

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ & ΥΔΑΤΙΝΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

*«Μελέτη του ποσοστού επιμόλυνσης με μυκοτοξίνες πρώτων υλών που
προορίζονται για χρήση τους στις ιχθυοκαλλιέργειες»*

ΤΖΑΒΕΛΑ ΕΥΦΡΟΣΥΝΗ
ΒΟΛΟΣ 2023

«Μελέτη του ποσοστού επιμόλυνσης με μυκοτοξίνες πρώτων υλών που προορίζονται για χρήση τους στις ιχθυοκαλλιέργειες (Study of the mycotoxin contamination rate of raw materials intended for use in aquaculture)»

Εξεταστική Επιτροπή

- 1) Γκολομάζου Ελένη Αναπληρώτρια Καθηγήτρια
Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.
- 2) Παναγιωτάκη Παναγιώτα Καθηγήτρια
Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.
- 3) Ρήγος Γεώργιος Διευθυντής Ερευνών
Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας, Βιοτεχνολογίας & Υδατοκαλλιεργειών του Ελληνικού Κέντρου Θαλασσίων Ερευνών

Αφιερωμένη στα αξιολάτρευτα παιδιά μου για τις δύσκολες νύχτες που περάσαμε.....

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Υδατοκαλλιεργειών του τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας υπό την καθοδήγηση της Αναπληρώτριας Καθηγήτριας κας Γκολομάζου Ελένης.

Θέλω να πω ένα μεγάλο ευχαριστώ στην επιβλέπουσα καθηγήτριά μου κ. Γκολομάζου, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και την ευκαιρία που μου έδωσε να μελετήσω ένα τόσο ενδιαφέρον ερευνητικό θέμα. Η πολύπλευρη υποστήριξη της κατά την διάρκεια εκπόνησης της διατριβής μου, καθώς και ο χρόνος που αφιέρωσε για την ανάγνωση και διόρθωση της, συντέλεσαν σημαντικά στην επιτυχή συγγραφή και ολοκλήρωσης της. Θα ήθελα επίσης, να εκφράσω τις πιο θερμές και ειλικρινείς ευχαριστίες μου στην Καθηγήτρια κ. Παναγιωτάκη, για το συνεχές ενδιαφέρον και υποστήριξή της καθόλη την διάρκεια των μεταπτυχιακών μου σπουδών. Το επιστημονικό τους υπόβαθρο και οι σημαντικές υποδείξεις και παρατηρήσεις τους υπήρξαν καθοριστικές για την επιτυχή ολοκλήρωση της διατριβής μου. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Ρήγο Διευθυντή Ερευνών του ΕΛΚΕΘΕ για το χρόνο που διέθεσε για την ανάγνωση και τη διόρθωση της διατριβής μου, ως μέλος της τριμελούς επιτροπής. Δεν θα μπορούσα να μην εκφράσω τις ευχαριστίες μου στους συμφοιτητές μου για την συνεχή αλληλοσυμπράσταση και αλληλοϋποστήριξη καθόλη την διάρκεια των σπουδών. Τέλος ένα μεγάλο ευχαριστώ από καρδιάς στον σύζυγο μου και τα παιδιά μου για την κατανόηση και την στήριξη που μου προσέφεραν όλο αυτό το χρόνο, καθώς και για την υπομονή που επέδειξαν μέχρι την ολοκλήρωση των σπουδών μου.

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	7
ABSTRACT	8
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	9
1.1 Ο κλάδος των υδατοκαλλιεργειών	9
1.2 Πρώτες ύλες φυτικής προέλευσης	11
1.2.1. Πλεονεκτήματα της χρήσης των πρώτων υλών φυτικής προέλευσης στις ιχθυοτροφές.....	11
1.2.2 Μειονεκτήματα της χρήσης των πρώτων υλών φυτικής προέλευσης στις ιχθυοτροφές.....	11
1.3 Μυκοτοξίνες.....	12
1.4 Παγκόσμια παραγωγή και χρήση αραβοσίτου	16
1.4.1 Υποπροϊόντα Αραβοσίτου και χρήση τους στις ιχθυοτροφές.....	17
1.4.2 Σημαντικές μυκοτοξίνες και παγκόσμια εμφάνιση στον αραβόσιτο.....	18
1.4.3 Επικράτηση μυκοτοξινών στον αραβόσιτο	20
1.4.4 Στρατηγικές διαχείρισης κινδύνου μυκοτοξινών στον αραβόσιτο.....	22
1.5 Προσδιορισμός Μυκοτοξινών.....	26
1.5.1 Μέθοδοι δειγματοληψίας και προετοιμασίας δειγμάτων	26
1.5.2 Σφάλμα δειγματοληψίας.....	27
1.5.3 Μέθοδοι προσδιορισμού μυκοτοξινών	27
1.6 Επιπτώσεις της ύπαρξης των μυκοτοξινών στις ιχθυοτροφές	31
1.6.1 Μόλυνση ιχθυοτροφών με μυκοτοξίνες.....	33
1.7 Σκοπός της Μεταπτυχιακής Διατριβής	45
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	46
2.1 Δείγματα πρώτων υλών-Προετοιμασία δείγματος	46
2.2 Φασματοφωτομετρία Εγγύς Υπερύθρου NIR (Near InfraRed)	47
2.3 Ανάλυση αποτελεσμάτων	48
2.4 Στατιστική ανάλυση	49
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	50
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	54
5. ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ	58
6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	60
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	62

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ανάπτυξη της υδατοκαλλιέργειας έχει οδηγήσει σε υψηλή ζήτηση για ιχθυοτροφές, οι οποίες διαδραματίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στη διατροφή και την υγεία των ψαριών. Η χρήση ζωικής πρωτεΐνης στις ιχθυοτροφές είναι δαπανηρή. Ως εκ τούτου, η πλειονότητα των αγροτών από αναπτυσσόμενες χώρες χρησιμοποιεί συστατικά ζωοτροφών φυτικής προέλευσης ως πηγή πρωτεϊνών. Ωστόσο, αυτά τα συστατικά φυτικής προέλευσης παρέχουν τα καλύτερα φυσικά υποστρώματα για τους μύκητες, τα οποία μπορούν εύκολα να συνοδευτούν από την ανάπτυξη μυκοτοξινών υπό κατάλληλες συνθήκες. Ανάμεσα στα συστατικά φυτικής προέλευσης, ο αραβόσιτος και οι ελαιούχοι σπόροι είναι πιο ευαίσθητοι στους μυκοτοξινογόνους μύκητες σε σύγκριση με άλλα συστατικά. Η κατάποση τροφών μολυσμένων με μυκοτοξίνες μπορεί να επηρεάσει την υγεία των ψαριών και συμβάλλει επίσης στην οικονομική απώλεια των ιχθυοκαλλιεργητών. Τα ψάρια μπορεί επίσης να μεταφέρουν υπολείμματα μυκοτοξίνης κατά μήκος της τροφικής αλυσίδας, θέτοντας έτσι σε κίνδυνο την ανθρώπινη υγεία. Επομένως, είναι σημαντικό να διασφαλιστεί ο έλεγχος της μόλυνσης από μυκοτοξίνες στις ιχθυοτροφές, ειδικά κατά την παραγωγή και την αποθήκευση. Ως εκ τούτου, η έγκαιρη ανίχνευσή τους είναι ζωτικής σημασίας για τη βιομηχανία υδατοκαλλιέργειας. Η ταχεία και ακριβής ανίχνευση μυκοτοξινών είναι και θα συνεχίσει να είναι ζωτικής σημασίας για τη βιομηχανία τροφίμων, την παραγωγή ζώων και το περιβάλλον.

Λέξεις κλειδιά: ιχθυοτροφή, υδατοκαλλιέργεια, μόλυνση, προσδιορισμός, μυκοτοξίνες, αραβόσιτος, τοξικές επιδράσεις

ABSTRACT

The development of aquaculture has led to a high demand for aqua feed, which plays a very important role in the nutrition and health of fish. Using animal protein in aqua feed is expensive. Therefore, the majority of farmers from developing countries use feed ingredients of plant origin as a source of protein. However, these plant-derived components provide the best natural substrates for fungi, which can easily be accompanied by the development of mycotoxins under suitable conditions. Among plant-based ingredients, maize and oilseeds are more susceptible to mycotoxin fungi compared to other ingredients. Ingestion of feed contaminated with mycotoxins can affect the health of fish and also contributes to the economic loss of fish farmers. Fish may also carry mycotoxin residues along the food chain, thus endangering human health. Therefore, it is important to ensure the control of mycotoxin contamination in aqua feed, especially during production and storage. Therefore, their early detection is crucial for the aquaculture industry. Rapid and accurate detection of mycotoxins is and will continue to be of vital importance to the food industry, animal production and the environment.

Keywords: aquafeed, aquaculture, contamination, mycotoxins, detection, maize, toxic effects

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Ο κλάδος των υδατοκαλλιέργειών

Η υδατοκαλλιέργεια διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παγκόσμια επισιτιστική ασφάλεια και η συνεισφορά της αναμένεται να αυξηθεί σε περισσότερους από 100 εκατομμύρια τόνους μέχρι το 2030 (Albrektsen et al. 2022). Είναι ένας από τους πιο αποδοτικούς και βιώσιμους τρόπους παραγωγής ζωικής πρωτεΐνης (Albrektsen et al. 2022). Ωστόσο, η ταχεία ανάπτυξη της υδατοκαλλιέργειας, σε ορισμένες περιπτώσεις, έχει ως αποτέλεσμα αρνητικές επιπτώσεις στο περιβάλλον και την κοινωνία (FAO 2022).

Σήμερα, η παγκόσμια κοινότητα καλείται να καλύψει τις πιεστικές ανάγκες σε τρόφιμα ενός αυξανόμενου πληθυσμού με πεπερασμένους φυσικούς πόρους. Τα ψάρια και τα θαλασσινά θεωρούνταν ανέκαθεν σημαντικό μέρος της ανθρώπινης διατροφής και από καιρό έχουν αναγνωριστεί ως τροφή που προάγει την υγεία για την ανθρώπινη διατροφή (Karapanagiotidis 2014).

Η βιομηχανία υδατοκαλλιέργειας έχει γίνει πηγή παρόχων πρωτεϊνών υψηλής ποιότητας για ανθρώπους παγκοσμίως (FAO 2022). Είναι μια από τις ταχύτερα αναπτυσσόμενες βιομηχανίες στην παραγωγή τροφίμων με μέσο ρυθμό ανάπτυξης 5,3% μεταξύ 2001 και 2018 (FAO 2022). Η εξάντληση του αποθέματος των ιχθύων, η ταχεία αύξηση του παγκόσμιου πληθυσμού, η υψηλή ζήτηση για θαλασσινά και το διεθνές εμπόριο έχουν συμβάλει στην τεράστια επέκταση της υδατοκαλλιέργειας τις τελευταίες δεκαετίες (Ottinger et al. 2016). Η πρόκληση της βιομηχανίας υδατοκαλλιέργειας να ανταποκριθεί στην αυξανόμενη ζήτηση ψαριών και να επιτύχει στόχους επισιτιστικής ασφάλειας εντός των περιβαλλοντικών ορίων θα γίνει κρίσιμη τα επόμενα χρόνια, ειδικά με τον παγκόσμιο πληθυσμό να φτάνει τα 10 δισεκατομμύρια μέχρι το 2050 (Springmann et al. 2018, Willett et al. 2019).

Τα προϊόντα θαλάσσιας αλιείας είναι εξαιρετικά σημαντικά γιατί παρέχουν στις ιχθυοτροφές μακρο- και μικροθρεπτικά συστατικά και οργανοληπτικές ιδιότητες, ενισχύοντας έτσι την πεπτικότητα και την απόδοση ανάπτυξης. Τα προϊόντα θαλάσσιας αλιείας που χρησιμοποιούνται στις ιχθυοτροφές είναι συνήθως άλευρα και έλαια που παράγονται από μικρά πελαγικά ψάρια και υποπροϊόντα επεξεργασίας ψαριών και διαφόρων θαλασσινών ειδών (Newton et al. 2023). Τα ιχθυάλευρα θεωρούνται η πιο πολύτιμη πηγή πρωτεΐνης, λόγω των εξαιρετικών πλεονεκτημάτων τους,

συμπεριλαμβανομένης της καλά ισορροπημένης σύνθεσης σε αμινοξέα, της καλής πεπτικότητας και γευστικότητας, καθώς και της απορρόφησης θρεπτικών συστατικών στη διατροφή των ψαριών (Miles et al. 2006).

Η υδατοκαλλιέργεια παγκοσμίως καταναλώνει αυτή τη στιγμή περίπου το 69% των ιχθυαλεύρων και το 75% των αποθεμάτων ιχθυελαίων (Naylor et al. 2021) και καθώς συνεχώς επεκτείνεται, η ανάγκη για ιχθυάλευρα και ιχθυέλαια που παράγονται από πελαγικά ψάρια θα συνεχίσει να αυξάνεται. Αυτό οδήγησε σε προοδευτική μείωση αυτών των ιχθυαποθεμάτων και προκάλεσε σοβαρό πληθωρισμό στις παγκόσμιες τιμές τους (<https://www.indexmundi.com/agriculture>).

Δεδομένης της αυξημένης ζήτησης για είδη ψαριών υψηλής ποιότητας, η υδατοκαλλιέργεια αντιμετωπίζει την πρόκληση της επίτευξης βιώσιμης ανάπτυξης αντικαθιστώντας πηγές πρωτεΐνης ψαριών με φυτικές και χερσαίες ζωικές πρωτεΐνες, χωρίς να διακυβεύεται η οικονομική αξία και ποιότητα του τελικού προϊόντος (Maiolo et al. 2020).

Οι φυτικές πηγές πρωτεϊνών έχουν χρησιμοποιηθεί γενικά για να υποκαταστήσουν εν μέρει το ιχθυάλευρο στη διατροφή των ψαριών (Elumalai et al. 2020). Αυτές οι πηγές πρωτεΐνης είναι πλεονεκτικές επειδή έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε διαθέσιμη πρωτεΐνη, συνεχή διαθεσιμότητα, περιβαλλοντική βιωσιμότητα και προσιτές τιμές (Gatlin et al. 2007, Hardy et al. 2010, Sales et al. 2009).

Τα φυτικά συστατικά των ιχθυοτροφών παρέχουν επίσης υδατάνθρακες που μπορούν να αποτελέσουν πηγή ενέργειας για τα ψάρια και τις γαρίδες (Hixson et al. 2014) και επιπλέον, είναι πηγές αμύλου που είναι απαραίτητο συστατικό για την ανάπτυξη των ψαριών γιατί χρησιμεύει ως συνδετικό (Samuelsen et al. 2021).

Αυτό σημαίνει ότι είναι πραγματικά σημαντικό για τον κλάδο της αλιείας να χρησιμοποιεί λιγότερα ιχθυέλαια και ιχθυάλευρα και να αρχίσει να παράγει τροφή για ψάρια από φυτά που μπορούν να καλλιεργηθούν με βιώσιμο τρόπο. Γενικά, πάντως, τα άλευρα φυτικής προέλευσης, συγκριτικά με τα ιχθυάλευρα, περιέχουν χαμηλότερα επίπεδα πρωτεΐνης και ορισμένων απαραίτητων αμινοξέων, αλλά και διάφορες αντιδιατροφικές ουσίες, οι οποίες αν δεν αδρανοποιηθούν, μέσω της κατάλληλης επεξεργασίας τους, μπορεί να προκαλέσουν μείωση της ανάπτυξης, τοξικά φαινόμενα και προβλήματα υγείας στους διατρεφόμενους ιχθύες (Καραπαναγιωτίδης 2018).

1.2 Πρώτες ύλες φυτικής προέλευσης

Στην κατηγορία αυτή ανήκουν (Καραπαναγιωτίδης 2018):

- Άλευρα και έλαια ελαιούχων δημητριακών καρπών όπως για παράδειγμα το σογιάλευρο, το κραμβάλευρο, το φιστικάλευρο, το άλευρο καρύδας κ.λπ., καθώς και τα αντίστοιχα έλαια αυτών και διάφορα υποπροϊόντα αυτών
- Άλευρα οσπρίων και υποπροϊόντα αυτών, όπως π.χ. άλευρα κουκιών, λούπινου και τα αντίστοιχα άλευρα συμπυκνωμένης πρωτεΐνης αυτών
- Άλευρα και έλαια σιτηρών, όπως καλαμπόκι, σιτάρι, ρύζι, κριθάρι, σόργος και διάφορα υποπροϊόντα αυτών όπως γλουτένη καλαμποκιού, γλουτένη σίτου κ.λπ., καθώς και έλαια αυτών π.χ. αραβοσιτέλαιο.
- Μικροάλγη & υδρόβια μακρόφυτα

1.2.1. Πλεονεκτήματα της χρήσης των πρώτων υλών φυτικής προέλευσης στις ιχθυοτροφές

- Είναι γενικά φθηνότερα από τα ζωικά άλευρα, ιδιαίτερα τα σιτηρά.
- Τα περισσότερα από αυτά είναι άμεσα διαθέσιμα στην αγορά και σε μεγάλες ποσότητες
- Είναι πλούσια σε βιταμίνες Β και διάφορα ανόργανα στοιχεία. Οι ελαιούχοι καρποί επίσης είναι πλούσιοι σε Ρ, αλλά φτωχοί σε Ca και βιταμίνη Ε.
- Αποτελούν καλές πηγές ενέργειας
- Περιέχουν αυξημένα επίπεδα ινωδών ουσιών παρέχοντας τους συγκολλητικές ιδιότητες κατά την παρασκευή των ιχθυοτροφών (Καραπαναγιωτίδης 2018).

1.2.2 Μειονεκτήματα της χρήσης των πρώτων υλών φυτικής προέλευσης στις ιχθυοτροφές

- Η περιεκτικότητα τους σε πρωτεΐνες είναι χαμηλότερη από ότι των ζωικών αλεύρων και ως επί πλείστον χαμηλότερη από τις πρωτεϊνικές ανάγκες των ψαριών.
- Τα επίπεδα των απαραίτητων αμινοξέων τους είναι χαμηλότερα συγκριτικά με εκείνα των ζωικών αλεύρων και μη ταιριαστά στις απαιτήσεις των εκτρεφόμενων οργανισμών. Ιδιαίτερα τα σιτηρά είναι φτωχά σε απαραίτητα αμινοξέα.
- Τα φυτικά έλαια δεν ικανοποιούν τις απαιτήσεις των οργανισμών σε απαραίτητα λιπαρά οξέα.

- Είναι λιγότερο εύγεστα και λιγότερο εύπεπτα από ότι τα ζωικά άλευρα και έλαια.
- Περιέχουν διάφορους αντι-διατροφικούς παράγοντες. Οι αντιδιατροφικοί παράγοντες αποτελούν ενώσεις που παρεμποδίζουν την πέψη και το μεταβολισμό των θρεπτικών ουσιών των τροφών (Καραπαναγιωτίδης 2018).
- Οι διατροφές ψαριών που βασίζονται σε φυτικές πρωτεΐνες μπορεί συχνά να συσχετιστούν με μειωμένη πρόσληψη τροφής, αυξητικής απόδοσης και εντερικής λειτουργίας (Oliva-Teles 2012).
- Οι διατροφές των ψαριών που προέρχονται από φυτικές πρώτες ύλες μπορεί επίσης να μολυνθούν από μυκοτοξίνες (Gonçalves et al. 2020)

1.3 Μυκοτοξίνες

Οι μυκοτοξίνες είναι δευτερογενείς μεταβολίτες που παράγονται από διάφορα είδη μυκήτων και βρίσκονται συχνά σε γεωργικά προϊόντα που χρησιμοποιούνται για τη διατροφή των ζώων. Αυτές οι τοξίνες θέτουν σε κίνδυνο την υγεία τόσο των ζώων όσο και των καταναλωτών. Οι γεωργικές πρώτες ύλες μπορούν να μολυνθούν από μύκητες κατά τη διαδικασία ανάπτυξης, πριν από τη συγκομιδή ή κατά την αποθήκευση σε ανεπαρκείς συνθήκες υγρασίας και/ή θερμοκρασίας (Κοκου et al. 2018). Δεδομένου ότι οι μυκοτοξίνες είναι φυσικοί επιμολυντές και θέτουν σε κίνδυνο την υγεία τόσο των ζώων όσο και των καταναλωτών, αρκετοί ευρωπαϊκοί και διεθνείς οργανισμοί έχουν αντιμετωπίσει αυτό το θέμα προσδιορίζοντας την ιδιαίτερη σημασία τους και θεσπίζοντας ρυθμιστικά όρια και προτείνοντας συνιστώμενα όρια για συγκεκριμένες μυκοτοξίνες.

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

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

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

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

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

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

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

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

Αυτές οι μυκοτοξίνες μπορούν να προκαλέσουν προβλήματα υγείας και να μειώσουν την ποιότητα και την ασφάλεια των γεωργικών προϊόντων. Συνεπώς, είναι σημαντικό να υπάρχει προσεκτική παρακολούθηση και έλεγχος στην αλυσίδα τροφίμων και στην

αγροτική παραγωγή για τη μείωση του κινδύνου της μυκοτοξίνης και την προστασία της υγείας των καταναλωτών.

Στον Πίνακα 1 αποτυπώνονται οι κυριότερες μυκοτοξίνες και οι μύκητες που τις παράγουν.

Πίνακας 1. Κυριότερες μυκοτοξίνες και παράγωγοι μύκητες	
Μυκοτοξίνη	Μύκητας
Ακέτοξυσκιρπενεδιόλη και Ακέτυλοξυνιβαλενόλη	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i> , και <i>F. nivale</i>
Αλτρенаριόλη	<i>Alternaria alternata</i>
Αφλατοξίνες	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>
Βιριδιτοξίνη	<i>Aspergillus fumigatus</i>
Γλιοτοξίνη	<i>Alternaria spp.</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Penicillium spp.</i>
Διακετοξυσκιρπενόλη	<i>Fusarium sporotrichioides</i> , <i>P. poae</i> , <i>F. moniliforme</i> , <i>F. equiseti</i> , κ.ά
Δεσοξυνιβαλενόλη	<i>Fusarium culmorum</i> , <i>F. graminearum</i>
Εργοτοξίνες	<i>Claviceps purpurea</i>
Ζεαραλενόνη	<i>Fusarium culmorum</i> , <i>F. graminearum</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. moniliforme</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. equiseti</i> , και <i>F. nivale</i>
Κυκλοπιαζονικό οξύ	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>Penicillium cyclopium</i> κ.ά.
Κιτρινίνη	<i>Aspergillus carneus</i> , <i>Penicillium citrinum</i> , <i>P. expansum</i> , <i>P. Verrucosum</i>
Κιτρεοβιριδίνη	<i>Aspergillus terreus</i> , <i>Penicillium citreoviride</i>
Μονιλιφορμίνη	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i> , και <i>F. nivale</i>
Νιβαλενόλη	<i>Fusarium avenaceum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. moniliforme</i> , <i>F. nivale</i> , <i>F. poae</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. sporotrichioides</i> και <i>F. oxysporum</i>
Ξανθοκιλλίνη	<i>Eurotium chevalieri</i>
Πατουλίνη	<i>Aspergillus clavatus</i> , <i>A. terreus</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Penicillium roquefortii</i> , <i>P. claviforme</i> , <i>P. expansum</i> , κ.ά
Σατρατοξίνες	<i>Stachybotrys chartarum</i> , <i>Trichoderma viridi</i>
Σκιρπεντριόλη	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. solani</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i> , και <i>F. nivale</i>
Στεριγματοκυστίνη	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. nidulans</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>Penicillium rugulosum</i>
Τοξίνη T-1 και Τοξίνη T-2	<i>Fusarium avenaceum</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. moniliforme</i> , <i>F. nivale</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. solani</i> και <i>F. sporotrichioides</i>
Τοξίνη HT-2	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , και <i>F. nivale</i>
Τριχοδερμίνη	<i>Trichoderma viride</i>
Τριχοθεσίνη	<i>Trichothecium roseum</i>
Τριχοβερρίνη και Τριχοβερρόλη	<i>Stachybotrys chartarum</i>
Φουμονισίνη B1	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , και <i>F. nivale</i>
Φουσαρικό οξύ, Φουσαρίνη	<i>Fusarium moniliforme</i>
Ωχρατοξίνες	<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>A. carbonarius</i> , <i>Penicillium viridictum</i> , <i>P. verrucosum</i> κ.ά

Πηγή: Ινστιτούτο Τεχνολογίας Αγροτικών Προϊόντων, Λυκόβρυση Αττικής

1.4 Παγκόσμια παραγωγή και χρήση αραβοσίτου

Το καλαμπόκι, *Zea mays*, θεωρείται η τρίτη πιο σημαντική παγκόσμια καλλιέργεια μετά το σιτάρι και το ρύζι, με βάση την έκταση που συγκομίστηκε (Ramirez-Cabral et al. 2017). Πιο πρόσφατες δημοσιεύσεις την κατατάσσουν δεύτερη, μετά το σιτάρι (Erenstein et al. 2022). Μπορεί να παραχθεί άμεσα σε διάφορες περιοχές σε ένα ευρύ φάσμα αγροοικολογιών, με σχετικά περιορισμένο αριθμό βροχοπτώσεων κατά τη διάρκεια της παραγωγικής περιόδου, και καλλιεργείται σε κάθε ήπειρο εκτός από την Ανταρκτική. Από το 1961 έως το 2020, η παγκόσμια έκταση παραγωγής καλαμποκιού αυξήθηκε από 106 εκατομμύρια σε 201 εκατομμύρια εκτάρια, ενώ η παραγωγή αυξήθηκε από 205 εκατομμύρια σε 1,16 δισεκατομμύρια τόνους (FAO STAT 2021).

Η μέση απόδοση αραβοσίτου έχει αυξηθεί από 1,94 τόνους/στρέμμα σε 5,75 τόνους/στρέμμα. Από το 2020, οι ΗΠΑ, η Κίνα και η Βραζιλία είναι οι τρεις πρώτες σε παραγωγή καλαμποκιού χώρες στον κόσμο, συνεισφέροντας 31,0%, 22,4% και 8,9% αντίστοιχα της συνολικής παραγωγής (FAO STAT 2021).

Η παγκόσμια χρήση του αραβοσίτου τόσο ως τροφή όσο και ως ζωοτροφή έχει αυξηθεί αντίστοιχα, με τον αραβόσιτο να έχει υψηλή παγκόσμια αξία, διατροφικά και εμπορικά. Με ενεργειακή πυκνότητα ίση με 365 kcal/100g, ο αραβόσιτος περιέχει περίπου 72% άμυλο, 10% πρωτεΐνη και 4% λίπος, (Ranum et al. 2014, Dula 2019). Ο αραβόσιτος που χρησιμοποιείται συνήθως ως βασική τροφή, αντιπροσωπεύει περίπου το 15-56% της ημερήσιας θερμιδικής πρόσληψης σε 25 αναπτυσσόμενες χώρες (Dubey et al. 2020).

Επιπρόσθετα στην άμεση ανθρώπινη κατανάλωση, ο αραβόσιτος επεξεργάζεται εκτενώς σε υγρή άλεση, ξηρή άλεση, απόσταξη και σύνθεση ζωοτροφών για ένα ευρύ φάσμα βιομηχανιών. Τα τρόφιμα και τα βιομηχανικά προϊόντα που παράγονται από αραβόσιτο περιλαμβάνουν βασικές τροφές, σνακ, άμυλο, άλευρο γλουτένης αραβοσίτου, γλυκαντικά, μαγειρικά έλαια, αλκοολούχα ποτά, κόλλα, και βιομηχανικό αλκοόλ (Ranum et al. 2014). Επομένως, οποιοδήποτε θέμα ασφάλειας τροφίμων απειλεί την παραγωγή του αραβοσίτου, θέτει μια σημαντική παγκόσμια πρόκληση σε ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών τροφίμων και ζωοτροφών.

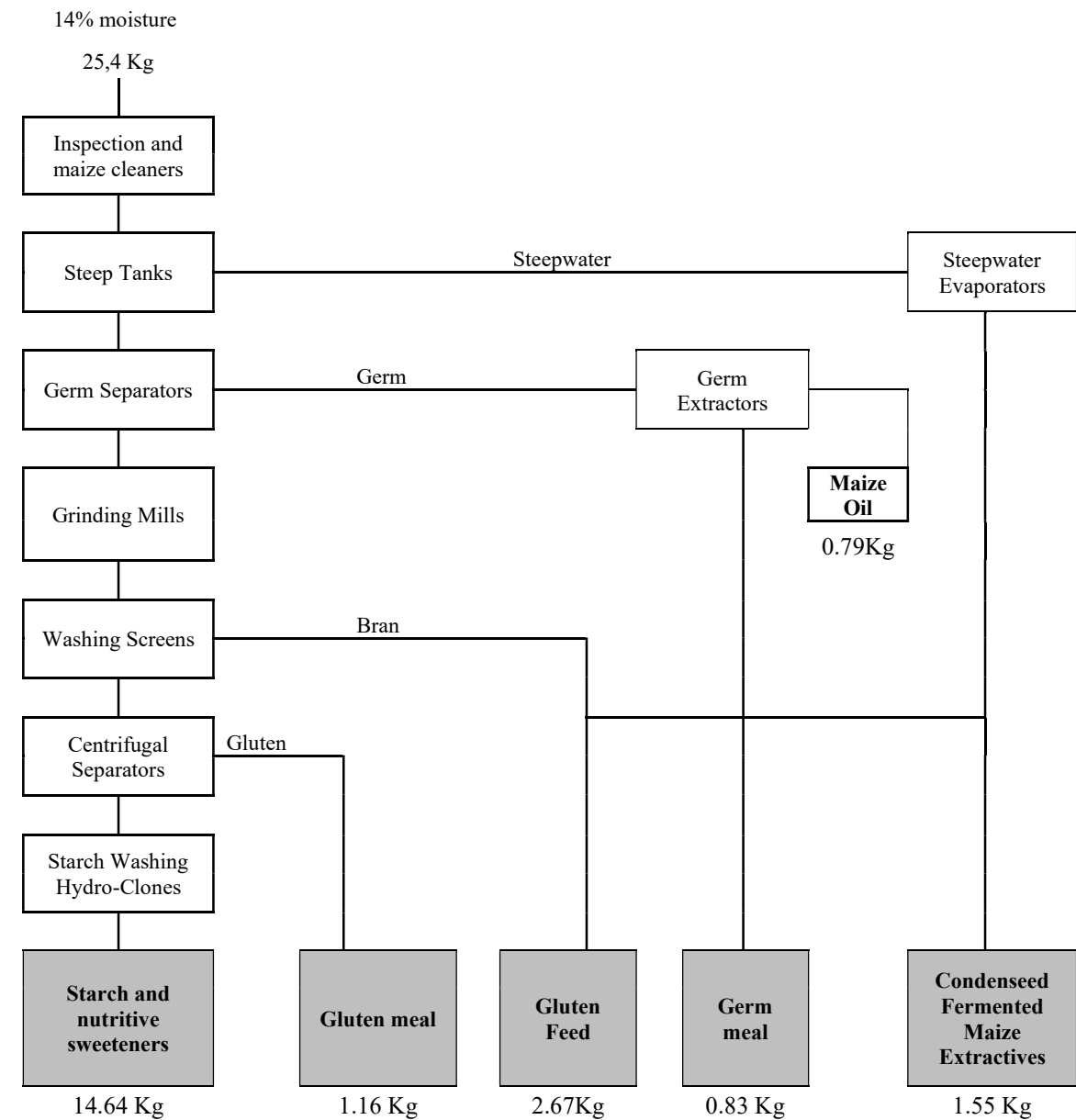
1.4.1 Υποπροϊόντα Αραβοσίτου και χρήση τους στις ιχθυοτροφές

Ο αραβόσιτος αποτελείται από φύτρο, ενδοσπέρμιο και περικάρπιο, με διαφορετικές χημικές συνθέσεις. Κατά τη διάρκεια της υγρής άλεσης, ο αραβόσιτος αποσυντίθεται στο κύριο προϊόν το άμυλο και στα υποπροϊόντα, συμπεριλαμβανομένων των φύτρων αραβοσίτου, των ινών αραβοσίτου και της γλουτένης αραβοσίτου (πρωτεΐνη καλαμποκιού). Αυτά τα υποπροϊόντα χρησιμοποιούνται ως προϊόντα ζωοτροφών χαμηλής αξίας. Το φύτρο καλαμποκιού περιέχει υψηλές ποσότητες τοκολών και φωσφολιπιδίων, η γλουτένη αραβοσίτου είναι πλούσια σε καροτενοειδή και η ίνα του αραβοσίτου είναι πλούσια σε φυτοστερόλες και σύνθετους υδατάνθρακες. Κάθε υποπροϊόν έχει τη δυνατότητα να χρησιμεύσει ως πρόδρομος στην παρασκευή λειτουργικών συστατικών τροφίμων ή θρεπτικών ουσιών που έχουν αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδεις, υποχοληστερολαιμικές, υπολιπιδαιμικές και υπογλυκαιμικές ιδιότητες. Αυτά τα θρεπτικά συστατικά μπορούν να ληφθούν μέσω φυσικών, χημικών ή ενζυματικών διεργασιών (Thalli και Padmanabhan 2022).

Το άλευρο γλουτένης αραβοσίτου (MGM) είναι ένα υποπροϊόν του αμύλου αραβοσίτου και της αιθανόλης, που παράγεται με τη διαδικασία υγρής άλεσης. Η υψηλή περιεκτικότητά του σε πρωτεΐνες το καθιστά ένα προτιμώμενο συστατικό στις ζωοτροφές και η διαδικασία παραγωγής του απεικονίζεται στο σχήμα 1.

Το MGM παρασκευάζεται από επαναφυγοκέντρηση, διήθηση και ξήρανση του πολλτού γλουτένης που λαμβάνεται από τη διαδικασία διαχωρισμού γλουτένης αμύλου αραβοσίτου. Το άμυλο και τα πλούσια σε λάδι φύτρα είναι τα κύρια προϊόντα από την υγρή άλεση, που αποτελούν το 75% σε ξηρό βάρος. Μετά την αφαίρεση αυτών των κύριων προϊόντων, των ινών και των διαλυτών συστατικών, το MGM αντιπροσωπεύει περίπου το 5% του ξηρού βάρους. Το MGM είναι μια τροφή πλούσια σε πρωτεΐνες που περιέχει πάνω από 60% ακατέργαστη πρωτεΐνη και χαμηλό ακατέργαστο λίπος.

Χρησιμοποιείται εκτενώς ως πηγή πρωτεΐνης, ξανθοφύλλης, ενέργειας και χρωστικών για ζώα, πουλερικά, κατοικίδια ζώα και ιχθυοτροφές, λόγω της υψηλής πεπτικότητάς του σε πρωτεΐνες και του ενεργειακού του περιεχομένου. Πράγματι, λόγω της εμπορικής της αξίας και του οφέλους για την κτηνοτροφία, το MGM έχει ευρεία αποδοχή στη βιομηχανία ζωοτροφών και κατοικίδιων ζώων, με ετήσια χρήση περίπου ενός εκατομμυρίου τόνων (Erickson, Klopfenstein και Watson 2012).



Σχήμα 1. Διαδικασία υγρής άλεσης και παραγωγή MGM (Jinghua et al. 2023)

1.4.2 Σημαντικές μυκοτοξίνες και παγκόσμια εμφάνιση στον αραβόσιτο

Δεδομένης της ευαισθησίας του αραβοσίτου και των πυρήνων του σε αποικισμό από μύκητες, ο αραβόσιτος είναι ευάλωτος σε μόλυνση από μυκοτοξίνες τόσο κατά τη φάση πριν όσο και μετά τη συγκομιδή.

Η μόλυνση από μυκοτοξίνες μπορεί να αυξήσει σημαντικά τις απώλειες και το κόστος διαχείρισης, που περιλαμβάνει τόσο άμεση οικονομική ζημία από μειωμένη απόδοση και αξία καλλιέργειας και έμμεση απώλεια λόγω της μειωμένης

παραγωγικότητας των ζώων, του κόστους για την ανθρώπινη υγεία και του κόστους διαχείρισης κινδύνου και έρευνας (Munkvold et al. 2019). Ως ένδειξη της οικονομικής σημασίας αυτού του ζητήματος, έχει υπολογιστεί ότι σε ένα έτος ευνοϊκών κλιματικών συνθηκών, η αφλατοξίνη – μόνο μία κατηγορία μυκοτοξινών – θα μπορούσε, μόνο στις ΗΠΑ, να προκαλέσει ζημιές έως και 1,68 δισεκατομμυρίων δολαρίων στην παραγωγή αραβοσίτου (Mitchell et al. 2016).

Ο αραβόσιτος είναι ευαίσθητος σε διάφορα μυκητοπαθογόνα από την ανάπτυξη στο χωράφι έως την αποθήκευση του προϊόντος (Giorni et al. 2019). Οι περιβαλλοντικές συνθήκες έχουν μια ισχυρή επίδραση στην ανάπτυξη μυκοτοξινών σε κάθε φάση. Η ποικιλία των μυκήτων που αποικίζουν τον αραβόσιτο και τους πυρήνες του, οι τοξίνες που παράγουν και τα στάδια παραγωγής και αποθήκευσης που επηρεάζονται, θα αναφερθούν παρακάτω.

Μυκοτοξίνες *Fusarium*

Ο αραβόσιτος είναι ευαίσθητος σε προσβολή από το *Fusarium spp.* στο χωράφι, με αποτέλεσμα την παραγωγή της μυκοτοξίνης *Fusarium*. Οι Φουμονισίνες (FBs), τα Τριχοθηκένια (τύπου A, τοξίνες T-2/HT-2 και τύπου B), η δεσοξυνιβαλενόλη (DON) και η Ζεαραλενόνη (ZEN) είναι κοινές μυκοτοξίνες στον αραβόσιτο και παράγονται κυρίως από διάφορα είδη *Fusarium*.

Οι Φουμονισίνες FBs, που παράγονται κυρίως από το *F. verticillioides*, είναι οι πιο κοινές μυκοτοξίνες με τον υψηλότερο κίνδυνο, λόγω της παγκόσμιας κατανομής του *F. verticillioides* (Munkvold et al. 2019), και με το DON να είναι ένα από τα πιο συχνά εντοπισμένα.

Σε περιοχές με ψυχρότερα κλίματα, η εμφάνιση DON στον αραβόσιτο θεωρείται τυπικό γεωργικό ζήτημα, καθώς οι καιρικές συνθήκες είναι ευνοϊκές για την ανάπτυξη *F. graminearum* και το *F. Culmorum* και παραγωγή DON (Kos et al. 2017).

Οι τοξίνες T-2/HT-2 παράγονται κυρίως από τα *F. Sporotrichioides* και *F. langsethiae* και ανήκουν στις μυκοτοξίνες στον τύπο A τριχοθηκένια. Αυτά τα είδη *Fusarium* είναι ευρέως διαδεδομένα τόσο στη Νότια όσο και στη Βόρεια Αμερική, την Ασία, την Αφρική και την Ευρώπη (Richard et al. 2007) και παράγουν T-2/HT-2 υπό υγρασία και ψυχρές συνθήκες πριν από τη συγκομιδή δημητριακών (Porricelli et al. 2016).

Το ZEN είναι μια μη στεροειδική οιστρογονική μυκοτοξίνη που παράγεται κυρίως από το *F. graminearum*. Μόλυνση δημητριακών από ZEN έχει αναφερθεί παγκοσμίως, κυρίως σε εύκρατα κλίματα.

Ορισμένα είδη *Fusarium* και οι μυκοτοξίνες τους μπορούν επίσης να αναπτυχθούν στον αποθηκευμένο αραβόσιτο όταν οι συνθήκες αποθήκευσης είναι κατώτερες από τις ιδανικές. Για παράδειγμα, τα FBs αυξήθηκαν από 20 σε 40% κατά τη διάρκεια αποθήκευσης έξι μηνών λόγω ανάπτυξης του *F. verticillioides* (Carbas et al. 2021). Ομοίως, το ZEN αυξήθηκε επίσης όταν η περιεκτικότητα σε υγρασία του περιβάλλοντος αποθήκευσης ήταν μεγαλύτερη από 30-40% (Gupta 2007).

Αφλατοξίνη

Οι πιο αναγνωρισμένοι αφλατοξινογόνοι μύκητες είναι ο *A. flavus* και *A. parasiticus*. Ο αραβόσιτος είναι μία από τις κύριες πηγές έκθεσης του ανθρώπου στη διατροφική αφλατοξίνη (AF) παγκοσμίως, με μια κατά προσέγγιση συνεισφορά άνω του 10% (JECFA 2017, Schaarschmidt και Fauhl-Hassek 2021). Η μόλυνση με AF πριν και μετά τη συγκομιδή της παραγωγής αραβοσίτου εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από βιολογικούς (βιοτικούς) και περιβαλλοντικούς (αβιοτικούς) παράγοντες. Το στρες στην ξηρασία, οι υπερβολικές βροχοπτώσεις κατά τη φύτευση και η υπερβολική υγρασία και θερμοκρασία κατά την αποθήκευση προάγουν την ανάπτυξη μούχλας και την παραγωγή αφλατοξίνης (Bhatnagar-Mathur et al. 2015).

Ωχρατοξίνες

Οι ωχρατοξίνες (OTA) μπορεί να είναι σημαντικές μυκοτοξίνες στον αραβόσιτο σε ορισμένα μέρη του κόσμου. Παράγονται κυρίως από το *Penicillium verrucosum* σε εύκρατα κλίματα και τα *Aspergillus ochraceus* και τα σπάνια *Aspergillus carbonarius* σε θερμά και τροπικά κλίματα.

Αυτοί οι μύκητες μπορούν να μολύνουν γεωργικά προϊόντα πριν συγκομιδή, αλλά πιο συχνά κατά την αποθήκευση (Ozbey και Kabak 2012).

1.4.3 Επικράτηση μυκοτοξινών στον αραβόσιτο

Ένα παγκόσμιο σύνολο δεδομένων για την επικράτηση των μυκοτοξινών στον αραβόσιτο που λήφθηκε σε δείγμα από διαφορετικές ηπείρους (συμπεριλαμβανομένης της Αμερικής, της Ευρώπης, της Ασίας, της Μέσης Ανατολής και Αφρικής), διεξήχθη από την εταιρεία BIOMIN. Ενώ τα μεγέθη δειγμάτων για ορισμένες περιοχές (π.χ. Μέση

Ανατολή και Βόρεια Αφρική) είναι πολύ μικρά για να επιτρέψουν συμπεράσματα, αυτή η έρευνα παρέχει μια αίσθηση επιπέδων μόλυνσης από μυκοτοξίνες για πολλές περιοχές. Οι Munkvold et al. (2019) εισήγαγαν στην παγκόσμια συλλογή αρκετών μυκοτοξινών στον αραβόσιτο, που ερευνήθηκε από το 2014 έως το 2017 (συμπεριλαμβανομένων 11.237 δειγμάτων αραβοσίτου που συλλέχθηκαν σε 75 χώρες) και οι Gruber-Dorninger, Jenkins και Schatzmayr (2019) πραγματοποίησαν μιας μεγάλης κλίμακας έρευνα για τη μόλυνση από μυκοτοξίνες σε δείγματα αραβοσίτου που συλλέχθηκαν από 100 χώρες μεταξύ 2008 και 2017. Όλοι οι ερευνητές κατέληξαν στο παρόμοιο συμπέρασμα ότι τα δείγματα μολυσμένα με FBs ήταν τα πιο άφθονα θετικά δείγματα (>80%), ακολουθούμενα από DON>ZEN>AFs>T-2 >OTA. Η έρευνα της BIOMIN βρήκε επίσης ότι οι μυκοτοξίνες *Fusarium*, FBs, DON και ZEN, ήταν πολύ πιο διαδεδομένες σε σύγκριση με AF, OTA και τοξίνη T-2 μεταξύ 2019 και 2020.

Σε παγκόσμιο επίπεδο, τουλάχιστον μια μυκοτοξίνη αποδείχθηκε ότι υπάρχει σε περισσότερο από το 90% των δειγμάτων που εξετάστηκαν. Η μόλυνση με πολλαπλές μυκοτοξίνες ήταν επίσης συχνή, με το 68% των δειγμάτων να είναι μολυσμένα με τουλάχιστον δύο μυκοτοξίνες (Leite et al. 2021). Το ποσοστό συνεμφάνισης της αφλατοξίνης B1 (AFB1) και της OTA στα αλεύρια αραβοσίτου την περίοδο μεταξύ 2014 και 2016 ήταν 7,1% – 34,4% (Torovic 2018). Σε 705 δείγματα αραβοσίτου από 26 πολιτείες των ΗΠΑ κατά την περίοδο 2015–2016, μόλυνση με τρεις μυκοτοξίνες βρέθηκε στο 21% των δειγμάτων (Hendel et al. 2017). Κατά την περίοδο 2008–2017, οι FBs και DON, τα FBs και το ZEN, και το DON και το ZEN συνυπήρξαν στο 49%, 37% και 39% αντίστοιχα των παγκόσμιων δειγμάτων αραβοσίτου που εξετάστηκαν (Gruber-Dorninger et al. 2019). Στη μια μελέτη της εμφάνισης μυκοτοξίνης στον αραβόσιτο στην Ισπανία από το 2015 έως το 2019, βρέθηκε η ταυτόχρονη εμφάνιση αρκετών μυκοτοξινών (BIOMIN 2019, Munkvold 2003, Garcia-Diaz et al. 2020) σε μετρήσιμα επίπεδα στο 33,5% των δειγμάτων (Tarazona et al. 2020). Η συνεργιστική επίδραση των μυκοτοξινών που εμφανίζονται ταυτόχρονα θα μπορούσε να προκαλέσει σοβαρή βλάβη σε σχετικά χαμηλά επίπεδα. Ως εκ τούτου, απαιτούνται πολλαπλές στρατηγικές για τον μετριασμό των κινδύνων, γεγονός που αυξάνει τη δυσκολία ελέγχου του κινδύνου μυκοτοξίνης.

1.4.4 Στρατηγικές διαχείρισης κινδύνου μυκοτοξινών στον αραβόσιτο

Μια συστηματική στρατηγική ελέγχου για τον αραβόσιτο προ της συγκομιδής, μετά τη συγκομιδή και κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας είναι ζωτικής σημασίας για την αναχαίτιση, τον έλεγχο και την απομάκρυνση των επικίνδυνων μυκοτοξινών από την τροφική αλυσίδα. Έχουν καθιερωθεί πολλαπλές στρατηγικές για τη διαχείριση είτε της ύπαρξης μυκοτοξινών είτε της ανάπτυξης μυκήτων, ή την εξάλειψη και την αποικοδόμηση των μυκοτοξινών στα τρόφιμα (Xing et al. 2017). Μια βιώσιμη και αποτελεσματική στρατηγική διαχείρισης μπορεί να περιλαμβάνει συνεργασία με οργανώσεις και πρωτοβουλίες που ειδικεύονται στην προώθηση των καλύτερων πρακτικών παραγωγής αραβοσίτου πριν και μετά τη συγκομιδή.

Οι καλές γεωργικές πρακτικές (GAP) αναφέρονται στις καλύτερες προσεγγίσεις, αρχές και πρότυπα που εφαρμόζονται στην επιτόπια γεωργική παραγωγή για τη διασφάλιση της ασφάλειας των γεωργικών προϊόντων διατροφής και μη. Το GAP έχει αποδειχθεί ότι είναι μια αποτελεσματική στρατηγική για τον έλεγχο και τη διαχείριση της μόλυνσης από μυκοτοξίνες από πριν έως τη συγκομιδή. Το GAP είναι αποτελεσματικό και πρακτικό για τον έλεγχο μυκοτοξινών στον αραβόσιτο σε αγροτικές, εμπορικές και βιώσιμες εφαρμογές. Έχει συσταθεί από τον FAO με ενιαία καθοδήγηση που παρέχεται σε όλες τις χώρες που πρέπει να εξετάσουν (FAO 2003), με διάφορες πρωτοβουλίες αγροτικής ανάπτυξης προσαρμοσμένες σε τοπικό επίπεδο, λύσεις ενημερωμένες από τους ενδιαφερόμενους φορείς για συστήματα παραγωγής μικρής κλίμακας.

1.4.4.1 Στρατηγικές πριν τη συγκομιδή

Η μυκητιασική λοίμωξη ξεκινά στο στάδιο προ της συγκομιδής στον αραβόσιτο, επομένως το GAP πρέπει να εφαρμοστεί από το στάδιο της παραγωγής για την ελαχιστοποίηση της μόλυνσης από μυκοτοξίνες (Mahuku et al. 2019).

Η διαχείριση πριν από τη συγκομιδή περιλαμβάνει τον μετριασμό του στρες της ξηρασίας, της προσβολής από έντομα και του πρωτογενούς εμβολιασμού. Ο άνθρωπος έχει ελάχιστο έλεγχο στους περιβαλλοντικούς παράγοντες. Ωστόσο, καλές καλλιεργητικές πρακτικές, όπως η αμειψισπορά, η σωστή άρωση, η άρδευση, η έγκαιρη φύτευση και συγκομιδή και η χρήση φυτοφαρμάκων όπου είναι κατάλληλη και ασφαλώς εφικτή, είναι προληπτικές ενέργειες που μειώνουν την εμφάνιση μυκοτοξινών σε καλλιέργειες (Erickson, Klopfenstein και Watson 2012).

Η προ-συγκομιδή μπορεί να χωριστεί σε προφύτευση, φύτευση και στάδια μετά τη φύτευση. Κατά την προφύτευση, σπάζοντας το σκληρό όργωμα κατά τη διάρκεια της άροσης μπορεί ως επακόλουθο να μειωθεί το στρες της ξηρασίας.

Κατά τη φύτευση, συνιστώνται υγιείς σπόροι από ποικιλίες καλά προσαρμοσμένες στις δεδομένες αγροοικολογικές συνθήκες και αυτοί θα πρέπει να φυτεύονται σε βέλτιστο χρόνο φύτευσης και πυκνότητας φυτών για να αποφευχθούν οι προτιμώμενες από τους μυκοτοξικούς μύκητες συνθήκες (Abbas et al. 2009).

Πρακτικές όπως η άρδευση (όπου είναι διαθέσιμη), η χρήση λιπασμάτων, η καταπολέμηση των εντόμων, η καταπολέμηση των ζιζανίων και η χρήση μυκητοκτόνων είναι κρίσιμες για τη διαχείριση του αγρού μετά τη φύτευση, για τη μείωση της μυκητολογικής μόλυνσης από μύκητες.

Πρέπει να σημειωθεί ότι πολλά έντομα μπορούν να εξαπλωθούν ή να παρέχουν σημεία εισόδου για μυκοτοξικούς μύκητες στον αραβόσιτο. Ένα κατάλληλο φυτοφάρμακο ή έλεγχος εντόμων μπορεί να είναι ευεργετικά για τη μείωση της μόλυνσης από μυκοτοξίνες (Adegoke και Letum 2013). Η ικανότητα των παραγόντων σε ένα δεδομένο σύστημα τροφίμων να εφαρμόζουν κατάλληλα και με ασφάλεια φυτοφάρμακα θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά την αξιολόγηση αυτής της παρέμβασης, δεδομένου ότι το 44% των αγροτών (385 εκατομμύρια) υπολογίζεται ότι υποφέρουν από ακούσια οξεία δηλητηρίαση από φυτοφάρμακα παγκοσμίως, πολλά από τα οποία βρίσκονται σε αναπτυσσόμενες χώρες (Boedeker et al. 2020).

Οι υδάτινες καταπονήσεις μπορεί να είναι ένας παράγοντας ευαισθησίας στις μυκοτοξίνες. Η υπερβολική υγρασία κατά τη διάρκεια της ανθοφορίας επιτρέπει ευνοϊκές συνθήκες για τη διάδοση και μόλυνση από *Fusarium*. Εξαιτίας αυτού, θα πρέπει να υπάρχει κατάλληλος περιορισμός στην άρδευση (όπου χρησιμοποιείται άρδευση) κατά τα στάδια ανθοφορίας και ωρίμανσης της καλλιέργειας. Για την παραγωγή αραβοσίτου που αντιπροσωπεύει μεγάλο μέρος της παραγωγής στις αναπτυσσόμενες χώρες, η χρήση προσαρμοσμένων, ανθεκτικών στην ξηρασία ποικιλιών μπορεί να μειώσει σημαντικά τον κίνδυνο μόλυνσης από μυκοτοξίνες πριν από τη συγκομιδή.

Η χρήση παραγόντων βιοελέγχου έχουν αναπτυχθεί για να ελέγχουν την παραγωγή μυκοτοξινών (Neaj, Habschied και Mastanjev 2021, Agriopoulou et al. 2020). Ο Βιοέλεγχος της AF με ανταγωνιστικό αποκλεισμό είναι μια στρατηγική στην οποία τα μη τοξικογόνα σπόρια του *A. flavus* εισάγονται σε μεγάλες ποσότητες στο έδαφος των

χωραφιών όπου καλλιεργούνται φιστίκια ή καλαμπόκι, άρα υπερτερούν του ανταγωνισμού τοξικογόνων σπόρων και προκαλούν μείωση της συσσώρευσης AF. Κάποια έρευνα ανέφερε ότι ο βιοέλεγχος θα μπορούσε να αποφέρει καρπούς στη μείωση της μόλυνσης από αφλατοξίνη του καλαμποκιού στην Ταϊλάνδη, αν και τα αποτελέσματα ήταν μεταβλητά (Pitt et al. 2015, Tran-Dinh, Pitt και Markwell 2018).

1.4.4.2 Στρατηγικές μετά τη συγκομιδή

Η μόλυνση με AF και OTA μπορεί να συμβεί πριν και μετά συγκομιδή. Μόλυνση από τοξίνη *Fusarium*, όπως με FB, το ZEN και το DON, είναι κυρίως ένα πρόβλημα πριν τη συγκομιδή, αλλά εάν το εξωτερικό περιβάλλον που χρησιμοποιείται κατά την αποθήκευση, τη μεταφορά και την επεξεργασία των συγκομιζόμενων καλλιεργειών πληροί τις συνθήκες ανάπτυξης για μύκητες, οι μύκητες θα συνεχίσουν να αναπτύσσονται και να παράγουν μυκοτοξίνες. Ως εκ τούτου, οι καλές πρακτικές μετά τη συγκομιδή είναι επίσης σημαντικές για την αποφυγή περαιτέρω μόλυνσης από μυκοτοξίνες.

Έγκαιρη συγκομιδή μετά την ωρίμανση της καλλιέργειας και επαρκής ξήρανση συνιστώνται για τη μείωση του κινδύνου μόλυνσης από μυκοτοξίνες στον αραβόσιτο σε περιοχές υψηλού κινδύνου, όπου τα μυκητιακά παθογόνα έχουν σχετικά μικρότερο χρόνο ανάπτυξης ή δυνητικά παράγουν μυκοτοξίνες (Monda, Masanga και Alakonya 2020).

Τα AF θα αυξηθούν στον αραβόσιτο όταν τα φυτά προχωρήσουν στην ωρίμανση και η συγκομιδή καθυστερήσει. Μια μελέτη διαπίστωσε ότι οι AF αυξήθηκαν 4-7 φορές μετά από καθυστέρηση 3-4 εβδομάδων στη συγκομιδή (Hell et al. 2008). Η GAP δίνει επίσης έμφαση στη σωστή ξήρανση μετά τη συγκομιδή. Για παράδειγμα η αποφυγή της συγκομιδής απευθείας στο έδαφος, η βελτίωση στις μεθόδους ξήρανσης και οι καλές συνθήκες αποθήκευσης μπορούν να μειώσουν σημαντικά τον κίνδυνο μόλυνσης από μυκοτοξίνες, σε φιστίκια και καλαμπόκι (Turner et al. 2005). Η κοινή πρακτική των αναπτυσσόμενων χωρών της συσσώρευσης αραβοσίτου στο χωράφι μετά τη συγκομιδή βρέθηκε ότι αυξάνει σημαντικά τη μόλυνση με AF στα χωράφια των αγροτών στη Γκάνα (Manu et al. 2019).

Η μόλυνση με AF μπορεί να αυξηθεί 10 φορές σε τρεις ημέρες όταν ο συγκομισμένος αραβόσιτος αποθηκεύεται υπό υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία (Hell et al. 2008). Κατά τη συλλογή και τη μεταφορά του, τη συγκομιδή από το χωράφι έως τη

διαδικασία ξήρανσης και/ή για αποθήκευση, τα δοχεία που χρησιμοποιούνται πρέπει να είναι καθαρά και στεγνά και τα οχήματα θα πρέπει να ελεγχθούν για να αποφευχθούν έντομα, χώμα ή ορατή ανάπτυξη μυκήτων (Demissie 2018).

Η αφαίρεση του φλοιού και η διαλογή, με στόχο την αφαίρεση στοιχείων κακής ποιότητας, είναι επίσης αποτελεσματικοί τρόποι για τη μείωση της εξάπλωσης των σπορίων και επακόλουθη μόλυνση. Ο Xu et al. (2021) πρότεινε ότι το φυλλώδες εξωτερικό κάλυμμα του καλαμποκιού μπορούσε να αφαιρεθεί χειροκίνητα πριν από την ξήρανση.

Η μόλυνση από μυκοτοξίνες κατά την αποθήκευση σχετίζεται κυρίως με το μυκητιακό φορτίο, την περιεκτικότητα σε υγρασία, τη θερμοκρασία, τη σχετική υγρασία, την ενεργότητα των εντόμων και τις μεθόδους συσκευασίας (Wang et al. 2021). Ο καλός έλεγχος στο χωράφι θα βοηθήσει στη μείωση του μυκητιακού φορτίου. Καλή πρακτική για την αποφυγή παραγωγής μυκοτοξινών στην αποθήκευση περιλαμβάνει τον έλεγχο της υγρασίας, η οποία θα πρέπει να διατηρείται κάτω από το 14% στους 30 °C, θερμοκρασία (<20 °C) και σχετική υγρασία(<80%) και διατήρηση του σωστού αερισμού.

Κάτω από αυτές τις συνθήκες, η ανάπτυξη μυκήτων, η παραγωγή μυκοτοξινών και ο αριθμός των εντόμων μπορούν να μειωθούν (Channaiah και Maier 2014). Επιπλέον, ο έλεγχος παρασίτων και μυκοτοξινών μπορεί επίσης να βελτιωθεί με κλειστή αποθήκευση, με ατμοσφαιρικό έλεγχο και χρήση φυτοφαρμάκων. Αποθήκευση αραβοσίτου και άλλων καλλιεργειών σε ερμητικούς σάκους ή σιλό είναι μια εξαιρετικά αποτελεσματική μέθοδος για τη διακοπή της μόλυνσης από αφλατοξίνες σε σωστά αποξηραμένα δημητριακά (Suleiman et al. 2018) και έχει αποδειχθεί ότι μειώνει το δύσκολο διάστημα όπου οι κοινότητες μικροκαλλιεργητών στερούνται επαρκούς τροφής μεταξύ των συγκομιδών (Brander, Bernauer και Huss 2021).

Ερμητικές τεχνολογίες αποθήκευσης όπως η κατάλληλη συσκευασία είναι αποτελεσματική στην εξάλειψη των εντόμων (Singano, Mvumi και Stathers 2019, Williams, Baributsa και Woloshuk 2014). Η χρήση του υποκαπνισμού με φωσφίνη είναι επίσης ευεργετική στην ξήρανση καλαμποκιού κατά την αποθήκευση, η οποία βοηθά στη μείωση της μόλυνσης από μυκοτοξίνες (FAO 1989). Ωστόσο, η ασφάλεια των χημικών υπολειμμάτων θα πρέπει να είναι πλήρως εγγυημένη (Chulze 2010) και η ικανότητα των φορέων του συστήματος ελέγχου των τροφίμων να μπορούν να τα εφαρμόσουν με ασφάλεια.

Πρέπει να αναπτυχθεί μια κατάλληλη στρατηγική κατάρτισης για τους αγρότες και τους εργαζομένους στην αλυσίδα παραγωγής του καλαμποκιού για να αναπτύξουν τις μεθόδους και τις κατευθυντήρες γραμμές GAP, έτσι ώστε να ελαχιστοποιείται η μόλυνση του αραβοσίτου με μυκοτοξίνες πριν από την επεξεργασία. Μια πρόσφατη μελέτη στην Κένυα (Joutsjoki and Korhonen 2021) πρότεινε ότι οι εκπαιδευμένοι αγρότες εφάρμοσαν καλές πρακτικές, κάτι που είχε ως αποτέλεσμα την σημαντική μείωση των επιπέδων μυκοτοξίνης στον αραβόσιτο.

1.5 Προσδιορισμός Μυκοτοξινών

1.5.1 Μέθοδοι δειγματοληψίας και προετοιμασίας δειγμάτων

Στη διαδικασία δειγματοληψίας μυκοτοξινών, είναι απαραίτητο να διασφαλιστεί η ακρίβεια και η αντιπροσωπευτικότητα στη συλλογή του δείγματος. Οι μυκοτοξίνες μπορούν να βρεθούν σε οριακά ανιχνεύσιμες ποσότητες και τα προϊόντα που δεν είναι ομοιόμορφα μολυσμένα, αυξάνουν τον κίνδυνο ανακριβών δειγμάτων (Wagner et al. 2015, Xie et al. 2016).

Ακολουθείται ειδικό πρωτόκολλο για τη συλλογή αντιπροσωπευτικών εργαστηριακών δειγμάτων από όλα τα σημεία δειγματοληψίας. Οι παρτίδες που επιλέγονται για έλεγχο πρέπει να είναι κατάλληλες. Το τελικό δείγμα είναι ο συνδυασμός πολλών πανομοιότυπων δειγμάτων από διαφορετικά μέρη της παρτίδας.

Αυτό επιτυγχάνεται με ανάμειξη και διαίρεση για να ληφθεί ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα (Καν. ΕΚ 691/2013) (Turner et al. 2015). Η ανίχνευση μυκοτοξινών γίνεται συνήθως με τη συλλογή και την εξέταση δειγμάτων τροφής ή ζωοτροφών. Τα δείγματα θα πρέπει να λαμβάνονται τυχαία από ολόκληρη την παρτίδα και θα πρέπει να συλλέγονται από διαφορετικές τοποθεσίες εντός της παρτίδας (Turner et al. 2015). Το μέγεθος του δείγματος που απαιτείται εξαρτάται από το μέγεθος της παρτίδας, αλλά θα πρέπει να συλλέγονται τουλάχιστον 500g χρησιμοποιώντας καθαρό και σωστά αποστειρωμένο εξοπλισμό δειγματοληψίας για την αποφυγή μόλυνσης (ΚΑΝ (ΕΚ) Νο 401/2006). Τα δείγματα πρέπει να φυλάσσονται σε αεροστεγείς περιέκτες, στην κατάλληλη θερμοκρασία και υγρασία και να μεταφέρονται στο εργαστήριο όσο το δυνατόν γρηγορότερα για να αποφευχθεί η αποικοδόμηση της μυκοτοξίνης (Καν. ΕΚ 401/2006). Ο στόχος της προετοιμασίας του δείγματος είναι η δημιουργία ενός

αντιπροσωπευτικού και καθαρού δείγματος που μπορεί να αναλυθεί με ακρίβεια με την επιλεγμένη αναλυτική τεχνική. Τα συγκεκριμένα βήματα που περιλαμβάνονται στην προετοιμασία του δείγματος εξαρτώνται από τον τύπο του δείγματος και την αναλυτική τεχνική που χρησιμοποιείται. Για να αποκτηθεί ένα δείγμα έτοιμο προς ανάλυση, το δείγμα πρέπει να αλεσθεί, να ομογενοποιηθεί και να υποβληθεί σε υποδειγματοληψία. Η προετοιμασία του δείγματος είναι ένα σημαντικό βήμα στις αναλυτικές τεχνικές γιατί μπορεί να επηρεάσει σημαντικά την ακρίβεια και την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων.

1.5.2 Σφάλμα δειγματοληψίας

Τα σφάλματα δειγματοληψίας μπορούν να προκύψουν με διάφορους τρόπους και μπορούν να επηρεάσουν σε μεγάλο βαθμό την ακρίβεια και την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων. Τα δειγματοληπτικά σφάλματα στην ανίχνευση μυκοτοξινών αναφέρονται στη δυνατότητα μεταβλητότητας των αποτελεσμάτων του τεστ μυκοτοξίνης λόγω της συλλογής και προετοιμασίας του δείγματος (Turner et al. 2009). Τέτοια σφάλματα μπορεί επίσης να συμβούν όταν ένα δείγμα δεν είναι αντιπροσωπευτικό ολόκληρης της παρτίδας ή όταν το δείγμα έχει μολυνθεί κατά τη συλλογή ή το χειρισμό (Whitaker et al. 2003).

Για να ελαχιστοποιηθεί το σφάλμα δειγματοληψίας, είναι σημαντικό να ακολουθούνται οι κατάλληλες διαδικασίες δειγματοληψίας, συμπεριλαμβανομένης της επιλογής πολλαπλών δειγμάτων από διαφορετικές τοποθεσίες εντός της παρτίδας και χρησιμοποιώντας κατάλληλα εργαλεία και τεχνικές δειγματοληψίας (Miraglia et al. 2005). Επιπλέον, τα δείγματα θα πρέπει να αποθηκεύονται και να προετοιμάζονται κατάλληλα σύμφωνα με τα καθιερωμένα πρωτόκολλα. Μέτρα ποιοτικού ελέγχου θα πρέπει να εφαρμόζονται για να διασφαλίζεται η ακρίβεια και η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων των δοκιμών (Krska et al. 2005).

1.5.3 Μέθοδοι προσδιορισμού μυκοτοξινών

Ο προσδιορισμός των μυκοτοξινών απαιτεί τη χρήση εξειδικευμένων μεθόδων ανάλυσης. Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό αυτών των επικίνδυνων ενώσεων. Ορισμένες από τις κύριες μεθόδους προσδιορισμού μυκοτοξινών περιλαμβάνουν:

1.5.3.1 Χρωματογραφικές Μέθοδοι Ενόργανης Ανάλυσης

Η χρωματογραφία είναι μια κοινή μέθοδος που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό μυκοτοξινών. Περιλαμβάνει τη διαχώριση των μυκοτοξινών από τα άλλα συστατικά του δείγματος με βάση τη χημική τους δομή και τη συγκέντρωση.

Οι μέθοδοι που βασίζονται στη χρωματογραφία περιλαμβάνουν υγρή χρωματογραφία (LC) ή αέρια χρωματογραφία (GC) που συνδέεται με υπεριώδη ακτινοβολία (UV), φασματομετρία μάζας (MS) ή φθορισμό (FLD). Η μέθοδος MS έχει πολλά πλεονεκτήματα όπως υψηλή ευαισθησία, επιλεκτικότητα και ακρίβεια, σε σύγκριση με άλλες μεθόδους. (Krska et al. 2008).

1.5.3.2 Ανοσολογικές Μέθοδοι (Enzyme-linked Immunosorbent Assay-ELISA)

Η ELISA και οι ανοσοαισθητήρες είναι ανοσοχημική μέθοδος ανίχνευσης που βασίζονται κυρίως στη δέσμευση αντισώματος-αντιγόνου (Li et al. 2009). Αντισώματα και αντιγόνα ανήκουν σε μερικούς από τους πιο συχνά χρησιμοποιούμενους παράγοντες σύλληψης σε ανοσοπροσδιορισμούς για διαχείριση ασθενειών, περιβαλλοντική παρακολούθηση και ρύθμιση ασφάλειας τροφίμων.

Οι ανοσοπροσοφνητικές αναλύσεις και οι ανοσοαισθητήρες απαιτούν απλούστερη προεπεξεργασία δείγματος σε σύγκριση με αυτά που απαιτούνται για τις χρωματογραφικές μεθόδους και έχουν τα πλεονεκτήματα της υψηλής απόδοσης και καλής εξειδίκευσης, ωστόσο, τα αποτελέσματα ανίχνευσης πρέπει να εξακολουθούν να παράγονται από όργανα. Ωστόσο, σύμφωνα με την ίδια διαδικασία προεπεξεργασίας δείγματος, οι δοκιμές ELISA είναι πιο επιρρεπείς σε περισσότερα σφάλματα λόγω της επαναλαμβανόμενης διαδικασίας λειτουργίας (Li et al. 2018).

1.5.3.3 Βιοαισθητήρες

Οι βιοαισθητήρες αποτελούνται από διάφορα στοιχεία και ο μετατροπέας είναι απαραίτητος για τη σύνδεση αυτών των τμημάτων, ο οποίος μετασχηματίζει τις παρατηρούμενες φυσικές ή χημικές αλλαγές σε ένα μετρήσιμο σήμα. Ανάλογα με το μηχανισμό της μετάδοσης του τμήματος και τα εφαρμοσμένα στοιχεία αναγνώρισης, υπάρχουν τρεις κατηγορίες βιοαισθητήρων: οπτικοί, ηλεκτροχημικοί και πιεζοηλεκτρικοί. Οι ανοσοαισθητήρες είναι από τους πιο συνηθισμένους που χρησιμοποιούν αναλυτικές μεθόδους για την ανίχνευση μυκοτοξινών. Επισημασμένοι

και χωρίς ετικέτα ανοσοαισθητήρες σε συνδυασμό με διαφορετικούς μετατροπείς έχουν αναπτυχθεί σημαντικά για την αξιολόγηση μυκοτοξινών (Majer-Baranyi et al. 2021, Li et al. 2021).

1.5.3.4 Φασματοσκοπικές Μέθοδοι FT-NIR

Οι μέθοδοι που βασίζονται στην υπέρυθρη φασματοσκοπία (IR) είναι οι πιο ελπιδοφόρες για την ανίχνευση μυκοτοξινών, καθώς απαιτούν μικρά δείγματα και περιορισμένη τεχνική εμπειρογνωμοσύνη. Εξάλλου, τέτοιες τεχνικές είναι φθηνές και δεν χρειάζονται προεπεξεργασία δείγματος. Ο εντοπισμός της μόλυνσης από μυκοτοξίνες στις καλλιέργειες πραγματοποιείται συνήθως χρησιμοποιώντας φασματοσκοπικές τεχνικές (McMullin et al. 2015).

Η φασματοσκοπία μεσαίου υπέρυθρου (MIR) καθορίζεται για μοριακές δονήσεις, ενώ η τυπική φασματοσκοπία NIR καθορίζει τους μοριακούς τόνους και τις συνδυασμένες δονήσεις των χημικών δεσμών. Όλα τα φάσματα που παράγονται από τους τόνους και τις μικτές δονήσεις που εμφανίζονται στην περιοχή NIR είναι πρόκληση για την αποκρυπτογράφηση για συγκεκριμένα συστατικά που υπάρχουν σε ένα δείγμα (Pojić et al. 2013). Η χημειομετρία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για άμεση εξαγωγή πληροφοριών από τα δεδομένα, η οποία απαιτεί την αναγκαιότητα μαθηματικής επεξεργασίας για την εξαγωγή χημικών και συνδεδεμένων πληροφοριών στην αξιολόγηση των φασμάτων NIR και MIR. Τρεις φάσεις εμπλέκονται συχνά στη NIR ή στη MIR φασματοσκοπία με χρήση χημειομετρίας: φασματική προεπεξεργασία, κατασκευή πολυμεταβλητού μοντέλου για βαθμονόμηση και η μεταφορά του μοντέλου (Pojić et al. 2013).

Η φασματοσκοπία NIR χρησιμοποιείται για την ταχεία αναγνώριση ZEN σε κόκκους σίτου (Ning et al. 2022). Συνολικά FBs (FB1 + FB2) και ZEN στον αραβόσιτο της Βραζιλίας έχουν επίσης μετρηθεί χρησιμοποιώντας NIR (Tyska et al. 2021).

Η χρήση της φασματοσκοπίας εγγύς υπέρυθρου (NIR) για τον προσδιορισμό μυκοτοξινών προσφέρει αρκετά πλεονεκτήματα:

Γρήγορη και μη καταστρεπτική τεχνική: Η FT-NIR είναι μια μη καταστρεπτική τεχνική, που σημαίνει ότι τα δείγματα δεν πρέπει να υποβληθούν σε καταστρεπτική επεξεργασία πριν από τη μέτρηση. Αυτό εξασφαλίζει την ακεραιότητα των δειγμάτων και επιτρέπει την ταχεία ανάλυση (Shun Zhang et al. 2022)

Πολυπλοκότητα Επικάλυψης: Περισσότερες από μια μυκοτοξίνες μπορεί να υπάρχουν σε δείγματα. Η FT-NIR μπορεί να ανιχνεύσει την παρουσία πολλών συστατικών σε ένα δείγμα, χωρίς να απαιτεί απομόνωση των μυκοτοξινών. (Shun Zhang et al. 2022)

Γενική πρόσβαση: Ο εξοπλισμός FT-NIR είναι περισσότερο προσβάσιμος σε σχέση με άλλους πιο εξειδικευμένους εξοπλισμούς, όπως η χρωματογραφία μάζας. Αυτό σημαίνει ότι μπορεί να είναι πιο διαθέσιμος για μεγαλύτερο αριθμό εργαστηρίων. (Shun Zhang et al. 2022)

Αυτοματοποιημένη μέτρηση: Η μέτρηση με χρήση FT-NIR μπορεί να είναι αυτοματοποιημένη, επιτρέποντας την γρήγορη ανάλυση μεγάλων ποσοτήτων δειγμάτων. (Shun Zhang et al. 2022)

Στατιστική Ανάλυση: Η FT-NIR παρέχει πλούσια δεδομένα που επιτρέπουν τη στατιστική ανάλυση και την ανάπτυξη προγνωστικών μοντέλων για τον προσδιορισμό μυκοτοξινών. Επίσης, η NIR είναι περισσότερο κατάλληλη για την προσδιορισμό μυκοτοξινών σε συγκεκριμένα δείγματα τροφίμων, ενώ άλλες μέθοδοι μπορεί να είναι πιο ευέλικτες. (Li et al. 2021)

1.5.3.5 Επιλογή μεθόδου

Κάθε μέθοδος έχει τα πλεονεκτήματά της, και η επιλογή της κατάλληλης μεθόδου εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των εξής:

Τύπος και ποικιλία της μυκοτοξίνης: Διάφορες μυκοτοξίνες απαιτούν διαφορετικές μεθόδους ανίχνευσης (Shun Zhang et al. 2022)

Απαιτούμενη ακρίβεια: Ορισμένες μέθοδοι είναι πιο ακριβείς από άλλες. Εάν απαιτείται υψηλή ακρίβεια στον προσδιορισμό, τότε οι μέθοδοι μάζας (LC-MS/MS) θεωρούνται πολύ αποτελεσματικές (Shun Zhang et al. 2022)

Κόστος: Οι διάφορες μέθοδοι έχουν διάφορο κόστος, και αυτό μπορεί να επηρεάσει την επιλογή. Οι μέθοδοι βιολογικής ανίχνευσης μπορεί να είναι πιο ακριβές από τις χρωματογραφικές μεθόδους (Shun Zhang et al. 2022)

Διαθεσιμότητα εξοπλισμού και εμπειρογνωμοσύνη: Η επιλογή της μεθόδου εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα του αναγκαίου εξοπλισμού και την εμπειρογνωμοσύνη των ανθρώπων που θα εκτελέσουν τις αναλύσεις (Shun Zhang et al. 2022)

Αναμενόμενος χρόνος ανάλυσης: Ορισμένες μέθοδοι απαιτούν περισσότερο χρόνο για την ανάλυση από άλλες. Εάν χρειάζονται πιο γρήγορα αποτελέσματα, μπορεί να επιλεγθούν πιο γρήγορες μεθόδους.

Η επιλογή της καλύτερης μεθόδου εξαρτάται, λοιπόν, από τις συγκεκριμένες ανάγκες και περιορισμούς του κάθε περιβάλλοντος. Συνήθως, οι χρωματογραφικές μέθοδοι θεωρούνται από τις πιο αξιόπιστες, αλλά μπορεί να απαιτούν περισσότερο χρόνο και κόστος. (Shun Zhang et al. 2022)

1.6 Επιπτώσεις της ύπαρξης των μυκοτοξινών στις ιχθυοτροφές

Τα ψάρια αποτελούν πηγή πρωτεϊνών και άλλων βασικών θρεπτικών συστατικών και, κατά συνέπεια, είναι ζωτικής σημασίας συστατικό της ανθρώπινης διατροφής. Σε σύγκριση με το κρέας από χερσαία ζώα, τα ψάρια έχουν υψηλότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και απαραίτητα αμινοξέα, σε ωμέγα-3 λιπαρά οξέα, σε βιταμίνες και στα περισσότερα βασικά μέταλλα και ιχνοστοιχεία, που συνήθως λείπουν από άλλα προϊόντα κρέατος (Tacon et al. 2013). Επιπλέον, έχουν συσχετιστεί πολλά οφέλη για την υγεία ακόμη και με μέτρια κατανάλωση ψαριών. Επιπρόσθετα με τις άλλες επιδράσεις (Kundam et al. 2018), έχει συσχετιστεί μια προστατευτική επίδραση κατά του καρκίνου (Norat et al. 2005) και των καρδιαγγειακών παθήσεων (Hengeveld et al. 2018), οι οποίες είναι οι δύο πιο κύριες αιτίες θανάτου στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης (OECD European Union 2018).

Σε περίπου 50 χρόνια, η παγκόσμια κατά κεφαλήν κατανάλωση θαλασσινών έχει υπερδιπλασιαστεί, μετατρέποντας το 9,0 kg το 1961 σε 20,2 κιλά το 2015 (FAO 2018). Αν και διάφοροι παράγοντες όπως η τιμή των ψαριών ή η θρησκεία μπορεί να παίζουν ρόλο σε διαφορετικές χώρες, αυτή η αύξηση αποδόθηκε κυρίως στην ταχεία αύξηση του πληθυσμού και στη βελτίωση του εισοδήματος σε ορισμένες αναπτυσσόμενες χώρες, καθώς και σε αλλαγές στα διατροφικά πρότυπα για την υγεία και τη βιωσιμότητα στις ανεπτυγμένες χώρες (Supartini et al. 2018).

Το κύριο μειονέκτημα της χρήσης φυτικών συστατικών στις ιχθυοτροφές είναι ότι έχουν υψηλή σύνθεση αντιδιατροφικών παραγόντων. Αυτά τα αντιθρεπτικά συστατικά επηρεάζουν δυσμενώς την πεπτική καθώς και τη μεταβολική δραστηριότητα

του ζώου, οδηγώντας σε ποικίλες αρνητικές επιπτώσεις για την υγεία του (Puri et al. 2019, Chakraborty et al. 2019).

Επιπλέον, οι μυκοτοξίνες εντοπίζονται πολύ συχνά στα φυτά. Το 25% των παγκόσμιων καλλιεργειών τροφίμων έχουν μολυνθεί από αυτές τις τοξίνες, αν και ο αριθμός ποικίλλει και εξαρτάται ευρέως από πολλούς παράγοντες (π.χ. εμπόρευμα που αναλύθηκε, μυκοτοξίνη που μελετήθηκε κ.λπ.) και μπορεί φθάνουν στην πραγματικότητα το 60,0% έως 80,0% για ορισμένες μυκοτοξίνες (Eskola et al. 2019).

Οι τοξινογόνοι μύκητες μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε δύο ομάδες: μύκητες αγρού (π.χ. *Fusarium spp.*), οι οποίοι αποκτούν πρόσβαση στην καλλιέργεια κατά την ανάπτυξη του φυτού ή σε μύκητες αποθήκευσης (π.χ. *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*) που μολύνουν κυρίως την καλλιέργεια μετά τη συγκομιδή (Puri et al. 2019). Η ανίχνευση αυτών των μυκήτων στις ζωοτροφές ή στις πρώτες ύλες τους δεν σημαίνει απαραίτητα ότι θα μολυνθούν από μυκοτοξίνες.

Διάφοροι παράγοντες όπως το στέλεχος που ανιχνεύεται, η σύνθεση του υποστρώματος, η περιεκτικότητα σε υγρασία, ο αερισμός, οι θερμοκρασίες και άλλες συνθήκες αποθήκευσης επηρεάζουν την παραγωγή αυτών των τοξικών μεταβολιτών, αν και γενικά οι ζεστές και υγρές συνθήκες είναι οι δύο κύριοι παράγοντες που οδηγούν στην ανάπτυξη μυκήτων και την παραγωγή τοξίνης (Saad et al. 2016).

Η μόλυνση από μυκοτοξίνες μπορεί να οδηγήσει σε υποβάθμιση και μείωση της θρεπτικής αξίας των συστατικών ή/και της παραγόμενης ιχθυοτροφής, αλλά μπορεί επίσης να αποτελεί σημαντικό κίνδυνο για την υγεία τόσο των ψαριών όσο και των ανθρώπων. Όταν οι μυκοτοξίνες καταπίνονται από τα ψάρια, μπορεί όχι μόνο να επηρεάσουν την ευεξία του ζώου, αλλά μπορεί επίσης να περάσουν μέσω της τροφικής αλυσίδας στον καταναλωτή και να προκαλέσουν σοβαρές επιπτώσεις στην υγεία. Η μυκοτοξίκωση είναι δηλητηρίαση που εμφανίζεται σε ζώα και ανθρώπους ως συνέπεια της πρόσληψης στον οργανισμό μιας ή περισσότερων μυκοτοξινών (Krogh, P. 1969) και η οποία μπορεί να οδηγήσει σε ασθένεια ή θάνατο. Η κύρια επιβάρυνση για την υγεία από την έκθεση σε μυκοτοξίνες σχετίζεται με τη χρόνια τοξικότητά της (Bennett et al. 2003). Χρόνια μυκοτοξίκωση οδηγεί σε ανεπιθύμητες ενέργειες που εκδηλώνονται μετά από μακροχρόνια έκθεση σε χαμηλή δόση μυκοτοξίνης (π.χ. πρόκληση καρκίνου, μειωμένη ανάπτυξη, δυσλειτουργία του ανοσοποιητικού κ.λπ.), ενώ η οξεία μυκοτοξίκωση εκδηλώνεται γρήγορα μετά από έκθεση σε μεγάλη ποσότητα μυκοτοξίνης

(Williams et al. 2000). Τα συμπτώματα μιας μυκοτοξίκωσης εξαρτώνται από τον τύπο της μυκοτοξίνης, την ποσότητα και τη διάρκεια της έκθεσης και την ηλικία, την υγεία και το φύλο του εκτεθειμένου ατόμου, συμπεριλαμβανομένου και θεμάτων που αφορούν τη γενετική, τη διατροφική κατάσταση και την αλληλεπίδραση με άλλες τοξικές ενώσεις (Bennett et al. 2003) .

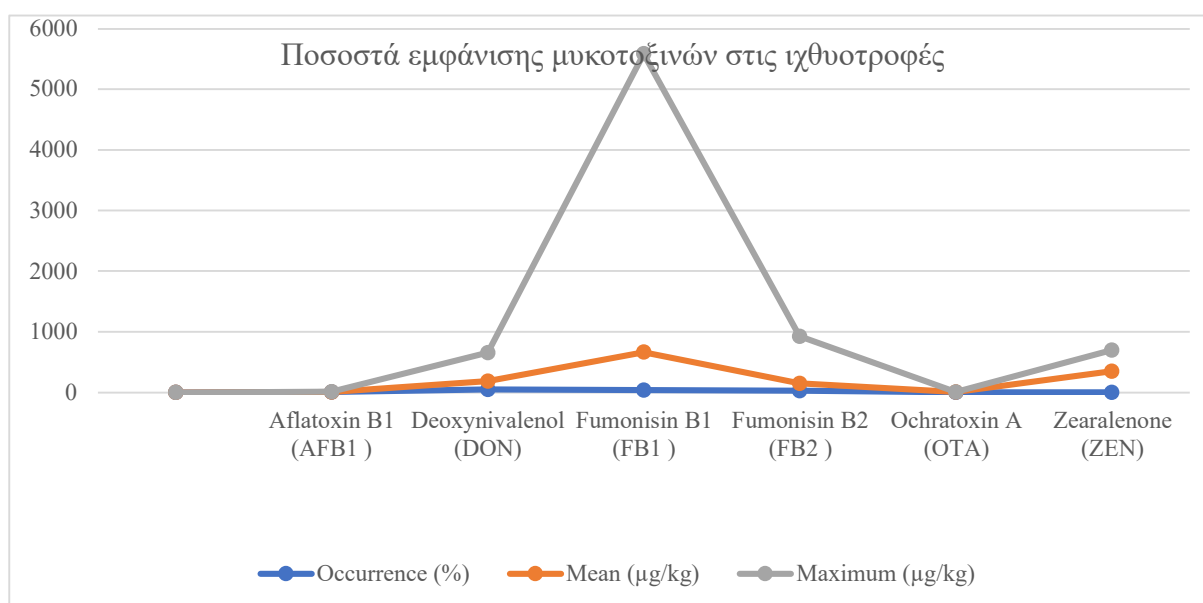
1.6.1 Μόλυνση ιχθυοτροφών με μυκοτοξίνες

Έρευνα των Koletsi et al. 2021 μελέτησε την παρουσία μυκοτοξινών στις ιχθυοτροφές. Όλα τα δείγματα που αναλύθηκαν (44 δείγματα) ήταν μολυσμένα με τουλάχιστον μια μυκοτοξίνη. Συνολικά 75 % των δειγμάτων περιείχε περισσότερες από μια μυκοτοξίνες ταυτόχρονα. Οι πιο αντιπροσωπευτικές μυκοτοξίνες ανήκαν στο γκρουπ *Fusarium*. Οι πιο κοινές μυκοτοξίνες που βρέθηκαν παρατίθενται στον Πίνακα 2 και Εικόνα 1.1.

Πίνακας 2. Mycotoxins occurrence in aquafeed samples (n = 44).

Mycotoxin	Occurrence (%)	Mean (μg/kg)	Maximum (μg/kg)
Aflatoxin B1 (AFB1)	5	2	4
Deoxynivalenol (DON)	48	136	469
Fumonisin B1 (FB1)	36	628	4923
Fumonisin B2 (FB2)	27	120	778
Ochratoxin A (OTA)	2	3	3
Zearalenone (ZEN)	2	348	348

Mean and maximum values were calculated for the positive samples (Koletsi et al. 2021)



Εικόνα 1.1.

Τα στοιχεία αυτά επιβεβαιώνουν τη γενική παρατήρηση ότι δείγματα ζωοτροφών συχνά περιέχουν πολλαπλές μυκοτοξίνες (75-100%), ιδιαίτερα όταν περισσότερα από ένα φυτικά συστατικά περιλαμβάνεται στην ζωοτροφή (Koletsis et al. 2021).

Η μόλυνση των καλλιεργειών με μυκοτοξίνες μπορεί να συμβεί πριν από τη συγκομιδή, ή μετά τη συγκομιδή ή κατά την αποθήκευση σε ακατάλληλες συνθήκες που ευνοούν την παραγωγή μυκοτοξίνης, δηλαδή όταν η θερμοκρασία και η δραστηριότητα του νερού αυξάνονται σε επίπεδα που θα επιτρέψουν τις βέλτιστες συνθήκες για την ανάπτυξη μυκήτων και την παραγωγή μυκοτοξινών (Saad et al. 2016). Μόλις ένα συστατικό ή η έτοιμη ζωοτροφή μολυνθεί, δεν υπάρχουν αυτή τη στιγμή διαθέσιμες μεθοδολογίες για την εξάλειψη των μυκοτοξινών. Ωστόσο, διαφορετικές μέθοδοι επεξεργασίας μπορεί να βοηθήσουν στη μείωση των συγκεντρώσεων μυκοτοξινών, ιδιαίτερα αυτών που χρησιμοποιούν υψηλότερες θερμοκρασίες (Bullerman et al. 2007).

Η τάση χρήσης φυτικών υλικών στις ιχθυοτροφές φαίνεται να αυξάνεται (Froehlich et al. 2018). Ωστόσο, η επιμόλυνση αυτών των συστατικών με δυνητικά μυκοτοξινογόνους μύκητες, ιδιαίτερα με *Aspergillus flavus* και *Aspergillus parasiticus*, είναι συχνή και εμφανίζεται σχεδόν παντού (Marijani et al. 2019). Στη Σερβία, η ζεαραλενόνη, η ωχρατοξίνη Α και η αφλατοξίνη Β1 ανιχνεύθηκαν σε καλαμπόκι, σιτάρι και κριθάρι που προορίζονταν για παραγωγή ιχθυοτροφών. Στη μελέτη που έγινε, καταγράφηκαν ιδιαίτερα υψηλά επίπεδα ζεαραλενόνης στο καλαμπόκι (μέση τιμή 5,3 mg/kg) (Jakic-Dimic et al. 2005). Σε Βραζιλία, η αφλατοξίνη Β1 ανιχνεύθηκε, αν και σε χαμηλές δόσεις (1,1 µg/kg έως 7,4 µg/kg), σε δείγματα πίτουρου σόγιας, πίτουρο καλαμποκιού και άλλων δημητριακών για ιχθυοκαλλιέργειες (Gonçalves-Nunes et al. 2015). Η Αφλατοξίνη Β1 (1,0 έως 135,0 µg/kg), μαζί με φουμονισίνες (261,0 έως 2420,0 µg/kg), ανιχνεύθηκαν επίσης με υψηλή συχνότητα στη Μαλαισία, σε δείγματα καλαμποκιού που προορίζονται για την παρασκευή ζωοτροφών (Reddy et al. 2011). Στην Πορτογαλία, η αφλατοξίνη Β1 ανιχνεύθηκε σε μια σειρά από συγκεντρώσεις μεταξύ 1,0 και 45,0 µg/kg σε όλα τα δείγματα ζωοτροφών, π.χ. σόγια, ρύζι, καλαμπόκι, σιτάρι και κριθάρι που αναλύθηκαν (Martins et al. 2008). Επιπλέον, σε μελέτες που έγιναν, βρέθηκε δεσοξυνιβαλενόλη (100,0 έως 500,0 µg/kg) και φουμονισίνη Β1 (10 έως 40 µg/kg) σε ρύζι, καλαμπόκι, σιτάρι και κριθάρι (Martins et al. 2008).

Οι μυκοτοξίνες που περιγράφηκαν παραπάνω και οι οποίες ανιχνεύθηκαν στα συστατικά των ζωοτροφών έχουν ανιχνευθεί στο παρελθόν και σε έτοιμες ιχθυοτροφές. Στη Βραζιλία, η αφλατοξίνη B1 ανιχνεύθηκε σε μέση συγκέντρωση 3,8 µg/kg (από 1,6 έως 9,8 µg/kg) (Gonçalves-Nunes et al. 2015). Ανιχνεύτηκε επίσης σε μέσα επίπεδα 1,40 µg/g, μαζί με φουμονισίνες (μέση τιμή, 1,60 µg/g), σε εμπορικές ζωοτροφές (Hashimoto et al. 2003). Σε αυτή τη χώρα, υπήρξε επίσης υψηλή συχνότητα εμφάνισης φουμονισίνης B1 σε τοπικά παραγόμενες έτοιμες ζωοτροφές που προορίζονται για την τιλάπια του Νείλου, σε μέσα επίπεδα 2,6 µg/g. Ανιχνεύθηκαν επίσης η αφλατοξίνη B1 και η ωχρατοξίνη A (Barbosa et al. 2013). Στη Νιγηρία, η αφλατοξίνη B1 ανιχνεύθηκε στο 92,0% των τοπικά παρασκευασμένων ιχθυοτροφών σε επίπεδα έως και 550,8 µg/g (Momodu Foluke et al. 2016). Αυτή η τοξίνη βρέθηκε επίσης στο 23,3% των δειγμάτων ιχθυοτροφών που αναλύθηκαν στην Αίγυπτο, μαζί με την ωχρατοξίνη A (Kholife et al. 2019). Στη Βαγδάτη, η δεσοξυνιβαλενόλη ανιχνεύθηκε σε εύρος συγκεντρώσεων από 2,0 έως 5,0 mg/kg, ενώ η ζεαραλενόνη ανιχνεύτηκε σε συγκεντρώσεις 0,5-5,0 mg/kg (Abdual-Shahid et al. 2013). Στην Κένυα, ανιχνεύθηκαν αφλατοξίνες στο 84,0% των δειγμάτων ιχθυοτροφών, σε μέση συγκέντρωση 7,0 µg/kg (1,8 έως 39,7 µg/kg) (Pinotti et al. 2016). Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι οι μυκοτοξίνες βρίσκονται πιο συχνά και σε υψηλότερες συγκεντρώσεις στις ζωοτροφές που παρασκευάζονται στο χωράφι από ό,τι σε εμπορικές ζωοτροφές (Mwihia et al. 2018). Δεδομένου ότι οι αγροτικές ζωοτροφές στο χωράφι παρασκευάζονται πιο συχνά στις αναπτυσσόμενες χώρες, αυτό μπορεί να συμβάλει στο λόγο που η μόλυνση από μυκοτοξίνες είναι συχνότερη στις αναπτυσσόμενες χώρες.

Συνολικά, η μόλυνση των ιχθυοτροφών με μυκοτοξίνες φαίνεται να είναι κοινό και παγκόσμιο πρόβλημα, αλλά ο τύπος και ο επιπολασμός της μόλυνσης από μυκοτοξίνες στις ζωοτροφές φαίνεται να εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη γεωγραφική περιοχή. Οι αφλατοξίνες ανιχνεύονται συχνότερα στη Νότια Ευρώπη, την Αφρική, τη Νότια Ασία και τη Νοτιοανατολική Ασία, η δεσοξυνιβαλενόλη είναι πιο συχνή στη Βόρεια Αμερική, τη Βόρεια και Κεντρική Ευρώπη, Αφρική και Βόρεια Ασία, η μόλυνση από ζεαραλενόνη έχει υψηλότερη συχνότητα στη Βόρεια και Νότια Αμερική, στην Κεντρική Ευρώπη, την Αφρική και τη Βόρεια και Νοτιοανατολική Ασία. Υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης φουμονισίνης παρατηρήθηκε στη Νότια Αμερική, τη Νότια Ευρώπη, την Αφρική, τη Βόρεια, Νότια και Νοτιοανατολική Ασία και η ωχρατοξίνη A

ήταν περισσότερο επικρατέστερη στη Νότια Ασία και την Αφρική (Pinotti et al. 2016) . Σύμφωνα με τις έρευνες, η μόλυνση από πολλές τοξίνες ήταν πιο διαδεδομένη στην Ασία παρά στην Ευρώπη ή την Αμερική. Αυτές οι διαφορές μπορεί να οφείλονται στο κλίμα κάθε χώρας, στον τύπο των δειγμάτων που αναλύθηκαν ή στη μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε για προσδιορισμό των μυκοτοξινών καθώς επίσης και από άλλους παράγοντες.

Λαμβάνοντας υπόψη την υψηλή συχνότητα μόλυνσης από μυκοτοξίνες στις καλλιέργειες και επειδή η μόλυνση από μυκοτοξίνες θα γίνει πιο εμφανής λόγω της κλιματικής αλλαγής (Moretti et al. 2019), είναι σημαντικό να διερωτάται κανείς εάν η επισιτιστική ασφάλεια, αλλά και η δημόσια υγεία, κινδυνεύουν.

Επιπρόσθετα θα πρέπει να ληφθούν υπόψη και οι καλυμμένες μυκοτοξίνες, και είναι σημαντικό να σημειωθεί η ύπαρξή τους, καθώς είναι επίσης σημαντικοί μολυσματικοί παράγοντες φυτικών συστατικών. Οι καλυμμένες μυκοτοξίνες είναι παράγωγα μυκοτοξινών που δεν μπορούν να ανιχνευθούν με συμβατικές αναλυτικές τεχνικές (π.χ. υγρή χρωματογραφία HPLC ή ELISA) επειδή η χημική τους δομή έχει αλλοιωθεί από τα φυτικά ένζυμα που εμπλέκονται στους αμυντικούς μηχανισμούς τους κατά των ξеноβιοτικών (Berthiller et al. 2013). Αν και τα δεδομένα σχετικά με τις τοξικές τους επιδράσεις είναι σπάνια, αρκετές μελέτες τονίζουν πιθανή απειλή τους για την ασφάλεια των καταναλωτών (Paris et al. 2014).

1.6.1.1 Οι αφλατοξίνες

Οι αφλατοξίνες ήταν οι πρώτες μυκοτοξίνες που ανακαλύφθηκαν, μετά από μια περίπτωση οξείας αφλατοξίκωσης («νόσος των γαλοπούλων») που οδήγησε στο θάνατο περίπου 100.000 γαλοπούλες στην δεκαετία του 1960 (Richard et al. 2008). Αυτή τη στιγμή, από όλες τις μυκοτοξίνες, οι αφλατοξίνες είναι οι πιο μελετημένες και οι καλύτερα χαρακτηρισμένες.

Οι πιο σημαντικές αφλατοξίνες στις καλλιέργειες είναι οι αφλατοξίνες B1, B2, G1 και G2. Αυτές οι τοξίνες παράγονται κυρίως από το *A. flavus* (μόνο αφλατοξίνες τύπου B), αλλά και το *A. parasiticus* και, σπανιότερα, το *Aspergillus nomius* μπορούν επίσης να τις συνθέσουν. Άλλοι νηματοειδείς μύκητες των γενών *Penicillium*, *Rhizopus*, *Mucor* και οι *Streptomyces* είναι επίσης παραγωγοί αφλατοξινών (Agag 2004).

Μια μεγάλη ποικιλία ζωοτροφών (καλαμπόκι, σιτάρι, βαμβακόσπορος, ξηροί καρποί, και διάφοροι άλλοι) (Council for Agricultural Science and Technology 2003) μπορεί να μολυνθούν με αφλατοξίνες. Ωστόσο, οι κύριες πηγές αυτών των τοξινών στις ζωοτροφές είναι το αραχιδάλευρο, το καλαμπόκι και ο βαμβακόσπορος (FAO 2001). Η μόλυνση μπορεί να συμβεί τόσο πριν όσο και μετά τη συγκομιδή και είναι ιδιαίτερα συχνή εάν τα φυτά βρίσκονται υπό στρες, δηλαδή κατά τη διάρκεια υψηλής ζέστης και ξηρασίας ή μετά από προσβολή από έντομα. Μετά τη μόλυνση με μύκητες που παράγουν αφλατοξίνες, η ακατάλληλη αποθήκευση μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή αφλατοξινών. Η σύνθεση αυτών των μυκητιακών μεταβολιτών αυξάνεται όταν η ζωοτροφή υποβάλλεται σε θερμοκρασίες πάνω από 27,0 C, τα επίπεδα υγρασίας είναι πάνω από 62,0% και η υγρασία στην τροφή μεγαλύτερη από 14,0% (Russo et al. 2013).

Έχουν οριστεί σε διαφορετικές χώρες κανονισμοί σχετικά με τα μέγιστα επίπεδα μυκοτοξινών που μπορεί να υπάρχουν στα τρόφιμα και ζωοτροφές (Agag 2004).

Σύμφωνα με αυτούς, όλα τα δημητριακά και τα προϊόντα που παράγονται από αυτά πρέπει να έχουν λιγότερο από 2,0 µg/kg αφλατοξίνης B1, ενώ στον αραβόσιτο και το ρύζι αυτό το όριο δεν μπορεί να υπερβαίνει τα 5,0 µg/kg. Όσον αφορά το άθροισμα των αφλατοξινών B1, B2, G1 και G2, όλα τα δημητριακά και τα προϊόντα που παράγονται από αυτά δεν πρέπει να έχουν συγκέντρωση πάνω από 4,0 µg/kg, ενώ για τον επεξεργασμένο αραβόσιτο και το ρύζι το όριο είναι 10,0 g/kg (Καν. ΕΚ 1881/2006). Το μέγιστο επίπεδο αφλατοξίνης B1 σε όλες τις πρώτες ύλες ζωοτροφών είναι 0,02 mg/kg και σε πλήρεις ζωοτροφές (εκτός από τη διατροφή βοοειδών, προβάτων, κατσικιών, γαλακτοπαραγωγών ζώων, μόσχων, αρνιών, χοίρων και πουλερικά, δηλαδή ιχθυοτροφή) είναι 0,01 mg/kg (Οδηγία 2002/32/EK).

Η αφλατοξίνη B1 είναι η πιο ηπατοκαρκινογόνος φυσική ουσία που είναι γνωστή στον άνθρωπο. Συνολικά, η έκθεση στην αφλατοξίνη B1 οδηγεί σε κακή ανάπτυξη, αναιμία, μειωμένη πήξη του αίματος, ευαισθησία σε μώλωπες, βλάβη στο ήπαρ και άλλα όργανα, μειωμένη ανοσολογική ανταπόκριση με αποτέλεσμα την αυξημένη ευπάθεια σε βακτήρια, ιογενείς ή παρασιτικές λοιμώξεις και αυξημένη θνησιμότητα (Marijani et al. 2019).

1.6.1.2 Επιδράσεις στα ψάρια

Τα κλινικά σημεία που σχετίζονται με την αφλατοξίκωση στα ψάρια περιλαμβάνουν ωχρά βράγχια, μειωμένη πήξη του αίματος, φτωχούς ρυθμούς ανάπτυξης και μειωμένη αύξηση βάρους (Agag 2004). Ορατά σημάδια σοβαρής λοίμωξης μπορεί να είναι το μειωμένο ποσοστό επιβίωσης, σκουρόχρωμο/κιτρίνισμα του σώματος και ανώμαλη συμπεριφορά, όπως παρατηρείται στην τιλάπια του Νείλου και σε νεαρούς οξύρρυγχους (Marijani et al. 2019).

Η ευαισθησία των ψαριών στις αφλατοξίνες εξαρτάται από την ηλικία και το είδος, δηλαδή οι γόνοι είναι πιο ευαίσθητοι από τα ηλικιωμένα ψάρια και ορισμένα είδη είναι πιο ευαίσθητα από άλλα (Russo et al. 2013). Η ιριδίζουσα πέστροφα είναι το πιο ευαίσθητο είδος ψαριού στις αφλατοξίνες. Χρόνια έκθεση σε χαμηλά επίπεδα αυτής της τοξίνης (τόσο χαμηλά όπως 0,0004 mg/kg) έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει τις πιθανότητες εμφάνισης νεοπλασίας στην ιριδίζουσα πέστροφα (Mwihia et al. 2018).

Όταν αυτά τα ψάρια έλαβαν ιχθυοτροφές με 0,02 mg/kg αφλατοξίνης B1 για 8 μήνες και για 12 μήνες, η εμφάνιση ηπατικών όγκων ήταν 58,0% και 83,0% αντίστοιχα (Russo et al 2013). Εκτός από τον καρκίνο, η έκθεση στην αφλατοξίνη B1 οδηγεί σε δραματική ανοσολογική καταστολή στην πέστροφα (Ottinger et al. 1998). Τα ψάρια θερμών νερών αναφέρονται ότι είναι λιγότερο ευαίσθητα στις αφλατοξίνες από τα ψάρια του γλυκού νερού (Tacon et al. 1993). Ωστόσο, οι επιδράσεις της αφλατοξίνης B1 εξαρτώνται από τη δόση και τη διάρκεια (Deng et al. 2010).

1.6.1.3 Επιδράσεις στους Ανθρώπους

Η κύρια πηγή έκθεσης του ανθρώπου στις αφλατοξίνες είναι η κατάποση μολυσμένων τροφίμων, με την επιβάρυνση της διατροφικής έκθεσης να είναι ιδιαίτερα υψηλή στις αναπτυσσόμενες χώρες. Η έκθεση μπορεί να γίνει μέσω της άμεσης κατάποσης αυτής της τοξίνης, δηλαδή με την κατανάλωση καλλιεργειών που έχουν μολυνθεί από αφλατοξίνες. Η έκθεση μπορεί επίσης να γίνει έμμεσα με την κατανάλωση ζωικής πρωτεΐνης (π.χ. ψάρι) στην οποία συσσωρεύονται υπολείμματα αφλατοξίνης στους μυς αφού τράφηκαν με τροφή μολυσμένη από μυκοτοξίνες. Η αφλατοξίνη B1 έχει ισχυρές γονιδιοτοξικές και καρκινογόνες δράσεις. Έχει ταξινομηθεί ως ομάδα-1 καρκινογόνο από τον Διεθνή Οργανισμό Έρευνας για τον Καρκίνο (IARC) του Παγκόσμιου Οργανισμού

Υγείας (<https://monographs.iarc.fr/list-of-classifications>) η οποία γίνεται ιδιαίτερα τοξική για άτομα που έχουν μολυνθεί από τον ιό της ηπατίτιδας Β (FAO 2001).

Η χρόνια έκθεση σε αφλατοξίνες έχει συσχετιστεί με το 28,0% του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος παγκοσμίως, αλλά το ποσοστό των περιπτώσεων που αποδίδονται σε αυτές τις τοξίνες κυμαίνεται από 0,0% στην Ευρώπη και τη Βόρεια Αμερική σε 40,0% στην Αφρική (Liu et al. 2010). Η οξεία έκθεση, από την άλλη πλευρά, οδηγεί σε σοβαρή βλάβη στο ήπαρ και υψηλό ποσοστό θνησιμότητας. Η οξεία αφλατοξίκωση έχει περιγραφεί από τη δεκαετία του 1960 (Agag 2004) και τα πιο πρόσφατα επεισόδια σημειώθηκαν στην ανατολική Κένυα το 2004 (Kamala et al. 2016) και στην κεντρική Τανζανία το 2016 (Jantrarotai et al. 1990). Από αυτά τα κρούσματα οξείας αφλατοξίκωσης προσβλήθηκαν 385 άτομα, εκ των οποίων τα 145 πέθαναν. Τα σημάδια της αφλατοξίκωσης που εμφανίστηκαν σε αυτούς τους ασθενείς ήταν ίκτερος, κοιλιακό άλγος, έμετος και διάρροια. Η προφανής αιτία και στις δύο περιπτώσεις οξείας αφλατοξίκωσης φαίνεται να ήταν η κατάποση αραβοσίτου που έχει μολυνθεί από αφλατοξίνες.

1.6.2.1 Φουμονισίνες

Η φουμονισίνη B1 είναι η πιο τοξική φουμονισίνη. Συντίθεται από διάφορα είδη *Fusarium*, μεταξύ των οποίων τον οποίο ο *Fusarium verticillioides* να είναι ο συχνός παραγωγός, αλλά και οι *Fusarium proleferatum* και *Fusarium* να είναι επίσης. Η *Alternaria alternata* είναι επίσης παραγωγός φουμονισίνης B1. Η μόλυνση από φουμονισίνη εμφανίζεται κυρίως στον αραβόσιτο και στα υποπροϊόντα του, με αυτή την τοξίνη να ανιχνεύεται στο 80% έως 100% των δειγμάτων καλαμποκιού σε Μοζαμβίκη, Κίνα και Μαλαισία (Warth et al. 2012). Οι κανονισμοί για τα ανώτατα όρια φουμονισινών στα δημητριακά έχουν περιγραφεί αποκλειστικά για συν-μόλυνση με φουμονισίνη B1 και B2. Το μέγιστο επιτρεπόμενο επίπεδο στον μη επεξεργασμένο αραβόσιτο είναι 4000,0 μg/kg. Στις ζωοτροφές, οι φουμονισίνες δεν πρέπει να υπερβαίνουν τα 60,0 mg/kg στον αραβόσιτο και τα προϊόντα αραβοσίτου, ενώ σε πλήρη τροφή για ψάρια δεν πρέπει να υπερβαίνουν τα 10,0 mg/kg (Eur. Communities 2006, L229, 7).

1.6.2.2 Επιδράσεις στα ψάρια

Η ευαισθησία στις φουμονισίνες φαίνεται να είναι συγκεκριμένη για το κάθε είδος, όπως ακριβώς είναι για τις αφλατοξίνες. Έκθεση των ψαριών στη φουμονισίνη B1 είχε ως αποτέλεσμα ιστολογικές αλλαγές στο ήπαρ, καταστολή της ανάπτυξης και χαμηλή επιβίωση όταν λαμβάνονταν υψηλές δόσεις αυτής της τοξίνης (>320 mg/kg).

Συνολικά, οι φουμονισίνες φαίνεται να προκαλούν βλάβες οργάνων, εξασθένηση του ανοσοποιητικού συστήματος, μείωση στην αύξηση βάρους, μεταβολικές δραστηριότητες που μπορεί να οδηγήσουν σε καρκίνο και αυξημένη θνησιμότητα. Δεν υπήρξαν αναφορές σχετικά με τη συσσώρευση φουμονισινών στο μυϊκό σύστημα των ψαριών. Ως εκ τούτου, η κατανάλωση ψαριών δεν φαίνεται να ενέχει κανένα κίνδυνο για την ασφάλεια των τροφίμων σχετικά με αυτήν την τοξίνη. Ωστόσο, περισσότερες μελέτες είναι απαραίτητο να γίνουν για την κατανόηση των επιπτώσεων αυτών των τοξινών στα ψάρια.

1.6.2.3 Επιδράσεις στους Ανθρώπους

Οι φουμονισίνες φαίνεται να είναι επικίνδυνες για τον άνθρωπο μόνο όταν εκτίθενται σε χρόνια τοξίνη. Οι φουμονισίνες B1 έχουν ταξινομηθεί ως ομάδα-2 καρκινογόνα από τον Διεθνή Οργανισμό Έρευνας για τον Καρκίνο (IARC) του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (<https://monographs.iarc.fr/list-of-classifications>) και, ως εκ τούτου, είναι τοξίνες που προάγουν τον καρκίνο. Αυτές έχουν συσχετιστεί με υψηλότερη συχνότητα καρκίνου του οισοφάγου και του ήπατος στην Κίνα (Sun et al. 2007) και στην Αφρική (Rheeder et al. 1992), σε περιοχές όπου η μόλυνση από φουμονισίνες είναι πολύ συχνή. Επιπροσθέτως, η έκθεση σε φουμονισίνες κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης φαίνεται να σχετίζεται με υψηλότερο κίνδυνο παραμόρφωσης του νευρικού σωλήνα στους απογόνους (Missmer et al. 2006).

1.6.3.1 Ωχρατοξίνη

Η πιο τοξική από τις ωχρατοξίνες είναι η ωχρατοξίνη A, η οποία παράγεται από το *Penicillium spp.* (*Penicillium verrucosum*) και *Aspergillus spp.*, κυρίως από το *Aspergillus ochraceous* και από *Aspergillus carbonarius*.

Η μόλυνση εμφανίζεται συχνότερα μετά τη συγκομιδή σε σπόρους δημητριακών (σίτος, κριθάρι, βρώμη ή καλαμπόκι), αν και συμβαίνει και σε άλλα εμπορεύματα

(Council for Agricultural Science and Technology 2003). Η ωχρατοξίνη Α είναι ιδιαίτερα σταθερή και μαζί με τον μεγάλο χρόνο ημιζωής της, είναι εξαιρετικά δύσκολο να εξαλειφθεί και το οποίο καθιστά εύκολη την μεταφορά της κατά μήκος της τροφικής αλυσίδας. Το μέγιστο επίπεδο ωχρατοξίνης Α που έχει καθοριστεί από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή είναι 5,0 µg/kg για τα μη επεξεργασμένα δημητριακά και 3,0 µg/kg για όλα τα προϊόντα που προέρχονται από μη μεταποιημένα δημητριακά, συμπεριλαμβανομένων των μεταποιημένων προϊόντων δημητριακών (Καν. ΕΚ 1881/2006). Τα δημητριακά και τα προϊόντα δημητριακών που χρησιμοποιούνται σε ζωοτροφές δεν πρέπει να υπερβαίνουν 0,25 mg/kg ωχρατοξίνης Α (Eur. Communities 2006, L229, 7).

1.6.3.2 Επιδράσεις στα ψάρια

Οι μελέτες σχετικά με τις επιδράσεις της ωχρατοξίνης Α στα ψάρια είναι σπάνιες, αλλά τα ψάρια φαίνεται να είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα σε αυτή τη μυκοτοξίνη. Το ενήλικο άτομο λαβρακίου (*D. labrax L.*) είναι ιδιαίτερα ευαίσθητο στην ωχρατοξίνη Α. (Manning et al. 2003).

Στην τιλάπια του Νείλου, η δηλητηρίαση από ωχρατοξίνη είχε ως αποτέλεσμα την υποτονική κολύμβηση, άρνηση φαγητού, μειωμένη ικανότητα επιβίωσης, μειωμένη απόδοση ανάπτυξης και εκφυλιστικές βλάβες στους νεφρούς και στο ήπαρ (Diab et al. 2018).

Η συσσώρευση ωχρατοξίνης στους μυς των ψαριών δεν φαίνεται να συμβαίνει στην ιριδιζουσα πέστροφα (Fuchs et al. 1986) και τιλάπια του Νείλου (Guardone et al. 2008), και μόνο χαμηλά επίπεδα ωχρατοξίνης Α βρέθηκαν στους μυς στο ευρωπαϊκό λαβράκι και στην τσιπούρα (Guardone et al. 2008). Επομένως, τα ψάρια μπορεί να συμβάλλουν στην παρουσία της ωχρατοξίνης Α στην τροφική αλυσίδα.

1.6.3.3 Επιδράσεις στους Ανθρώπους

Οι μελέτες σχετικά με τις επιδράσεις της ωχρατοξίνης Α στον άνθρωπο είναι σπάνιες και ως εκ τούτου είναι ευρέως άγνωστες. Ωστόσο, έχει θεωρηθεί καρκινογόνο της ομάδας-2, δηλαδή πιθανό καρκινογόνο (International Agency for Research on Cancer List of Classifications. Available online: <https://monographs.iarc.fr/list-of-classifications>).

Επηρεάζει κυρίως τα νεφρά, το ήπαρ και το αίμα, όπου συσσωρεύεται (Hadlok, R., 1993). Η ωχρατοξίνη Α έχει γονοτοξικές δράσεις που οδηγούν σε βλάβη του DNA που, με τη σειρά του, είναι το πρώτο βήμα για την καρκινογένεση (Maaroufi et al. 1994). Ως εκ τούτου, η έκθεση σε αυτή την τοξίνη μπορεί να εμπλέκεται στην ανάπτυξη καρκίνου του ήπατος, με την εμφάνιση των όγκων του ουροποιητικού συστήματος και ο καρκίνος των όρχεων, να είναι μεταξύ άλλων ασθενειών που έχουν μελετηθεί από τους Malir et al. (2016).

Η ωχρατοξίνη Α φαίνεται επίσης να συσσωρεύεται με υψηλή συχνότητα, ιδιαίτερα στις αναπτυσσόμενες χώρες το μητρικό γάλα των θηλαζουσών γυναικών (Dehghan et al. 2014), το οποίο μπορεί να οδηγήσει στην έκθεση του βρέφους.

1.6.4.1 Τριχοθηκένια

Τα Τριχοθηκένια παράγονται σε καλλιέργειες όπως το καλαμπόκι, το σιτάρι, το κριθάρι και η βρώμη (Council for Agricultural Science and Technology 2003) από μύκητες του γένους *Fusarium*, *Myrothecium*, *Phomopsis*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*, *Trichothecium* (Bennett et al. 2003).

Τα δύο πιο σημαντικά τριχοθηκένια που βρίσκονται στις καλλιέργειες, δηλαδή τα πιο τοξικά για τα ζώα, είναι η δεσοξυνιβαλενόλη και η τοξίνη T-2 (Yuan et al. 2014). Η τοξίνη T-2 δεν φαίνεται να αποτελεί απειλή για την υγεία των ψαριών (Pietsch 2019, EFSA 2011). Ωστόσο, αυτό δεν ισχύει για την δεσοξυνιβαλενόλη η οποία είναι το λιγότερο τοξικό τριχοθηκένιο, αλλά μπορεί να προκαλέσει βλάβη σε ψάρια και ανθρώπους. Η δεσοξυνιβαλενόλη παράγεται κυρίως από μύκητες του γένους *Fusarium spp.*, κυρίως από το *Fusarium graminearum*, και φαίνεται να είναι πιο κοινό στις ζωοτροφές παρά στα τρόφιμα στην Ευρώπη (EFSA 2013).

Το μέγιστο επίπεδο δεσοξυνιβαλενόλης που επιτρέπεται από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή στα τρόφιμα είναι 1750,0 µg/kg για μη επεξεργασμένο σκληρό σιτάρι, βρώμη και καλαμπόκι και 1250,0 µg/kg για οποιοδήποτε άλλο μη επεξεργασμένο δημητριακό (Eur. Communities 2002, L140, 10). Όπως και για τις πρώτες ύλες ζωοτροφών, το μέγιστο επίπεδο δεσοξυνιβαλενόλης στα υποπροϊόντα αραβοσίτου είναι 12,0 mg/kg και 8,0 mg/kg για άλλα δημητριακά και προϊόντα δημητριακών. Στην πλήρη και συμπληρωματική ζωοτροφή (εκτός από χοίρους, μοσχάρια, αρνιά και ερίφια), η

δεσοξυνιβαλενόλη δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 5,0 mg/kg (Eur. Communities 2006, L229, 7)

1.6.4.2. Επιδράσεις στα Ψάρια

Οι επιδράσεις της δεσοξυνιβαλενόλης στα ψάρια δεν είναι ακόμη ευρέως γνωστές. Η ιριδίζουσα πέστροφα, συγκεκριμένα, φαίνεται να είναι η πιο ευαίσθητη από όλα τα είδη ψαριών (Pietsch et al. 2011). Γενικά, η έκθεση αυτού του ψαριού σε δεσοξυνιβαλενόλη δεν οδηγεί στην υψηλότερη θνησιμότητα. Ωστόσο, όταν δόσεις έως και 2,6 mg/kg αυτής της τοξίνης χορηγήθηκαν σε ιριδίζουσα πέστροφα, είχε ως αποτέλεσμα την άρνηση τροφής και τη μείωση της ικανότητας μετατροπής των ζωοτροφών που, με τη σειρά τους, οδήγησαν σε μείωση της αύξησης βάρους και του ρυθμού ανάπτυξης (Matejova et al. 2014, Hooft et al. 2011, Ryerse et al. 2015).

Ο νεαρός σολομός Ατλαντικού είναι αρκετά ευαίσθητος στη δηλητηρίαση από δεσοξυνιβαλενόλη. Όταν αυτά τα ψάρια εκτίθενται σε δεσοξυνιβαλενόλη και όπως συνέβη με την ιριδίζουσα πέστροφα, υπήρξε μείωση στην πρόσληψη τροφής, στην αύξηση βάρους και στην απόδοση της τροφής. Επιπλέον, υπήρχε μείωση των πρωτεϊνών του πλάσματος και των λιπιδίων, που μπορεί να προκύψει από μείωση της σύνθεσης πρωτεϊνών και λιποπρωτεϊνών στο ήπαρ (Bernhofs et al. 2018). Οι αλλαγές της πρωτεϊνικής σύνθεσης φαίνεται επίσης να βλάπτουν την εντερική ακεραιότητα του σολομού Ατλαντικού, κάτι που επηρεάζει τη δομή και τη λειτουργία του εντέρου του (Moldal et al. 2018).

Δεν παρατηρήθηκαν επιδράσεις στην ανάπτυξη του κυπρίνου όταν εκτέθηκε για έξι εβδομάδες σε δόσεις 352,0, 619,0 και 953,0 μg/kg δεσοξυνιβαλενόλης. Ωστόσο, μετά την έκθεση σημειώθηκαν αλλαγές στην αιματολογία του αίματος (αύξηση του σχηματισμού ερυθρών αιμοσφαιρίων) και προφλεγμονώδης ανοσολογική αντίδραση, αν και η σημασία αυτής της αλλαγής είναι άγνωστη (Pietsch et al. 2014).

Αν και η δεσοξυνιβαλενόλη έχει βρεθεί ότι συσσωρεύεται στους μυς των κυπρίνων (Pietsch et al. 2014) και της ιριδίζουσας πέστροφας (Ryerse et al. 2015), αυτό γίνεται μόνο σε χαμηλά επίπεδα. Στην πραγματικότητα, η δεσοξυνιβαλενόλη συνήθως μεταβολίζεται ταχέως και γενικά δεν συσσωρεύεται στα όργανα του ζώου.

1.6.4.3 Επιδράσεις στους Ανθρώπους

Οι τοξικές δράσεις της δεσοξυνιβαλενόλης αναστέλλουν την πρωτεϊνσύνθεση. Αυτό δεν προϋποθέτει απειλή για την υγεία του ανθρώπου σε σύγκριση με άλλες μυκοτοξίνες, καθώς οι δράσεις τους είναι γενικά γαστρεντερικές, δηλαδή βραχυπρόθεσμη ναυτία και έμετος, διάρροια, κοιλιακό άλγος, πονοκέφαλος, ζάλη και πυρετός (Perkowski et al. 1990). Στην πραγματικότητα, τα τριχοθήκηνια γενικά, αλλά ιδιαίτερα η δεσοξυνιβαλενόλη, έχουν συσχετιστεί με το ξέσπασμα της οξείας μυκοτοξίκωσης που εμφανίστηκε στην Ινδία μετά από κατανάλωση ψωμιού που παρασκευάστηκε με κατεστραμμένο από μούχλα σιτάρι και οδήγησε σε σοβαρά γαστρεντερικά προβλήματα (Bhat et al. 1989).

1.6.5.1 Ζεαραλενόνη

Η ζεαραλενόνη παράγεται κυρίως από το μύκητες του γένους *Fusarium spp.*, ιδιαίτερα από το *F. graminearum*, αλλά και *Fusarium culmorum*, *Fusarium equiseti* και *Fusarium. crookwellense* (Bennett et al. 2003). Η μόλυνση από αυτούς τους μύκητες εμφανίζεται κυρίως προ της συγκομιδής σε καλλιέργειες όπως το καλαμπόκι (Council for Agricultural Science and Technology 2003). Η ζεαραλενόνη έχει ισχυρή οιστρογονική δράση, δηλαδή είναι ένα μυκοοιστρογόνο το οποίο επηρεάζει την αναπαραγωγική ικανότητα μιας ποικιλίας ζώων όπως μελετήθηκε από τους Zhang et al. (2018).

Η Ευρωπαϊκή Επιτροπή έχει καθορίσει ένα μέγιστο επίπεδο ζεαραλενόνης στα τρόφιμα το 350,0 μg/kg για τον ακατέργαστο αραβόσιτο και 100,0 μg/kg για άλλα μη επεξεργασμένα δημητριακά (Eur. Communities 2006, L364, 5). Στις ζωοτροφές, τα υποπροϊόντα αραβοσίτου δεν θα πρέπει να υπερβαίνουν τα 3,0 mg/kg ζεαραλενόνης, ενώ για άλλα δημητριακά και προϊόντα δημητριακών αυτό το όριο είναι 2,0 mg/kg (Eur. Communities 2006, L229, 7). Για πλήρεις ζωοτροφές για ζώα εκτός από τα θηλαστικά δεν έχουν καθοριστεί όρια.

1.6.5.2 Επιδράσεις στα ψάρια

Η ζεαραλενόνη συσσωρεύτηκε σε υψηλές ποσότητες στις ωοθήκες της ιριδίζουσας πέστροφας (έως 7,1 μg/kg) (Woźny et al. 2013), αλλά τα αποτελέσματα αυτής της συσσώρευσης στην αναπαραγωγή δεν είναι ακόμη γνωστά. Ωστόσο, η έκθεση

του ψαριού ζέβρα για σύντομο χρονικό διάστημα στη ζεαραλενόνη αποδείχθηκε ότι μειώνει την αναπαραγωγική του ικανότητα με μείωση της συχνότητας ωοτοκίας (Schwartz et al. 2010) και της σχετικής γονιμότητας μεταξύ των γενεών (Schwartz et al. 2013).

Εκτός από τη συσσώρευση στις ωοθήκες της ιριδίζουσας πέστροφας, ίχνη αυτής της τοξίνης ανιχνεύτηκαν επίσης στο ήπαρ και τα έντερα (Wo'zny et al. 2019). Ωστόσο η ζεαραλενόνη δεν φαίνεται να συσσωρεύεται, στο μυϊκό σύστημα των ψαριών και, ως εκ τούτου, η κατανάλωση ψαριών δεν φαίνεται να αποτελεί πηγή αυτής της μυκοτοξίνης.

1.6.5.3 Επιδράσεις στους Ανθρώπους

Καθώς η ζεαραλενόνη μοιάζει με τη χημική δομή των φυσικών οιστρογόνων, μπορεί να συνδεθεί με υποδοχείς στο ανθρώπινο κύτταρο και να οδηγήσει σε ορμονικές ανισορροπίες. Με τη σειρά του, αυτό μπορεί να οδηγήσει σε μια σειρά από παθολογίες του αναπαραγωγικού συστήματος. Για παράδειγμα, η ζεαραλενόνη έχει ανιχνευθεί σε υπερπλαστικό και νεοπλασματικό ενδομήτριο (Tomaszewski et al. 1998), που πιθανώς συμβάλλουν στην καρκινογένεση. Ωστόσο, σύμφωνα με το IARC, η ζεαραλενόνη δεν είναι ταξινομήσιμη όσον αφορά την καρκινογένειά της στον άνθρωπο, δηλαδή δεν υπάρχουν στοιχεία ότι προκαλεί καρκίνο στους ανθρώπους (IARC 2020). Επομένως, απαιτούνται περισσότερες μελέτες για την πλήρη διαλεύκανση των επιδράσεων της ζεαραλενόνης στην ανθρώπινη υγεία.

1.7 Σκοπός της Μεταπτυχιακής Διατριβής

Σκοπός της παρούσας διατριβής είναι η μελέτη του ποσοστού επιμόλυνσης με μυκοτοξίνες του καλαμποκιού ως πρώτη ύλη που προορίζεται για χρήση του στις ιχθυοκαλλιέργειες.

Η χρήση του καλαμποκιού ως συστατικό φυτικής προέλευσης στην ιχθυοτροφή μπορεί να επιβάλει σοβαρές απειλές για την παραγωγικότητα της υδατοκαλλιέργειας μέσω αυξημένου ποσοστού μόλυνσης από μυκοτοξίνες. Η πρόσληψη μυκοτοξινών από τα ψάρια αυξάνει τα ποσοστά ασθενειών και θνησιμότητας και τη συχνότητα αναπαραγωγικών προβλημάτων και μειώνει την αύξηση βάρους, οδηγώντας σε σημαντικές οικονομικές απώλειες. Επιπλέον, η συσσώρευση ακόμη και μικρών δόσεων από τις μυκοτοξίνες στο μυϊκό σύστημα του ψαριού ενδέχεται να επιβάλλουν σοβαρή

απειλή για την υγεία των καταναλωτών του. Από την μια πλευρά, αυτό συμβάλλει στην ήδη υψηλή επιβάρυνση της έκθεσης σε αυτούς τους τοξικούς μεταβολίτες, ιδιαίτερα σε αναπτυσσόμενες χώρες ή σε περιοχές όπου η κατανάλωση δημητριακών είναι υψηλή. Από την άλλη, η έκθεση του ανθρώπου σε μικρές δόσεις μυκοτοξινών για μεγάλο χρονικό διάστημα μπορεί να οδηγήσει σε χρόνιες εκδηλώσεις όπως ως καρκίνος ή ανοσοανεπάρκεια. Έτσι, η παρουσία μυκοτοξινών στις ιχθυοτροφές έχει σοβαρές επιπτώσεις τόσο στην οικονομία όσο και στη δημόσια υγεία. Ως εκ τούτου, στρατηγικές για τον έλεγχο της μόλυνσης, τόσο πριν όσο και μετά τη συγκομιδή και η μείωση της έκθεσης είναι θεμελιώδεις. Η παρακολούθηση των πρώτων υλών καθώς και των έτοιμων ζωοτροφών θα πρέπει να γίνουν κοινή πρακτική για την προστασία της υδατοκαλλιέργειας καθώς αναπτύσσεται στο μέλλον

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Δείγματα πρώτων υλών-Προετοιμασία δείγματος

Πραγματοποιήθηκε συλλογή 50 δειγμάτων καλαμποκιού από εταιρείες εμπορίας πρώτων υλών ζωοτροφών από όλη την Ελληνική επικράτεια. Από το κάθε δείγμα λαμβάνονταν η ποσότητα των 2 κιλών και η πρώτη ύλη διατηρούνταν στην κατάψυξη (-20°C) μέχρι την περαιτέρω επεξεργασία της. Η προετοιμασία του δείγματος πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια μύλου άλεσης διαμέτρου κοπής 1mm (ZM 200 Ultra-Centrifugal Mill) της εταιρείας Retsch (Εικόνα 2.1).



Εικόνα 2.1. Ο μύλος άλεσης (ZM 200 Ultra Centrifugal Mill) της εταιρείας Retsch με διάμετρο κοπής 1mm που χρησιμοποιήθηκε για την επεξεργασία των δειγμάτων

2.2 Φασματοφωτομετρία Εγγύς Υπερύθρου NIR (Near InfraRed)

Οι δυνητικοί κίνδυνοι από την παρουσία μυκοτοξινών στις πρώτες ύλες ζωοτροφών έχουν οδηγήσει σε προσπάθειες ανάπτυξης διαφόρων αναλυτικών μεθόδων για την ταυτοποίηση και τον ποσοτικό προσδιορισμό των μυκοτοξινών σε δείγματα τροφίμων. Οι συνεχείς βελτιώσεις στη μεθοδολογία ανάλυσης των μυκοτοξινών με τη χρήση προηγμένων και γρήγορων τεχνικών είναι υψίστης σημασίας για τη συμμόρφωση με την επικαιροποιημένη νομοθεσία και την προστασία των καταναλωτών υδρόβιων προϊόντων.

Τα τελευταία χρόνια, οι φασματοσκοπικές τεχνικές αποτελούν πολλά υποσχόμενες τεχνικές για την ανάλυση μυκοτοξινών εξαιτίας των πολλών πλεονεκτημάτων που παρουσιάζουν, όπως: α) η ευκολία στον χειρισμό του εξοπλισμού, β) η απαίτηση μικρής ποσότητας δείγματος, γ) η εύκολη προετοιμασία των δειγμάτων και δ) ο γρήγορος χρόνος ανάλυσης. Το μειονέκτημα αυτών των μεθόδων, αποτελούν οι πολύπλοκοι μαθηματικοί και χημειομετρικοί υπολογισμοί που απαιτούνται για να γίνει αξιολόγηση των φασμάτων εγγύς υπερύθρου (NIR) και η εξαγωγή των αποτελεσμάτων.

Στο εργαστήριο Υδατοκαλλιεργειών του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος (Τ.Γ.Ι.ΥΠ) του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, πραγματοποιήθηκε

η ανάπτυξη πρωτοκόλλου προσδιορισμού των μυκοτοξινών: Αφλατοξίνη B1 (AFB1), Φουμονισίνες B1&B2 (FB1+FB2), Ζεαραλενόνη (ZEN), Δεσοξυνιβαλενόλη (DON) και Ωχρατοξίνη A (OTA) σε φυτικές πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται στην παραγωγή ζωοτροφών και συγκεκριμένα σε καλαμπόκι.

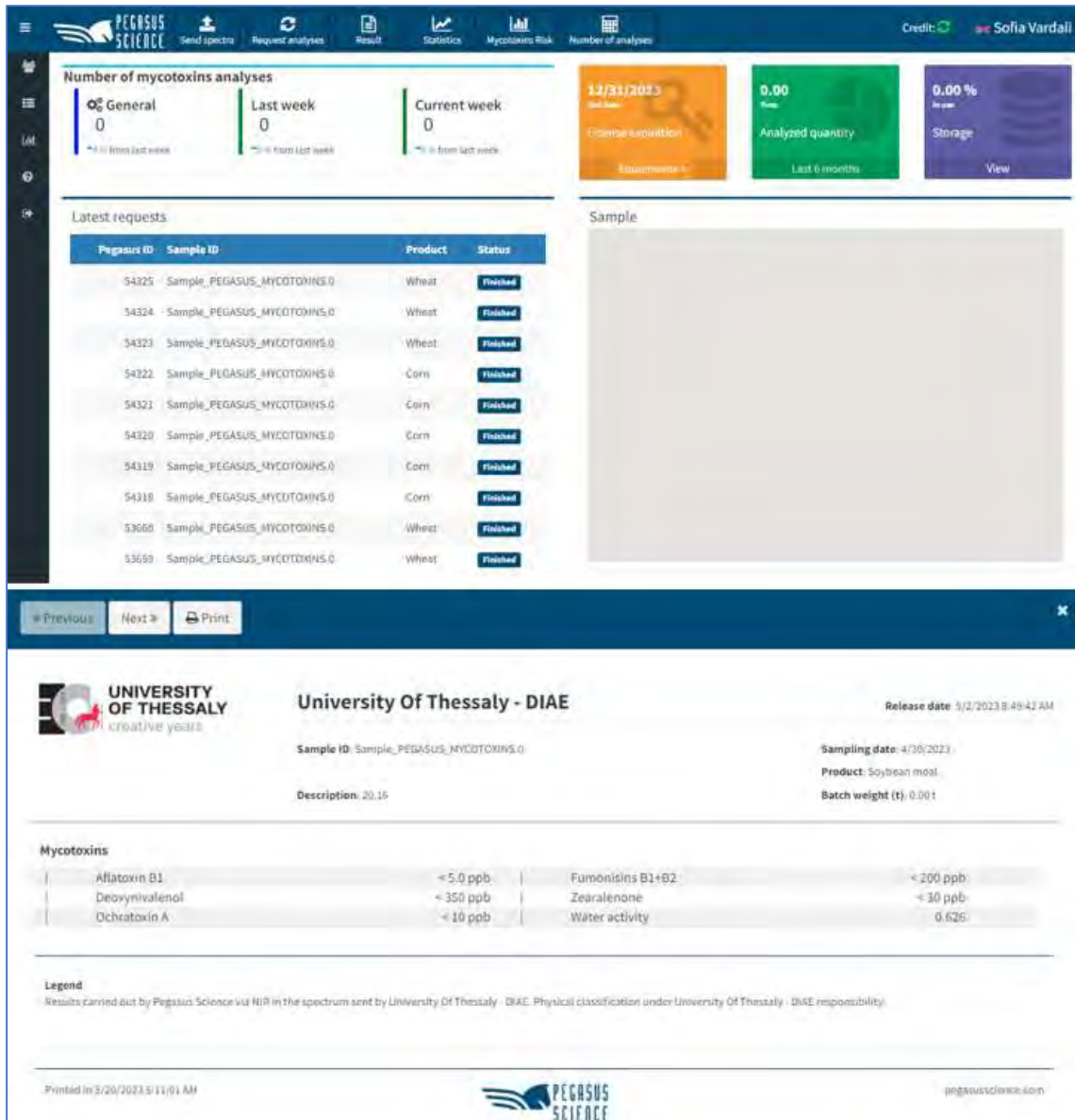
Η ανίχνευση των μυκοτοξινών πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του συστήματος φασματοσκοπίας εγγύς υπερύθρου (Tango FT-NIR) της εταιρείας Bruker (Εικόνα 2.2).



Εικόνα 2.2. Το σύστημα φασματοσκοπίας εγγύς υπερύθρου (Tango FT-NIR) της εταιρείας Bruker που χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση των μυκοτοξινών.

2.3 Ανάλυση αποτελεσμάτων

Η ανάπτυξη του πρωτοκόλλου έγινε σε συνεργασία με την εταιρεία Pegasus με έδρα τη Βραζιλία, μια εταιρία πρωτοπόρος στην ανάλυση μυκοτοξινών σε πρώτες ύλες φυτικής προέλευσης με τη χρήση φασματοσκοπίας εγγύς υπερύθρου (NIR). Τα φάσματα εγγύς υπερύθρου λαμβάνονταν στο σύστημα φασματοσκοπίας του εργαστηρίου Υδατοκαλλιεργειών του Τ.Γ.Ι.ΥΠ, ΠΘ και αποστέλλονταν στην πλατφόρμα της εταιρείας Pegasus (<https://www.pegasusscience.com/site/us/>) για την περαιτέρω επεξεργασία και εξαγωγή αποτελεσμάτων (Εικόνα 2.3).



Εικόνα 2.3. Η πλατφόρμα της εταιρείας Pegasus που χρησιμοποιήθηκε για την αποστολή των μετρούμενων φασμάτων και την περαιτέρω επεξεργασία και εξαγωγή των αποτελεσμάτων.

2.4 Στατιστική ανάλυση

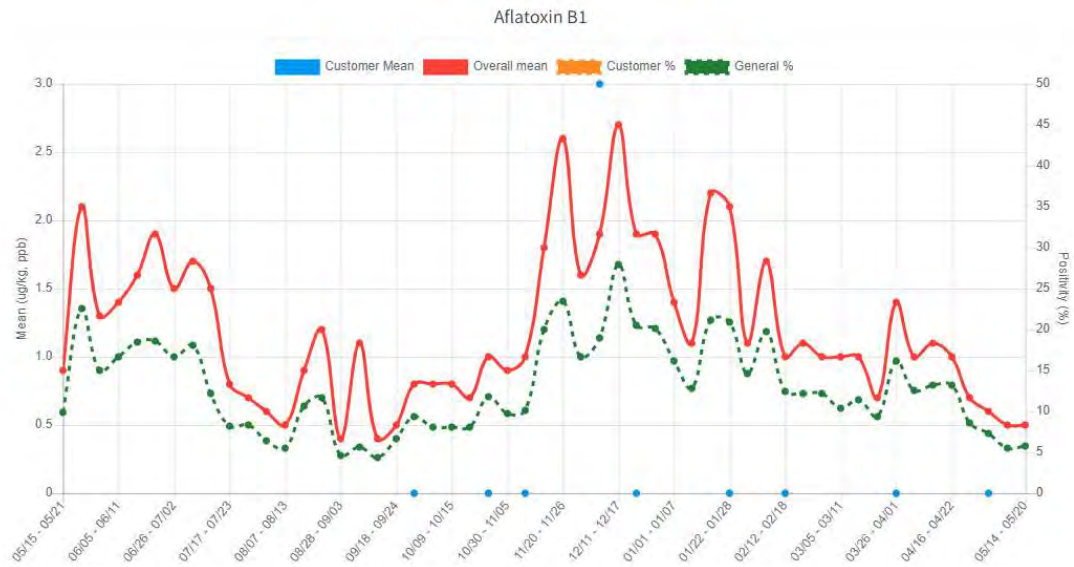
Ο έλεγχος μεταξύ των στατιστικά σημαντικά διαφορών μεταξύ των δεδομένων της έρευνας πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό τεστ χ^2 . Η σύγκριση μεταξύ των ποσοστών εμφάνισης των μυκοτοξινών πραγματοποιήθηκε σε δύο επίπεδα.

Αξιολογήθηκαν οι διαφορές μεταξύ των ανιχνεύσιμων και των μη-ανιχνεύσιμων τιμών για την κάθε μυκοτοξίνη που εξετάστηκε και οι στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ αυτών επισημαίνονται στο γράφημα με αστερίσκο (*). Επίσης, πραγματοποιήθηκε σύγκριση μεταξύ των ποσοστών ανίχνευσης για το σύνολο των μυκοτοξινών που ανιχνεύτηκαν και οι στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ αυτών επισημαίνονται στο γράφημα με γράμματα (Α και Β). Στην ανάλυση των δεδομένων εφαρμόστηκε κατάτμηση του αρχικού χ^2 σε έναν αριθμό επιμέρους τεστ (2×2), προκειμένου να εκτιμηθούν με ακρίβεια τα σημεία που εντοπίζονται οι στατιστικώς σημαντικές διαφορές. Το πακέτο SPSS Statistics 26 εφαρμόστηκε σε όλες τις περιπτώσεις σε επίπεδο σημαντικότητας $P < 0,05$.

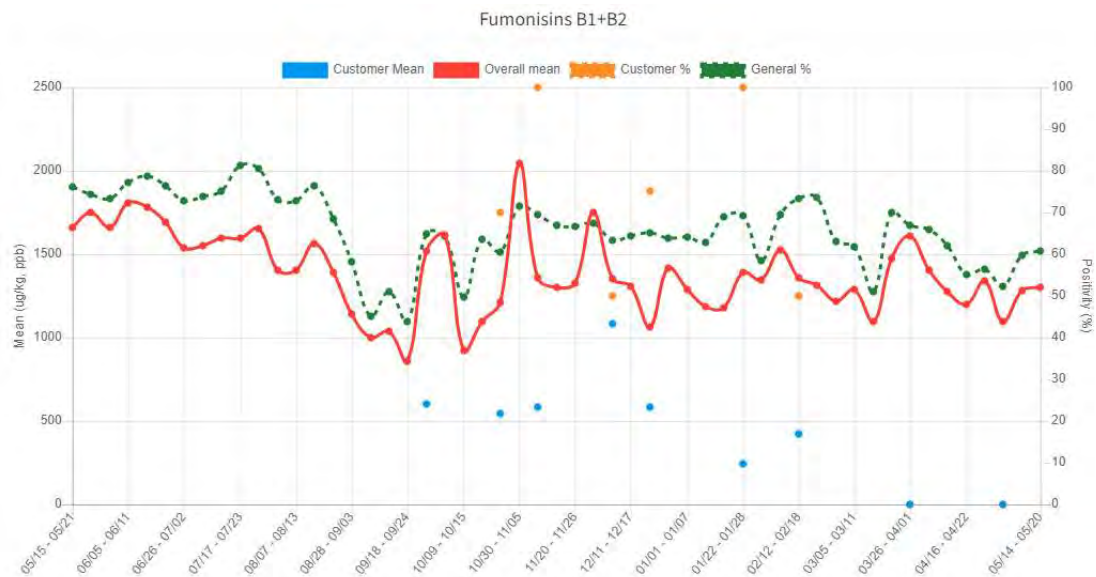
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα υπό μελέτη δείγματα εξετάστηκαν για την ανίχνευση των μυκοτοξινών Αφλατοξίνη Β1 (AFB1), Φουμονισίνες Β1&Β2 (FB1+FB2), Ζεαραλενόνη (ZEN), Δεσοξυνιβαλενόλη (DON) και Ωχρατοξίνη Α (OTA). Στις Εικόνες 3.1 – 3.4 φαίνονται τα αποτελέσματα της συγκέντρωσης των μυκοτοξινών: Αφλατοξίνη Β1 (AFB1) (Εικ. 3.1), Φουμονισίνες Β1&Β2 (FB1+FB2) (Εικ. 3.2), Ζεαραλενόνη (ZEN) (Εικ. 3.3), Δεσοξυνιβαλενόλη (DON) (Εικ. 3.4). Στην Εικόνα 3.5 φαίνονται τα αποτελέσματα του συνόλου των μυκοτοξινών που εξετάστηκαν και η μεταξύ τους συγκριτική αξιολόγηση. Η Ωχρατοξίνη Α (OTA) δεν ανιχνεύτηκε στα υπό εξέταση δείγματα.

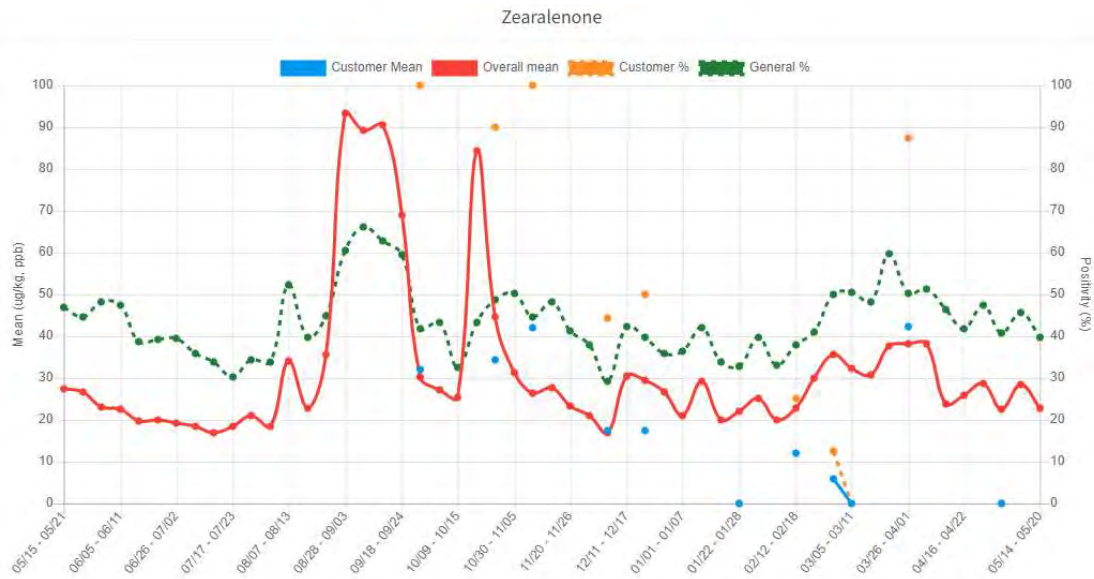
Η συγκέντρωση των μυκοτοξινών των δειγμάτων στα θετικά δείγματα φαίνεται στην Εικόνα 3.6. Όλες οι τοξίνες ανιχνεύτηκαν σε χαμηλές συγκεντρώσεις συγκριτικά με τα νομοθετικά όρια.



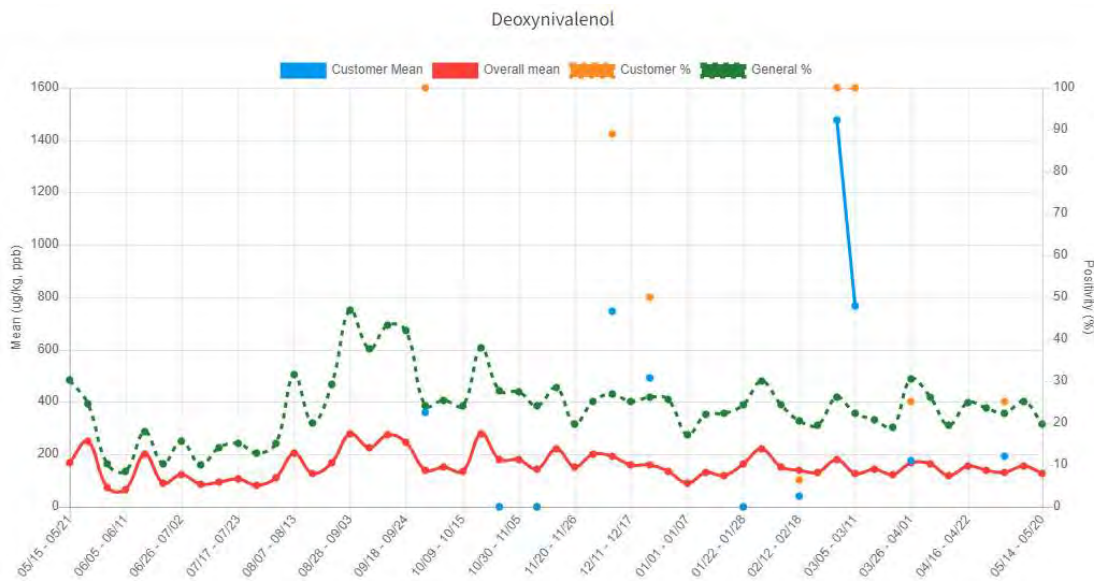
Εικόνα 3.1 Αποτελέσματα της συγκέντρωσης Αφλατοξίνης B1.



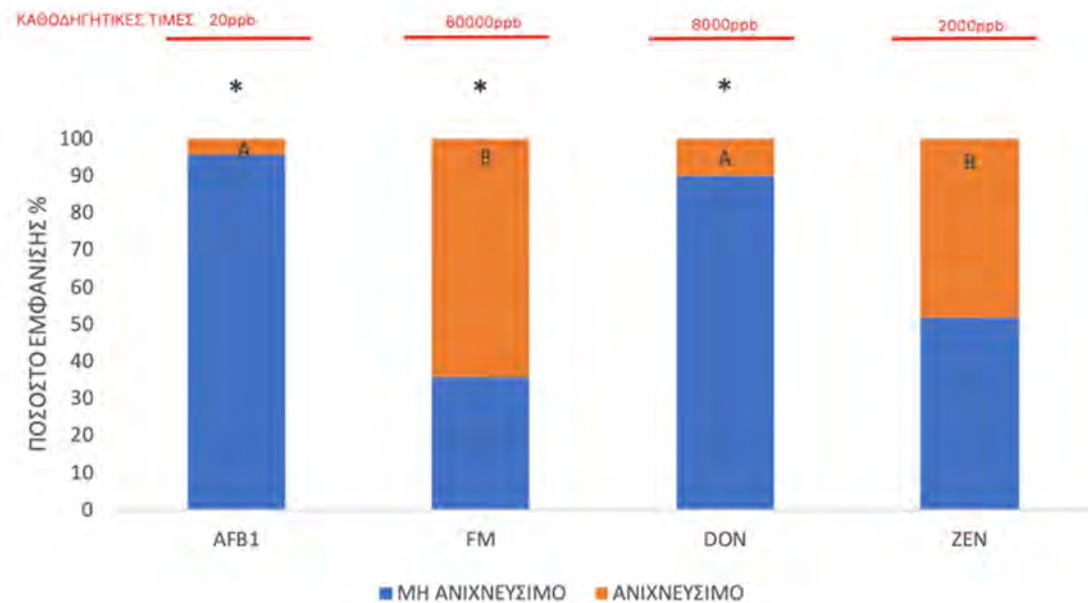
Εικόνα 3.2 Αποτελέσματα της συγκέντρωσης Φουμονισίνης B1 και B2.



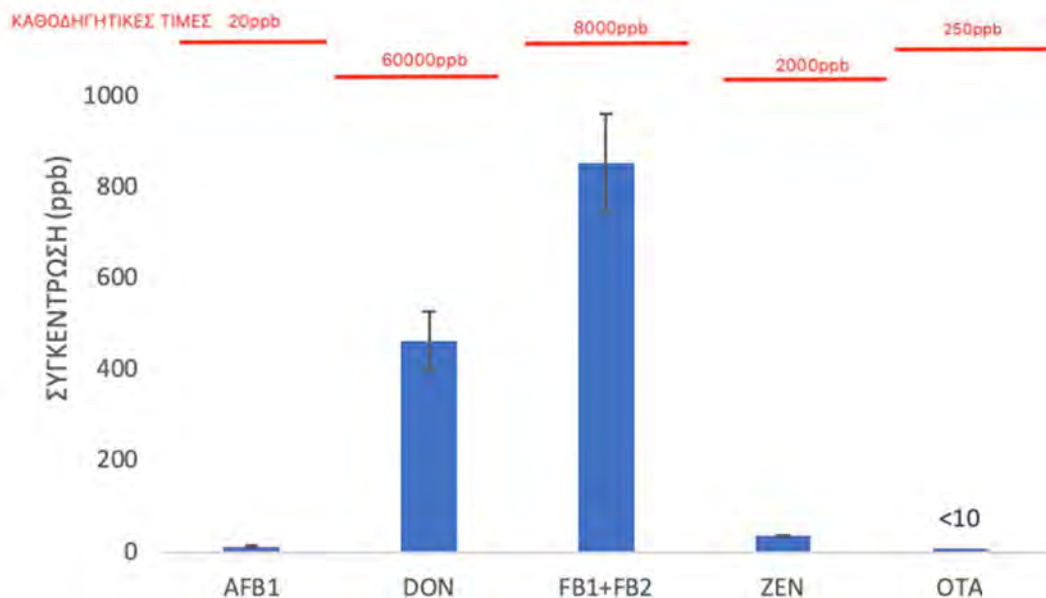
Εικόνα 3.3 Αποτελέσματα της συγκέντρωσης Ζεαραλενόνης.



Εικόνα 3.4 Αποτελέσματα της συγκέντρωσης της Δεσοξυνιβαλενόλης.



Εικόνα 3.5. Ποσοστά εμφάνισης των βασικών μυκοτοξινών στο σύνολο των δειγμάτων (n=50). Οι στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ανιχνεύσιμων και των μη-ανιχνεύσιμων τιμών επισημαίνονται στο γράφημα με αστερίσκο (*). Οι στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ποσοστών ανίχνευσης για το σύνολο των μυκοτοξινών που ανιχνεύτηκαν επισημαίνονται στο γράφημα με γράμματα (Α και Β), $P < 0,05$.



Εικόνα 3.6. Συγκέντρωση (ppb) των μυκοτοξινών AFB1, DON, FB1 και FB2, ZEN και OTA.

Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων προέκυψε ότι Αφλατοξίνη B1 (AFB1) και η Δεσοξυνιβαλενόλη (DON) ανιχνεύτηκαν σε σημαντικά χαμηλότερα ποσοστά συγκριτικά με τις Φουμονισίνες B1&B2 (FB1+FB2) και τη Ζεαραλενόνη (ZEN) στα δείγματα καλαμποκιού. Η Ωχρατοξίνη Α (OTA) δεν ανιχνεύτηκε στα υπό εξέταση δείγματα.

Ο αριθμός των δειγμάτων που ήταν θετικά στις Φουμονισίνες B1&B2 (FB1+FB2) ήταν σημαντικά υψηλότερος συγκριτικά με τα δείγματα που ήταν αρνητικά. Αντιθέτως, η Αφλατοξίνη B1 (AFB1) και η Δεσοξυνιβαλενόλη (DON) ανιχνεύτηκαν σε στατιστικά σημαντικά μικρό αριθμό δειγμάτων συγκριτικά με το σύνολο όσων εξετάστηκαν. Η Ζεαραλενόνη (ZEN) ανιχνεύτηκε στο 48% των δειγμάτων που εξετάστηκαν, ποσοστό που δεν διέφερε σημαντικά από το ποσοστό μη ανίχνευσης.

Σε όλες τις περιπτώσεις οι συγκεντρώσεις των μυκοτοξινών κυμαίνονται πολύ χαμηλά και κάτω από τα νομοθετικά όρια τα οποία φαίνονται αναλυτικά στην εικόνα 3.5.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Από την ανάλυση των δεδομένων της έρευνας προέκυψε ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ανιχνεύσιμων και μη ανιχνεύσιμων τιμών των μυκοτοξινών.

Ειδικότερα, διαπιστώθηκε ότι η Αφλατοξίνη B1 (AFB1) και η Δεσοξυνιβαλενόλη (DON) ανιχνεύτηκαν σε στατιστικά σημαντικά μικρό αριθμό δειγμάτων συγκριτικά με το σύνολο όσων εξετάστηκαν. Η παρατήρηση ότι αυτές οι τοξίνες ανιχνεύθηκαν σε στατιστικά σημαντικά μικρό αριθμό δειγμάτων, σημαίνει ότι ανιχνεύθηκαν σε λίγα από τα εξετασθέντα δείγματα, σε σύγκριση με το συνολικό αριθμό δειγμάτων που εξετάστηκαν και επιπλέον οι συγκεντρώσεις των μυκοτοξινών που ανιχνεύτηκαν ήταν πολύ κάτω από τα νομοθετικά όρια.

Το μέγιστο επίπεδο αφλατοξίνης B1 σε όλες τις πρώτες ύλες ζωοτροφών είναι 0,02 mg/kg . Όμως, μελέτες που είχαν γίνει στην ινδίδζουσα πέστροφα, βρέθηκε ότι η χρόνια έκθεσή της ακόμη σε πολύ χαμηλά επίπεδα στην αφλατοξίνη B1 (AFB1) (όπως 0,0004 mg/kg) έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει τις πιθανότητες εμφάνισης νεοπλασίας στα ψάρια (Mwihia et al. 2018).

Επίσης, το μέγιστο επίπεδο δεσοξυνιβαλενόλης στα υποπροϊόντα αραβοσίτου είναι 12,0 mg/kg και 8,0 mg/kg για άλλα δημητριακά και προϊόντα δημητριακών. Ωστόσο, όταν δόσεις έως και 2,6 mg/kg αυτής της τοξίνης χορηγήθηκαν σε ιριδίζουσα πέστροφα, αυτό είχε ως αποτέλεσμα την άρνηση τροφής και τη μείωση της ικανότητας μετατροπής των ζωοτροφών που, με τη σειρά τους, οδήγησαν σε μείωση της αύξησης βάρους και του ρυθμού ανάπτυξής της (Matejova et al. 2014, Hoof et al. 2011, Ryerse et al. 2015).

Όσον αφορά τη Ζεαραλενόνη, ανιχνεύτηκε περίπου στα μισά δείγματα. Τα όρια της Ζεαραλενόνης στις ζωοτροφές και τα υποπροϊόντα αραβοσίτου δεν θα πρέπει δεν υπερβαίνουν τα 3,0 mg/kg ζεαραλενόλης, ενώ για άλλα δημητριακά και προϊόντα δημητριακών αυτό το όριο είναι 2,0 mg/kg (Eur. Communities 2006, L229, 7). Ωστόσο η ζεαραλενόνη δεν φαίνεται να συσσωρεύεται, στο μυϊκό σύστημα των ψαριών και, ως εκ τούτου, η κατανάλωση ψαριών δεν φαίνεται να αποτελεί πηγή αυτής της μυκοτοξίνης. Χρειάζεται όμως περαιτέρω έρευνα για να διαπιστωθεί εάν η ύπαρξη ζεαραλενόνης έστω και σε πολύ μικρές ποσότητες κάτω των επιτρεπόμενων ορίων έχει αρνητικές επιδράσεις στα ψάρια και στον άνθρωπο.

Σχετικά με τις φουμονισίνες, ο αριθμός των δειγμάτων που δοκιμάστηκαν και βρέθηκαν θετικά στις φουμονισίνες ήταν σημαντικά υψηλότερος από τον αριθμό των δειγμάτων που δοκιμάστηκαν και βρέθηκαν αρνητικά. Αυτό δείχνει ότι υπήρχε σημαντική παρουσία φουμοσινών στα δείγματα που εξετάστηκαν. Αυτή η πληροφορία υποδηλώνει τη σημαντική παρουσία των φουμοσινών σε αυτά τα δείγματα και ενδέχεται να απαιτεί μέτρα για τον περιορισμό της παρουσίας τους, προκειμένου να διασφαλιστεί η ασφάλεια τροφίμων και ζωοτροφών. Στις ζωοτροφές, οι φουμονισίνες δεν πρέπει να υπερβαίνουν τα 60,0 mg/kg στον αραβόσιτο και τα προϊόντα αραβοσίτου, ενώ σε πλήρη τροφή για ψάρια δεν πρέπει να υπερβαίνουν τα 10,0 mg/kg (Eur. Communities 2006, L229, 7).

Παρόλο λοιπόν που σε όλα τα δείγματα που εξετάστηκαν, η συγκέντρωση της μυκοτοξίνης ήταν κάτω από τα επιτρεπόμενα όρια, το ανησυχητικό είναι, ο μεγάλος αριθμός δειγμάτων που βρέθηκαν θετικά.

Τέλος η ωχρατοξίνη Α δεν ανιχνεύτηκε στα δείγματά μας. Το πιο πιθανό είναι τα δείγματα μας να είναι απαλλαγμένα ωχρατοξίνης Α. Κάτι το οποίο διαπιστώθηκε και στην βιβλιογραφική ανασκόπηση, κατά τη διεξαγωγή της έρευνας της BIOMIN, ότι η

ύπαρξη ωχρατοξίνης στα δείγματα καλαμποκιού ήταν τελευταία στην σειρά κατάταξης που σημαίνει ότι πιο σπάνια ανιχνεύονται ωχρατοξίνες στο καλαμπόκι συγκριτικά με τις άλλες μυκοτοξίνες.

Συμπερασματικά η έρευνά μας έδειξε ότι τα δείγματα μολυσμένα με Φουμονισινες ήταν τα πιο άφθονα θετικά δείγματα (>60%), ακολουθούμενα από >ZEN> DON >AFs> OTA.

Στις ιχθυοτροφές, τα FBs και το DON είναι από τις πιο συχνά ανιχνευόμενες μυκοτοξίνες σε υψηλά επίπεδα (Gonçalves et al. 2020). Αυτές οι μυκοτοξίνες μπορούν δυνητικά να προκαλέσουν προβλήματα στις λειτουργίες των ιχθυοτροφείων, με σημαντικές οικονομικές απώλειες όπως η θνησιμότητα, παραγωγικότητα και μεγαλύτερη ευαισθησία σε ασθένειες (Koletsis et al. 2021).

Το ZEN μπορεί να προκαλέσει αναπαραγωγικά προβλήματα όπως υπεριοιστρογονισμό, στειρότητα, ακόμη και αποβολές, που επηρεάζονται από την οιστρογονική δραστηριότητα του ZEN που παρεμβαίνει στην αναπαραγωγή των ζώων (Da Rocha et al. 2014).

Οι λόγοι της διαφοροποίησης των τιμών των μυκοτοξινών στα δείγματα αναλύονται παρακάτω:

Η συχνότητα εμφάνισης μυκοτοξινών στον αραβόσιτο ποικίλλει μεταξύ των περιοχών, λόγω των διαφορών στις γεωγραφικές τοποθεσίες ανάπτυξης του αραβοσίτου, συμπεριλαμβανομένων των μετεωρολογικών συνθηκών (Perrone et al. 2020) και της τοξικότητας των μυκητιακών πληθυσμών (Okoth et al. 2012). Κάθε περιοχή έχει το δικό της μοναδικό μοτίβο μυκοτοξινών.

Ένας βασικός μοχλός αυτής της υψηλής συσχέτισης μεταξύ του επιπολασμού της μυκοτοξίνης και της περιοχής είναι τα κλιματικά χαρακτηριστικά (υγρασία, θερμοκρασία και βροχοπτώσεις), που παρέχουν τις προϋποθέσεις για λοίμωξη από τοξινογόνους μύκητες και συσσώρευση μυκοτοξινών (Paterson, Russell, and Lima 2010). Όταν οι κλιματικές συνθήκες είναι ευνοϊκές για την ανάπτυξη μυκήτων, η μόλυνση με μυκοτοξίνες είναι πιο σοβαρή (Mahdjoubi et al. 2020). Για παράδειγμα, οι μύκητες *Aspergillus* (AFs και OTA παραγωγοί), ιδιαίτερα το *A.flavus*, είναι πιο κοινά σε περιοχές κυρίως υψηλής ξηρασίας και υψηλής θερμοκρασίας (Munkvold et al. 2019).

Οι επιπτώσεις της κλιματικής αλλαγής στη μόλυνση του καλαμποκιού από μυκοτοξίνες

Έχει προταθεί ότι η κλιματική αλλαγή είναι ένας παγκόσμιος παράγοντας που οδηγεί σε αναδυόμενους κινδύνους για την ασφάλεια των τροφίμων και των ζωοτροφών, καθώς και για την υγεία των φυτών και των ζώων και τα διατροφικά χαρακτηριστικά.

Αντικατοπτρίζοντας αυτήν την ανησυχία, το Περιβαλλοντικό Πρόγραμμα του ΟΗΕ εξέτασε την αύξηση του κινδύνου μυκοτοξινών που σχετίζεται με την κλιματική αλλαγή κατά τη διάρκεια της ετήσιας συνέλευσης του 2016 (Harvey et al. 2016). Οι βροχοπτώσεις, η υγρασία και η θερμοκρασία είναι οι κύριοι παράγοντες του στρες του καλαμποκιού (το οποίο αυξάνει την ευαισθησία σε μυκητιακά παθογόνα και μυκοτοξίνες) και της ανάπτυξη μυκήτων και παραγωγής μυκοτοξινών.

Οι επιδράσεις των κλιματικών συνθηκών στη μυκοτοξινογενή ή μυκητιασική μόλυνση και τη μόλυνση του καλαμποκιού από μυκοτοξίνες έχουν τεκμηριωθεί ευρέως και αξιοποιήθηκαν για χαρτογράφηση κινδύνου και προσομοίωση γεωργικής παραγωγής (Moretti, Pascale και Logrieco 2019, Chauhan et al. 2015).

Πολλαπλές μελέτες έχουν δείξει ότι η διακύμανση των καιρικών συνθηκών μπορεί να προκαλέσει διαχρονικά διαφορές στις παρατηρούμενες συχνότητες και συγκεντρώσεις μυκοτοξινών και την παρουσία του *Fusarium spp.* (Gruber-Dorninger, Jenkins και Schatzmayr 2018· Vandicke et al. 2019). Οι Vandicke et al. (2019) διαπίστωσαν επίσης ότι η διακύμανση των καιρικών συνθηκών θα μπορούσε να επηρεάσει τους πληθυσμούς των μυκήτων και να επηρεάσει σημαντικά την αντίστοιχη μόλυνση του αραβοσίτου από μυκοτοξίνες. Οι Φουμονισίνες βρέθηκαν μόνο στο 2% των δειγμάτων το 2016, τα οποία καλλιεργήθηκαν σε μέρη υγρά και κρύα, αλλά στο 61% των δειγμάτων που καλλιεργήθηκαν σε ζεστά και ξηρά μέρη στη Φλάνδρα του Βέλγιο το 2018.

Οι πιθανές επιπτώσεις που επιφέρει η κλιματική αλλαγή για τους τοξικογόνους μύκητες και τους κινδύνους μυκοτοξινών δικαιολογούν περαιτέρω μελέτη. Απαιτείται διεπιστημονική συνεργασία για την αντιμετώπιση αυτών των νέων πεδίων και την ανάπτυξη κατάλληλων στρατηγικών παρέμβασης, όπως η δημιουργία ενός προγνωστικού μοντέλου για τους αγρότες να μειώσει την επίδραση των μυκοτοξινών και να εξασφαλίσει έτσι την τροφή και την ασφάλεια των ζωοτροφών.

Είναι σημαντικό να παρακολουθούνται τακτικά οι πρώτες ύλες καθώς και οι έτοιμες τροφές αφού οι μυκοτοξίνες παράγονται κατά τη διάρκεια των συνθηκών αποθήκευσης. Θα πρέπει να χρησιμοποιούνται αντιμυκητιασικοί παράγοντες για τη μείωση της μόλυνσης από μυκοτοξίνες στα συστατικά των ζωοτροφών και στις τελικές τροφές ψαριών. Απαιτείται περαιτέρω έρευνα για τον έλεγχο των συνεργιστικών επιδράσεων των μυκοτοξινών όταν οι τροφές είναι μολυσμένες με περισσότερες από μία μυκοτοξίνη (Marijani et al. 2019).

Η μελλοντική έρευνα στον τομέα της μυκοτοξίκωσης στα ψάρια θα πρέπει να επικεντρωθεί στις επιπτώσεις των συνδυασμών μυκοτοξινών. Το καλαμπόκι αναγνωρίστηκε ως το συστατικό με τον υψηλότερο κίνδυνο μόλυνσης με μυκοτοξίνες, οι οποίες συχνά δεν μπορούν να ανιχνευθούν με τις κοινές χρησιμοποιούμενες μεθόδους ταχείας ανίχνευσης σε εργοστάσια ζωοτροφών. Αναλύσεις μυκοτοξινών τελευταίας τεχνολογίας είναι απαραίτητες για την ανίχνευση του πλήρους φάσματος των μυκοτοξινών στις ιχθυοτροφές με στόχο την πρόληψη των επιζήμιων επιπτώσεων για τα εκτρεφόμενα ψάρια και τις επακόλουθες οικονομικές απώλειες για τους ιχθυοκαλλιεργητές (Koletsi et al. 2021).

5. ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

Ένα θέμα που πρέπει να προβληματίσει την επιστημονική κοινότητα είναι η συνεργατική δράση των μυκοτοξινών, στην περίπτωση που σε κάποιο δείγμα συνυπάρχουν πάνω από μια μυκοτοξίνες ακόμη και εάν αυτές βρίσκονται κάτω από τα επιτρεπτά από τη νομοθεσία όρια. Η μόλυνση των ιχθυοτροφών από πολλές τοξίνες μπορεί να προκύψει από τη μόλυνση των πρώτων υλών που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή σύνθετων ιχθυοτροφών από μύκητες που παράγουν περισσότερες από μία μυκοτοξίνες ταυτόχρονα.

Αυτό μπορεί να συμβεί με μύκητες του γένους *Fusarium spp.* τα οποία μπορεί να παράγουν περισσότερες από μία τοξίνες στις καλλιέργειες τις οποίες μολύνουν. Για παράδειγμα, μόλυνση με ζεαραλενόνη και φουμονισίνες (Scudamore et al. 2000) και μόλυνση με φουμονισίνη και τριχοθηκένια (Yoshizawa et al. 1994) έχουν περιγραφεί

στον αραβόσιτο. Η συν-μόλυνση των καλλιεργειών και της ζωοτροφής μπορεί επίσης να προκύψει από τη μόλυνση από διαφορετικούς μύκητες που συνθέτουν διαφορετικές μυκοτοξίνες. Το σόργο, για παράδειγμα, βρέθηκε να έχει μολυνθεί τόσο από *Fusarium* όσο και από *Aspergillus* και, κατά συνέπεια, την προσβολή με φουμονισίνη B1 και αφλατοξίνη B1 μετά από αποθήκευση για μεγάλο χρονικό διάστημα (Da Silva et al. 2000). Έχει επίσης αναφερθεί και η ταυτόχρονη μόλυνση της ιχθυοτροφής με μυκοτοξίνες (Barbosa et al. 2013).

Οι συνέπειες της κατάποσης ζωοτροφών και τροφίμων που έχουν μολυνθεί ταυτόχρονα από διαφορετικές μυκοτοξίνες δεν είναι ακόμα γνωστές, ιδιαίτερα οι επιπτώσεις στα ψάρια, και απαιτούνται περισσότερες εργαστηριακές μελέτες για να αντιληφθεί η βιολογική τους δραστηριότητα. Ωστόσο, μετά την κατανάλωση, ενδέχεται να υπάρχουν διαφορετικές μυκοτοξίνες οι οποίες αλληλεπιδρούν μεταξύ τους (Tavares et al. 2013) και κατά συνέπεια, έχουν συνεργικές ή/και προσθετικές δράσεις, ιδιαίτερα αν οι μηχανισμοί δράσης είναι παρόμοιοι. Η ωχρατοξίνη A και η κιτρινίνη, για παράδειγμα, είναι δύο νεφροτοξικές μυκοτοξίνες που μαζί ασκούν συνεργικές δράσεις. Επίσης η κατανάλωση πολλαπλών τριχοθηκενίων, τα οποία είναι ανοσοκατασταλτικά, έχουν αθροιστικά αποτελέσματα σε μεγάλη ποικιλία ζώων (Speijers et al. 2004). Οι μυκοτοξίνες μπορεί να προκαλέσουν προβλήματα υγείας στα ζώα όταν εμφανίζονται τυχαία ή συνεργικά με άλλα μυκοτοξίνες στη διατροφή των ζώων (Streit et al. 2013). Έτσι, θα μπορούσε να θεωρηθεί ως ιδιαίτερα αυξημένη απειλή για την υγεία, η κατανάλωση ψαριών που έχουν μολυνθεί από μυκοτοξίνες.

Η κατάποση τροφών μολυσμένων με μυκοτοξίνες μπορεί να επηρεάσει την υγεία των ψαριών και να συμβάλλει επίσης στην οικονομική απώλεια των ιχθυοκαλλιεργητών. Τα αποτελέσματα της μόλυνσης από μυκοτοξίνες στις ιχθυοτροφές δεν διαφέρουν από άλλα ζωικά είδη που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση και συνδέονται άμεσα με απώλειες παραγωγής, ιδιαίτερα μειωμένη αύξηση βάρους και μετατρεψιμότητα της τροφής, μειωμένο ανοσοποιητικό σύστημα και αναπαραγωγική απόδοση και αυξημένη θνησιμότητα ψαριών. Τα ψάρια μπορεί επίσης να μεταφέρουν υπολείμματα μυκοτοξίνης κατά μήκος της τροφικής αλυσίδας, θέτοντας έτσι σε κίνδυνο την ανθρώπινη υγεία. Επομένως, είναι σημαντικό να διασφαλιστεί ο έλεγχος της μόλυνσης από μυκοτοξίνες στις ιχθυοτροφές, ειδικά κατά την παραγωγή και την αποθήκευση. Χρήση σπόρων που

έχει γίνει επικάλυψη με μυκητοκτόνο μπορεί να μειώσουν τη μόλυνση από μυκοτοξίνες στις ζωοτροφές.

Η Καλή Γεωργική Πρακτική (GAP) είναι ένα σημαντικό εργαλείο για την ελαχιστοποίηση της εμφάνισης μυκοτοξινών και θα πρέπει να είναι συνεχής η παρακολούθηση των καλλιεργειών. Περαιτέρω έρευνα σχετικά με την εφαρμογή καλών πρακτικών και στρατηγικών γεωργικής αποθήκευσης για τον μετριασμό του κινδύνου από τις μυκοτοξίνες στον αραβόσιτο είναι κρίσιμης σημασίας (Carbas et al. 2021).

6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η χρήση συστατικών φυτικής προέλευσης στις ιχθυοτροφές μπορεί να ενέχει σοβαρές απειλές για την παραγωγικότητα της υδατοκαλλιέργειας μέσω ενός αυξημένου ποσοστού μόλυνσης από μυκοτοξίνες. Πρόσληψη μυκοτοξινών από ψάρια αυξάνει τα ποσοστά ασθενειών και θνησιμότητας και τη συχνότητα αναπαραγωγικών προβλημάτων και μειώνει την αύξηση βάρους, οδηγώντας σε σημαντικές οικονομικές απώλειες.

Επιπλέον, η συσσώρευση ακόμη και μικρών δόσεων μυκοτοξινών στο μυϊκό σύστημα του ψαριού μπορεί να σημαίνει σοβαρή απειλή για την υγεία των καταναλωτών του. Από τη μία, αυτό συμβάλλει στην ήδη υψηλή επιβάρυνση της έκθεσης σε αυτούς τους τοξικούς μεταβολίτες, ιδιαίτερα σε αναπτυσσόμενες χώρες ή σε περιοχές όπου η κατανάλωση δημητριακών είναι υψηλή. Από την άλλη πλευρά, η ανθρώπινη έκθεση σε μικρές δόσεις μυκοτοξινών για μεγάλο χρονικό διάστημα μπορεί να οδηγήσει σε χρόνιες επιδράσεις όπως καρκίνος ή ανοσοανεπάρκεια. Έτσι, η παρουσία μυκοτοξινών στις ιχθυοτροφές έχει σοβαρές επιπτώσεις τόσο στην οικονομία όσο και στη δημόσια υγεία. Ως εκ τούτου, στρατηγικές για τον έλεγχο της μόλυνσης, τόσο πριν όσο και μετά τη συγκομιδή και η μείωση της έκθεσης είναι θεμελιώδεις. Παρακολούθηση των ακατέργαστων συστατικών καθώς και των τελικών ζωοτροφών θα πρέπει να γίνουν κοινή πρακτική για την προστασία της υδατοκαλλιέργειας καθώς αναπτύσσεται στο μέλλον (Oliveira και Vasconelos 2020). Όσον αφορά την υγεία των ψαριών, οι πιο επιβλαβείς μυκοτοξίνες είναι η αφλατοξίνη B1 και οι μυκοτοξίνες *Fusarium*.

Η μυκοτοξική μόλυνση μπορεί να επηρεάσει σημαντικά την υγεία των ζώων, προκαλώντας λειτουργικές ανωμαλίες, ηπατικά προβλήματα, τοξικότητα, μειωμένη

ανάπτυξη και χαμηλή παραγωγικότητα (Santos Pereira et al. 2019, Marijani et al. 2019, Oliveira et al. 2020, Zain et al. 2011, Koletsi et al. 2021).

Χρόνια έκθεση σε χαμηλά επίπεδα της αφλατοξίνης έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει τις πιθανότητες εμφάνισης νεοπλασίας στα ψάρια και όσον αφορά τους ανθρώπους η αφλατοξίνη B1 έχει ισχυρές γονιδιοτοξικές και καρκινογόνες δράσεις και έχει ταξινομηθεί ως ομάδα-1 καρκινογόνο από τον Διεθνή Οργανισμό Έρευνας για τον Καρκίνο του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (IARC).

Στη διάρκεια της τελευταίας δεκαετίας, οι αναλυτικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση μυκοτοξινών περιλαμβάνουν τη χρήση χρωματογραφικών, ανοσολογικών και φασματοσκοπικών μεθόδων (NIR) καθώς και βιοαισθητήρων (Vardali et al. 2023).

Τα όρια για τα μυκοτοξίνες στις ζωοτροφές στην Ευρωπαϊκή Ένωση καθορίζονται στο πλαίσιο της νομοθεσίας της ΕΕ για την ασφάλεια των ζωοτροφών. Οι κανονισμοί και οι οδηγίες που έχουν θεσπιστεί για την προστασία της υγείας των ζώων και την παραγωγή ασφαλών τροφίμων ζωικής προέλευσης και αφορούν τα μέγιστα επιτρεπόμενα όρια για μυκοτοξίνες στις ζωοτροφές είναι: ο Κανονισμός (ΕΚ) αριθ.1881/2006, ο Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 401/2006 της και η Οδηγία 2002/32/ΕΚ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Abbas, H. K., J. R. Wilkinson, R. M. Zablotowicz, C. Accinelli, C. A. Abel, H. A. Bruns, and M. A. Weaver. 2009. Ecology of *Aspergillus flavus*, regulation of aflatoxin production, and management strategies to reduce aflatoxin contamination of corn. *Toxin Reviews* 28 (2–3):142–53. doi: 10.1080/15569540903081590.
2. Abdual-Shahid, D.K.; Abbas, O.S.; Mohammad, Z. Isolation and Characterization of Fungi and Mycotoxins (Deoxynivalenol and Zearalenone) in Fish Feed from Baghdad City. *Diyala J. Agric. Sci.* 2013, 5, 38–44.
3. Abdulfattah Bashorun a , Zahoor Ul Hassan a , Mehsein Al-Ansi Al-Yafei a,b , Samir Jaoua a, Fungal contamination and mycotoxins in aquafeed and tissues of aquaculture fishes and their biological control, *Aquaculture* Volume 576, 15 November 2023, 739892
4. Adegoke, G. O., and P. Letum. 2013. Strategies for the prevention and reduction of mycotoxins in developing countries. In *Mycotoxin and food safety in developing countries*. eds. A. M. Hussaini. London: IntechOpen.
5. Agag, B. Mycotoxins in Foods and Feeds 1-Aflatoxins. *Assiut Univ. Bull. Environ. Res.* 2004, 7, 173–206.
6. Agriopoulou, S., E. Stamatelopoulou, and T. Varzakas. 2020. Advances in occurrence, importance, and mycotoxin control strategies: Prevention and detoxification in foods. *Foods* 9 (2):137. doi: 10.3390/foods9020137.
7. Albrektsen et al. (2022) Future feed resources in sustainable salmonid production: A review. *Rev. Aquac.* 14:1790–1812
8. Anater, A., Manyes, L., Meca, G., Ferrer, E., Luciano, F. B., Pimpão, C. T., & Font, G. (2016). Mycotoxins and their consequences in aquaculture: A review. In *Aquaculture* (Vol. 451, pp. 1–10). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.08.022>
9. Barbosa, T.S.; Pereyra, C.M.; Soleiro, C.A.; Dias, E.O.; Oliveira, A.A.; Keller, K.M.; Silva, P.P.O.; Cavaglieri, L.R.; Rosa, C.A.R. Mycobiota and mycotoxins present in finished fish feeds from farms in the Rio de Janeiro State, Brazil. *Int. Aquat. Res.* 2013, 5.
10. Bennett, J.; Klich, M. Mycotoxins. *Clin. Microbiol. Rev.* 2003, 16, 497–516.
11. Bernhoft, A.; Høgåsen, H.R.; Rosenlund, G.; Moldal, T.; Grove, S.; Berntssen, M.H.G.; Thoresen, S.I.; Alexander, J. Effects of dietary deoxynivalenol or ochratoxin A on performance and selected health indices in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Food Chem. Toxicol.* 2018, 121, 374–386
12. Berthiller, F.; Crews, C.; Dall'Asta, C.; Saeger, S.D.; Haesaert, G.; Karlovsky, P.; Oswald, I.P.; Seefelder, W.; Speijers, G.; Stroka, J. Masked mycotoxins: A review. *Mol. Nutr. Food Res.* 2013, 57, 165–186.

13. Bhat, R.V.; Ramakrishna, Y.; Beedu, S.R.; Munshi, K.L. Outbreak of trichothecene mycotoxicosis associated with consumption of mould-damaged wheat production in Kashmir Valley, India. *Lancet* 1989, 7, 35–37.
14. Bhatnagar-Mathur, P., S. Sunkara, M. Bhatnagar-Panwar, F. Waliyar, and K. K. Sharma. 2015. Biotechnological advances for combating *Aspergillus flavus* and aflatoxin contamination in crops. *Plant Science: An International Journal of Experimental Plant Biology* 234:119–32. doi: 10.1016/j.plantsci.2015.02.009
15. BIOMIN. 2019. BIOMIN world mycotoxin survey report. <https://www.biomin.net/downloads/2019-biomin-world-mycotoxin-survey-report/>.
16. Boedeker, W., M. Watts, P. Clausen, and E. Marquez. 2020. The global distribution of acute unintentional pesticide poisoning: Estimations based on a systematic review. *BMC Public Health* 20 (1):1875. doi: 10.1186/s12889-020-09939-0.
17. Brander, M., T. Bernauer, and M. Huss. 2021. Improved on-farm storage reduces seasonal food insecurity of smallholder farmer households – Evidence from a randomized control trial in Tanzania. *Food Policy*. 98:101891. doi: 10.1016/j.foodpol.2020.101891.
18. Bullerman, L.B.; Bianchini, A. Stability of mycotoxins during food processing. *Int. J. Food Microbiol.* 2007, 119, 140–146
19. Carbas, B., D. Simoes, A. Soares, A. Freitas, B. Ferreira, A. R. F. Carvalho, A. S. Silva, T. Pinto, E. Diogo, E. Andrade, et al. 2021. Occurrence of *Fusarium* spp. in maize grain harvested in Portugal and accumulation of related mycotoxins during storage. *Foods* 10 (2):375. doi: 10.3390/foods10020375.
20. Chakraborty, P.; Mallik, A.; Sarang, N.; Lingam, S.S. A review on alternative plant protein sources available for future sustainable aqua feed production. *Int. J. Chem. Stud.* 2019, 7, 1399–1404.
21. Channaiah, L. H., and D. E. Maier. 2014. Best stored maize management practices for the prevention of mycotoxin contamination. In *Mycotoxin reduction in grain chains*, eds. F. L. John, and F. L. Antonio, 78–88. New Jersey, NJ: John Wiley & Sons, Inc.
22. Chauhan, Y., J. Tatnell, S. Krosch, J. Karanja, B. Gnonlonfin, I. Wanjiku, J. Wainaina, and J. Harvey. 2015. An improved simulation model to predict pre-harvest aflatoxin risk in maize. *Field Crops Research* 178:91–9. doi: 10.1016/j.fcr.2015.03.024
23. Chulze, S. N. 2010. Strategies to reduce mycotoxin levels in maize during storage: A review. *Food Additives & Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment* 27 (5):651– 7. doi: 10.1080/19440040903573032.
24. Commission of the European Communities. COMMISSION RECOMMENDATION of 17 August 2006 on the presence of deoxynivalenol, zearalenone, ochratoxin A, T-2 and HT-2 and fumonisins in products intended for animal feeding. *Off. J. Eur. Communities* 2006, L229, 7.

25. Commission of the European Communities. COMMISSION REGULATION (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Off. J. Eur. Communities 2006, L364, 5.
26. Council for Agricultural Science and Technology. Mycotoxins: Risks in Plant, Animal, and Human Systems; Council for Agricultural Science and Technology: Ames, IA, USA, 2003; ISBN 1-887383-22-0.
27. Da Rocha, M.E.B.; Freire, F.d.C.O.; Maia, F.E.F.; Guedes, M.I.F.; Rondina, D. Mycotoxins and their effects on human and animal health. *Food Control* 2014, 36, 159–165.
28. Da Silva, J.B.; Pozzi, C.R.; Mallozzi, M.A.B.; Ortega, E.M.; Corrêa, B. Mycoflora and occurrence of aflatoxin B1 and fumonisin B1 during storage of Brazilian sorghum. *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 4352–4356.
29. Dehghan, P.; Pakshir, K.; Rafiei, H.; Chadeganipour, M.; Akbari, M. Prevalence of ochratoxin A in human milk in the Khorrambid Town, Fars Province, south of Iran. *Jundishapur J. Microbiol.* 2014, 7, e11220. [CrossRef]
30. Demissie, N. 2018. A review of aflatoxin: Occurrence, prevention, and gaps in both food and feed safety. *Novel Techniques in Nutrition & Food Science* 1 (3):190–7. doi: 10.31031/ntnf.2018.01.000511.
31. Deng, S.X.; Tian, L.X.; Liu, F.J.; Jin, S.J.; Liang, G.Y.; Yang, H.J.; Du, Z.Y.; Liu, Y.J. Toxic effects and residue of aflatoxin B1 in tilapia (*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*) during long-term dietary exposure. *Aquaculture* 2010, 307, 233–240.
32. Diab, A.M.; Salem, R.M.; Abeer, E.-K.M.S.; Ali, G.I.E.; El-Habashi, N. Experimental ochratoxicosis A in Nile tilapia and its amelioration by some feed additives. *Int. J. Vet. Sci. Med.* 2018, 6, 149–158.
33. Dubey, S., S. Zacharia, S. Simon, and N. Singh. 2020. Efficacy of plant extracts and *Trichoderma viride* against leaf spot of maize caused by *Curvularia lunata*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 9 (5):495–500. doi: 10.20546/ijcmas.2020.905.055.
34. Dula, M. W. 2019. Review on development and performance evaluation of maize sheller. *International Journal of Engineering Research & Technology* 8 (05):471–481. doi: 10.17577/ijertv8is050329.
35. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain. Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of T-2 and HT-2 toxin in food and feed. *EFSA J.* 2011.
36. Elumalai, P.; Kurian, A.; Lakshmi, S.; Faggio, C.; Esteban, M.A.; Ringø, E. Herbal immunomodulators in aquaculture. *Rev. Fish. Sci. Aquac.* 2020, 29, 33–57.
37. Erenstein, O., M. Jaleta, K. Sonder, K. Mottaleb, and B. M. Prasanna. 2022. Global maize production, consumption and trade: Trends and R&D implications. *Food Security* 14 (5):1295–319. doi: 10.1007/s12571-022-01288-7.

38. Erickson, G. E., T. J. Klopfenstein, and A. K. Watson. 2012. Utilization of feed co-products from wet or dry milling for beef cattle. In *Biofuel co-products as livestock feed – Opportunities and challenges*, eds. H. P. S. Makkar, 77-99. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).
39. Eskola, M.; Kos, G.; Elliott, C.T.; Hajšlová, J.; Mayar, S.; Krska, R. Worldwide contamination of food-crops with mycotoxins: Validity of the widely cited “FAO estimate” of 25%. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2019.
40. European Commission. Commission Regulation (EC) No 401/2006 of 23 February 2006 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs. *Off. J. Eur. Union* 2006, 70, 12–34
41. European Economic Community. DIRECTIVE 2002/32/EC OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 7 May 2002 on undesirable substances in animal feed. *Off. J. Eur. Communities* 2002, L140, 10
42. European Food Safety Authority. Deoxynivalenol in food and feed: Occurrence and exposure. *EFSA J.* 2013, 11, 3379.
43. European Food Safety Authority. Deoxynivalenol in food and feed: Occurrence and exposure. *EFSA J.* 2013, 11, 3379.
44. FAO 1989. Drying and chemical treatment of grains to prevent mycotoxin contamination during storage. <https://www.fao.org/3/x5036e/x5036E0w.htm>
45. FAO. 2003. Development of a framework for good agricultural practices. Committee on Agriculture. <https://www.fao.org/3/Y8704e/Y8704e.htm>.
46. FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2018—Meeting the Sustainable Development Goals; FAO: Rome, Italy, 2018.
47. FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation; FAO: Rome, Italy, 2022.
48. FAOSTAT. 2021. Food and agriculture data. Accessed May 6, 2021. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
49. Froehlich, H.E.; Jacobsen, N.S.; Essington, T.E.; Clavelle, T.; Halpern, B.S. Avoiding the ecological limits of forage fish for fed aquaculture. *Nat. Sustain.* 2018, 1, 298–303.
50. Fuchs, R.; Appelgren, L.-E.; Hult, K. Distribution of ¹⁴C-Ochratoxin A in the rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Acta Pharmacol. Toxicol. (Copenh.)* 1986, 59, 220–227.
51. Garcia-Diaz, M., J. Gil-Serna, C. Vazquez, M. N. Botia, and B. Patino. 2020. A Comprehensive Study on the occurrence of mycotoxins and their producing fungi during the maize production cycle in Spain. *Microorganisms* 8 (1):141. doi: 10.3390/microorganisms8010141.
52. Gatlin, D.M., III; Barrows, F.T.; Brown, P.; Dabrowski, K.; Gaylord, T.G.; Hardy, R.W.; Herman, E.; Hu, G.; Kroghdahl, Å.; Nelson, R. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: A review. *Aquac. Res.* 2007, 38, 551–579.

53. Giorni, P., T. Bertuzzi, and P. Battilani. 2019. Impact of fungi co-occurrence on mycotoxin contamination in maize during the growing season. *Frontiers in Microbiology* 10:1265. doi: 10.3389/fmicb.2019.01265.
54. Gonçalves, R.A.; Schatzmayr, D.; Albalat, A.; Mackenzie, S. Mycotoxins in aquaculture: Feed and food. *Rev. Aquac.* 2020, 12, 145–175.
55. Gonçalves-Nunes, E.M.C.; Gomes-Pereira, M.M.; Raposo-Costa, A.P.; da Rocha-Rosa, C.A.; Pereyra, C.M.; Calvet, R.M.; Alves-Marques, A.L.; Cardoso-Filho, F.; Sanches-Muratori, M.C. Screening of aflatoxin B1 and mycobiota related to raw materials and finished feed destined for fish. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 2015, 43, 595–600.
56. Gruber-Dorninger, C., T. Jenkins, and G. Schatzmayr. 2018. Multi-mycotoxin screening of feed and feed raw materials from Africa. *World Mycotoxin Journal* 11 (3):369–83. doi: 10.3920/Wmj2017.2292
57. Gruber-Dorninger, C., T. Jenkins, and G. Schatzmayr. 2019. Global mycotoxin occurrence in feed: A ten-year survey. *Toxins (Basel)* 11 (7):375. doi: 10.3390/toxins11070375.
58. Guardone, L.; Tinacci, L.; Luci, G.; Meucci, V.; Intorre, L.; Armani, A. Determination of ochratoxin A in European seabass and gilthead seabream in Italy. In *Proceedings of the LXXII SISvet, Torino, Italy, 20–22 June 2008*.
59. Gupta, R. C. 2007. Basic and clinical principles of veterinary toxicology. In *Veterinary Toxicology*, eds. C. G. Ramesh, 939–1018. New York: Elsevier.
60. Hadlok, R. Human ochratoxicosis in Germany updating 1993. *Hum. Ochratoxicosis Its Pathol.* 1993, 231, 141–145
61. Haque, M.A.; Wang, Y.; Shen, Z.; Li, X.; Saleemi, M.K.; He, C. Mycotoxin contamination and control strategy in human, domestic animal and poultry: A review. *Microb. Pathog.* 2020, 142, 104095.
62. Hardy, R.W. Utilization of plant proteins in fish diets: Effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquac. Res.* 2010, 41, 770–776.
63. Harvey, J., M. Macdefette, S. Mutiga, J. M. Mutuku, T. Eldridge, P. Emmrich, D. Grace, S. Senay, A. Abate, R. Darnell, et al. 2016. Poisoned Chalice: Toxin accumulation in crops in the era of climate change. In *Unfp Frontiers 2016 Report*, 54–62. Nairobi: United Nations Environment Programme
64. Hashimoto, E.H.; do Santos, M.A.; Ono, E.Y.S.; Hayashi, C.; Bracarense, A.P.F.R.L.; Hirooka, E.Y. Bromatology and fumonisin and aflatoxin contamination in aquaculture feed of the region of Londrina, State of Paraná, Brazil. *Semina Ciênc. Agrár. Londrina* 2003, 24, 123–132.
65. Hell, K., P. Fandohan, R. Bandyopadhyay, K. Cardwell, S. Kiewnick, R. Sikora, and P. Cotty. 2008. Pre- and postharvest management of aflatoxin in maize: An African perspective. *African Journal of Microbiology Research* 19:219–229

66. Hendel, E. G., P. N. Gott, G. R. Murugesan, and T. Jenkins. 2017. 033 Survey of mycotoxins in 2016 United States corn. *Journal of Animal Science* 95 (suppl_4):16–7. doi: 10.2527/asasann.2017.033
67. Hengeveld, L.M.; Praagman, J.; Beulens, J.W.J.; Brouwer, I.A.; Van Der Schouw, Y.T.; Sluijs, I. Fish consumption and risk of stroke, coronary heart disease, and cardiovascular mortality in a Dutch population with low fish intake. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2018, 72, 942–950.
68. Hixson, S.M. Fish nutrition and current issues in aquaculture: The balance in providing safe and nutritious seafood, in an environmentally sustainable manner. *J. Aquac. Res. Dev.* 2014, 5, 1–10.
69. Hooft, J.M.; Elmor, A.E.H.I.; Encarnação, P.; Bureau, D.P. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is extremely sensitive to the feed-borne *Fusarium* mycotoxin deoxynivalenol (DON). *Aquaculture* 2011, 311, 224–232.
70. IndexMundi—Country Facts. Available online: <https://www.indexmundi.com/agriculture/?commodity=fish-meal&graph=production> (accessed on 23 December 2022).
71. International Agency for Research on Cancer List of Classifications. Available online: <https://monographs.iarc.fr/list-of-classifications> (accessed on 6 January 2020).
72. Iveta Matejova, Zdenka Svobodova and Josef Vakula, Jan Mares and Helena Modra, Impact of Mycotoxins on Aquaculture Fish Species: A Review, 2016, JOURNAL OF THE WORLD AQUACULTURE SOCIETY
73. Jakic-Dimic, D.; Jeremic, S.; Nesic, K.; Radosavljevic, V. The influence of mycotoxins in food on fish health status. *Zb. Matice Srp. Za Prir. Nauke* 2005, 109, 73–79.
74. Jantrarotai, W.; Lovell, R.T. Subchronic toxicity of dietary aflatoxin B1 to channel catfish. *J. Aquat. Anim. Health* 1990.
75. JECFA. 2017. Evaluation of certain contaminants in food: Eighty-third report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organization, Geneva.
76. Jinghua Chang, Hao Luo, Lin Li, Junnan Zhang, Jagger Harvey, Yueju Zhao, Guangtao Zhang & Yang Liu (2023): Mycotoxin risk management in maize gluten meal, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, DOI: 10.1080/10408398.2023.2190412
77. Joint FAO; WHO Expert Committee on Food Additives. Evaluation of Certain Mycotoxins in Food: Fifty-sixth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2001
78. Joutsjoki, V. V., and H. J. Korhonen. 2021. Management strategies for aflatoxin risk mitigation in maize, dairy feeds and milk value chains—case study Kenya. *Food Quality and Safety* 5(1):1–11.
79. Kamala, A.; Shirima, C.; Jani, B.; Bakari, M.; Sillo, H.; Rusibamayila, N.; De Saeger, S.; Kimanya, M.; Gong, Y.Y.; Simba, A.; et al. Outbreak of an acute aflatoxicosis in Tanzania during 2016. *World Mycotoxin J.* 2018, 11, 311–320.

80. Karapanagiotidis I.T. (2014). The Re-Authorization of Non-Ruminant Processed Animal Proteins in European Aqua feeds. *Fisheries and Aquaculture Journal* 5:4
81. Kholife, M.M.; Moawad, A.A.; Diab, A.M.; Abeer, E.K.M.S. Mycological examination of fish feed stuff with special reference to mycotoxin production. *Slov. Vet. Res.* 2019, 56, 303–312.
82. Kokou, F.; Fountoulaki, E. Aquaculture waste production associated with antinutrient presence in common fish feed plant ingredients. *Aquaculture* 2018, 495, 295–310.
83. Koletsi, P.; Schrama, J.W.; Graat, E.A.M.; Wiegertjes, G.F.; Lyons, P.; Pietsch, C. The Occurrence of Mycotoxins in Raw Materials and Fish Feeds in Europe and the Potential Effects of Deoxynivalenol (DON) on the Health and Growth of Farmed Fish Species—A Review. *Toxins* 2021, 13, 403.
84. Kos, J., E. J. Hajnal, B. Šarić, P. Jovanov, N. Nedeljković, I. Milovanović, and J. Krulj. 2017. The influence of climate conditions on the occurrence of deoxynivalenol in maize harvested in Serbia during 2013–2015. *Food Control* 73:734–40. doi: 10.1016/j.foodcont.2016.09.022
85. Krogh, P. The pathology of mycotoxicoses. *J. Stored Prod. Res.* 1969, 5, 259–264.
86. Krska, R.; Stubbings, G.; Macarthur, R.; Crews, C. Simultaneous determination of six major ergot alkaloids and their epimers in cereals and foodstuffs by LC–MS–MS. *Anal. Bioanal. Chem.* 2008, 391, 563–576.
87. Krska, R.; Welzig, E.; Berthiller, F.; Molinelli, A.; Mizaikoff, B. Advances in the analysis of mycotoxins and its quality assurance. *Food Addit. Contam.* 2005, 22, 345–353.
88. Kundam, D.N.; Acham, I.O.; Girgih, A.T. Bioactive Compounds in Fish and Their Health Benefits. *Asian Food Sci. J.* 2018, 4, 1–14.
89. Leite, M., A. Freitas, A. S. Silva, J. Barbosa, and F. Ramos. 2021. Maize food chain and mycotoxins: A review on occurrence studies. *Trends in Food Science & Technology* 115:307–31. doi: 10.1016/j.tifs.2021.06.045.
90. Li, P.; Zhang, Q.; Zhang, W. Immunoassays for aflatoxins. *TrAC Trends Anal. Chem.* 2009, 28, 1115–1126.
91. Li, R.; Wen, Y.; Wang, F.; He, P. Recent advances in immunoassays and biosensors for mycotoxins detection in feedstuffs and foods. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 2021, 12, 108.
92. Li, S.; Wang, J.; Sheng, W.; Wen, W.; Gu, Y.; Wang, S. Fluorometric lateral flow immunochromatographic zearalenone assay by exploiting a quencher system composed of carbon dots and silver nanoparticles. *Microchim. Acta* 2018, 185, 388.
93. Liu, Y.; Wu, F. Global burden of Aflatoxin-induced hepatocellular carcinoma: A risk assessment. *Environ. Health Perspect.* 2010, 118, 818–824. [CrossRef]
94. Maaroufi, K.; Pfohl-Leszkowicz, A.; Achour, A.; el May, M.; Grosse, Y.; Hammami, M.; Ellouz, F.; Creppy, E.E.; Bacha, H. Ochratoxin A genotoxicity, relation to renal tumors. *Arch. Inst. Pasteur Tunis* 1994, 71, 21–31.

95. Mahdjoubi, C. K., N. Arroyo-Manzanares, N. Hamini-Kadar, A. M. Garcia-Campana, K. Mebrouk, and L. Gamiz-Gracia. 2020. Multi-mycotoxin occurrence and exposure assessment approach in foodstuffs from Algeria. *Toxins (Basel)* 12 (3):194. doi: 10.3390/toxins12030194
96. Mahuku, G., H. S. Nzioki, C. Mutegi, F. Kanampiu, C. Narrod, and D. Makumbi. 2019. Pre-harvest management is a critical practice for minimizing aflatoxin contamination of maize. *Food Control* 96:219–26. doi: 10.1016/j.foodcont.2018.08.032.
97. Maiolo, S.; Parisi, G.; Biondi, N.; Lunelli, F.; Tibaldi, E.; Pastres, R. Fishmeal partial substitution within aquafeed formulations: Life cycle assessment of four alternative protein sources. *Int. J. Life Cycle Assess.* 2020, 25, 1455–1471.
98. Majer-Baranyi, K.; Adányi, N.; Székács, A. Biosensors for Deoxynivalenol and Zearalenone Determination in Feed Quality Control. *Toxins* 2021, 13, 499.
99. Malir, F.; Ostry, V.; Pfohl-Leszkowicz, A.; Malir, J.; Toman, J. Ochratoxin A: 50 years of research. *Toxins* 2016, 8, 191.
100. Manning, B.B.; Ulloa, R.M.; Li, M.H.; Robinson, E.H.; Rottinghaus, G.E. Ochratoxin A fed to channel catfish (*Ictalurus punctatus*) causes reduced growth and lesions of hepatopancreatic tissue. *Aquaculture* 2003, 219, 739–750.
101. Manu, N., G. P. Opit, E. A. Osekre, F. H. Arthur, G. Mbata, P. Armstrong, J. K. Danso, S. G. McNeill, and J. F. Campbell. 2019. Moisture content, insect pest infestation and mycotoxin levels of maize in markets in the northern region of Ghana. *Journal of Stored Products Research* 80:10–20. doi: 10.1016/j.jspr.2018.10.007.
102. Marijani, E.; Kigadye, E.; Okoth, S. Occurrence of fungi and mycotoxins in fish feeds and their impact on fish health. *Int. J. Microbiol.* 2019, 2019, 1–17.
103. Martins, H.M.; Marques, M.; Almeida, I.; Guerra, M.M.; Bernardo, F. Mycotoxins in feedstuffs in Portugal: An overview. *Mycotoxin Res.* 2008, 24, 19–23.
104. Matejova, I.; Modra, H.; Blahova, J.; Franc, A.; Fictum, P.; Sevcikova, M.; Svobodova, Z. The effect of mycotoxin deoxynivalenol on haematological and biochemical indicators and histopathological changes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *BioMed Res. Int.* 2014, 2014.
105. McMullin, D.; Mizaikoff, B.; Krska, R. Advancements in IR spectroscopic approaches for the determination of fungal derived contaminations in food crops. *Anal. Bioanal. Chem.* 2015, 407, 653–660.
106. Miles, R.D.; Chapman, F.A. The benefits of fish meal in aquaculture diets. *FA122/FA122*, 5/2006. *EDIS* 2006, 12, 1–7.
107. Miraglia, M.; De Santis, B.; Minardi, V.; Debegnach, F.; Brera, C. The role of sampling in mycotoxin contamination: An holistic view. *Food Addit. Contam.* 2005, 22, 31–36.
108. Missmer, S.A.; Suarez, L.; Felkner, M.; Wang, E.; Merrill, A.H.; Rothman, K.J.; Hendricks, K.A. Exposure to fumonisins and the occurrence of neutral tube defects along the Texas-Mexico border. *Environ. Health Perspect.* 2006, 114, 237–241.

109. Mitchell, N. J., E. Bowers, C. Hurburgh, and F. Wu. 2016. Potential economic losses to the US corn industry from aflatoxin contamination. *Food Additives & Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment* 33 (3):540–50. doi: 10.1080/19440049.2016.1138545.
110. Moldal, T.; Bernhoft, A.; Rosenlund, G.; Kaldhusdal, M.; Koppang, E.O. Dietary deoxynivalenol (DON) may impair the epithelial barrier and modulate the cytokine signaling in the intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Toxins* 2018, 10, 376.
111. Momodu Foluke, O.; Adegboyega, C.O.; Chibundu, N.E.; Michael, S.; Rudolf, K. Detection of *Aspergillus* section *Flavi* and aflatoxins in locally formulated fish feeds from south-western Nigeria. In *Proceedings of the International Conference on Mycology & Mushrooms*, San Antonio, TX, USA, 12–14 September 2016.
112. Monda, E., J. Masanga, and A. Alakonya. 2020. Variation in occurrence and aflatoxigenicity of *Aspergillus flavus* from two climatically varied regions in Kenya. *Toxins (Basel)* 12 (1):34. doi: 10.3390/toxins12010034.
113. Moretti, A., M. Pascale, and A. F. Logrieco. 2019. Mycotoxin risks under a climate change scenario in Europe. *Trends in Food Science & Technology* 84:38–40. doi: 10.1016/j.tifs.2018.03.008.
114. Moretti, A.; Pascale, M.; Logrieco, A.F. Mycotoxin risks under a climate change scenario in Europe. *Trends Food Sci. Technol.* 2019, 84, 38–40.
115. Munkvold, G. P. 2003. Cultural and genetic approaches to managing mycotoxins in maize. *Annual Review of Phytopathology* 41:99–116. doi: 10.1146/annurev.phyto.41.052002.095510.
116. Munkvold, G. P., S. Arias, I. Taschl, and C. Gruber-Dorninger. 2019. Mycotoxins in corn: Occurrence, impacts, and management. In *Corn*, ed. S. O. Serna-Saldivar, 235–87. Oxford: AACC International Press
117. Mwihiia, E.W.; Mbuthia, P.G.; Eriksen, G.S.; Gathumbi, J.K.; Maina, J.G.; Mutoloki, S.; Waruiru, R.M.; Mulei, I.R.; Lyche, J.L. Occurrence and levels of aflatoxins in fish feeds and their potential effects on fish in Nyeri, Kenya. *Toxins* 2018, 10, 543.
118. Naylor, R.L.; Hardy, R.W.; Buschmann, A.H.; Bush, S.R.; Cao, L.; Klinger, D.H.; Little, D.C.; Lubchenco, J.; Shumway, S.E.; Troell, M. A 20-year retrospective review of global aquaculture. *Nature* 2021, 591, 551–563.
119. Neaj, K., K. Habschied, and K. Mastanjev. 2021. Possibilities for the biological control of mycotoxins in food and feed. *Toxins* 13 (3):198. doi: 10.3390/toxins13030198.
120. Newton, R.; Maiolo, S.; Malcorps, W.; Little, D. Life cycle inventories of marine ingredients. *Aquaculture* 2023, 565, 739096.
121. Ning, H.; Wang, J.; Jiang, H.; Chen, Q. Quantitative detection of zearalenone in wheat grains based on near-infrared spectroscopy. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2022, 280, 121545.

122. Norat, T.; Bingham, S.; Ferrari, P.; Slimani, N.; Jenab, M.; Mazuir, M.; Overvad, K.; Olsen, A.; Tjønneland, A.; Clavel, F.; et al. Meat, Fish, and Colorectal Cancer Risk: The European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *J. Natl. Cancer Inst.* 2005, 97, 906–916.
123. OECD; European Union. Health at a Glance: Europe 2018: State of Health in the EU Cycle; OECD Publishing: Paris, France; European Union: Brussels, Belgium, 2018.
124. Okoth, S., B. Nyongesa, V. Ayugi, E. Kang’ethe, H. Korhonen, and V. Joutsjoki. 2012. Toxigenic potential of *Aspergillus* species occurring on maize kernels from two agro-ecological zones in Kenya. *Toxins* 4 (11):991–1007. doi: 10.3390/toxins4110991.
125. Oliva-Teles, A. Nutrition and health of aquaculture fish. *J. Fish Dis.* 2012, 35, 83–108.
126. Oliveira, M.; Vasconcelos, V. Occurrence of mycotoxins in fish feed and its effects: A review. *Toxins* 2020, 12, 160.
127. Ottinger, C.A.; Kaattari, S.L. Sensitivity of rainbow trout leucocytes to aflatoxin B1 . *Fish Shellfish Immunol.* 1998, 8, 515–530.
128. Ottinger, M.; Clauss, K.; Kuenzer, C. Aquaculture: Relevance, distribution, impacts and spatial assessments—A review. *Ocean Coast. Manag.* 2016, 119, 244–266.
129. Ozbey, F., and B. Kabak. 2012. Natural co-occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in spices. *Food Control* 28 (2):354–61. doi: 10.1016/j. foodcont.2012.05.039.
130. Palumbo, R.; Crisci, A.; Venâncio, A.; Cortiñas Abrahantes, J.; Dorne, J.-L.; Battilani, P.; Toscano, P. Occurrence and co-occurrence of mycotoxins in cereal-based feed and food. *Microorganisms* 2020, 8, 74.
131. Paris, M.P.K.; Schweiger, W.; Hametner, C.; Stückler, R.; Muehlbauer, G.J.; Varga, E.; Krska, R.; Berthiller, F.; Adam, G. Zearalenone-16- o -glucoside: A new masked mycotoxin. *J. Agric. Food Chem.* 2014, 62, 1181–1889.
132. Paterson, R., M. Russell, and N. Lima. 2010. How will climate change affect mycotoxins in food? *Food Research International* 43 (7):1902– 14. doi: 10.1016/j.foodres.2009.07.010.
133. Perkowski, J.; Chełkowski, J.; Wakuliński, W. Deoxynivalenol and 3-acetyl-deoxynivalenol in wheat kernels and chaff with head fusariosis symptoms. *Food Nahr.* 1990, 34, 325–328rr.
134. Perrone, G., M. Ferrara, A. Medina, M. Pascale, and N. Magan. 2020. Toxigenic fungi and mycotoxins in a climate change scenario: Ecology, genomics, distribution, prediction and prevention of the risk. *Microorganisms* 8 (10):1496. doi: 10.3390/microorganisms8101496.
135. Pietsch, C. *Mycotoxins and Food Safety*; IntechOpen: London, UK, 2019.
136. Pietsch, C.; Bucheli, T.D.; Wettstein, F.E.; Burkhardt-Holm, P. Frequent biphasic cellular responses of permanent fish cell cultures to deoxynivalenol (DON). *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2011, 256, 24–34.

137. Pietsch, C.; Michel, C.; Kersten, S.; Valenta, H.; Dänicke, S.; Schulz, C.; Kloas, W.; Burkhardt-Holm, P. In vivo effects of deoxynivalenol (DON) on innate immune responses of carp (*Cyprinus carpio* L.). *Food Chem. Toxicol.* 2014, 68, 44–52.
138. Pinotti, L.; Ottoboni, M.; Giromini, C.; Dell’Orto, V.; Cheli, F. Mycotoxin contamination in the EU feed supply chain: A focus on Cereal Byproducts. *Toxins* 2016, 8, 45.
139. Pitt, J. I. 2019. The pros and cons of using biocontrol by competitive exclusion as a means for reducing aflatoxin in maize in Africa. *World Mycotoxin Journal* 12 (2):103–12. doi: 10.3920/WMJ2018.2410
140. Pitt, J. I., C. Manthong, P. Siriacha, S. Chotechaunmanirat, and P. J. Markwell. 2015. Studies on the biocontrol of aflatoxin in maize in Thailand. *Biocontrol Science and Technology* 25 (9):1070–91. doi: 10.1080/09583157.2015.1028893.
141. Pojić, M.M.; Mastilović, J.S. Near infrared spectroscopy—Advanced analytical tool in wheat breeding, trade, and processing. *Food Bioprocess Technol.* 2013, 6, 330–352.
142. Porricelli, A. C. R., V. Lippolis, S. Valenzano, M. Cortese, M. Suman, S. Zanardi, and M. Pascale. 2016. Optimization and validation of a fluorescence polarization immunoassay for rapid detection of T-2 and HT-2 toxins in cereals and cereal-based products. *Food Analytical Methods* 9 (12):3310–8. doi: 10.1007/s12161-016-0527-1.
143. Puri, S.; Shingh, S.; Tiwari, P. Mycotoxins: A Threat to Food Security and Health. *Int. J. Appl. Sci. Biotechnol.* 2019, 7, 298–303.
144. Ramirez-Cabral, N. Y. Z., L. Kumar, and F. Shabani. 2017. Global alterations in areas of suitability for maize production from climate change and using a mechanistic species distribution model (CLIMEX). *Scientific Reports* 7 (1):5910. doi: 10.1038/s41598-017-05804-0.
145. Ranum, P., J. P. Peña-Rosas, and M. N. Garcia-Casal. 2014. Global maize production, utilization, and consumption. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1312 (1):105–12. Epub 2014 Mar 20. doi: 10.1111/nyas.12396.
146. Reddy, K.; Salleh, B. Co-Occurrence of Moulds and Mycotoxins in Corn Grains Used for Animal Feeds in Malaysia. *J. Anim. Vet. Adv.* 2011, 10, 668–673.
147. Rheeder, J.P.; Marasas, W.F.O.; Tiel, P.G.; Sydenham, E.W.; Shepard, G.S.; van Schalkwyk, D. *Fusarium moniliforme* and fumonisins in corn in relation to human esophageal cancer in Transkei. *Postharvest Pathol. Mycotoxins* 1992, 82, 353–357.
148. Richard, E., N. Heutte, L. Sage, D. Pottier, V. Bouchart, P. Lebailly, and D. Garon. 2007. Toxigenic fungi and mycotoxins in mature corn silage. *Food and Chemical Toxicology : An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association* 45 (12):2420–5. doi: 10.1016/j.fct.2007.06.018.
149. Richard, J.L. Discovery of aflatoxins and significant historical features. *Toxin Rev.* 2008, 27, 171–201.

150. Russo, J.R.; Yanong, R.P.E. *Molds in Fish Feeds and Aflatoxicosis*. UFIFAS Ext. 2013, FA95, 1–3. 68. Commission of the European Communities.
151. Ryerse, I.A.; Hooft, J.M.; Bureau, D.P.; Hayes, M.A.; Lumsden, J.S. Purified deoxynivalenol or feed restriction reduces mortality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), with experimental bacterial coldwater disease but biologically relevant concentrations of deoxynivalenol do not impair the growth of *Flavobacter*. *J. Fish Dis.* 2015, 38, 809–819.
152. Saad, M. Antinutritional Factors and Mycotoxins as Natural Hazards Threaten Food Safety. *IOSR J. Environ. Sci. Toxicol. Food Technol.* 2016, 10, 57–61.
153. Sales, J. The effect of fish meal replacement by soyabean products on fish growth: A meta-analysis. *Br. J. Nutr.* 2009, 102, 1709–1722.
154. Samuelsen, T.A.; Hillestad, M.; Jacobsen, H.J.; Hjertnes, T.J.; Sixten, H.J. Physical feed quality and starch content causes a biological response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquac. Rep.* 2021, 21, 100791.
155. Santos Pereira, C.; Cunha, S.C.; Fernandes, J.O. Prevalent mycotoxins in animal feed: Occurrence and analytical methods. *Toxins* 2019, 11, 290.
156. Schaarschmidt, S., and C. Fauhl-Hassek. 2021. The fate of mycotoxins during the primary food processing of maize. *Food Control* 121:107651. doi: 10.1016/j.foodcont.2020.107651.
157. Schwartz, P.; Bucheli, T.D.; Wettstein, F.E.; Burkhardt-Holm, P. Life-Cycle Exposure to the Estrogenic Mycotoxin Zearalenone Affects Zebrafish (*Danio rerio*) Development and Reproduction. *Environ. Toxicol.* 2013, 28, 276–289.
158. Schwartz, P.; Thorpe, K.L.; Bucheli, T.D.; Wettstein, F.E.; Burkhardt-Holm, P. Short-term exposure to the environmentally relevant estrogenic mycotoxin zearalenone impairs reproduction in fish. *Sci. Total Environ.* 2010, 409, 326–333.
159. Scudamore, K.A.; Patel, S. Survey for aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone and fumonisins in maize imported into the United Kingdom. *Food Addit. Contam.* 2000, 17, 407–416.
160. Shun Zhang , Shuliang Liu , Li Shen , Shujuan Chen , Li He , Aiping Liu. Application of near-infrared spectroscopy for the nondestructive analysis of wheat flour: A review *Current Research in Food Science* Volume 5, 2022, Pages 1305-1312
161. Shun Zhang, Shuliang Liu, Li Shen, Shujuan Chen, Li He, Aiping Liu, Application of near-infrared spectroscopy for the nondestructive analysis of wheat flour: A review, *Current Research in Food Science*, Volume 5, 2022, Pages 1305-1312 ISSN 2665-9271, <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.08.006>.
162. Singano, C. D., B. M. Mvumi, and T. E. Stathers. 2019. Effectiveness of grain storage facilities and protectants in controlling stored-maize insect pests in a climate-risk prone area

- of Shire Valley, Southern Malawi. *Journal of Stored Products Research* 83:130–47. doi: 10.1016/j.jspr.2019.06.007.
163. Speijers, G.J.A.; Speijers, M.H.M. Combined toxic effects of mycotoxins. *Toxicol. Lett.* 2004, 153, 91–98.
 164. Springmann, M.; Clark, M.; Mason-D'Croz, D.; Wiebe, K.; Bodirsky, B.L.; Lassaletta, L.; De Vries, W.; Vermeulen, S.J.; Herrero, M.; Carlson, K.M. Options for keeping the food system within environmental limits. *Nature* 2018, 562, 519–525.
 165. Streit, E.; Naehrer, K.; Rodrigues, I.; Schatzmayr, G. Mycotoxin occurrence in feed and feed raw materials worldwide: Long-term analysis with special focus on Europe and Asia. *J. Sci. Food Agric.* 2013, 93, 2892–2899.
 166. Suleiman, R., C. J. Bern, T. J. Brumm, and K. A. Rosentrater. 2018. Impact of moisture content and maize weevils on maize quality during hermetic and non-hermetic storage. *Journal of Stored Products Research* 78:1–10. doi: 10.1016/j.jspr.2018.05.007.
 167. Sun, G.; Wang, S.; Hu, X.; Su, J.; Huang, T.; Yu, J.; Tang, L.; Gao, W.; Wang, J.S. Fumonisin B1 contamination of home-grown corn in high-risk areas for esophageal and liver cancer in China. *Food Addit. Contam.* 2007, 24, 181–185.
 168. Supartini, A.; Oishi, T.; Yagi, N. Changes in Fish Consumption Desire and Its Factors: A Comparison between the United Kingdom and Singapore. *Foods* 2018, 7, 97.
 169. Tacon, A.G.J. *Nutritional Fish Pathology Morphological Signs of Nutrient Deficiency and Toxicity in Farmed Fish*; FAO: Rome, Italy, 1992; Volume 85.
 170. Tacon, A.G.J.J.; Metian, M. Fish Matters: Importance of Aquatic Foods in Human Nutrition and Global Food Supply. *Rev. Fish. Sci.* 2013, 21, 22–38.
 171. Tarazona, A., J. V. Gomez, F. Mateo, M. Jimenez, D. Romera, and E. M. Mateo. 2020. Study on mycotoxin contamination of maize kernels in Spain. *Food Control* 118 (2020):107370. doi: 10.1016/j.foodcont.2020.107370.
 172. Tavares, A.M.; Alvito, P.; Loureiro, S.; Louro, H.; Silva, M.J. Multi-mycotoxin determination in baby foods and in vitro combined cytotoxic effects of aflatoxin M1 and ochratoxin A. *World Mycotoxin J.* 2013, 6, 375–388.
 173. Thalli Satyanarayana Deepak and Padmanabhan Appukuttan Jayadeep, Prospects of Maize (Corn) Wet Milling By-Products as a Source of Functional Food Ingredients and Nutraceuticals, <https://doi.org/10.17113/ftb.60.01.22.7340>, January-March 2022 | Vol. 60 | No. 1
 174. The European Commission Commission Regulation (EC) No 691/2013 of 19 July 2013 amending Regulation (EC) No 152/2009 as regards methods of sampling and analysis. *Off. J. Eur. Union* 2013, 197, 1–12.
 175. Tomaszewski, J.; Miturski, R.; Semczuk, A.; Kotarski, J.; Jakowicki, J. Tissue zearalenone concentration in normal, hyperplastic and neoplastic human endometrium. *Ginekol. Pol.* 1998, 69, 363–366.

176. Torovic, L. 2018. Aflatoxins and ochratoxin A in flour: A survey of the Serbian retail market. *Food Additives and Contaminants: Part B Surveillance* 11 (1):26–32. doi: 10.1080/19393210.2017.1391335.
177. Tran-Dinh, N., J. I. Pitt, and P. J. Markwell. 2018. Use of microsatellite markers to assess the competitive ability of nontoxigenic *Aspergillus flavus* strains in studies on biocontrol of aflatoxins in maize in Thailand. *Biocontrol Science and Technology* 28 (3):215–25. doi: 10.1080/09583157.2018.1436694.
178. Turner, N.W.; Bramhmbhatt, H.; Szabo-Vezse, M.; Poma, A.; Coker, R.; Piletsky, S.A. Analytical methods for determination of mycotoxins: An update (2009–2014). *Anal. Chim. Acta* 2015, 901, 12–33.
179. Turner, N.W.; Subrahmanyam, S.; Piletsky, S.A. Analytical methods for determination of mycotoxins: A review. *Anal. Chim. Acta* 2009, 632, 168–180.
180. Turner, P. C., A. Sylla, Y. Y. Gong, M. S. Diallo, A. E. Sutcliffe, A. J. Hall, and C. P. Wild. 2005. Reduction in exposure to carcinogenic aflatoxins by postharvest intervention measures in West Africa: A community-based intervention study. *Lancet* (London, England) 365 (9475):1950–6. doi: 10.1016/S0140-6736(05)66661-5.
181. Tyska, D.; Mallmann, A.O.; Vidal, J.K.; de Almeida, C.A.A.; Gressler, L.T.; Mallmann, C.A. Multivariate method for prediction of fumonisins B1 and B2 and zearalenone in Brazilian maize using Near Infrared Spectroscopy (NIR). *PLoS ONE* 2021, 16, e0244957.
182. Vandicke, J., K. De Visschere, S. Croubels, S. De Saeger, K. Audenaert, and G. Haesaert. 2019. Mycotoxins in Flanders' fields: Occurrence and correlations with *Fusarium* species in whole-plant harvested maize. *Microorganisms* 7 (11):571. doi: 10.3390/microorganisms7110571.
183. Vardali, S., Papadouli, C., Rigos, G., Nengas, I., Panagiotaki, P., & Golomazou, E. (2023). Recent Advances in Mycotoxin Determination in Fish Feed Ingredients. *Molecules*, 28(6), 2519. <https://doi.org/10.3390/molecules28062519>
184. Wagner, C. Critical practicalities in sampling for mycotoxins in feed. *J. AOAC Int.* 2015, 98, 301–308.
185. Wang, C., F. Xu, R. C. Baker, A. Pinjari, L. Bruckers, Y. Zhao, A. Stevenson, and G. Zhang. 2021. Fungi carried over in jute bags – a smoking gun for aflatoxin contamination in the food supply chain. *World Mycotoxin Journal* 14 (2):155–63. doi: 10.3920/wmj2020.2619.
186. Warth, B.; Parich, A.; Atehnkeng, J.; Bandyopadhyay, R.; Schuhmacher, R.; Sulyok, M.; Krska, R. Quantitation of Mycotoxins in Food and Feed from Burkina Faso and Mozambique Using a Modern LC-MS/MS Multitoxin Method. *J. Agric. Food Chem.* 2012, 60, 9353–9363
187. Whitaker, T.B. Standardisation of mycotoxin sampling procedures: An urgent necessity. *Food Control* 2003, 14, 233–237.
188. Willett, W.; Rockström, J.; Loken, B.; Springmann, M.; Lang, T.; Vermeulen, S.; Garnett, T.; Tilman, D.; DeClerck, F.; Wood, A. Food in the Anthropocene: The EAT–Lancet

- Commission on healthy diets from sustainable food systems. *Lancet* 2019, 393, 447–492.
- spatial assessments—A review. *Ocean Coast. Manag.* 2016, 119, 244–266.
189. Williams, P.L.; James, R.C.; Roberts, S.M. *Principles of Toxicology: Environmental and Industrial Applications*, 2nd ed.; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, 2000; ISBN 0-471-29321-0.
 190. Williams, S. B., D. Baributsa, and C. Woloshuk. 2014. Assessing Purdue Improved Crop Storage (PICS) bags to mitigate fungal growth and aflatoxin contamination. *Journal of Stored Products Research* 59:190– 6. doi: 10.1016/j.jspr.2014.08.003
 191. Wo'zny, M.; Obremski, K.; Hliwa, P.; Gomulka, P.; Ró'zy 'nski, R.; Wojtacha, P.; Florczyk, M.; Segner, H.; Brzuzan, P. Feed contamination with zearalenone promotes growth but affects the immune system of rainbow trout. *Fish Shellfish Immunol.* 2019, 84, 680–694.
 192. Wo'zny, M.; Obremski, K.; Jakimiuk, E.; Gusiatin, M.; Brzuzan, P. Zearalenone contamination in rainbow trout farms in north-eastern Poland. *Aquaculture* 2013, 416–417, 209–211.
 193. Xie, L.; Chen, M.; Ying, Y. Development of methods for determination of aflatoxins. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2016, 56, 2642–2664.
 194. Xing, F. G., X. Liu, L. M. Wang, J. N. Selvaraj, N. Jin, Y. Wang, Y. J. Zhao, and Y. Liu. 2017. Distribution and variation of fungi and major mycotoxins in pre- and post-nature drying maize in North China Plain. *Food Control* 80:244–51. doi: 10.1016/j.foodcont.2017.03.055 .
 195. Xu, F., R. C. Baker, T. B. Whitaker, H. Luo, Y. Zhao, A. Stevenson, C. J. Boesch, and G. Zhang. 2021. Review of good agricultural practices for smallholder maize farmers to minimise aflatoxin contamination. *World Mycotoxin Journal* 15:171–186. doi: 10.3920/wmj 2021.2685.
 196. Yoshizawa, T.; Yamashita, A.; Luo, Y. Fumonisin occurrence in corn from high- and low-risk areas for human esophageal cancer in China. *Appl. Environ. Microbiol.* 1994, 60, 1626–1629.
 197. Yuan, G.; Wang, Y.; Yuan, X.; Zhang, T.; Zhao, J.; Huang, L.; Peng, S. T-2 toxin induces developmental toxicity and apoptosis in zebrafish embryos. *J. Environ. Sci. China* 2014, 26, 917–925.
 198. Zain, M.E. Impact of mycotoxins on humans and animals. *J. Saudi Chem. Soc.* 2011, 15, 129–144.
 199. Zhang, G.-L.; Feng, Y.-L.; Song, J.-L.; Zhou, X.-S. Zearalenone: A Mycotoxin with Different Toxic Effect in Domestic and Laboratory Animals' Granulosa Cells. *Front. Genet.* 2018, 9, 667.
 200. Καραπαναγιωτίδης Ι.Θ. (2018). Σημειώσεις μαθήματος Τεχνολογίας Ιχθυοτροφών