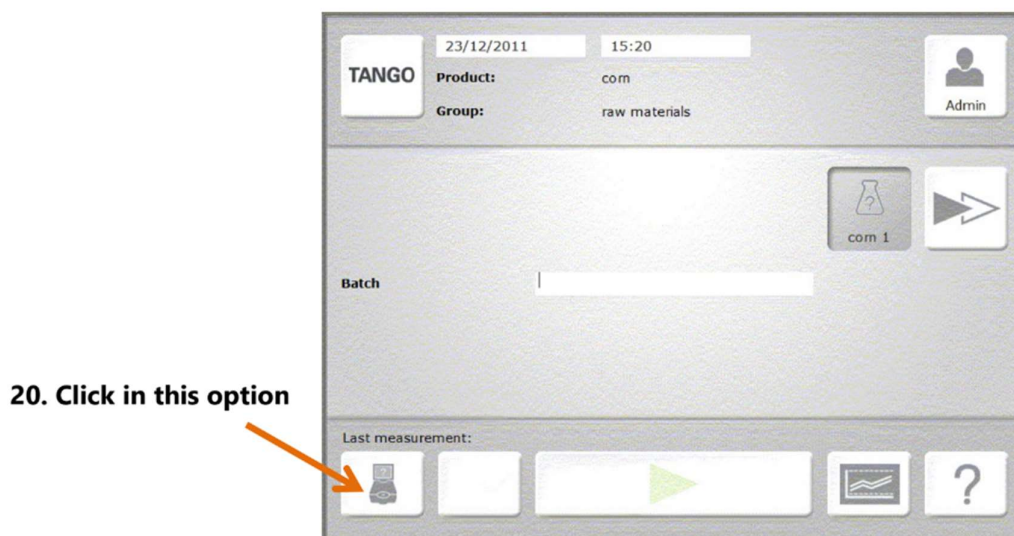


Εικόνα 5. Περιέκτης για ανάλυση στερεών δειγμάτων.



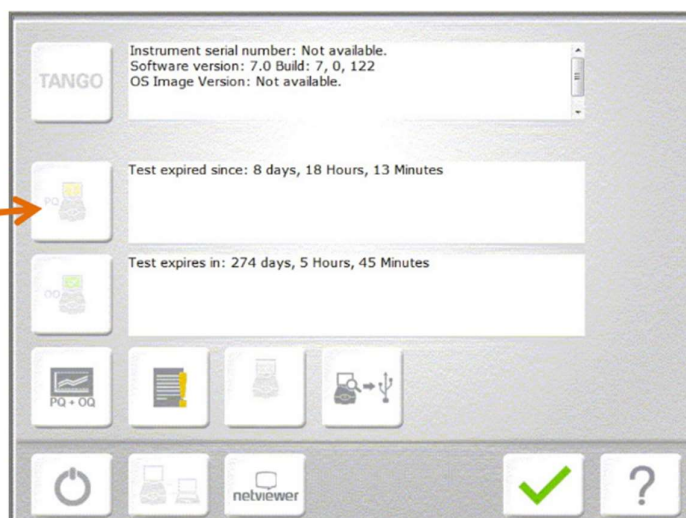
Εικόνα 6. Το σύστημα FT-NIR που χρησιμοποιήθηκε (Tango, Bruker).

Η ανάπτυξη του πρωτοκόλλου έγινε σε συνεργασία με την εταιρεία Pegasus, μια πρωτοπόρο εταιρία στην ανάλυση μυκοτοξινών σε πρώτες ύλες φυτικής προέλευσης με τη χρήση φασματοσκοπίας εγγύς υπερύθρου. Τα φάσματα εγγύς υπερύθρου λαμβάνονταν στο σύστημα φασματοσκοπίας του εργαστηρίου Υδατοκαλλιεργειών του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος και αποστέλλονταν στην πλατφόρμα της εταιρείας Pegasus για την περαιτέρω επεξεργασία και εξαγωγή αποτελεσμάτων. Τα αναλυτικά βήματα για την λήψη των φασμάτων για την ανάλυση των μυκοτοξινών στο σύστημα FT-NIR δίνονται στις Εικόνες 7-11.



Εικόνα 7. Άνοιγμα του H/Y του οργάνου, άνοιγμα του προγράμματος TANGO (βάζοντας κωδικούς χρήστη username και κωδικό πρόσβασης password) και επιλογή της μεθόδου mycotoxins.

21. Click in this option

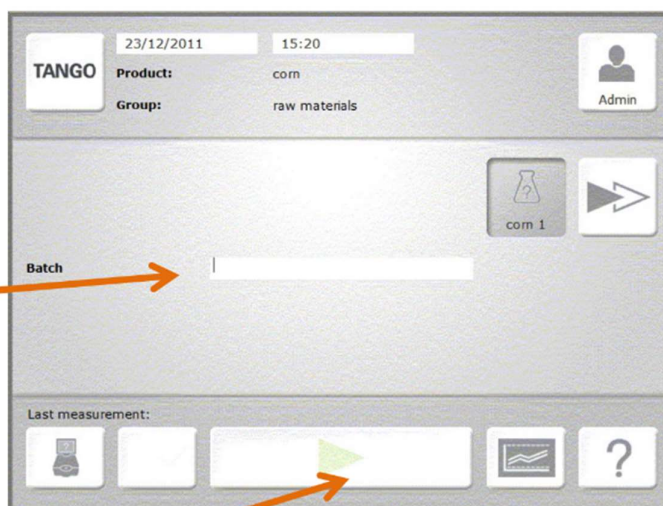


Εικόνα 8. Εφαρμογή του διαγνωστικού τεστ (PQ test).

22. Go under the group products "Pegasus"

23. Go to group "Mycotoxins"

24. Insert ID identification

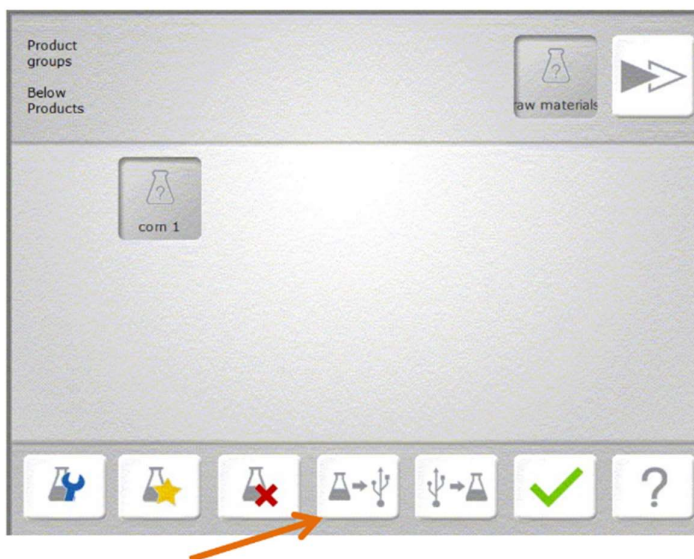


25. Click here to start reading



Εικόνα 9. Εισαγωγή του δείγματος στον ειδικό περιέκτη, εισαγωγή του στη θέση λήψης του φάσματος, εισαγωγή του κωδικού του δείγματος. Έναρξη λήψης του φάσματος.

**26. Click on the group
"Mycotoxins"**



Εικόνα 10. Εξαγωγή του φάσματος σε εξωτερική μονάδα αποθήκευσης.



E-mail

Required field

Password

Required field

Enter

Forgot your password?

Privacy policy - Terms of use

[Request registration](#)

Português | Español | English

Εικόνα 11. Πλατφόρμα OLIMPO της Pegasus Science για περαιτέρω επεξεργασία και εξαγωγή αποτελεσμάτων.

2.3 Στατιστική ανάλυση

Ο έλεγχος των στατιστικά σημαντικά διαφορών μεταξύ των δεδομένων της έρευνας πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό τεστ χ^2 . Το πακέτο SPSS Statistics 26 εφαρμόστηκε σε όλες τις περιπτώσεις σε επίπεδο σημαντικότητας $P < 0,05$.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Σε όλα τα δείγματα που εξετάστηκαν η αφλατοξίνη B1 εμφάνισε τιμές <5 µg/kg, η δεσοξυνιβαλενόλη <350 µg/kg, η ζεαραλενόνη <30 µg/kg και η ωχρατοξίνη <10 µg/kg.

Οι φουμονισίνες (FB1 και FB2) ήταν οι μοναδικές μυκοτοξίνες που ανιχνεύτηκαν σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες του ορίου ανίχνευσης. Η χρήση μυκοδευτικού παράγοντα συνέβαλε στην μείωση των μυκοτοξινών σε δύο από τα τέσσερα εξετασθέντα δείγματα. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε μείωση 8,24% και 24,10% μετά από πέντε ώρες εφαρμογής, ενώ μετά από 24 ώρες η συγκέντρωση μειώθηκε σε 36,67% και 76,9% της αρχικής, αντίστοιχα. Στο γράφημα 1 φαίνεται η μέση συγκέντρωση των δύο δειγμάτων στα οποία παρατηρήθηκε σημαντική μείωση η οποία επιβεβαιώθηκε στατιστικά ($p < 0,05$) μετά από 24 ώρες εφαρμογής του μυκοδεσμευτικού παράγοντα.



Γράφημα 1. Μεταβολή αρχικής συγκέντρωσης (%) μετά από 5 και 24 ώρες εφαρμογής του μυκοδεσμευτικού παράγοντα σε δύο δείγματα καλαμποκιού.

Από το γράφημα προκύπτει ότι η αρχική συγκέντρωση των φουμονισινών FB1 και FB2 μειώθηκε στον 83,33% της αρχικής συγκέντρωσης μετά από 5 ώρες εφαρμογής και στο 43,21% της αρχικής συγκέντρωσης μετά από 24 ώρες εφαρμογής.

Στα υπόλοιπα δύο δείγματα που εξετάστηκαν δεν παρατηρήθηκε σημαντική μείωση η οποία κυμάνθηκε από 0,31-9,12%, σε χρονικό διάστημα 24 ωρών μετά την εφαρμογή του μυκοδεσμευτικού παράγοντα.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι μυκοτοξίνες είναι ουσίες που χρησιμοποιούνται στις ζωοτροφές για να μετριάσουν τις βλαβερές συνέπειες των μυκοτοξινών. Οι μυκοτοξίνες είναι τοξικοί δευτερογενείς μεταβολίτες που παράγονται από μύκητες οι οποίοι μπορούν να μολύνουν τις ζωοτροφές και να θέσουν σοβαρούς κινδύνους για την υγεία των ζώων. Οι συνδεδετικοί παράγοντες μυκοτοξινών λειτουργούν δεσμεύοντας τις μυκοτοξίνες στο γαστρεντερικό σύστημα των ζώων, εμποδίζοντας την απορρόφησή τους και μειώνοντας τις αρνητικές επιπτώσεις τους στην υγεία των ζώων.

Η σημασία των δεσμευτών μυκοτοξινών έγκειται στην ικανότητά τους να προστατεύουν τα ζώα από τις βλαβερές συνέπειες της έκθεσης σε μυκοτοξίνες (Moyosore et. al. 2020). Δεσμεύοντας τις μυκοτοξίνες, οι εν λόγω συνδεδετικοί παράγοντες συμβάλλουν στη μείωση της βιοδιαθεσιμότητας των μυκοτοξινών στον οργανισμό του ζώου, μειώνοντας έτσι τον κίνδυνο εμφάνισης προβλημάτων υγείας που σχετίζονται με τις μυκοτοξίνες, όπως η βλάβη οργάνων, η καταστολή του ανοσοποιητικού συστήματος και η μειωμένη απόδοση ανάπτυξης.

Στο πλαίσιο της υδατοκαλλιέργειας, όπου η μόλυνση των ζωοτροφών με μυκοτοξίνες μπορεί να έχει σημαντικές επιπτώσεις στην υγεία και την παραγωγή των ψαριών, η χρήση συνδεδετικών ουσιών μυκοτοξινών μπορεί να είναι ζωτικής σημασίας για τη διασφάλιση της ευημερίας των υδρόβιων ειδών. Με την ενσωμάτωση συνδεδετικών ουσιών μυκοτοξινών στις ιχθυοτροφές, οι βιομηχανίες υδατοκαλλιέργειας μπορούν να ελαχιστοποιήσουν τις επιπτώσεις των μυκοτοξινών στην υγεία και την παραγωγικότητα των ψαριών.

Συνολικά, οι συνδεδετικοί παράγοντες μυκοτοξινών διαδραματίζουν ζωτικό ρόλο στη διατροφή και την υγεία των ζώων, συμβάλλοντας στην αντιμετώπιση των επιβλαβών επιδράσεων των μυκοτοξινών, εξασφαλίζοντας την ασφάλεια και την ευημερία των ζώων που καταναλώνουν μολυσμένες ζωοτροφές.

Οι δεσμευτές μυκοτοξινών χρησιμεύουν ως βασικά εργαλεία στη διατροφή των ζώων για την καταπολέμηση της διάχυτης απειλής που συνιστούν οι μυκοτοξίνες, τοξικοί δευτερογενείς μεταβολίτες που παράγονται από διάφορους μύκητες. Αυτές οι

επιβλαβείς ουσίες μπορούν να μολύνουν τις πηγές ζωοτροφών σε οποιοδήποτε στάδιο, από την περισυλλογή έως τη μετασυλλογή, και αποτελούν σημαντικό κίνδυνο για την υγεία και την απόδοση των ζώων (Πετρωτός 2010). Ως απάντηση σε αυτή την πρόκληση, οι συνδεδετικοί παράγοντες μυκοτοξινών έχουν αναδειχθεί ως μια κρίσιμη γραμμή άμυνας για τη διασφάλιση της ευημερίας των ζώων και των υδρόβιων ειδών σε περιβάλλοντα υδατοκαλλιέργειας.

Η πρωταρχική λειτουργία των συνδεδετικών ουσιών μυκοτοξινών είναι να αναχαιτίζουν τις μυκοτοξίνες εντός του γαστρεντερικού σωλήνα των ζώων, δεσμεύοντάς τις αποτελεσματικά και αποτρέποντας την απορρόφησή τους στην κυκλοφορία του αίματος. Δεσμεύοντας τις μυκοτοξίνες, αυτά τα εξειδικευμένα πρόσθετα μειώνουν τη βιοδιαθεσιμότητα αυτών των τοξινών, περιορίζοντας τις επιπτώσεις τους στα ζωτικά όργανα, τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος και τη συνολική απόδοση της ανάπτυξης των ζώων (Βάσσοι 2004). Αυτός ο μηχανισμός δράσης όχι μόνο προστατεύει την υγεία των ζώων, αλλά συμβάλλει επίσης στη διατήρηση της ποιότητας και της ασφάλειας των προϊόντων ζωικής προέλευσης για ανθρώπινη κατανάλωση.

Στο περιβάλλον της υδατοκαλλιέργειας, όπου τα ψάρια είναι ιδιαίτερα ευάλωτα στην έκθεση σε μυκοτοξίνες μέσω μολυσμένων ζωοτροφών, η χρήση συνδεδετικών ουσιών μυκοτοξινών είναι υψίστης σημασίας. Με την ενσωμάτωση συνδεδετικών ουσιών στα σκευάσματα ιχθυοτροφών, οι παραγωγοί υδατοκαλλιέργειας μπορούν να μετριάσουν προληπτικά τους κινδύνους που συνδέονται με τη μόλυνση από μυκοτοξίνες, εξασφαλίζοντας τη βέλτιστη υγεία και παραγωγικότητα των υδρόβιων ειδών. Αυτή η προληπτική προσέγγιση όχι μόνο βελτιώνει την ευημερία των εκτρεφόμενων ψαριών, αλλά συμβάλλει επίσης στη βιωσιμότητα και την κερδοφορία των επιχειρήσεων υδατοκαλλιέργειας.

Επιπλέον, οι δεσμευτές μυκοτοξινών διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην υποστήριξη των προτύπων καλής διαβίωσης των ζώων και της κανονιστικής συμμόρφωσης στις βιομηχανίες κτηνοτροφίας και υδατοκαλλιέργειας. Με την εφαρμογή αποτελεσματικών στρατηγικών διαχείρισης των μυκοτοξινών, συμπεριλαμβανομένης της χρήσης συνδεδετικών ουσιών, οι παραγωγοί ζώων αποδεικνύουν τη δέσμευσή τους να τηρούν τα υψηλότερα πρότυπα φροντίδας των ζώων και ασφάλειας των προϊόντων. Αυτή η προληπτική στάση δεν προστατεύει μόνο την υγεία των ζώων, αλλά διατηρεί

επίσης την εμπιστοσύνη των καταναλωτών στην ποιότητα και την ακεραιότητα των προϊόντων ζωικής προέλευσης.

Συμπερασματικά, οι συνδετικοί παράγοντες μυκοτοξινών είναι σημαντικοί στις σύγχρονες πρακτικές διατροφής των ζώων, προσφέροντας μια προληπτική και αποτελεσματική λύση στη διάχυτη απειλή της μόλυνσης από μυκοτοξίνες (Pingping et. al, 2023). Αξιοποιώντας τα προστατευτικά οφέλη των συνδετικών ουσιών, οι παραγωγοί ζώων μπορούν να διασφαλίσουν την υγεία και την ευημερία των ζώων και των υδρόβιων ειδών τους, εξασφαλίζοντας βέλτιστες επιδόσεις, βιωσιμότητα και συμμόρφωση με τα κανονιστικά πρότυπα.

Ο ατταπουλγίτης, είναι ένα ορυκτό αργίλου που συναντάται στη φύση με μοναδικές ιδιότητες και ευρύ φάσμα βιομηχανικών και περιβαλλοντικών εφαρμογών. Ενδεικτικά αναφέρονται ορισμένες χημικές και φυσικές ιδιότητες σχετικά με τον ατταπουλγίτη:

Χημική σύνθεση: είναι ένα υδαρές πυριτικό ορυκτό μαγνησίου-αλουμινίου με χημικό τύπο $(\text{Mg,Al})_2\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_4 \cdot 4(\text{H}_2\text{O})$. Ανήκει στην ομάδα των φυλλοπυριτικών ορυκτών, που χαρακτηρίζεται από στρωματοποιημένη δομή.

Φυσικές ιδιότητες: εμφανίζεται συνήθως σε ινώδεις ή βελονοειδείς κρυσταλλικούς σχηματισμούς. Έχει μεγάλη επιφάνεια και πορώδες, τα οποία συμβάλλουν στις ικανότητες προσρόφησης και απορρόφησης. Το ορυκτό είναι γνωστό για τον υψηλό λόγο διαστάσεων, την ευελιξία και τη θερμική του σταθερότητα.

Ο ατταπουλγίτης, έχει μελετηθεί για τις πιθανές εφαρμογές του σε ιχθυοτροφές, ιδίως σε περιβάλλοντα υδατοκαλλιέργειας. Ακολουθούν ορισμένα σημεία σχετικά με την αποτελεσματικότητά του στις ιχθυοτροφές:

1. Δέσμευση μυκοτοξινών: Ο ατταπουλγίτης έχει καθιερωθεί για την ικανότητά του να δεσμεύει αποτελεσματικά τις μυκοτοξίνες. Στην υδατοκαλλιέργεια, όπου η μόλυνση των ζωοτροφών με μυκοτοξίνες μπορεί να θέσει σημαντικούς κινδύνους για την υγεία των ψαριών, η προσθήκη του στις ζωοτροφές ιχθύων έχει φανεί πολλά υποσχόμενη όσον αφορά τη μείωση της βιοδιαθεσιμότητας των μυκοτοξινών και τον μετριασμό των τοξικών επιπτώσεών τους στα υδρόβια είδη (Kihal et. al. 2023).

2. Προσρόφηση τοξινών: Η υψηλή επιφάνεια και το πορώδες του ατταπουλγίτη, τον καθιστούν κατάλληλο υποψήφιο για την προσρόφηση διαφόρων τοξινών και μολυσματικών ουσιών που υπάρχουν στις ιχθυοτροφές (Kihal et. al. 2019). Με την προσρόφηση επιβλαβών ουσιών, μπορεί να συμβάλει στη βελτίωση της συνολικής ποιότητας και ασφάλειας της ζωοτροφής, υποστηρίζοντας έτσι την υγεία και την ανάπτυξη των ιχθύων.

3. Βελτιωμένη πεπτικότητα: Μελέτες έχουν δείξει ότι ο ατταπουλγίτης μπορεί να βελτιώσει την πεπτικότητα των θρεπτικών συστατικών στις ιχθυοτροφές. Προάγοντας την καλύτερη απορρόφηση και αξιοποίηση των θρεπτικών συστατικών, μπορεί να συμβάλει στη συνολική απόδοση της ανάπτυξης και την υγεία των ιχθύων σε συστήματα υδατοκαλλιέργειας.

4. Διαχείριση της ποιότητας του νερού: Οι ιδιότητες προσρόφησης του ατταπουλγίτη επεκτείνονται στη διαχείριση της ποιότητας του νερού στις λίμνες υδατοκαλλιέργειας. Με την απομάκρυνση της περίσσειας θρεπτικών συστατικών, οργανικής ύλης και ρύπων από το νερό, ο ατταπουλγίτης μπορεί να συμβάλει στη διατήρηση ενός καθαρού και υγιούς υδάτινου περιβάλλοντος για τα ψάρια (García-Herranz et. al. 2020).

5. Μείωση του στρες: Στις πρακτικές υδατοκαλλιέργειας, η διαχείριση του στρες είναι ζωτικής σημασίας για τη διασφάλιση της ευημερίας των ψαριών. Ο ατταπουλγίτης έχει διερευνηθεί για τον πιθανό ρόλο του στη μείωση των επιπέδων στρες στα ψάρια, προωθώντας ένα καθαρότερο και απαλλαγμένο από τοξίνες περιβάλλον, το οποίο μπορεί να επηρεάσει θετικά την υγεία και την ανθεκτικότητα των ψαριών (García-Herranz et. al. 2019) .

6. Αποδοτικότητα ζωοτροφών: Η ενσωμάτωση του ατταπουλγίτη στις ιχθυοτροφές μπορεί να συμβάλει στη βελτίωση της αποδοτικότητας των ζωοτροφών, ενισχύοντας την απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών και μειώνοντας τις αρνητικές επιπτώσεις των μολυσματικών ουσιών. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε καλύτερους ρυθμούς ανάπτυξης, αναλογίες μετατροπής της τροφής και συνολική απόδοση των ψαριών σε συστήματα υδατοκαλλιέργειας.

Συνολικά, η αποτελεσματικότητα του στις ιχθυοτροφές έγκειται στην ικανότητά του να δεσμεύει τοξίνες, να βελτιώνει την πεπτικότητα, να υποστηρίζει τη διαχείριση της

ποιότητας του νερού, να μειώνει το στρες και να βελτιώνει την αποδοτικότητα της τροφής. Περαιτέρω έρευνα και πρακτικές εφαρμογές σε περιβάλλοντα υδατοκαλλιέργειας μπορούν να παράσχουν πολύτιμες γνώσεις σχετικά με τη βέλτιστη χρήση του ατταπουλγίτη για την προώθηση της υγείας και της παραγωγικότητας των ψαριών σε συστήματα υδατοκαλλιέργειας.

Στο πείραμα που διεξήχθη σε σπόρους καλαμποκιού μολυσμένους με αφλατοξίνη B1 και υποβληθέντες σε επεξεργασία με ατταπουλγίτη, τα αποτελέσματα έδειξαν ένα μέτριο προς καλό ποσοστό επιτυχίας.

Ο πρωταρχικός στόχος της μελέτης ήταν η διερεύνηση της αποτελεσματικότητας του ατταπουλγίτη στον μετριασμό των επιπτώσεων της μόλυνσης με αφλατοξίνη B1 σε σπόρους καλαμποκιού. Η εφαρμογή του ατταπουλγίτη αποσκοπούσε στην αξιολόγηση της δυνατότητάς του να μειώσει την τοξικότητα της αφλατοξίνης B1. Αν και τα αποτελέσματα έδειξαν μερική επιτυχία στην αντιμετώπιση των επιπτώσεων της μόλυνσης με αφλατοξίνη B1, η περαιτέρω ανάλυση και ερμηνεία των αποτελεσμάτων είναι απαραίτητη για την πλήρη κατανόηση των ειδικών επιδράσεων της επεξεργασίας με ατταπουλγίτη στους σπόρους καλαμποκιού που έχουν επηρεαστεί από την αφλατοξίνη B1. Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν μια πολλά υποσχόμενη κατεύθυνση για μελλοντική έρευνα με σκοπό τη βελτιστοποίηση της χρήσης του ατταπουλγίτη για την αντιμετώπιση της μόλυνσης από αφλατοξίνη σε γεωργικά πλαίσια, οδηγώντας δυνητικά σε βελτιωμένη ποιότητα σπόρων και απόδοση της καλλιέργειας.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Βάσσοι, Δ.Β. (2004) Τρόφιμα και υγεία του καταναλωτή (Τροφογενείς διαταραχές), Εκδόσεις Παπασωτηρίου, σελ. 131-136.
- Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1881/2006 της Επιτροπής της 19ης Δεκεμβρίου 2006 για καθορισμό μέγιστων επιτρεπτών επιπέδων για ορισμένες ουσίες οι οποίες επιμολύνουν τα τρόφιμα.
- Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 401/2006 της Επιτροπής της 23ης Φεβρουαρίου 2006 για καθορισμό μεθόδων δειγματοληψίας και ανάλυσης για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων μυκοτοξινών στα τρόφιμα.
- Πετρωτός Κ. (2010), Ανάπτυξη ταχείας μεθόδου ανάλυσης επικίνδυνων μυκοτοξινών σε ξηρούς καρπούς.
- Abedi, E., Pourmohammadi, K., Sayadi, M., Mousavifard, M., (2022)
Determining the adsorption capacity and stability of Aflatoxin B1, Ochratoxin A, and Zearalenon on single and co-culture *L. acidophilus* and *L. rhamnosus* surfaces
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104517>
- Accinelli, C., Abbas, H. K., Vicari, A., & Shier, W. T. (2014)
Aflatoxin contamination of corn under different agro-environmental conditions and biocontrol applications
<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.04.021>
- Ali H. Jawada,, Shaymaa Adil Mohammedb, Mohd Sufri Mastulia, Mohd Fauzi Abdullah (2018)
Carbonization of corn (*Zea mays*) cob agricultural residue by one-step activation with sulfuric acid for methylene blue adsorption
<https://doi.org/10.5004/dwt.2018.22680>
- Cen, H.; He, Y. Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality. Trends Food Sci.Technol. (2007), 18, 72–83 <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.09.003>
- Doris Klingelhöfer, Yun Zhu , Markus Braun, Michael H.K. Bendels, Dörthe Brüggmann, David A. Groneberg (2018)
Aflatoxin – Publication analysis of a global health threat
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.02.017>

- Ethics and Health Monitoring report - Health Council of the Netherlands, (2004)
- FAO. World Food and Agriculture - Statistical Yearbook 2021. Rome.
<https://doi.org/10.4060/cb4477en>
- Food and agriculture organization (FAO) of the united nations, (2004)
- Food and agriculture organization (FAO) of the united nations, (2005)
- García-Herranz, V., Valdehita, A., Navas, J.M., Fernández-Cruz, M.L., (2019)
Cytotoxicity against fish and mammalian cell lines and endocrine activity of
the mycotoxins beauvericin, deoxynivalenol and ochratoxin-A, Food and
Chemical Toxicology
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.01.036>
- Greco, D., D'Ascanio, V., Santovito, E., Logrieco, A. F., & Avantaggiato, G.
(2018)
Comparative efficacy of agricultural by-products in sequestering mycotoxins
<https://doi.org/10.1002/jsfa.9343>
- Jaynes, W., Zartman R., & Hundall, W. (2007)
Aflatoxin B1 adsorption by clays from water and corn meal. Applied Clay
Science, 36(1-3), 197–205
<https://doi.org/10.1016/j.clay.2006.06.012>
- Joseph Atehnkeng, Matthias Donner, Peter S. Ojiambo, Babatunde Ikotun, Joao
Augusto, Peter J. Cotty and Ranajit Bandyopadhyay, (2015)
Environmental distribution and genetic diversity of vegetative compatibility
groups determine biocontrol strategies to mitigate aflatoxin contamination of
maize by *Aspergillus flavus*
<https://doi.org/10.1111/1751-7915.12324>
- Kihal, A., Rodríguez-Prado, M., and Calsamiglia, S., (2023),
A network meta-analysis on the efficacy of different mycotoxin binders
to reduce aflatoxin M1 in milk after aflatoxin B1 challenge in dairy cows
J. Dairy Sci. 106:5379–5387
<https://doi.org/10.3168/jds.2022-23028>
- Kihal, A., Rodríguez-Prado, M., Godoy, C., Cristofol, C., and Calsamiglia, S.,
(2019),
In vitro assessment of the capacity of certain mycotoxin binders to adsorb some
amino acids and water-soluble vitamins, J. Dairy Sci. 103:3125–3132

<https://doi.org/10.3168/jds.2019-17561>

- Klingelhöfer, D., Zhu, Y., Braun, M., Bendels, M. H. K., Brüggmann, D., & Groneberg, D. A. (2018).
Aflatoxin – Publication analysis of a global health threat. *Food Control*, 89, 280–290.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.02.017>
- Matejova I., Svobodova Z., Vakula J., Mares J., Modra H., (2016).
Impact of Mycotoxins on Aquaculture Fish Species
<https://doi.org/10.1111/jwas.12371>
- McMullin, D. Mizaikoff, B. Krska, R, (2015).
Advancements in IR spectroscopic approaches for the determination of fungal derived contaminations in food crops. *Anal. Bioanal. Chem.*, 407, 653–660.
<https://doi.org/10.1007/s00216-014-8145-5>
- Moyosore Joseph Adegbeye, Poonooru Ravi Kanth Reddy, Cynthia Adaku Chilaka, Olalekan Blessing Balogun, Mona M.M.Y. Elghandour, Raymundo Rene Rivas-Caceres, Abdelfattah Z.M. Salem, (2020)
Mycotoxin toxicity and residue in animal products: Prevalence, consumer exposure and reduction strategies, *Toxicon* Volume 177, Pages 96-108
<https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2020.01.007>
- Pingping Zha, Yueping Chen, and Yanmin Zhou, (2023)
Effects of dietary supplementation with different levels of palygorskite-based composite on growth performance, antioxidant capacity, and meat quality of broiler chickens
<https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102651>
- Pooja Bhatnagar-Mathur, Sowmini Sunkara, Madhurima Bhatnagar-Panwar, Farid Waliyar, Kiran Kumar Sharma, (2006)
Biotechnological advances for combating *Aspergillus flavus* and aflatoxin contamination in crops
<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.02.009>
- Roberta Palumbo, Alfonso Crisci, Armando Venâncio, José Cortiñas Abrahantes, Jean-Lou Dorne, Paola Battilani and Piero Toscano (2019)
Occurrence and Co-Occurrence of Mycotoxins in Cereal-Based Feed and Food
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8010074>

- Tyska, D.; Mallmann, A.; Gressler, L.T.; Mallmann, C.A. , (2021)
Near-infrared spectroscopy as a tool for rapid screening of deoxynivalenol in wheat flour and its applicability in the industry. Food Addit. Contam. Part A, 38, 1958–1968.
<https://doi.org/10.1080/19440049.2021.1954699>