

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
 Πρωτοδικείου 'Αθηνών
 Πρόεδρος για το έτος 1983
 Στ. Κυριάκης
ΕΚΔΟΤΗΣ: Έκδίδεται υπό αίρεση πεν-
 ταμελούς 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 Σύνθεσης 'Επι.:
 Χ. Παππούς
 Α. Σελιάνης
 Ι. Δημητριάδης
 Σ. Κολάγγης
 Έκδοτική παραγωγή:
ΕΠΤΑΛΟΦΟΣ Α.Β.Ε.Ε.
 'Αρδηςσού 12-16 'Αθίνα
 Τηλ. 9217513 - 9214820
ΤΟΠΟΣ ΕΚΔΟΣΕΩΣ: 'Αθίνα

Τιμή Διεύθυνση:
 Τηλ. Θηρίς 3546
 'Αθίνα 102-10

Συνδρομές:

'Ετησία εσωτερικού	δρχ. 1000
'Ετησία εξωτερικού	* 2000
'Ετησία φοιτητών ήμεδαπής	* 500
'Ετησία φοιτητών άλλοδαπής	* 1000
Τιμή έκδοτου τεύχους	* 400
'Ιδρύματα, 'Υπηρεσια Οργανισμοί	* 1500

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

Redaction: L. Efsthathiou
 Zalokosta 30,
 Halandri
 Greece

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



Δελτίον

THE ELLHENIKH
 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

'Επιτεύγεις και ήμβόσηματα άποστέλονται έπ' όνό-
 ματι κ. Στ. Μάλλιμη Κτην. Ίνστι. 'Υγιανής και Τε-
 χνολογίας Τροφίμων, 'Ιερά όδός 75, Τ.Τ. 301
 'Αθίνα. Μόλετες, έπιστολές κ.λπ. άποστέλονται
 στον κ. Α. Ευσταθίου, Κτηνιατρικό Ίνστιτούτο
 Φυσιολογίας, 'Αναπαγωγής και Διατροφής
 Ζώων, Ναυπόλεος 9-25, 'Αγία Παρασκευή 'Αττι-
 κής.

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, Β. 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*

B. 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.

A. ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΙΣ ΑΦΛΑΤΟΞΙΝΕΣ

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

Έτσι στό Μαρόκο τό 1944 ό Ninard και Hitermann διαπίστωσαν πολλές περιπτώσεις θανατηφόρων κρουσμάτων σέ χοΐρους έξαιτίας ήπατικών άλλοιώ-

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

Ή έργασία αύτή άνακοινώθηκε στό 1ο Κτηνιατρικό Συνέδριο, Άθήνα, 1978 χωρίς νά συμπεριληφθεί στό 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 εκφύλιση και ίκτερο και άλλοτε από υπερτροφία με πολλαπλά όζιδια.

Άργότερα παρόμοια κρούσματα με άγνωστη αίτιολογία και θανατηφόρα έκβαση παρατηρήθηκαν σε μεγάλο αριθμό σε ινδιάνους, πάπιες, χοίρους και μόσχους πού εκτρέφονταν στην Εύρώπη και στην Άφρική. Τό 1960 στη Μεγάλη Βρετανία 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 ύπηρεζαν ή άφορμή για νά όνομασθεί αυτή «νόσος X τών ινδιάνων».

Γιά τήν έρμηνεία τής αίτιολογίας τής νόσου αυτής και τής προκλήσεως γενικότερα τών θανάτων διατυπώθηκαν ποικίλες άπόψεις. Καμιá 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 άλλοιώσεις άφοροϋσαν σχεδόν πάντοτε ζώα πού είχχαν φάει ή έτρωγαν άραχιδόπιτα και σπανιότερα βαμβακόπιτα. Έτσι τό 1961 με άφορμή τήν εμφάνιση τής «νόσου X τών ινδιάνων» ό Sargeant κατέληξε στο συμπέρασμα ότι αυτοί οί θάνατοι και οί άλλοιώσεις όφείλονταν σε κατανάλωση άραχιδόπιτας.

Πράγματι ή έρευνα πού άκολούθησε για νά έξακριβωθεί ή τοξικότητα τής άραχιδόπιτας έδειξε πώς τό γενεσιουργό αίτιο τούτων τών άλλοιώσεων είναι ένας τοξικός παράγοντας πού δημιουργείται σ' αυτήν, όταν προσβάλλεται από τό μύκητα *Aspergillus flavus*. Ό παράγοντας αυτός όνομάσθηκε άφλατοξίνη (*A-spergillus fla-vus toxin*). Μεταγενέστερα άποδείχθηκε πώς ή τοξίνη αυτή μπορεί νά παράγεται και από άλλα μέλη (μύκητες) τής ομάδος 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 αυτοί προσβάλλουν τά φυτά στο χρονικό διάστημα πού μεσολαβεί από τήν καλλιέργεια μέχρι τή χρησιμοποίησή τους.

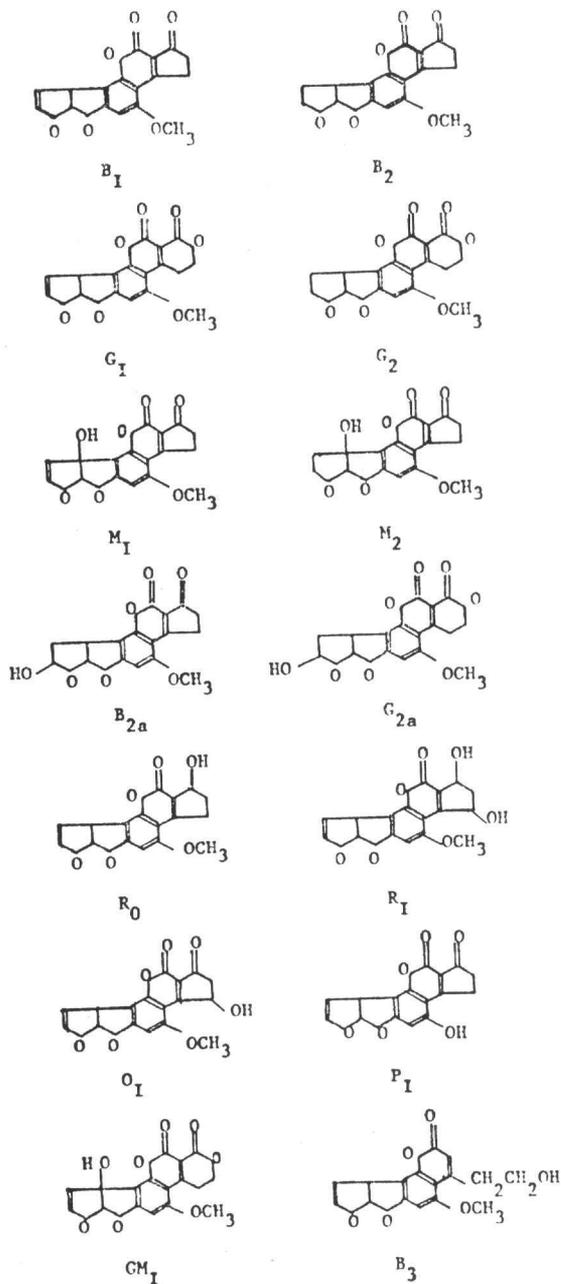
Χημεία άφλατοξινών. Σήμερα είναι γνωστό ότι με τόν όρο άφλατοξίνη δέν χαρακτηρίζεται μιá και μόνο ούσία, αλλά έννοείται μιá ομάδα ένώσεων πολλές από τις όποιες βρέθηκαν στη φύση (πίν. 1).

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

Όλες αυτές 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 έξαμελοϋς λακτόνης (G_1, G_2). Οί M_1 και M_2 είναι τά αντίστοιχα ύδροξυλιωμένα παράγωγα τών B_1 και B_2 . Οί άφλατοξίνες συνιστοϋν σώματα στερεά κρυσταλλικά. Δέ διαλύονται στο νερό και στόν πετρελαϊκό αϊθέρα. Όστόσο διαλύονται στη μεθανόλη, αιθανόλη, βενζόλιο και χλωροφόρμιο. Δέν καταστρέφονται εύκολα με τήν επίδραση τής 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 άτελείς. Το μόνο ώστόσο σίγουρο είναι ότι αυτές οι τοξίνες, κατά το μεγαλύτερο μέρος τους, αποβάλλονται με τα κόπρανα. Επίσης, ότι οι άφλατοξίνες που απορροφούνται, απέκκρίνονται τελικά από τον οργανισμό με τα ούρα, τη χολή ή και το γάλα. Ωστόσο, φαίνεται ότι οι εισαγόμενες στον οργανισμό απέκκρίνονται μόνο κατά ένα ελάχιστο ποσοστό αμετάβλητες. Κατά το μεγαλύτερο τους μέρος αποβάλλονται με διάφορες μορφές παραγώγων. Π.χ. οι Β₁ και Β₂ απέκκρίνονται με το γάλα ως Μ₁ και Μ₂. 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 (LD₅₀ < 1 mg/Kg Z.B. per os), ευαίσθητα (LD₅₀ 1mg/kg Z.B. per os) και άνθεκτικά (LD₅₀ γύρω στα 10 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 όρνιθα, τα χοιρίδια, οι μόσχοι και ακολουθούν τα αντίστοιχα ενήλικα θηλυκά άτομα αυτών, δηλαδή οι όρνιθες σε ώοτοκία, οι χοίροι σε γαλουχία ή κυοφορία και οι αγελάδες. Σε τούτη την κατηγορία κατατάσσονται ακόμη η λουτρεόλη (μίνγκ), ο φασιανός και το όρντικι. Στην τρίτη τέλος κατηγορία, των άνθεκτικών 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 άνεπαρκή περιεκτικότητα του σιτηρεσίου σε βιταμίνες ή πρωτεΐνες 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 έκδηλώσουν 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, ή μέση θανατηφόρα δόση (LD₅₀) 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 έκδηλώσεως 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 ίκανές 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 ὄρια 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 διαταραχὲς 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 αἵματηρὰ κόπρανα, πού συνοδεύεται ἀπὸ ναυεσμοὶ καὶ πρόπτωση τοῦ ἀπευθυσμένου. Στους χοίρους, ἐξἄλλου, μπορεῖ νὰ παρουσιάζεται ἴκτερος λίγο πρὶν ἀπὸ τὸ θάνατο.

Ἀπὸ ἄποψη παθολογοανατομικῶν ἀλλοιώσεων, οἱ κυριότερες ἀπ' αὐτὲς συναντιοῦνται στὸ ἥπαρ, στους νεφροὺς, στὸ μεσεντέριο, στὴν καρδιά καὶ στοὺς πνεύμονες. Σύνιστανται βασικὰ σὲ οἴδημα, συμφορήση ἢ πολυάριθμες αἱμορραγίες. Συχνὲς εἶναι οἱ περιπτώσεις ἀσκίτη καὶ καταρροϊκῆς ἐντερίτιδας. Οἱ νεφροὶ μάλιστα μπορεῖ νὰ ἐμφανίζονται μὲ διάφορες ὄψεις, 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 ἴωση, στεάτωση, κίρρωση ἢ καὶ ἠπάτωμα. Οἱ μικροσκοπικὲς ἀλλοιώσεις τοῦ ἥπατος χαρακτηρίζονται σ' ἓνα πρῶτο στάδιο ἀπὸ ἐκφύλιση τοῦ παρεγχύματος, πολλαπλασιασμὸ τῶν ἐπιθηλιακῶν κυττάρων τῶν χοληφόρων ἀγγείων καὶ συσσώρευση τοῦ κολλαγόνου στὴν περιφέρεια τῶν ἥπατικῶν λοβίων. Ἡ ἐκφύλιση τῶν παρεγχυματικῶν κυττάρων γίνεται ἀντιληπτὴ ἀπὸ μιὰ μεγαλοκυττάρωση, καρυομεγαλία καὶ πλῆθος κενοτοπιῶν μὲ λίπος. Στὴ συνέχεια, πιὸ συχνὰ ἐμφανίζεται μιὰ ὀξώδης νέκρωση μὲ συσσώρευση 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 ἴωση. 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 ζῶων, μετὰ ἀπὸ τὴν κατανάλωση μικρῶν ποσοτήτων ἀφλατοξίνης γιὰ πολὺ χρόνον, ἐμφανίζονται καθαρὰ πιὰ νεοπλασματικὲς ἀλλοιώσεις σὲ μορφή ὀξιδίων καὶ ἥπατωμάτων, τῶν ὁποίων τὰ παρεγχυματικὰ κύτταρα εἶναι ἄτυπα. Συχνὰ, παρατηροῦνται σπειραματονεφρίτιδες, καθὼς καὶ

μεταστάσεις στους πνεύμονες σε ζώα που παρουσιάζουν ήδη ήπατώματα. Από τις ήπατικές αλλοιώσεις εκείνες που είναι κοινές και σταθερές σ' όλα τα ευαίσθητα είδη των ζώων είναι: η υπερπλασία των χοληφόρων αγγείων, η μεγαλοκυττάρωση στον παρεγχυματικό ιστό και η κεντρολοβιακή ίνωση που τείνει να γίνει χρόνια.

Παράλληλα πρὸς τις παθολογοανατομικές αυτές αλλοιώσεις τοῦ ἥπατος, ἐπέρχεται αὐξηση τῆς περιεκτικότητας τοῦ τελευταίου σὲ λίπος (μὲ ἐξαιρέση τὸ μόσχο) καὶ μείωση ἐκείνης σὲ γλυκογόνο (κατὰ 70% περίπου). Ἐπιπλέον, ἐπιβραδύνεται ἡ σύνθεση πρωτεϊνῶν καὶ περιορίζεται σημαντικά ἡ ἰκανότητα τοῦ ὄργάνου 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 ἐνζυμική του δραστηριότητα. Αὐτὴ ἀφορᾷ, κυρίως, στὶς δεϋδρογενάσεις τῶν μιτοχονδρίων καὶ στὰ ἐνζυμα τῆς ἀναπνευστικῆς ἀλύσεως, Ἐλλατώνεται, ἀκόμη, ἡ σύνθεση τοῦ ΑΤΡ, ἐξαιτίας φυσικὰ τῶν αλλοιώσεων τῶν μιτοχονδρίων. Τέλος, αλλοιώνεται ἡ σύσταση τοῦ αἵματος. Δηλαδή, ἐπέρχεται πτώση τῆς γλυκαϊμίας, 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 ευαίσθητα ζῶα που βρίσκονται στὸ στάδιο ἀναπτύξεως ἐλαττώνεται ὁ ρυθμὸς τῆς σωματικῆς τους αὐξήσεως καὶ ἀνεβαίνει αἰσθητὰ ὁ δείκτης καταναλώσεως τῆς τροφῆς. Ἐξἄλλου, σ' ἐκείνα που βρίσκονται στὸ στάδιο γαλακτοπαραγωγῆς μπορεῖ νὰ παρουσιάζεται μειωμένη ἀπόδοση σὲ γάλα, περιέχοντας ἀφλατοξίνες, που ἔχουν ἀπεκκριθεῖ σ' αὐτό.

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

Ἄπειλή ὁμως γιὰ τὴ δημόσια ὑγεία, συνιστᾶ ἐνδεχομένως καὶ ἡ κατανάλωση ζωοκομικῶν προϊόντων ποὺ παράγονται ἀπὸ ζῶα, τὰ ὁποῖα λαμβάνουν τροφές ποὺ περικλείουν ἀφλατοξίνες. Καὶ τοῦτο, γιατί 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 οὐσιαστικὰ 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) *Παρεμπόδιση προσβολῆς ζωοτροφῶν φυτικῆς προέλευσεως ἀπὸ μύκητες ἢ ἀναστολὴ ἀναπτύξεως τῶν τελευταίων.* Ἡ μέθοδος αὕτη θεωρεῖται ὅτι εἶναι ἡ καλύτερη. Προϋποθέτει ὁμως σωστὴ ἐφαρμογὴ ὀρισμένων γεωργικῶν κανόνων, ὅπως: 1) χρησιμοποίηση ὑγιῶν σπόρων ἀπαλλαγμένων ἀπὸ μύκητες, 2) παρακολούθηση γενικὰ τῶν ἀσθενειῶν τῶν φυτῶν, καὶ ἰδιαίτερα τῶν προσβολῶν ἀπὸ ἔντομα σ' ὅλα τὰ στάδια τῆς καλλιέργειας, 3) ἐφαρμογὴ κατάλληλης λιπάνσεως στὸν ἄγρο, 4) ἄμεση συγκομιδὴ μετὰ τὴν ὄριμανση, 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 ζώων καὶ 7) ἀποθήκευση τοῦ καλὰ ἀποξηραμένου προϊόντος τῆς συγκομιδῆς σὲ χώρους καθαρούς, ξηρούς καὶ ἐξοπλισμένους μὲ τὰ κατάλληλα συστήματα ἀερισμοῦ καὶ ψύξεως. Σημειωτέον, ὅτι ἡ ἐπιλογή ποικιλιῶν φυτῶν ἀνθεκτικῶν στοὺς μύκητες καὶ ἡ χρησιμοποίηση μυκητοκτόνων φαρμάκων δὲν ἐφαρμόστηκαν 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 τὶς ἀφλατοξίνες ποὺ ἔχουν παραχθεῖ. Αὐτὸ μπορεῖ νὰ γίνῃ εἴτε ἀπομακρύνοντας τὶς μολυσμένες ζωοτροφές μὲ διαλογή (χρῆση χερῶν 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 σε σιτηρέσια ζώων που είναι ικανές να προκα-
λούν τοξίκωση**

Συγκέντρωση άφλατοξίνης (ppm στο 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 ημέρες
0.17	Χοιρίδια	2 εβδομάδες	23 ημέρες
0.4-0.7	Χοιρίδια	4-6 εβδομάδες	3-6 μήνες
0.8	Όρνιθια	1 εβδομάδα	10 εβδομάδες
0.3	Πάπιες	—	6 εβδομάδες

ναι ευνόητο πώς οι διαλύτες αυτοί δεν πρέπει να μειώνουν τη θρεπτική αξία των ζωοτροφών.

γ) *Άδρανοποίηση άφλατοξινών στις ζωοτροφές.* Αυτή μπορεί να γίνει είτε με τη βοήθεια χημικών αντιδραστηρίων, όπως είναι το υπεροξειδίο του υδρογόνου, το υδροξειδίο του άσβεστιού, ή άμμωνία, ή φορμαλδεύδη κ.ά., είτε με την επίδραση της θερμότητας, και μάλιστα σε συνδυασμό με ύδρατμούς. Πρέπει όμως να τονισθεί, ότι ή άδρανοποίηση των άφλατοξινών δε σημαίνει όλική καταστροφή αυτών. Επίσης, ότι δε θα πρέπει τα χημικά αντιδραστήρια να αφήνουν τοξικά υπολείμματα στις ζωοτροφές και ή θερμική κατεργασία να αλλοιώνει τις θρεπτικές τους ουσίες.

Στό σημείο τουτο κρίνεται σκόπιμο να αναφερθεί, ότι σήμερα στις περισσότερες προηγμένες χώρες υπάρχει νομοθετική ρύθμιση για τη δυνατότητα συμμετοχής ζωοτροφών που περιέχουν άφλατοξίνες στο σιτηρέσιο. Π.χ. το «Agricultural Experimental and Research Institute of Kiel» της Γερμανίας δέχεται και προτείνει ότι οι διάφορες προσβλημένες ζωοτροφές ή δεν πρέπει να προσθέτονται στο σιτηρέσιο ή εφόσον προσθέτονται, τότε ή όλική συγκέντρωση των άφλατοξινών σ' αυτό δεν μπορεί να υπερβείνι όρισμένα όρια. Τα όρια αυτά, ανάλογα για ποιά ζώα προορίζονται οι ζωοτροφές, έχουν όπως σημειώνεται στον πίν. 3. Η Εύρωπαϊκή Οικονομική Κοινότητα (Ε.Ο.Κ.), πάλι, έχει υίοθετήσει ως όρια άνεκτικότητας άφλατοξίνης σε διάφορες ζωοτροφές αυτά που περιλαμβάνονται στον πίν. 4. Έξάλλου, σε όρισμένες άλλες χώρες γίνονται δεκτά τα όρια που αναφέρονται στον 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 άναπτύξεως	0
Άμνοι άναπτύξεως	0
Μόσχοι άναπτύξεως	0
Ίνδιάνοι παχύνσεως (τελική φάση)	0,005-0,025
Όρνίθια παχύνσεως	0,005-0,025
Χοίροι παχύνσεως	0,0075-0,038
Όρνιθες σε ώτοκία	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 τής Ε.Ο.Κ.**

Κατηγορία ζωοτροφών	Όρια σε ppm
Άπλές 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, τής ύπάρξεως άφλατοξινών στις ζωοτροφές δέν είναι εύκολο πράγμα. Και τούτο λόγω δυσχερειών που αναφέρονται κατ' αὐτήν και που άπορρέουν από τήν έλλειψη δυνατότητας για τήν παρακολούθηση τής ακριβοῦς διακινήσεως τών ζωοτροφών. Δηλαδή, από τήν άδυναμία να γνωρίζουμε τήν τύχη τους από τή στιγμή τής καλλιέργειας μέχρι τή χρησιμο-

ΠΙΝΑΚΑΣ 5

* Ανεκτά όρια αφλατοξίνης B₁ για διάφορες τροφές σε όρισμένες χώρες.

Χώρες	Κατηγορία τροφών	*Όρια σε ppm
Βέλγιο	Όποιωδήποτε 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	Βλέτε πιν. 4 για τις χώρες της Ε.Ο.Κ.	
Ίνδία	Αραχιδόπιτα (τροφή ανθρώπου)	0.030
	Αραχιδόπιτα (ζωοτροφή για έξαγωγή)	1.000
Ισραήλ	Όποιωδήποτε ζωοτροφή	0.020
Ιταλία	Καρποί αραχίδας (για εισαγωγή)	0.050
Ιαπωνία	Όποιωδήποτε τροφή ανθρώπου	0.010
	Καρποί αραχίδας (για εισαγωγή)	1.000
Μαλαισία	Όποιωδήποτε τροφή	0
Μαλάβι	Καρποί αραχίδας	0.005
Νορβηγία	Άλευρο έλαιούχων σπερμάτων	0.600
Πολωνία	Όποιωδήποτε τροφή ανθρώπου ή ζώων (για εισαγωγή)	0.005
Ρωδσία	Καρποί αραχίδας	0.025
	Ζωοτροφές	0.50-0.400
Σουηδία	Όποιωδήποτε 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*
	Όποιωδήποτε άλλη τροφή ανθρώπου ή ζώων	0.020

* Συνολικά σε αφλατοξίνες B₁+B₂+G₁+G₂

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

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

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Γιά 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 Ἐργαστήριο καί φυλάσσονταν σὲ θερμοκρασία-18°C μέχρι τῆς ἐξετάσεώς τους. Ἡ τελευταία γινόταν γιά τέσσερις ἀφλατοξίνες, δηλαδή γιά τίς B₁, B₂, G₁ καί G₂. Γιά 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 στήν ἀνίστοιχη ἔκδοση τοῦ 1975.

Σύμφωνα λοιπὸν μὲ αὐτὲς τίς 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 ἀναμιγνυόταν μὲ γῆ διατόμων (25 g) μέσα σὲ φιάλη Erlenmeyer καί ἐκχυλιζόταν μὲ μίγμα ἀπὸ χλωροφόρμιο+νερὸ (250 ml+25ml). Τὸ ἐκχύλισμα ἀκολούθως ὑποβαλλόταν σὲ διήθηση καί ἀπαλλασσόταν ἀπὸ ὀρισμένες οὐσίες, πού παρενοχλοῦν τὸν προσδιορισμὸ τῶν ἀφλατοξινῶν, ὕστερα ἀπὸ δίοδὸ του 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 ἐκλούση μ' ἓνα μίγμα χλωροφόρμιο+μεθανόλη (145,5 ml+4,5ml). Τὸ καθαρὸ πιά ἐκχύλισμα συμπυκνώνονταν σὲ ἀτμόλουτρο μέχρις ὄγκου 1-2 ml, προκειμένου νά ἐπακολουθήσει ἡ πλήρης ξήρανσή του σὲ ρεῦμα ἀζώτου. Τὸ ξηρὸ τοῦτο ὑπόλειμμα διαλυόταν ἀκολούθως 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 χρωματογραφούνταν ἀκόμη σταθερότυπα διαλύματα (standards) ἀφλατοξινῶν, τὰ ὁποῖα εἶχαν παρασκευασθεῖ

ΠΙΝΑΚΑΣ 6

Είδος, προέλευση και αριθμός δειγμάτων που εξετάσθηκαν για την παρουσία αφαλατοζινών

Προέλευση

Είδος ζωοτροφών	Μακεδονία Σ. Έλλ. & Εύβοια		Πελοπόννησος		Θεσσαλία		Ήπειρος		Θράκη		Σn ₁	Σn ₂	
	n ₁	n ₂	n ₁	n ₂	n ₁	n ₂	n ₁	n ₂	n ₁	n ₂			
Αραβόσιτος, σπέρματα	54	1	12	1	11	0	12	1	12	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 (βήητες)	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	0	25	2
Σογιόπιτα	15	0	10	0	4	0	—	—	7	0	0	37	0
Καλαμποκόπιτα	1	0	1	0	—	—	—	—	—	—	—	2	0
Ήλιόπιτα	1	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0
Έλαιουπρήνες	—	—	—	—	4	2	—	—	—	—	—	4	2
Διάφορα μίγματα	13	0	6	1	9	0	—	—	—	—	13	2	41
Ίχθυάλευρο	4	—	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10
Μηδικάλευρο	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10
Σύνολο	217	13	69	2	65	3	48	1	35	2	16	2	450

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 σε μίγμα από βενζόλιο+άκετονιτρίλιο (98+2ml). Ο ποσοτικός προσδιορισμός γινόταν μετρώντας την ένταση του φθορισμού των κηλίδων των άφλατοξινών διεγ. = 355-375 nmsλ_{exc} = 430-450nm), με την βοήθεια ειδικού φασματοφωτομέτρου (spectrodensitometer, schöffel SD 3000).

Σε περίπτωση που το δείγμα ανήκε στους πλακούντες (πίτες), τότε μετά την άλεσή του ή εκχύλιση των 50 g αυτού, γινόταν με μίγμα από άκετόνη + νερό + όξικό όξύ (211ml+37ml+2ml) και άκολουθοῦσε ή διήθηση. Το διήθημα υποβαλλόταν σε προκαταρκτικό καθαρισμό, πριν χρωματογραφηθεί στη στήλη, με την προσθήκη σ' αυτό ενός ύδατικού διαλύμματος όξικού μολύβδου 200 g/lit και τή θέρμανσή του, ώστε να καταστεί δυνατή ή καταβύθιση των άκαθαρσιών. Έπακολουθοῦσε νέα διήθηση και εκχύλιση του καθαρισμένου πιά διηθήματος με χλωροφόρμιο. Στη συνέχεια το χλωροφορμικό εκχύλισμα συμπυκνωνόταν σε άτμόλουτρο σχεδόν μέχρι να ξηραηθεί και άπαλλασσόταν, με χρωματογραφία σε στήλη από Silica Gel, από τις υπόλοιπες ουσίες που θά μπορούσαν να παρενοχλοῦν. Οί τελευταίες άπομακρύνονταν από τή στήλη εκλούοντάς της μ' ένα μίγμα από διαιθυλαιθέρα+έξάνιο (112 ml +38ml)μέσω αυτής ενός μίγματος χλωροφορμίου+άκετόνης (160 ml+40ml). Το τελευταίο τουτο εκχύλισμα συμπυκνωνόταν μέχρι ξηροῦ για να χρησιμοποιηθεί πιά όπως περιγράφεται στην προηγούμενη περίπτωση-για τή διενέργεια χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας και τή μέτρηση τής ποσότητας των άφλατοξινών.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τά άποτελέσματα, τά όποια προέκυψαν από τις μετρήσεις που έγιναν κατά τήν έργασία αυτή, περιλαμβάνονται στους πίν. 6 και 7. Από τή μελέτη των στοιχείων των δύο τουτων πινάκων συνάγεται πώς από τά 450 δείγματα ζωοτροφών, που εξέτάστηκαν, μόνο τά 23 βρέθηκε να περιέχουν άφλατοξίνες (ποσοστό 5,11%). Πρέπει να τονισθεί, ότι τά 14 από τά 23 αυτά δείγματα περιείχαν άφλατοξίνες B₁, τά έξι B₂, τά δύο G₁ και το ένα G₂. Επίσης, να διευκρινισθεί, ότι οι άφλατοξίνες αυτές περικλείονταν σε 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 άφοροῦσαν σε έλαιοπυρήνες. Έξάλλου, να σημειωθεί, ότι σ' όλες σχεδόν τις περιπτώσεις, ή συγκέντρωση των άφλατοξινών κυμαινόταν σε τέτοιες τιμές, που ούσιαστικά δέν ξεπερνοῦσε τά αντίστοιχα γι' αυτές άνεκτά όρια (βλέπε πίν. 3, 4 και 5). Έξάιρεση ύπάρχει στα δύο δείγματα των έλαιοπυρήνων. Σ' αυτά οι συγκεντρώσεις των άφλατοξινών βρίσκονταν σε επίπεδα όριακά και ένδεχομένως ίκανά για πρόκληση τοξικώσεως σε όρισμένα είδη ευαίσθητων ζώων (βλέπε πίν. 2), υπό τήν προϋπόθεση φυσικά ότι οι έλαιοπυρήνες θά άποτελοῦσαν το άποκλειστικό σιτηρέσιό τους. Πέρα άπ' αυτά, άξίζει να άναφερθεί πώς μεταξύ 37 δειγμάτων σογιόπιτας, που εξέτάστηκαν, δέν βρέθηκε ούτε ένα θετικό στην παρουσία άφλατοξινών (ευά-

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: Βαμβακόσπορος, δείγματα θετικά 1: Βαμβακόπιτα, δείγματα θετικά 2:				
1ο	0	0,020	0	0
2ο	0	0,020	0	0
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, ἀλλά καί συνάδελφοι ἐνοχοποιοῦν ἴσως ἄδικα τὴ σογιόπιττα, κάθε φορά πού τυχαίνει νά τὴ βλέπουν μὲ μερικοὺς σβώλους, σάν υπεύθυνη ἀφλατοξικώσεως, κυρίως στὴν περίπτωση τῶν πτηνῶν.

Ἀπὸ ὅσα ἀναφέρθηκαν παραπάνω συνάγεται ἀβίαστα ὅτι ἡ παρουσία ἀφλατοξινῶν στὶς ζωοτροφές δὲν ἦταν, τουλάχιστον γιὰ τὴ χρονικὴ περίοδο πού ἔγινε ἡ ἔρευνα, ἀνησυχητικὴ. Καί τοῦτο γιατί ἡ συγκέντρωση τῶν τοξικῶν αὐτῶν οὐσιῶν οὐσιαστικά δὲν ξεπερνοῦσε τὰ διεθνῶς ἀνεκτὰ ὄρια, ὥστε νὰ δημιουργεῖται σοβαρὸ θέμα τόσο ἀπὸ ἄποψη οἰκονομικῶν ἀπωλειῶν, ὅσο καί ἀπὸ ἄποψη δημόσιας ὑγείας. Στὸ εὐμενές 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 τίς ἐγχώριες ἀνάγκες. Ἐπειδὴ ὁμως δὲν μπορεῖ νὰ προδικάζεται πάντοτε τὸ ἀμετάβλητο τοῦ εὐμενοῦς αὐτοῦ ἀποτελέσματος ἐπιβάλλεται: α) διαρκῆς 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 νὰ διερευνηθεῖ σὲ πρώτη φάση, ἂν ὑφίσταται καί σὲ ποιά φυσικὰ ἔκταση, θέμα παρουσίας τῶν τοξινῶν αὐτῶν στὶς ζωοτροφές.

Γιὰ τὸν σκοπὸ αὐτὸν ἐξετάσθηκαν 450 δειγμάτων διάφορων ζωοτροφῶν, πού λήφθηκαν στὴν τύχη ἀπὸ ὅλα σχεδὸν τὰ διαμερίσματα τῆς χώρας κατὰ τὸ χρονικὸ διάστημα 1974-1977. Τὰ ἀποτελέσματα πού πρέκυψαν, μπορεῖ νὰ χαρακτηρισθοῦν ὡς ἀρκετὰ ἐνθαρρυντικά. Καί τοῦτο, ἂν ληφθεῖ ὑπόψη ὅτι μόνο 23 δειγμάτων ἀπὸ τὰ 450 (ποσοστὸ 5,11%) βρέθηκαν νὰ περιέχουν ἀφλατοξίνες, καί μάλιστα στὴν πλειονότητά τους μὲ συγκεντρώσεις κάτω ἀπὸ τὰ διεθνῶς ἐπιτρεπόμενα ὄρια. Ἐπειδὴ ὁμως δὲν μπορεῖ νὰ προδικάζεται πάντοτε τὸ ἀμετάβλητο τῶν εὐμενῶν αὐτῶν ἀποτελεσμάτων, ἐπιβάλλεται: α) διαρκῆς 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 στὶς ζωοτροφές μᾶς ὥθησαν στὴ διεξαγωγὴ τῆς ἐν λόγω μελέτης. Ἀποτέλεσαν δηλαδή τὴν αἰτία νὰ διερευνηθεῖ ἂν ὑπάρχει καί σὲ πᾶ φυσικὰ ἔκταση, θέμα παρουσίας ἀφλατοξινῶν στὶς 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. Βαλταδόρος, Α.Δ. (1971): «Μυκοτοξίναι καὶ ἡ ἐπ' αὐτῶν ἐρευνα 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' hepatomes spontanès chez le rat Wistar. Rôle de la toxine d' Aspergillus flavus. Intérêt en pahologie humaine et en cancérologie experimentale. 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 foodstuffs. 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.