

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ-ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ & ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ
ΥΓΙΕΙΝΗ:
<<ΜΕ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΤΗΝ ΥΓΙΕΙΝΗ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΥΔΑΤΩΝ>>



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
<<Ανίχνευση Ωχρατοξίνης Α σε αποξηραμένα φρούτα>>
ΣΚΡΕΤΑ ΜΑΡΙΑ του ΓΕΩΡΓΙ ΟΥ
ΥΓΙΕΙΝΟΛΟΓΟΣ Α.Τ.Ε.Ι. ΑΘΗΝΑΣ
ΕΤΟΣ 2018

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ-ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ & ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ
ΥΓΙΕΙΝΗ:
<<ΜΕ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΤΗΝ ΥΓΙΕΙΝΗ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΥΔΑΤΩΝ>>



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

<<Ανίχνευση Ωχρατοξίνης Α σε αποξηραμένα φρούτα>>

ΣΚΡΕΤΑ ΜΑΡΙΑ του ΓΕΩΡΓΙΟΥ
ΥΓΙΕΙΝΟΛΟΓΟΣ Α.Τ.Ε.Ι. ΑΘΗΝΑΣ

ΕΤΟΣ 2018

Η Τριμελής Επιτροπή:

Επιβλέπων καθηγητής: Αθανάσιος Μανούρας
Καθηγητής
Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων
ΤΕΙ Θεσσαλίας

Μέλη Τριμελούς Επιτροπής: Χατζηχριστοδούλου Χρήστος
Καθηγητής
Τμήμα Ιατρικής
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Μαλισσιόβα Ελένη
Επίκουρη Καθηγήτρια
Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων
ΤΕΙ Θεσσαλίας

...στους γονείς μου

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

<<Ανίχνευση Ωχρατοξίνης Α σε αποξηραμένα φρούτα>>

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Είναι αδιαμφισβήτητο γεγονός ότι στη σύγχρονη εποχή, αδήριτη ανάγκη για τη προστασία και τη διασφάλιση της υγείας του καταναλωτή είναι η παροχή ασφαλών τροφίμων. Δυστυχώς όμως, τα τελευταία χρόνια παρά την άνοδο και την εξέλιξη της τεχνολογίας, κάτι το οποίο σημαίνει αυτομάτως καλύτεροι και ποιοτικότεροι έλεγχοι, η παρουσία τόσο παθογόνων μικροοργανισμών όσο και άλλων τοξικών ουσιών συνεχίζουν να υπάρχουν και να μας προβληματίζουν σε τεράστιο βαθμό.

Μεταξύ των τοξικών αυτών ουσιών, είναι και οι μυκοτοξίνες, που αποτελούν ένα άλυτο ζήτημα καθώς θεωρούνται ότι αποτελούν παγκόσμιο κίνδυνο.

Το καίριο ζήτημα όμως, έγκειται στο γεγονός ότι βρισκόμαστε απέναντι στις σημαντικότερες προκλήσεις για την ασφάλεια των τροφίμων, την υγεία των ανθρώπων, των ζώων, αλλά και για τη σύγχρονη τοξικολογία.

Συγκεκριμένα, στη παρούσα διπλωματική, θα μελετήσουμε τις Ωχρατοξίνες, οι οποίες είναι γνωστό ότι ανήκουν σε μια ομάδα εξαιρετικά τοξικών ουσιών. Αφορά μια ομάδα μεταβολιτών με παρόμοιες χημικές δομές, οι οποίοι παράγονται από τα γένη *Aspergillus* και *Penicillium*. Αυτή η οποία έχει απασχολήσει σε μεγαλύτερο βαθμό από τις Ωχρατοξίνες είναι η Ωχρατοξίνη Α, ΩΤΑ, ΩΑ, Ochratoxin A, ΟΤΑ και ΟΑ καθώς σύμφωνα με τον IARC (International Agency for Research on Cancer, Διεθνής Οργανισμός για Έρευνα στον Καρκίνο) αποτελεί καρκινογόνο κατηγορίας 2B (class 2B carcinogen), δηλαδή, πιθανό καρκινογόνο για τον άνθρωπο.

Εξαιτίας αυτού κρίνεται ιδιαίτερα σημαντική για τη Δημόσια Υγεία, καθώς εμπειρεύεται σε πολλές ομάδες τροφίμων που καταναλώνονται ιδιαίτερα συχνά.

Αντικείμενο της έρευνας μας, από την πληθώρα όλων αυτών των τροφίμων αποτέλεσαν τα αποξηραμένα φρούτα η αλλιώς super foods εξαιτίας της δημοτικότητας και της ολοένα αυξανόμενης κατανάλωσής τους.

Παρά το γεγονός ότι συνιστούν μια από τις πιο υγιεινές διατροφικές επιλογές, η παρουσία Ωχρατοξίνης Α στα αποξηραμένα φρούτα που προορίζονται για άμεση κατανάλωση, αποτελεί κίνδυνο για τη Δημόσια Υγεία καθώς έχει αναφερθεί ότι έχει εξαιρετικά βλαπτικές επιδράσεις μεταξύ των οποίων είναι η νευροτοξική, νεφροτοξική, μεταλλαξογόνο, τερατογόνο και καρκινογόνο δράση.

Στόχος της πειραματικής μελέτης, απάρτισε η συλλογή δείγματος από αποξηραμένα φρούτα, συσκευασμένα και μη συσκευασμένα (χύμα), από τις περιοχές των Τρικάλων και της Καρδίτσας και η ανίχνευση Ωχρατοξίνης Α σε αυτά.

Για την επίτευξη της ανίχνευση της ΩΓΑ υπάρχει ποικιλία μεθόδων που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν αλλά στην προκειμένη έρευνα εφαρμόστηκε η ανοσοενζυμική μέθοδος ELISA καθώς είναι η πιο γρήγορη , η πιο οικονομική αλλά κυρίως η πιο εύκολη.Το πιο σημαντικό μεταξύ αυτών, αποτελεί το γεγονός ότι δεν απαιτείται εξειδικευμένο προσωπικό.

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε ήταν αυτή της δειγματοληψίας.Στην πρώτη δειγματοληψία χρησιμοποιήσαμε 34 δείγματα (24 μη συσκευασμένα {χύμα} και 10 συσκευασμένα) και μετά από δέκα μήνες χρησιμοποιήσαμε ακόμη 20 δείγματα(13 μη συσκευασμένα {χύμα} και 7 συσκευασμένα).

Στο πρώτο πείραμα, τα δείγματα τα οποία βρέθηκαν θετικά στην παρουσία Ωχρατοξίνης Α είναι τα δαμάσκηνα με 3.52 ppb, το ξανθό κεράσι με 1,57 ppb, τα αποξηραμένα δαμάσκηνα με 3,39 ppb και η αποξηραμένη μπανάνα με 12,8 ppb.

Στο δεύτερο πείραμα δεν βρέθηκε κανένα δείγμα θετικό σε Ωχρατοξίνη Α.

Από τα εργαστηριακά αποτελέσματα που λάβαμε διαπιστώσαμε ότι τα αποξηραμένα φρούτα κρίνονται κατά κανόνα ασφαλή για κατανάλωση.

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών, του τμήματος Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Σκοπός της συγκεκριμένης έρευνας αποτέλεσε η συλλογή δείγματος από αποξηραμένα φρούτα συσκευασμένα ή μη, και η ανίχνευση Ωχρατοξίνης Α σε αυτά.

Απώτερος στόχος και σκοπός της πειραματικής διπλωματικής μέσω της ανάλυσης και των εργαστηριακών αποτελεσμάτων είναι να εξαχθούν συμπεράσματα για το πόσο ασφαλή είναι η καθημερινή κατανάλωση αυτών των υπερτροφών, που τα τελευταία χρόνια αποτελούν το νούμερο ένα διατροφικής επιλογής σε πολλά ελληνικά σπίτια και όχι μόνο.

Τέλος στόχος μας αποτέλεσε η κάλυψη οριζόντιας δειγματοληψίας δύο φορές με μέθοδο ρουτίνας.Η δειγματοληψία και η πειραματική διαδικασία απείχε συνειδητά 10 μήνες ώστε να έχουμε διαφορετικές παρτίδες και χρονολογίες δειγμάτων για να έχουμε όσο το δυνατόν πιο αντιπροσωπευτικό αποτέλεσμα.

POSTGRADUATE RESEARCH WORK

<< Detection of Ochratoxin A in Dried Fruits >>

SUMMARY

It is an undisputed fact, that in the modern era, it is imperative that we protect and safeguard the health of the consumer providing safe food. Unfortunately, in recent years despite the rise and development of technology, which automatically means better and more quality controls, the presence of both pathogenic microorganisms and other toxic substances has still been around and it is a matter of great concern to us.

Among these toxic substances are mycotoxins, which are an unresolved issue as they are considered to be a global threat.

But the key issue is that we are facing the most important challenges for food safety, human, and animal health, and modern toxicology.

Specifically, in this diploma, we will study Ochratoxins, which are known to belong to a group of highly toxic substances. It concerns a group of metabolites with similar chemical structures, which are produced by the genera *Aspergillus* and *Penicillium*. Of all Ochratoxins, Ochratoxin A, OTA and OA are of the great of concern, as according to the IARC (International Agency for Research on Cancer) is a class 2B carcinogen, which is possibly carcinogenic to humans.

Because of this, it is particularly important for Public Health as it is contained in many groups of foods that are consumed very often.

Object of our research, from the abundance of all these foods were dried fruits or super foods because of their popularity and their ever increasing consumption.

Despite the fact that they are one of the healthiest dietary choices, the presence of Ochratoxin A in dried fruits which is intended for immediate consumption poses a risk to Public Health as it has been reported to have extremely damaging effects, including neurotoxic, nephrotoxic, mutagenic, teratogenic and carcinogenic effects.

Objective of the experimental study was to collect a sample of dried fruit, packaged and unpackaged (in bulk), from the areas of Trikala and Karditsa and the detection of Ochratoxin A in them.

In order to achieve the detection of OTA there is a variety of methods that could be used, but in this study the ELISA immunoenzymatic method was applied as it is the quickest, the most economical but especially the easiest. The most important of these is the fact that no specialized personnel is required.

The method which used was this sampling. In the first sampling we used 34 specimens (24 unpacked {bulk} and 10 packaged) and after ten months we used even 20 samples (13 unpackaged {bulk} and 7 packed).

In the first experiment, the samples which were found positive in the presence of Ochratoxin A are prunes with 3.52 ppb, cherry blossom with 1.57 ppb, prunes with 3.39 ppb and dried banana with 12.8 ppb.

In the second experiment, no OTA-positive sample was found.

From our laboratory results, we found that dried fruit is generally safe to eat.

This diploma thesis was developed within the framework of the Postgraduate Program of Studies of the Department of Medicine of the School of Health Sciences of the University of Thessaly. The purpose of this research was to collect a sample of dried fruits packed or unpacked, and detect OTA in them

The ultimate goal and purpose of this experimental diplomacy through analysis and laboratory results is to draw conclusions about the safety of daily consumption of these superfoods, which in recent years have been the number one food choice in many Greek homes and beyond.

Finally, our goal was to cover horizontal sampling twice by routine method. Sampling and experimental procedure consciously took 10 months to have different batches and sample times in order to have as representative a result as possible.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΩΝ.....	i
A.Πίνακες θεωρητικού μέρους.....	i
B.Πίνακες πειραματικού μέρους.....	i
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΩΝ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	ii
A.Εικόνες θεωρητικού μέρους.....	ii
B.Εικόνες πειραματικού μέρους.....	ii
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ.....	iii
A.Διαγράμματα.....	iii
1.ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	1
1.1.Ωχρατοξίνες - Ιστορική αναδρομή.....	2
1.2.Χημική δομή Ωχρατοξίνης A.....	2
1.3.Μύκητες που παράγουν Ωχρατοξίνη A.....	4
1.3.1. <i>Aspergillus ochraceus</i>	4
1.3.2. <i>Penicillium verrucosum</i>	6
1.4.Παράγοντες που επηρεάζουν τον σχηματισμό της Ωχρατοξίνης A.....	8
1.4.1.Σημαντικοί παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή της Ωχρατοξίνης A.....	9
1.4.2.Που εμφανίζεται η Ωχρατοξίνη A.....	10
1.5.Απορρόφηση-Μεταβολισμός και απέκκριση της Ωχρατοξίνης A.....	11
1.6.Τι προκαλεί η Ωχρατοξίνη A.....	12
1.7.Αποξηραμένα φρούτα.....	19
1.7.1.Αποξηραμένα φρούτα-Ιστορική αναδρομή.....	19
1.7.2.Τι είναι τα αποξηραμένα φρούτα.....	21
1.7.3.Παραγωγή αποξηραμένων φρούτων.....	22

1.7.4.Μέθοδος αποξήρανσης φρούτων.....	25
1.7.5.Κατανάλωση αποξηραμένων φρούτων και οφέλη για την υγεία.....	26
1.8.Επιδημιολογία.....	28
1.9.Ευρωπαϊκή-Ελληνική Νομοθεσία.....	29
1.9.1.Παγκόσμια Νομοθεσία.....	30
1.10.Μέθοδοι για τον προσδιορισμό της Ωχρατοξίνης A-ELISA.....	31
1.10.1. Μέθοδος ELISA - Ιστορική αναδρομή.....	31
1.10.2.Μέθοδος ELISA.....	33
2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	36
2.1.Επιλογή δείγματος.....	37
2.2.Επιλογή μεθόδου.....	38
2.3.Προκατεργασία δειγμάτων.....	39
2.4.Υλικά.....	40
2.5. Πρωτόκολλο.....	43
3.ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ.....	50
4.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	56
5.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	58
6.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	62
7.ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	66

The background of the page is a classic marbled paper pattern, featuring a complex, organic design of swirling, interlocking shapes in shades of beige, cream, and light brown. The pattern is dense and covers the entire central area of the page.

ΠΙΝΑΚΕΣ

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ ΠΙΝΑΚΩΝ

A. Πίνακες θεωρητικού μέρους

<i>A/A</i>	<i>ΤΙΤΛΟΣ ΠΙΝΑΚΑ</i>	<i>ΣΕΛΙΔΑ</i>
1.	<i>Χαρακτηριστικά του <i>Aspergillus ochraceus</i></i>	5
2.	<i>Επιστημονική ταξινόμηση του <i>Penicillium verrucosum</i></i>	7
3.	<i>Μέση θανατηφόρος δόση και χρόνοι ημίσειας ζωής ($t_{1/2}$) της ΩΤΑ μετά από δια του στόματος λήψη</i>	11
4.	<i>Νεφροτοξικότητα της ΩΤΑ</i>	16
5.	<i>Γλυκαιμικός δείκτης διάφορων αποξηραμένων φρούτων</i>	21
6.	<i>Θερμιδική αξία αποξηραμένων φρούτων</i>	23
7.	<i>Η Ωχρατοξίνη Α και το σύστημα ταχείας ειδοποίησης της ΕΕ για τα τρόφιμα και τις ζωοτροφές (RASFF)</i>	28
8.	<i>Ωχρατοξίνη Α και κοινοποιήσεις συναγερμού στην ΕΕ</i>	30

B. Πίνακες πειραματικού μέρους

<i>A/A</i>	<i>ΤΙΤΛΟΣ ΠΙΝΑΚΑ</i>	<i>ΣΕΛΙΔΑ</i>
9.	<i>Παράδειγμα διάταξης της μικροπλάκας (αναφέρεται σε πρότυπη καμπύλη 6 σημείων)</i>	44
10.	<i>Αναλυτικά αποτελέσματα πρώτου πειράματος για την ανίχνευση ΩΤΑ</i>	51
11.	<i>Αναλυτικά αποτελέσματα δεύτερου πειράματος για την ανίχνευση ΩΤΑ</i>	52
12.	<i>Αποτελέσματα ΩΤΑ σε αποξηραμένα φρούτα πρώτου πειράματος σε Excel</i>	53
13.	<i>Αποτελέσματα ΩΤΑ σε αποξηραμένα φρούτα δεύτερου πειράματος σε Excel</i>	54

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ ΕΙΚΟΝΩΝ

A.Εικόνες θεωρητικού μέρους

<i>A/A</i>	<i>ΤΙΤΛΟΣ ΕΙΚΟΝΑΣ</i>	<i>ΣΕΛΙΔΑ</i>
1.	<i>Δομικός τύπος Ωχρατοξίνης A</i>	3
2.	<i>Απεικόνιση του Aspergillus ochraceus</i>	6
3.	<i>Απεικόνιση του Penicillium verrucosum</i>	7
4.	<i>Χημική Δομή της Ωχρατοξίνης A και των παραγώγων της</i>	10
5.	<i>Χημική Δομή της Ωχρατοξίνης A σε τρισδιάστατη μορφή(3D)</i>	18
6.	<i>Απεικόνιση Αποξηραμένων φρούτων</i>	20
7.	<i>Διαδικασία μεθόδου αποξήρανσης σύκων</i>	26
8.	<i>Διαδικασία ξήρανσης της μπανάνας</i>	27
9.	<i>Απεικόνιση kit κατά τη διαδικασίας της μεθόδου ELISA</i>	34

B.Εικόνες πειραματικού μέρους

<i>A.A</i>	<i>ΤΙΤΛΟΣ ΕΙΚΟΝΑΣ</i>	<i>ΣΕΛΙΔΑ</i>
10.	<i>Απεικόνιση αντιδραστηρίων του Bio-Shield Ochratoxin ELISA kit</i>	41
11.	<i>Αναλυτικά βήματα κατά τη διαδικασία της μεθόδου ELISA</i>	43
12.	<i>Χρήση πολυκάναλης μικροπιπέτας</i>	45
13.	<i>Απομάκρυνση πλαστικού καλύμματος</i>	46
14.	<i>Προσθήκη από το έτοιμο προς χρήση Stop solution</i>	47
15.	<i>Φωτόμετρο ELISA READER ASYS high - tech 656</i>	49

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

A. Διαγράμματα Πειραματικού Μέρους

<i>A/A</i>	<i>ΤΙΤΛΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΟΣ</i>	<i>ΣΕΛΙΔΑ</i>
<i>1.</i>	<i>Πρότυπη καμπύλη</i>	<i>55</i>

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1.ΩΧΡΑΤΟΞΙΝΕΣ-ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Το 1965 ήταν που πρωτοεμφανίστηκαν οι Ωχρατοξίνες οι οποίες ερευνήθηκαν και περιγράφηκαν ως τοξικοί μεταβολίτες (Van der Merweet et al., 1965). Η Ωχρατοξίνη Α εντοπίστηκε για πρώτη φορά στη Νότια Αφρική ως φυσικός δευτερογενής μεταβολίτης ενός στελέχους του είδους *Aspergillus ochraceus*. Οι Ωχρατοξίνες ήταν από τις πρώτες ομάδες τοξινών που απομονώθηκαν και μαζί με την αφλατοξίνη αποτελέσαν το έναυσμα για την έρευνα και τη μελέτη τους στον τομέα της μυκοτοξικολογίας (Zinedine et al., 2010).

Υπαιτιότητα της μόλυνσης της σοδειάς του 1967 στις Η.Π.Α θεωρήθηκε η Ωχρατοξίνη Α.

1.2.ΧΗΜΙΚΗ ΔΟΜΗ ΩΧΡΑΤΟΞΙΝΗΣ Α

Οι Ωχρατοξίνες συνιστούν μια σημαντική κατηγορία μυκοτοξινών. Ουσιαστικά αφορά μια ομάδα μεταβολιτών με παρόμοιες χημικές δομές, οι οποίοι παράγονται από τα γένη *Aspergillus ochraceus* και *Penicillium verrucosum* αλλά και κάποιες άλλες μορφές του *Penicillium* (Al-Anati L, Petzinger E, 2006). Χωρίζεται σε τρία είδη, την Α, Β και C.

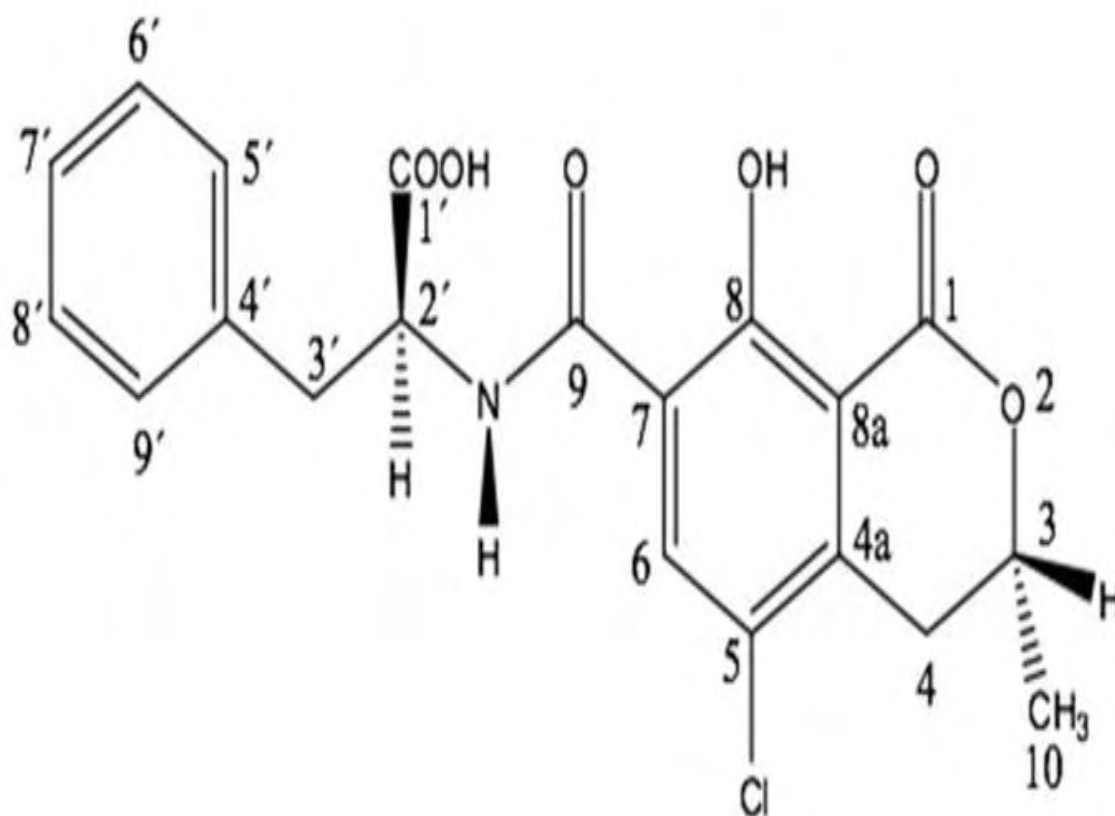
Όσον αφορά τη δομή μεταξύ τους οι τρεις τοξίνες (Α, Β και C) παρουσιάζουν αρκετές διαφορές αναφορικά με την τοξικότητα της κάθε μιας. Η Ωχρατοξίνη Α (ΟΤΑ) είναι αυτή την οποία συναντάμε πιο συχνά καθώς είναι η πιο τοξική από τις τρεις (Magan and Olsen, 2004). Αυτός είναι και ο λόγος που έχει μελετηθεί περισσότερο, εξαιτίας της τοξικολογικής της σημασίας.

Αντικατάσταση του χλωρίου με ένα άτομο υδρογόνου μας δίνει την Ωχρατοξίνη Β (ΟΤΒ), η οποία είναι κατά 10-20 φορές λιγότερο τοξική από την Α. Περαιτέρω δομικές αλλαγές παράγουν την Ωχρατοξίνη C, η οποία αντιθέτως δεν εμφανίζει

τοξική δράση. Παρόλα αυτά , μία πρόσφατη έρευνα υποστηρίζει, ότι η OTC είναι πολύ πιο τοξική από την OTA ή την OTB στην κυτταρική σειρά THP-1 από ανθρώπινο μονοκύτταρο (μονοπύρηνο, φαγοκυτταρικό λευκοκύτταρο).

Η ΩΤΑ λοιπόν είναι μια χλωριωμένη ισοκουμαρινική ένωση με μοριακό τύπο $C_{21}H_{18}ClNO_6$ και μοριακό βάρος που ισούται με 403,82g/mol. Συνήθως περιγράφεται σαν μια ένωση φαινυλαλανίνης-κουμαρίνης λόγω της χημικής ομοιότητας με την φαινυλαλανίνη.

Ο βασικός μηχανισμός δράσης της είναι η αναστολή σύνθεσης των πρωτεϊνών. Εξαιτίας αυτού, όλα τα κυτταρικά συστήματα που επηρεάζονται από την φαινυλαλανίνη και την χρησιμοποιούν ως υπόστρωμα αποτελούν πιθανό στόχο της ΩΤΑ.



Εικόνα 1: Δομικός τύπος Ωχρατοξίνης Α
Πηγή: PubMed, 2016

1.3.ΜΥΚΗΤΕΣ ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΟΥΝ ΩΧΡΑΤΟΞΙΝΗ Α

Σύμφωνα με μελέτες το είδος *Aspergillus ochraceus* ανήκει στο *Aspergillus* του είδους *Circumdati*. Το είδος *Circumdati*, το οποίο είναι εμφανίσιμο σε πάνω από 20 είδη, παρουσιάζει διαφορετικά στοιχεία όπως η Ωχρατοξίνη Α, το πενικιλικό οξύ αλλά και μια σειρά από άλλους μεταβολίτες καθώς και κάποια άλλα είδη, τα οποία δεν παράγουν Ωχρατοξίνη Α. Μέσα στα είδη στα οποία παράγεται η Ωχρατοξίνη Α είναι τα *A. cretensis*, *A. flocculosus*, *A. fresenii*, *A. muricatus*, *A. ochraceus*, *A. pseudoelegans*, *A. pulvericola*, *A. roseoglobulosus*, *A. sclerotiorum*, *A. steynii* και *A. westerdijkiae*.

Μερικά από τα είδη του *Circumdati*, που δεν μπορούν να παράξουν Ωχρατοξίνη είναι τα *A. auricomus*, *A. bridgeri*, *A. elegans*, *A. insulicola*, *A. neobridgeri*, *A. pallidofulvus* καθώς και άλλα. (Visagie et al., 2014).

Η Ωχρατοξίνη Α παράγεται από το είδος *Penicillium nordicum* (Pitt, 1987, Frisvad and Samson, 2004) καθώς και από το είδος *Penicillium verrucosum*, το οποίο συνιστά το σημαντικότερο ωχρατοξιγόνο είδος του γένους *Penicillium*.

Είδη του γένους *Aspergillus* που ανήκουν στο είδος *Nigri* έχει αποδειχθεί ότι παράγουν Ωχρατοξίνη Α (Abarca et al., 1994, 2001), μεταξύ αυτών τα είδη *A. niger*, *A. carbonarius* το οποίο είναι το βασικότερο στοιχείο του είδους *Nigri* από το οποίο προκύπτει Ωχρατοξίνη. Επιπρόσθετα, κάποια άλλα είδη του γένους *Aspergillus* που ανήκουν στο *Nigri* και έχει αναφερθεί ότι παράγουν Ωχρατοξίνη είναι τα *A. lacticoffeatus*, *A. sclerotioniger* (Samson et al., 2006).

1.3.1. *Aspergillus ochraceus*

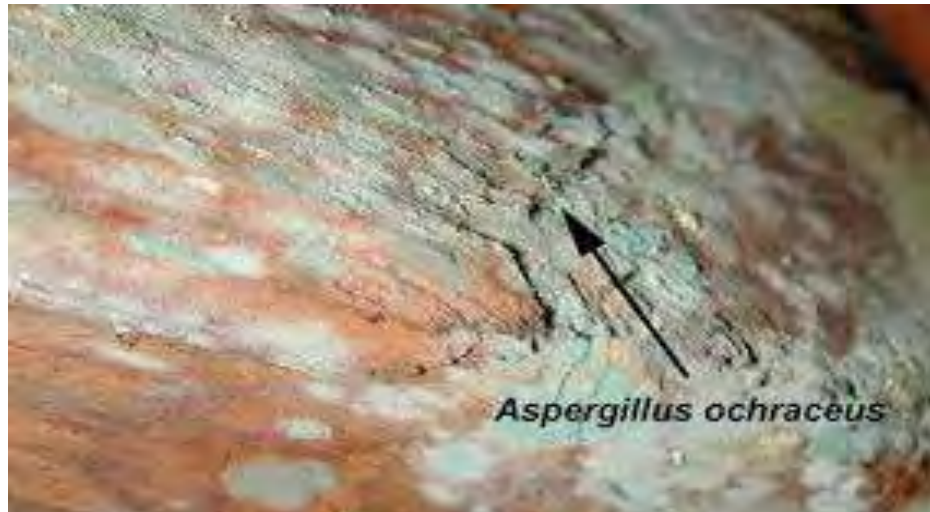
Ο *Aspergillus ochraceus* αποτελεί ένα είδος του γένους *Aspergillus* το οποίο είναι διαδεδομένο ότι παράγει την τοξίνη Ωχρατοξίνη Α, μία από τις πλέον άφθονες μυκοτοξίνες που προσβάλλουν τα τρόφιμα. Παράγει επίσης τη μελείνη διϋδροϊσοκουμαρίνης. Πρόκειται για έναν νηματώδη μύκητα της φύσης. (Ghibaud,

G, Peano,2010). Παραδοσιακά ένας μύκητας του εδάφους, έχει πλέον αρχίσει να προσαρμόζεται σε ποικίλες οικολογικές θέσεις, όπως τα αγροτικά προϊόντα, τα εκτρεφόμενα ζώα και τα θαλάσσια είδη. Σε ανθρώπους και ζώα η κατανάλωση αυτού του μύκητα παράγει χρόνιες νευροτοξικές, ανοσοκατασταλτικές, γενοτοξικές, καρκινογόνες και τερατογόνες επιδράσεις(Ravelo Abreu, 2011).Τα αερόφερα σπόρια είναι μία από τις πιθανές αιτίες του άσθματος στα παιδιά και στις πνευμονικές παθήσεις στον άνθρωπο.Οι πληθυσμοί των χοίρων και των κοτόπουλων στις εκμεταλλεύσεις είναι οι περισσότερο επηρεασμένοι από αυτόν τον μύκητα και τις μυκοτοξίνες του(Zimmermann et al.,1979).Ορισμένα, μυκητοκτόνα όπως το μανκοζέμ, το οξυχλωριούχο χαλκό και το θείο έχουν ανασταλτικές επιδράσεις στην ανάπτυξη αυτού του μύκητα και των δυνατοτήτων παραγωγής μυκοτοξινών του(Mateo, EM.,2011).

Πίνακας 1:Χαρακτηριστικά του Aspergillus ochraceus

Πηγή:Wilhelm, 1877

Aspergillus ochraceus	ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ
Βασίλειο	Μύκητες
Φύλλο	Ascomycota
Κατηγορία	Eurotiomycetes
Παραγγελία	Eurotiales
Οικογένεια	Trichocomaceae
Γένος	Aspergillus
Είδος	A. Ochraceus



Εικόνα 2: Απεικόνιση του Aspergillus ochraceus

Πηγή: www.aspergillus.org.uk

1.3.2. Penicillium verrucosum

Ο *Penicillium verrucosum*, αποτελεί έναν ψυχοφιλικό μύκητα ο οποίος ανακαλύφθηκε στο Βέλγιο και εισήχθη από τον Dierckx, το 1901 (Mycobank, 2016). Οι διαφορές στο χρώμα των αποικιών είναι αυτές οι οποίες χαρακτηρίζουν και διαχωρίζουν τις έξι ποικιλίες του είδους αυτού.

Ο συγκεκριμένος μύκητας ευθύνεται για σημαντικές αλλοιώσεις στα τρόφιμα, και ειδικά για τα δημητριακά και άλλες καλλιέργειες δημητριακών στις οποίες αναπτύσσεται (Francisco Javier et al., 2016).

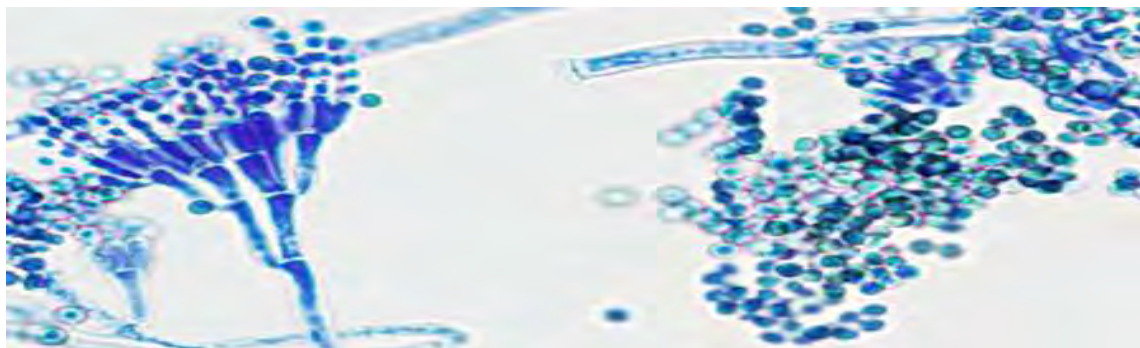
Η ανάπτυξή του μύκητα συντελείται βαθμιαία με σκοπό τη μείωση της αλλοίωσης των τροφίμων από τους μύκητες και τα τοξικά προϊόντα.

Το γονιδίωμα του *P. Verrucosum* έχει αλληλουχηθεί και τα γονιδιακά συσσωματώματα για τις βιοσυνθέσεις των μυκοτοξινών του έχουν ταυτοποιηθεί.

Πίνακας 2: Επιστημονική ταξινόμηση του *Penicillium verrucosum*

Πηγή:mycobank

<i>Penicillium verrucosum</i>	Χαρακτηριστικά
Βασίλειο	Μύκητες
Τμήμα	Ascomycota
Υποδιαίρεση	Pezizomycotina
Κατηγορία	Eurotiomycetes
Παραγγελία	Eurotiales
Γένος	Penicillium
Είδος	<i>P. verrucosum</i>



Εικόνα 3: Απεικόνιση του *Penicillium verrucosum*

Πηγή:realtimelab

1.4.ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟΝ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ ΤΗΣ ΩΧΡΑΤΟΞΙΝΗΣ Α

Η ΩΤΑ όπως έχει ήδη προαναφερθεί, αποτελεί μία τοξίνη η οποία παράγεται φυσικά, άνευ παρέμβασης εξωτερικών παραγόντων, αποτελούμενη από διάφορα είδη *Aspergillus* και *Penicillium*.

Τα προαναφερθέντα είδη, εντοπίζονται σε διάφορες περιοχές και ευδοκούν σε διαφορετικά κλίματα. Ως εκ τούτου, η μόλυνση των συγκομιδών τροφίμων με ΩΤΑ μπορεί να εκδηλωθεί σε παγκόσμια κλίμακα.

Συγκεκριμένα, κάποιοι από τους κρίσιμους παράγοντες, οι οποίοι εγκυμονούν κινδύνους που επηρεάζουν την ανάπτυξη των μυκήτων κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας, συγκομιδής και αποθήκευσης των ευαίσθητων στην ΩΤΑ αγροτικών προϊόντων είναι:

- η θερμοκρασία
- ο παράγοντας της υγρασίας
- ο χρόνος που το προϊόν εκτίθεται σε δυσμενείς συνθήκες

Επιπλέον ορισμένοι παράγοντες που ευνοούν την παρουσία των σπορίων είναι :

- μηχανικοί παράγοντες
- τα έντομα
- οι τραυματισμοί που προκαλούν οι καιρικές συνθήκες όπως η βροχή ή η καταιγίδα
- η διαθεσιμότητα των μεταλλικών συστατικών
- το PH
- τα επίπεδα του οξυγόνου
- τα επίπεδα του διοξειδίου του άνθρακα
- χημικοί και φυσικοί χειρισμοί

και τέλος σε ορισμένα αγροτικά προϊόντα :

- ❖ η επανύγρανση
- ❖ η αποξήρανση του προϊόντος

Παρόλα αυτά, αδιαμφισβήτητο γεγονός αποτελεί, πως η παρουσία των μυκήτων δεν υπονοεί την παραγωγή ΩΤΑ εφόσον υπάρχουν συγκεκριμένες βέλτιστες συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας, οξυγόνου.

Επιπλέον, πιθανολογείται η ανίχνευση της ΩΤΑ, ανεξαρτήτως ανάπτυξης μυκήτων εφόσον συγκεκριμένες χημικές διεργασίες ή περιβαλλοντικές αλλαγές μπορούν να αδρανοποιήσουν τα σπόρια των μυκήτων αλλά χωρίς να μεταβάλλουν την τοξίνη, η οποία παραμένει στο υπόστρωμα.

1.4.1.ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΜΕΙΩΝΟΥΝ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΩΧΡΑΤΟΞΙΝΗΣ Α

Οι κάτωθι συμβουλές μπορούν να οδηγήσουν στη διασφάλιση της μη ανάπτυξης της ΩΤΑ.

Αυτές είναι:

- Άριστες συνθήκες υγιεινής κατά την αποθήκευση.
- Απολύμανση των χώρων αποθήκευσης πριν από την συγκομιδή.
- Χρονικά κατάλληλη περίοδο κοπής.
- Διασφάλιση ικανής επιφάνειας ξήρανσης.
- Τάχιστη ξήρανση.
- Δροσερό περιβάλλον.
- Παρακολούθηση θερμοκρασιών και υγρασίας του καρπού.
- Έλεγχος των εντόμων και των τρωκτικών.

1.5.ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΑΠΕΚΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΩΤΑ

Η απορρόφηση της ΩΤΑ μετά την κατανάλωση μολυσμένου τροφίμου επιτυγχάνεται διαμέσως του γαστρεντερικού συστήματος. Εν συνεχεία, η τοξίνη αυτή περνά στον ορό του αίματος δεσμεύοντας τις πρωτεΐνες του.

Ο χρόνος ημίσειας ζωής στον ορό του αίματος ανάμεσα στον άνθρωπο και στα ζώα παραλλάσσεται σημαντικά και εξαρτάται από τη συγγένεια και τον βαθμό δέσμευσης των πρωτεϊνών. Συγκεκριμένα, ο χρόνος ημίσειας ζωής στον άνθρωπο δύναται να φτάσει μέχρι και τις 35 ημέρες.

Η επαναρρόφηση της τοξίνης λαμβάνει χώρα μέσω του ουροποιητικού συστήματος, της εντεροηπατικής κυκλοφορίας ή της ισχυρής δέσμευσης από την αλβουμίνη του ορού (Magan et al., 2004).

Η συσσώρευση της τοξίνης γίνεται στο αίμα, στο ήπαρ και τους νεφρούς. Τα δύο τελευταία όργανα αποτελούν και τα κύρια μέρη που συμβαίνει η βιομετατροπή της ΩΤΑ. Ο μεταβολισμός της ΩΤΑ δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως, ενώ οι υπάρχουσες πληροφορίες είναι αντικρουόμενες.

Όσον αφορά την αποβολή της τοξίνης από τον οργανισμό γίνεται μέσω των οργάνων απέκκρισης.

Πίνακας 3: Μέση θανατηφόρος δόση και χρόνοι ημίσειας ζωής ($t_{1/2}$) της ΩΤΑ μετά από δια του στόματος λήψη

Πηγή: O'Brien and Dietrich, 2005

ΕΙΔΟΣ	LD_{50}(mg/kg σ.β)	$T_{1/2}$
Άνθρωπος	<i>n.d</i>	35,5 ημέρες
Πίθηκος	<i>n.d</i>	21 ημέρες
Χοίρος	1.0-6.0	72-120 ώρες
Αρουραίος	20-30	55-120 ώρες
Ποντίκι	48-58	40 ώρες

1.6.ΤΙ ΠΡΟΚΑΛΕΙ Η ΩΧΡΑΤΟΞΙΝΗ Α

Με βάση διαδοχικές έρευνες, αποδείχθηκε η καρκινογόνος δράση της Ωχρατοξίνης Α. Η από στόματος δόση LD₅₀ είναι 20 mg/kg αλλά η ανησυχία σχετικά με τις επιπτώσεις στην υγεία έχουν να κάνουν με την έκθεση σε χρόνια τοξικότητα.

Η ΩΤΑ έχει αποδειχθεί ότι έχει νεφροτοξική, νευροτοξική, μεταλλαξογόνο, τερατογόνο και καρκινογόνο δράση. Επιπλέον, η ΩΤΑ έχει ταυτοποιηθεί με την ανθρώπινη ασθένεια Βαλκανική Ενδημική Νεφροπάθεια, η οποία συνιστά μια θανατηφόρα χρόνια νεφρική ασθένεια.

Συγκεκριμένα, μια σειρά από περιστατικά τα οποία διαδραματίστηκαν το 1950 στη γεωγραφική έκταση των Βαλκανικών χωρών, περιέγραφαν ένα είδος νεφροπάθειας. Η ασθένεια ήταν ικανή να οδηγήσει ακόμη και στο θάνατο.

Εν συνεχεία, η ασθένεια χαρακτηρίστηκε ως μια νόσος η οποία καταγράφηκε μεταγενέστερα στη βιβλιογραφία ως Βαλκανική Ενδημική Νεφροπάθεια γνωστή και ως BEN.

Πέραν του ότι έχει συνδεθεί με τη Βαλκανική Ενδημική Νεφροπάθεια συνδέεται και με τη δημιουργία όγκων στο ουροποιητικό σύστημα του ανθρώπου. Το ανθρώπινο αίμα είναι αυτό στο οποίο εντοπίζεται συνηθέστερα η ΩΤΑ.

Αξιοσημείωτο αποτελεί το γεγονός, ότι ανιχνεύεται ανά τον κόσμο σε ανθρώπινο αίμα στο οποίο και παραμένει για μεγάλο διάστημα, ο χρόνος ημιζωής ο οποίος είναι 35 ημέρες.

Μετά την απορρόφηση της θεωρείται ότι έχει αλληλεπίδραση με την αλβουμίνη του ορού του αίματος αλλά και με τις αφλατοξίνες.

Όσον αφορά τη γονοτοξικότητα της, μια κάστα επιστημόνων ισχυρίζεται ότι είναι γονοτοξική ενώ άλλοι υποστηρίζουν ότι δεν είναι ο μηχανισμός της γονοτοξικότητας αυτός που ευθύνεται για την καρκινογένεση στα πειραματόζωα.

Μελέτες οι οποίες βασίστηκαν στη διατροφή του ανθρώπου και στην ανίχνευση Ωχρατοξίνης στο αίμα ανέδειξαν ότι η έκθεση των ανθρώπων στην Ωχρατοξίνη πρέπει να είναι της τάξης 1-2 ng/ kg για κάθε μέρα.

Μολονότι, η ωχρατοξίνη συναντάται σε μια σειρά από τρόφιμα όπως καφές και κρασί πιστεύεται ότι ο κίνδυνος της ανθρώπινης υγείας από την Ωχρατοξίνη προέρχεται από τα δημητριακά ενώ η πρόσληψη λόγω της κατανάλωσης καφέ είναι της τάξης 0,06 ng.

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΩΤΑ ΣΤΟ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΑΙΜΑ

Το 1979 η Οχρατοξίνη Α εμφανίζεται για πρώτη φορά , στο ανθρώπινο αίμα και στον ορό (Chem. Rundschau. ,1979).Τα τελευταία χρόνια, η Ωχρατοξίνη Α ανιχνεύθηκε σε δείγματα ανθρώπινου αίματος παγκοσμίως.

Το 2005 ο Scott περιέγραψε την ΩΤΑ στον ορό του αίματος ως ένα μοναδικά χρήσιμο βιοδείκτη έκθεσης ΩΤΑ λόγω της υψηλής συγγένειας πρόσδεσης του σε αλβουμίνη ορού ή σε άλλες μικρές πρωτεΐνες, γεγονός που θα είχε ως αποτέλεσμα υψηλότερα επίπεδα ΩΤΑ στον ορό και μακροχρόνια επιμονή της ΩΤΑ στον ορό του αίματος (Food Addit Contam. ,2005).

Τα ποσά αίματος ΩΤΑ θα ενσωματώσουν την έκθεση σε μεγαλύτερες περιόδους. Γενικά, ο προσδιορισμός της ΩΤΑ σε δείγματα αίματος παραμένει η βασική μέθοδος για τον τρόπο παρακολούθησης της έκθεσης του ανθρώπου σε ΩΤΑ, η οποία είναι παρούσα στον ανθρώπινο ορό / πλάσμα αίματος και υποδεικνύει συνεχή έκθεση στην τοξίνη, που προέρχεται κατά βάση από την λήψη τροφής (Food Addit Contam. ,2005).

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΩΤΑ ΣΤΑ ΟΥΡΑ

Τα ούρα αποτελούν μια από τις βασικότερες οδούς απέκκρισης για την ΩΤΑ (Chem Biol Interact., 2009).Η ΩΤΑ μπορεί να βρεθεί στα ούρα αρκετές ημέρες μετά την κατάποση της.

Η εξάλειψη της ΩΤΑ μέσω των ανθρώπινων ούρων έχει αναφερθεί ότι είναι χαμηλή (μέση τιμή μεταξύ 20 και 80 ng / ημέρα) και ανεξάρτητη από την κατάποση δόσης(Mol Nutr Food Res., 2007).Η πρόσληψη ΩΤΑ περιγράφεται εξαρτώμενη από την ελεύθερη συγκέντρωση ΩΤΑ, η οποία περιορίζεται σοβαρά από τη σύνδεση της ΩΤΑ με αλβουμίνη ορού (Mol Nutr Food Res.,2007).

Συνεπώς, η σχέση μεταξύ της ΩΤΑ στα ούρα και της πρόσληψης ΩΤΑ παραμένει ιδιαίτερα περίπλοκη, όπως συμβαίνει ακριβώς και στην περίπτωση της ΩΤΑ στο αίμα.

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΩΤΑ ΣΤΟ ΜΗΤΡΙΚΟ ΓΑΛΑ

Η Οχρατοξίνη Α απεκκρίνεται και αυτή δια μέσω του ανθρώπινου γάλακτος, έτσι τα παιδιά που θηλάζουν συμπεριλαμβανομένων των μωρών εκτίθενται επίσης σε ΩΤΑ (Gareis M et al.,1988).

Παρόλα αυτά, οι ποσότητες ΩΤΑ στο μητρικό γάλα αποδείχθηκε ότι είναι πολύ χαμηλότερες από τις συγκεντρώσεις ΩΤΑ στο αίμα (έως 10 φορές) (Breitholtz-Emanuelsson A.,1993).

Για παράδειγμα, στην Ιταλία, η ΩΤΑ ανιχνεύθηκε στο γάλα από υγιείς γυναίκες με διαφορετικές διατροφικές συνήθειες σε διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές.

Επιτεύχθηκε ανάλυση της σχέσης μεταξύ μόλυνσης του ανθρώπινου γάλακτος με ΩΤΑ και της διαιτητικής πρόσληψης και πιστοποιήθηκε πράγματι ότι η εμφάνιση της ΩΤΑ στο ανθρώπινο γάλα πιθανολογείται ότι συσχετίζεται με τη καθημερινή διατροφή της μητέρας. Αξιοσημείωτο αποτελεί το γεγονός, ότι οι ισχυρότερες συσχετίσεις παρατηρήθηκαν με τα τρόφιμα φυτικής προέλευσης και, σε ελάχιστο βαθμό, με τα ζωικής προέλευσης τρόφιμα (Skaug MA et al., 2001).

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΩΤΑ ΣΤΑ ΝΕΦΡΑ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

Η εμφάνιση της Ωχρατοξίνης Α σε ανθρώπινους ιστούς φαίνεται να είναι άμεση και σαφής απόδειξη της έκθεσης του ανθρώπου στην ΩΤΑ, αν και οι μετρήσεις «in vivo» είναι αδιαμφισβήτητα περιορισμένες (Malir F et al., 2012).

Αν και είναι γνωστή η νεφροτοξικότητα που προκαλεί η ΩΤΑ, δεν υπάρχουν πολλές διαθέσιμες μελέτες που έχουν προσπαθήσει συγκεκριμένα να προσδιορίσουν την ΩΤΑ σε ανθρώπινα νεφρά παρόλο που έχουν διεξαχθεί αρκετές μελέτες σχετικά με την περιεκτικότητα σε ΩΤΑ σε ανθρώπινα νεφρά.

Για παράδειγμα, στη Γερμανία, στην Τσεχική Δημοκρατία σε 30 δείγματα νεφρού, η ΩΤΑ κυμαίνονταν από 0,1 έως 0,2 ng / g. (0,07 ng / g), ενώ στην Πολωνία σε 19 δείγματα, η ΩΤΑ κυμαίνονταν από 0,15 έως 0,39 ng / g με μέση τιμή 0,26 ng / g (Rösner H et al., 2006).

Αρκετά δείγματα ανθρώπινων νεφρών και συγκεκριμένα 60 που ελήφθησαν από ασθενείς που πάσχουν από καρκίνο νεφρού ή ουροδόχο κύστης, από τη Βουλγαρία, τη Σερβία, την Κροατία και τη Γαλλία έχουν αναλυθεί μέχρι τώρα. Όχι μόνο ανιχνεύθηκε ΩΤΑ αλλά και παράγωγα ΩΤΑ. Ενδιαφέρον αποτελεί το γεγονός, ότι ανιχνεύθηκαν προϊόντα προσθήκης DNA και η φύση του DNA ήταν σε σχέση με τα παράγωγα της ΩΤΑ (Pfohl-Leszkowicz A et al., 2007).

ΩΤΑ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ

Η Ωχρατοξίνη Α, σύμφωνα με έρευνες εκτός του ότι έχει αποδειχθεί ότι είναι δυνητικά καρκινογόνος για τους ανθρώπους, έχει αποδειχθεί ότι είναι ασθενώς μεταλλαξιογόνος, πιθανώς με επαγωγή οξειδωτικής βλάβης του DNA (Palma N et al., 2007).

Τα στοιχεία σε πειραματόζωα είναι αρκετά για να δείξουν την καρκινογένεση της Ωχρατοξίνης Α. Δοκιμές για καρκινογένεση έχουν γίνει σε ποντικούς και αρουραίους με χορήγηση από του στόματος.

Οι δοκιμές δείχνουν ελαφρώς τη συχνότητα εμφάνισης ηπατοκυτταρικών καρκινωμάτων σε ποντίκια κάθε φύλου (Bendele AM et al., 1985).

Όσον αφορά τους ανθρώπους, δυστυχώς είναι διαθέσιμα πολύ λίγα ιστολογικά δεδομένα, συνεπώς δεν έχει βρεθεί σύνδεση μεταξύ της Ωχρατοξίνης Α και του καρκινώματος των νεφρικών κυττάρων.

Παρόλαυτά, η συχνότητα εμφάνισης μεταγραφικών καρκίνων ουροθελικού καρκίνου του ουροποιητικού φαίνεται να είναι ασυνήθιστα υψηλή σε ασθενείς με ενδημική νεφροπάθεια των Βαλκανίων, ειδικά για την άνω ουροφόρο (Basic-Jukic N et al., 2007).

Ο μοριακός μηχανισμός της καρκινογένεσης Ωχρατοξίνης Α, μελετάται λόγω της αντικρουόμενης λογοτεχνίας, ωστόσο αυτή η μυκοτοξίνη φαίνεται να διαδραματίζει τεράστιο ρόλο στη μείωση των αντιοξειδωτικών αμυντικών (C. Cavin et al., 2007).

ΩΤΑ ΚΑΙ ΔΕΡΜΑΤΙΚΗ ΕΚΘΕΣΗ

Η Ωχρατοξίνη Α είναι ικανή να διαπεράσει ακόμη και το ανθρώπινο δέρμα (Boonen et al., 2012).

Αποτελεί αδιαμφισβήτητο γεγονός, ότι ύστερα από επαφή με το δέρμα σε περιβάλλον γεωργικής ή οικιακής χρήσης μπορεί να διατρέξει εξαιρετικός κίνδυνος υγείας.

Εξαιτίας αυτού, η έκθεση του δέρματος στην Ωχρατοξίνη Α πρέπει να περιοριστεί στο έπακρο.

ΩΤΑ ΚΑΙ ΝΕΥΡΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ

Η Ωχρατοξίνη Α έχει ισχυρή συγγένεια με τον εγκέφαλο, ειδικά την παρεγκεφαλίδα, την κοιλιακή μεσεσεφάλη και τις δομές του ιπποκάμπου (Belmadani A et al., 1999).

Η συγγένεια με τον ιππόκαμπο μπορεί να συσχετίζεται με την παθογένεση της νόσου του Alzheimer και η υποχρόνια χορήγηση σε τρωκτικά να προκαλεί νευροεκφυλισμό του ιππόκαμπου.

Η Ωχρατοξίνη προκαλεί οξεία εξάντληση της ντοπαμίνης ραβδωτού, που αποτελεί την κλίση της νόσου του Πάρκινσον, αλλά δεν έχει προκαλέσει τον κυτταρικό

θάνατο σε καμία από τις περιοχές του εγκεφάλου που εξετάστηκαν (Sava V et al., 2006).

Μελέτες έδειξαν ότι η Ωχρατοξίνη μπορεί να συμβάλει στις ασθένειες του Alzheimer ακόμη και στις ασθένειες του Parkinson.

Παρόλαυτά, η μελέτη τους διεξήχθη in vitro και δεν μπορεί να παραταθεί στον άνθρωπο (Xiangnan Zhang et al., 2009).

Ο αναπτυσσόμενος εγκέφαλος είναι πολύ ευαίσθητος στην Ωχρατοξίνη, γι' αυτό το λόγο, αδήριτη είναι η ανάγκη προσοχής κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης (Kunio Doi; Koji Uetsuka., 2011).

ΩΤΑ - ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΟΛΗ/ΑΝΟΣΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΑ ΖΩΑ

Η Ωχρατοξίνη Α μπορεί να προκαλέσει ακόμη και ανοσοκαταστολή και ανοσοτοξικότητα στα ζώα.

Η ανοσοκατασταλτική δραστηριότητα της τοξίνης στα ζώα εμπεριέχει μειωμένο μέγεθος ανοσολογικών οργάνων (όπως ο θύμος, σπληνός και λεμφαδένες), αλλαγές στον αριθμό και τη λειτουργία του ανοσοκυττάρου αλλά και τροποποιημένη παραγωγή κυτοκίνης.

Η ανοσοτοξικότητα μπορεί να προκύπτει από κυτταρικό θάνατο ύστερα από απόπτωση και νέκρωση, συνδυαστικά με βραδεία αντικατάσταση προσβεβλημένων ανοσοκυττάρων εξαιτίας της αναστολής της πρωτεϊνικής σύνθεσης (Al-Anati L, Petzinger E, 2006).

Πίνακας 4: Νεφροτοξικότητα της ΩΤΑ

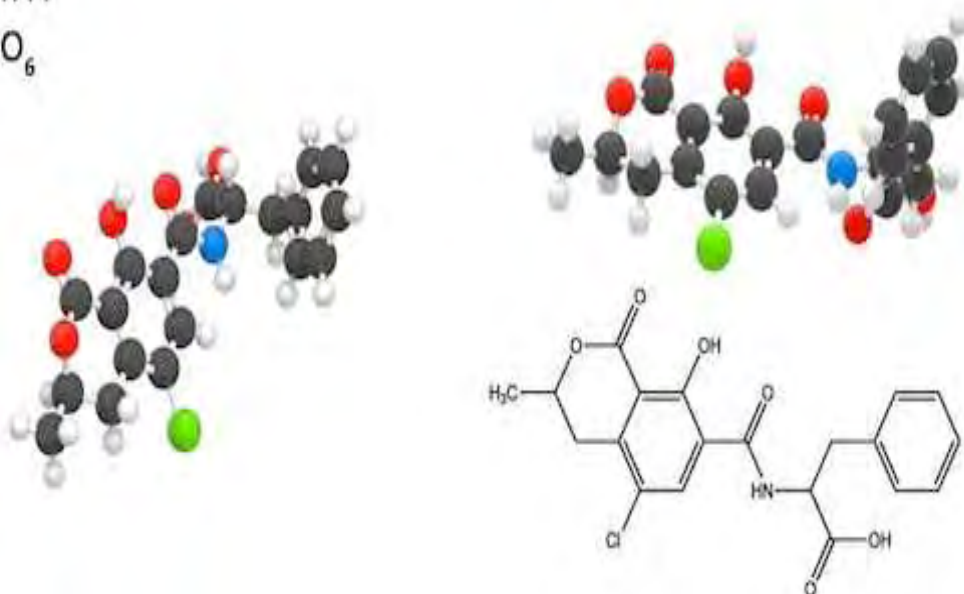
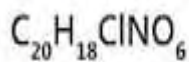
Πηγή: PubMed

ΧΡΟΝΟΛΟΓΙΑ	ΔΟΚΙΜΗ ΝΕΦΡΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ
1972	Η βαλκανική ενδημική νεφροπάθεια έχει προταθεί ως αποτέλεσμα μυκητιακής δηλητηρίασης. Ο ρόλος της ΩΤΑ στη μυκοτοξικοποίηση-BEN στον άνθρωπο και στη νεκρωτική νόσο των χοίρων.
1972	Λαμβάνοντας υπόψη τις ομοιότητες μεταξύ της BEN και της επαγόμενης από την ΩΤΑ χοίρειου νεφροπάθειας, έχει προταθεί ότι η ΩΤΑ μπορεί να εμπλέκεται στην αιτιολογία της BEN.

1978	Η ΟΤΑ είναι δυνητικά νεφροτοξική σε όλα τα εξεταζόμενα είδη, εκτός από τα ενήλικα μηρυκαστικά.
1987	Τα ευρήματα υψηλότερων επιπέδων ΟΤΑ στον ορό ασθενών που πάσχουν από BEN, ο οποίος είναι υποτύπος της νεφρίτιδας, οδήγησαν σε υποθέσεις σχετικά με τη σχέση μεταξύ της νεφροτοξικότητας του ΟΤΑ και του BEN καθώς και της συχνότητας νεοπλασματικών όγκων στον πληθυσμό αυτών των Βαλκανίων περιοχών.
1991	Η νεφροπάθεια σχετίζεται κυρίως με την κινητοποίηση του ενδοκυτταρικού ασβεστίου.
1992	Όσον αφορά τις παθήσεις του ανθρώπου, η ΟΤΑ υποψιάζεται ότι είναι ο κύριος αιτιολογικός παράγοντας που είναι υπεύθυνος για τον BEN και τους σχετιζόμενους όγκους της ουροφόρου οδού (UTT) στους ανθρώπους.
1993	Οι πειραματικές μελέτες σχετικά με τη νεφροτοξικότητα της ΟΤΑ τόσο in vitro όσο και in vivo έδειξαν ότι η ΟΤΑ διαταράσσει τις ενδοκυτταρικές μεταβολικές διεργασίες (με επακόλουθη απόπτωση των νεφρικών κυττάρων), νεφρική αιμοδυναμική και - σημαντικά και ίσως υπερισχύονες - τις λειτουργίες των εγγύς σωληναρίων μετά από υποχρόνια έκθεση). Η ΟΤΑ προκαλεί τη μείωση της πειραματικής διήθησης και της σωληνοειδούς απορρόφησης και επηρεάζει όλα τα μέρη του νεφρώνα και των νεφρών σε αυτό.
1993	Μια περίπτωση οξείας νεφροτοξικότητας στον άνθρωπο.
1999	Η ΟΤΑ προκαλεί απόπτωση σε καλλιεργημένα ανθρώπινα κύτταρα εγγύς σωληναρίου.
2002-2005	Το νεφρό είναι ο κύριος στόχος της τοξικότητας σε ΟΤΑ σε όλα τα πειραματόζωα που εξετάστηκαν.
2002-2005	Η ΟΤΑ έχει επίσης εμπλακεί στην αιτιολογία της BEN, μιας χρόνιας εκφυλιστικής νεφρικής νόσου, σε νεοπλασματικούς όγκους σε ανθρώπους σε ορισμένες περιοχές της Βαλκανικής Χερσονήσου και στη χρόνια διάμεση νεφροπάθεια (CIN) στην Τυνησία και σε άλλες χώρες της Βορείου Αφρικής.
2005	Η έκθεση σε χαμηλές δόσεις ΟΤΑ είναι υπεύθυνη για τη νεφροτοξικότητα. σε νανομοριακές συγκεντρώσεις, η ΟΤΑ οδηγεί σε συγκεκριμένες αλλαγές

	της λειτουργίας και του φαινοτύπου στα νεφρικά κύτταρα.
2007-2010	Πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις OTA που χορηγούνται για παρατεταμένο χρονικό διάστημα (έως και 14 ημέρες) επηρεάζουν την κυτταρική μοίρα (κυτταρική υπερτροφία). Επιπλέον, δρουν όχι μόνο στο στοχευόμενο όργανο, π.χ. στο νεφρό, αλλά επίσης σε ακόμη μη υποψιασμένα κύτταρα, όπως οι ινοβλάστες. Η ίδια ζημιά πιθανόν να συμβεί σε χρόνια έκθεση.
2013	Η νεφροτοξικότητα είναι συνέπεια της οξείας, υποξείας και χρόνιας έκθεσης στην OTA.
2014	Η OTA αναστέλλει τον πυρηνικό παράγοντα, οδό οξειδωτικού στρες ερυθροειδούς 2-τύπου 2 (Nrf2). Η υπερέκφραση Nrf2 παρέχει ένα πλεονέκτημα επιβίωσης και συχνά συνδέεται με την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων.
2015	Η διατροφική έκθεση στον OTA αντιπροσωπεύει ένα σοβαρό ζήτημα υγείας που περιλαμβάνει, π.χ. ανθρώπινες ενδημικές νεφροπάθειες.

Ochratoxin A



Εικόνα 5: Χημική Δομή της Ωχρατοξίνης Α σε τρισδιάστατη μορφή(3D)

Πηγή: www.shutterstock

1.7. ΑΠΟΞΗΡΑΜΕΝΑ ΦΡΟΥΤΑ

1.7.1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Παραδοσιακά αποξηραμένα φρούτα όπως σταφίδες, σύκα, βερίκοκα και μήλα έχουν αποτελέσει βασικό στοιχείο της μεσογειακής διατροφής για χιλιετίες. Αυτό οφείλεται εν μέρει στην πρώιμη καλλιέργεια τους στην περιοχή της Μέσης Ανατολής, γνωστή ως Γόνιμη ημισέληνος, που αποτελείται από τμήματα του σύγχρονου Ιράν, του Ιράκ, της Συρίας και του Λιβάνου, της νοτιοδυτικής Τουρκίας και της βόρειας Αιγύπτου. Το στέγνωμα ή η αφυδάτωση συνέβαινε επίσης ως η πρώιμη μορφή διατήρησης των τροφίμων: τα σταφύλια, και τα σύκα που έπεφταν από το δέντρο ή το αμπέλι θα στεγνώσουν στον καυτό ήλιο.

Οι πρώτοι συλλέκτες κυνηγών παρατήρησαν ότι αυτά τα πεσμένα φρούτα πήραν μια βρώσιμη μορφή και τα αξιολόγησαν για τη σταθερότητα τους καθώς και για τη συμπυκνωμένη γλυκύτητά τους (Trager J., 1995).

Η τελευταία καταγεγραμμένη αναφορά των αποξηραμένων φρούτων μπορεί να βρεθεί στα μεσοποταμιακά δισκία που χρονολογούνται περίπου στο 1700 π.Χ., τα οποία περιέχουν ό, τι είναι ίσως οι παλαιότερες γνωστές γραπτές συνταγές.

Αυτές οι πήλινες πλάκες, γραμμένες στην Akkadian, την καθημερινή γλώσσα της Βαβυλωνίας, ήταν γραμμένες σε σφηνοειδή και λένε για τη διατροφή που βασίζονταν σε σπόρους (κριθάρι, κεχρί, σιτάρι), λαχανικά και φρούτα, σύκα, μήλα, ρόδια και σταφύλια.

Η καλλιέργεια σταφυλιών ξεκίνησε αρχικά στην Αρμενία και στις ανατολικές περιοχές της Μεσογείου τον 4ο αιώνα π.Χ. Εδώ, οι σταφίδες παρασκευάστηκαν με την ταφή των σταφυλιών στον ήλιο της ερήμου. Πολύ γρήγορα, η αμπελουργία και η σταφίδα παράγονται σε ολόκληρη τη βόρεια Αφρική, συμπεριλαμβανομένου του Μαρόκου και της Τυνησίας.

Οι Φοίνικες και οι Αιγύπτιοι διαφήμισαν την παραγωγή σταφίδας, πιθανώς λόγω του τέλειου περιβάλλοντος για την ξήρανση του ήλιου. Τις έβαζαν σε βάζα για αποθήκευση και τις πρόσφεραν στους διάφορους ναούς από τις χιλιάδες.

Από τη Μέση Ανατολή, αυτά τα φρούτα εξαπλώθηκαν μέσω της Ελλάδας στην Ιταλία, όπου έγιναν σημαντικό μέρος της διατροφής.

Οι αρχαίοι Ρωμαίοι έτρωγαν σταφίδες σε θαυματικές ποσότητες και σε όλα τα επίπεδα της κοινωνίας, συμπεριλαμβανομένου του ως βασικού τμήματος των κοινών γευμάτων τους, μαζί με ελιές και φρούτα.



Εικόνα 6: Απεικόνιση αποξηραμένων φρούτων

Πηγή: www.healthbeckon.com

1.7.2.ΤΙ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΑΠΟΞΗΡΑΜΕΝΑ ΦΡΟΥΤΑ

Αποξηραμένα φρούτα είναι φρούτα από τα οποία το μεγαλύτερο μέρος της αρχικής περιεκτικότητας σε νερό έχει απομακρυνθεί είτε με φυσικό τρόπο, μέσω ξήρανσης στον ήλιο, ή με τη χρήση εξειδικευμένου αφυγραντήρα ή αποξηραντές.

Τα αποξηραμένα φρούτα είναι τα λειτουργικά τρόφιμα της φύσης, δεδομένου ότι λειτουργικά αποκαλούνται τα τρόφιμα που έχουν ένα αποδεδειγμένα ευεργετικό όφελος στην υγεία.

Τα αποξηραμένα φρούτα έχουν μια μακρά παράδοση χρήσης, που χρονολογούνται από την τέταρτη χιλιετία π.Χ. στη Μεσοποταμία, όπως προαναφέρθηκε και είναι περιζήτητα εξαιτίας της γλυκιάς γεύσης, της θρεπτικής τους αξίας, και τη μεγάλη διάρκεια ζωής τους.

Πίνακας 5:Γλυκαιμικός δείκτης διάφορων αποξηραμένων φρούτων

Πηγή:Glycemic index,University of Sydney

ΑΠΟΞΗΡΑΜΕΝΑ ΦΡΟΥΤΑ	ΓΛΥΚΑΙΜΙΚΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ
Μήλα	29
Βερίκοκα	30
Ροδάκινα	35
Δαμάσκηνα	29
Σταφίδες	54
Σύκα	61

1.7.3.ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΑΠΟΞΗΡΑΜΕΝΩΝ ΦΡΟΥΤΩΝ

Τα φρούτα μπορούν να ξηρανθούν ολόκληρα όπως είναι τα σταφύλια, τα μούρα, τα βερίκοκα, τα δαμάσκηνα η αλλιώς μισά ή ως φέτες όπως είναι τα μάνγκο, η παπάγια και το ακτινίδιο.

Διαφορετικά, μπορούν να τεμαχιστούν ύστερα από ξήρανση, παρασκευασμένα σε πάστες ή συμπυκνωμένους χυμούς.

Η υπολειμματική περιεκτικότητα σε υγρασία μπορεί να κυμαίνεται από μικρό (3 - 8%) έως σημαντικό βαθμό (16 - 18%), ανάλογα με τον τύπο του καρπού.

Μπορούν να στεγνώσουν με κατάψυξη.

Τα φρέσκα φρούτα καταψύχονται και τοποθετούνται σε θάλαμο ξήρανσης υπό κενό.

Η θερμότητα εφαρμόζεται και το νερό εξατμίζεται από τα φρούτα ενώ είναι ακόμη κατεψυγμένα.

Ο καρπός γίνεται πολύ ελαφρύς και τραγανός και διατηρεί το μεγαλύτερο μέρος της αρχικής του γεύσης.

Ως συστατικά σε παρασκευασμένα τρόφιμα, ξηροί χυμοί φρούτων, ποτά και πάστες προσδίδουν αισθητηριακά και λειτουργικά χαρακτηριστικά στις συνταγές.

Αυτά είναι:

- Η υψηλή περιεκτικότητα σε ίνες παρέχει δυνατότητες απορρόφησης ύδατος και δέσμευσης νερού και θρεπτική ενίσχυση.
- Τα οργανικά οξέα όπως η σορβιτόλη δρουν ως υγροσκοπικά, παρέχουν σταθερότητα ζύμης και ελέγχουν τη δραστηριότητα του νερού.
- Τα σάκχαρα φρούτων προσθέτουν γλυκύτητα, υγρασία και άσβεστο και ελέγχουν τη δραστηριότητα του νερού.
- Τα οξέα φρούτων, όπως το μηλικό οξύ και το τρυγικό οξύ, συμβάλλουν στη βελτίωση της γεύσης και λειτουργούν ως αντιμικροβιακοί παράγοντες (καταστέλλουν τη μούχλα και την ανάπτυξη των βακτηρίων).

- Οι βιταμίνες και τα ανόργανα άλατα αυξάνουν τη διατροφική αξία και την ετικέτα.
- Οι φαινολικές ενώσεις επιβραδύνουν την οξείδωση των λιπιδίων στα κρέατα.
- Προσθέτουν ένα φυσικό χρώμα καραμέλας.

Πίνακας 6: Θερμιδική αξία αποξηραμένων φρούτων

Πηγή: <https://diydry.co/calorie-content-of-dry-fruits>

ΑΠΟΞΗΡΑΜΕΝΑ ΦΡΟΥΤΑ	ΘΕΡΜΙΔΕΣ(ανά 100g)	ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΕΣ(ανά 100g)
Ακτινίδιο	360	86,0
Αχλάδι	262	70,0
Βατόμουρο	286	74,0
Βερίκοκο	241	63,0
Δαμάσκηνο	225	53,5
Μήλο	243	65,9
Μπανάνα	346	88,3
Παπάγια	344	85,0
Σταφίδα μαύρη	244	49,8
Σταφίδα ξανθή	292	69,4
Σύκο	239	54,7
Φράουλα	350	85

Οι ξηροί καρποί αποτελούν μια εξαιρετικά σταθερά τροφή εξαιτίας των:

- υψηλών θερμοκρασιών ξήρανσης και επεξεργασίας
- το εγγενές χαμηλό PH του φρούτου
- η περιεκτικότητα σε υγρασία
- και η παρουσία φυσικών αντιμικροβιακών ενώσεων

Αξιοσημείωτο αποτελεί το γεγονός , ότι δεν υπάρχει γνωστό περιστατικό τροφικής νόσου συσχετιζόμενο με τους ξηρούς καρπούς.

Το διοξείδιο του θείου χρησιμοποιείται ως αντιοξειδωτικό σε ορισμένα αποξηραμένα φρούτα για να προστατεύσει το χρώμα και τη γεύση τους.

Για παράδειγμα, σε χρυσές σταφίδες, αποξηραμένα ροδάκινα, μήλα και βερίκοκα, το διοξείδιο του θείου χρησιμοποιείται για να τους εμποδίσει να χάσουν το χρώμα του φωτός παρεμποδίζοντας τις αντιδράσεις ροδίσματος που σκουραίνουν τα φρούτα και αλλάζουν τη γεύση τους.

Με τα χρόνια, το διοξείδιο του θείου και τα θειώδη έχουν χρησιμοποιηθεί από πολλούς πληθυσμούς για διάφορους σκοπούς. Το διοξείδιο του θείου χρησιμοποιήθηκε αρχικά ως πρόσθετο τροφίμων το 1664 και στη συνέχεια εγκρίθηκε για τέτοια χρήση στις Ηνωμένες Πολιτείες ήδη από το 1800.

Το διοξείδιο του θείου, ενώ είναι ακίνδυνο για τα υγιή άτομα, μπορεί να προκαλέσει άσθμα όταν εισπνέεται ή απορροφάται από ευαίσθητους ανθρώπους.

Η Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) εκτιμά ότι ένας στους εκατό ανθρώπους είναι ευαίσθητος στη θειώδη (αλλεργική) και περίπου το 5% των ασθματικών κινδυνεύει επίσης να υποστεί μια ανεπιθύμητη αντίδραση. Δεδομένου ότι περίπου το 10% του πληθυσμού πάσχει από άσθμα, το ποσοστό αυτό μεταφράζεται στο 0,5% του συνολικού πληθυσμού με δυνατότητα ευαισθησίας σε θειώδη άλατα.

Αυτά τα άτομα αποτελούν την υποομάδα που προκαλεί τη μεγαλύτερη ανησυχία και γνωρίζουν σε μεγάλο βαθμό την ανάγκη να αποφεύγονται τα τρόφιμα που περιέχουν θειώδη άλατα.

Κατά συνέπεια, ο FDA απαιτεί από τους παρασκευαστές τροφίμων και τους μεταποιητές να αποκαλύψουν την παρουσία διοξειδίου του θείου σε συγκεντρώσεις τουλάχιστον 10 μερών ανά εκατομμύριο.

Λυπηρό φαινόμενο, για την ασφαλή αποξήρανση και κατανάλωση των φρούτων αποτελεί το γεγονός ότι στην Ταϊπέι της Ταϊβάν, μια δημοσκόπηση της πόλης για το 2010 απέδειξε πως το ένα τρίτο των δοκιμασμένων προϊόντων αποξηραμένων φρούτων απέτυχε στις δοκιμές προτύπων υγιεινής, οι περισσότερες από τις οποίες έχουν υπερβολικές ποσότητες κυκλαμικού νατρίου, κάποιες σε επίπεδα 20 φορές υψηλότερα από το νόμιμο όριο.

1.7.4.ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΠΟΞΗΡΑΝΣΗΣ ΤΩΝ ΦΡΟΥΤΩΝ

Αρχή της Αποξήρανσης

Η αποξήρανση επιτυγχάνεται σε χαμηλές θερμοκρασίες, κοντά στους 45 βαθμούς Κελσίου, ώστε να αποβάλλεται η υγρασία των τροφίμων.Εξαιτίας αυτής της διαδικασίας, τα βακτήρια τα οποία είναι σηψιγόνα αναλίσκουν το θρεπτικό τους υπόστρωμα.

Αυτός είναι και ο λόγος που τα προϊόντα της αποξήρανσης μπορούν να διατηρηθούν για πολλά χρόνια εφόσον η αποθήκευση τους είναι ορθή.

Η αφυδάτωση είναι τελείως διαφορετική από την αποξήρανση.Κατά την αφυδάτωση βράζουμε τα τρόφιμα σε εξαιρετικά υψηλές θερμοκρασίες που κυμαίνονται στους 60-80 βαθμούς Κελσίου αλλά και σε υγρό περιβάλλον. Έτσι χάνονται πολλές θρεπτικές ουσίες και η γεύση δεν θα είναι ποτέ τόσο έντονη όπως στα αποξηραμένα.

Τα σημαντικότερα σημεία της αποξήρανσης είναι τα εξής:

- Η ζεστή θερμοκρασία (34-35⁰C η σταθερή)
- Η καλή κυκλοφορία του αέρα
- Η προστασία των αποξηραμένων φρούτων από φως και έντομα



Εικόνα 7: Διαδικασία μεθόδου αποξήρανσης σύκων

Πηγή: foodmuseum.cs.ucy

1.7.5.ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΑΠΟΞΗΡΑΜΕΝΩΝ ΦΡΟΥΤΩΝ ΚΑΙ ΟΦΕΛΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΥΓΕΙΑ

Τα αποξηραμένα φρούτα ανήκουν σε μια ιδιαίτερη κατηγορία τροφίμων που η θέση τους θα έπρεπε να βρίσκεται δίπλα σε φρέσκα φρούτα και λαχανικά και όχι σε ερμάρια δίπλα σε πρόχειρα φαγητά όπως συνηθίζουμε να τα βλέπουμε.

Είναι τρόφιμα πλούσια σε αντιοξειδωτικές ουσίες και βιταμίνες όπως η Ε και η C καθώς και μέταλλα και ιχνοστοιχεία όπως είναι ο σίδηρος ο χαλκός το σελήνιο και το κάλιο.

Εμπεριέχουν επίσης βιοενεργά αντιοξειδωτικά τα φλαβονοειδή και καροτενοειδή. Τελευταίες έρευνες αποκαλύπτουν την αντιοξειδωτική σύνθεση των αποξηραμένων φρούτων καθώς προστατεύει το καρδιαγγειακό σύστημα εμποδίζοντας την οξείδωση της κακής χοληστερόλης (LDL).

Συγκεκριμένα, σύμφωνα με έρευνα τα αντιοξειδωτικά των αποξηραμένων σύκων εμπλουτίζουν τις λιποπρωτεΐνες στο πλάσμα του αίματος και αποτρέπουν την οξείδωση τους.

Επιπλέον, τα ξερά σύκα και τα δαμάσκηνα συγκεντρώνουν τα υψηλότερα θρεπτικά οφέλη ανάμεσα στα αποξηραμένα και μετά ακολουθούν οι χουρμάδες εξαιτίας της υψηλής περιεκτικότητας τους σε φαινόλες, μια κατηγορία αντιοξειδωτικών ουσιών

που παρά το γεγονός ότι καταστρέφεται κατά ένα μεγάλο μέρος κατά τη διαδικασία της αφυδάτωσης των φρούτων, εξακολουθεί να βρίσκεται σε αρκετά μεγάλη συγκέντρωση στα αποξηραμένα φρούτα.



Εικόνα 8: Διαδικασία ξήρασης μπανάνας

Πηγή: <http://gr.fortop-food.com>

Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι, συμβάλουν ακόμη και στην πρόληψη της οστεοπόρωσης καθώς παρατηρήθηκε ότι η συχνή κατανάλωση ξηρών δαμάσκηνων οδήγησε στον σχηματισμό νέου οστού στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Παρ'ότι η έρευνα διήρκεσε μόνο τρεις μήνες γεγονός παραμένει ότι τα βιοενεργά συστατικά των δαμάσκηνων ευνοούν την οστική αύξηση.

Τέλος, με την πρόσληψη αποξηραμένων φρούτων παρατηρείται και ήπια καθαρτική δράση. Η καθαρτική τους δράση οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στην υψηλή

περιεκτικότητα της σε φυτικές ίνες (περίπου 10-12 δαμάσκηνα παρέχουν 7 γρ. φυτικών ινών, που αντιστοιχούν στο 30% της συνιστώμενης ημερήσιας δόσης.

Πίνακας 7: Η Ωχρατοξίνη Α και το σύστημα ταχείας ειδοποίησης της ΕΕ για τα τρόφιμα και τις ζωοτροφές (RASFF)

Πηγή: PubMed

<i>ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ</i>	<i>ΧΩΡΑ</i>	<i>ΑΠΟΞΗΡΑΜΕΝΑ ΦΡΟΥΤΑ</i>	<i>ΟΤΑ(ng/g)</i>
<i>13/01/2015</i>	<i>Γερμανία</i>	<i>Σύκα Τουρκίας</i>	<i>69,9</i>
<i>16/01/2015</i>	<i>Γερμανία</i>	<i>Σύκα Τουρκίας</i>	<i>45</i>
<i>16/02/2015</i>	<i>Γερμανία</i>	<i>Λιαστά σύκα Τουρκίας</i>	<i>86</i>
<i>17/02/2015</i>	<i>Γερμανία</i>	<i>Σύκα Τουρκίας</i>	<i>32</i>
<i>23/12/2015</i>	<i>Γερμανία</i>	<i>Σύκα Τουρκίας</i>	<i>10.8</i>

1.8.ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Σε στατιστικές έρευνες και μελέτες που γίνονται ανά τακτά χρονικά διαστήματα, για την παρουσία Ωχρατοξίνης σε διάφορα τρόφιμα, ερχόμαστε αντιμέτωποι με το γεγονός του ότι, όχι απλά είναι υπαρκτή αλλά και ότι τα ποσοστά συγκέντρωσης τα οποία ανιχνεύονται είναι πολύ μεγαλύτερα από αυτά που προβλέπει η Ελληνική νομοθεσία.

Αυτό είναι κάτι το οποίο μας προβληματίζει ιδιαίτερα καθώς παρά τους συστηματικούς ελέγχους η κατάσταση συνεχίζει να είναι ιδιαίτερα ανησυχητική.

Συγκεκριμένα σε πρόσφατη μελέτη, που έγινε για τις σταφίδες, στην Ελλάδα, βρέθηκε ότι το 100% των δειγμάτων (26/26) ήταν θετικά για Ωχρατοξίνη και 18/26 είχαν συγκέντρωση μεγαλύτερη από το όριο της Ε.Ε(Kolia et al.,2014).

Από την Τουρκία προς την Ευρωπαϊκή Ένωση εξετάστηκαν 90 σπόροι ξηρών σύκων, 53 σουλτανίνας και 20 αποξηραμένων βερίκοκων για μόλυνση από Ωχρατοξίνη Α (ΩΤΑ) με καθαρισμό στήλης ανοσοσυγγένειας και υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC).

Ενώ μόνο το 4% της σουλτανίνας υπερέβη το ανώτατο όριο των 10 ng/g (-1) που καθορίστηκε από την Ε.Ε. τα 28 (53%) από τα 53 δείγματα σουλτανίνας περιείχαν ανιχνεύσιμα επίπεδα ΩΤΑ στην περιοχή από 0,51-58,04 ng (-1).

Δεκαεπτά από τα 90 ξηρά σύκα περιείχαν ανιχνεύσιμα επίπεδα ΩΤΑ, από 0,87-24,37 ng/g (-1).

Μόνο 1 από τα 20 αποξηραμένα βερίκοκα μολύνθηκε με 0,97 ng/g (-1) ΩΤΑ(M.W.Trucksess & P.M.Scott., 2007).

1.9.ΕΥΡΩΠΑΙΚΗ-ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ

Εξαιτίας ερευνών όπου απεδείχθη η καρκινογόνος δράσης της Ωχρατοξίνης Α, η Ευρωπαϊκή Επιτροπή Ασφάλειας Τροφίμων εκτίμησε την επικινδυνότητα της και όρισε ως Μέγιστο Εβδομαδιαίο Ανεκτό Ποσό Πρόσληψης στα 120 ng/kg σωματικού βάρους.

Μέγιστα επιτρεπόμενα όρια έχουν τεθεί από την Ε.Ε. για αυτές τις σημαντικότερες πηγές πρόσληψης με σκοπό τη μείωση της έκθεσης των καταναλωτών όσο το δυνατόν περισσότερο.

Η Ευρωπαϊκή Υπηρεσία Ασφάλειας Τροφίμων πρότεινε σαν Ανεκτή Εβδομαδιαία Πρόσληψη ΩΤΑ το όριο των 120 ng/kg σωματικού βάρους, ενώ πρόσφατες αναλύσεις σχετικά με την εβδομαδιαία πρόσληψη των ενηλίκων δείχνουν ότι αυτή κυμαίνεται μεταξύ 10-60 ng/kg σωματικού βάρους.

Κανονισμός (ΕΟΚ) αριθ. 315/93

Πίνακας 8: Ωχρατοξίνη Α και κοινοποιήσεις συναγερμού στην Ε.Ε.

Πηγή: PubMed

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟΥ	ΧΩΡΑ	ΑΠΟΞΗΡΑΜΕΝΑ ΦΡΟΥΤΑ	ΟΤΑ(ng/g)
22/01/2015	Γερμανία	Σύκα από την Κίνα	124
13/03/2015	Γαλλία	Σύκα από την Ισπανία	183
13/08/2015	Λουξεμβούργο	Πιπεριά από την Ταϊλάνδη	30,8
01/09/2015	Ρουμανία	Σταφίδες σουλτανίνες από την Τουρκία	15,6
02/12/2015	Βέλγιο	Σύκα από την Τουρκία	14,4
11/12/2015	Κύπρος	Σταφίδες σουλτανίνες από την Ελλάδα	18,5
23/12/2015	Βέλγιο	Σύκα από την Τουρκία	87,8

1.9.1.ΠΑΓΚΟΣΜΙΑ ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ

Οι επιστημονικές μελέτες σε όλο τον κόσμο αποδεικνύουν ότι η ανίχνευση Ωχρατοξίνης Α στον άνθρωπο, θέτει σε σοβαρό κίνδυνο την υγεία των καταναλωτών. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, να εντατικοποιηθούν οι έλεγχοι όσον αφορά τη παρουσία της, στα διάφορα τρόφιμα όσο και στην θεσμοθέτηση ορίων όπως έχει καθιερωθεί στην Ευρωπαϊκή Ένωση.

Νομοθετικοί κανονισμοί για την ΩΤΑ υπάρχουν σε πάνω από 100 χώρες παγκοσμίως. Όσον αφορά τις ανεπτυγμένες χώρες, όπου η διάρκεια ζωής έχει αυξηθεί σε συνδυασμό με τη βελτίωση της ζωής παρατηρείται μεγαλύτερη προσπάθεια όσον αφορά τον έλεγχο των αφλατοξινών. Στις αναπτυσσόμενες χώρες όμως, βασικό μέλημα βρίσκεται στην καταπολέμηση της φτώχειας και των ασθενειών.

Αποτέλεσμα αυτού αποτελεί η μη καθιέρωση κανονισμών για τις Ωχρατοξίνες ή η ύπαρξη νομοθετικών κανονισμών με λιγότερη αυστηρότητα συγκριτικά με τις ανεπτυγμένες χώρες.

1.10.ΜΕΘΟΔΟΙ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΗΣ ΩΤΑ-ELISA

Λόγω της ικανότητας της ΩΤΑ να ανιχνεύεται σε μεγάλη ποικιλία τροφίμων , η εύρεση μίας αναλυτικής μεθόδου που να ενδείκνυται για κάθε τρόφιμο είναι δύσκολη.

Λαμβάνοντας υπόψη την βασική αρχή και τη διάρκεια της εκάστοτε εφαρμοζόμενης ανάλυσης , οι μέθοδοι ανίχνευσης της ΩΤΑ ταξινομούνται στις:

1)Χρωματογραφικές μεθόδους(Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης -HPLC, Αέρια χρωματογραφία-GC,Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας TLC,Υγρή χρωματογραφία -Φασματοσκοπία μάζας-LC-MS/MS)

2)ταχείες μεθόδους (ανοσοενζυμικές -ELISA,Lateral flow device(LFD))

1.10.1.ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ-ΜΕΘΟΔΟΣ ELISA

Πριν από την ανάπτυξη της ELISA, η μόνη επιλογή για διεξαγωγή μιας ανοσοδοκιμασίας ήταν η ραδιοανοσοδοκιμασία, μια τεχνική που χρησιμοποιεί ραδιενεργά επισημασμένα αντιγόνα ή αντισώματα.

Στον ραδιοανοσοπροσδιορισμό, η ραδιενέργεια παρέχει το σήμα, το οποίο υποδεικνύει εάν υπάρχει ένα συγκεκριμένο αντιγόνο ή αντίσωμα στο δείγμα.Η

ραδιοανοσοδοκιμασία περιγράφηκε για πρώτη φορά σε επιστημονική εργασία των Rosalyn Sussman Yalow και Solomon Berson που δημοσιεύθηκε το 1960 (Yalow, Rosalyn S, et al., 1960).

Επειδή η ραδιενέργεια αποτέλεσε πιθανή απειλή για την υγεία, αναζητήθηκε μια ασφαλέστερη εναλλακτική λύση. Μια κατάλληλη εναλλακτική λύση για τον ραδιοανοσοπροσδιορισμό θα αντικαταστήσει ένα μη ραδιενεργό σήμα στη θέση του ραδιενεργού σήματος.

Όταν τα ένζυμα (όπως η υπεροξειδάση της αγριοραπανίδας) αντιδρούν με κατάλληλα υποστρώματα (όπως το ABTS ή το TMB), εμφανίζει μια αλλαγή στο χρώμα, που χρησιμοποιείται ως σήμα.

Ωστόσο, το σήμα πρέπει να συσχετίζεται με την παρουσία αντισώματος ή αντιγόνου, για αυτό το ένζυμο πρέπει να συνδέεται με ένα κατάλληλο αντίσωμα. Αυτή η διαδικασία σύνδεσης αναπτύχθηκε ανεξάρτητα από τους Stratis Avrameas και G. B(Pierce Lequin, R. M. 2005).

Δεδομένου ότι είναι απαραίτητο να αφαιρεθεί οποιοδήποτε μη δεσμευμένο αντίσωμα ή αντιγόνο με έκπλυση, το αντίσωμα ή το αντιγόνο πρέπει να στερεωθεί στην επιφάνεια του δοχείου, δηλαδή, πρέπει να παρασκευαστεί το ανοσοπροσροφητικό. Μια τεχνική για να επιτευχθεί αυτό δημοσιεύθηκε από τους Wide και Jerker Porath το 1966.

Το 1971, οι Peter Perlmann και Eva Engvall στο Πανεπιστήμιο της Στοκχόλμης της Σουηδίας και οι Anton Schuurs και Bauke van Weemen στις Κάτω Χώρες δημοσίευσαν ανεξάρτητα έγγραφα που συνθέτουν αυτές τις γνώσεις σε μεθόδους για την εκπόνηση του EIA / ELISA.

Η παραδοσιακή ELISA τυπικά περιλαμβάνει χρωμογόνους ανταποκριτές και υποστρώματα που παράγουν κάποιο είδος παρατηρήσιμης αλλαγής χρώματος για να υποδεικνύει την παρουσία αντιγόνου ή αναλύτη.

Οι νεότερες τεχνικές τύπου ELISA χρησιμοποιούν φθορογόνους, ηλεκτροχημικοφωταγικούς και ποσοτικούς ανταποκριτές PCR για τη δημιουργία ποσοτικοποιήσιμων σημάτων.

Αυτές οι νέες τεχνικές μπορούν να έχουν διάφορα πλεονεκτήματα, συμπεριλαμβανομένων των υψηλότερων ευαισθησιών και της πολυπλεξίας (Van Weemen, 1971) (Leng, S. X. et al., 2007).

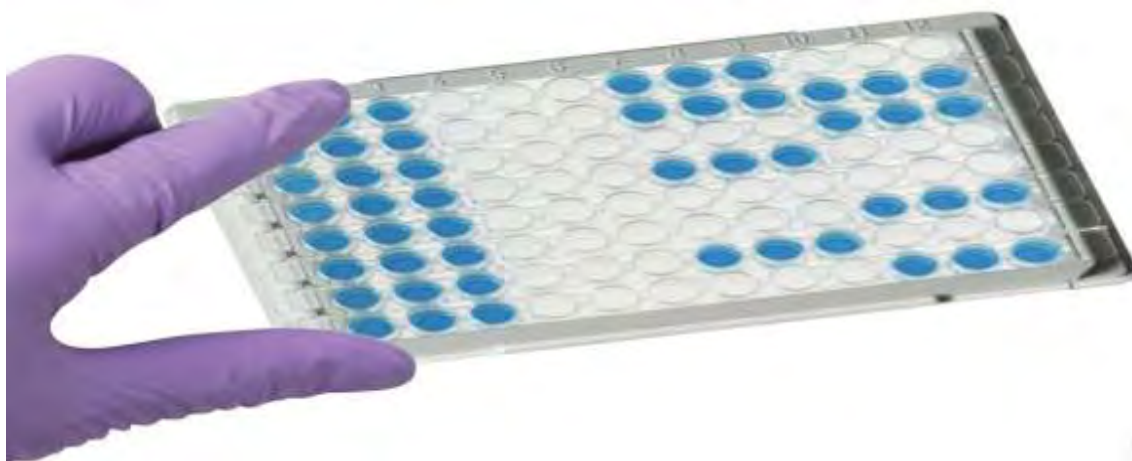
Από τεχνική άποψη, οι νεότεροι προσδιορισμοί αυτού του τύπου δεν είναι αυστηρά ELISAs, καθώς δεν είναι "συνδεδεμένοι με ένζυμο", αλλά συνδέονται με κάποιον μη-ενζυματικό ανταποκριτή.

Ωστόσο, δεδομένου ότι οι γενικές αρχές σε αυτούς τους προσδιορισμούς είναι σε μεγάλο βαθμό παρόμοιες, συχνά ομαδοποιούνται στην ίδια κατηγορία με τις ELISAs. Το 2012, ένα υπερευαίσθητο τεστ ELISA βασισμένο σε ένζυμο που χρησιμοποιεί νανοσωματίδια ως χρωμογόνο ανταποκριτής ήταν σε θέση να δώσει ένα σήμα χρώματος γυμνού οφθαλμού, από την ανίχνευση απλών καταγραφών αναλυόμενης ουσίας. Εμφανίζεται ένα μπλε χρώμα για θετικά αποτελέσματα και το κόκκινο για αρνητικό. Σημαντικό είναι να αναφερθεί ότι αυτή η ανίχνευση μπορεί να επιβεβαιώσει την παρουσία ή την απουσία αναλύτη, όχι την πραγματική συγκέντρωση (Stevens, Molly M. 2012).

1.10.2 ΜΕΘΟΔΟΣ ELISA

Η μέθοδος ELISA περιλαμβάνει την αλληλεπίδραση των αντισωμάτων που υπάρχουν στο δείγμα του ορού με προπαρασκευασμένα αντιγόνα και την προσθήκη ενός αντισώματος που προσκολλάται σε αυτό το σύμπλοκο και προκαλεί μια αλλαγή χρώματος.

Το αποτέλεσμα είναι μια τιμή οπτικής πυκνότητας (φωτομετρική κλίμακα) που διαβάζεται ως θετική, αρνητική ή διαφορούμενη. Το εύρος τιμών αναφοράς για αντιπυρηγικά αντισώματα είναι αρνητικό με ELISA. Εάν η μέθοδος με την ELISA οδηγεί σε θετικό ή διαφορούμενο εύρημα τότε το δείγμα τιτλοδοτείται χρησιμοποιώντας έμμεσο ανοσοφθορισμό ανιχνεύοντας επί των κυττάρων Hep-2 και οποιαδήποτε τιμή μικρότερη από ή ίση με αραίωση 1:40 (ή $<1/0$ IU) είναι αρνητική.



Εικόνα 9: Απεικόνιση kit κατά τη διαδικασία της μεθόδου ELISA

Πηγή: www.shutterstock.com

Η ELISA είναι μέθοδος υψηλής ευαισθησίας, η οποία επιτρέπει τον ποσοτικό προσδιορισμό αντισωμάτων, αντιγόνων, κυτταροκινών, χημικών ουσιών, ορμονών σε βιολογικά υγρά με τη χρήση ενζυμο-συζευγμένων αντισωμάτων και χρωμογόνου υποστρώματος.

Τα βασικά πλεονεκτήματα της έναντι των άλλων ανοσοδοκιμασιών είναι:

(α) κυρίως, η υψηλότερη ευαισθησία της και η επαναληψιμότητά της

και

(β) η μη χρησιμοποίηση ραδιενέργειας, όπως στις μεθόδους RIA (Radioimmunoassay). Η αρχή της μεθόδου έγκειται στην ειδική αλληλεπίδραση αντιγόνου-αντισώματος. Η ELISA αποτελεί μία ιδιαίτερα προσαρμόσιμη τεχνική δεδομένου ότι ανάλογα με την εφαρμογή, τα αντιδραστήρια και την ευαισθησία που επιδιώκεται, η μέθοδος παρουσιάζει πολλαπλές παραλλαγές, όπως η έμμεση ELISA, η ELISA τύπου Sandwich, η ανταγωνιστική ELISA, η άμεση και η έμμεση κυτταρική ELISA.

Σε όλες τις παραλλαγές της μεθόδου, τα βασικά στοιχεία που τη χαρακτηρίζουν είναι:

1)η πρόσδεση και ακινητοποίηση αντιγόνου ή αντισώματος σε στερεή επιφάνεια (Ανοσοπροσρόφηση, ImmunoSorbent)

2)η χρήση ενζυμο-συζευγμένου (Enzyme-Linked) αντισώματος

και

3) η χρήση χρωμογόνων υποστρωμάτων, τα οποία μετά από αντίδραση με το ένζυμο παράγουν διαλυτό έγχρωμο προϊόν (χρώμα ή φθορισμό) επιτρέποντας την ποσοτικοποίηση της αλληλεπίδρασης αντιγόνου-αντισώματος.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1. ΕΠΙΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Όπως έχει παρατηρηθεί, η αλόγιστη χρήση αποξηραμένων φρούτων κατά τα τελευταία έτη, έχει επαυξήσει την ανάγκη για συνεχείς και περισσότερους ελέγχους καθώς, όπως είναι γνωστό η αντίχνευση μυκοτοξινών και ειδικά της Ωχρατοξίνης Α μπορεί να προκαλέσει σοβαρές και ιδιαίτερα βλαπτικές επιδράσεις στον ανθρώπινο οργανισμό.

Τα πιο συνηθισμένα αποξηραμένα φρούτα τα οποία καταναλώνονται και βρίσκονται στην ελληνική αγορά είναι οι σταφίδες, τα δαμάσκηνα, τα βερίκοκα, τα σύκα και οι χουρμάδες, αλλά και άλλα, που δεν είναι τόσο διαδεδομένα, όπως είναι τα κράνμπερι, τα γκότζι μπέρι, τα ακτινίδια, οι φράουλες, ο ανανάς και πολλά άλλα, όπου εξαιτίας των νέων διατροφικών δεδομένων η υπέρμετρη κατανάλωση τους έχει αυξηθεί κατακόρυφα.

Παρά το γεγονός του ότι, το συγκεκριμένο διατροφικό προϊόν έχει τρομερές ευεργετικές ιδιότητες, κάποια από τα αποξηραμένα φρούτα είναι όχι μόνο δυσεύρετα στην ελληνική αγορά αλλά και πολύ ακριβά.

Αυτό έχει ως αποτέλεσμα μεγάλο μέρος του ελληνικού πληθυσμού να μην διαθέτει τα χρήματα για την αγορά τέτοιων υπερτροφών.

Ειδικότερα, τη τελευταία δεκαετία που η οικονομική κρίση έχει πλήξει πολλές οικογένειες η αγορά των super foods αποτελεί πολυτέλεια.

Και αυτό, είναι ιδιαίτερα λυπηρό, διότι πολλά από τα αποξηραμένα φρούτα σύμφωνα με μελέτες έχουν όχι μόνο αντιοξειδωτικές αλλά κάποια έχουν ακόμη και αντικαρκινικές ιδιότητες.

Μια μεγάλη κάστα ερευνητών, αναφέρουν τα αποξηραμένα φρούτα και ως θεραπευτικά – θαυματουργά.

Ενώ κάποιοι άλλοι, θεωρούν ότι λαμβάνοντας συγκεκριμένες ποσότητες συγκεκριμένων αποξηραμένων φρούτων, μπορούν να προστατέψουν τον ανθρώπινο οργανισμό από την εμφάνιση κάποιων ασθενειών.

Στην πραγματικότητα, έχουν πολλαπλά οφέλη καθώς έχουν σχεδόν την ίδια ποσότητα θρεπτικών συστατικών με τα φρέσκα φρούτα.

Ως εκ τούτου, η επιλογή του δείγματος μας δηλαδή των αποξηραμένων φρούτων ήταν στοχευμένη, καθώς η κατανάλωσή τους προσφέρει τεράστια οφέλη για την υγεία.

2.2.ΕΠΙΛΟΓΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Παρά την πληθώρα των μεθόδων που είχαμε τη δυνατότητα να επιλέξουμε, στοχευμένη ήταν και η επιλογή της μεθόδου που τελικά χρησιμοποιήθηκε.

Ο λόγος για τον οποίο επιλέχθηκε η συγκεκριμένη, δηλαδή η μέθοδος ELISA είναι διότι η ανοσοενζυμική αυτή μέθοδος αποτελεί μια μέθοδο απλή, φθηνή, οικονομική και κυρίως αξιόπιστη με εξαιρετικά γρήγορα αποτελέσματα.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το τεστ του ποσοτικού προσδιορισμού βασίζεται στις αρχές της ενζυμοσύνθετης ανοσοπροσροφητικής μεθόδου. Στα κελιά των λωρίδων ή αλλιώς strips της μικροπλάκας είναι καθηλωμένα εξειδικευμένα αντισώματα έναντι της ΩΤΑ.

Έπειτα από εκχύλιση των τοξινών από τα δείγματα με 70% μεθανόλη, τα εκχυλίσματα των δειγμάτων όπως και τα πρότυπα διαλύματα με διάφορες συγκεντρώσεις ΩΤΑ αναμειγνύονται με πρότυπη ΩΤΑ η οποία είναι συζευγμένη με υπεροξειδάση και προστίθενται στα κελιά της μικροπλάκας.

Η ΩΤΑ των δειγμάτων ή των προτύπων ανταγωνίζονται για τις θέσεις δέσμευσης των καθηλωμένων αντισωμάτων.

Τα συστατικά που δεν δεσμεύτηκαν αφαιρούνται με τα στάδια των πλύσεων. Ένα χρωμογόνο υπόστρωμα έπειτα προστίθεται στα κελιά προκαλώντας προοδευτική ανάπτυξη ενός μπλε χρωματισμένου συμπλέγματος με το αντίσωμα ανίχνευσης.

Η ανάπτυξη του χρώματος σταματά μετά την προσθήκη οξέος το οποίο μετατρέπει το τελικό μπλε διάλυμα σε κίτρινο.

Η μέτρηση λαμβάνεται φωτομετρικά στα 450 nm και η πυκνότητα του παραγόμενου χρώματος είναι αντίστροφα αναλογική με τη συγκέντρωση της ΩΤΑ που είναι παρούσα στα δείγματα και στα πρότυπα διαλύματα.

2.3.ΠΡΟΚΑΤΕΡΓΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Για την εκπόνηση της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής, το πείραμα επαναλήφθηκε δύο φορές, ώστε να έχουμε όσο το δυνατό πιο αντιπροσωπευτικά αποτελέσματα είναι εφικτό.

Στο πρώτο πείραμα είχαμε 34 αποξηραμένα φρούτα(24 μη συσκευασμένα {χύμα} και 10 συσκευασμένα).

Στο δεύτερο πείραμα είχαμε 20 αποξηραμένα φρούτα(13 μη συσκευασμένα {χύμα} και 7 συσκευασμένα).

Τα μη συσκευασμένα {χύμα} δείγματα συλλέχθηκαν, από καταστήματα των Τρικάλων και της Καρδίτσας τα οποία έχουν εισαχθεί κατά κύριο λόγο από Σερβία και Ταϊλάνδη.

Εν αντίθεσή, τα συσκευασμένα δείγματα συλλέχθηκαν από επώνυμα σούπερ μάρκετ των Τρικάλων και της Καρδίτσας.

Και στις δύο επαναλήψεις ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία με ακρίβεια.

Η προκατεργασία που έγινε ήταν η εξής:

1. Προετοιμασία διαλύματος εκχύλισης (70% Μεθανόλη) προσθέτοντας 30ml απιονισμένου νερού σε 70ml καθαρής μεθανόλης για κάθε δείγμα που μετρήθηκε.
2. Ζύγιση 20 g του αλεσμένου δείγματος και προσθήκη 100ml από το διάλυμα εκχύλισης (70%Μεθανόλη).
3. Ανάμειξη σε μπλέντερ 2 λεπτά.
4. Ξεκούραση αιωρούμενων σωματιδίων ώστε να πέσουν χαμηλά.
5. Διήθηση 5-10ml από το εκχύλισμα με διηθητικό χαρτί και συλλογή του έτοιμου προς ανάλυση διήθημα.

2.4.ΥΛΙΚΑ

Συσκευές και όργανα

- ✓ Ομογενοποιητής
- ✓ Ζυγός με ικανότητα μέτρησης 0-50g και βαθμονομημένος ογκομετρικός κύλινδρος -100ml
- ✓ Μεθανόλη (70ml καθαρή ανά δείγμα) και απιονισμένο νερό
- ✓ Διηθητικό χαρτί Whatman #1 ή αντίστοιχου τύπου , χωνί διήθησης και δοχεία συλλογής εκχυλισμάτων 50-125ml
- ✓ Όργανο ανατάραξης και ανάμειξης (vortex) και φασματοφωτόμετρο μικροπλακών με φίλτρο για τα 450 nm
- ✓ 100, 200 και 1000μl ρυθμιζόμενες ενός καναλιού μικροπιπέτες με αναλώσιμα tips
- ✓ 50-300μl πολυκάναλη μικροπιπέτα με αναλώσιμα tips και ειδική δεξαμενή

Αντιδραστήρια

- Μικροπλάκα λωρίδων (με διαχωρισμό ανά κελί)
- Μικροπλάκα διάλυσης
- Διάλυμα Εξισορρόπησης
- Διάλυμα ανίχνευσης
- Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
- Χρωμογόνο υπόστρωμα TMB
- Διάλυμα τερματισμού



Εικόνα 10: Απεικόνιση αντιδραστηρίων του Bio-Shield Ochratoxin ELISA kit

Εργαστηριακός Εξοπλισμός

- ✓ Ογκομετρικές φιάλες
- ✓ ογκομετρικοί κύλινδροι

- ✓ Κωνικές φιάλες
- ✓ Δοκιμαστικοί σωλήνες
- ✓ Σωληνάκια errendorf και στατώ σωληναρίων
- ✓ Πλαστικά γάντια μιας χρήσεως
- ✓ Απορροφητικό χαρτί
- ✓ Νεφροειδές
- ✓ Χρονόμετρο

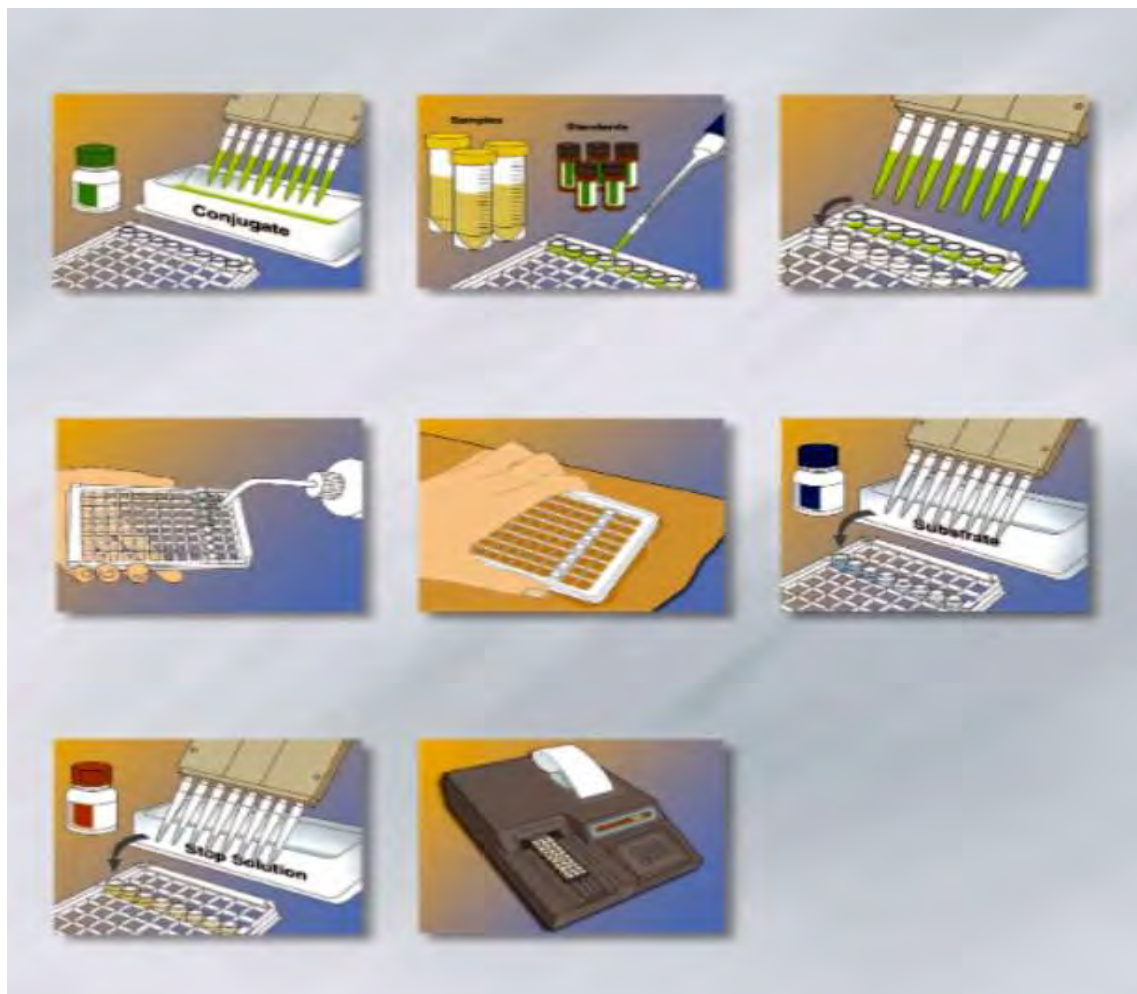
2.5.ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΘΟΔΟΥ-ΒΗΜΑΤΑ

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων της έρευνας είναι αυτής της δειγματοληψίας κατά την οποία συλλέξαμε δείγματα από αποξηραμένα φρούτα.

Μετά από την συλλογή των δειγμάτων συγκεντρώσαμε τα δείγματα στο εργαστήριο και τα βήματα που ακολουθήθηκαν στη συνέχεια με ιδιαίτερη προσοχή και στα δύο πειράματα είναι τα ακόλουθα.

Εικόνα 11: Αναλυτικά βήματα κατά τη διαδικασία της μεθόδου ELISA



ΠΡΩΤΟ ΒΗΜΑ

Προσδιορίζουμε αριθμού κελιών (δηλαδή 34 δείγματα και 6 αντιδραστήρια-σύνολο 40) που απαιτούνται για την ανάλυση των προτύπων και του επιθυμητού αριθμού των δειγμάτων.

Πίνακας 9: Παράδειγμα διάταξης της μικροπλάκας (αναφέρεται σε πρότυπη καμπύλη 6 σημείων)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	St1	St1										
B	St2	St2										
C	St3	St3										
D	St4	St4										
E	St5	St5										
F	St6	St6										
G												
H												

ΔΕΥΤΕΡΟ ΒΗΜΑ

Πριν την χρήση των αντιδραστηρίων τα αφήνουμε σε θερμοκρασία δωματίου 19-24°C. Αφαιρούμε από το κουτί τα έτοιμα προς χρήση πρότυπα διαλύματα (standard 1-6) και τοποθετούμε τον κατάλληλο αριθμό κελιών τις μικροπλάκας διάλυσης (κόκκινο χρώμα) στο ειδικό πλέγμα για την εις διπλούν ανάλυση των προτύπων και των δειγμάτων. Τοποθετούμε επίσης ξεχωριστά ίσο αριθμό κελιών της προεπεξεργασμένης μικροπλάκας στο ειδικό πλέγμα και ξανασφραγίζουμε αμέσως τα μη χρησιμοποιούμενα strips μέσα στο σακουλάκι μαζί με το ξηραντικό υλικό που υπάρχει.

ΤΡΙΤΟ ΒΗΜΑ

Προσθέτουμε 200μl σε κάθε κελί διάλυσης (κόκκινο) από το διάλυμα εξισορρόπησης(Matrix Diluent).

ΤΕΤΑΡΤΟ ΒΗΜΑ

Χρησιμοποιώντας ξεχωριστό tip κάθε φορά, προσθέτουμε 50 μl από το κάθε Standard (Standard 1-6) ή δείγμα στο αντίστοιχο κελί της μικροπλάκας διάλυσης το οποίο περιέχει 200μl από το διάλυμα εξισορρόπησης.

Αναμειγνύουμε με πιπετάρισμα τουλάχιστον 5 φορές (ο τελικός όγκος σε κάθε κελί είναι 250μl).

ΠΕΜΠΤΟ ΒΗΜΑ

Χρησιμοποιώντας πολυκάναλη μικροπιπέτα μεταφέρουμε 100 μl από το μείγμα των 250μl του κάθε κελιού της μικρόπλακας διάλυσης στα αντίστοιχα κελιά της μικρόπλακας αντίδρασης. Καλύπτωντας τα κελιά στο πλέγμα με το πλαστικό κάλυμμα και επωάζοντας σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά.

Κατά τη διάρκεια αυτής της επώασης προετοιμάζουμε το λειτουργικό διάλυμα Wash Buffer 1X.



Εικόνα 12: Χρήση πολυκάναλης μικροπιπέτας

ΕΚΤΟ ΒΗΜΑ

Αφαιρούμε από το κουτί το Wash Buffer 20X το διαλύουμε 20 φορές με απιονισμένο νερό για να προκύψει ο 1X λειτουργικό διάλυμα.

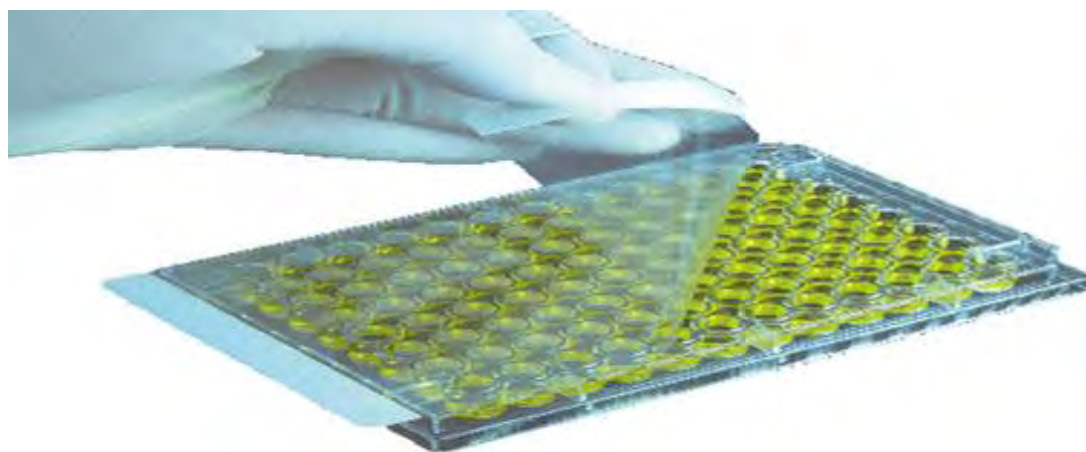
ΕΒΔΟΜΟ ΒΗΜΑ

Πλύσεις: Απομακρύνουμε το πλαστικό κάλυμμα και ξεπλένουμε την πλάκα όπως ακόλουθα:

Ρίχνουμε το υγρό από κάθε κελί στον νεροχύτη και χτυπάμε το πλέγμα δυνατά για 4 φορές στη σειρά πάνω σε απορροφητικό χαρτί ώστε να μπορεί να επιβεβαιωθεί η πλήρης απομάκρυνση του υγρού από τα κελιά.

Προσθέτουμε 300μl Wash Buffer 1X σε κάθε κελί με μία πολυκάναλη μικροπιπέτα των 50-300μl χρησιμοποιώντας την ανάλογη δεξαμενή αντιδραστηρίων και ανακινούμε την πλάκα χειροκίνητα για ελάχιστα δευτερόλεπτα.

Επαναλαμβάνουμε αυτή τη διαδικασία άλλες 3 φορές δηλαδή συνολικά 4 φορές.



Εικόνα 13: Απομάκρυνση πλαστικού καλύμματος

ΟΓΔΟΟ ΒΗΜΑ

Ρίχνουμε το υγρό από κάθε κελί , χτυπάμε το πλέγμα δυνατά πάνω στο απορροφητικό χαρτί και προσθέτουμε 100μl σε κάθε κελί από το έτοιμο προς χρήση Διαλύματος Ανίχνευσης.

Καλύπτουμε τα κελιά στο πλέγμα με πλαστικό κάλυμμα, ανακινούμε την πλάκα χειροκίνητα για 30 δευτερόλεπτα και επωάζουμε σε θερμοκρασία δωματίου για 5 λεπτά.

ΕΝΑΤΟ ΒΗΜΑ

Απομακρύνουμε την πλάκα και ξεπλένουμε την πλάκα.

ΔΕΚΑΤΟ ΒΗΜΑ

Ρίχνουμε το υγρό από κάθε κελί , χτυπάμε το πλέγμα δυνατά πάνω στο απορροφητικό χαρτί και προσθέτουμε 100μl σε κάθε κελί από το έτοιμο προς χρήση TB Substrate.

Καλύπτουμε τα κελιά στο πλέγμα με το πλαστικό κάλυμμα , ανακινούμε την πλάκα χειροκίνητα για ελάχιστα δευτερόλεπτα και επωάζουμε σε σκοτεινό μέρος σε θερμοκρασία δωματίου για 5 λεπτά.

ΕΝΤΕΚΑΤΟ ΒΗΜΑ

Απομακρύνουμε το πλαστικό κάλυμμα και προσθέτουμε 100μl σε κάθε κελί από το έτοιμο προς χρήση Stop Solution. Ανακινούμε ήπια επίσης χειροκίνητα την πλάκα.



Εικόνα 14: Προσθήκη από το έτοιμο προς χρήση Stop solution

ΔΩΔΕΚΑΤΟ ΒΗΜΑ

Μετράμε την απορρόφηση στα 450nm.

Μετράμε την τιμή της απορρόφησης κάθε κελιού σε φασματοφωτόμετρο χρησιμοποιώντας τα 450nm ως κύριο μήκος κύματος και προαιρετικά στα 620nm ως μήκος κύματος αναφοράς.

Τέλος, η ανάλυση έγινε με το φωτόμετρο ELISA READER ASYS high - tech 656.

Επαναλαμβάνουμε την ίδια ακριβώς διαδικασία, με τα ίδια ακριβώς βήματα και για το δεύτερο πείραμα έχοντας 20 δείγματα αυτή τη φορά και 6 αντιδραστήρια-σύνολο 26.



Εικόνα 15: Φωτόμετρο ELISA READER ASYS high - tech 656

3.ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Για την ανάλυση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν δείγματα συσκευασμένα και μη συσκευασμένα (χύμα) από τις περιοχές των Τρικάλων και της Καρδίτσας.

Οι εργαστηριακές αναλύσεις του Bio-Shield Ochratoxin ELISA kit, πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Χημείας Τροφίμων του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων που ανήκει στο Παράρτημα Καρδίτσας του ΤΕΙ Θεσσαλίας και διαθέτει αυτοματοποιημένη ELISA.

Η ανάλυση των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με απλή μεταφορά των τιμών έπειτα από τη μέτρηση.

Οι απορροφήσεις των δειγμάτων ελήφθησαν στα 450nm.

Η καταχώρηση των αποτελεσμάτων έγινε σε φύλλα του προγράμματος Microsoft Excel.

Οι συγκεντρώσεις των προτύπων διαλυμάτων παραθέτονται παρακάτω:

Πίνακας 10: Αναλυτικά αποτελέσματα πρώτου πειράματος για την ανίχνευση ΩΤΑ

Sample_ID / Reader_Values / Results

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1,780	1,823	1,930	1,824	1,334	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
	1,780	1,823	1,930	1,824	1,334	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
B	1,475	1,782	1,889	1,877	1,698	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
	1,475	1,782	1,889	1,877	1,698	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
C	1,092	1,887	1,878	1,849	1,792	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
	1,092	1,887	1,878	1,849	1,792	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
D	0,807	1,914	1,858	1,846	1,798	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
	0,807	1,914	1,858	1,846	1,798	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
E	0,499	1,903	1,820	1,698	1,820	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
	0,499	1,903	1,820	1,698	1,820	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
F	0,458	1,969	1,791	1,817	0,682	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
	0,458	1,969	1,791	1,817	0,682	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
G	1,903	1,927	1,928	1,769	1,798	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
	1,903	1,927	1,928	1,769	1,798	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
H	1,315	1,963	1,766	1,529	1,707	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
	1,315	1,963	1,766	1,529	1,707	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002

Πίνακας 11: Αναλυτικά αποτελέσματα δεύτερου πειράματος για την ανίχνευση ΩΤΑ

Sample_ID / Reader_Values / Results

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Á	1,991	2,039	2,054	2,031	0,002	0,001	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
	1,991	2,039	2,054	2,031	0,002	0,001	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
Â	1,783	2,039	2,085	2,081	0,001	0,001	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
	1,783	2,039	2,085	2,081	0,001	0,001	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
C	1,646	2,055	2,084	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
	1,646	2,055	2,084	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
D	1,162	2,044	2,110	0,001	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
	1,162	2,044	2,110	0,001	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
E	0,871	2,057	2,090	0,001	0,001	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
	0,871	2,057	2,090	0,001	0,001	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
F	0,666	2,030	2,111	0,001	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
	0,666	2,030	2,111	0,001	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
G	2,004	1,968	2,070	0,001	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
	2,004	1,968	2,070	0,001	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
H	2,048	2,094	2,118	0,001	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
	2,048	2,094	2,118	0,001	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002

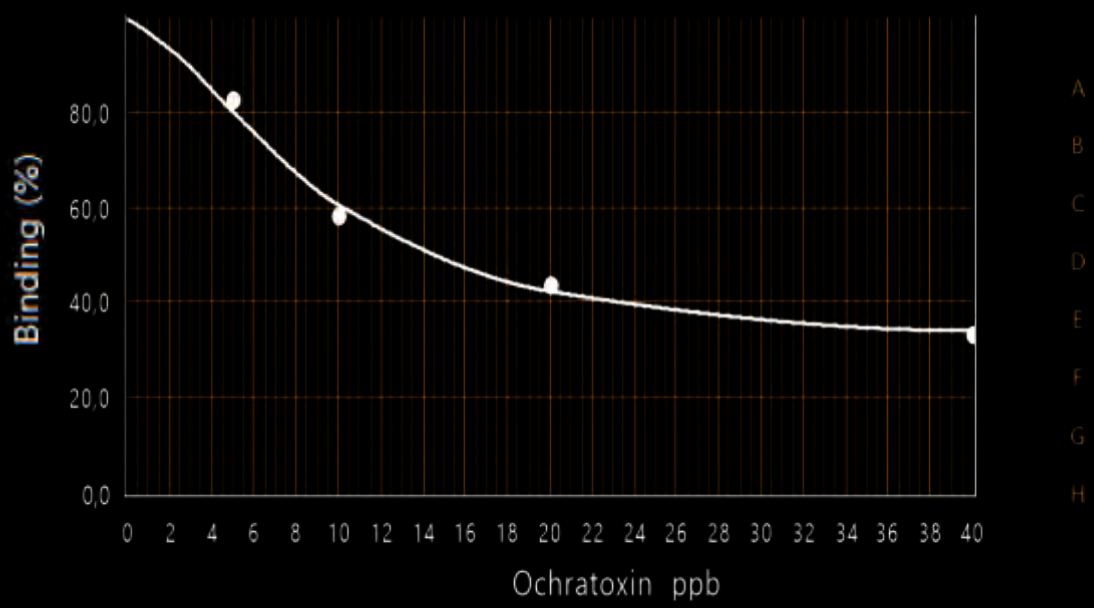
Πίνακας 12: Αποτελέσματα ΩΤΑ σε αποξηραμένα φρούτα πρώτου πειράματος σε Excel

	A	B	C	D	E	F	G
4	Product	Bio-Shield Ochratoxin			99,66 %		
5							
6	B/Bo %	Standards (ppb)	OD 1	OD 2	CV (%)	IC50	
7	100,0	0,00	1.780	1.780	0,00	7,7 ppb	
8	82,9	2,50	1.475	1.475	0,00		
9	61,3	5,00	1.092	1.092	0,00		
10	45,3	10,00	0,807	0,807	0,00		
11	28,0	20,00	0,499	0,499	0,00		
12	25,7	40,00	0,458	0,458	0,00		
13							
14							
15	Notes :						
16							
17							
18	Samples	Name	OD 1	OD 2		Result (ppb)	
19	Sample 8	Δαμάσκηνα	1.969	1.969		3,52	
20	Sample 10	Βερύκοκο	1.963	1.963		<1.5	
21	Sample 11	Ακτινίδιο	1.930	1.930		<1.5	
22	Sample 17	Aloe Vera	1.928	1.928		<1.5	
23	Sample 9	Μήλο	1.927	1.927		<1.5	
24	Sample 6	Σύκα	1.914	1.914		<1.5	
25	Sample 1	Ginger	1.903	1.903		<1.5	
26	Sample 7	Χουρμάδες	1.903	1.903		<1.5	
27	Sample 12	Φράουλα	1.889	1.889		<1.5	
28	Sample 5	Κεράσι	1.887	1.887		<1.5	
29	Sample 13	Μύρτιλο	1.878	1.878		<1.5	
30	Sample 20	Μήλο	1.877	1.877		<1.5	
31	Sample 14	Κίτρο	1.858	1.858		<1.5	
32	Sample 21	Φράουλα	1.849	1.849		<1.5	
33	Sample 22	Πατάγια	1.846	1.846		<1.5	
34	Sample 19	Ράσπερι	1.824	1.824		<1.5	
35	Sample 3	Γκόντζι Μπέρι	1.823	1.823		<1.5	
36	Sample 15	Κράνμπερι	1.820	1.820		<1.5	
37	Sample 31	Σταφίδες Σουλτανίνες	1.820	1.820		<1.5	
38	Sample 24	Ginger	1.817	1.817		<1.5	
39	Sample 30	Cranberries	1.798	1.798		<1.5	
40	Sample 33	Σταφίδα Κορινθιακή	1.798	1.798		<1.5	
41	Sample 29	Αποξηραμένη Πατάγια	1.792	1.792		<1.5	
42	Sample 16	Blackberry	1.791	1.791		<1.5	
43	Sample 4	Κεράσι Ξανθό	1.782	1.782		1,97	
44	Sample 25	Αποξηραμένα Δαμάσκηνα	1.769	1.769		3,39	
45	Sample 18	Mango	1.766	1.766		<1.5	
46	Sample 34	Σταφίδα Ξανθή	1.707	1.707		<1.5	
47	Sample 23	Πεπόνι	1.698	1.698		<1.5	
48	Sample 28	Αποξηραμένα Βερύκοκα	1.698	1.698		<1.5	
49	Sample 26	Αποξηραμένη Μπανάνα	1.529	1.529		12,48	
50	Sample 27	Γκόλντεν Μπέρι	1.334	1.334		<1.5	
51	Sample 2	Ίπποφές	1.315	1.315		<1.5	
52	Sample 32	Ίπποφές	0,682	0,682		<1.5	

Πίνακας 13: Αποτελέσματα ΩΓΑ σε αποξηραμένα φρούτα δεύτερου πειράματος σε Excel

	A	B	C	D	E	F	G
1	Title						
2	Date	17/5/2018					
3	Time	1:02 μμ			Goodness of fit		
4	Product	Bio-Shield Ochratoxin			99,51 %		
5							
6	B/Bo %	Standards (ppb)	OD 1	OD 2	CV (%)	IC50	
7	100,0	0,00	1.991			14,5 ppb	
8	89,6	2,50	1.783				
9	82,7	5,00	1.646				
10	58,4	10,00	1.162				
11	43,7	20,00	0,871				
12	33,5	40,00	0,666				
13							
14							
15	Notes :						
16							
17	Sample	Name	OD 1	OD 2	Result (ppb)		
18	Sample 18	Μάνγκο	2.118		<1.5		
19	Sample 16	Σύκο	2.111		<1.5		
20	Sample 14	Γκόντζι μπέρι	2.110		<1.5		
21	Sample 10	Μπανάνα	2.094		<1.5		
22	Sample 15	Αλόη βέρα	2.090		<1.5		
23	Sample 12	Κίτρο	2.085		<1.5		
24	Sample 13	Παπάγια	2.084		<1.5		
25	Sample 20	Γκόλντεν μπέρι	2.081		<1.5		
26	Sample 17	Μήλο	2.070		<1.5		
27	Sample 7	Χουρχουμάδες	2.057		<1.5		
28	Sample 5	Σουλτανίνα σταφίδα	2.055		<1.5		
29	Sample 11	Τσίντζερ	2.054		<1.5		
30	Sample 2	Κορινθιακή σταφίδα	2.048		<1.5		
31	Sample 6	Κράνμπερι	2.044		<1.5		
32	Sample 3	Μαύρη σταφίδα	2.039		<1.5		
33	Sample 4	Ξανθή σταφίδα	2.039		<1.5		
34	Sample 19	Ιπποφαές	2.031		<1.5		
35	Sample 8	Χουρχουμάδες	2.030		<1.5		
36	Sample 1	Κράνμπερι	2.004		<1.5		
37	Sample 9	Δαμάσκηνα	1.968		<1.5		

Διάγραμμα 1: Πρότυπη καμπύλη



4.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, και της πρώτης αλλά και της δεύτερης πειραματικής διαδικασίας προκύπτει ότι τα αποξηραμένα φρούτα κατά κανόνα κρίνονται ασφαλή για κατανάλωση.

Αρχικά, θα πρέπει να αναφερθεί ότι για τη διεξαγωγή αυτής της μελέτης έγινε συλλογή δειγμάτων συσκευασμένων και μη από τις περιοχές των Τρικάλων και της Καρδίτσας.

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την απόκτηση των αποτελεσμάτων είναι η ανοσοενζυμική μέθοδος ELISA καθώς αποτελεί την γρηγορότερη και οικονομικότερη μέθοδο που είναι πολύ απλή και εύκολη σε χρήση, και κυρίως δεν απαιτείται ακριβός εξοπλισμός.

Για να προκύψουν πιο αξιόπιστα και πιο αντιπροσωπευτικά αποτελέσματα επετεύχθη οριζόντια δειγματοληψία.

Το πείραμα έγινε συνειδητά δύο φορές με απόσταση δέκα μηνών μεταξύ τους ώστε να έχουμε διαφορετικές παρτίδες και διαφορετικές χρονιές.

Η οριζόντια δειγματοληψία αποτέλεσε την σωστότερη επιλογή, καθώς όπως είναι φανερό τα δύο πειράματα είχαν εντελώς διαφορετικά αποτελέσματα.

Συγκεκριμένα, τα αποτελέσματα του πρώτου πειράματος έδειξαν ότι μόνο κάποια από τα δείγματα των αποξηραμένων φρούτων είναι θετικά σε Ωχρατοξίνη Α.

Από τα 34 συνολικά δείγματα αυτά τα οποία βρέθηκαν θετικά σε Ωχρατοξίνη Α είναι μόλις τα 4 και αυτά είναι τα δαμάσκηνα με 3.52 ppb, το ξανθό κεράσι με 1,97 ppb, τα δαμάσκηνα με 3.39 ppb και η αποξηραμένη μπανάνα με 3,39 ppb.

Στα αποτελέσματα του δεύτερου πειράματος, δεν βρέθηκε κανένα θετικό σε Ωχρατοξίνη Α.

Αξιοσημείωτο αποτελεί το γεγονός, ότι στα δείγματα του πρώτου πειράματος που βρέθηκαν κάποια από αυτά θετικά, ανήκανε στα μη συσκευασμένα (χύμα).

Εν αντιθέσει, στα συσκευασμένα δείγματα δεν βρέθηκε ούτε ένα θετικό. Αναφορά σε αυτό γίνεται, καθώς τα συσκευασμένα αποξηραμένα φρούτα και γενικότερα τα

συσκευασμένα προϊόντα, εξαιτίας της επωνυμίας και του label προβλέπουν πιο συχνές και αυστηρές επιθεωρήσεις.

Αδήριτη είναι η ανάγκη, οι καταναλωτές να συνειδητοποιήσουν πως οι μυκοτοξίνες και συγκεκριμένα οι Ωχρατοξίνες, πλήττουν τα περισσότερα τρόφιμα και η αποφυγή τους είναι αρκετά δύσκολη, καθώς παρά την τήρηση κανόνων διαχείρισης από τους ίδιους τους παραγωγούς, οι τοξίνες έχουν την ικανότητα να εισβάλλουν στο τρόφιμο και πολλές φορές να το καταστρέφουν.

Η τήρηση βασικών κανόνων καλλιέργειας, συγκομιδής και αποθήκευσης ίσως μπορούν να αποτρέψουν την ανάπτυξη των μυκοτοξινών.

Κατά το πλείστον, για να καταλάβουμε αν κάποιο τρόφιμο είναι θετικό σε ΩΤΑ και γενικότερα σε μυκοτοξίνες απαιτείται η εργαστηριακή ανάλυση.

Τέλος, αξιοσημείωτο αποτελεί το γεγονός ότι για να είναι αποδοτικά τα μέτρα ελέγχου, υψίστης σημασίας αποτελεί η ύπαρξη πληροφοριών που να αφορούν τις οικοφυσιολογικές επιρροές στην παραγωγή μυκοτοξινών από μύκητες, κάτι το οποίο συνιστά τον βασικότερο παράγοντα αλλοίωσης τροφών.

Η πραγματικότητα είναι ότι υπάρχει πληθώρα μυκήτων και μυκοτοξινών, και η διαρκής μελέτη των παραγόντων που επηρεάζουν την ανάπτυξη τους, αποτέλεσε τεράστια βοήθεια στην συλλογή πληροφοριών.

Οι πληροφορίες αυτές, συσχετίζονται με την προσπάθεια ελέγχου για εντατικοποιημένους και αυστηρότερους ελέγχους, αλλά και με την τήρηση του νομοθετικού κανονισμού.

Εξαιρετικές αποτελούν οι πληροφορίες που δίδονται, καθώς εστιάζονται σε συγκεκριμένα σημεία στα οποία πρέπει να δοθεί μεγαλύτερη προσοχή για να μειωθεί η ύπαρξη Ωχρατοξινών στα τρόφιμά, καθώς είναι ευρέως γνωστό ότι αποτελούν τεράστια απειλή για τον άνθρωπο.

5.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην σύγχρονη πραγματικότητα, με τις διαρκείς και επαναλαμβανόμενες αλλαγές, η ασφάλεια και η προστασία, έχουν αποκτήσει άλλη διάσταση, αυτή των βασικών ανθρώπινων αναγκών.

Αξιοπρόσεκτο όμως είναι, ότι οι ανάγκες αυτές δεν αφορούν μόνο τις βιολογικές, όπως της διατροφής και των τροφίμων αλλά και αυτές που ανάγονται στην οικονομία μιας χώρας, την κοινωνία, αλλά και την πολιτική.

Ειδικότερα, τα τελευταία χρόνια, η διασφάλιση της ποιότητας των τροφίμων, είναι καίριας σημασίας σε παγκόσμια κλίμακα, καθώς ακόμη και σήμερα με τα σύγχρονα τεχνολογικά δεδομένα που παρέχονται, οι λοιμώξεις που προέρχονται από τη κατανάλωση μισμαμένων τροφίμων δεν έχουν σταματήσει να μας προβληματίζουν.

Αρχικά, ως γνωστόν το έδαφος αποτελεί τεράστια πηγή μικροοργανισμών που δρουν θετικά σε αυτό αλλά και πολλών παθογόνων μικροοργανισμών που μπορούν να έχουν βλαπτικές επιδράσεις. Παρόλαυτά, σπάνια εκτιμάται σημείο δράσης μικροβιολογικών θεμάτων που ανακλύπτουν μακροπρόθεσμα κατά την τροφική αλυσίδα.

Παρότι υπάρχουν έρευνες για την επίδραση του εδάφους, δεν έχουν εξεταστεί πιθανές επεμβάσεις σ' αυτό, που να έχουν την δυνατότητα να επηρεάσουν το αρχικό μόλυσμα εκεί, στην πηγή του.

Το πρόβλημα δεν έγκειται μόνο στο γεγονός της έρευνας των συνθηκών που διευκολύνουν την ανάπτυξη των μυκοτοξινών, αλλά και στο πως θα βρεθεί τρόπος για την απαλοιφή τους.

Για την προσπάθεια απαλοιφή τους λοιπόν, αποφασίστηκε να θεσπιστούν κάποια νομοθετικά ανώτατα όρια με σκοπό την προστασία της ανθρώπινης υγείας.

Για την επίτευξη της θέσπισης ανώτατων ορίων, συνεργάστηκαν διάφοροι επιστημονικοί οργανισμοί μεταξύ των οποίων το Διεθνές πρόγραμμα για την Χημική Ασφάλεια (International Program on Chemical Safety), ο Διεθνής Οργανισμός για την Έρευνα του Καρκίνου (International Agency on Research on Cancer -IARC) και

ο Π.Ο.Υ. Κοινή Επιτροπή για τα Πρόσθετα και τους Επιμολυντές των τροφίμων (Joint FAO/WHO Committee on Food Additives and Contaminants – JECFA).

Βέβαια, η θέσπιση των μέγιστων ορίων για την παρουσία των μυκοτοξινών στα τρόφιμα δεν είναι τόσο απλή.

Αντιθέτως, είναι εξαιρετικά περίπλοκη υπόθεση η προσπάθεια οριοθέτησης των μέγιστων συγκεντρώσεων, καθώς ζωτικής σημασίας αποτελεί ο συνυπολογισμός και η εκτίμηση πολλών παραγόντων όπως είναι τα τοξικολογικά δεδομένα, ο μεταβολισμός αυτών των ουσιών, η οξεία και χρόνια τοξικότητα.

Ταυτόχρονα, απαραίτητη είναι η συνεκτικότητα των προαναφερθέντων, με την ύπαρξη των τοξινών στα τρόφιμα αλλά και την ποσότητα στην οποία εκτίθενται οι καταναλωτές.

Αν και υπήρχαν τεράστια εμπόδια γραφειοκρατικής αλλά και επιστημονικής φύσεως, η θέσπιση νομοθετικών κανονισμών ολοκληρώθηκε επιτυχώς.

Παρόλαυτά, πολλοί επιστήμονες θεωρούν ότι τα νομοθετικά όρια που έχουν οριστεί είναι εξαιρετικά υψηλά παρά το γεγονός του ότι η θέσπιση των ανώτατων ορίων αποτέλεσε κατά κάποιο τρόπο ένα αίσθημα ασφάλειας και προστασίας σε παγκόσμια κλίμακα, όσον αφορά στην κατανάλωση τροφίμων.

Η εμφάνιση της Ωχρατοξίνης Α, μπορεί να είναι υπαρκτή σε όλο τον κόσμο, αλλά στην Ευρώπη διαφοροποιείται η σημασία της παρουσίας της. Αυτό έγκειται στο γεγονός τόσο των προϊόντων που παράγει, όσο και του μοντέλου διατροφής που ακολουθεί ο πληθυσμός της.

Εξίσου σημαντική όμως είναι και η εμφάνιση της στην Ελλάδα, εξαιτίας του μεσογειακού προτύπου διατροφής που ακολουθεί, καθώς πολλές ομάδες τροφίμων που ανήκουν σε αυτό το μοντέλο, έχουν ανιχνευτεί εξαιρετικά υψηλά ποσοστά μυκοτοξινών.

Ιδιαίτερα ανησυχητικό αποτελεί το γεγονός, ότι η θέσπιση ανώτατων ορίων για την Ωχρατοξίνη Α στα τρόφιμα, επιτυγχάνεται σε μεγαλύτερο βαθμό συσχετιζόμενη με τα επίπεδα μόλυνσης των τροφίμων αντί να γίνεται με βάση την ασφάλεια η οποία θα συνυπολογιζότανε με την έκθεση και την ευαισθησία του ανθρώπινου οργανισμού.

Αξιοσημείωτη αποτελεί επίσης η αντίληψη κάποιων επιστημόνων, που θεωρούν ότι εάν μπορούσε να επιτευχθεί η απόλυτη απάλειψη των μυκοτοξινών από τα τρόφιμα επομένως

και από την διατροφή του ανθρώπου, αυτό θα ήταν τόσο ωφέλιμο, που θα αποτελούσε μια από τις σημαντικότερες ανακαλύψεις του 21^{ου} αιώνα.

Πράγματι, τα τροφιμογενή βακτήρια αποτελούν ένα πρωταρχικό λόγο ανησυχίας για την υγεία του ανθρώπου. Παρόλαυτά η παρουσία μυκοτοξινών στα τρόφιμα είναι υπαίτιες για πολύ υψηλότερα ποσοστά θανάτων σε ανθρώπους, συγκριτικά με τα τροφιμογενή.

Όπως είναι κοινώς αντιληπτό, η παρουσία Ωχρατοξίνης Α στα τρόφιμα είναι αναπόφευκτη. Έτσι, για να είναι δυνατή η προστασία των πληθυσμών των κρατών-μελών της Ευρωπαϊκής Ένωσης από μολυσμένα τρόφιμα, απαραίτητη προϋπόθεση είναι η προσπάθεια ανίχνευσης της μέσω της εργαστηριακής ανάλυσης.

Στην Ελλάδα, η μικροβιολογική ανάλυση των τροφίμων και ο προσδιορισμός της μικροβιακής καταλληλότητας γίνεται στο Δίκτυο Εργαστηρίων του Κεντρικού Εργαστηρίου Δημόσιας Υγείας και των Περιφερειακών Εργαστηρίων Δημόσιας Υγείας με όσα προβλέπονται από την κείμενη Εθνική και Ευρωπαϊκή Νομοθεσία. Τα εργαστήρια είναι διαπιστευμένα η υπό διαπίστευση σύμφωνα με το ISO 17025:2005 και συνεργάζονται με δημόσιους φορείς όπως τις Διευθύνσεις Υγείας των Περιφερειών, τους Δήμους, τις κοινότητες και με τον Ενιαίο Φορέα Ελέγχου Τροφίμων.

Η εργαστηριακή διερεύνηση μπορεί να επιτευχθεί και σε ιδιωτικά εργαστήρια τα οποία απαιτείται να είναι και αυτά διαπιστευμένα.

Η εργαστηριακή ανάλυση της παρούσας πειραματικής διπλωματικής, έγινε από την εταιρία ProGnosis Biotech A.E. η οποία είναι πιστοποιημένη κατά EN ISO 9001:2015 από την TUV Hellas(TUV NORD).

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης ήταν αρκετά ελπιδοφόρα καθώς από τα 54 συνολικά δείγματα μόλις τα τέσσερα βρέθηκαν θετικά σε Ωχρατοξίνη Α.

Με βάση αυτά, τα αποξηραμένα φρούτα κρίνονται κατά κανόνα ασφαλή για κατανάλωση.

Τέλος, θα πρέπει να αναφέρουμε ότι η πρόληψη συνιστά το σημαντικότερο παράγοντα μη ανάπτυξης μυκοτοξινών.

Στον τομέα της υγείας και της ασφάλειας τροφίμων, ως πρόληψη εννοούμε κάθε ενέργεια που αποσκοπεί στην δημιουργία συνθηκών μείωσης του κινδύνου επιβάρυνσης της υγείας.

Διαχρονικά επίκαιρη παραμένει η ιπποκράτειος ρήση: «Ασφάλεια εστί το προνοεῖν και προλαμβάνειν. Το δε προνοεῖν και προλαμβάνειν κρείττον εστί του θεραπεύειν».

Κύριος ρόλος της πρόληψης είναι η αποφυγή του πρόωμου θανάτου και η αύξηση του προσδόκιμου επιβίωσης σε συνδυασμό με την καλύτερη δυνατή ποιότητα ζωής.

Για την επίτευξη αυτού, επιτακτική είναι η ανάγκη της προστασίας της Δημόσιας Υγείας με την παροχή ασφαλών τροφίμων στο καταναλωτή.

6.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΛΙΕΘΝΗΣ

- 1) **Abarca ML, Bragulat MR, Sastella G, Caban˜es FJ.**(1994) *''Ochratoxin A production by strains of Aspergillus niger var. niger''*
- 2) **Abarca ML, Accensi F, Bragulat MR, Caban˜es FJ.** (2001)*''Current importance of ochratoxin A-producing Aspergillus spp.''*
- 3) **Adler, Michael; Schulz, Sven; Spengler, Mark** (2009). *''Cytokine Quantification in Drug Development: A comparison of sensitive immunoassay platforms''*
- 4) **Agricultural Statistics Board, USDA.** *''Noncitrus Fruits and Nuts 2007 Summary''*
- 5) **Anderson, K.H. Domsch ; W. Gams ; Traute-Heidi** (1993).*''Compendium of soil fungi ''*
- 6) **Al-Anati L, Petzinger E** (2006). *''Immunotoxic activity of ochratoxin A''*

- 7) **Basic-Jukic N, et al.** (2007). *''Renal transplantation in patients with Balkan endemic nephropathy''.*
- 8) **Bendele AM, et al.** (1985). *''Ochratoxin A Carcinogenesis in the F1mouse''.*
- 9) **Blank G, Nwoko U, Frohlich A, Marquardt R.**(1998) *''Ochratoxin A production in relation to the growth morphology of Aspergillus alutaceus''*
- 10) **Boonen, Jente; Malysheva, Svetlana V.; Taevernier, Lien; Diana Di Mavungu, José; De Saeger, Sarah; De Spiegeleer, Bart** (2012). *''Human skin penetration of selected model mycotoxins''.*
- 11) **Belmadani A, et al.** (1999). *''Selective toxicity of ochratoxin A in primary cultures from different brain regions''.*
- 12) **Bennet, J.W.** *Mycology Series.* New Orleans, Louisiana: Tulane University.
- 13) **Cato, (M.P.)** *''On Agriculture''.* Harvard University Press, Cambridge. (1934)
- 14) **C. Cavin; T. Delatour; M. Marin-Kuan; D. Holzhauser; L. Higgins; C. Bezencon** (2007). *''REduction in antioxidant defences may contribute to ochratoxin A toxicity and carcinogenicity''.* Toxicological Sciences.

- 15) **de la Rica, Roberto; Stevens, Molly M.** (2012). "*Plasmonic ELISA for the ultrasensitive detection of disease biomarkers with the naked eye*". *Nature Nanotechnology*.
- 16) **Engvall, Eva; Perlmann, Peter** (1971). "*Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) quantitative assay of immunoglobulin G*". *Immunochemistry*.
- 17) **Gary A. Boorman.** "*Toxicology and Carcinogenesis studies of Ochratoxin A in F Kunio Doi; Koji Uetsuka (2011). "Mechanisms of Mycotoxin-Induced Neurotoxicity through Oxidative Stress-Associated Pathways"*". *International Journal of Molecular Sciences*. 344/N rats". National Toxicology Program, May 1989
- 18) **Klich MA.**(2002) *Identification of Common Aspergillus Species*. Utrecht, Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures,
- 19) **Lequin, R. M.** (2005). "*Enzyme Immunoassay (EIA)/Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*". *Clinical Chemistry*.
- 20) **Mateo, EM; Valle-Algarra, FM; Mateo-Castro, R; Jimenez, M** (January 2011). "*Impact of non-selective fungicides on the growth and production of ochratoxin A by Aspergillus ochraceus and A. carbonarius in barley-based medium*"
- 21) **Nonnenmann, MW; Bextine, B; Dowd, SE; Gilmore, K; Levin, JL** (December 2010). "*Culture-independent characterization of bacteria and fungi in a poultry bioaerosol using pyrosequencing: a new approach*". *Journal of occupational and environmental hygiene*.
- 22) **Ostry, V; Malir, F; Ruprich, J** (Sep 17, 2013). "*Producers and important dietary sources of ochratoxin A and citrinin*"
- 23) **Pitt JI.** (1987) "*Penicillium viridicatum, Penicillium verrucosum, and production of ochratoxin A*"
- 24) **Peano, A** (October 2010). "*Chronic monolateral otomycosis in a dog caused by Aspergillus ochraceus*". *Veterinary dermatology*.
- 25) **Ravelo Abreu, A; Rubio Armendáriz, C; Gutiérrez Fernández, AJ; Hardisson de la Torre, A** (Nov–Dec 2011). "*[Ochratoxin A in foods for human consumption: review]*". *Nutricion hospitalaria*
- 26) **Reponen T, Lockey J, Bernstein DI, Vesper SJ, Levin L, Khurana Hershey GK, Zheng S, Ryan P, Grinshpun SA, Villareal M, Lemasters G**

- (September 2012). "*Infant origins of childhood asthma associated with specific molds*".
- 27) **Sava V, et al.** (2006). "*Acute neurotoxic effects of the fungal metabolite ochratoxin A*". Neurotoxicology.
- 28) **Samson RA, Houbraeken JAMP, Kuijpers AFA, Frank JM, Frisvad JC.** (2004) "*New ochratoxin A or sclerotium producing species in Aspergillus section Nigri.*"
- 29) **Stoev, SD; Dutton, MF; Njobeh, PB; Mosonik, JS; Steenkamp, PA** (January 2010). "*Mycotoxic nephropathy in Bulgarian pigs and chickens: complex aetiology and similarity to Balkan endemic nephropathy*". Food Additives & Contaminants: Part A.
- 30) **Schuster E, Dunn-Coleman N, Frisvad J, Dijck Pvan.**(2002) "*On the safety of Aspergillus niger – a review.* Appl Microbiol Biotechnol
- 31) **Te'ren J, Varga J, Hamari Z, Rinyu E, Kevei F.**(1996) "*Immunochemical detection of ochratoxin A in black Aspergillus strains.*" Mycopathologia
- 32) **Trager J.**(1995) "*The food Chronology: a food lover's compendium of events and anecdotes, from prehistory to the present.*" Henry Holt and Company Inc, New York, NY
- 33) **United States Department of Agriculture.** "*Fruit and Tree Nut Situation and Outlook: A Report from the Economic Research Service*"
- 34) **Van der Merwe, K.J., Steyn, P.S., Fourie, L.** (1965). Mycotoxins. Part II. "*The constitution of ochratoxin A, B and C, metabolites of Aspergillus ochraceus Wilh.*" Journal of the Chemical Society
- 35) **Van Weemen, B.K.; Schuurs, A.H.W.M.** (1971). "*Immunoassay using antigen—enzyme conjugates*".
- 36) **Wilson, DM; Mubatanhema, W; Jurjevic, Z** (2002). "*Biology and ecology of mycotoxigenic Aspergillus species as related to economic and health concerns*". Advances in Experimental Medicine and Biology. Advances in Experimental Medicine and Biology.
- 37) **Wide, Leif; Porath, Jerker** (1966). "*Radioimmunoassay of proteins with the use of Sephadex-coupled antibodies*". Biochimica et Biophysica Acta.
- 38) **Xiangnan Zhang; et al.** (2009). "*Ochratoxin A induces apoptosis in neuronal cells*".
- 39) **Yalow, Rosalyn S.; Berson, Solomon A.** (1960). "*Immunoassay of endogenous plasma insulin in man*". The Journal of Clinical Investigation
- 40) **Zimmermann, JL; Carlton, WW; Tuite, J** (September 1979). "*Mycotoxicosis produced in swine by cultural products of an isolate of*

Aspergillus ochraceus. I. *Clinical observations and pathology*.". Veterinary pathology.

- 41) **Zinedine, A., Blesa, J., Mahnine, N., El Abidi, A., Montesano, D., Mañes, J.** (2010). "*Pressurized liquid extraction coupled to liquid chromatography for the analysis of ochratoxin A in breakfast and infants cereals from Morocco.*"

ΕΛΛΗΝΙΚΗ

- 1) **Αποστολόπουλος Νεκτάριος,** (2011)''*Μελέτη της επίδρασης των φυσικοχημικών παραμέτρων ανάπτυξης της μυκοτοξίνης ζεαραλενόνης (ζον) σε δημητριακά*''
- 2) **Stefanaki I, Foufa E, Tsatsou-Dritsa A, Dais P.** (2003) *Ochratoxin A concentrations in Greek domestic wines and dried vine fruits. Food Additives and Contaminants: Part A*

ΔΙΑΔΙΚΥΑΚΗ ΠΑΡΑΠΟΜΠΕΣ

- 1) <http://www.ers.usda.gov/Publications/FTS>
- 2) <http://www.who.int/pcs/>
- 3) <http://www.iarc.fr/>
- 4) <http://www.who.int/pcs/iecfa/iecfa.htm>
- 5) www2.keelpno.gr
- 6) **Κανονισμός (ΕΟΚ) αριθ. 315/93**

7.ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Κατάλογος αποξηραμένων φρούτων πρώτου πειράματος

A/A	ΜΗ ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΑ	A/A	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΑ
1.	Τσίντζερ	1.	Δαμάσκηνα
2.	Ιπποφαές	2.	Μπανάνα
3.	Γκόντζι μπέρι	3.	Γκόλντεν μπέρι
4.	Κεράσι ξανθό	4.	Βερύκοκα
5.	Κεράσι	5.	Παπάγια
6.	Σύκα	6.	Κράνμπερι
7.	Χουρμάδες	7.	Σταφίδες σουλτανίνες
8.	Δαμάσκηνα	8.	Ιπποφαές
9.	Μήλο	9.	Σταφίδα κορινθιακή
10.	Βερύκοκο	10.	Σταφίδα ξανθή
11.	Ακτινίδιο		
12.	Φράουλα		
13.	Μύρτιλο		
14.	Κίτρο		
15.	Κράνμπερι		
16.	Μπλάκμπερι(με χυμό μήλου)		
17.	Αλόη Βέρα		
18.	Μάνγκο		
19.	Ράσμπερι		
20.	Μήλο(χωρίς ζάχαρη)		
21.	Φράουλα(με χυμό μήλου)		

22.	Παπάγια		
23.	Πεπόνι		
24.	Τσίντζερ		

** Τα δείγματα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν, αγοράστηκαν από διάφορες εταιρίες πώλησης αποξηραμένων φρούτων (μη συσκευασμένα) και από επώνυμα σούπερ μάρκετ (συσκευασμένα) των Τρικάλων και της Καρδίτσας τα οποία θα παραμείνουν ανώνυμα για λόγους εμπιστευτικότητας.*

Τα δείγματα είναι καταγεγραμμένα σε αρχείο, το οποίο βρίσκεται στη διάθεση σας εφόσον ζητηθεί.

Κατάλογος αποξηραμένων φρούτων δεύτερου πειράματος

<i>A/A</i>	<i>ΜΗ ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΑ</i>	<i>A/A</i>	<i>ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΑ</i>
1.	Χουρχουμάδες	1.	Κράνμπερι
2.	Δαμάσκηνα	2.	Κορινθιακή σταφίδα
3.	Μπανάνα	3.	Μαύρη σταφίδα
4.	Τσίντζερ	4.	Ξανθή σταφίδα
5.	Κίτρο	5.	Σουλτανίνα σταφίδα
6.	Παπάγια	6.	Κράνμπερι
7.	Γκόντζι μπέρι	7.	Χουρχουμάδες
8.	Αλόη βέρα		
9.	Σύκο		
10.	Μήλο		
11.	Μάγκο		
12.	Ιπποφαές		
13.	Γκόλντεν μπέρι		

* Τα δείγματα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν, αγοράστηκαν από διάφορες εταιρίες πώλησης αποξηραμένων φρούτων (μη συσκευασμένα) και από επώνυμα σούπερ μάρκετ (συσκευασμένα) των Τρικάλων και της Καρδίτσας τα οποία θα παραμείνουν ανώνυμα για λόγους εμπιστευτικότητας.

Τα δείγματα είναι καταγεγραμμένα σε αρχείο, το οποίο βρίσκεται στη διάθεσή σας εφόσον ζητηθεί.



ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΑΠΟΞΗΡΑΜΕΝΩΝ ΦΡΟΥΤΩΝ

στα πλαίσια εκπόνησης διπλωματικής εργασίας της φοιτήτριας Μ. Σκρέτα

Α/Α.....

Ημερομηνία:.....

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ:

Όνομασία Εταιρίας:

Επωνυμία:

Προμήθεια : ΑΓΟΡΑ ΑΛΛΟ, προσδιόρισε.....

Προέλευση: Νομός.....

Περιέκτης: ΜΕΤΑΛΛΙΚΟΣ ΠΛΑΣΤΙΚΟΣ ΑΛΛΟ, προσδιόρισε.....

Θερμοκρασία συντήρησης (2 - 4 °C):

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:

.....
.....
.....
.....

ΤΡΟΠΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ:

- 25 gr αποξηραμένου φρούτου
- Σήμανση με Α/Α πρωτοκόλλου
- Συσκευασία με πλαστικό περιέκτη
- Μεταφορά
- Χειρισμός στο εργαστήριο για εκχύλιση
- Αποθήκευση