

Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 34, No 2 (1983)

Υπεύθυνοι σύμφωνα με το νόμο
ΔΙΟΙΚΗΤΗΣ: ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ
 Επιστημονικό Συμβούλιο: ανεγνωρισμένοι, αριθ. απόφ. 1021/1983
 Προεδρεύον: 'Αθηνών
 Πρόεδρος για το έτος 1983
 Στ. Κυριάκης
ΕΚΔΟΤΗΣ: Έκδίδεται υπό αίρετης πενταμελούς συντακτικής επιτροπής (Σ.Ε.) μελών της Ε.Κ.Ε.
ΥΠ/ΝΟΣ ΣΥΝΤΑΞΕΩΣ: 'Ο Πρόεδρος της Σ.Ε. Λορένς Ευσταθίου, Ζαλοκώστα 30, Χαλάνδρι. Τηλ. 6823459.
 Μέλη Συνέλης 'Επ.:
 Χ. Παππούς
 Α. Σέμενης
 Ι. Δημητριάδης
 Σ. Κολάγγης
 Έκδοτική παραγωγή:
 ΕΠΤΑΛΟΦΟΣ Α.Β.Ε.Ε.
 'Αρθεροτό 12-16 'Αθήναι
 Τηλ. 9217513 - 9214820
 ΤΟΠΟΣ ΕΚΔΟΣΕΩΣ: 'Αθήναι

Ταχ. Διεύθυνση:
 Ταχ. Θυρίς 3546
 'Αθήναι 102-10

Συνδρομές:

'Ετησία εσωτερικού	δρχ. 1000
'Ετησία εξωτερικού	» 2000
'Ετησία φοιτητών ήμεδαπής	» 500
'Ετησία φοιτητών αλλοδαπής	» 1000
Τιμή έκαστου τεύχους	» 400
'Ιδρύματα, 'Υπηρεσίες, 'Οργανισμοί	» 1500

Address: P.O.B. 3546
 Athens 102-10 - Greece

Redaction: L. Efstathiou
 Zalokosta 30,
 Halandri
 Greece

Subscription rates:
 (Foreign Countries)
 \$ U.S.A. 20 per year.



Δελτίον
 ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ
 ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ

ΤΡΙΜΗΝΙΑΙΑ ΕΚΔΟΣΗ
 ΠΕΡΙΟΔΟΣ Β
 ΤΟΜΟΣ 34
 ΤΕΥΧΟΣ 2

ΑΠΡΙΛΙΟΣ - ΙΟΥΝΙΟΣ
 1983

Bulletin
 OF THE HELLENIC
 VETERINARY MEDICAL SOCIETY

QUARTERLY
 SECOND PERIOD
 VOLUME 34
 No 2

APRIL - JUNE
 1983

'Επιτεύξεις και ήμβασμα αποστέλλονται ἐν ὀνόματι κ. Στ. Μάλλιρη Κτην. Τιστ. 'Υγιεινής καὶ Τεχνολογίας Τροφίμων. 'Ιερά ὁδός 75, Τ.Τ. 301 'Αθήναι. Μέλεις, ἐπιστολὲς καὶ π. ἀποστέλλονται στὸν κ. Α. Εὐσταθίου, Κτηνιατρικὸ 'Ινστιτούτο Φυσιολογίας, 'Αναπαραγωγῆς καὶ Διατροφῆς Ζώων, Νεαπόλεως 9-25, 'Αγία Παρασκευή 'Αττικής.

An investigation of the Presence of aflatoxins in feeds in Greece

B. ΒΑΣΙΛΟΠΟΥΛΟΣ, Α. Β. ΣΠΑΗΣ, Δ. ΚΟΥΦΙΔΗΣ, Γ. ΧΑΤΖΗΓΕΩΡΓΙΟΥ

doi: [10.12681/jhvms.21590](https://doi.org/10.12681/jhvms.21590)

Copyright © 2019, B. ΒΑΣΙΛΟΠΟΥΛΟΣ, Α. Β. ΣΠΑΗΣ, Δ. ΚΟΥΦΙΔΗΣ, Γ. ΧΑΤΖΗΓΕΩΡΓΙΟΥ



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

To cite this article:

ΒΑΣΙΛΟΠΟΥΛΟΣ Β., ΣΠΑΗΣ Α. Β., ΚΟΥΦΙΔΗΣ Δ., & ΧΑΤΖΗΓΕΩΡΓΙΟΥ Γ. (2019). An investigation of the Presence of aflatoxins in feeds in Greece. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 34(2), 132–148.
<https://doi.org/10.12681/jhvms.21590>

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΩΝ ΣΕ ΖΩΟΤΡΟΦΕΣ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ*

Β. ΒΑΣΙΛΟΠΟΥΛΟΥ, Α.Β. ΣΠΑΝ, Δ. ΚΟΥΦΙΔΗ ΚΑΙ Γ. ΧΑΤΖΗΓΕΩΡΓΙΟΥ**

AN INVESTIGATION OF THE PRESENCE OF AFLATOXINS IN FEEDS IN GREECE.

V. VASSILOPOULOS, A.B. SPAIS, D. KOUFIDIS and G. HATZIGEORGIOU*

SUMMARY

The great importance of aflatoxins' toxicity together with the fact that their existence in feeds has not examined intensively in Greece, were the reasons for undertaking this investigation in order to determine whether a potential problem exists and if so, to study the extent of this problem.

For that purpose 450 samples, of different kinds of feeds, taken randomly from all over the country between the years 1974 and 1977, were examined. The data obtained can be concerned as encouraging, since only 23 samples (5,11%) were confirmed as positive, and the concentrations of aflatoxins were, most of all, below the European Economic Community tolerances for feeds.

Considering that nobody can prejudice the repeatability of these favourable data it is imposed to control continually and systematically the aflatoxin level in feeds and to establish a relative legislation in our country.

Α. ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΙΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΕΣ

Ίστορικό. Έδω και τριάντα χρόνια διαπιστώθηκε σέ διάφορα άγροτικά ζώα (χοίροι, μόσχοι, πάπιες και ινδιάνοι) ύψηλό ποσοστό θανάτων, σέ μορφή ένζωοτίας, άγνωστης αιτιολογίας. Πολλές τέτοιες περιπτώσεις περιγράφηκαν στό Μαρόκο, τήν Άγγλία, τή Γαλλία και άλλοϋ.

Έτσι στό Μαρόκο τό 1944 ό Ninard και Hitermann διαπίστωσαν πολλές περιπτώσεις θανατηφόρων κρουσμάτων σέ χοίρους εξαιτίας ήπατικών αλλοιώ-

* Έργαστήριο «Διατροφής» Κτηνιατρικής Σχολής Άριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης. Διευθυντής: Ό καθηγητής Β. Βασιλόπουλος.

Ή έργασία αϋτή ανακοινώθηκε στό 1ο Κτηνιατρικό Συνέδριο, Άθήνα, 1978 χωρίς νά συμπεριληφθεί στά πρακτικά του έκ παραδρομής.

* Laboratory of Animal Nutrition, Veterinary Faculty, University of Thessaloniki.

Head: Professor V. Vassilopoulos.

σων. Οί τελευταίες χαρακτηρίζονταν άλλοτε από όξεία κίτρινη άτροφία πού συνοδεύονταν από λιπώδη έκφύλιση και ίκτερο και άλλοτε από υπερτροφία με πολλαπλά όζίδια.

Άργότερα παρόμοια κρούσματα με άγνωστη αίτιολογία και θανατηφόρα έκβαση παρατηρήθηκαν σε μεγάλο αριθμό σε ινδιάνους, πάπιες, χοίρους και μόσχους πού έκτρέφονταν στην Εύρώπη και στην Άφρική. Τό 1960 στη Μεγάλη Βρεττανία περιγράφηκε μιá άγνωστη ως τότε νόσος πού προξένησε σοβαρές απώλειες σε πολλές έκτροφές παπιών και ινδιάνων. Τόσο τό ύψηλό ποσοστό θνησιμότητας, όσο και ή άγνωστη αίτιολογία ύπηρξαν ή άφορμή για νά όνομασθει αύτή «νόσος Χ τών ινδιάνων».

Γιά την έρμηνεία της αίτιολογίας της νόσου αύτης και της προκλήσεως γενικότερα τών θανάτων διατυπώθηκαν ποικίλες απόψεις. Καμιά όμως άπ' αυτές δέν μπόρεσε νά δώσει σαφή άπάντηση στο πρόβλημα. Τό μόνο κοινό σημείο πού διαπιστωνόταν κάθε φορά ήταν πώς οί θάνατοι και οί άλλωσεις άφοροῦσαν σχεδόν πάντοτε ζώα πού είχαν φάει ή έτρωγαν άραχιδόπιτα και σπανιότερα βαμβακόπιτα. Έτσι τό 1961 με άφορμή την εμφάνιση της «νόσου Χ τών ινδιάνων» ό Sargeant κατέληξε στο συμπέρασμα ότι αύτοί οί θάνατοι και οί άλλωσεις όφείλονταν σε κατανάλωση άραχιδόπιτας.

Πράγματι ή έρευνα πού άκολούθησε για νά εξακριβωθεί ή τοξικότητα της άραχιδόπιτας έδειξε πώς τό γενεσιουργό αίτιο τούτων τών άλλωσεων είναι ένας τοξικός παράγοντας πού δημιουργείται σ' αύτήν, όταν προσβάλλεται από τό μύκητα *Aspergillus flavus*. Ό παράγοντας αύτός όνομάσθηκε άφλατοξίνη (*A-spergillus fla-vus toxin*). Μεταγενέστερα άποδείχθηκε πώς ή τοξίνη αύτή μπορεί νά παράγεται και από άλλα μέλη (μύκητες) της όμάδος του *A. flavus* όπως είναι: *A. oryzae*, *A. parasiticus* κλπ., ή και από άλλα είδη μυκήτων όπως : *A. niger*, *A. wentii*, *A. ruber*, *Penicillium ruberulum*, *P. variable*, *P. citrinum*, *P. frequentas* κ.ά., όταν οί μύκητες αύτοί προσβάλλουν τά φυτά στο χρονικό διάστημα πού μεσολαβεί από την καλλιέργεια μέχρι τη χρησιμοποίηση τους.

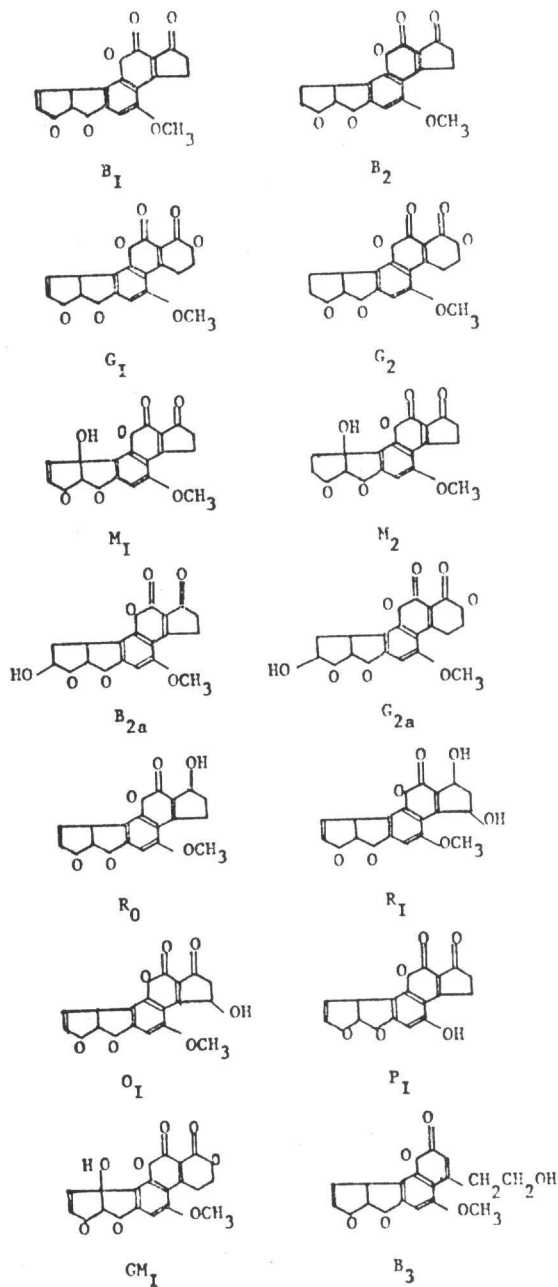
Χημεία άφλατοξινών. Σήμερα είναι γνωστό ότι με τόν όρο άφλατοξίνη δέν χαρακτηρίζεται μιá και μόνο ούσία, αλλά έννοείται μιá όμάδα ένώσεων πολλές από τις όποιες βρέθηκαν στη φύση (πίν. 1).

Άπό τις άφλατοξίνες πού άπεικονίζονται στον πίνακα 1, συχνότερα άπαντώνται οί B_1 , B_2 , G_1 , G_2 , M_1 και M_2 .

Όλες αύτες οί ένώσεις είναι σώματα με παραπλήσια δομή. Άποτελούνται, βασικά, από έναν πυρήνα κουμαρίνης συμπυκνωμένο με ένα διφουρανικό και έναν άκόμη πυρήνα πεντανόνης (B_1, B_2) ή έξαμελούς λακτόνης (G_1, G_2). Οί M_1 και M_2 είναι τά αντίστοιχα ύδροξυλιωμένα παράγωγα τών B_1 και B_2 . Οί άφλατοξίνες συνιστούν σώματα στερεά κρυσταλλικά. Δέ διαλύονται στο νερό και στον πετρελαϊκό αϊθέρα. Όστόσο διαλύονται στη μεθανόλη, αϊθανόλη, βενζόλιο και χλωροφόρμιο. Δέν καταστρέφονται εύκολα με την επίδραση της θερμότητας. Παραμένουν σταθερές μέχρι του σημείου τήξεώς τους (περίπου 250°C).

ΠΙΝΑΞ Ι

Χημικοί τύποι τῶν κυριωτέρων ἀφλατοξινῶν πού ἀπαντοῦν στὴ φύση



Μεταβολισμός άφλατοξινών. Για τις μεταβολές των άφλατοξινών που φθάνουν με την τροφή στον πεπτικό σωλήνα των ζώων, καθώς και για το βαθμό απορροφήσεώς τους οι γνώσεις που διαθέτουμε είναι άτελες. Το μόνο ωστόσο σίγουρο είναι ότι αυτές οι τοξίνες, κατά το μεγαλύτερο μέρος τους, αποβάλλονται με τα κόπρανα. Επίσης, ότι οι άφλατοξίνες που απορροφούνται, απεκκρίνονται τελικά από τον οργανισμό με τα ούρα, τη χολή ή και το γάλα. Ωστόσο, φαίνεται ότι οι εισαγόμενες στον οργανισμό απεκκρίνονται μόνο κατά ένα ελάχιστο ποσοστό αμετάβλητες. Κατά το μεγαλύτερό τους μέρος αποβάλλονται με διάφορες μορφές παραγώγων. Π.χ. οι B_1 και B_2 απεκκρίνονται με το γάλα ως M_1 και M_2 . Πρέπει να σημειωθεί, ότι οι άφλατοξίνες δεν έχουν άθροιστική ενέργεια στο ζωικό οργανισμό είτε προσλαμβάνονται σε μικρές είτε σε μεγάλες ποσότητες. Η απομάκρυνσή τους είναι σχετικά ταχεία.

Τοξικότητα άφλατοξινών. Αυτή εξαρτάται από το είδος του ζωικού οργανισμού, την ποσότητα των άφλατοξινών που προσλαμβάνονται κάθε φορά, καθώς και από τη διάρκεια της προσλήψεώς τους. Πράγματι τα διάφορα είδη ζώων δεν έχουν την ίδια ευαισθησία στις άφλατοξίνες. Θα μπορούσε κανείς να τα κατατάξει σε τρεις κατηγορίες: σε πολύ ευαίσθητα ($LD_{50} < 1 \text{ mg/Kg Z.B. per os}$), ευαίσθητα ($LD_{50} 1\text{mg/kg Z.B. per os}$) και ανθεκτικά (LD_{50} γύρω στα $10 \text{ mg/kg Z.B. per os}$). Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν οι πάπιες, οι ινδιάνοι και τα κουνέλια, και μάλιστα όταν βρίσκονται σε νεαρή ηλικία. Στη δεύτερη πάλι υπάγονται τα όρνιθια, τα χοιρίδια, οι μόσχοι και ακολουθούν τα αντίστοιχα ενήλικα θηλυκά άτομα αυτών, δηλαδή οι όρνιθες σε ωοτοκία, οι χοίροι σε γαλουχία ή κυοφορία και οι αγελάδες. Σε τούτη την κατηγορία κατατάσσονται ακόμη η λουτρεόλη (μίνγκ), ο φασιανός και το όρντι. Στην τρίτη τέλος κατηγορία, των ανθεκτικών ζώων, ανήκει το πρόβατο. Πάντως, θα πρέπει να σημειωθεί, ότι η ευαισθησία των ζώων στις άφλατοξίνες δεν είναι κάτι το ανεξάρτητο από την ιδιοσυγκρασία του ατόμου και την κατάσταση κυοφορίας ή γαλακτοπαραγωγής. Επίσης, ότι επηρεάζεται θετικά από την ανεπαρκή περιεκτικότητα του σιτηρεσίου σε βιταμίνες ή και λιπαρές ουσίες.

Η τοξικότητα των άφλατοξινών κλινικά μπορεί να εμφανίζεται με όξεια ή χρόνια μορφή. Το κατά πόσο τα διάφορα ευαίσθητα ζώα θα εκδηλώσουν τη μία ή την άλλη μορφή είναι ζήτημα ποσότητας και χρόνου καταναλώσεως. Για τα άγροτικά ζώα, όπως εύκολα συνάγεται απ' αυτά που αναφέρθηκαν πιο επάνω, η μέση θανατηφόρα δόση (LD_{50}) άφλατοξίνης από το στόμα κυμαίνεται. ανάλογα με την ευαισθησία τους, από 0,5 ως 10 mg/kg Z.B. Κατά συνέπεια, επειδή στην καθημέρα πράξη μια τέτοια ποσότητα δεν συναντιέται συχνά στη μερίδα των τροφών που τρώει ένα ζώο μέσα σε μια ημέρα, τα κρούσματα εκδηλώσεως όξειας τοξικότητας είναι σπάνια, ενώ εκείνα της χρόνιας πολύ συχνά. Ένδεικτικά σημειώνονται στον πίν. 2 και για όρισμένα είδη ζώων συγκεντρώσεις άφλατοξινών που όταν αυτές υπάρχουν στο σιτηρέσιο είναι ικανές να προκαλούν σ' αυτά συμπτώματα χρόνιας τοξικότητας (τοξίκωση).

Πιο συγκεκριμένα, όταν τὰ ζῶα τύχει νὰ καταναλώσουν μὲ τὸ σιτηρέσιό τους ποσότητα ἀφλατοξίνης πού ξεπερνᾷ τὰ ὅρια ἀνεκτικότητάς τους, τότε ἡ ὑγιεινὴ τους κατάσταση διαταράσσεται. Παθαίνουν δηλαδὴ ἀφλατοξίκωση. Ἡ τελευταία ἐκδηλώνεται στὴν πράξη μὲ τρεῖς κυρίως μορφές: τὴν ὀξεία, τὴν ὑποξεία καὶ τὴ χρόνια. Στὴν ὀξεία μορφή της, τὰ συμπτώματα παρουσιάζονται σὲ πολὺ σύντομο χρονικὸ διάστημα καὶ οἱ ἀλλοιώσεις πού ἐπέρχονται στὰ ἐσωτερικὰ ὄργανα, καὶ εἰδικὰ στὸ ἥπαρ εἶναι σχεδὸν ἄμεσες. Στὴν ὑποξεία πάλι μορφή τὰ συμπτώματα καὶ οἱ ἀλλοιώσεις ἐμφανίζονται μὲ βραδύτερο ρυθμὸ καὶ προοδευτικά. Στὴ χρόνια τέλος μορφή, οἱ ἀλλοιώσεις πού προκαλοῦνται εἶναι νεοπλαστικῆς φύσεως.

Τὰ σπουδαιότερα συμπτώματα τῆς ἀφλατοξικώσεως εἶναι: μείωση ὀρέξεως, ἀπώλεια σωματικοῦ βάρους, κατάρπωση καὶ ἀπάθεια. Ἐπίσης ἥπατικές, πεπτικές καὶ νευρικές διαταραχές πού ὀδηγοῦν σὲ θάνατο. Ἐτσι, στὰ νεαρὰ πουλερικὰ παρουσιάζονται συχνὰ συσπάσεις, ἀταξία καὶ ὀπισθότονος. Στους μὸσχους πάλι ἐμφανίζονται ἀσυντόνιστες κινήσεις, βάδισμα ἀταξικὸ μὲ προσκρούσεις, καθὼς καὶ συχνὰ διάρροια μὲ αἱματηρὰ κόπρανα, πού συνοδεύεται ἀπὸ τεινεσμοὶ καὶ πρόπτωση τοῦ ἀπενθυσμένου. Στους χοίρους, ἐξἄλλου, μπορεῖ νὰ παρουσιάζεται ἵκτερος λίγο πρὶν ἀπὸ τὸ θάνατο.

Ἀπὸ ἄποψη παθολογοανατομικῶν ἀλλοιώσεων, οἱ κυριότερες ἀπ' αὐτὲς συναντιοῦνται στὸ ἥπαρ, στοὺς νεφροὺς, στὸ μεσεντέριο, στὴν καρδιά καὶ στοὺς πνεύμονες. Σύνίστανται βασικὰ σὲ οἰδημα, συμφόρηση ἢ πολυάριθμες αἱμορραγίες. Συχνὲς εἶναι οἱ περιπτώσεις ἀσκήτη καὶ καταρροϊκῆς ἐντερίτιδας. Οἱ νεφροὶ μάλιστα μπορεῖ νὰ ἐμφανίζονται μὲ διάφορες ὤψεις, δηλαδὴ νὰ εἶναι κιτρινωποὶ ἢ συμφορημένοι, ὀγκώδεις ἢ καὶ ὄχι. Τὸ ἥπαρ ἐπιπλέον σὲ ὄλες τὶς περιπτώσεις παρουσιάζει τὶς πιὸ σοβαρὲς ἀλλοιώσεις. Εἶναι συχνὰ διογκωμένο, σκληρό, κιτρινωπὸ καὶ πάντοτε αἱμορραγικὸ στὴν ἐπιφάνεια. Κατὰ τὴν ἐξέλιξη τῆς τοξικώσεως μπορεῖ νὰ ἐμφανίσει χαρακτηριστικὴ Ἴνωση, στεάτωση, κίρρωση ἢ καὶ ἡπάτωμα. Οἱ μικροσκοπικὲς ἀλλοιώσεις τοῦ ἥπατος χαρακτηρίζονται σ' ἓνα πρῶτο στάδιο ἀπὸ ἐκφύλιση τοῦ παρεγχύματος, πλάσματος τῶν ἐπιθηλιακῶν κυττάρων τῶν χοληφόρων ἀγγείων καὶ συσσωρευση τοῦ κολλαγόνου στὴν περιφέρεια τῶν ἥπατικῶν λοβίων. Ἡ ἐκφύλιση τῶν παρεγχυματικῶν κυττάρων γίνεται ἀντιληπτὴ ἀπὸ μιὰ μεγαλοκυττάρωση, καρυομεγαλία καὶ πλῆθος κενοτοπίων μὲ λίπος. Στὴ συνέχεια, πιὸ συχνὰ ἐμφανίζεται μιὰ ὀξώδης νέκρωση μὲ συσσωρευση λιπιδῶν καὶ μὲ μαζικὴ διήθηση λεμφοειδῶν κυττάρων. Τὰ χοληφόρα ἀγγεῖα, ἐνῶ συνοδεύονται ἀπὸ ἴνες κολλαγόνου, συνεχίζουν νὰ ἀναπτύσσονται πρὸς τὸ κέντρο τοῦ λοβίου. Ἐτσι δημιουργεῖται τελικὰ μιὰ κεντρολοβιακὴ Ἴνωση. Τὰ κύτταρα στὰ περιπυλαῖα διαστήματα μπορεῖ νὰ βρίσκονται σὲ ἀναγέννηση. Σὲ ἓνα πολὺ πιὸ προχωρημένο στάδιο τῆς τοξικώσεως, συναντιοῦνται ὀξώδεις ὑπερπλασίες. Ἐξἄλλου, σὲ μερικὰ εἶδη ζώων, μετὰ ἀπὸ τὴν κατανάλωση μικρῶν ποσοτήτων ἀφλατοξίνης γιὰ πολὺ χρόνον, ἐμφανίζονται καθαρὰ πιά νεοπλασματικὲς ἀλλοιώσεις σὲ μορφή ὀξιδίων καὶ ἥπατωμάτων, τῶν ὁποίων τὰ παρεγχυματικὰ κύτταρα εἶναι ἄτυπα. Συχνὰ, παρατηροῦνται σπειραματονεφρίτιδες, καθὼς καὶ

μεταστάσεις στους πνεύμονες σὲ ζῶα πού παρουσιάζουν ἤδη ἥπατῶματα. Ἀπὸ τίς ἥπατικές ἀλλοιώσεις ἐκεῖνες πού εἶναι κοινές καὶ σταθερές σ' ὅλα τὰ εὐαίσθητα εἶδη τῶν ζώων εἶναι: ἡ ὑπερπλασία τῶν χοληφόρων ἀγγείων, ἡ μεγαλοκυττάρωση στὸν παρεγχυματικὸ ἰστὸ καὶ ἡ κεντρολοβιακὴ ἴνωση πού τείνει νὰ γίνεи χρόνια.

Παράλληλα πρὸς τίς παθολογοανατομικὲς αὐτὲς ἀλλοιώσεις τοῦ ἥπατος, ἐπέρχεται αὐξηση τῆς περιεκτικότητος τοῦ τελευταίου σὲ λίπος (μὲ ἐξαίρεση τὸ μόσχο) καὶ μείωση ἐκείνης σὲ γλυκογόνο (κατὰ 70% περίπου). Ἐπιπλέον, ἐπιβραδύνεται ἡ σύνθεση πρωτεϊνῶν καὶ περιορίζεται σημαντικὰ ἡ ἱκανότητα τοῦ ὀργάνου αὐτοῦ γιὰ ἀποταμίευση βιταμίνης Α, ἐνῶ παρατηρεῖται αὐξημένη συγκέντρωση βιταμίνης C (νεαρές πάπιες). Αὐξάνει, ἐπίσης, ἡ περιεκτικότητά του σὲ σελήνιο (νεαρά πουλερικά) καὶ σὲ χαλκὸ (χοιρίδια). Μειώνεται ἐξάλλου, ἡ ἐνζυμικὴ του δραστηριότητα. Αὐτὴ ἀφορᾷ, κυρίως, στίς δεϋδρογενάσεις τῶν μιτοχονδρίων καὶ στὰ ἐνζυμα τῆς ἀναπνευστικῆς ἀλύσεως, Ἐλλαττώνεται, ἀκόμη, ἡ σύνθεση τοῦ ΑΤΡ, ἐξαιτίας φυσικὰ τῶν ἀλλοιώσεων τῶν μιτοχονδρίων. Τέλος, ἀλλοιώνεται ἡ σύσταση τοῦ αἵματος. Δηλαδή, ἐπέρχεται πτώση τῆς γλυκαιμίας, καθὼς καὶ τῆς στάθμης τῶν πλασματικῶν πρωτεϊνῶν (λευκωματινῶν καὶ σφαιρινῶν), ἐνῶ παρατηρεῖται αὐξηση τῆς ἀλκαλικῆς φωσφατάσης (χοῖροι, μόσχοι).

Ἀποτέλεσμα τῆς δυσμενοῦς ἐπιδράσεως τῶν ἀφλατοξινῶν στὴν ὑγιεινὴ κατάσταση τῶν ζώων εἶναι ἀναμφισβήτητα καὶ οἱ μειωμένες ἀποδόσεις τῶν τελευταίων. Πιὸ συγκεκριμένα σ' ὅλα τὰ εὐαίσθητα ζῶα πού βρίσκονται στὸ στάδιο ἀναπτύξεως ἐλαττώνεται ὁ ρυθμὸς τῆς σωματικῆς τους αὐξήσεως καὶ ἀνεβαίνει αἰσθητὰ ὁ δείκτης καταναλώσεως τῆς τροφῆς. Ἐξάλλου, σ' ἐκεῖνα πού βρίσκονται στὸ στάδιο γαλακτοπαραγωγῆς μπορεῖ νὰ παρουσιάζεται μειωμένη ἀπόδοση σὲ γάλα, περιέχοντας ἀφλατοξίνες, πού ἔχουν ἀπεκκριθεῖ σ' αὐτό.

Ἀφλατοξίνες καὶ δημόσια ὑγεία. Σὲ μερικὲς χῶρες, ὅπως στὴν Οὐγκάντα, στὴν Κένυα κ.ἄ., στίς ὁποῖες συνηθίζεται νὰ γίνεи εὐρεία χρῆση ἀραχιδόπιτας στὸ διαιτολόγιο τοῦ ἀνθρώπου, διαπιστώθηκαν πολυάριθμα κρούσματα καρκίνου τοῦ ἥπατος. Τὰ κρούσματα αὐτὰ ἀποδόθηκαν σὲ μόλυνση τῆς ἀραχιδόπιτας ἀπὸ μύκητες πού παράγουν ἀφλατοξίνες. Ἐξάλλου, στίς ΗΠΑ καὶ ἀλλοῦ δειχθῆκε πὼς ἡ συνεχὴς χορήγηση στοὺς ἐπίμυς ἀραχιδόπιτας, πού περιείχε ἀφλατοξίνες, εἶχε σάν συνέπεια τὴν πρόκληση σ' αὐτοὺς καρκινογενῶν ὀγκῶν τοῦ ἥπατος. Οἱ ἐνδεικτικὰ ἀναφερόμενες αὐτὲς διαπιστώσεις, σὲ συνδυασμὸ μὲ ἀνάλογες πού ἔγιναν ἀνὰ τὸν κόσμον σὲ ἀγροτικὰ ζῶα, τὰ ὁποῖα διατρέφονταν μὲ τροφές πού περιείχαν ἀφλατοξίνες, καταμαρτυροῦν τὴ μεγάλη σημασία πού μπορεῖ νὰ ἔχουν οἱ οὐσίες αὐτὲς σάν μιὰ ἀπειλὴ γιὰ τὴ δημόσια ὑγεία. Καὶ ἡ σημασία αὐτὴ γίνεται μεγαλύτερη, ἂν ληφθεῖ ὑπόψη ὅτι ὁ *Aspergillus flavus*, ὁ κυριότερος ἀφλατοξινογενὴς μύκητας, ἔχει κοσμοπολίτικη ἐξάπλωση καὶ συναντιέται παντοῦ. Δηλαδή, ὑπάρχει στὸ ἔδαφος, σὲ διάφορες φυτικὲς ὕλες πού βρίσκονται σὲ ἀποσύνθεση, σὲ πολλοὺς πλακοῦντες καὶ καρποὺς σιτηρῶν, σὲ ὀρισμένα ἄχυρα καὶ σὲ ποικίλες ἄλλες ζωοτροφές.

Ἀπειλή ὁμως γιὰ τὴ δημόσια υἡγεία, συνιστᾷ ἐνδεχομένως καὶ ἡ κατανάλωση ζωοκομικῶν προϊόντων ποὺ παράγονται ἀπὸ ζῶα, τὰ ὁποῖα λαμβάνουν τροφές ποὺ περικλείουν ἀφλατοξίνες. Καὶ τοῦτο, γιὰτὶ στὰ προϊόντα αὐτὰ μπορεῖ νὰ ὑπάρχουν κατάλοιπα τέτοιων τοξινῶν. Πράγματι, σὲ γάλα ἀγελάδων καὶ σὲ αὐγά, βρέθηκαν κατάλοιπα τέτοιων τοξινῶν ὕστερα ἀπὸ κατανάλωση τροφῶν μὲ σχετικά ὑψηλὴ περιεκτικότητα σὲ ἀφλατοξίνες. Ἡ συγκέντρωση μάλιστα τούτων τῶν ἐνώσεων ἐνδέχεται, σὲ ὀρισμένες περιπτώσεις, νὰ εἶναι τόσο ὑψηλὴ, ὥστε νὰ προκαλεῖται ἀφλατοξίκωση σὲ νεοσσούς παπιῶν, ὕστερα ἀπὸ χορήγηση σ' αὐτοὺς τέτοιου γάλακτος. Σὲ κρέας, ὡστόσο, μόσχων καὶ χοίρων, ποὺ διατρέφονταν μὲ τροφές ποὺ περιείχαν ἀξιόλογες ποσότητες ἀφλατοξινῶν, δὲν ἀνεύρεθηκε ὑψηλὴ συγκέντρωση καταλοίπων. Αὐτὰ ἦταν οὐσιαστικά ἀνύπαρκτα ἢ δυσκολοανιχνεύσιμα. Τὸ ἴδιο πρᾶγμα φαίνεται πῶς ἰσχύει καὶ γιὰ τὰ αὐγά τῶν ὀρνίθων. Δηλαδή, δὲν ἔχει πλήρως διαλευκανθεῖ, ἂν μποροῦν ἢ ὄχι οἱ ἀφλατοξίνες νὰ περνοῦν στὸ λεύκωμα τοῦ αὐγοῦ.

Μέτρα περιορισμοῦ παρουσίας ἀφλατοξινῶν στὶς ζωοτροφές. Γιὰ τὸν περιορισμὸ τῆς παρουσίας ἀφλατοξινῶν στὶς ζωοτροφές ἔχει ὑποδειχθεῖ μιὰ σειρά μέτρων. Ἐκεῖνα ὁμως ποὺ μποροῦν νὰ βροῦν ἐφαρμογὴ στὴν πράξη εἶναι τὰ ἑξῆς:

α) *Παραμπόδιση προσβολῆς ζωοτροφῶν φυτικῆς προελεύσεως ἀπὸ μύκητες ἢ ἀναστολὴ ἀναπτύξεως τῶν τελευταίων.* Ἡ μέθοδος αὕτὴ θεωρεῖται ὅτι εἶναι ἡ καλύτερη. Προϋποθέτει ὁμως σωστὴ ἐφαρμογὴ ὀρισμένων γεωργικῶν κανόνων, ὅπως: 1) χρησιμοποίηση ὑγιῶν σπόρων ἀπαλλαγμένων ἀπὸ μύκητες, 2) παρακολούθηση γενικά τῶν ἀσθενειῶν τῶν φυτῶν, καὶ ἰδιαίτερα τῶν προσβολῶν ἀπὸ ἔντομα σ' ὅλα τὰ στάδια τῆς καλλιέργειας, 3) ἐφαρμογὴ κατάλληλης λιπάνσεως στὸν ἄγρό, 4) ἄμεση συγκομιδὴ μετὰ τὴν ὀρίμανση, 5) χρῆση μηχανῶν συγκομιδῆς ποὺ νὰ λειτουργοῦν σωστά, ὥστε νὰ ἀποτρέπουν βλάβες στὸν καρπὸ καὶ νὰ ἀποφεύγεται ἡ συλλογὴ μαζί μὲ αὐτὸν ὑπερβολικῶν ποσοτήτων φύλλων καὶ ἀκαθαρσιῶν, 6) ἔλεγχος τοῦ προϊόντος τῆς συγκομιδῆς μὲ γρήγορες καὶ ἀπλές μεθόδους ἀναλύσεως γιὰ ἔγκαιρη ἀπομάκρυνση τυχόν μολυσμένου προϊόντος πρὶν αὐτὸ διατεθεῖ στὸ ἐμπόριο ἢ ἀρχίσει νὰ χρησιμοποιεῖται στὴ διατροφή τῶν ζῶων καὶ 7) ἀποθήκευση τοῦ καλὰ ἀποξηραμένου προϊόντος τῆς συγκομιδῆς σὲ χώρους καθαρούς, ξηροὺς καὶ ἐξοπλισμένους μὲ τὰ κατάλληλα συστήματα ἀερισμοῦ καὶ ψύξεως. Σημειωτέον, ὅτι ἡ ἐπιλογή ποικιλιῶν φυτῶν ἀνθεκτικῶν στοὺς μύκητες καὶ ἡ χρησιμοποίηση μυκητοκτόνων φαρμάκων δὲν ἐφαρμόσθηκαν ἀκόμη σὲ μεγάλῃ κλίμακα.

β) *Ἀπαλλαγὴ ζωοτροφῶν ἀπὸ ἀφλατοξίνες.* Ἐφόσον ἡ λήψη τῶν προηγούμενων μέτρων δὲν ἀποδώσει καὶ ἡ μόλυνση τῶν ζωοτροφῶν δὲν ἀποφευχθεῖ, τότε ἐξυπακούεται ὅτι θὰ πρέπει αὐτὲς νὰ ἀπαλλαγοῦν ἀπὸ τίς ἀφλατοξίνες ποὺ ἔχουν παραχθεῖ. Αὐτὸ μπορεῖ νὰ γίνῃ εἴτε ἀπομακρύνοντας τίς μολυσμένες ζωοτροφές μὲ διαλογή (χρῆση χειρῶν ἢ μηχανικῶν καὶ ἠλεκτρονικῶν διαλογέων), εἴτε ἐκχυλίζοντας αὐτὲς μὲ κατάλληλους πολικούς διαλύτες (μίγματα ἀκετόνης+νεροῦ ἢ ἐξανίου+ἀκετόνης+νεροῦ ἢ ἐξανίου+μεθανόλης κ.ἄ.) Εἰ-

ΠΙΝΑΚΑΣ 2

**Συγκεντρώσεις άφλατοξίνης σέ σιτηρέσια ζώων πού είναι ικανές νά προκα-
λούν τοξίκωση**

Συγκέντρωση άφλατοξίνης (ppm στό σιτηρέσιο)	Κατηγορία ζώων	Ήλικία ζώων	Διάρκεια καταναλώσεως
0.2-2.2	Μόσχοι	Έναρξη άπογαλ.	16 εβδομάδες
0.2-0.7	Μόσχοι (εύνουχ.)	2 έτη	20 εβδομάδες
2.4	Άγελάδες	2 έτη	7 μήνες
0.23	Χοιρίδια	Νεογέννητα	4 ήμέρες
0.17	Χοιρίδια	2 εβδομάδες	23 ήμέρες
0.4-0.7	Χοιρίδια	4-6 εβδομάδες	3-6 μήνες
0.8	Όρνίθια	1 εβδομάδα	10 εβδομάδες
0.3	Πάπιες	—	6 εβδομάδες

ναι ευνόητο πώς οί διαλύτες αυτοί δέν πρέπει νά μειώνουν τή θρεπτική αξία τών ζωοτροφών.

γ) *Άδρανοποίηση άφλατοξινών στις ζωοτροφές.* Αυτή μπορεί νά γίνει είτε με τή βοήθεια χημικών αντιδραστηρίων, όπως είναι τó υπεροξειδίο τοῦ ὕδρο-γόνου, τó ὕδροξειδίο τοῦ άσβεστίου, ή άμμωνία, ή φορμαλδεϋδη κ.ά., είτε με τήν επίδραση τῆς θερμότητας, καί μάλιστα σέ συνδυασμό με ὕδατμούς. Πρέ-πει όμως νά τονισθεῖ, ὅτι ή άδρανοποίηση τών άφλατοξινών δέ σημαίνει ὀλι-κή καταστροφή αὐτῶν. Επίσης, ὅτι δέ θά πρέπει τά χημικά αντιδραστήρια νά αφήνουν τοξικά ὑπολείμματα στις ζωοτροφές καί ή θερμική κατεργασία νά αλλοιώνει τίς θρεπτικές τους οὐσίες.

Στό σημείο τοῦτο κρίνεται σκόπιμο νά αναφερθεῖ, ὅτι σήμερα στις περισ-σότερες προηγμένες χώρες ὑπάρχει νομοθετική ρύθμιση γιά τή δυνατότητα συμμετοχῆς ζωοτροφῶν πού περιέχουν άφλατοξίνες στό σιτηρέσιο. Π.χ. τó «Agricultural Experimental and Research Institute of Kiel» τῆς Γερμανίας δέ-χεται καί προτείνει ὅτι οί διάφορες προσβλημένες ζωοτροφές ἢ δέν πρέπει νά προσθέτονται στό σιτηρέσιο ἢ ἐφόσον προσθέτονται, τότε ή ὀλική συγκέντρω-ση τών άφλατοξινών σ' αὐτό δέν μπορεί νά ὑπερβαίνει ὀρισμένα ὅρια. Τά ὅ-ρια αὐτά, ανάλογα γιά ποιά ζῶα προορίζονται οί ζωοτροφές, ἔχουν ὅπως ση-μειώνεται στόν πίν. 3. Ἡ Εὐρωπαϊκή Οἰκονομική Κοινότητα (Ε.Ο.Κ.), πάλι, ἔχει υἱοθετήσει ὡς ὅρια άνεκτικότητος άφλατοξίνης σέ διάφορες ζωοτροφές αὐτά πού περιλαμβάνονται στόν πίν. 4. Ἐξάλλου, σέ ὀρισμένες ἄλλες χώρες γίνονται δεκτά τά ὅρια πού αναφέρονται στόν πίν. 5.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3

***Ανεκτά όρια συγκεντρώσεως άφλατοξινών σε σιτηρέσια ζώων**

Κατηγορία ζώων	*Όρια συγκεντρώσεως άφλατοξινών (σε ppm στο σιτηρέσιο)
Πάπιες	0
Ίνδιανονεοσσοί	0
*Όρνίθια	0
Χοιρίδια αναπτύξεως	0
*Άμνοι αναπτύξεως	0
Μόσχοι αναπτύξεως	0
Ίνδιάνοι παχύνσεως (τελική φάση)	0,005-0,025
*Όρνίθια παχύνσεως	0,005-0,025
Χοίροι παχύνσεως	0,0075-0,038
*Όρνιθες σε ώοτοκία	0,0075-0,038
Βοοειδή παχύνσεως (τελική φάση)	0,0075-0,038
*Άγελάδες γαλακτοπαραγωγής	0,1115-0,075
Πρόβατα	0,15-0,075

ΠΙΝΑΚΑΣ 4

***Ανεκτά όρια άφλατοξίνης Β₁ για διάφορες ζωοτροφές στις χώρες της Ε.Ο.Κ.**

Κατηγορία ζωοτροφών	*Όρια σε ppm
*Απλές ζωοτροφές	0,050
Μίγματα ζωοτροφών για βοοειδή και αίγοπρόβατα	0,050
Μίγματα ζωοτροφών για χοίρους και πουλερικά	0,020
*Άλλα μίγματα ζωοτροφών	0,010
Συμπληρωματικό σιτηρέσιο άγελάδων σε γαλακτοπαραγωγή	0,020

Β. ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΥΠΑΡΞΕΩΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΩΝ ΣΕ ΖΩΟΤΡΟΦΕΣ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Η διερεύνηση γενικά, της ύπάρξεως άφλατοξινών στις ζωοτροφές δέν είναι εύκολο πράγμα. Και τοϋτο λόγω δυσχερειών που αναφύονται κατ' αϋτήν και που άπορρέουν από την έλλειψη δυνατότητας για την παρακολούθηση της άκριβοϋς διακινήσεως τών ζωοτροφών. Δηλαδή, από την άδυναμία να γνωρίζουμε την τύχη τους από τη στιγμή της καλλιέργειας μέχρι τη χρησιμο-

ΠΙΝΑΚΑΣ 5

Ανεκτά όρια άφλατοξίνης Β₁ για διάφορες τροφές σε όρισμένες χώρες.

Χώρες	Κατηγορία τροφών	*Όρια σε ppm
Βέλγιο	Όποιαδήποτε ζωοτροφή	0.040
Βραζιλία	Αραχιδόπιτα (για έξαγωγή)	0.050
Καναδάς	Καρποί αραχίδας και προϊόντα τους	0.015*
Δανία	Καρποί αραχίδας, κοινοί ή Βραζιλίας	0.005-0.010
Γαλλία	Βλέπε πιν. 4 για τις χώρες της Ε.Ο.Κ.	
Ινδία	Αραχιδόπιτα (τροφή ανθρώπου)	0.030
	Αραχιδόπιτα (ζωοτροφή για έξαγωγή)	1.000
Ισραήλ	Όποιαδήποτε ζωοτροφή	0.020
Ιταλία	Καρποί αραχίδας (για είσαγωγή)	0.050
Ιαπωνία	Όποιαδήποτε τροφή ανθρώπου	0.010
	Καρποί αραχίδας (για είσαγωγή)	1.000
Μαλαισία	Όποιαδήποτε τροφή	0
Μαλάβι	Καρποί αραχίδας	0.005
Νορβηγία	Άλευρο έλαιούχων σπερμάτων	0.600
Πολωνία	Όποιαδήποτε τροφή ανθρώπου ή ζώων (για είσαγωγή)	0.005
Ρωδσία	Καρποί αραχίδας	0.025
	Ζωοτροφές	0.50-0.400
Σουηδία	Όποιαδήποτε τροφή	0.0050-0.010
	Αραχιδόπιτα	0.060
Ηνωμ. Βασίλειο	Καρποί αραχίδας	0.050
	Αραχιδόπιτα	0-0.500
Η.Π.Α.	Καρποί αραχίδας, έδωδιμοι	0.015*
	Όποιαδήποτε άλλη τροφή ανθρώπου ή ζώων	0.020

* Συνολικά σε άφλατοξίνες Β₁+Β₂+G₁+G₂

ποίησή τους. Ήξάλλου, θά πρέπει πρωταρχικά νά ἐξετάζεται ἂν ὑπάρχει ἡ ὄχι ἀντικείμενο γιά μιὰ τέτοια διερεύνηση.

Ξεκινώντας ἀκριβῶς ἀπό τὸ σκεπτικὸ αὐτό, ἔγινε ἡ ἐν λόγω ἐργασία πού στόχος της ἦταν νά ἐξακριβωθεῖ ἂν ὑπάρχει καί σέ ποιά ἔκταση θέμα παρουσίας ἀφλατοξινῶν στίς ζωοτροφές. Γιατί ἀπό ὅσα εἴμαστε σέ θέση νά ξέρουμε καί τὸ τέτοιο δὲν ἔχει μέχρι τώρα διερευνηθεῖ στήν Ἑλλάδα. Ἀλλά οὔτε ἀκόμη καί κρούσματα ἀφλατοξικώσεως ἔχουν ἐπίσημα περιγραφεῖ, ἂν καί ἀρκετὰ κλινικά περιστατικά θεωρήθηκαν κατὰ καιροῦς ὑποπτα σὰν τέτοιες τοξικώσεις.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Γιὰ τὴ διεξαγωγή αὐτῆς τῆς ἐργασίας συλλέχθηκαν ἀπὸ τὸ 1974 ὡς τὸ 1977 καί ἐξετάσθηκαν 450 δείγματα ποικίλων ζωοτροφῶν. Τὰ δείγματα αὐτὰ προέρχονταν ἀπὸ διάφορα διαμερίσματα τῆς χώρας μας (πίν. 6) καί λαμβάνονταν κατὰ τὸ χρόνο τῆς διαθέσεως τῶν ζωοτροφῶν πρὸς σίτιση τῶν ζώων. Ἀμέσως μετὰ τὴ λήψη τους, τὰ δείγματα ἀφοῦ τοποθετοῦνταν μέσα σὲ πλαστικούς σάκκους, μεταφέρονταν μὲ φορητὸ ψυγεῖο στὸ Ἑργαστήριον καί φυλάσσονταν σὲ θερμοκρασία-18°C μέχρι τῆς ἐξετάσεώς τους. Ἡ τελευταία γινόταν γιὰ τέσσερις ἀφλατοξίνες, δηλαδὴ γιὰ τὶς B₁, B₂, G₁ καί G₂. Γιὰ αὐτὴν τὴν ἐξέταση ἐφαρμόσθηκαν οἱ ἐπίσημες μέθοδοι πού περιγράφονται στὸ «Official methods of analysis» (A.O.A.C., 1970). Λήφθηκαν βέβαια ὑπόψη κατὰ τὴν πρόοδο τῆς ἐργασίας καί οἱ τροποποιήσεις-προσθήκες, πού περιλαμβάνονται στὴν ἀντίστοιχη ἔκδοση τοῦ 1975.

Σύμφωνα λοιπὸν μὲ αὐτὲς τὶς μεθόδους, τὸ δείγμα, ἂν ἀνῆκε στὰ σπέρματα σιτηρῶν, ἀλεθόταν σὲ τέτοιο βαθμὸ πού νά μπορεῖ νά περνᾷ ἀπὸ κόσκινο μὲ ἄνοιγμα βροχίδων 20 Mesh (0,8 mm). Ἀπὸ τὸ ἄλευρο πού προέκυπτε λαμβανόταν μὲ ζύγιση ποσότητα 50 g. Τὸ δείγμα αὐτὸ ἀναμειγνυόταν μὲ γῆ διατόμων (25 g) μέσα σὲ φιάλη Erlenmeyer καί ἐκχυλιζόταν μὲ μίγμα ἀπὸ χλωροφόρμιο+νερὸ (250 ml+25ml). Τὸ ἐκχύλισμα ἀκολουθῶς ὑποβαλλόταν σὲ διήθηση καί ἀπαλασσόταν ἀπὸ ὀρισμένες οὐσίες, πού παρενοχλοῦν τὸν προσδιορισμὸ τῶν ἀφλατοξινῶν, ὕστερα ἀπὸ δίοδὸ τοῦ μέσω χρωματογραφικῆς στήλης ἀπὸ Silica Gel. Οἱ οὐσίες αὐτὲς ἀπομακρύνονταν ἀπὸ τὸ ἐκχύλισμα ἐκλούοντας τὴ στήλη διαδοχικὰ μὲ ἐξάνιο 150 ml καί διαιθυλαιθέρα 150 ml. Στὴ συνέχεια οἱ ἀφλατοξίνες παραλαμβάνονταν ἀπὸ τὴ στήλη κάμνοντας ἐκκλωση μ' ἓνα μίγμα χλωροφόρμιο+μεθανόλη (145,5 ml+4,5ml). Τὸ καθαρισμένο πιά ἐκχύλισμα συμπυκνωνόταν σὲ ἀτμόλουτρο μέχρις ὅγκου 1-2 ml, προκειμένου νά ἐπακολουθήσει ἡ πλήρης ξήρανσή του σὲ ρεῦμα ἀζώτου. Τὸ ξηρὸ τοῦτο ὑπόλειμμα διαλυόταν ἀκολουθῶς σ' ἓνα μίγμα 0,2 ml ἀπὸ βενζόλιο+ἄκετονιτρίλιο (98+2ml) καί ὑποβαλλόταν σὲ χρωματογραφία ἐπάνω σὲ γυάλινες πλάκες, ἐπικαλυμμένες μὲ λεπτὴ στιβάδα ἀπὸ Silica Gel.

Παράλληλα καί ἐπάνω στίς ἴδιες πλάκες χρωματογραφοῦνταν ἀκόμη σταθερότυπα διαλύματα (standards) ἀφλατοξινῶν, τὰ ὁποῖα εἶχαν παρασκευασθεῖ

ΠΙΝΑΚΑΣ 6

Είδος, προέλευση και αριθμός δειγμάτων ζωοτροφών που εξετάσθηκαν για την παρουσία αφαλατοξινών

Προέλευση

Είδος ζωοτροφών	Μακεδονία Σ. Έλλ. & Εύβοια				Πελοπόννησος				Θεσσαλία				Ήπειρος				Θράκη			
	Αριθμός δειγμάτων ζωοτροφών				Αριθμός δειγμάτων ζωοτροφών				Αριθμός δειγμάτων ζωοτροφών				Αριθμός δειγμάτων ζωοτροφών				Αριθμός δειγμάτων ζωοτροφών			
	n ₁	n ₂	n ₁	n ₂	n ₁	n ₂	n ₁	n ₂	n ₁	n ₂	n ₁	n ₂	n ₁	n ₂	n ₁	n ₂	n ₁	n ₂	Σn ₁	Σn ₂
Αραβόσιτος, σπέρματα	54	1	12	1	11	0	12	1	12	1	1	0	102	4						
Κριθή, σπέρματα	30	5	8	0	11	0	9	0	4	0	—	—	62	5						
Σίτος, σπέρματα	24	1	7	0	7	1	15	0	4	0	—	—	57	2						
Βρώμη	7	3	8	0	6	0	—	—	—	—	—	—	21	3						
Πίτυρα σίτου	31	1	6	0	2	0	6	0	5	0	—	—	50	1						
Κτηνάλευρα (βήττες)	10	0	3	0	—	—	3	0	2	0	—	—	18	0						
Βίκος, καρπός	4	0	—	—	2	0	2	0	—	—	—	—	8	0						
Βαμβακόσπορος	2	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	1						
Βαμβακόπιτα	11	1	2	0	9	0	1	0	1	1	1	0	25	2						
Σογιόπιτα	15	0	10	0	4	0	—	—	7	0	1	0	37	0						
Καλαμποκόπιτα	1	0	1	0	—	—	—	—	—	—	—	—	2	0						
Ήλιόπιτα	1	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0						
Ελαιοπυρήνες	—	—	—	—	4	2	—	—	—	—	—	—	4	2						
Διάφορα μίγματα	13	0	6	1	9	0	—	—	—	—	13	2	41	3						
Ίχθυάλευρο	4	—	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10	0						
Μηδικάλευρο	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10	0						
Σύνολο	217	13	69	2	65	3	48	1	35	2	16	2	450	23						

n₁ = δείγματα που εξετάσθηκαν και n₂ = δείγματα που βρέθηκαν θετικά. Έκατοστιαίο ποσοστό θετικών δειγμάτων: 5,11 (Σn₁/Σn₁·100).

διαλύοντας κρυσταλλικές άφλατοξίνες B₁, B₂, G₁ και G₂ σέ μίγμα από βενζόλιο+άκετονιτρίλιο (98+2ml). Ό ποσοτικός προσδιορισμός γινόταν μετρώντας την ένταση του φθορισμού των κηλίδων των άφλατοξινών διεγ. = 355-375 nm, λ_{εξ.} = 430-450nm), με την βοήθεια ειδικού φασματοφωτομέτρου (spectro-densitometer, schöffel SD 3000).

Σέ περίπτωση πού τό δείγμα άνηκε στους πλακοϋντες (πίτες), τότε μετά την άλεσή του ή εκχύλιση των 50 g αϋτοϋ, γινόταν με μίγμα από άκετόνη + νερό + όξικό όξύ (211ml+37ml+2ml) και άκολουθοϋσε ή διήθηση. Τό διήθημα ύποβαλλόταν σέ προκαταρκτικό καθαρισμό, πριν χρωματογραφηθεϊ στή στήλη, με την προσθήκη σ' αϋτό ενός ύδατικού διαλύματος όξικού μο-λύβδου 200 g/lit και τη θερμανσή του, ώστε νά καταστεί δυνατή ή καταβύθιση των άκαθαρσιών. Έπακολουθοϋσε νέα διήθηση και εκχύλιση τοϋ καθαρισμένου πιά διηθήματος με χλωροφόρμιο. Στή συνέχεια τό χλωροφορμικό εκχύλι-σμα συμπυκνωνόταν σέ άτμόλουτρο σχεδόν μέχρι νά ξηρανθεϊ και άπαλλασ-σόταν, με χρωματογραφία σέ στήλη από Silica Gel, από τις ύπόλοιπες οϋσίες πού θά μπορούσαν νά παρενοχλοϋν. Οί τελευταίες άπομακρϋνονταν από τη στήλη εκλοϋοντάς της μ' ένα μίγμα από διαιθυλαιθέρα+έξάνιο (112 ml +38m-l)μέσω αϋτής ενός μίγματος χλωροφορμίου+άκετόνης (160 ml+40ml). Τό τε-λευταίο τοϋτο εκχύλισμα συμπυκνωνόταν μέχρι ξηροϋ για νά χρησιμοποιηθεϊ πιά όπως περιγράφεται στην προηγούμενη περίπτωση-για τη διενέργεια χρω-ματογραφίας λεπτής στιβάδας και τη μέτρηση της ποσότητας των άφλατοξι-νών.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τά άποτελέσματα, τά όποια προέκυψαν από τις μετρήσεις πού έγιναν κατά την έργασία αϋτή, περιλαμβάνονται στους πίν. 6 και 7. Από τη μελέτη των στοιχείων των δύο τοϋτων πινάκων συνάγεται πώς από τά 450 δείγματα ζωο-τροφών, πού εξέτάσθηκαν, μόνο τά 23 βρέθηκε νά περιέχουν άφλατοξίνες (πο-σοστό 5,11%). Πρέπει νά τονισθεϊ, ότι τά 14 από τά 23 αϋτά δείγματα περιεί-χαν άφλατοξίνες B₁, τά έξι B₂, τά δύο G₁ και τό ένα G₂. Έπίσης, νά διευκρι-νισθεϊ, ότι οί άφλατοξίνες αϋτές περικλείονταν σέ ποσότητα μικρότερη από 0,080 ppm για τά 21 δείγματα και 0,100 & 0,250 ppm για τά δύο άλλα. Τά δύο μάλιστα τελευταία δείγματα άφοροϋσαν σέ έλαιοπυρήνες. Έξάλλου, νά σημειωθεϊ, ότι σ' όλες σχεδόν τις περιπτώσεις, ή συγκέντρωση των άφλατοξι-νών κυμαινόταν σέ τέτοιες τιμές, πού οϋσιαστικά δέν ξεπερνοϋσε τά αντίστοι-χα γι' αϋτές άνεκτά όρια (βλέπε πίν. 3, 4 και 5). Έξάίρεση ύπάρχει στα δύο δείγματα των έλαιοπυρήνων. Σ' αϋτά οί συγκεντρώσεις των άφλατοξινών βρί-σκονταν σέ έπίπεδα όριακά και ένδεχομένως ίκανά για πρόκληση τοξικώνσεως σέ όρισμένα είδη εϋαίσθητων ζώων (βλέπε πίν. 2), ύπό την προϋπόθεση φυσι-κά ότι οί έλαιοπυρήνες θά άποτελοϋσαν τό άποκλειστικό σιτηρέσιό τους. Πέ-ρα άπ' αϋτά, άξίζει νά άναφερθεϊ πώς μεταξύ 37 δειγμάτων σογιόπιτας, πού εξέτάσθηκαν, δέν βρέθηκε οϋτε ένα θετικό στην παρουσία άφλατοξινών (εϋαι-

ΠΙΝΑΚΑΣ 7

Συγκεντρώσεις άφλατοξινών στα δείγματα ζωοτροφών που βρέθηκαν θετικά (βλ. πίν. 6)

Είδος ζωοτροφών		Συγκεντρώσεις άφλατοξινών σε ppm			
		B ₁	B ₂	G ₁	G ₂
Άραβόσιτος, σπέρματα δείγματα θετικά 4:					
	1ο	0	0	<0,005	0
	2ο	<0,005	0	0	0
	3ο	0,080	0	0	0
	4ο	0,039	0	0	0
Κριθή, σπέρματα δείγματα θετικά 5:					
	1ο	0,010	0	0	0
	2ο	0,015	0	0	0
	3ο	0,040	0	0	0
	4ο	0	<0,005	0	0
	5ο	<0,005	0	0	0
Σίτος, σπέρματα δείγματα θετικά 2:					
	1ο	0	0,010	0	0
	2ο	0,020	0	0	0
Βρώμη, σπέρματα δείγματα θετικά 3:					
	1ο	0	0,020	0	0
	2ο	0	0,040	0	0
	3ο	0,075	0	0	0
Πίτυρα σίτου, δείγματα θετικά 1:					
		0	0,020	0	0
Βαμβακόσπορος, δείγματα θετικά 1:					
		0	0,020	0	0
Βαμβακόπιτα, δείγματα θετικά 2:					
	1ο	0,010	0	0	0
	2ο	0,015	0	0	0
Έλαιοπυρήνες δείγματα θετικά 2:					
	1ο	0	0	0,100	0
	2ο	0	0	0	0,250
Διάφορα μίγματα δείγματα θετικά 3:					
	1ο	<0,005	0	0	0
	2ο	<0,005	0	0	0
	3ο	0,015	0	0	0

σθησία μεθόδου μέχρι 0,005 ppm). Τοῦτο ἔχει κάποια πρακτική σημασία, γιατί συχνά πολλοί πτηνοτρόφοι, ἀλλὰ καί συνάδελφοι ἐνοχοποιοῦν ἴσως ἄδικα τὴ σογιόπιττα, κάθε φορά πού τυχαίνει νά τὴ βλέπουν μὲ μερικοὺς σβώλους, σὰν υπεύθυνη ἀφλατοξικώσεως, κυρίως στὴν περίπτωση τῶν πτηνῶν.

Ἀπὸ ὅσα ἀναφέρθηκαν παραπάνω συνάγεται ἀβίαστα ὅτι ἡ παρουσία ἀφλατοξινῶν στίς ζωοτροφές δὲν ἦταν, τουλάχιστον γιὰ τὴ χρονικὴ περίοδο πού ἔγινε ἡ ἔρευνα, ἀνησυχητική. Καί τοῦτο γιατί ἡ συγκέντρωση τῶν τοξικῶν αὐτῶν οὐσιῶν οὐσιαστικά δὲν ξεπερνοῦσε τὰ διεθνῶς ἀνεκτὰ ὅρια, ὥστε νά δημιουργεῖται σοβαρὸ θέμα τόσο ἀπὸ ἀποψη οἰκονομικῶν ἀπωλειῶν, ὅσο καί ἀπὸ ἀποψη δημόσιας υγείας. Στὸ εὐμενὲς βέβαια αὐτὸ ἀποτέλεσμα, πιστεύεται ὅτι συνέβαλε τόσο τὸ ξηρὸ κλίμα πού ἐπικρατεῖ συνήθως στὴν Ἑλλάδα κατὰ τὴν ἐποχὴ τῆς συγκομιδῆς τῶν περισσότερων ζωοτροφῶν, ὅσο καί ἡ βραχυχρόνια κατὰ κανόνα ἀποθήκευση τῶν τελευταίων, ἐξαιτίας τοῦ γεγονότος ὅτι αὐτὲς εἶναι λίγες καί δὲν ἐπαρκοῦν συνήθως γιὰ τὶς ἐγχώριες ἀνάγκες. Ἐπειδὴ ὁμως δὲν μπορεῖ νά προδικάζεται πάντοτε τὸ ἀμετάβλητο τοῦ εὐμενοῦς αὐτοῦ ἀποτελέσματος ἐπιβάλλεται: α) διαρκὲς ἐπαγρύπνηση μὲ τὴ διενέργεια συχνῆς καί συστηματικῆς διερευνήσεως καί β) νομοθετικὴ καθιέρωση καί στὴν Ἑλλάδα τοῦ ἐλέγχου τῶν ζωοτροφῶν γιὰ τὴν παρουσία ἀφλατοξινῶν.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ἡ σημασία πού ἀποδίδεται στὴν τοξικότητα τῶν ἀφλατοξινῶν σὲ συνδυασμὸ μὲ τὸ γεγονὸς ὅτι στὴν Ἑλλάδα δὲν ἔχει ἐξετασθεῖ ἐπισταμένα ἢ ὑπαρξή τους στὰ τρόφιμα, ἀποτέλεσαν τὴν αἰτία νά διερευνηθεῖ σὲ πρώτη φάση, ἂν ὑφίσταται καί σὲ ποιά φυσικὰ ἔκταση, θέμα παρουσίας τῶν τοξινῶν αὐτῶν στίς ζωοτροφές.

Γιὰ τὸν σκοπὸ αὐτὸν ἐξετάσθηκαν 450 δείγματα διάφορων ζωοτροφῶν, πού λήφθηκαν στὴν τύχη ἀπὸ ὅλα σχεδὸν τὰ διαμερίσματα τῆς χώρας κατὰ τὸ χρονικὸ διάστημα 1974-1977. Τὰ ἀποτελέσματα πού πρέκυψαν, μπορεῖ νά χαρακτηρισθοῦν ὡς ἀρκετὰ ἐνθαρρυντικά. Καί τοῦτο, ἂν ληφθεῖ ὑπόψη ὅτι μόνο 23 δείγματα ἀπὸ τὰ 450 (ποσοστὸ 5,11%) βρέθηκαν νά περιέχουν ἀφλατοξίνες, καί μάλιστα στὴν πλειονότητά τους μὲ συγκεντρώσεις κάτω ἀπὸ τὰ διεθνῶς ἐπιτρεπόμενα ὅρια. Ἐπειδὴ ὁμως δὲν μπορεῖ νά προδικάζεται πάντοτε τὸ ἀμετάβλητο τῶν εὐμενῶν αὐτῶν ἀποτελεσμάτων, ἐπιβάλλεται: α) διαρκὲς ἐπαγρύπνηση μὲ τὴ διενέργεια συχνῆς καί συστηματικῆς διερευνήσεως καί β) νομοθετικὴ καθιέρωση καί στὴν Ἑλλάδα τοῦ ἐλέγχου τῶν ζωοτροφῶν γιὰ τὴν παρουσία ἀφλατοξινῶν.

Ἡ μεγάλη σημασία πού ἀποδίδεται στὴν τοξικότητα τῶν ἀφλατοξινῶν, σὲ συνδυασμὸ μὲ τὸ γεγονὸς ὅτι στὴν Ἑλλάδα δὲν ἔχει ἐξετασθεῖ ἐπισταμένα ἢ ὑπαρξὴ τῶν μυκοτοξινῶν αὐτῶν στίς ζωοτροφές μᾶς ὥθησαν στὴ διεξαγωγὴ τῆς ἐν λόγω μελέτης. Ἀποτέλεσαν δηλαδή τὴν αἰτία νά διερευνηθεῖ ἂν ὑπάρχει καί σὲ πᾶ φυσικὰ ἔκταση, θέμα παρουσίας ἀφλατοξινῶν στίς ζωοτροφές.

Γι' αὐτὸν τὸ σκοπὸ ἀκολουθήθηκε ὁ τρόπος ἐργασίας ποὺ περιγράφεται παρακάτω καὶ ὕστερα ἀπὸ παράθεση βασικῶν δεδομένων γι' αὐτὲς τὶς τοξίνες.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Allcroft, R., Carnaghan, R.B.A., Sargeant, K. & O'Kelley, J. (1961): A toxic factor in Brazilian groundnut meal. *Vet. Record*, 73:428.
2. Allcroft, R. & Carnaghan, R.B.A. (1963): Groundnut toxicity: An examination for toxin in human food products from animals fed toxic groundnut meal. *Vet. Record*, 75:259-63.
3. A.O.A.C., (1970): *Official Methods of Analysis* «426-436 11th Edit. Washington.
4. A.O.A.C., (1975): «*Official Methods of Analysis*» 462-473. 12th Edit. Washington.
5. Archibald, R. McG., Smith, H.J. & Smith, J.D. (1962): Brazilian groundnut toxicosis in Canadian broiler chickens. *Can. Vet. J.*, 3: 322-25.
6. Asplin, F.D. & Carnaghan, R.B.A. (1961): The toxicity of certain groundnut meals for poultry with special reference to their effect on ducklings and chickens. *Vet. Record*, 73: 1215-19.
7. Βαλταδῶρος, Α.Δ. (1971): «Μυκοτοξίναι καὶ ἡ ἐπ' αὐτῶν ἔρευνα τῆς χημείας καὶ τῆς τεχνολογίας τῶν σιτηρῶν «Χημικὰ Χρονικά», 233-239.
8. Βασιλόπουλος, Β. (1968): «Ἀνίχνευσις καὶ προσδιορισμὸς τῆς ἀφλατοξίνης». Ἑλληνικὴ Κτηνιατρικὴ, τεύχ. 1ο, 63-70.
9. Blount, W.P., Fraser, D.M., Knight, D. & Dowling, W.M. (1963): The use of ducklings for the detection of aflatoxin. *Vet. Record*, 75:35.
10. Brown, J. M.M. & Abrams, L. (1965): Biochemical studies on aflatoxicosis. *Ontesterpoort J. Vet. Res.*, 32:119-46.
11. Campbell, A.D. (1977): «Food Mycotoxins Survey and Monitoring Programs». *Pure and Appl. Chem.*, 49, 1703-1707.
12. Carnaghan, R.B.A., Lewis, G. Patterson, D.S.P & Allcroft, R. (1966): Biochemical and pathological aspects of groundnut poisoning in chickens. *Pathol. Vet.*, 3:601:15.
13. Carnaghan, R.B.A. & Sargeant, K. (1961): The toxicity of certain groundnut meals to poultry. *Vet. Record*, 73:726-27.
14. Ciegler, (1976): «Mycotoxins in Animal Feeds: The extent and Nature of the Problem». National Renderers Ass., Inc. Brussels Regional Office.
15. De Andrès, V. (1967): Absorción, acumulación, acción, metabólica, eliminación de la aflatoxina en dos razas de gallinas. *Thèse Fac. Vet. Univ. Madrid*.
16. Gondblath, L.A., Dollear, F.G. (1977): «Review of prevention, Elimination, and Detoxification of Aflatoxins». *Pure and Appl. Chem*, 49, 1759-1764.

17. Goldblatt, L.A., (1972): «Aflatoxin, Scientific Back ground, Gontrol, and Implications. 2nd Edit. Academic Press. N. York, London.
18. IUPAC, (1973): «Symposium on the Control of mycotoxins» Butterwoths London.
19. Krogh, P. (1977): «Mycotoxin Tolerances in Foodstuffs». Pure and Appl. Chem. 49, 1719-1721.
20. Lebreton, E., Frayssinet, C. & Boy, J. (1962): Sur l' apparition d' hepato-mes spontanès chez le rat Wistar. Rôle de la toxine d' Aspergillus flavus. Intérêt en pahologie humaine et en cancérologie expérimentale. C.R. Acad. Sci., 255:784.
21. Lancaster, M.C., Jenkin, F.P. & Philip, Mc L. (1961): Toxicity associated with certain samples groundnuts, Nature, 192:1095.
22. Rodricks, J.V. (1976): «Mycotoxins and Other Fungal Related Food Problems». Advances in Chemistry Series. An Edition of American Chemical Society. Washington.
23. Sargeant, K., O' Kelley, J., Carnaghan, R.B.A. & Allcroft, R. (1961): The assay of a toxic principle in certain groundnut meals. Vet. Record, 73:1219-23.
24. Sargeant, K., Sherihan, A., O' Kelley, J. & Carnaghan, R.B.A. (1961): Toxicity associated with certain samples of groundnuts. Nature 199:1096-97.
25. Van der Linde, J.A., Frens, A.M. & Van Esch, G.J. (1964): Experiments with cows fed groundnut meal containing aflatoxin, in mycotoxins in food-stuffs. Proc. Int. Symp. Mycotoxins in foodstuffs. M.I.T. Press, Cambridge, Mass.
26. Wogan, G.N. (1965): «Mycotoxins in Foodstuffs». M.I.T. Press. Cambridge, Massachusets.
27. Zintzen, H. (1972): «The Aflatoxin Problem». Roche, News and Reviews, 6-13.