



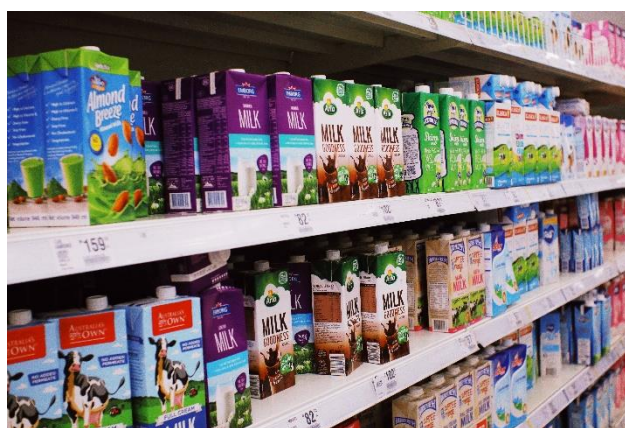
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΘΕΜΑ:

«Ανίχνευση αντιβιοτικών στα γάλατα του εμπορίου»



ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΩΝ:

Δούκα Αικατερίνη, 15026

Θεοδωρόπουλος Θεωδωρής, 14322

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ:

Χούγουλα Δήμητρα

ΑΙΓΑΛΕΩ 2022



SCHOOL OF FOOD SCIENCES

DEPARTMENT OF SCIENCE AND FOOD TECHNOLOGY

UNIVERSITY OF WEST ATTICA

DEGREE THESIS ON THE SUBJECT:

"Detection of antibiotics in packaged milks"



NAME OF STUDENT:

Douka Aikaterini, 15026

Theodoropoulos Thodoris, 14322

NAME OF THE SUPERVISOR:

Houhoula Dimitra

AIGALEO 2022

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: ΔΗΜΗΤΡΑ ΧΟΥΧΟΥΛΑ

ΜΕΛΟΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ: ΔΙΟΝΥΣΙΟΣ ΑΝΤΩΝΟΠΟΥΛΟΣ

ΜΕΛΟΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ: ΑΝΘΙΜΙΑ ΜΠΑΤΡΙΝΟΥ

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΩΝ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Οι κάτωθι υπογεγραμμένοι Δούκα Αικατερίνη, με αριθμό μητρώου 15026 και, Θεοδωρόπουλος Θεοδωρής με αριθμό μητρώου 14322 φοιτητές του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, δηλώνουμε υπεύθυνα ότι:

«Είμαστε συγγραφείς αυτής της πτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχαμε για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες κάναμε χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνουμε ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από εμάς αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μας, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μας ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μας».

Οι Δηλούντες



Ευχαριστίες

Η παρούσα πτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στο πολυδύναμο εργαστήριο του τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, της σχολής Επιστημών Τροφίμων του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής.

Θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε ιδιαίτερα την επιβλέπουσα αναπληρώτρια καθηγήτρια, κυρία Χούχουλα Δήμητρα, για την εμπιστοσύνη που μας έδειξε με την ανάθεση της συγκεκριμένης εργασίας, αλλά και για τον χρόνο που διέθεσε για να μας καθοδηγήσει κατά την πραγματοποίηση των πειραμάτων μας.

Επίσης, θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε όλους τους διδακτορικούς και μεταπτυχιακούς φοιτητές που βρίσκονταν στο εργαστήριο καθ' όλη την διάρκεια των πειραμάτων μας, οι οποίοι δημιούργησαν ένα ευχάριστο κλίμα και ήταν πάντοτε πρόθυμοι να μας βοηθήσουν και να μας συμβουλέψουν σε οτιδήποτε και αν χρειαζόμασταν.

Τέλος, ευχαριστούμε θερμά, τις οικογένειες μας και τους φίλους μας, για την συμπαράσταση και την στήριξη τους σε όλη την διάρκεια της φοίτησης μας στην σχολή αλλά και ιδιαίτερα κατά την εκπόνηση της συγκεκριμένης πειραματικής πτυχιακής εργασίας.

Περίληψη

Το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα αποτελούσαν ανέκαθεν αλλά και συνεχίζουν να αποτελούν μία βασική τροφή για την διατροφή του ανθρώπου. Αυτό συμβαίνει διότι το γάλα παρουσιάζει ιδιαίτερα θρεπτικά χαρακτηριστικά που συμβάλλουν θετικά στην υγεία του καταναλωτή. Η ποιότητα του γάλακτος που τελικά φτάνει στον καταναλωτή εξαρτάται από πολλούς παράγοντες. Ένας βασικός παράγοντας είναι η υγεία των γαλακτοφόρων ζώων από τα οποία και παραλαμβάνεται το νωπό γάλα. Πολλές φορές οι συνθήκες διαβίωσης των ζώων και η διατροφή τους μπορεί να επηρεάζουν την υγεία τους και κατ' επέκταση και την ποιότητα του γάλακτος που παράγουν. Στα πλαίσια της διατήρησης της καλής υγείας των ζώων για τη καταπολέμηση των ασθενειών τους και ειδικά της μαστίτιδας, χορηγούνται στα ζώα αντιβιοτικά. Τα αντιβιοτικά αποτελούν έναν εξωγενή αντιμικροβιακό παράγοντα που μπορεί, εν δυνάμει, να μολύνει το γάλα καθώς ένα μέρος αυτών εκκρίνεται στο γάλα. Η ύπαρξη αντιβιοτικών ή υπολειμμάτων αυτών στο γάλα είναι σπουδαία υπόθεση, καθώς τα αντιβιοτικά μπορούν να προκαλέσουν αλλεργίες στον άνθρωπο, προβλήματα στην παρασκευή ζυμωμένων τροφίμων και τέλος ανάπτυξη ανθεκτικών στελεχών παθογόνων βακτηρίων. Για αυτούς τους λόγους, τα τελευταία χρόνια δίνεται μεγάλη σημασία στην παρακολούθηση των αντιβιοτικών στο γάλα μέσω εκπαίδευσης των κτηνοτρόφων ως προς την χρήση τους, αλλά και ως προς την ανίχνευσή τους. Πραγματοποιούνται συνεχείς έλεγχοι από τους παραγωγούς του γάλακτος, αλλά και από την βιομηχανία τροφίμων τόσο στις πρώτες ύλες όσο και στα τελικά προϊόντα. Τέλος, η καθιέρωση αυστηρότερου νομοθετικού πλαισίου έχει μεριμνήσει για τα όρια ανίχνευσης υπολειμμάτων αντιβιοτικών στο γάλα. Στα πλαίσια της συγκεκριμένης εργασίας, καθώς, όπως προαναφέρθηκε το φαινόμενο ύπαρξης αντιβιοτικών στο γάλα μπορεί να προκαλέσει πληθώρα επιπτώσεων τόσο στον άνθρωπο όσο και στην βιομηχανία τροφίμων, μελετήθηκε πειραματικά, με την μέθοδο Elisa, η ανίχνευση αντιβιοτικών σε γάλατα του εμπορίου. Παραλήφθηκαν, από την αγορά γάλατα που βρίσκονται στα ράφια των supermarkets και προορίζονται για πώληση, με σκοπό να αναλυθούν στο Πολυδύναμο εργαστήριο του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων και να διαπιστωθεί η ύπαρξη αντιβιοτικών. Συμπερασματικά, καταλήξαμε πως κανένα από τα γάλατα που μελετήθηκαν περιείχαν αντιβιοτικά σε συγκεντρώσεις πολύ μικρότερες από αυτές των ορίων της νομοθεσίας.

Λέξεις κλειδιά: γάλα, αντιβιοτικά, μαστίτιδα, καταναλωτής, βακτήριο, παθογόνα, ανίχνευση αντιβιοτικών, υπολείμματα αντιβιοτικών, Elisa, γάλατα του εμπορίου

Abstract

Milk and dairy products have always been and continue to be a staple food for humans. This is because milk has very nutritious properties that contribute positively to the health of the consumer. The total quality of milk depends on many factors. A key factor is the health of dairy animals from which raw milk is received. The living conditions of the animals and their diet can often affect their health and, consequently, the quality of the milk they produce. In the context of maintaining animals in good health, in order for them to fend off their diseases and especially mastitis, they are administered antibiotics. Antibiotics are an exogenous antimicrobial agent that can potentially contaminate milk, since some of them are often excreted in milk. The presence of antibiotics or their residues in milk is a serious problem, as antibiotics can cause allergies in humans, complications in the preparation of dairy fermented foodstuffs and the development of resistant strains in pathogenic bacteria. For these reasons, in recent years great emphasis is given to the monitoring of antibiotics in milk through training of stock breeders in terms of their use and their detection. Continuous monitoring is applied to both the raw materials and the final products by milk producers and by the food industry, while a strict legal framework has been established to ensure that antibiotic residues in milk are within the limits imposed by the regulation. In the context of this work, detection of antibiotics in commercial milk was studied with the Elisa method. We received trade milks from supermarket shelves, in order for them to be analyzed in the Multipurpose Laboratory of the Department of Food Science and Technology and to determine the presence of antibiotics. **We concluded that none of the milks studied contained antibiotics in a detectable concentration.**

Keywords: milk, antibiotics, mastitis, consumer, bacterium, pathogens, antibiotic detection, antibiotic residues, Elisa, commercial milk

Περιεχόμενα

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΩΝ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.
Ευχαριστίες.....	4
Περίληψη.....	5
Abstract	6
Περιεχόμενα.....	7
Εικόνες.....	8
Πίνακες.....	9
Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή	10
Κεφάλαιο 2: Βιβλιογραφική ανασκόπηση	13
2.1. Ορισμοί.....	13
2.1. Νωπό και παστεριωμένο γάλα.....	13
2.2. Προέλευση και χαρακτηρισμοί γάλακτος.....	16
2.3. Σημασία του γάλακτος στην διατροφή του ανθρώπου – βιολειτουργικά συστατικά 17	
2.4. Βιοσύνθεση και έκκριση.....	20
2.5. Η παραγωγή του γάλακτος στον κόσμο.....	21
2.6. Είδη γάλακτος βάση της προέλευσής τους.....	22
2.7. Αγελαδινό γάλα.....	23
2.8. Πρόβειο γάλα	24
2.9. Κατσικίσιο γάλα.....	25
2.10. Σύσταση και δομή γάλακτος	27
2.11. Παράγοντες που επηρεάζουν την χημική σύσταση του γάλακτος.....	33
Κεφάλαιο 3: Μαστίτιδα.....	33
3.1 Παράγοντες που μπορούν να προκαλέσουν μαστίτιδα	34
3.2 Ταξινόμηση τύπων μαστίτιδας.....	35
3.2.1 Μαστικές πληγές από βακτήρια	38
3.2.2 Μαστίτιδες που προκαλούνται από μύκητες	39
3.2.3 Μαστίτιδες που προκαλούνται από τον συνδυασμό μολύνσεων και τραυμάτων	40
3.3 Μέτρα υγιεινής	40
3.4 Συνέπειες μαστίτιδας.....	41
3.5 Πρόληψη μαστίτιδας.....	42
3.6 Προσδιορισμός και διάγνωση της μαστίτιδας.....	43
Κεφάλαιο 4: Αντιβιοτικά	46
4.1 Μέγιστα όρια υπολειμμάτων αντιβιοτικών (Maximum Residue Limits, MRLs)	49

4.2	Χρόνος Απαγόρευσης.....	50
4.3	Απαγόρευση της διάθεσης κτηνιατρικών φαρμάκων	51
4.4	Κατηγορίες και μηχανισμοί δράσης αντιβιοτικών στο γάλα	52
4.5	Βασικές αιτίες παρουσίας υπολειμμάτων αντιβιοτικών στο γάλα	54
4.6	Πιθανές επιπτώσεις των υπολειμμάτων των αντιβιοτικών στη δημόσια υγεία και στη γαλακτοβιομηχανία.....	56
4.7	Τεχνικές ανίχνευσης υπολειμμάτων	60
4.8	Χρωματογραφικές τεχνικές.....	60
4.9	Ανοσολογικές Τεχνικές.....	63
4.8.1	Ενζυμική Ανοσοπροσοφθητική Δοκιμή (Enzyme-linked Immunosorbent Assay, ELISA) 64	
4.10	Μικροβιολογικές Τεχνικές.....	65
4.9.1	Delvotest®.....	65
4.11	Άλλες Τεχνικές.....	66
Κεφάλαιο 5:	Πειραματικό μέρος.....	67
5.1.	Μέθοδοι και Υλικά	67
5.2.	Αποτελέσματα	70
5.3.	Συζήτηση	71
5.4.	Συμπεράσματα	72
	Βιβλιογραφία	72

Εικόνες

Εικόνα 1.	Δομή λακτόζης.....	28
Εικόνα 2.	Σύνθεση λακτόζης	28
Εικόνα 3.	Μικκύλιο α-, β- και κ- καζεΐνης	30
Εικόνα 4.	Βιταμίνες σε διάφορα είδη γάλακτος	31
Εικόνα 5.	Υποκλινική μαστίτιδα	37
Εικόνα 6.	Υπεροξεία μαστίτιδα	37
Εικόνα 7.	Μαστίτιδα σε αγελάδα.....	37
Εικόνα 8:	Συντακτικός τύπος Πενικιλίνης	46
Εικόνα 9:	Αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή MS.....	62
Εικόνα 10:	Σχηματική απεικόνιση χρωματογραφίας GC-MS (Gas Chromatography- Mass Spectrometry).....	62
Εικόνα 11:	Σχηματική απεικόνιση χρωματογραφίας LC-MS (Liquid Chromatography- Mass Spectrometry).....	63
Εικόνα 12:	Υγρή χρωματογραφία με ανιχνευτή MS	63
Εικόνα 13:	Enzyme-linked Immunosorbent Assay, ELISA.....	64
Εικόνα 14:	Ανίχνευση αντιβιοτικών με την μέθοδο Delvotest®	65

Πίνακες

Πίνακας 1: Ταξινόμηση Αντιμικροβιακών Ουσιών	52
Πίνακας 2: Τα ανώτατα όρια καταλοίπων (MRL) της Ευρωπαϊκής Ένωσης, της Αυστραλίας και του Codex Alimentarius και τα όρια ανοχής των ΗΠΑ για τους αντιμικροβιακούς παράγοντες στο αγελαδινό γάλα (Κούλουρης, 2013)	52
Πίνακας 3: MRL στο γάλα για ορισμένα αντιβιοτικά	58

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

Το γάλα είναι θρεπτικό, λευκό ή ελαφρώς κιτρινωπό υγρό, που αποτελεί βιολογικό έκκριμα των μαστών των θηλαστικών, συμπεριλαμβανομένου και του ανθρώπου, και προορίζεται για την διατροφή των νεογνών. Είναι η πρώτη και διατροφικά πλήρης τροφή του ανθρώπου, η οποία εξακολουθεί να συμπεριλαμβάνεται στην καθημερινή διατροφή κάθε ηλικιακής ομάδας (Van Toon & Hettinga, 2015). Το 2008 Βρετανοί ερευνητές ανακάλυψαν ότι το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα ήταν γνωστά από τις προϊστορικές κοινωνίες της 7ης χιλιετίας π.Χ. Αυτό αποδεικνύει ότι οι άνθρωποι άρχισαν να καταναλώνουν γάλα πριν από 9.000 χρόνια, δηλαδή 2.000 χρόνια νωρίτερα από ό,τι υπολογιζόταν (Το Βήμα, 2008). Τα αρχαιολογικά ευρήματα έχουν δείξει ότι υπήρχε εντατική εκτροφή γαλακτοπαραγωγικών ζώων στην Ιρλανδία πριν από 6.000 χρόνια. Επιπλέον, έχουν βρεθεί ίχνη από λιπαρά γάλακτος σε αγγεία στην Φιλανδία τα οποία χρονολογούνται πριν από 4.500 χρόνια καθώς επίσης και ίχνη πρωτεΐνης γάλακτος από διάφορα γαλακτοπαραγωγικά ζώα σε απολιθωμένα δόντια ανθρώπων που έζησαν στην εποχή του χαλκού, δηλαδή περίπου το 3000 π.χ. Βέβαια, και στην αρχαία Ελλάδα ήταν βασικό συστατικό της διατροφής των ανθρώπων τα γαλακτοκομικά προϊόντα. Βασικό στοιχείο της διατροφής τους αποτελούσε το τυρί που παρασκευαζόταν από κατσικίσιο και πρόβειο γάλα αλλά και το βούτυρο ειδικά στην περιοχή της Θράκης (Το Βήμα, 2015).

Στην Ελλάδα μέχρι και την δεκαετία του 1950 το γάλα πωλούταν από πλανόδιους γαλατάδες οι οποίοι μοίραζαν χύμα το γάλα που μετέφεραν μέσα σε μεταλλικά δοχεία. Από το 1863 και μετά, όπου ανακαλύφθηκε η διαδικασία της παστερίωσης σαν μέθοδος θερμικής επεξεργασίας, το γάλα διανεμόταν παστεριωμένο πια, σε γυάλινα μπουκάλια. Το 1970 έπειτα από μία σειρά διατάξεων, απαγορεύτηκε η πλανόδια διάθεση του γάλακτος στα σπίτια των καταναλωτών, για λόγους δημόσιας υγείας (Επίσημη Εφημερίδα των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων, 1986). Για να διασφαλιστεί λοιπόν, η ποιότητα του του γάλακτος, έπρεπε να διατίθεται μέσα από ψυγεία, έχοντας ημερομηνία λήξης. Περίπου στα μέσα της δεκαετίας του '70 ξεκίνησε να διανέμεται το γάλα σε πλαστικό μπουκάλι. Μέχρι τότε όλες οι εταιρείες συσκέυαζαν το γάλα σε γυάλινη φιάλη, η οποία συνήθως επιστρεφόταν στην εκάστοτε εταιρεία. Μερικά χρόνια αργότερα, το 1987, δημιουργήθηκε η πρώτη χάρτινη συσκευασία γάλακτος, ενώ παράλληλα εφαρμόστηκε η διαδικασία της ομογενοποίησης του

γάλακτος. Αυτή ήταν μια σημαντική καινοτομία που αναβάθμισε συνολικά το τελικό προϊόν (Παππάς & Καλαντζόπουλος, 2007).

Το γάλα καταναλώνεται είτε πόσιμο είτε μεταποιημένο, σε μορφή γαλακτοκομικών προϊόντων (λ.χ. τυρί, φέτα, βούτυρο, γιαούρτι κτλ.) και είναι πολύ σημαντική πηγή θρεπτικών συστατικών σύμφωνα και με την αμερικάνικη διατροφή. Έρευνες έχουν δείξει ότι η κατανάλωση γαλακτοκομικών μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο χρόνιων ασθενειών (Van Toon & Hettinga, 2015). Οι κατευθυντήριες γραμμές για τους Αμερικάνους συνιστούν στα περισσότερα άτομα ηλικίας άνω των 9 ετών να καταναλώνουν γαλακτοκομικά προϊόντα σε τέτοια ποσότητα που να ισοδυναμεί με τρία ποτήρια γάλακτος χωρίς λιπαρά ή γάλακτος με χαμηλά λιπαρά, την ημέρα (Weiss, Davis, Wojtanowski, Foster, Glanz, & Karyn, 2014).

Το γάλα δεν είναι ομοιογενές, αλλά είναι μείγμα διαφόρων οργανικών ουσιών. Τα κύρια συστατικά γάλακτος είναι η λακτόζη, το λίπος, οι πρωτεΐνες (κυρίως καζεΐνες) και τα άλατα. Τα δευτερεύοντα συστατικά του γάλακτος είναι οι βιταμίνες, τα σάκχαρα (εκτός της λακτόζης), τα ιχνοστοιχεία, οι υδατάνθρακες, τα ένζυμα και οι αντιμικροβιακές ουσίες (Thureen & Hay, 2006). Οι άνθρωποι οι οποίοι καταναλώνουν γάλα σε καθημερινή βάση, έχουν υψηλότερη πρόσληψη από πολλά βασικά θρεπτικά συστατικά, όπως βιταμίνη D (Weiss, Davis, Wojtanowski, Foster, Glanz, & Karyn, 2014). Εξασφαλίζουν επίσης, τις απαραίτητες θρεπτικές ουσίες (λίπος, υδατάνθρακες (λακτόζη) και πρωτεΐνες), αλλά και παραλαμβάνουν μεγάλη ποσότητα από ασβέστιο και φώσφορο, που είναι απαραίτητα για τη δημιουργία του σκελετού και των μυών (Patton, 2017).

Παρά τα θρεπτικά οφέλη που έχει η κατανάλωση γάλακτος, παρατηρείται τα τελευταία χρόνια μείωση αυτής στην Αμερική καθώς τα πρότυπα κατανάλωσης ποικίλλουν ανάλογα με την εθνικότητα αλλά και τις οικονομικές απολαβές της κάθε οικογένειας. Επίσης, το ίδιο φαινόμενο παρατηρείται και σε ευρωπαϊκές χώρες, εξαιτίας ίσως, της αύξησης της ζήτησης από τον καταναλωτή για ανθρακούχα αναψυκτικά και χυμούς. Σύμφωνα με το Υπουργείο Γεωργίας των ΗΠΑ (USDA), φαίνεται ότι η κατά κεφαλήν κατανάλωση γάλακτος μειώνεται από το 1995 έως το 2009 σε 1,0% ετήσιος κατά μέσο όρο και από το 2010 έως το 2019 σε 2,6% ετήσιος κατά μέσο όρο. Αυτό θεωρείται από τους επιστήμονες ανησυχητικό διότι η κατανάλωση γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων σχετίζεται με την υψηλότερη πρόσληψη ασβεστίου, βιταμίνης D, βιταμίνης A, ψευδαργύρου, μαγνησίου και ριβοφλαβίνης. Αντιθέτως πολλά εναλλακτικά ποτά όπως τα ανθρακούχα αναψυκτικά δεν έχουν κανένα από αυτά τα ευεργετικά χαρακτηριστικά και είναι πλουσιότερα σε θερμίδες

από ότι το γάλα (Moore, Bradlee, Gao, & Singer, 2008; Murphay, Douglass, Johnson, & Spence, 2008). Μελέτες που βασίζονται σε μεγαλύτερης κλίμακας έρευνες που έχουν γίνει στην Αμερική που αφορούν την δημόσια υγεία, τεκμηριώνουν τις τάσεις ως προς την κατανάλωση γάλακτος αλλά και ως προς την κατανάλωση άλλων ποτών. Πιο συγκεκριμένα από καταναλωτές που ανέφεραν όλα τα τρόφιμα και τα ποτά που κατανάλωσαν την προηγούμενη μέρα διαπιστώθηκε ότι η κατανάλωση ανθρακούχων ποτών αντικαθιστούσε το γάλα, μειώνοντας έτσι την ποιότητα της διατροφής αλλά και συμβάλλοντας στην αύξηση της παχυσαρκίας (Bleich & Vercammen, 2018; Hayden, Kuchler, & Haln, 2021).

Κεφάλαιο 2: Βιβλιογραφική ανασκόπηση

2.1. Ορισμοί

- Νωπό νοείται το γάλα το οποίο παράγεται από την έκκριση του μαστού εκτρεφόμενων ζώων και το οποίο δεν έχει θερμανθεί σε θερμοκρασία άνω των 40°C ούτε έχει υποστεί οιαδήποτε επεξεργασία που έχει ανάλογη επίδραση (ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΚ) Αριθ. 853/2004, 2004).
- Νωπό γάλα νοείται το γάλα που εκκρίνεται από τους μαστικούς αδένες μιας ή περισσότερων αγελάδων, προβατινών, αιγών ή βουβαλιών, το οποίο δεν έχει θερμανθεί πέραν των 40°C, ούτε έχει υποβληθεί σε επεξεργασία με ισοδύναμο αποτέλεσμα (ΑΑΔΕ, 2009).
- Γάλα είναι το απαλλαγμένο από πρωτόγαλα προϊόν που παίρνουμε από τους μαστούς γαλακτοφόρου ζώου μετά από ένα πλήρες, ολοκληρωτικό και χωρίς διακοπή άρμεγμα ζώων που είναι καλά στην υγεία τους, διατηρούνται και διατρέφονται καλά και δεν καταπονούνται (Κεχαγιάς, 1997; ΑΑΔΕ, 2009).
- Γάλα είναι η φυσιολογική μαστική έκκριση των ζώων που μπορούν να αρμεχθούν, που λαμβάνεται από ένα ή περισσότερα αρμέγματα χωρίς καμία προσθήκη σε αυτό ή εξαγωγή από αυτό, και που προορίζονται για κατανάλωση ως υγρό γάλα ή για περαιτέρω επεξεργασία (Codex Alimentarius, 2011) .
- Ο Codex Alimentarius ορίζει ένα γαλακτοκομικό προϊόν ως το «προϊόν που λαμβάνεται με οποιαδήποτε επεξεργασία γάλακτος, το οποίο μπορεί να περιέχει πρόσθετα τροφίμων και άλλα λειτουργικά συστατικά απαραίτητα για την επεξεργασία» (FAO, 2019).
- Γαλακτοκομικά προϊόντα ορίζονται τα μεταποιημένα προϊόντα που προέρχονται από την μεταποίηση νωπού γάλακτος ή από την περαιτέρω μεταποίηση τέτοιων μεταποιημένων προϊόντων (ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΚ) Αριθ. 853/2004, 2004).

2.1. Νωπό και παστεριωμένο γάλα

Σήμερα, παρουσιάζεται αυξημένη ζήτηση και κατ' επέκταση κατανάλωση νωπού γάλακτος από μια ομάδα καταναλωτών που θεωρεί ότι το νωπό, μη παστεριωμένο γάλα έχει υψηλή θρεπτική αξία, περισσότερα οφέλη για την υγεία καθώς περιέχει ευεργετική μικροχλωρίδα, μειωμένες πιθανότητες πρόκλησης αλλεργιών και δυσανεξιών στη λακτόζη και καλύτερη γεύση απ' ό,τι το γάλα που έχει υποστεί θερμική επεξεργασία (Artursson, Schelin, Lambertz,

Hansson, & Olsson, 2018). Ωστόσο, τα επιστημονικά στοιχεία για αυτούς τους ισχυρισμούς είναι αδύναμα (Lucey, 2015).

Σε αυτές τις κατηγορίες ανθρώπων που καταναλώνουν αμέσως το νωπό γάλα μετά το άρμεγμα του ζώου, ανήκουν οι παραγωγοί γαλακτοκομικών προϊόντων, οι εργαζόμενοι σε αγροκτήματα και οι οικογένειές τους, οι γείτονές αυτών αλλά και οι υποστηρικτές του νωπού γάλακτος (Oliver, Jayrao, & Almeida, 2005).

Στην Ευρώπη, η διάθεση του νωπού γάλακτος στον καταναλωτή μπορεί να γίνει είτε κατευθείαν με άμεση πώληση του στο αγρόκτημα είτε με πώληση μέσω αυτόματων μηχανημάτων. Στην Ιταλία, η πώληση νωπού γάλακτος από μηχανήματα αυτόματης πώλησης είναι μια εναλλακτική λύση στην κατανάλωση παστεριωμένου γάλακτος. Ωστόσο, στην έρευνα των Tremonte et. al. αλλά και σε παρόμοιες μελέτες, προέκυψε ότι το νωπό γάλα θα μπορούσε να αποτελεί κίνδυνο για την υγεία, λαμβάνοντας υπόψη όχι μόνο την ικανότητα ορισμένων μικροβιακών ομάδων να αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες ψύξης, αλλά και την επικινδυνότητα της συνήθειας πολλών καταναλωτών να πίνουν νωπό γάλα χωρίς προκαταρκτική θερμική επεξεργασία (Tremonte, et al., 2014).

Η επεξεργασία βρασμού είναι αυτή τη στιγμή η βέλτιστη λύση για τη διασφάλιση της υγιεινής ποιότητας του νωπού γάλακτος. Από την άλλη πλευρά, ακόμα και αυτό μειώνει τη θρεπτική αξία του νωπού γάλακτος. Ο φούρνος μικροκυμάτων θα μπορούσε να είναι μια εξαιρετική εναλλακτική λύση στο βράσιμο, καθώς εγγυάται την ασφάλεια χωρίς να υποβαθμίζει σε μεγάλο βαθμό την ποιότητα του γάλακτος, διατηρώντας τα θρεπτικά χαρακτηριστικά του. Ωστόσο, απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για τον εντοπισμό και την τυποποίηση των μεταβλητών της διαδικασίας και για την εξασφάλιση ασφαλούς οικιακού χειρισμού. Η κατανάλωση νωπού γάλακτος από μηχανήματα αυτόματης πώλησης δύσκολα μπορεί να δικαιολογηθεί από επιστημονική άποψη (Tremonte, et al., 2014).

Πολλές έρευνες κατέληξαν στην παρουσία τροφιμογενών παθογόνων βακτηρίων στο νωπό γάλα προερχόμενων είτε από δεξαμενές συγκέντρωσης είτε από μολυσμένο ζώο και στην καταγραφή επιδημιών στον άνθρωπο, λόγω της κατανάλωσης νωπού γάλακτος (Oliver, Jayrao, & Almeida, 2005). Οι επιδημίες οφείλονται σε μερικά από τα ακόλουθα γένη και είδη βακτηρίων όπως είναι τα *Listeria monocytogenes*, *Yersinia*, *Escherichia coli* O157:H7 (Shigatoxigen *Escherichia coli* (STEC) και *verotoxigenic E. coli* (VTEC)), *Campylobacter* και *Salmonella spp.*, καθιστώντας σαφείς τις απειλές που προκαλούνται στην ανθρώπινη υγεία από την κατανάλωση νωπού γάλακτος και των προϊόντων που παρασκευάζονται από αυτό

(Artursson, Schelin, Lambertz, Hansson, & Olsson, 2018; Gopal, Hill, Ross, Beresford, Fenelon, & Cotter, 2015). Αυτά τα παθογόνα είναι συχνά μέρος της εντερικής χλωρίδας ή υπάρχουν στο μαστό υγιών γαλακτοπαραγωγών ζώων και μπορούν εύκολα να μολύνουν το περιβάλλον και το γάλα κατά τη διαδικασία παραγωγής (Artursson, Schelin, Lambertz, Hansson, & Olsson, 2018).

Το *Campylobacter*, η *Salmonella*, η *Yersinia* και το *VTEC O157* προκαλούν γαστρεντερική νόσο με διάρροια, πυρετό και ναυτία ως κύρια συμπτώματα στον άνθρωπο. Μερικές φορές εμφανίζονται σοβαρές επιπλοκές και συνέπειες, π.χ. βακτηριαιμία, αντιδραστική αρθρίτιδα, σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου. Στην περίπτωση της λοίμωξης από *VTEC*, θεωρείται ότι έως και το 10% των περιπτώσεων αναπτύσσουν αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο (HUS), μια δυνητικά απειλητική για τη ζωή κατάσταση, ειδικά σε παιδιά και ηλικιωμένους. Η *Listeria (L.) monocytogenes* προκαλεί συνήθως πυρετό και μυϊκό πόνο και μερικές φορές γαστρεντερικά συμπτώματα. Ωστόσο, σε άτομα υψηλού κινδύνου, π.χ. έγκυες γυναίκες, ηλικιωμένους και ανοσοκατεσταλμένα άτομα, η μόλυνση μπορεί να είναι πολύ σοβαρή με υψηλή θνησιμότητα. Άλλα βακτήρια, όπως το *S. aureus* μπορούν να παράγουν εντεροτοξίνες, προκαλώντας γαστρεντερικές διαταραχές με έμετο, πόνο στο στομάχι και διάρροια. Οι εντεροτοξίνες μπορούν να παραχθούν από το *S. aureus* υπό ευνοϊκές συνθήκες όπως αποθήκευση μη παγωμένου γάλακτος, αλλά και σε τυρί από μη παστεριωμένο γάλα ή μετά από επιμόλυνση κατά την επεξεργασία (EFSA, 2016; Hennekinne, De Buyser, & Dragacci, 2012).

Η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (European Food Safety Authority, EFSA), προσδιόρισε τους μικροβιολογικούς κινδύνους, αναφορικά με την κατανάλωση γάλακτος από διαφορετικά είδη ζώων και την δημόσια υγεία στην Ε.Ε. (EFSA, 2016).

Η παστερίωση του αγελαδινού γάλακτος είναι απαραίτητη για να καταστεί ασφαλής για τον άνθρωπο αυτή η σημαντική πηγή θρεπτικών συστατικών — ιδιαίτερα για τα βρέφη και τις ευάλωτες ομάδες. Με τον όρο παστερίωση αρχικά ονομάστηκε η ήπια θερμική επεξεργασία κατά την οποία γίνεται χρήση σχετικά χαμηλών θερμοκρασιών με σκοπό την καταστροφή ή την ελάττωση των βλαπτικών μορφών των μικροοργανισμών ενός υγρού προϊόντος (π.χ. γάλα) ώστε να μπορεί να διατηρηθεί για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Εφαρμόζονται δύο ισοδύναμοι τρόποι θερμικής επεξεργασίας για την παστερίωση του γάλακτος. Πρώτον η Χαμηλής Θερμικής Επεξεργασίας για Μεγάλο Χρονικό

Διάστημα (Low-Temperature Long-Time -LTLT) που γίνεται σε δεξαμενές με διπλά τοιχώματα στους 63 °C για 30 λεπτά και δεύτερον η Υψηλής Θερμικής επεξεργασίας για Βραχύ Χρονικό Διάστημα (High-Temperature Short-Time – HTST) που γίνεται στους 71,7 °C για 15 δευτερόλεπτα συνήθως σε πλακοειδείς εναλλάκτες θερμότητας (Κεχαγιάς, 1997). Αναπτύχθηκε από τον Γάλλο χημικό Λουί Παστέρ το 1864 από τον οποίο πήρε και το όνομα της (Currirer & Widness, 2018).

Το 1870, ο καθηγητής N. J. Fjord στη Δανία ήταν ο πρώτος άνθρωπος που υιοθέτησε την διαδικασία της παστερίωσης για το γάλα. Στη Γερμανία όμως, το 1882, αναπτύχθηκε για πρώτη φορά η διαδικασία της παστερίωσης. Αυτά τα ορόσημα έφεραν επανάσταση στην επεξεργασία, τη μεταφορά και αποθήκευση γαλακτοκομικών προϊόντων. Το 1880-1895 για την παστερίωση του γάλακτος, τοποθετούνταν το νωπό γάλα σε ατομικά σφραγισμένα μπουκάλια τα οποία βυθίζονταν σε βραστό νερό ή θερμαινόμενη άμμο. Το 1895-1910 το γάλα παστεριωνόταν στους 178 °F (81°C) και αμέσως μετά έπρεπε να κρυώσει γρήγορα. Αυτή η διαδικασία καθιερώθηκε εύκολα για εμπορικούς σκοπούς όμως παρόλα αυτά επιβίωναν ορισμένοι παθογόνοι μικροοργανισμοί. Το 1910–1940 το γάλα θερμαίνόταν στους 140 °F για 20 λεπτά. Σε αυτές τις συνθήκες το γάλα παρουσίαζε βελτιωμένη γεύση και διασφαλιζόταν ότι καταστρέφονται όλα τα παθογόνα βακτήρια, συμπεριλαμβανομένων και όσων προκαλούσαν την φυματίωση. Από το 1940 έως και σήμερα στην Αμερική το γάλα παστεριώνεται σε θερμοκρασία 160-162 °F (71-72 °C) για λιγότερο από 15 δευτερόλεπτα. Αυτή η πρακτική είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική διότι μπορεί να επεκτείνει τη διάρκεια ζωής του τροφίμου 14 ημέρες διατηρώντας την γεύση του. Από το 1975 έως σήμερα στην Ευρώπη, εφαρμόζεται η επεξεργασία Υψηλής Παστερίωσης (Ultra-High Temperature Pasteurization), σε θερμοκρασία 275 °F (135 °C) για 1-2 δευτερόλεπτα (Currirer & Widness, 2018).

2.2. Προέλευση και χαρακτηρισμοί γάλακτος

Διάφορα είδη ζώων χρησιμοποιούνται για την παραγωγή γάλακτος. Σύμφωνα με την ελληνική νομοθεσία και τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών, γάλα είναι το απαλλαγμένο από πρωτόγαλα προϊόν που συλλέγεται από τους μαστούς γαλακτοφόρου ζώου μετά από ένα πλήρες, ολοκληρωτικό και χωρίς διακοπή άρμεγμα ζώων που θεωρούνται καλά στην υγεία τους, διατηρούνται και διατρέφονται καλά και δεν καταπονούνται (FAO/WHO, 2004). Η λέξη

γάλα συνδέεται από ένα επίθετο που δηλώνει την προέλευση του (πρόβειο, αγελαδινό, βουβαλίσιο) (Κεχαγιάς, 1997).

Εκτός από την προέλευση του ζώου, το γάλα χαρακτηρίζεται και από την γεύση του (ξινόγαλα), από το αν είναι ενισχυμένο (με βιταμίνες, μέταλλα, ιχνοστοιχεία), από την επεξεργασία του (νωπό, παστεριωμένο, συμπυκνωμένο, ζαχαρούχο), από την μέθοδο εκτροφής ή παραγωγής (από ζώα ελευθέρως βοσκής, βιολογικό), από την προέλευση (φυτικής προέλευσης, καρύδας, σόγιας), από την σύνθεση (γάλα πλήρες, χαμηλό σε λιπαρά), από την συντήρηση (μακράς διάρκειας, σε σκόνη), από την συσκευασία του (σε μπουκάλι, σε χαρτόνι) και από την σύσταση του (χωρίς λακτόζη).

2.3. Σημασία του γάλακτος στην διατροφή του ανθρώπου – βιολειτουργικά συστατικά

Το γάλα θεωρούνταν στο παρελθόν ως η μοναδική πλήρης τροφή. Με το πέρασμα των χρόνων όμως και την εξέλιξη της επιστήμης, μέσω των νέων μεθόδων που έχουν αναπτυχθεί για τον προσδιορισμό των θρεπτικών συστατικών των τροφίμων, έχει διαπιστωθεί ότι υπάρχουν και άλλα τρόφιμα που περιέχουν θρεπτικά συστατικά σε μεγάλες ποσότητες. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα κανένα τρόφιμο να μην μπορεί να θεωρηθεί πλήρες. Για τον λόγο αυτό, οι επιστήμονες που ασχολούνται με την διατροφή προτείνουν την κατανάλωση τροφίμων από διάφορες κατηγορίες τροφίμων ώστε τα άτομα να πραγματοποιούν μία ισορροπημένη διατροφή καλύπτοντας έτσι όλες τις διατροφικές τους ανάγκες. Παρόλα αυτά όμως το γάλα θεωρείται ιδιαίτερα ευεργετικό για την υγεία μας, διότι περιέχει ένα ευρύ φάσμα θρεπτικών συστατικών (Κεχαγιάς, 1997).

Παλαιότερα, ο στόχος της γεωργίας και της κτηνοτροφίας ήταν η αύξηση της απόδοσης και της παραγωγής με σκοπό το κέρδος. Η εστίαση στη βελτίωση του θρεπτικού προφίλ άλλα και του τρόπου παραγωγής των προϊόντων ήταν μικρή. Σήμερα, η ποιότητα των τροφίμων αποτελεί σημαντικό παράγοντα για την επιλογή αυτών από τους καταναλωτές, λόγω του ότι υπάρχει μεγαλύτερο ενδιαφέρον και ευαισθητοποίηση για την καλύτερευση της υγείας.

Το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα είναι σημαντικές πηγές θρεπτικών συστατικών για την διατροφή του ανθρώπου, παρέχοντας ενέργεια, υψηλής ποιότητας πρωτεΐνες και απαραίτητες βιταμίνες και μέταλλα. Ωστόσο, σε ορισμένες περιπτώσεις, μπορεί να προκύψουν προβλήματα με την κατανάλωση γάλακτος από ορισμένα άτομα που

ενδέχεται να είναι αλλεργικοί σε συγκεκριμένες πρωτεΐνες γάλακτος ή δυσανεκτικοί στη λακτόζη (Bauman, Maher, Wall, & Lock, 2006).

Είναι ευρέως γνωστό ότι τα τρόφιμα περιέχουν συστατικά που μπορούν να επηρεάσουν την υγεία του ανθρώπου. Ο ρόλος των επιστημών όσον αφορά την υγεία των καταναλωτών είναι να διευκρινίσουν με σαφήνεια τα ευεργετικά ή μη χαρακτηριστικά συγκεκριμένων τροφίμων και συστατικών τροφίμων ώστε να διασφαλιστεί η διατήρηση της υγείας και η πρόληψη ασθενειών (Bauman, Maher, Wall, & Lock, 2006).

Ο όρος «λειτουργικά τρόφιμα» (functional foods) έχει υιοθετηθεί για να περιγράψει τρόφιμα ή συστατικά τροφίμων που έχουν ευεργετικές επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία, πέραν των αναμενόμενων. Τα συστατικά αυτά παίζουν σημαντικό ρόλο στην πρόωθηση της ευεξίας και στη μείωση του κινδύνου ασθενειών που σχετίζονται με τη διατροφή (Ozen, Pons, & Tur, 2012).

Τα βιοενεργά ή βιολειτουργικά συστατικά δίνουν αυτή τη λειτουργικότητα σε ορισμένα τρόφιμα στα οποία περιέχονται. Παραδοσιακά, τα λειτουργικά συστατικά τροφίμων συναντώνται στα φρούτα και τα λαχανικά τα οποία έχουν χαρακτηριστεί για τις ευεργετικές ιδιότητες που προάγουν για την υγεία. Πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει ότι βιοενεργά συστατικά υπάρχουν επίσης και σε τρόφιμα ζωικής προέλευσης, συμπεριλαμβανομένου του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων. Τα γαλακτοκομικά προϊόντα αποτελούν μια από τις καλύτερες πηγές ασβεστίου, το οποίο είναι απαραίτητο για την πρόληψη της οστεοπόρωσης. Σε μια ανάλυση των πηγών ασβεστίου, το γάλα και τα γαλακτοκομικά παρείχαν το 83% του ασβεστίου στις διατροφές των νέων παιδιών, 77% του ασβεστίου στις διατροφές των εφήβων κοριτσιών και μεταξύ του 65 με 72% του ασβεστίου στις διατροφές των ενηλίκων. Έρευνες από το USDA δείχνουν ότι 9 στα 10 έφηβα κορίτσια και ενήλικες γυναίκες και 7 στα 10 έφηβα αγόρια και ενήλικες άνδρες αποτυγχάνουν να τηρήσουν τις συστάσεις για την πρόσληψη ασβεστίου. Μόνο το 4 έως 5% των γυναικών ηλικίας 50 ετών και άνω καταναλώνουν το 100% της συνιστώμενης πρόσληψης του ασβεστίου (Huth, DiRienzo, & Miller, 2006). Ρεαλιστικά, είναι δύσκολο να επιτευχθεί η συνιστώμενη ημερήσια κάλυψη του ασβεστίου χωρίς τη κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων.

Γενικότερα, η κατανάλωση γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων συσχετίζεται με μείωση του κίνδυνου ισχαιμικού επεισοδίου, του μεταβολικού συνδρόμου, και προστατευτικά οφέλη του καρδιαγγειακού συστήματος, έχει αντίστροφη συσχέτιση με τον

δείκτη μάζας σώματος. (Elwood, Pinckering, & Hughes, 2004; Pereira, Jacobs, & Van Horn Jr., 2002). Αντίθετα, η ανεπαρκής πρόσληψη ασβεστίου από τους εφήβους προκαλεί ιδιαίτερη ανησυχία για την σκελετική ανάπτυξη τους. Περίπου το 90% της οστικής μάζας των ανθρώπων επιτυγχάνεται μέχρι την ηλικία των 17 ετών (Huth, DiRienzo, & Miller, 2006).

Συνεπώς, οι βιοδραστικές ιδιότητες ορισμένων συστατικών στο γάλα έχουν εξεταστεί σε σχέση με μια σειρά από μεταβλητές που σχετίζονται με την υγεία. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα συστατικά που σχετίζονται με την πρόληψη χρόνιων ανθρώπινων ασθενειών. Αποτελέσματα από διάφορες έρευνες έδειξαν ότι το γάλα περιέχει συγκεκριμένες πρωτεΐνες, πεπτίδια και λιπαρά οξέα που είναι βιοενεργά συστατικά και η παραγωγή γαλακτοκομικών προϊόντων που έχουν υποστεί ζύμωση έχει αποδειχθεί ότι έχει τη δυνατότητα να έχει ευεργετικά αποτελέσματα σε μεταβλητές που σχετίζονται με την υγεία (Bauman, Maher, Wall, & Lock, 2006).

Σε συστηματική ανασκόπηση που πραγματοποιήθηκε για να αξιολογηθούν οι διαφορές στην παγκόσμια κατανάλωση λειτουργικών τροφίμων βρέθηκε ότι αρκετά μεγάλος αριθμός ατόμων καταναλώνει γάλα με χαμηλά λιπαρά και αποβουτυρώμενο (άπαχο) γάλα. Πιο συγκεκριμένα στη μελέτη που διεξήχθη στις Ηνωμένες Πολιτείες, το 95% των αγοριών και το 96% των κοριτσιών καταλάωναν γάλα με χαμηλά λιπαρά. Επιπλέον ρωτήθηκαν και για την προτίμηση τους ανάμεσα σε γάλα με χαμηλά λιπαρά και σε αποβουτυρώμενο γάλα και οι άνδρες προτιμούσαν γάλα με χαμηλά λιπαρά, ενώ οι γυναίκες προτιμούσαν το αποβουτυρωμένο γάλα. Τέλος, οι μεγαλύτεροι σε ηλικία ερωτηθέντες της συγκεκριμένης μελέτης απάντησαν ότι είναι συχνότεροι καταναλωτές γάλακτος με μειωμένα λιπαρά (Ozen, Pons, & Tur, 2012).

Σε άλλες έρευνες που αφορούν τα προϊόντα τα οποία έχουν υποστεί ζύμωση, μεταξύ των χωρών που συμμετέχουν σε αυτές τις έρευνες, βρέθηκε ότι η Φινλανδία είχε το υψηλότερο επίπεδο κατανάλωσης ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων, με το 91,6% των ερωτηθέντων να καταναλώνουν ξινόγαλα. Στη Σουηδία, τα προβιοτικά γαλακτοκομικά προϊόντα καταναλώθηκαν επίσης από υψηλό ποσοστό των ερωτηθέντων (55,9%), ενώ το γιαούρτι με βακτήρια γαλακτικού οξέος καταναλώθηκε κατά 32,4%. Σε μια μελέτη που διεξήχθη στην Πολωνία, το 20% των ερωτηθέντων ανέφεραν ότι καταλάωναν προβιοτικά ροφήματα γιαουρτιού. Στη Σουηδία παρατηρήθηκε διαφορά στην κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων που έχουν υποστεί ζύμωση μεταξύ των φύλων, με τις γυναίκες να είναι πιο πιθανό να καταναλώνουν προβιοτικά από τους άνδρες (Ozen, Pons, & Tur, 2012).

2.4. Βιοσύνθεση και έκκριση

Η δημιουργία του γάλακτος είναι από τις πιο σύνθετες οργανικές διαδικασίες. Το νευρικό σύστημα του ζώου, ρυθμίζει την έκκριση των ορμονών όπως προλακτίνη και σωματοτροπίνη οι οποίες με τη σειρά τους, ρυθμίζουν την έκκριση του γάλακτος.

Η προλακτίνη εκκρίνεται από τον μπροστινό αδένα της υπόφυσης και έχει πάνω από 300 γνωστές επιδράσεις. Διεγείρει τους μαστικούς αδένες για την παραγωγή γάλακτος (γαλουχία). Πιο συγκεκριμένα, αυξημένες συγκεντρώσεις της προλακτίνης στον ορό κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης προκαλούν διεύρυνση των μαστικών αδένων των μαστών και προετοιμασία τους για την παραγωγή γάλακτος (Bole, Goffin, Edey, Binart, & Kelly, 1998). Η παραγωγή του γάλακτος ξεκινά μόλις τα επίπεδα της προγεστερόνης πέσουν στο τέλος της εγκυμοσύνης και υπάρξει ερέθισμα από θηλασμό. Ακόμα, αυξάνει τη δράση των ενζύμων που είναι σημαντικά για τη λειτουργία των επιθηλιακών κυττάρων (στις αδενοκυψέλες), τα οποία μετατρέπουν τα συστατικά του αίματος σε γάλα.

Η σωματοτροπίνη, που εκκρίνεται από τον μπροστινό αδένα της υπόφυσης, είναι γνωστή και ως αυξητική ορμόνη των βοοειδών. Ρυθμίζει την ανάπτυξη των νεαρών ζώων και επηρεάζει την έκκριση γάλακτος, αυξάνοντας τη διαθεσιμότητα των αμινοξέων, των λιπών και των σακχάρων του αίματος για να χρησιμοποιηθούν από το μαστικό αδένα στη σύνθεση του γάλακτος (Katzung, 2009).

Το γάλα παράγεται στους μαστούς των θηλαστικών από συστατικά που μεταφέρονται εκεί από το αίμα. Τα συστατικά του γάλακτος συντίθενται κυρίως από τα εκκριτικά κύτταρα του μαστικού αδένα από πρόδρομες ουσίες που απορροφώνται από την κυκλοφορία του αίματος. Αυτές οι πρόδρομες ουσίες, προέρχονται άμεσα ή έμμεσα από τα θρεπτικά συστατικά της διατροφής. Το επιθήλιο του μαστού λειτουργεί επίσης ως επιλεκτικός φραγμός, επιτρέποντας τη μεταφορά επιλεγμένων ουσιών από το αίμα στα κυψελιδικά κύτταρα χωρίς καμία αλλαγή στη χημική τους σύσταση (Pulina, 2004).

Το μέγεθος, το σχήμα και η ανατομία του μαστού διαφέρουν από είδος σε είδος. Ο μαστός της αγελάδας για παράδειγμα αποτελείται από 4 ανεξάρτητα τμήματα που υποστηρίζονται από δικά τους συστήματα νεύρων, αιμοφόρων και λεμφοφόρων αγγείων και καταλήγουν σε ξεχωριστές θηλές.

Το άρμεγμα είναι η πράξη της εξαγωγής γάλακτος από τους μαστικούς αδένες ενός ζώου, συνήθως αγελάδας, προβάτου, κασίικας και σπανιότερα καμήλας, αλόγου και γαϊδάρου. Για να μπορεί ένα ζώο να αρμεχτεί θα πρέπει να κυοφορεί ή να ήταν πρόσφατα έγκυο (Ρογδάκης Εμμανουήλ, 2006). Έτσι, τίθεται σε λειτουργία το αντανακλαστικό καθόδου του γάλακτος. Για να γίνει αυτό το ζώο πρέπει να είναι ήρεμο να μην πονάει, να μην εκτίθεται σε θόρυβο. Το άρμεγμα γίνεται από τους μαστούς του ζώου είτε χειρωνακτικά είτε μηχανικά. Μερικές φορές το ανακλαστικό της καθόδου του γάλακτος δεν λειτουργεί ή δυσλειτουργεί με αποτέλεσμα την κατακράτηση του γάλακτος των αδενοκυψελίδων. Η βιοσύνθεση του γάλακτος γίνεται στα γαλακτικά κύτταρα, τα οποία είναι τοποθετημένα σε μονή στρώση στο εσωτερικό μίας σφαιρικής κοιλότητας που ονομάζεται αδενοκυψελίδα. Τα συστατικά του γάλακτος εκκρίνονται από τα γαλακτικά κύτταρα προς το εσωτερικό αυτής της κοιλότητας. Οι αδενοκυψελίδες είναι μικροσκοπικοί αδένες, διάσπαρτοι μέσα στο μαστό οι οποίοι συγκρατούνται με συνδετικό ιστό. Τα επιθηλιακά κύτταρα του μαστού (secreting cells) έχουν ένα υψηλό επίπεδο οργάνωσης και μια αξιοσημείωτη ικανότητα να μετατρέπουν τα κυκλοφορούντα θρεπτικά συστατικά σε συστατικά γάλακτος (Καμιναρίδης & Μοάτσου). Ο Patton (2017), αναγνώρισε τη σημασία του μαστικού επιθηλιακού κυττάρου ως «βιολογικού εργοστασίου». Η παραγωγικότητα αυτού του βιολογικού εργοστασίου είναι εκτεταμένη και όσον αφορά τη χρήση θρεπτικών ουσιών και ενέργειας, η αγελάδα θα πρέπει ίσως να θεωρείται ως «προσάρτημα του μαστικού αδένου» και όχι το αντίστροφο (Patton, 2017).

Η κάθοδος του γάλακτος στις αδενοκυψέλες, γίνεται και στις αίγες μέσω του νευρικού συστήματος και της απελευθέρωσης της ορμόνης της ωκυτοκίνης. Η ωκυτοκίνη, εκτός του ότι συμβάλλει στην παραγωγή και κάθοδο του γάλακτος στις αίγες όπου παρατηρείται η συγκεκριμένη ορμόνη, συμβάλλει και στην αύξηση της παραγωγής του γάλακτος (Pulina, 2004).

2.5. Η παραγωγή του γάλακτος στον κόσμο

Το αγελαδινό γάλα κατέχει το μεγαλύτερο ποσοστό στην παγκόσμια παραγωγή γάλακτος, περίπου το 90% αυτής. Μια αγελάδα μπορεί να παράγει το χρόνο γύρω στα 3.500 κιλά γάλα κατά μέσο όρο, αν και υπάρχουν αγελάδες που παράγουν πάνω από 10.000 κιλά το χρόνο. Σε πολλά μέρη του κόσμου, η αγελάδα είναι ένας αποτελεσματικός μετατροπέας μη

βρώσιμων από τον άνθρωπο πόρων σε τροφή πλούσια σε θρεπτικά συστατικά (Van Toon & Hettinga, 2015). Μετά το αγελαδινό ακολουθούν το βουβαλίσιο με 5 %, το γίδινο με 3 % και το πρόβειο με 2%. Στην χώρα μας όμως το πρόβειο και το γίδινο γάλα έχουν πολύ μεγαλύτερη συμμετοχή στη συνολική παραγωγή γάλακτος σε σύγκριση με τις άλλες χώρες. Είναι αξιοσημείωτο ότι η χώρα μας παράγει περίπου το 30 % του συνολικά παραγόμενου πρόβειου και γίδινου γάλακτος στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Μεταξύ των κρατών-μελών της ΕΕ, η χώρα μας κατέχει μαζί με τη Γαλλία την πρώτη θέση στην παραγωγή γίδινου γάλακτος και την δεύτερη, μετά την Ιταλία στην παραγωγή πρόβειου. Το μεγαλύτερο ποσοστό αγελαδινού γάλακτος χρησιμοποιείται για την παρασκευή παστεριωμένου γάλακτος και ένα μικρότερο ποσοστό για την παρασκευή άλλων προϊόντων. Το πρόβειο και το γίδινο γάλα αξιοποιούνται κυρίως για παρασκευή τυριών σε ποσοστά που υπερβαίνουν το 70-80%. Τα κυριότερα προϊόντα που εισάγονται στην χώρα μας είναι τυριά, σκόνες γάλακτος και συμπυκνωμένο γάλα. Οι εξαγωγές μας είναι μικρές και αντιπροσωπεύουν περίπου το 2 % της συνολικής παραγωγής γάλακτος και περιορίζονται σε εξαγωγές τυριών και κυρίως φέτας (Κεχαγιάς, 1997). Η παγκόσμια παραγωγή γάλακτος προβλέπεται να φτάσει τους 928 εκατομμύρια τόνους το 2021, 1,5% υψηλότερα από το 2020, με την αναμενόμενη επέκταση της παραγωγής σε όλες τις περιοχές, με επικεφαλής την Ασία και την Βόρια Αμερική (WHO/FAO, 2021).

2.6. Είδη γάλακτος βάση της προέλευσής τους

Οι άνθρωποι, καταναλώνουν μεγάλες ποσότητες γάλακτος πέρα του δικού τους. Τα κύρια είδη γάλακτος είναι το αγελαδινό, το βουβαλίσιο, το κατσικίσιο και το πρόβειο, τα οποία παράγονται σε ποσότητες 419.26, 7.2 και 7.3 τόνων ετησίως αντίστοιχα, με σκοπό την ανθρώπινη κατανάλωση (FAO Production Yearbook, 1979).

Τα γάλατα που προέρχονται από διαφορετικά ζώα και κυρίως μηρυκαστικά διαφέρουν στη σύσταση μεταξύ τους. Οι διαφορές στη σύνθεση του γάλακτος οφείλονται κυρίως στις απαιτήσεις σε ενέργεια και στα δομικά συστατικά που έχει το νεογνό από το κάθε διαφορετικό είδος. Οι διαφορές αυτές μπορεί να είναι στο λίπος (π.χ. το γάλα του ελέφαντα είναι πλούσιο σε λίπος) ή την λακτόζη (π.χ. του ανθρώπου, του λάμα, του ίππου είναι πλούσια σε λακτόζη). Στο παρελθόν, χρησιμοποιήθηκαν πολλοί τύποι γάλακτος.

Σήμερα επικρατεί το αγελαδινό για την παραγωγή πόσιμου γάλακτος. Η αγελάδα μας παρέχει το γάλα της για την παρασκευή διαφόρων γαλακτοκομικών προϊόντων, αλλά χρησιμοποιείται κυρίως για να το πίνουμε. Με άλλα λόγια, το γάλα που πωλείται στην αγορά προέρχεται κυρίως από αγελάδες, αντιπροσωπεύοντας το 90% της παγκόσμιας παραγωγής (Επίσημη Εφημερίδα των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων, 1986).

Τα πρόβατα είναι μηρυκαστικά και κατέχουν σημαντικό ρόλο στην παραγωγή γαλακτοκομικών προϊόντων, ιδίως σε χώρες της Μεσογείου και σε περιοχές της Ασίας και της Αφρικής. Η εγκυμοσύνη διαρκεί κατά μέσο όρο 150 μέρες. Ο πρώτος τοκετός γίνεται σε ηλικία 14-17 μηνών ή 2 ετών (Αγροτικός Συνεταιρισμός Στρυμών, 2011). Είναι ένα από τα γαλακτοφόρα ζώα με μεγάλο πληθυσμό (ο παγκόσμιος πληθυσμός των προβάτων υπολογίζεται γύρω στο ένα δισεκατομμύριο), με αποτέλεσμα να παράγει μεγάλες ποσότητες γάλακτος.

2.7. Αγελαδινό γάλα

Το αγελαδινό γάλα, μια πλούσια πηγή πολλών μακρο- και μικροθρεπτικών συστατικών, καταναλώνεται από πολλά παιδιά. Πιο συγκεκριμένα, αποτελείται από πρωτεΐνες, λακτόζη, τριγλυκερίδια, φώσφορο, ασβέστιο και βιταμίνες Β2, Α και D. Όσον αφορά τα κύρια συστατικά του, η μέση χημική σύνθεση του αγελαδινού γάλακτος είναι 87% νερό, 3,7% λίπος, 2,8% καζεΐνη, 0,6% πρωτεΐνη ορού, 4,6% λακτόζη και 0,7% ανόργανα άλατα (τέφρα) (Jensen, 1995). Το αγελαδινό γάλα έχει υψηλότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και γενικότερα θεωρείται υψηλότερο σε ποιότητα σε σύγκριση με τα κοινά διαθέσιμα μη γαλακτοκομικά ποτά που προέρχονται από αμύγδαλο, κάσιους, καρύδα, φουντούκι, κάνναβη, βρώμη, ρύζι και σόγια (Singhal, Baker, & Baker, 2017). Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες του αγελαδινού γάλακτος κυμαίνεται από 2,3% έως 44%, ανάλογα με τη φυλή, τη διατροφή, την ατομικότητα, το στάδιο γαλακτικής περιόδου, την εποχή και την υγεία του ζώου. Το περιεχόμενο σε λιπαρά στο αγελαδινό γάλα είναι υψηλό σε ενέργεια και αποτελεί πλούσια πηγή χοληστερόλης και κορεσμένων λιπαρών οξέων (Kratz, Baars, & Guyenet, 2013).

Το αγελαδινό γάλα έχει υψηλή περιεκτικότητα σε ασβέστιο και αυτό το ασβέστιο είναι εξαιρετικά βιοδιαθέσιμο (Bos, Gaudichon, & Tome, 2000). Το ασβέστιο είναι απαραίτητο για υγιή οστά και δόντια. Άλλα συστατικά του γάλακτος όπως η λακτόζη και τα φωσφοπεπτίδια καζεΐνης είναι γνωστό ότι αυξάνουν την εντερική διαπερατότητα για άλατα ασβεστίου και αυξάνουν την εντερική απορρόφηση, αντίστοιχα (Singhal, Baker, & Baker,

2017). Το αγελαδινό γάλα είναι μια καλή πηγή ψευδαργύρου και ο ψευδάργυρος είναι πιο βιοδιαθέσιμος από ότι σε άλλα ποτά που δεν είναι γαλακτοκομικά (Singhal, Baker, & Baker, 2017).

Το αγελαδινό γάλα είναι μια πλούσια πηγή βιταμινών όπως ριβοφλαβίνη, βιταμίνη E, βιταμίνη A, φυλλικό οξύ, θειαμίνη, νιασίνη, βιταμίνη B6 και βιταμίνη B12. Περιέχει υψηλότερη ποσότητα ριβοφλαβίνης σε σύγκριση με άλλα προϊόντα. Το εμπλουτισμένο αγελαδινό γάλα είναι επίσης μια βασική διατροφική πηγή βιταμίνης D στην πρώιμη παιδική ηλικία (Lee, Birken, & Parkin, 2014).

Το αγελαδινό γάλα έχει μικρή διάρκεια και παρέχεται για κατανάλωση σε τρεις κατηγορίες: ως «πλήρες» όπου περιέχει όλα τα λιπαρά (τουλάχιστον 3,25%) και συσκευάζεται σε μπλε συσκευασία, ως «χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά» (2% ή λιγότερο) και συσκευάζεται σε πράσινη συσκευασία και ως «χωρίς λιπαρά» και συνήθως συσκευάζεται σε μωβ συσκευασία. Στο εμπόριο είναι δυνατό να βρει κανείς αγελαδινό γάλα είτε με προσθήκη ασβεστίου, είτε με προσθήκη βιταμίνης D και E ή με προσθήκη ω-3 λιπαρών οξέων.

2.8. Πρόβειο γάλα

Το πρόβειο γάλα προέρχεται από πρόβατα τα οποία εκτρέφονται για αυτόν τον λόγο. Από τα πρόβατα, το γάλα τους χρησιμοποιείται κυρίως για την παραγωγή τυριού. Μερικά τυριά που παρασκευάζονται από γάλα πρόβατου είναι η φέτα και το ροκφόρ. Επιπλέον, στην Ελλάδα το γιαούρτι συχνά παρασκευάζεται από πρόβειο γάλα. Στην Ελλάδα, ο πληθυσμός των προβάτων αποτελεί το 9,21% του συνολικού πληθυσμού της ΕΕ (EFSA, 2014). Υπάρχουν πάνω από 40 φυλές προβάτων που μπορούν να προσαρμοστούν στο κλίμα της Ελλάδας και να παράγουν τα προϊόντα τους. Τα πρόβατα γαλακτοπαραγωγής μπορούν να παράγουν 180-500 κιλά γάλακτος ετησίως, ενώ άλλα πρόβατα παράγουν 45-91 κιλά γάλακτος ετησίως (Yves, 2010). Το πρόβειο γάλα είναι εξαιρετικά υψηλό σε λιπαρά και συζευγμένο λινελαϊκό οξύ (CLA) και έχει υψηλό επίπεδο στερεών σε σύγκριση με άλλα γάλατα (Haenlein & Wendorff, 2006). Αυτό το καθιστά πολύ κατάλληλο για παραγωγή τυριού. Πιο συγκεκριμένα, το πρόβειο γάλα παράγει πολύ περισσότερο τυρί από ότι η ίδια ποσότητα αγελαδινού γάλακτος (Sinanoglou, Koutsouli, Fotakis, Sotiropoulou, Cavouras, & Bizelis, 2015). Σε μελέτη

που έγινε για την αξιολόγηση του προφίλ λιπαρών οξέων δύο αυτόχθονες ελληνικές φυλές προβάτων σε διαφορετικά στάδια γαλουχίας, βρέθηκε ότι το πρόβειο νωπό γάλα περιέχει υψηλές αναλογίες λιπαρών οξέων βραχείας και μέσης αλυσίδας (Sinanoglou, Koutsouli, Fotakis, Sotiropoulou, Cavouras, & Bizelis, 2015). Τα λιπαρά οξέα μέσης αλυσίδας φαίνεται να έχουν αξία για μια υγιεινή διατροφή καθώς έχουν θρεπτική και θεραπευτική σημασία (Nagao & Yanagita, 2010).

Όσον αφορά τα κύρια συστατικά του, κατά την γαλακτική περίοδο, η μέση χημική σύνθεση του πρόβειου γάλακτος κυμαίνεται περίπου από 17,57-19,11% ολικά στερεά, 5,53-7,52% λίπος, 4,55-6,15% ολικές πρωτεΐνες, 4-4,6% καζεΐνες, 0,9% πρωτεΐνες ορού 4,55-4,97% λακτόζη και 1% τέφρα ανάλογα με το είδους του προβάτου. Το pH του κυμαίνεται από 6,66-6,77. Σε έρευνα των Pavic et.al. (2002) εξήχθη το συμπέρασμα ότι το πρόβειο γάλα περιέχει σημαντικά χαμηλότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη στην έναρξη της περιόδου γαλουχίας παρά στο τέλος, άρα η πρωτεΐνη του αυξάνεται στα κανονικά της επίπεδα (5,5-6,5%). Μια εντελώς αντίθετη τάση καθιερώθηκε για λακτόζη καθώς η περιεκτικότητά της ήταν υψηλότερη στην αρχή και χαμηλότερη στο τέλος της γαλουχίας (PAVIĆ, ANTUNAC, MIOČ, IVANKOVIĆ, & HAVRANEK, 2002). Όσον αφορά το λίπος, τα πράγματα είναι πιο σύνθετα καθώς εμφανίζει σχετική μείωση έως την 3η εβδομάδα και στη συνέχεια μία σχετική αύξηση.

Το πρόβειο γάλα έχει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και λίπος και ολικά στερεά σε σχέση με το αγελαδινό. Όσον αφορά τα υπόλοιπα συστατικά, δεν παρουσιάζουν ιδιαίτερες διαφορές. Τέλος, το πρόβειο γάλα έχει μεγαλύτερη απόδοση στην τυροκόμηση και παράγει γιαούρτη με μεγαλύτερο ιξώδες (Vaclavik & Christian, 2014).

2.9. Κατσικίσιο γάλα

Η αίγα, επίσης γνωστή ως κατσικά ή γίδα, είναι ένα από τα ζώα από τα οποία λαμβάνουμε γάλα και ονομάζονται γαλακτοφόρα ζώα (Coffey, Margo, & Wells, 2007). Πρόκειται για ζώο μηρυκαστικό, της οικογένειας των βοοειδών και της τάξης των αρτιοδάχτυλων. Μαζί με το πρόβατο θεωρείται από τα πρώτα ζώα που εξημερώθηκαν από τους ανθρώπους. Από το γάλα της κατσίκας παράγεται τυρί, βούτυρο, παγωτό και άλλα προϊόντα.

Οι κατσίκες χρησιμοποιούνται παραδοσιακά για την παραγωγή γάλακτος σε όλο τον κόσμο, και ειδικότερα στην Ασία, την Αφρική και την Ευρώπη και παράγουν το 58,4%, το

24,1% και το 14,2% του παγκόσμιου κατσικίσιου γάλακτος, αντίστοιχα. Στο Ηνωμένο Βασίλειο, υπάρχουν 40.000–45.000 κασίκες, που αποδίδουν σχεδόν 34 εκατομμύρια λίτρα γάλακτος ετησίως, δηλαδή το 0,2% του όγκου της παραγωγής αγελαδινού γάλακτος του Ηνωμένου Βασιλείου. Αν και η πλειοψηφία του κατσικίσιου γάλακτος στο Ηνωμένο Βασίλειο χρησιμοποιείται για την παραγωγή βουτύρου, τυριού και γιαουρτιού, διατίθεται επίσης υγρό γάλα λιανικής από διάφορες μάρκες (Stergiadis, Nørskov, Purup, Givens, & Lee, 2019).

Αξίζει να σημειωθεί ότι το κατσικίσιο γάλα μπορεί να αντικαταστήσει το αγελαδινό, σε περίπτωση που κάποιο άτομο παρουσιάζει αλλεργία στην πρωτεΐνη του αγελαδινού γάλακτος (CMPA). Το CMPA είναι μια από τις πιο κοινές τροφικές αλλεργίες στην πρώιμη παιδική ηλικία και μια αληθινή ένδειξη για την υποκατάσταση του αγελαδινού γάλακτος στη διατροφή. Η συχνότητα εμφάνισης της είναι περίπου 2% έως 3% στις ανεπτυγμένες χώρες. Μερικές φορές, η αλλεργία στην πρωτεΐνη του αγελαδινού γάλακτος CMPA συγχέεται με τη δυσανεξία στη λακτόζη (Makinen, Wanhalinna, & Zannini, 2015). Επιπλέον, το κατσικίσιο γάλα περιέχει την α-καζεΐνη σε μικρότερη συγκέντρωση σε σχέση με το αγελαδινό. Λόγου της μικρής συγκέντρωσης της α-καζεΐνης, κατά την πήξη του γάλακτος παρατηρείται να σχηματίζεται πήγμα μαλακό και εύθραυστο. Τέτοιο είδους πήγματα, που λαμβάνονται από κατσικίσιο γάλα, διασπώνται ταχύτερα από τα ένζυμα του στομάχου με αποτέλεσμα να θεωρούνται περισσότερο εύπεπτα. Η κατάλληλη υποκατάσταση είναι σημαντική για την ελαχιστοποίηση του κινδύνου διατροφικής ανεπάρκειας και κακής ανάπτυξης.

Η γαλακτοπαραγωγή της εγχώριας κασίικας διαρκεί 6 μήνες και φθάνει το ενάμισι λίτρο ημερησίως. Το γάλα της κασίικας είναι πυκνότερο από της αγελάδας (Wayback Machine, 2008). Δεδομένου ότι η επίδραση των ειδών, των φυλών, των κτηνοτροφικών πρακτικών και της εποχής επηρεάζει έντονα τη διατροφική ποιότητα του γάλακτος, αναμένονται διαφορές μεταξύ αγελαδινού και κατσικίσιου γάλακτος (Chilliard, Glasser, Ferlay, Bernard, Rouel, & Doreau, 2007). Παρόλα αυτά, από έρευνα των Stergiadis et.al. (2019) σε σύγκριση αγελαδινού με κατσικίσιου γάλακτος, έχει διαπιστωθεί ότι η χημική σύσταση του κατσικίσιου γάλακτος, δεν διαφέρει σημαντικά από το αγελαδινό. Πιο συγκεκριμένα, το γάλα από αγελάδα είχε 3,49g/100g λίπος ενώ το γάλα από κασίικα είχε 3,58 g/100g. Όσο αφορά την πρωτεΐνη το γάλα από αγελάδα και το γάλα από κασίικα είχαν 3,27 και 2,85 g/100g αντίστοιχα. Για την καζεΐνη είχαν 2,55 και 2,14 g/100g αντίστοιχα και

για την λακτόζη 4,52 και 4,13 g/100g αντίστοιχα (Stergiadis, Nørskov, Purup, Givens, & Lee, 2019).

Όσον αφορά τα κύρια συστατικά του, η μέση χημική σύνθεση του κατσικίσιου γάλακτος είναι λιπαρά μεταξύ 3,44-4,5%, πρωτεΐνη 2,9-3,35%, καζεΐνη 2,46%, λακτόζη 4,10-4,30%, τέφρα 0,79%, ολικά στερεά 11,76-13,2%. Το μέσο pH είναι περίπου 6,57-6,70 και η μέση πυκνότητα 1,028-1,034 (Voutsinas, Pappas, & Katsiari, 2009; Vaclavik & Christian, 2014).

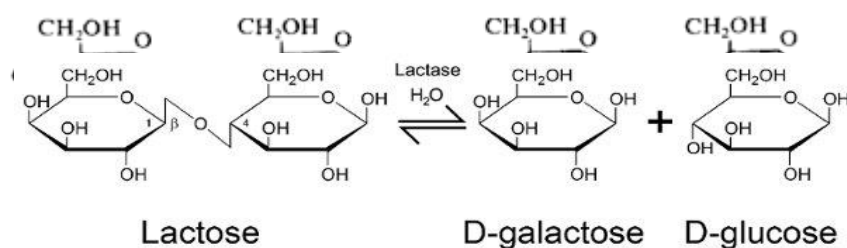
2.10. Σύσταση και δομή γάλακτος

Γάλα καλής ποιότητας είναι αυτό που προέρχεται από ζώα που εκτρέφονται σωστά, που έχει κανονική χημική σύσταση, χρώμα, οσμή και γεύση, που περιέχει μικρό αριθμό μικροβιακού φόρτου, απαλλαγμένο από παθογόνους μικροοργανισμούς, δεν περιέχει ξένες ουσίες (π.χ. αντιβιοτικά, συντηρητικά, ορμόνες κ.ά.) και που δεν έχει υποστεί οποιαδήποτε επέμβαση νοθείας.

Τα σημαντικότερα συστατικά του γάλακτος από διαιτητικής πλευράς είναι το λίπος, η πρωτεΐνη, η λακτόζη, και το νερό. Τα δευτερεύοντα συστατικά που χαρακτηρίζονται έτσι λόγω του ότι βρίσκονται σε μικρές ποσότητες σε σχέση με τα κύρια, είναι πολύ σημαντικά και είναι τα άλατα, τα ένζυμα, οι βιταμίνες, τα φωσφολιπίδια, το κιτρικό οξύ και τα αέρια.

- Νερό: Η περιεκτικότητα σε νερό στο αγελαδινό γάλα, κυμαίνεται από 85% έως 88%. Σε όλα τα είδη γάλακτος το νερό βρίσκεται σε μεγαλύτερη αναλογία σε σχέση με τα υπόλοιπα συστατικά, με εξαίρεση το γάλα ορισμένων θαλάσσιων θηλαστικών π.χ. φώκια, όπου η συγκέντρωση των λιπιδίων είναι μεγαλύτερη εκείνης του νερού. Τα άλλα συστατικά διαλύονται, διασπείρονται κολλοειδώς, και γαλακτωματοποιούνται σε νερό (Jenness, 1997). Ένα μικρό ποσοστό του νερού, χρησιμοποιείται για την ενυδάτωση της λακτόζης και των αλάτων και ένα μέρος του επίσης είναι δεσμευμένο στις πρωτεΐνες.

- Λακτόζη:** Η λακτόζη είναι υδατάνθρακας και υπάρχει μόνο στο γάλα. Εκτός από το γάλα δεν βρίσκεται πουθενά αλλού στην φύση σε αξιόλογα ποσά. Το αγελαδινό γάλα περιέχει περίπου 4,6% λακτόζη. Δίνει στο γάλα μία ελαφρά γλυκία γεύση και αποτελεί κύρια πηγή άνθρακα για τους περισσότερους μικροοργανισμούς που αναπτύσσονται στο γάλα. Η λακτόζη είναι δισακχαρίτης που σχηματίζεται από την ένωση ενός μορίου D-γλυκόζης και ενός μορίου D-γαλακτόζης. Οι δύο μονοσακχαρίτες ενώνονται μεταξύ τους με την αλδευδική ομάδα της D-γαλακτόζης, ενώ η αλδευδική ομάδα της γλυκόζης είναι ελεύθερη. Η λακτόζη εμφανίζεται με δύο ισομερείς μορφές την α και την β ανάλογα με την θέση του υδροξυλίου στο μόριο της γλυκόζης (Κεχαγιάς, 1997). Οι μορφές αυτές διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τις φυσικές τους ιδιότητες (όπως, διαλυτότητα, στροφική ικανότητα κ.τ.λ.) και ως προς τη γλυκύτητα. Η λακτόζη συντίθεται από την ενζυμική δραστηριότητα της συνθετάσης της λακτόζης στο σύμπλεγμα Golgi των επιθηλιακών κυττάρων από τη γλυκόζη του αίματος. Η λακτόζη είναι ένας δυσσακχαρίτης του οποίου το μόριο είναι πολύ μεγάλο για να διαχυθεί εκτός του συμπλέγματος Golgi ή για να εξαχθεί από τα εκκριτικά κυστίδια (secretory vesicles)- που είναι μικροαδένες του συμπλέγματος Golgi, και έτσι απορροφά νερό από το κυτταρόπλασμα, εντός του συμπλέγματος, μέσω ώσμωσης (Pulina, 2004).



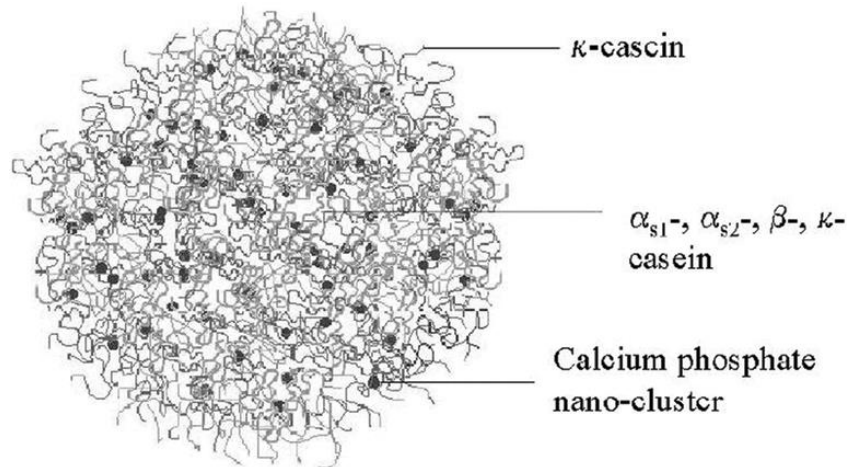
Εικόνα 1. Δομή λακτόζης
Εικόνα 2. Σύνθεση λακτόζης

- Λίπος:** Είναι ποσοτικά, το πιο ευμετάβλητο συστατικό του γάλακτος. Ο Ελληνικός Κώδικας Τροφίμων και Ποτών (Κ.Τ.Π. , 1998) ορίζει ως χαμηλότερη τιμή λίπους το 3,5% (FAO/WHO, 2004). Το λίπος του γάλακτος εκκρίνεται με τη μορφή σφαιριδίων τα οποία περιβάλλονται από μία μεμβράνη. Η μεμβράνη επιτρέπει τη διασπορά του λίπους σε ένα υδατικό περιβάλλον όπως αυτό του γάλακτος. Τα λιποσφαιρίδια

αποτελούνται αποκλειστικά από τριγλυκερίδια (Κεχαγιάς, 1997). Τα τριγλυκερίδια αποτελούν σε ποσοστό 98-99% των ολικών λιπιδίων του γάλακτος και είναι εστέρες της γλυκερόλης με διάφορα λιπαρά οξέα (Vieitez, et al., 2016). Εκτός των τριγλυκεριδίων, στο λίπος του γάλακτος συναντώνται και άλλες κατηγορίες λιπιδίων στα διάφορα είδη γάλακτος όπως χοληστερόλη, εστέρες χοληστερόλης, φωσφολιπίδια, μονογλυκερίδια, διγλυκερίδια, και ελεύθερα λιπαρά οξέα (Κεχαγιάς, 1997). Τα λιπαρά οξέα του γάλακτος προέρχονται κυρίως μετά από την σύνθεση στο μαστό του ζώου και είναι συνήθως μικρού έως μετρίου μεγέθους. Τα κυριότερα λιπαρά οξέα που συναντώνται στο γάλα των διαφόρων ειδών είναι τα: βουτυρικό 4:0, καπροικό 6:0, καπρυλικό 8:0, καπρινικό 10:0, λαυρικό 12:0, μυριστικό 14:0, παλμιτικό 16:0, παλμιτελαϊκό 16:1, στεατικό 18:0, ελαϊκό 18:1, λινελαϊκό 18:2, λινολενικό 18:3.

- Πρωτεΐνες: Υπάρχουν διάφορα είδη πρωτεϊνών στο γάλα. Η περιεκτικότητα του αγελαδινού γάλακτος σε πρωτεΐνες κυμαίνεται από 3,3 g/100ml έως 3,9 g/100ml. Σε pH 4,6 και θερμοκρασία 20 °C κατακρημνίζεται το μεγαλύτερο μέρος των πρωτεϊνών που ονομάζονται καζεΐνες. Οι πρωτεΐνες ορού, οι οποίες είναι πολύ υψηλής θρεπτικής αξίας, στο ισοηλεκτρικό σημείο, δηλαδή σε pH στην περιοχή του 5 παραμένουν διαλυμένες. Οι καζεΐνες αποτελούν περίπου το 80% των πρωτεϊνών του γάλακτος, αποτελούνται από τις α_1 -καζεΐνες τις α_2 -καζεΐνες, τις β -καζεΐνες και τις κ-καζεΐνες και περιέχουν φώσφορο στο μόριο τους. Ο φώσφορος συμβάλλει στην σταθερότητα κατά την θερμική επεξεργασία. Οι κύριες πρωτεΐνες που ανήκουν στην ομάδα των πρωτεϊνών του ορού είναι η β -γαλακτογλοβουλίνη, η α -γαλακταλβουμίνη η οποία κατέχει σημαντικό ρόλο στη σύνθεση της λακτόζης στο μαστό του ζώου, οι ανοσογλοβουλίνες, η οροαλβουμίνη και οι πρωτεόζες – πεπτόνες. Στις μεγαλύτερες ποσότητες βρίσκεται η β -γαλακτογλοβουλίνη (Κεχαγιάς, 1997). Οι καζεΐνες, η λακταλβουμίνη και η λακτογλοβουλίνη, είναι τα τρία κύρια πρωτεϊνικά κλάσματα που βρίσκονται στο αγελαδινό γάλα. Εκτός από αυτά, στο γάλα υπάρχουν και άλλες αζωτούχες ενώσεις. Ένα ποσοστό του συνολικού αζώτου του γάλακτος είναι το μη πρωτεϊνικό άζωτο.

Πολλά μόρια καζεΐνης σχηματίζουν τα μικκύλια (Εικόνα 3), τα οποία είναι σφαιρικά σωματίδια. Τα μικκύλια σχετίζονται άμεσα με την σταθερότητα των γαλακτοκομικών προϊόντων. Οι καζεΐνες είναι υδρόφοβα μόρια. Η κ-καζεΐνη έχει ένα υδρόφιλο τμήμα, το γλυκομακροπεπτίδιο το οποίο συμβάλλει στην σταθεροποίηση του μικκύλιου.



Εικόνα 3. Μικκύλιο α -, β - και κ - καζεΐνης

- Άλατα: Άλατα είναι οι οργανικές ουσίες που είναι σχετικά μικρού μοριακού βάρους και βρίσκονται υπό την μορφή ιόντων ή μη ιοντισμένες στο pH που έχει το γάλα. Τα κυριότερα άλατα του γάλακτος είναι το ασβέστιο και ο φώσφορος. Τα άλατα του γάλακτος, δεν είναι όλα διαλυμένα στην υδατική φάση του γάλακτος. Η καζεΐνη που βρίσκεται σε κolloειδή κατάσταση περιέχει αρκετό φωσφορικό ασβέστιο και λίγα κίτρικά. Το ασβέστιο και ο φώσφορος που βρίσκονται συνδεδεμένα με την καζεΐνη ονομάζονται κolloειδές φωσφορικό ασβέστιο και μη διαλυτό φωσφορικό ασβέστιο αντίστοιχα, ενώ το ασβέστιο και ο φώσφορος που βρίσκονται στον ορό είναι υδατοδιαλυτό ασβέστιο και φώσφορος (Κεχαγιάς, 1997).

- **Λοιπά συστατικά:** Τα υπόλοιπα συστατικά του γάλακτος, τα δευτερεύοντα, τα οποία ονομάζονται έτσι επειδή βρίσκονται σε μικρότερη ποσότητα στο γάλα, όπως τα ένζυμα και οι βιταμίνες είναι εξίσου σημαντικά για διάφορους λόγους. Τα ένζυμα καλύπτουν πολλές αντιδράσεις και οι βιταμίνες είναι πολύτιμα συστατικά για την διατροφή του ανθρώπου. Όσο αφορά τα ένζυμα, γίνεται λόγος για αυτά τα οποία είναι ενδογενή, δηλαδή βρίσκονται φυσιολογικά στο γάλα όπως εκκρίνονται από τον μαστό του ζώου αλλά και για εξωγενή που προέρχονται κυρίως από μικροοργανισμούς, και επιμολύνουν το γάλα μετά την άμελξη. Τα σημαντικά ένζυμα του γάλακτος, ανήκουν στις κατηγορίες οξειδοοδουκτασών, όπως η υπεροξειδάση, η καταλάση, και οι υδρολάσες όπως οι φωσφατάσες, οι λιπάσες και η πλασμίνη (Shahani, Harper, Jensen, Parry, & Zittle, 1973). Το γάλα περιέχει βιταμίνες απαραίτητες για τον ανθρώπινο οργανισμό όπως βιταμίνη Α, Β₁ (θειαμίνη), Β₂ (ριβοφλαβίνη), Β₁₂ (κομπαλαμίνη), νιτρικό οξύ, πεντατοθενικό οξύ (Oste & Jargerstand, 1997; Κεχαγιάς, 1997). Η περιεκτικότητα ορισμένων βιταμινών μειώνεται κατά την επεξεργασία ή την συντήρηση του γάλακτος. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η βιταμίνη C, η οποία καταστρέφεται κατά την παστερίωση (King & Waugh, 1934).

Βιταμίνη	Βούβαλος	Αγελάδα	Πρόβατο	Αίγα	Άνθρωπος
Βιταμίνη Α(UI)	200	0.1-0.5	143	191	189.8
Θειαμίνη (Β1)	0.058	0.04	0.07	0.04	0.016
Ριβοφλαβίνη (Β2)	0.143	0.17	0.328	0.184	0.036
Νιασίνη	0.128	0.09	0.427	0.19	0.147
Βιταμίνη (Β6)	0.025	0.06	-	0.007	0.06
Παντοθενικό Οξύ	0.24	0.34	0.364	0.344	0.184
Βιοτίνη	0.0106	0.003	0.0093	0.0039	0.0008
Βιταμίνη (Β12)	0.00036	0.00042	0.000064	0.00007	0.008
Βιταμίνη C	0.21	2.09	0.43	0.15	4.3

Εικόνα 4. Βιταμίνες σε διάφορα είδη γάλακτος

- **Άλλοι υδατάνθρακες:** Εκτός της λακτόζης, στο γάλα υπάρχουν και αρκετοί μονοσακχαρίτες και ολιγοσακχαρίτες καθώς και σάκχαρα (Jensen, 1995). Μονοσακχαρίτες όπως η γλυκόζη και η ταγκατόζη μπορεί να υπάρχουν στο γάλα. Η ταγκατόζη, η οποία απουσιάζει στο νωπό γάλα, σχηματίζεται κατά την αποστείρωση, καθώς και κατά την συντήρηση του αποξηραμένου γάλακτος σε αυξημένες

θερμοκρασίες. (Adachi, 1958). Η γλυκόζη που υπάρχει στο νωπό γάλα, η συγκέντρωσή της μπορεί να μεταβληθεί ως συνέπεια μικροβιακής αλλοίωσης (SanJose, Fernandez, & Palacios, 1987). Σύμφωνα με τους Troyano et.al., το γάλα έχει μονοσακχαρίτες σε ποσότητες 6,3-41,5 mg/100ml γαλακτόζη, 5,5-17,2 mg/100ml γλυκόζη, 3,5-10,5 mg/100ml ινοσιτόλη και 0-0,7 mg/100ml ταγκαρόζη (Troyano, Olano, Fernández-Díaz, Sanz, & Martinez-Castro, 1991). Στην ίδια έρευνα, παρουσιάστηκαν τιμές μονοσακχαριτών σε εμπορικά δείγματα γάλακτος. Πιο συγκεκριμένα, το νωπό γάλα είχε $4,56 \pm 0,12$ mg/100ml γαλακτόζη, $6,32 \pm 0,13$ mg/100ml γλυκόζη και $2,83 \pm 0,10$ mg/100ml μ-ινοσιτόλη. Το παστεριωμένο γάλα, παρουσίασε $5,87 \pm 0,22$ mg/100ml γαλακτόζη, $4,80 \pm 0,21$ mg/100ml γλυκόζη και $3,60 \pm 0,19$ mg/100ml μ-ινοσιτόλη. Το γάλα που είχε υποστεί παστερίωση εξαιρετικά υψηλής θερμοκρασίας (Ultra-high-temperature pasteurization UHT) παρουσίασε $6,60 \pm 0,30$ mg/100ml γαλακτόζη, $1,36 \pm 0,04$ mg/100ml γλυκόζη, $3,47 \pm 0,08$ mg/100ml μ-ινοσιτόλη (Troyano, Olano, Fernández-Díaz, Sanz, & Martinez-Castro, 1991). Οι κ-καζεΐνες, οι ανοσοσφαιρίνες και οι πρωτεΐνες της μεμβράνης του λιποσφαιρίου, είναι οι πρωτεΐνες του γάλακτος που περιέχουν υδατάνθρακες. Οι κ-καζεΐνες συγκεκριμένα περιέχουν γαλακτόζη 1,4%, γαλακτοζαμίνη 1,2% και αμινοακετυλονευραμινικό οξύ ή σιαλικό οξύ 2,4% (Κεχαγιάς, 1997).

- **Μέταλλα-Ιχνοστοιχεία:** Το γάλα και τα προϊόντα του είναι τα κύρια συστατικά της καθημερινής διατροφής, ειδικά για ευπαθείς ομάδες όπως βρέφη ή ηλικιωμένοι (Enb, Abou , Abd-Rabou,, Abou-Arab,, & El-Senaity, 2009). Ο σίδηρος, ο ψευδάργυρος, ο χαλκός, το μαγγάνιο, το ιώδιο, το σελήνιο, το κοβάλτιο, το χρώμιο, το μολυβδαίνιο, το φθόριο, το αρσενικό, το πυρίτιο, το νικέλιο, και το βόριο, αποτελούν τα 14 απαραίτητα ιχνοστοιχεία στην διατροφή του ανθρώπου. Το γάλα είναι εξαιρετική πηγή ασβεστίου, φωσφόρου και καλίου (Anetta, Peter, Agnieszka, & Josef, 2012). Εκτός των σημαντικών για την διατροφή μας μετάλλων, το γάλα ενδέχεται να είναι μολυσμένο με βαρέα μέταλλα όπως ψευδάργυρος, μόλυβδος, κάδμιο, σελήνιο, θείο, ιώδιο και σε ακραίες περιπτώσεις πιθανά να επιμολύνεται και με ακόμη πιο επικίνδυνά όπως το αρσενικό και το κυάνιο. Λόγω της αυξανόμενης περιβαλλοντικής ρύπανσης είναι απαραίτητος ο προσδιορισμός και η παρακολούθηση των επιπέδων των βαρέων μετάλλων στο γάλα, γιατί μπορούν να

επιηρεάσουν σημαντικά ανθρώπινη υγεία (Nasr, Sallam A., & Abd El-Khair, 2007; Belete, Hussien, & Maheswara Rao, 2014).

2.11. Παράγοντες που επηρεάζουν την χημική σύσταση του γάλακτος

Η διακύμανση της σύστασης του γάλακτος δεν είναι γνωστή σε όλο το εύρος της, αν και έχουν πραγματοποιηθεί πολλές μελέτες γύρω από αυτό το θέμα. Η σύνθεση του γάλακτος διαφέρει από ζώο σε ζώο ή ακόμα και στο ίδιο το ζώο. Αυτό συμβαίνει διότι η χημική σύσταση του γάλακτος επηρεάζονται από πολλούς παράγοντες όπως η τροφή που λαμβάνει το κάθε ζώο ή η ώρα του αρμέγματος. Στις αγελάδες για παράδειγμα, το πρωινό γάλα έχει μεγαλύτερο ποσοστό λίπους από εκείνο που αρμέγεται το βράδυ. Οι κύριοι παράγοντες που επηρεάζουν ποσοτικά ή ποιοτικά τα συστατικά του γάλακτος είναι οι εξής:

- Το είδος και η φυλή του ζώου.
- Το κληρονομικό δυναμικό του ζώου.
- Ο αριθμός των αμέλξεων ανά εικοσιτετράωρο.
- Η περίοδος της ημέρας (πρωί ή απόγευμα).
- Η σωματική κατάσταση του ζώου (κυρίως κατά τον χρόνο του τοκετού).
- Η διάρκεια της ξηρής περιόδου.
- Η συχνότητα των τοκετών.
- Ο οργανισμός.
- Η ηλικία του ζώου.
- Η κόπωση των ζώων και η συμπεριφορά του ανθρώπου σε αυτά.
- Η υγιεινή κατάσταση του ζώου.
- Οι συνθήκες διατροφής.
- Το στάδιο της γαλακτικής περιόδου.
- Η θερμοκρασία περιβάλλοντος.
- Ο τρόπος άμελης (Κεχαγιάς, 1997).

Κεφάλαιο 3: Μαστίτιδα

Η μαστίτιδα είναι μια φλεγμονή του μαστικού αδένου, η πιο συχνή, που συνήθως προκαλείται από βακτηριακή μόλυνση. Τα ζώα αισθάνονται να έχουν μειωμένη όρεξη, κατάπτωση και αδυναμία και ο μαστός τους εμφανίζει χαρακτηριστικά φλεγμονής (ερυθρότητα, διόγκωση,

πόνο). Η μαστίτιδα έχει ως αποτέλεσμα άμεσες και έμμεσες οικονομικές απώλειες για τη βιομηχανία. Αυτό οφείλεται στο αυξημένο κόστος που δημιουργείται για την συντήρηση ζώων με χρόνια μαστίτιδα. Το οικονομικό αντίκτυπο της μαστίτιδας οφείλεται επίσης στην ανάγκη πρόωρης σφαγής των προβατίνων και αιγών λόγω απώλειας της λειτουργίας του μαστικού αδένου, στα έξοδα αντικατάστασης των ζώων που σφάζονται πρόωρα, στις κτηνιατρικές δαπάνες, την μειωμένη γαλακτοπαραγωγή, την υποβάθμιση της ποιότητας του γάλατος και την απόρριψη γάλακτος ακατάλληλου για ανθρώπινη κατανάλωση (Cooper, Huntley, Crump, Lovatt, & Green, 2016).

3.1 Παράγοντες που μπορούν να προκαλέσουν μαστίτιδα

Οι παράγοντες που μπορεί να προκαλέσουν μαστίτιδα, μπορεί να είναι περιβαλλοντικοί, γενετικοί, διατροφικοί, νοσολογικοί κ.α. Αρχικά, το περιβάλλον όπου ζουν τα ζώα είναι από τους βασικότερους παράγοντες που μπορούν να συμβάλλουν στην εμφάνιση της μαστίτιδας και αυτό συμβαίνει διότι μπορεί να υπάρξει αλληλεπίδραση με παθογόνους μικροοργανισμούς. Η επιμόλυνση από έντομα είναι συχνή όταν διάφορα έντομα μεταδίδουν βακτήρια από παρασιτισμό σε θηλές ασθενών ζώων. Επιπλέον, οι μαστιτικοί αδένες των ζώων μπορούν να μολυνθούν από τα κόπρανα άλλων με εντεροβακτήρια (*Escherichia coli*, *Streptococcus dysgalactiae* και *Streptococcus uberis*).

Επιπλέον, στο κάθε ζώο μπορεί να αυξηθεί ο κίνδυνος εμφάνισης μαστίτιδας όταν παρατηρείται υψηλή γαλακτοπαραγωγή ή όταν μπορεί να έχει προκληθεί κάποιος τραυματισμός ή όταν γενικότερα μπορεί να μην είναι καλή η διαμόρφωση του μαστού. Οι αμελκτικές μηχανές ακόμη και αν βρίσκονται σε καλή λειτουργική κατάσταση, είναι δυνατόν να προκαλέσουν πληγές. Αυτές οι πληγές, μπορούν να οδηγήσουν σε καταστροφές των ιστών και να δημιουργήσουν φλεγμονές στον μαστό. Σαφώς, η εμφάνιση μαστίτιδας εξαρτάται και από την ηλικία του ζώου ή από το στάδιο γαλακτοπαραγωγή (σε ξηρά περίοδο ή στην αρχή της γαλακτοπαραγωγής παρατηρείται αύξηση της εμφάνισης της μαστίτιδας).

Πολύ σημαντικός παράγοντας επίσης, για την εμφάνιση της μαστίτιδας θεωρείται η ελλιπής απολύμανση των ανθρώπων που αρμέγουν τα ζώα ή των αρμεκτικών μηχανών, διότι μπορεί να γίνει επιμόλυνση από παθογόνους μικροοργανισμούς από αγελάδα σε

αγελάδα κατά τη διάρκεια του αρμέγματος (Pagona, 2010). Αν διατηρηθεί η σωστή αρμεκτική πρακτική, έχει αποδειχτεί ότι μπορεί να περιοριστεί η εμφάνιση της μαστίτιδας.

Τέλος, η διατροφή των ζώων θεωρείται σημαντική καθώς η κατανάλωση μη κατάλληλων ζωοτροφών προδιαθέτει την μαστίτιδα. Οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται πρέπει να είναι καλής ποιότητας και η διατροφή να καλύπτει τις θρεπτικές ανάγκες των ζώων σε κάθε στάδιο της ζωής τους. Στην Ιταλία σε έρευνα που έγινε για την μαστίτιδα γαλακτοπαραγωγών ζώων, έδειξε ότι το σελήνιο και η βιταμίνη E μείωσε την συχνότητα εμφάνισης μαστίτιδας (Galanidis, Petridou, & Filioussis, 2008).

3.2 Ταξινόμηση τύπων μαστίτιδας

Η μαστίτιδα ανάλογα με τη σοβαρότητα, τη διάρκεια, τη φύση του εξιδρώματος και την κύρια αιτία πρόκλησης της, μπορεί να ταξινομηθεί σε διάφορους τύπους, με σκοπό την συστηματική καταπολέμηση της οι οποίοι είναι:

- Οξεία και χρόνια.
- Κλινική (εμφανής) και υποκλινική (κρυφή).
- Μολυσματική και μη μολυσματική.

Η κλινική μαστίτιδα μπορεί να συμβεί ανά πάσα στιγμή κατά την γαλουχία ή την ξηρή περίοδο, είναι πιο συχνά μολυσματική και ταξινομήθηκε, ανάλογα με τη σοβαρότητά της, την ταχύτητα έναρξης και τη διάρκειά της, σε υπεροξεία, οξεία, υποξεία και χρόνια (Du Preez, 2000). Χαρακτηρίζεται από φυσικοχημικές και συνήθως βακτηριολογικές αλλαγές στο γάλα όπως η παρουσία αίματος, νερού, πύον που περιέχει θρόμβους που αποτελούνται από ινώδες και κυτταρικά υπολείμματα και από παθολογικές αλλαγές στον αδενικό ιστό του μαστού, π.χ. στη χρόνια μορφή υπάρχει προοδευτική ίνωση που οδηγεί σε μεγέθυνση και ασυμμετρία του αδένου και έτσι εμφανίζονται εξογκώματα ή οζίδια. Επιπλέον, ένα μέρος του αδένου μπορεί να γίνει τελικά ατροφικός (Fagiolo & Lai, 2007).

Η υπεροξεία μορφή μπορεί να παρατηρηθεί περίπου 2 με 4 εβδομάδες μετά τον τοκετό. Το ζώο παρουσιάζει κόπωση, ανορεξία και πυρετό και διόγκωση του μαστικού αδένου και αρνούνται να ταΐσουν τα μικρά τους ή να αρμεχτούν. Στο γάλα τους, κατά την άμλεξη μπορεί να περιέχεται αίμα και είναι ιδιαίτερα αραιό.

Η κλινική οξεία μαστίτιδα ξεκινά ξαφνικά, συνήθως συνοδεύεται από συστηματικές επιδράσεις όπως πρήξιμο, πυρετός, ανορεξία, αφυδάτωση, μείωση και αλλοιώσεις στην παραγωγή του γάλακτος. Η υποξεία και η χρόνια μαστίτιδα χαρακτηρίζονται κυρίως από έλλειψη συμπτωματολογίας, αλλοιώσεις του γάλακτος ή μη παραγωγή γάλακτος για την κάθε μία αντιστοίχως.

Η υποκλινική μαστίτιδα η οποία είναι συχνότερη σε ζώα μεγαλύτερης ηλικίας (άνω των ετών), χαρακτηρίζεται από φυσιολογική εμφάνιση των αδένων και του γάλακτος και από αύξηση του πληθυσμού των σωματικών κυττάρων. Λόγω αυτού, η διάγνωσή της καθίσταται δύσκολη και κατά συνέπεια οι αλλοιώσεις που προκαλούνται, ανιχνεύονται μόνο με τη χρήση δοκιμών προ-συμπτωματικού ελέγχου, όπως η ανίχνευση βακτηριακού παράγοντα (Fagiolo & Lai, 2007). Ο κίνδυνος για την ύπαρξη αυτού του είδους μαστίτιδας είναι ότι η διάγνωση της είναι δύσκολη καθώς τα ζώα που έχουν προσβληθεί από αυτή δεν εκκρίνουν γάλα με οπτικές αλλοιώσεις.

Στα θηλάζοντα πρόβατα, οι κλινικές περιπτώσεις μαστίτιδας έχουν αναφερθεί ότι κορυφώνονται την πρώτη εβδομάδα μετά τον τοκετό. Στις αγελάδες γαλακτοπαραγωγής, η μέγιστη συχνότητα εμφάνισης κλινικής μαστίτιδας είναι επίσης την πρώτη εβδομάδα της γαλουχίας (Riekerink, Barkema, Kelton, & Scholl, 2008). Μια εξήγηση για αυτό είναι ότι υπάρχει προϋπάρχουσα βακτηριακή λοίμωξη στον μαστικό αδένα που εξελίσσεται σε κλινική ασθένεια μετά την έναρξη της γαλουχίας (Bradley & Green, 2000). Εναλλακτικά, νέες βακτηριακές λοιμώξεις μπορεί να εμφανιστούν την πρώτη εβδομάδα του θηλασμού λόγω του ανοίγματος του στομίου της θηλής και μόλυνσης από το περιβάλλον ή από τα ζώα που θηλάζουν και μεταφέρουν τα βακτήρια μεταξύ των προβάτων (διασταυρούμενη επιμόλυνση). Σε έρευνα των Cooper et. al. έχει φανεί ότι η μέση συχνότητα εμφάνισης κλινικής μαστίτιδας ήταν 1,2/100 προβατίνες/έτος σε 372 τυχαία επιλεγμένα κοπάδια προβάτων στην Αγγλία (Cooper, Huntley, Crump, Lovatt, & Green, 2016).



Εικόνα 5. Υποκλινική μαστίτιδα



Εικόνα 6. Υπεροξεία μαστίτιδα



Εικόνα 7. Μαστίτιδα σε αγελάδα

3.2.1 Μαστικές πληγές από βακτήρια

Τα πιο συχνά παθογόνα βακτήρια που προκαλούν την μαστίτιδα είναι ο *Staphylococcus aureus*, η *Escherichia coli*, ο *Streptococcus uberis* (Riekerink, Barkema, Kelton, & Scholl, 2008). Ο *Staphylococcus aureus* θεωρείται ότι ευθύνεται για τις οξείες μαστίδες και μπορεί να θεραπευθεί εύκολα στο αρχικό στάδιο της ασθένειας, αν δεν περάσει στους ιστούς του ζώου. Οι μικροοργανισμοί όπως η *E.coli* βρίσκονται στο νερό, στις ζωοτροφές, και γενικότερα στο περιβάλλον όπου ζουν τα ζώα οπότε είναι δύσκολο να εξαλειφθούν.

Τα βακτήρια αυτά αναπαράγονται στο μαστό λόγω των ευνοϊκών γι' αυτά συνθηκών (θερμοκρασία, θρεπτικό υπόστρωμα). Δεν αρκεί μόνο να αναπαραχθούν και να πολλαπλασιαστούν οι παθογόνοι μικροοργανισμοί για να προκαλέσουν φλεγμονή. Εισέρχονται στον οργανισμό του ζώου κυρίως από την θηλή κατά το άρμεγμα. Η διαφορά πίεσης που δημιουργείται εσωτερικά και εξωτερικά του μαστού μέσω την διαδικασίας του αρμέγματος συμβάλλει στην είσοδο των παθογόνων μικροοργανισμών. Επίσης σπανιότερα ενδέχεται να εισχωρήσουν και από τραύματα που πιθανώς να έχουν τα ζώα. Δεν αρκεί μόνο να αναπαραχθούν και να πολλαπλασιαστούν οι παθογόνοι μικροοργανισμοί για να προκαλέσουν φλεγμονή. Μόλις αυτά εισέλθουν και αρχίσουν να πολλαπλασιάζονται και να παράγουν τοξίνες καταστρέφουν τον ιστό του μαστού και έτσι αρχίζει να εκδηλώνεται η ασθένεια. Ο οργανισμός του ζώου αρχίζει να παράγει λευκά αιμοσφαίρια με σκοπό να καταπολεμήσει τα παθογόνα βακτήρια. Αυτό όμως έχει ως συνέπεια να μεταφέρεται μέρος αυτών στο γάλα. Επίσης, γάλα που προέρχεται από μαστούς ζώων που έχουν προσβληθεί από παθογόνα βακτήρια αλλοιώνει την ποιότητα και ασφάλεια του καθώς θεωρείται ιδιαίτερα επιβαρυνμένο μικροβιακά και παρουσιάζει προβλήματα στην θανάτωση τους κατά την θερμική επεξεργασία, καθώς αυξημένος αριθμός μικροβιακού φορτίου πριν την παστερίωση, δεν μπορεί να μειώσει σε ασφαλή επίπεδα τον πληθυσμό των παθογόνων μικροοργανισμών.

Τα σημαντικότερα βακτήρια που είναι υπεύθυνα για τις μολύνσεις του μαστού είναι οι στρεπτόκοκκοι, σταφυλόκοκκοι, μικρόκοκκοι, τα κολοβακτηρίδια και τα πυογόνα βακτήρια. Ποσοστό μεγαλύτερο από το 90% των μαστικών μολύνσεων, προκαλείται από του στρεπτόκοκκους, σταφυλόκοκκους και μικρόκοκκους (κόκκους θετικούς κατά Gram). Ο *S. agalactiae* επιβιώνει μόνο στους μαστούς των αγελάδων. Τα υπόλοιπα υπάρχουν έξω από το μαστό, όπως στο δέρμα της θηλής, σε πυορρούσες πληγές, στην βλέννα των διαφόρων

οργάνων. Τα κολοβακτηρίδια κατοικούν στο έντερο και μπορούν να επιμολύνουν τον μαστό με την αποβολή κοπράνων και ούρων.

3.2.2 Μαστίτιδες που προκαλούνται από μύκητες

Οι μύκητες μπορούν να επηρεάσουν την ποιότητα και την διάρκεια ζωής του γάλακτος. Η πλειοψηφία των ζυμών και των μυκήτων του γάλακτος προέρχονται από ζώα που πάσχουν από μαστίτιδα. Για το λόγο αυτό, υπάρχει μεγάλη ανάγκη για διενέργεια μυκητολογικού ελέγχου, για την σωστή διάγνωση και παρακολούθηση των περιπτώσεων μαστίτιδας στα ζώα από μύκητες. Η μόλυνση του γάλακτος από παθογόνους μύκητες ενδέχεται να αποτελούν κίνδυνο για τους καταναλωτές όταν καταναλώνονται ωμοί ή ακόμη και σε επεξεργασμένη μορφή (Spanamberg, et al., 2014). Η μαστίτιδα μπορεί να προκληθεί από μόλυνση από ζύμες, η οποία φαίνεται να σχετίζεται με την συχνή χρήση πενικιλίνης όταν χρησιμοποιείται για παρατεταμένες και επαναλαμβανόμενες ενδομαστικές εγχύσεις (Ali Mohammed Hasan & Nabhan Yassein, 2018). Σε σπάνιες περιπτώσεις, οι ζύμες και οι μούχλες μπορούν να προκαλέσουν μαστίτιδα αγελάδες, ειδικά μετά από παρατεταμένη χρήση αντιβιοτικών (Gulbe & Valdovska, 2014).

Σε έρευνά του ο Al-Kubaysi ανέφερε παρουσία *Candida albicans*, σε υποκλινική μαστίτιδα σε προβατίνες, σε 4 από τα 19 απομονωμένα δείγματα και ο Sahan σε 32,5% των απομονωμένων ζυμών σε βοδινή μαστίτιδα (Al.Kubaysi, 2008; Sahan, 2011). Ο Aziz βρήκε ότι το 25% των *Candida spp.*, τα οποία αποτελούν το 22,48% του συνολικού απομονωμένου δείγματος τους σε βοοειδή (Aziz, 2012). Στην έρευνα των Karrar et. al., κατά πάσα πιθανότητα, η υψηλή παρουσία των απομονωμένων δειγμάτων *Candida spp.* προέκυψε λόγω της παρατεταμένης επίδρασης αντιβακτηριακών όπως η πενικιλίνη (Ali Mohammed Hasan & Nabhan Yassein, 2018). Τα αντιβιοτικά μπορούν να αναστείλουν τη φυσιολογική μικροχλωρίδα, ενισχύοντας τα καιροσκοπικά είδη *Candida spp.* Τα αντιβιοτικά μπορούν να επιμολυνθούν με μύκητες και να προάγουν την ανάπτυξη αυτών (Seyedmousavi, et al., 2018). Άρα, λόγω της αντιμετώπισης των βακτηρίων που προκαλούν φλεγμονές στο μαστό με αντιβιοτικά, η συχνότητα των μολύνσεων από μύκητες είναι αυξημένη.

3.2.3 Μαστίτιδες που προκαλούνται από τον συνδυασμό μολύνσεων και τραυμάτων

Η ανάπτυξη της μαστίτιδας, όπως έχει ήδη προαναφερθεί, μπορεί να προκληθεί είτε από μόλυνση, είτε από κάποιο τραυματισμό. Σε περιπτώσεις συνδυασμού τραυματικών και μολυσματικών πληγών υπάρχει μεγαλύτερη πιθανότητα εμφάνισης της μαστίτιδας. Όταν υπάρχουν ήδη πληγές στο μαστό του ζώου τα βακτήρια περνούν πιο εύκολα στο εσωτερικό του οργανισμού του ζώου και εγκαθίστανται στο εσωτερικό του μαστού. Έχει αποδειχθεί ότι οι μαστίτιδες σε ζώα με τραυματισμένο το εξωτερικό άκρο των θηλών, μπορούν να εμφανιστούν έως και 10 φορές πιο συχνά.

3.3 Μέτρα υγιεινής

Όπως έχει ήδη προαναφερθεί, η εμφάνιση της μαστίτιδας μπορεί να μειωθεί και με την τήρηση των παρακάτω μέτρων υγιεινής:

- Η θηλή πρέπει να απολυμαίνεται μετά από κάθε άμελξη.
- Στα ζώα πρέπει να γίνεται αντιβιοτική θεραπεία στο τέλος της γαλακτικής περιόδου.
- Πρέπει να εξετάζεται το πρώτο γάλα που βγαίνει από την θηλή σε κάθε άρμεγμα.
- Έγκαιρη διάγνωση και θεραπεία της μαστίτιδας.
- Έλεγχος των αμελκτικών μηχανών και απολύμανση τους.
- Διατήρηση του χώρου όπου ζουν και κινούνται τα ζώα καθαρού.
- Προσωπική υγιεινή και απολύμανση του αμελκτή.

Μεταξύ των διαδικασιών για την πρόληψη της μαστίτιδας, είναι σκόπιμο να δοθεί ιδιαίτερη προσοχή κατά την ξηρή περίοδο, όταν οι αγελάδες είναι πιο ευαίσθητες στα παθογόνα βακτήρια που προκαλούν μαστίτιδα και στα περιβαλλοντικά βακτήρια. Επιπλέον, κατά τη διάρκεια της γαλουχίας, πρέπει να γίνεται απολύμανση μετά το άρμεγμα και να μην υπάρχει συνωστισμός και κακή υγιεινή στο χώρο όπου ζουν οι αγελάδες. Για το σκοπό αυτό πρέπει να γίνεται ορθή εκπαίδευση των κτηνοτρόφων σχετικά με την υγιεινή και τις σωστές πρακτικές διαχείρισης των ζώων.

Τέλος, είναι σημαντικό να γίνεται περιοδικός έλεγχος του κοπαδιού με βακτηριολογική εξέταση, προκειμένου να πραγματοποιείται σωστή και έγκαιρη αντιμετώπιση της μαστίτιδας (Fagiolo & Lai, 2007).

3.4 Συνέπειες μαστίτιδας

Κάποιες από τις βασικές συνέπειες τις μαστίτιδας είναι οι εξής:

- Αύξηση του αριθμού σωματικών κυττάρων στο γάλα.
- Πρωτόγαλο που μπορεί να είναι αραιωμένο ή να περιέχει αίμα .
- Μείωση γαλακτοπαραγωγής των γαλακτοφόρων ζώων (Fetrow, 2000).
- Γαλακτοφόρα ζώα με δυσκολία να ταΐσουν μέσω θηλασμού να νεογνά τους.
- Οικονομικό αντίκτυπο για την φροντίδα και των άρρωστων ζώων (αντιβιοτικά, κτηνίατροι) (Ruegg, 2003).
- Κίνδυνος λόγω υπολειμμάτων αντιβιοτικών (Fetrow, 2000).
- Οικονομικές απώλειες λόγω μαστίτιδας σημειώνονται για ζώα που παρουσιάζουν τόσο υποκλινική όσο και κλινική ασθένεια (Ruegg, 2003).
- Σφαγή γαλακτοπαραγωγών ζώων με χρόνια μαστίτιδα εξαιτίας της καταστροφής μέρους του μαστικού αδένου.
- Μείωση της ποιότητας και αλλαγές στη σύσταση του γάλακτος.

Η μείωση της γαλακτοπαραγωγής προκύπτει λόγω του ότι ο μαστός του ζώου δεν μπορεί να παράξει γάλα επειδή έχει μολυνθεί. Η μείωση αυτή, γίνεται καλύτερα αντιληπτή με το άρμεγμα με το χέρι. Με την χρήση αλμεκτικής μηχανής είναι δυσκολότερο να υπολογιστεί το μέγεθος των απωλειών.

Η χρήση αυξημένων ποσοτήτων αντιβιοτικών, για την αντιμετώπιση της μαστίτιδας, έχει ως αποτέλεσμα αυξημένα κατάλοιπα αντιβιοτικών στο παραγόμενο γάλα.

Όσον αφορά την αύξηση των σωματικών κυττάρων στο γάλα που προέρχεται από ζώο που έχει μαστίτιδα, μέσω της δοκιμής Schalm, είναι δυνατόν να διαπιστωθεί πολύ εύκολα αυτή η αύξηση. Τα σημαντικότερα κύτταρα που υπάρχουν στο γάλα είναι τα λευκά αιμοσφαίρια και τα επιθηλιακά κύτταρα. Τα λευκοκύτταρα αυξάνονται λόγω της μαστίτιδας, οπότε η δοκιμή Schalm δίνει θετικό αποτέλεσμα. Σε περιπτώσεις που αφορούν πρωτόγαλα ή γάλα από αγελάδες που έχουν καιρό να γεννήσουν, η αύξηση των κυττάρων αυτών

θεωρείται φυσιολογική και είναι υπεύθυνη για το θετικό αποτέλεσμα της δοκιμής του Schalm (Duarte, Freitas, & Bexiga, 2015).

Η μαστίτιδα αλλοιώνει την όψη, την γεύση, την οσμή και την σύσταση του γάλακτος λόγω της φλεγμονώδους απόκρισης (Duarte, Freitas, & Bexiga, 2015). Η περιεκτικότητα του λίπους, της λακτόζης και των πρωτεϊνών μειώνεται, σε αντίθεση με την περιεκτικότητα των μη επιθυμητών συστατικών όπως του χλωριούχου νατρίου και του ορού αίματος που αυξάνεται. Η λακτόζη μειώνεται κατά 5-20%, η συνολική περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες ελαττώνεται ελαφρά επειδή αυξάνεται ο αριθμός των υδατοδιαλυτών πρωτεϊνών, ενώ προκαλείται μείωση και των καζεϊνών κατά 6-18%. Παρατηρείται σημαντική αύξηση στα χλωριούχα άλατα και το pH μπορεί να φτάσει έως το 7,0. Κατά την θερμική επεξεργασία, το μαστιτικό γάλα πήζει, και έτσι οι ποσότητες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παρασκευή τυριού, είναι μικρότερες. Όπως έχει ήδη αναφερθεί και παραπάνω, σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να εμφανίζονται ιζήματα ή πυοσφαιρία και σε περιπτώσεις χρόνιας μαστίτιδας το γάλα μπορεί να έχει υδαρή όψη και να περιέχει ποσότητες πυοσφαιρίων.

3.5 Πρόληψη μαστίτιδας

Για την αποφυγή της αύξησης της εμφάνισης της μαστίτιδας των γαλακτοφόρων ζώων, θα πρέπει να λαμβάνονται τα παρακάτω μέτρα πρόληψης:

- Θα πρέπει όσα ζώα έχουν εμφανίσει σημασία μαστίτιδας να διαχωρίζονται από το υπόλοιπο κοπάδι για την αποφυγή επιμολύνσεων και να τους χορηγούνται αντιβιοτικά ώστε να αναρρώσουν άμεσα.
- Η διατροφή των ζώων θα πρέπει να είναι κατάλληλη
- Απολύμανση και καθαρισμός του στάβλου και των μηχανημάτων που χρησιμοποιούνται κατά το άρμεγμα
- Φροντίδα των ζώων και ορθή λειτουργία των αρμεκτικών μηχανημάτων
- Προετοιμασία του μαστού πριν από κάθε άρμεγμα ώστε να αποφεύγονται οι τραυματισμοί του μαστού

3.6 Προσδιορισμός και διάγνωση της μαστίτιδας

Η μαστίτιδα των βοοειδών αποτελεί οικονομική επιβάρυνση για τους γαλακτοπαραγωγούς και τα μέτρα προληπτικού ελέγχου είναι ζωτικής σημασίας για τη βιωσιμότητα κάθε γαλακτοκομικής επιχείρησης. Ο προσδιορισμός των αιτιολογικών παραγόντων είναι απαραίτητος για τον έλεγχο της νόσου, τη μείωση του κινδύνου χρόνιων λοιμώξεων και τη στόχευση της αντιμικροβιακής θεραπείας. Η καταλληλότητα μιας μεθόδου ανίχνευσης για τη διάγνωση εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως η εξειδίκευση- ευαισθησία, το κόστος, ο χρόνος εξαγωγής των αποτελεσμάτων αλλά και η δυνατότητα δειγματοληψίας σε μεγάλη βιομηχανική κλίμακα.

Υπάρχουν πολλοί τρόποι για τη διάγνωση της μαστίτιδας, οι οποίοι βασίζονται σε αλλαγές στα συστατικά του γάλακτος, όπως ο αριθμός των σωματικών κυττάρων, η περιεκτικότητα σε χλώριο, η ηλεκτρική αγωγιμότητα, το pH κ.λπ.

Η μέτρηση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας είναι η πιο διαδεδομένη μέθοδος αυτοματοποιημένης ανίχνευσης μαστίτιδας. Μια από τις επιδράσεις της μαστίτιδας είναι οι αλλαγές στις συγκεντρώσεις ιόντων και άρα τροποποιήσεις στην ηλεκτρική αγωγιμότητα του γάλακτος. Η ηλεκτρική αγωγιμότητα μπορεί να μετρηθεί με την αύξηση της αγωγιμότητας του γάλακτος που προκαλείται από την αύξηση των επιπέδων νατρίου, καλίου, ασβεστίου, μαγνησίου και χλωρίου. Αν και η αλλαγή της αγωγιμότητας του γάλακτος μπορεί να είναι χρήσιμη για την ανίχνευση της μαστίτιδας, δεν αποτελεί αξιόπιστη ή ευαίσθητη παράμετρο από μόνη της, λόγω του μεγάλου αριθμού ψευδώς θετικών δειγμάτων (Duarte, Freitas, & Bexiga, 2015).

Επιπλέον, ο αριθμός των σωματικών κυττάρων χρησιμοποιείται εδώ και δεκαετίες για τη διάγνωση της υποκλινικής μαστίτιδας και αποτελεί σημαντική παράμετρο για τη γαλακτοβιομηχανία. Τα λευκοκύτταρα, τα μονοκύτταρα και τα λεμφοκύτταρα, μαζί με τα ουδετερόφιλα, είναι συχνά τα μόνα κύτταρα που λαμβάνονται υπόψη. Τα κύτταρα αυτά, δεν συσχετίζονται πάντα με τη μόλυνση του μαστού και μπορεί να επηρεάζονται από άλλους παράγοντες (π.χ. αριθμός γαλουχίας, στάδιο της γαλουχίας, του επιπέδου παραγωγής γάλακτος, του στρες, της εποχής και της φυλής). Ένας υψηλός δείκτης σωματικών κυττάρων συνδέεται με την υποβάθμιση της ποιότητας του γάλακτος που παράγεται λόγω της έντονης παρουσίας φλεγμονωδών κυττάρων (Duarte, Freitas, & Bexiga, 2015).

Η μέθοδος με το μικροσκόπιο είναι η προτεινόμενη μέθοδος της Διεθνούς Ομοσπονδίας Γάλακτος. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στη χρώση του πυρήνα των σωματικών κυττάρων με κυανού του μεθυλενίου και στην μετέπειτα καταμέτρησή τους με το μικροσκόπιο. Η μέθοδος αυτή απαιτεί μεγάλη εμπειρία για την έκδοση αποτελεσμάτων και αρκετό χρόνο.

Ακόμη, προτείνεται η αυτοματοποιημένη και ταχεία φθορισμο-οπτικό-ηλεκτρική μέθοδος, αρχή της οποίας είναι η χρώση του DNA του πυρήνα των κυττάρων σε υπεριώδες φως με φθορίζουσα χρωστική (βρωμιούχο αιθύλιο). Για την μέθοδο αυτή γίνεται χρήση σύγχρονων συσκευών, όπως είναι η συσκευή Fossomatic, και εφαρμόζεται από μεγάλες βιομηχανίες. Η συσκευή αυτή έχει απόδοση 180 δείγματα/h, αλλά σε επίπεδο εκτροφής και σε μικρές μονάδες μεταποίησης γάλακτος γίνεται εφαρμογή μιας άλλης τεχνικής που ονομάζεται δοκιμή της Καλιφόρνιας (Gonzalo, Martinez, Carriedo, & Primitivi, 2003).

Το τεστ μαστίτιδας Καλιφόρνια (California Mastitis Test –CMT) είναι μια κοινή έμμεση μέθοδος για τη μέτρηση των σωματικών κυττάρων. Η δοκιμή πραγματοποιείται με την προσθήκη απορρυπαντικού σε ένα δείγμα γάλακτος με υψηλό αριθμό κυττάρων, το οποίο προάγει τη λύση των κυττάρων, την απελευθέρωση νουκλεϊκού οξέος και το σχηματισμό μιας μήτρας που μοιάζει με γέλη. Όταν ο αριθμός των κυττάρων είναι πάνω από ένα ορισμένο όριο, το αποτέλεσμα ερμηνεύεται με βάση το ιξώδες και έτσι υπάρχει πιθανότητα ψευδώς θετικών δειγμάτων. Έχει αναφερθεί ότι η δοκιμή της California (ή δοκιμή Schalm) παρουσιάζει ευαισθησία 66,7% και πιο συγκεκριμένα όταν πρόκειται να χρησιμοποιηθεί σε αγελάδες έχει ευαισθησία 54,8%. Τα κύρια πλεονεκτήματά του είναι ότι είναι γρήγορο και φθινό (Duarte, Freitas, & Bexiga, 2015).

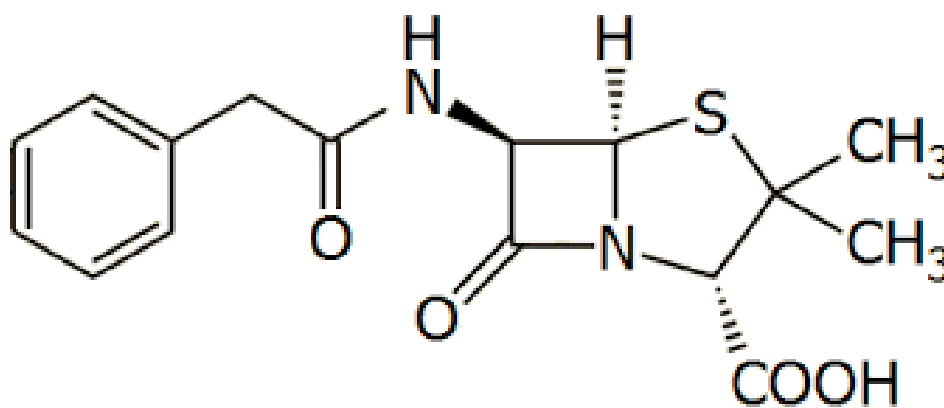
Η χρήση μοριακών μεθόδων στην ανίχνευση παθογόνων έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια. Συχνά, αυτές οι μέθοδοι χρησιμοποιούν τεχνολογία αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR). Ανιχνεύοντας την παρουσία ενός συγκεκριμένου βακτηριακού είδους, δηλαδή ένα μέρος του DNA αυτού του παθογόνου πολλαπλασιάζεται και στη συνέχεια αναλύεται. Για έναν αριθμό παθογόνων μαστίτιδας, έχουν περιγραφεί τεχνικές που βασίζονται στην PCR. Αυτές οι μέθοδοι απαιτούν πολλές εργατοώρες και είναι ακριβές για να γίνουν ξεχωριστές δοκιμές PCR για κάθε παθογόνο που μπορεί να προκαλέσει μαστίτιδα. Για το λόγο αυτό, παρουσιάζουν ενδιαφέρον και ιδιαίτερη ζήτηση οι πολλαπλές

(multiplex) δοκιμές PCR, στις οποίες μπορούν να εντοπιστούν πολλοί παθογόνοι ταυτόχρονα (Lam, Riekerink, Sampimon, & Smith, 2009).

Κεφάλαιο 4: Αντιβιοτικά

Τα αντιβιοτικά είναι φάρμακα που χρησιμοποιούνται για την πρόληψη και καταπολέμηση βακτηριακών λοιμώξεων. Χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, σε αυτά που μπορούν να αναστείλουν την ανάπτυξη των βακτηρίων και ονομάζονται βακτηριοστατικά και σε αυτά που μπορούν να θανατώσουν τα βακτήρια και ονομάζονται βακτηριολυτικά. Εκτός των βακτηρίων, τα αντιβιοτικά δρουν ενάντια και των μυκήτων και των παρασίτων αλλά δεν δρουν ενάντια των ιών.

Το 1909 ο Γερμανός γιατρός Paul Ehrlich εξέδωσε τις αντιμικροβιακές ιδιότητες της συνθετικής χημικής αρφαιναμίνης στη θεραπεία της σύφιλης. Ταυτόχρονα, επινόησε τους όρους «χημειοθεραπεία» και «μαγική σφαίρα» για να δικαιολογήσει το όραμά του να χρησιμοποιεί ειδικά προσαρμοσμένα χημικά για να στοχεύει σε παθογόνα μικρόβια χωρίς να βλάπτονται οι ξενιστές. Αργότερα το 1941, ο όρος «αντιβιοτικά» επινοήθηκε από τον μικροβιολόγο Selman A. Waksman. Καθιέρωσε επίσης την ιδέα του φιλτραρίσματος των δευτερογενών μεταβολιτών από μικρόβια που απομονώθηκαν από το χώμα (κυρίως ακτινομύκητες), για την αντιμικροβιακή τους δράση κατά των παθογόνων. Με αυτήν την πλατφόρμα, έγινε αργότερα ο εφευρέτης σε περίπου 20 νέες φυσικές ανασταλτικές ουσίες συμπεριλαμβανομένων της στρεπτομυκίνης, η οποία έγινε η πρώτη αποτελεσματική θεραπεία για τη φυματίωση. Ο Σκωτσέζος ερευνητής Alexander Fleming ανακάλυψε την αντιμικροβιακή δράση της φυσικής ουσίας «πενικιλίνη» από τον μύκητα *Penicillium notatum* το 1928. Μετά από την ανακάλυψη της πενικιλίνης άνοιξε ο δρόμος για την ανακάλυψη περίπου 20 αντιβιοτικών, συμπεριλαμβανομένων των β-λακταμών, των τετρακυκλινών, των αμινογλυκοσιδών, των μακρολιδίων, των πολυμυξινών και των γλυκοπεπτιδίων, τα οποία



Εικόνα 8: Συντακτικός τύπος Πενικιλίνης

βρίσκονται ακόμη και σήμερα σε κλινική χρήση (Prajapati, Kleinekathofer, & Winterhalter, 2021).

Τα αντιβιοτικά χρησιμοποιούνται στην βιομηχανία τροφίμων εδώ και πολλά χρόνια. Κάθε χρόνο, 63.151 ± 1.560 τόνοι αντιβιοτικών χρησιμοποιούνται στην κτηνοτροφία παγκοσμίως (Van Boeckel, et al., 2015). Όπως έχει ήδη αναφερθεί για την θεραπεία των αγελάδων από την μαστίτιδα χορηγούνται κατά την ξηρή περίοδο ενδομαστιτικά αντιβιοτικά. Οι καταναλωτές με την πάροδο των χρόνων ευαισθητοποιούνται όλο και περισσότερο σε θέματα ασφάλειας που αφορούν στα τρόφιμα όσον αφορά χημικούς και μικροβιολογικούς κινδύνους. Πολλές φορές η χρήση αντιβιοτικών στα ζώα μπορεί να οδηγήσει σε εμφάνιση υπολειμμάτων αυτών στο γάλα. Το γάλα θεωρείται από τον καταναλωτή φυσικό και «υγιεινό», και πολλές χώρες επιβάλλουν αυστηρές οικονομικές κυρώσεις σε αγρότες αλλά και σε κτηνίατρους που επιτρέπουν την κατανάλωση γάλακτος που εμφανίζει ανιχνεύσιμα επίπεδα αντιβιοτικών (Hillerton, Halley, Noaves, & Rose, 1999). Υπολείμματα αντιβιοτικών βρίσκονται κυρίως στο γάλα λόγω της αλόγιστης χρήσης τους για τη θεραπεία μολυσματικών ασθενειών των ζώων (Zhang, Ren, & Bao, 2009). Επιπλέον, ορισμένα αντιβιοτικά χρησιμοποιούνται ως πρόσθετα ζωοτροφών αδιακρίτως. μια άλλη πηγή υπολειμμάτων αντιβιοτικών στο γάλα, που είναι τελικά υπεύθυνη για πιθανή σημασία για τη δημόσια υγεία (Na lampang, Chongsunivatwong, & Kitikoon, 2007).

Η Ευρωπαϊκή Ένωση (ΕΕ) ορίζει τα υπολείμματα ως «φαρμακολογικά δραστικές ουσίες (είτε δραστικές ουσίες, δέκτες ή προϊόντα αποδόμησης) και τους μεταβολίτες τους που παραμένουν σε τρόφιμα που λαμβάνονται από ζώα στα οποία έχουν χορηγηθεί τα εν λόγω κτηνιατρικά φάρμακα (European Commission Council Directive, 2010). Μετά τη χορήγηση σε σώμα ζώου, τα περισσότερα από τα φάρμακα μεταβολίζονται με σκοπό την αποτοξίνωση και την απέκκριση. Γενικά, το μεγαλύτερο μέρος του μητρικού προϊόντος και οι μεταβολίτες του απεκκρίνονται στα ούρα και σε μικρότερο βαθμό με τα κόπρανα. Ωστόσο, μετά την απέκκριση, μέρος του φαρμάκου μπορεί να παραμείνει στο γάλα, τα αυγά και το κρέας για ορισμένο χρονικό διάστημα ως υπολείμματα.

Τα χορηγούμενα μητρικά αντιβιοτικά ή οι μεταβολίτες, τα οποία εναποτίθενται σε ζωικούς ιστούς και προορίζονται να χρησιμοποιηθούν για ανθρώπινη κατανάλωση, όπου

διαθέτουν συγκέντρωση μεγαλύτερη από το επιτρεπόμενο όριο, μετά από ορισμένο χρονικό διάστημα, είναι γνωστά ως υπολείμματα αντιβιοτικών (Nisha, 2008). Οι αναπτυσσόμενες χώρες διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο λόγω των υπολειμμάτων στο γάλα από τις ανεπτυγμένες. Οι κακές εγκαταστάσεις ανίχνευσης καθώς και η έλλειψη κατάλληλου συστήματος παρακολούθησης των υπολειμμάτων στα τρόφιμα λαμβάνοντας υπόψη τα μέγιστα όρια υπολειμμάτων (Maximum Residue Limits, MRLs) μπορεί να θεωρηθούν ζωτικής σημασίας αιτίες για υψηλότερο κίνδυνο υπολειμμάτων αντιβιοτικών που προέρχονται από το γάλα (Kebede, Zenebe, Disassa, & Tolosa, 2014).

Η χρήση αντιμικροβιακών σε φάρμακα που χρησιμοποιούνται σε ζώα μπορεί να επιταχύνει την εμφάνιση και τη διάδοση ανθεκτικών μικροοργανισμών και μπορεί να θέσει σε κίνδυνο την αποτελεσματική χρήση των ήδη περιορισμένου αριθμού υφιστάμενων αντιμικροβιακών για τη θεραπεία λοιμώξεων στον άνθρωπο. Επομένως, δεν θα πρέπει να επιτρέπεται η κατάχρηση αντιμικροβιακών. Αντιμικροβιακά φάρμακα δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται για λόγους προφύλαξης εκτός από σαφώς καθορισμένες περιπτώσεις για τη χορήγηση σε ένα μεμονωμένο ζώο ή σε περιορισμένο αριθμό ζώων, όταν ο κίνδυνος μόλυνσης είναι πολύ υψηλός ή οι συνέπειές του είναι πιθανόν να είναι σοβαρές. Αντιβιοτικά φάρμακα δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται για λόγους προφύλαξης, πλην εξαιρετικών περιπτώσεων μόνο για τη χορήγηση σε μεμονωμένο ζώο. Αντιμικροβιακά φάρμακα θα πρέπει να χρησιμοποιούνται για μεταφύλαξη μόνο όταν ο κίνδυνος εξάπλωσης μιας μόλυνσης ή λοιμώδους νόσου σε ομάδα ζώων είναι υψηλός και δεν υπάρχουν κατάλληλες εναλλακτικές λύσεις. Οι εν λόγω περιορισμοί θα επιτρέψουν τη μείωση της προφυλακτικής και μεταφυλακτικής χρήσης σε ζώα ώστε να αντιπροσωπεύουν μικρότερο ποσοστό της συνολικής χρήσης αντιμικροβιακών στα ζώα.

Η παρουσία αντιβιοτικών στο γάλα, μπορεί να προκαλέσει προβλήματα στην υγεία των καταναλωτών. Δεν έχουν οριστεί ακριβώς τα προβλήματα που μπορούν να προκληθούν στον άνθρωπο από τα αντιβιοτικά. Παρόλα αυτά, έχει αποδειχθεί ότι οι αλλεργίες είναι σίγουρα μία από τις αρνητικές επιδράσεις τους. Κάποιοι καταναλωτές, μπορεί να είναι ευαίσθητοι από την πρώτη επαφή, ενώ άλλοι μπορεί να χρειαστεί να έχουν περισσότερες από μία επαφές ώστε να εμφανίσουν αλλεργική αντίδραση. Οι αλλεργικές αντιδράσεις από υπολείμματα αντιβιοτικών μπορεί να ποικίλλουν ανάλογα το άτομο από ήπιου βαθμού λ.χ παροδικά εξανθήματα, παρατεταμένη κνίδωση έως πιο σοβαρού βαθμού, όπως σύντομο

ασθματικό επεισόδιο, ή ακόμη και θανάσιμο αναφυλακτικό σοκ (Welch, 1957). Τέλος, εκτός των προβλημάτων που μπορεί να προκαλέσει στην υγεία το μολυσμένο γάλα, μπορεί ακόμη και με μικρή περιεκτικότητα σε υπολείμματα αντιβιοτικών να δημιουργήσει προβλήματα στην παραγωγή ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων, επειδή τέτοιες ουσίες αναστέλλουν την ανάπτυξη των ωφέλιμων καλλιιεργειών ζύμωσης.

4.1 Μέγιστα όρια υπολειμμάτων αντιβιοτικών (Maximum Residue Limits, MRLs)

Το μέγιστο επίπεδο ή συγκέντρωση ενός φαρμάκου (αντιβιοτικού) ή χημικής ουσίας που θεωρείται μη επικίνδυνο και επιτρέπεται από τους ρυθμιστικούς φορείς μέσα ή πάνω σε τρόφιμα ή ζωοτροφές που προορίζονται να χρησιμοποιηθούν για κατανάλωση από ζώα ή ανθρώπους σε μια καθορισμένη χρονική στιγμή, είναι γνωστή ως MRL. Η μονάδα που χρησιμοποιείται για αυτήν τη μέγιστη επιτρεπόμενη συγκέντρωση είναι χιλιοστόγραμμα ανά κιλό στερεών προϊόντων (mg/kg) και χιλιοστόγραμμα ανά λίτρο για υγρά (mg/L) (Kebede, Zenebe, Disassa, & Tolosa, 2014).

Το γάλα και άλλα γαλακτοκομικά προϊόντα, που περιέχουν υπολείμματα φαρμάκων πέραν του MRL, προκαλούν σοβαρά προβλήματα υγείας στους καταναλωτές (Van den Meersche, et al., 2016). Αν και το γάλα καλής ποιότητας αλλά και τα παράγωγά του, αποτελούν πρωταρχική ανάγκη για τη διατήρηση της σωστής δημόσιας υγείας, η παρουσία υπολειμμάτων αντιβιοτικών σε αυτά τα τρόφιμα και η συνεχόμενη κατανάλωση τους μπορεί να προκαλέσουν πιθανές επιπτώσεις στην υγεία, όπως καρκίνο και αντίδραση υπερευαισθησίας μαζί με ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά (Hassan, et al., 2014). Οι συνέπειες αυτής της αντοχής είναι ακόμη πιο απειλητικές όταν τα αντιβιοτικά καθίστανται αναποτελεσματικά κλινικά. Η διατήρηση του κατάλληλου χρόνου απόσυρσης, που έχει καθοριστεί για το γάλα και άλλα προϊόντα διατροφής, μπορεί να λειτουργήσει ως ασφάλεια για την αντίσταση από τις επικίνδυνες επιπτώσεις των υπολειμμάτων αντιβιοτικών.

Σύμφωνα με το άρθρο 20 του Κανονισμού (ΕΕ) 2019/6 του Ευρωπαϊκού κοινοβουλίου και του συμβουλίου:

Η αρμόδια αρχή ή ο Οργανισμός, κατά περίπτωση, που εξετάζει την αίτηση μπορεί να ζητήσει από τον αιτούντα να προσκομίσει στο εργαστήριο αναφοράς της Ευρωπαϊκής Ένωσης, σε επίσημο εργαστήριο ελέγχου φαρμάκων ή σε εργαστήριο που έχει ορίσει για τον σκοπό αυτό ένα κράτος μέλος, δείγματα τα οποία είναι αναγκαία προκειμένου:

- να υποβάλει σε δοκιμές το κτηνιατρικό φάρμακο, τα αρχικά υλικά του και, αν χρειαστεί, τα ενδιάμεσα προϊόντα του ή άλλα συστατικά του για να διασφαλιστεί ότι οι μέθοδοι ελέγχου που ακολουθεί ο παρασκευαστής και οι οποίες περιγράφονται στα έγγραφα της αίτησης είναι ικανοποιητικές.
- να επαληθεύσει ότι, στην περίπτωση κτηνιατρικού φαρμάκου που προορίζεται για ζώα παραγωγής τροφίμων, η αναλυτική μέθοδος ανίχνευσης που προτείνεται από τον αιτούντα για τους σκοπούς των δοκιμών απομάκρυνσης καταλοίπων είναι ικανοποιητική και κατάλληλη για χρήση με στόχο την ανίχνευση της παρουσίας καταλοίπων, ιδίως σε επίπεδα που υπερβαίνουν το ανώτατο όριο καταλοίπων της φαρμακολογικά δραστικής ουσίας το οποίο έχει καθορισθεί από την Επιτροπή σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 470/2009 και για τους επίσημους ελέγχους ζώων και προϊόντων ζωικής προέλευσης σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΕ) 2017/625.

Ωστόσο, μπορεί να υπάρξουν περιπτώσεις όπου δεν υπάρχει διαθέσιμο κανένα κατάλληλο εγκεκριμένο κτηνιατρικό φάρμακο. Στις περιπτώσεις αυτές, κατ' εξαίρεση, οι κτηνίατροι θα πρέπει να έχουν τη δυνατότητα να συνταγογραφούν άλλα φάρμακα για τα ζώα που βρίσκονται υπό την ευθύνη τους σύμφωνα με αυστηρούς κανόνες και μόνο προς το συμφέρον της υγείας ή της καλής διαβίωσης των ζώων. Στην περίπτωση των ζώων παραγωγής τροφίμων, οι κτηνίατροι θα πρέπει να διασφαλίζουν ότι προβλέπεται κατάλληλος χρόνος αναμονής, ώστε να αποτρέπεται η είσοδος επιβλαβών καταλοίπων των εν λόγω φαρμάκων στην τροφική αλυσίδα, και ιδιαίτερη προσοχή θα πρέπει να δίδεται, κατά συνέπεια, στη χορήγηση αντιμικροβιακών.

4.2 Χρόνος Απαγόρευσης

Ο χρόνος απαγόρευσης (withdrawal time), ορίζεται ως ο χρόνος που απαιτείται μετά τη χορήγηση ενός φαρμάκου σε ζώο γαλακτοπαραγωγής, που απαιτείται για να διασφαλιστεί ότι τα υπολείμματα φαρμάκου στο εμπορεύσιμο γάλα είναι κάτω από ένα καθορισμένο μέγιστο όριο υπολειμμάτων (MRL). Αυτό συναντάται, επίσης σε κρέας, αυγά, όργανα ή άλλα βρώσιμα προϊόντα που διατίθενται στο εμπόριο. Ο χρόνος απαγόρευσης μπορεί να ποικίλλει σε μεγάλο βαθμό ανάλογα με τις χημικές και φυσικές ιδιότητες των φαρμάκων, αλλά και τον τρόπο χορήγησης (Beyene, 2016).

Σύμφωνα με το άρθρο 115 του Κανονισμού (ΕΕ) 2019/6 «χρόνος απαγόρευσης ή αναμονής» είναι η ελάχιστη περίοδος μεταξύ της τελευταίας χορήγησης ενός κτηνιατρικού φαρμάκου σε ένα ζώο και της παραγωγής τροφίμων από το εν λόγω ζώο η οποία, υπό

κανονικές συνθήκες χρήσης, είναι αναγκαία για να διασφαλιστεί ότι τα εν λόγω τρόφιμα δεν περιέχουν κατάλοιπα σε ποσότητες επιβλαβείς για τη δημόσια υγεία. Για γάλα από ζώα που παράγουν γάλα για ανθρώπινη κατανάλωση, ο χρόνος αναμονής δεν είναι μικρότερος από:

- τον μεγαλύτερο χρόνο αναμονής για το γάλα που προβλέπεται στην περίληψη των χαρακτηριστικών του προϊόντος για κάθε είδος ζώου πολλαπλασιασμένος επί 1,5.
- επτά ημέρες, εάν το φάρμακο δεν έχει εγκριθεί για ζώα που παράγουν γάλα για ανθρώπινη κατανάλωση.
- μία ημέρα, αν ο χρόνος αναμονής για το φάρμακο είναι μηδενικός.

Τα υπολείμματα αντιβιοτικών στο γάλα αποτελούν μια από τις κύριες ανησυχίες τα τελευταία χρόνια. Καθώς η πολιτική ελέγχου απαιτεί κατάλληλη προσέγγιση ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης των υπολειμμάτων στο γάλα, ένας μεγάλος αριθμός ερευνητικών εργασιών έχει δημοσιευθεί σε όλο τον κόσμο σε αυτό το πλαίσιο. Προηγουμένως, ορισμένες μικροβιολογικές δοκιμές όπως οι δοκιμές γάλακτος Delvotest® SP-NT και Coran® χρησιμοποιούνταν επίσημα. Αν και αυτές οι δοκιμές είναι φθηνές, γρήγορες και εύκολες στην εκτέλεση, χαρακτηρίζονται από έλλειψη κατάλληλα επίπεδα εκλεκτικότητας και ακρίβειας (Fei, et al., 2015). Από την άλλη πλευρά, οι χρωματογραφικές τεχνικές, είναι πιο ακριβείς με υψηλότερη εξειδίκευση, αλλά απαιτούν κατάλληλη προετοιμασία δειγμάτων, εξελιγμένα όργανα και καλά εκπαιδευμένο προσωπικό (Rossi, et al., 2018). Καθώς οι πιθανότητες ύπαρξης υπολειμμάτων αντιβιοτικών στο γάλα από πολλές κατηγορίες αντιβιοτικών αυξάνονται μέρα με τη μέρα, η ακριβής ανάλυση των υπολειμμάτων χρησιμοποιώντας μία καλά ανεπτυγμένη τεχνική με το ελάχιστο δυνατό κόστος είναι πάντα μια πρόκληση (Rossi, et al., 2018).

4.3 Απαγόρευση της διάθεσης κτηνιατρικών φαρμάκων

Σύμφωνα με το άρθρο 134 του Κανονισμού (ΕΕ) 2019/6 :

Σε περίπτωση κινδύνου για τη δημόσια υγεία ή την υγεία των ζώων ή το περιβάλλον, η αρμόδια αρχή ή, όταν πρόκειται για κτηνιατρικά φάρμακα που έχουν λάβει κεντρική άδεια, η Επιτροπή απαγορεύει τη διάθεση του κτηνιατρικού φαρμάκου και απαιτεί από τον κάτοχο της άδειας κυκλοφορίας ή τους προμηθευτές του να σταματήσουν την προμήθεια ή να ανακαλέσουν το κτηνιατρικό φάρμακο από την αγορά όταν παρατηρείται ένα από τα ακόλουθα:

- η σχέση οφέλους-κινδύνου του κτηνιατρικού φαρμάκου δεν είναι πλέον θετική.
- η ποιοτική ή ποσοτική σύνθεση του κτηνιατρικού φαρμάκου δεν είναι αυτή που δηλώνεται στην περίληψη των χαρακτηριστικών του προϊόντος η οποία αναφέρεται στο άρθρο 35.
- ο συνιστώμενος χρόνος αναμονής είναι ανεπαρκής για την κατοχύρωση της ασφάλειας των τροφίμων.
- δεν διενεργήθηκαν οι έλεγχοι που αναφέρονται στο άρθρο 127 παράγραφος 1.
- η εσφαλμένη επισήμανση ίσως οδηγεί σε σοβαρό κίνδυνο για την υγεία των ζώων ή τη δημόσια υγεία.

Οι αρμόδιες αρχές ή η Επιτροπή μπορούν να περιορίσουν την απαγόρευση της διάθεσης και την ανάκληση από την αγορά μόνο για τις παρτίδες παρασκευής του συγκεκριμένου κτηνιατρικού φαρμάκου που αποτελούν αντικείμενο αμφισβήτησης.

4.4 Κατηγορίες και μηχανισμοί δράσης αντιβιοτικών στο γάλα

Τα αντιβιοτικά χωρίζονται σε δύο ειδικότερες κατηγορίες ανάλογα με την δράση τους έναντι στα βακτήρια. Αυτές είναι τα βακτηριοστατικά αντιβιοτικά τα οποία αναστέλουν την ανάπτυξη των βακτηρίων και τα βακτηριολυτικά αντιβιοτικά τα οποία καταστρέφουν-θανατώνουν τα βακτήρια. Τις τελευταίες δύο δεκαετίες έρευνες έχουν δείξει ότι υπάρχουν οι παρακάτω ομάδες αντιβιοτικών στο γάλα (

Πίνακας 1) (Sachi, Ferdous, Sikder, & Hussani, 2019):

Πίνακας 1: Ταξινόμηση Αντιμικροβιακών Ουσιών

ΒΑΚΤΗΡΙΟΚΤΟΝΑ	ΒΑΚΤΗΡΙΟΣΤΑΤΙΚΑ
Πενικιλίνες	Μακρολίδια
Βανκομυκίνη	Χλωραμφαινικόλη
Κεφαλοσπορίνες	Τετρακυκλίνες
Κυκλοσερίνη	Λινκοσαμίδες
Αμινογλυκοσίδες	Σουλφοναμίδες
Νεομυκίνη	Ριστοσετίνη
Νιτροφουράνια	Νοβοβιοκίνη
Κινολόνες	
Τριμεθοπρίμη + Βανκομυκίνη	
Σουλφαδιαζίνη	
Πολυμυξίνες	
Τιαμουλίνη	

Πίνακας 2: Τα ανώτατα όρια καταλοίπων (MRL) της Ευρωπαϊκής Ένωσης, της Αυστραλίας και του Codex Alimentarius και τα όρια ανοχής των ΗΠΑ για τους αντιμικροβιακούς παράγοντες στο αγελαδινό γάλα (Κούλουρης, 2013)

Χημική ένωση	Συγκέντρωση (μg L ⁻¹)			
	Ανώτατα όρια καταλοίπων (MRL) Ευρωπαϊκής Ένωσης	Ανώτατα όρια καταλοίπων (MRL) Αυστραλίας	Ανώτατα όρια καταλοίπων (MRL) Codex	Όρια ανοχής των ΗΠΑ
Πενικιλίνη	4	1,5	4	0
Αμπικιλίνη	4	10	-	10
Αμοξικιλίνη	4	-	-	10
Κεφαπιρίνη	60	10	-	20
Κεφτιοφούρη	100	100	100	100
Κλοξακιλίνη	30	10	-	10
Σουλφαδιαζίνη	100	100	-	-
Οξυτετρακυκλίνη	100	100	100	300
Νεομυκίνη	1500	1500	500	150
Ερυθρομυκίνη	40	40	-	0

Τα αντιβιοτικά δρουν με διαφορετικούς μηχανισμούς ενάντια στους μικροοργανισμούς και ταξινομούνται ανάλογα με αυτούς στις ακόλουθες κατηγορίες:

- Αντιβιοτικά που προκαλούν παρεμπόδιση ή αναστολή της σύνθεσης του κυτταρικού τοιχώματος των μικροοργανισμών (κεφαλοσπορίνες, πενικιλίνες , καρβαπενέμες, μονοβακτάμες, βακίτρακίνη και τα γλυκοπεπτιδία).
- Αντιβιοτικά που αναστέλλουν την πρωτεϊνική σύνθεση των μικροοργανισμών (τετρακυκλίνες, αμινογλυκοσίδες, χλωραμφαινικόλη, μακρολίδια, στρεπτογραμίνες και λινκοσαμίδες).
- Αντιβιοτικά που προκαλούν διάσπαση/αποσύνθεση της κυτταρικής μεμβράνης των μικροοργανισμών (πολυμυξίνη Β, κολιστίνη, νυστατίνη, αμφοτερικίνη Β).
- Αντιβιοτικά που αναστέλλουν την λειτουργία ή την σύνθεση των νουκλεϊκών οξέων (σουλφοναμίδες, κινολόνες-φθοριοκινολόνες και διαμινοπυριδίνες).

4.5 Βασικές αιτίες παρουσίας υπολειμμάτων αντιβιοτικών στο γάλα

- Θεραπευτικές χρήσεις αντιβιοτικών: Πρωταρχική αιτία παρουσίας υπολειμμάτων αντιβιοτικών στο γάλα είναι η αλόγιστη χρήση αντιβιοτικών στη θεραπεία μολυσματικών ασθενειών, όπως η κλινική μαστίτιδα και οι ιογενείς ασθένειες (Nisha, 2008).
- Τα αντιβιοτικά ως πρόληψη: Μερικές φορές, τα αντιβιοτικά χρησιμοποιούνται στη θεραπεία της ξηρής αγελάδας και στη διαχείριση του μετεγχειρητικού κινδύνου, που είναι επίσης υπεύθυνα για τα υπολείμματα στο γάλα (Nisha, 2008).
- Αντιβιοτικά για άλλους σκοπούς: Μπορεί να υπάρχουν άμεσες ή έμμεσες οδοί μόλυνσης του γάλακτος από υπολείμματα αντιβιοτικών, όταν χρησιμοποιούνται κατά την επεξεργασία και τη συντήρηση του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων (Nisha, 2008).
- Εάν δεν τηρηθούν καταλλήλως οι παρεχόμενες οδηγίες των αντιβιοτικών, ενδέχεται να βρεθούν υπολείμματα τους στο γάλα. Παραβίαση των οδηγιών συμβαίνει όταν ένα αντιβιοτικό έχει εγκριθεί μόνο για ανθρώπους, ή χρησιμοποιείται αλόγιστα σε ζώα, ή χρησιμοποιείται σε διαφορετικά είδη για τα οποία δεν είναι εγκεκριμένο, ή όταν γίνεται χρήση εσφαλμένης συγκέντρωσης (Weaver, 1992) .
- Έλλειψη διατήρησης του σωστού χρόνου απαγόρευσης: Χωρίς τη σωστή διατήρηση του χρόνου απαγόρευσης των αντιβιοτικών στο ζώο, τα υπολείμματα αντιβιοτικών

εμφανίζονται στο γάλα του σε υψηλότερη συγκέντρωση (Kebede, Zenebe, Disassa, & Tolosa, 2014).

- Οι περιορισμένες εγκαταστάσεις ανίχνευσης των υπολειμμάτων των αντιβιοτικών και το ακατάλληλο σύστημα παρακολούθησης των υπολειμμάτων στις αναπτυσσόμενες χώρες, λόγω της κρίσης των αυστηρών κανονισμών, συμβάλλουν σημαντικά στην υψηλή συγκέντρωση υπολειμμάτων στο γάλα (Kebede, Zenebe, Disassa, & Tolosa, 2014).
- Η φυσιολογική μεταβολική διαδικασία των αντιβιοτικών περιορίζεται στα άρρωστα ζώα, γεγονός που μπορεί να προκαλέσει την συσσώρευση των αντιβιοτικών για μεγάλο χρονικό διάστημα στους ιστούς, προκαλώντας υψηλότερο κίνδυνο από τα υπολείμματα των αντιβιοτικών (Beyene, 2016).
- Έλλειψη ενημέρωσης των αγροτών σχετικά με τις επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία των υπολειμμάτων των αντιβιοτικών του γάλακτος (Beyene, 2016).
- Ακατάλληλη εκπαίδευση και ενημέρωση των αγροτών (Beyene, 2016).
- Ανεπαρκής βιβλιογραφία που παρέχεται από τους κατασκευαστές των αντιβιοτικών (Nisha, 2008).
- Ακατάλληλος καθαρισμός εξοπλισμού μολυσμένου με αντιβιοτικά μετά τη χρήση στη διαδικασία ανάμειξης ή χορήγησης τους.
- Ανεπαρκής απόρριψη κενών δοχείων που περιείχαν αντιβιοτικά, στις εγκαταστάσεις, μπορεί να μολύνουν τις ζωοτροφές των ζώων (Singh, Shukla, Tandia, Kumar, & Paliwal, 2014).
- Ανεπαρκής αναγνώριση των αγελάδων που υποβλήθηκαν σε θεραπεία (Singh, Shukla, Tandia, Kumar, & Paliwal, 2014).
- Διάφοροι παράγοντες που επηρεάζουν την παρουσία των υπολειμμάτων αντιβιοτικών στο γάλα (Hamann, Tolle, & Hesscheu, 1979):
 - ✓ Τύπος και συγκέντρωση αντιβιοτικών.
 - ✓ Έκδοχα που χρησιμοποιούνται κατά την παρασκευή του φαρμάκου.
 - ✓ Συχνότητα αρμέγματος και ποσότητα συλλογής γάλακτος.
 - ✓ Απορρόφηση στους ιστούς του μαστού.
 - ✓ Η απόδοση γάλακτος (τα υπολείμματα αντιβιοτικών στο γάλα είναι αντιστρόφως ανάλογα με την απόδοση γάλακτος) (Gonzalo, Martinez, Carriedo, & Primitivi, 2003).

Σύμφωνα με το Κεφάλαιο 1 του Κανονισμού (ΕΕ) 2019/6 στην περίπτωση κτηνιατρικών φαρμάκων που προορίζονται για χρήση σε ζώα παραγωγής τροφίμων, η τεκμηρίωση ως προς τα κατάλοιπα πρέπει να παρουσιάζει:

- σε ποιο βαθμό και για πόσο χρονικό διάστημα, κατάλοιπα του κτηνιατρικού φαρμάκου ή των μεταβολιτών του παραμένουν στους εδώδιμους ιστούς του ζώου που υποβλήθηκε σε θεραπευτική αγωγή ή στο γάλα, στα αυγά ή/και στο μέλι που προέρχονται από αυτό
- ότι για την εξάλειψη κάθε κινδύνου για την υγεία του καταναλωτή τροφίμων, προερχομένων από ζώα που υποβλήθηκαν σε θεραπευτική αγωγή ή δυσκολιών στη βιομηχανική επεξεργασία τροφίμων, είναι δυνατόν να καθορισθούν ρεαλιστικοί χρόνοι αναμονής που να μπορούν να τηρούνται στα πλαίσια των εφαρμοζόμενων στην πράξη συνθηκών εκτροφής των ζώων
- ότι η (οι) αναλυτική(-κές) μέθοδος(-δοι) που χρησιμοποιούνται για τη μελέτη απομάκρυνσης των καταλοίπων είναι επαρκώς επικυρωμένη(-ες) ώστε να παρέχει(-ουν) την αναγκαία εγγύηση ότι τα δεδομένα που υποβάλλονται είναι κατάλληλα ως βάση για την τεκμηρίωση του χρόνου αναμονής.

4.6 Πιθανές επιπτώσεις των υπολειμμάτων των αντιβιοτικών στη δημόσια υγεία και στη γαλακτοβιομηχανία

- Ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά: Η παρουσία χαμηλού επιπέδου υπολειμμάτων αντιβιοτικών στο γάλα και σε άλλα γαλακτοκομικά προϊόντα κάνει τους μικροοργανισμούς να είναι ανθεκτικοί στα αντιβιοτικά. Τα ανθεκτικά μικρόβια μπορεί να μεταδοθούν μεταξύ των ατόμων μέσω άμεσης επαφής ή έμμεσης, μέσω ανταλλαγής ανθεκτικών γονιδίων στο περιβάλλον (Beyene, 2016).
- Αλλεργικές αντιδράσεις: Τα υπολείμματα διαφόρων αντιβιοτικών σχετίζονται με πολλαπλούς τύπους αλλεργικών αντιδράσεων για τον άνθρωπο, συμπεριλαμβανομένης της ασθένειας ορού (serum sickness) και της αναφυλαξίας, ειδικά στην περίπτωση των πενικιλινών (Beyene, 2016)
- Καρκινογένεση: Τα υπολείμματα των αντιβιοτικών έχουν πιθανές καρκινογόνες επιπτώσεις καθώς αλληλεπιδρούν με κυτταρικές ουσίες, όπως το DNA και το RNA (Beyene, 2016).
- Μεταλλαξιόγonos δράση: Η μεταλλαξιόγonos επίδραση είναι μια άλλη επικίνδυνη επίδραση των υπολειμμάτων των αντιβιοτικών, η οποία μπορεί να προκαλέσει

μετάλλαξη του μορίου του DNA ή βλάβη των χρωμοσωμάτων (Conzuelo, et al., 2014)
Η υπογονιμότητα του ανθρώπου μπορεί να προκύψει από αυτή τη μετάλλαξη (Beyene, 2016).

- Τερατογένεση: Διάφορες ανωμαλίες μπορεί να παρατηρηθούν σε νεογέννητο παιδί λόγω μακροχρόνιας έκθεσης σε υπολείμματα αντιβιοτικών κατά την περίοδο της κύησης (Beyene, 2016).
- Διαταραχές στο φυσιολογικό εντερικό περιβάλλον: Το μικροβίωμα του εντέρου αποικεί με άλλους ωφέλιμους μικροοργανισμούς και αποτρέπει τα παθογόνα βακτήρια από το να αναπτυχθούν και θα παρουσιάσουν παθογένεια. Τα υπολείμματα αντιβιοτικών στο γάλα που προκύπτουν από τη χρήση αντιβιοτικών μπορούν να θανατώσουν ένα μεγάλο μέρος της μικροχλωρίδας του εντέρου, συμπεριλαμβανομένων των ωφέλιμων μικροοργανισμών, διαταράσσοντας έτσι το φυσιολογικό εντερικό περιβάλλον (Beyene, 2016).
- Επιδράσεις στη γαλακτοβιομηχανία: Η ύπαρξη υπολειμμάτων αντιβιοτικών στο γάλα, ακόμη και σε πολύ χαμηλή συγκέντρωση προκαλεί μεγάλη ανησυχία στις γαλακτοβιομηχανίες. Τα υπολείμματα των αντιβιοτικών μπορούν να επηρεάσουν τη διαδικασία ζύμωσης κατά την παραγωγή τυριού και γιαουρτιού αναστέλλοντας τις καλλιέργειες εκκίνησης (Beyene, 2016).

Μέτρα ελέγχου και πρόληψης για την αποφυγή ύπαρξης υπολειμμάτων αντιβιοτικών στο γάλα

- Υπάρχουν δύο βασικές προσεγγίσεις για τον έλεγχο των υπολειμμάτων αντιβιοτικών στο γάλα:
 - ✓ Ανάπτυξη εξαιρετικά ευαίσθητων εργαλείων ανίχνευσης για την αποφυγή των ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων.
 - ✓ Χρήση κατάλληλων μεθόδων για την επιβεβαίωση και τον ποσοτικό προσδιορισμό των υπολειμμάτων των αντιβιοτικών, όπου η πιθανότητα ψευδώς θετικής έκβασης θα είναι ελάχιστη (Mensah, Koundande, Sandres, Laurentie, & Mensah, 2014). Θα πρέπει να αναπτυχθούν απλές, γρήγορες, ευαίσθητες, ειδικές και οικονομικές διαδικασίες για την ανάλυση των υπολειμμάτων των αντιβιοτικών στο γάλα, ακολουθούμενες από απόρριψη εάν υπερβαίνει το MRL (Beyene, 2016).

Τα MRL στο γάλα για ορισμένα αντιβιοτικά, που καθορίστηκαν από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή (αναφέρονται στον κανονισμό 2377/90/ΕΚ του Συμβουλίου) δίνονται παρακάτω:

Πίνακας 3: MRL στο γάλα για ορισμένα αντιβιοτικά

Αντιβιοτικά	MRLs σε γάλα (µg/kg)
Benzyl penicillin	4
Ampicillin	4
Amoxicillin	4
Tetracycline	100
Oxytetracycline	100
Chlortetracycline	100
Streptomycin	200
Dihydrostreptomycin	200
Gentamicin	200
Neomycin	1500
Spiramycin	200
Tylocin	100
Erythromycin	40
Colistin	50
Ceftiofur	100

• Το

επίπεδο ή η συγκέντρωση των υπολειμμάτων των αντιβιοτικών στο γάλα θα πρέπει να υπόκειται σε τακτική βάση παρακολούθησης και επιτήρησης σε εθνικό επίπεδο (Nisha, 2008).

- Μπορούν να ληφθούν τα ακόλουθα μέτρα για την αδρανοποίηση ορισμένων αντιβιοτικών:
 - ✓ Η πενικιλίνη απενεργοποιείται μετά την ψύξη.
 - ✓ Η παστερίωση μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως σημαντικό μέτρο για να καταστήσει ανενεργά τα περισσότερα αντιβιοτικά.

- ✓ Ορισμένα από τα αντιβιοτικά χάνουν τη δραστηριότητά τους εάν υποβληθούν σε θεραπεία με ακτινοβολία UV, ενεργό άνθρακα ή ρητίνη κ.λπ. (Nisha, 2008).
- Ανάπτυξη της ευαισθητοποίησης του κοινού μέσω της διευθέτησης ορισμένων αποτελεσματικών δραστηριοτήτων στον τομέα αυτό, με τη διευκόλυνση του ειδικού προσωπικού ή των οργανισμών (Nisha, 2008).
- Οι αλόγιστες χρήσεις των πολλαπλών κτηνιατρικών αντιβιοτικών θα πρέπει να απαγορεύονται αυστηρά.
- Οι φυτικές πηγές φαρμάκων μπορούν να ληφθούν υπόψη ως εναλλακτική επιλογή για τη θεραπεία ασθενειών.
- Οι οδηγίες για ένα αποτελεσματικό πρόγραμμα χρήσης αντιβιοτικών είναι οι εξής:
 - ✓ Να δίνεται ιδιαίτερη προσοχή στους κατάλληλους χρόνους απαγόρευσης των αντιβιοτικών για τις αγελάδες (Nisha, 2008).
 - ✓ Οι οδηγίες της ετικέτας πρέπει να διαβάζονται πριν από την αγορά αντιβιοτικών για να κατανοηθούν οι συνέπειες της χρήσης τους (Beyene, 2016).
 - ✓ Τα αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται για θηλάζοντα και μη θηλάζοντα ζώα δεν πρέπει να αναμιγνύονται, αλλά να αποθηκεύονται σε ξεχωριστά μέρη (Beyene, 2016).
 - ✓ Η διατήρηση των καλών πρακτικών διαχείρισης υγιεινής κατά τη χορήγηση αντιβιοτικών πρέπει να τηρείται αυστηρά (Nisha, 2008).
 - ✓ Θα πρέπει να τηρείται η κατάλληλη βιοασφάλεια στα γαλακτοκομικά αγροκτήματα για την αποφυγή επιμολύνσεων. Υψηλότερη προτεραιότητα πρέπει να δοθεί στη διατήρηση καλύτερης ποιότητας της υγείας των γαλακτοπαραγωγών ζώων, όπου ως αποτέλεσμα θα έχει την αποφυγή της χρήσης αντιβιοτικών σε πολύ μεγάλο βαθμό (Nisha, 2008).
 - ✓ Θα πρέπει να υπάρχει σήμανση αγελάδων που έχουν υποβληθεί σε θεραπεία με αντιβιοτικά για εύκολη αναγνώριση, η οποία θα βοηθήσει τους αρμεκτές να τις αναγνωρίσουν και θα αποτρέψει το γάλα από την κυκλοφορία μέχρι τον κατάλληλο χρόνο απόσυρσης (Nisha, 2008).
 - ✓ Τα δεδομένα σχετικά με τη θεραπεία των αγελάδων θα πρέπει να διατηρούνται προσεκτικά σε γραπτή μορφή, όπου πρέπει να

περιλαμβάνονται η ημερομηνία και η αιτία της θεραπείας, το όνομα και η δοσολογία των φαρμάκων που χρησιμοποιήθηκαν, ο χρόνος απαγόρευσης (Nisha, 2008).

- ✓ Οι αγελάδες που λαμβάνουν αντιβιοτικά θα πρέπει να διαχωρίζονται από τις υπόλοιπες και να αρμέγονται στο τέλος για να ελαχιστοποιηθεί ο κίνδυνος επιμόλυνσης από υπολείμματα αντιβιοτικών (Nisha, 2008).
- ✓ Το γάλα θα πρέπει να αποσύρεται και να απορρίπτεται μετά την ενδομαστική έγχυση αντιβιοτικών, καθώς το φάρμακο με έγχυση μπορεί να διαδοθεί εύκολα μέσω της κυκλοφορίας (Nisha, 2008).
- ✓ Οι γαλακτοπαραγωγοί θα πρέπει να είναι ικανοί για τη διατήρηση της σωστής ποιότητας του γάλακτος καθώς και για τη διασφάλισή του (Nisha, 2008).

4.7 Τεχνικές ανίχνευσης υπολειμμάτων

Εφαρμόζονται ευρέως τεχνικές για την ανίχνευση υπολειμμάτων στο γάλα, οι οποίες ταξινομούνται ως χρωματογραφικές, ανοσολογικές, μικροβιολογικές και λοιπές. Οι χρωματογραφικές τεχνικές χρησιμοποιούνται κατά πολύ περισσότερο από τις άλλες, λόγω της υψηλότερης ευαισθησίας και εκλεκτικότητας, καθώς και της μεγαλύτερης δυνατότητας για ποσοτικοποίηση των υπολειμμάτων. Από την άλλη, οι διάφορες ανοσολογικές και μικροβιολογικές τεχνικές μπορούν να εφαρμοστούν ως ταχείες και φθηνότερες εναλλακτικές λύσεις, με αρνητικό την σχετικά μικρότερη αποτελεσματικότητά τους (Sachi, Ferdous, Sikder, & Hussani, 2019).

4.8 Χρωματογραφικές τεχνικές

Στη χημική ανάλυση, η χρωματογραφία είναι μια εργαστηριακή τεχνική για τον διαχωρισμό ενός μείγματος συστατικών στα επιμέρους συστατικά του. Το μείγμα διαλύεται σε έναν ρευστό διαλύτη (αέριο ή υγρό) που ονομάζεται κινητή φάση, ο οποίος το μεταφέρει μέσω ενός συστήματος (στήλης, τριχοειδούς σωλήνα, πλάκας ή φύλλου) πάνω στο οποίο στερεώνεται ένα υλικό που ονομάζεται στατική φάση. Επειδή τα διαφορετικά συστατικά του μείγματος τείνουν να έχουν διαφορετικό βαθμό συνάφειας με τη στατική φάση και κατακρατούνται για διαφορετικά χρονικά διαστήματα, ανάλογα με τις αλληλεπιδράσεις τους

με αυτή, τα συστατικά εκλούνται με διαφορετικές εμφανείς ταχύτητες στη κινητή φάση, προκαλώντας το διαχωρισμό τους. Ο διαχωρισμός βασίζεται στη διαφορά της κατανομής μίας ουσίας μεταξύ της κινητής και της στατικής φάσης. Οι μικρές διαφορές στον συντελεστή κατανομής της ουσίας έχουν ως αποτέλεσμα τη διαφορετική συγκράτηση στη στατική φάση και επομένως επηρεάζουν τον διαχωρισμό (McMurry, 2011).

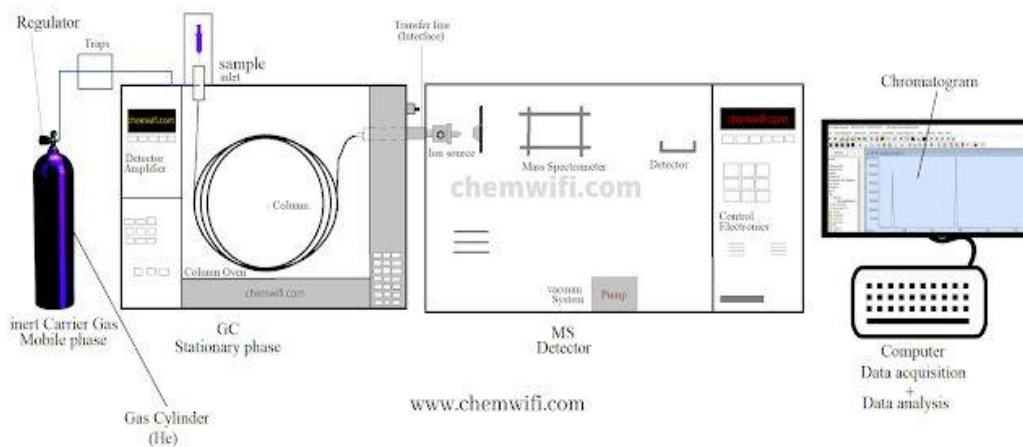
Οι Carson et al. (1995) ήταν από τους πρώτους που αξιολόγησαν τις διάφορες προτεινόμενες μεθόδους αέριας χρωματογραφίας (Gas Chromatography, GC) και υγρής χρωματογραφίας (Liquid Chromatography, LC) χρησιμοποιώντας συμβατικούς ανιχνευτές για την ανάλυση β-λακταμών στο γάλα και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι καμία από τις δοκιμασμένες διαδικασίες δεν ικανοποιεί τις απαιτήσεις για μια κατάλληλη αναλυτική μέθοδο πολλαπλών υπολειμμάτων (Carson, Chu, & Von Bredow, 1995).

Ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων (Food and Drug Association, FDA) των ΗΠΑ, καθώς και οι φορείς δημόσιας υγείας σε άλλες χώρες, βασίζεται στην ανίχνευση με φασματομετρία μάζας (Mass Spectrometry, MS) για τη σαφή επιβεβαίωση των αντιβιοτικών β-λακτάμης στα τρόφιμα. Πρόσφατη εισαγωγή ισχυρών, ευαίσθητων και σχετικά οικονομικών οργάνων εργαστηρίου LC-MS με πηγή ιόντων ηλεκτροψεκασμού (Electron Spray, ES) έχουν φέρει αυτόν τον εξοπλισμό στο πεδίο εφαρμογής πολλών αναλυτικών εργαστηρίων. Ξεκινώντας το 1993, έχουν προταθεί διάφορες μέθοδοι βασισμένες στο LC-ES-MS για την ανάλυση των β-λακταμών στο βόειο γάλα (Straub & Voykner, 1993). Ωστόσο, καμία από αυτές τις μεθόδους δεν ικανοποιεί την απαίτηση για ταυτόχρονο προσδιορισμό των πιο συχνά χρησιμοποιούμενων αντιβιοτικών β-λακτάμης σε επίπεδα ίσα ή χαμηλότερα από τα ισχύοντα MRL. Σύγχρονες, ωστόσο μελέτες προσπαθούν να ικανοποιήσουν τις ταχέως αναπτυσσόμενες απαιτήσεις για την ανίχνευση των αντιβιοτικών με τη χρήση χρωματογραφικών τεχνικών (Khanal, Sadiq, Singh, & Anal, 2018; Wang, et al., 2016; Qin, et al., 2017; Olatoye, Daniel, & Ishola, 2016).



Εικόνα 9: Αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή MS

Fundamental of GC-MS (Diagram)

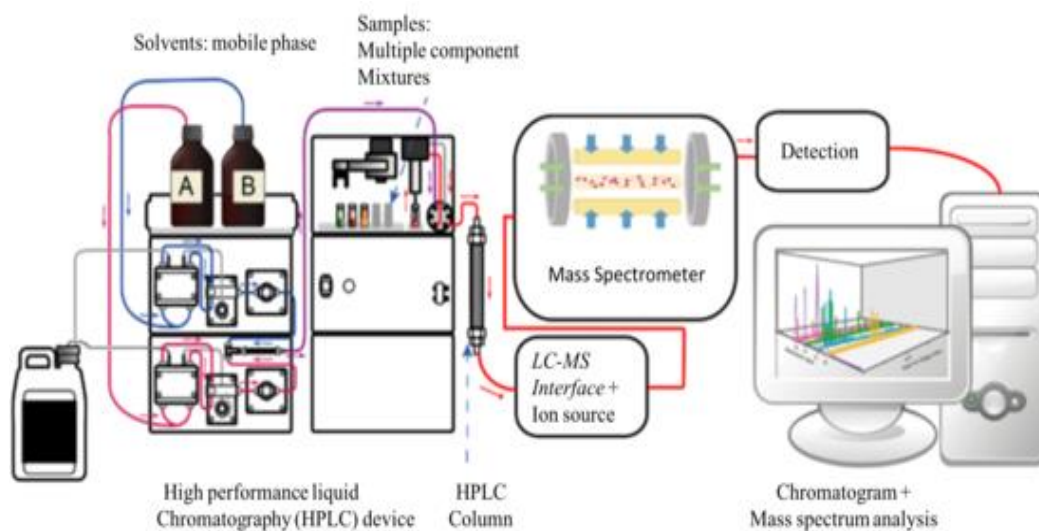


Εικόνα 10: Σχηματική απεικόνιση χρωματογραφίας GC-MS (Gas Chromatography- Mass Spectrometry)



Εικόνα 12: Υγρή χρωματογραφία με ανιχνευτή MS

4.9 Ανοσολογικές Τεχνικές



Εικόνα 11: Σχηματική απεικόνιση χρωματογραφίας LC-MS (Liquid Chromatography- Mass Spectrometry)

Οι ανοσολογικές τεχνικές περιλαμβάνουν τόσο πειραματικές μεθόδους για τη μελέτη του ανοσοποιητικού συστήματος όσο και μεθόδους παραγωγής ή χρήσης ανοσολογικών αντιδραστηρίων ως πειραματικών εργαλείων. Οι πιο κοινές ανοσολογικές μέθοδοι σχετίζονται με την παραγωγή και τη χρήση αντισωμάτων για την ανίχνευση συγκεκριμένων πρωτεϊνών σε βιολογικά δείγματα. Η χρήση ανοσολογικών τεχνικών για την ανίχνευση ουσιών ονομάζεται και ανοσοδοκιμή (Immunoassay, IA).

Μια IA είναι μια βιοχημική δοκιμή που μετρά την παρουσία ή τη συγκέντρωση ενός μακρομορίου ή ενός μικρού μορίου σε ένα διάλυμα μέσω της χρήσης ενός αντισώματος (περισσότερο συχνά) ή ενός αντιγόνου (λιγότερο συχνά). Το μόριο που ανιχνεύεται από την

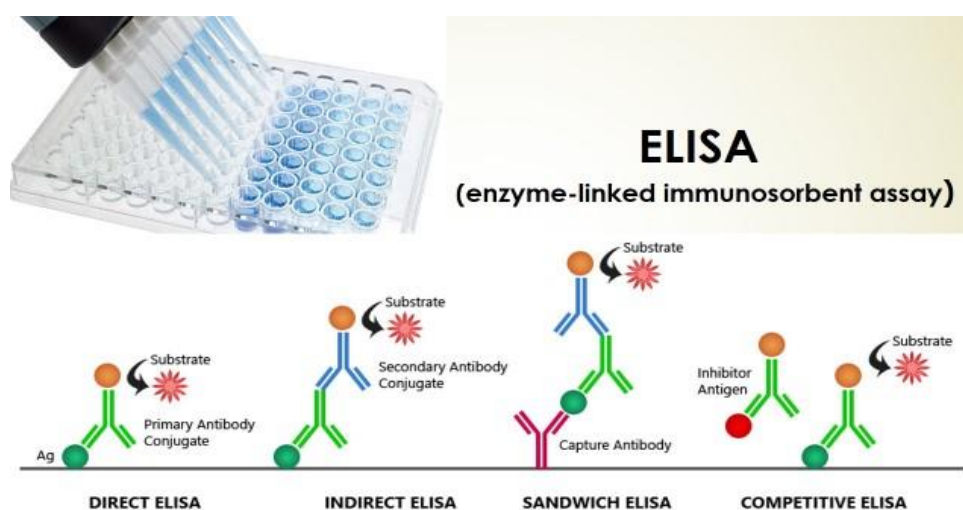
ανοσοδοκιμή αναφέρεται συχνά ως «αναλύτης» και σε πολλές περιπτώσεις είναι πρωτεΐνη, αν και μπορεί να είναι άλλα είδη μορίων, διαφορετικών μεγεθών και τύπων, αρκεί να αναπτυχθούν τα κατάλληλα αντισώματα που έχουν τις απαιτούμενες ιδιότητες για τον προσδιορισμό τους (Yetisen, 2013).

4.8.1 Ενζυμική Ανοσοπροσοφνητική Δοκιμή (Enzyme-linked Immunosorbent Assay, ELISA)

Η ELISA είναι μια επισημασμένη μέθοδος που θεωρείται το χρυσό πρότυπο των ανοσοδοκιμών. Αυτός ο ανοσολογικός έλεγχος είναι πολύ ευαίσθητος και χρησιμοποιείται για την ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό ουσιών, συμπεριλαμβανομένων αντισωμάτων, αντιγόνων, πρωτεϊνών, γλυκοπρωτεϊνών και ορμονών.

Η ανίχνευση αυτών των προϊόντων επιτυγχάνεται με τη συμπλοκοποίηση αντισωμάτων και αντιγόνων για να παραχθεί ένα μετρήσιμο αποτέλεσμα. Ένα αντιγόνο είναι μια πρωτεΐνη που μπορεί να προέρχεται από κάποια ξένη πηγή και, όταν συνδέεται με ένα αντίσωμα, προκαλεί μια σειρά βιοχημικών διαδικασιών μέσω του ανοσοποιητικού συστήματος του σώματος. Αυτή η αλληλεπίδραση αξιοποιείται στη δοκιμή ELISA και επιτρέπει την αναγνώριση συγκεκριμένων πρωτεϊνικών αντισωμάτων και αντιγόνων, με μικρές μόνο ποσότητες δείγματος δοκιμής.

Τυπικά η δοκιμή ELISA προμηθεύεται σε εμπορικά κιτ, τα οποία περιέχουν οδηγίες για την προπαρασκευή των δειγμάτων, καθώς και των απαιτούμενων ποσοτήτων για την σωστή ανίχνευση των επιθυμητών ουσιών. Σύγχρονες έρευνες που χρησιμοποιούν την δοκιμή ELISA έχουν επικυρώσει ότι είναι μία οικονομική, υψηλώς ευαίσθητη, υψηλώς



Εικόνα 13: Enzyme-linked Immunosorbent Assay, ELISA

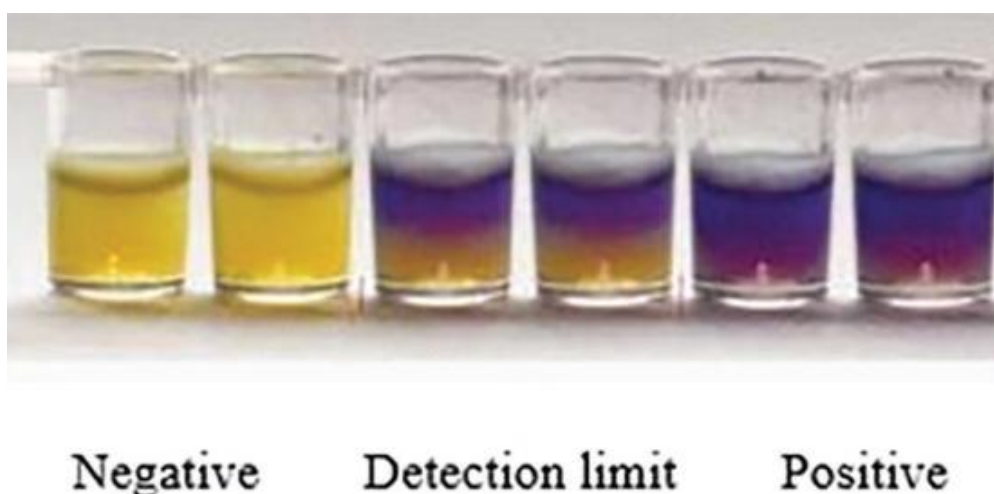
ακριβής τεχνική με υψηλή εκλεκτικότητα και εύκολο χειρισμό (Du, et al., 2019; Mohammadzadeh, et al., 2022; Ahmed, et al., 2020).

4.10 Μικροβιολογικές Τεχνικές

Η αρχή των μικροβιολογικών τεχνικών βασίζεται στη διάχυση πιθανών ανασταλτικών παραγόντων, οι οποίοι μπορούν, εν δυνάμει, να μειώσουν τον μεταβολισμό και την ανάπτυξη ενός μικροοργανισμού-μάρτυρα, μειώνοντας με αυτόν τον τρόπο την παραγωγή οξέων, τα οποία θα προκαλούσαν βιοχημικές μεταβολές σε ένα ειδικά επιλεγμένο υπόστρωμα. Οι μεταβολές αυτές συνήθως περιλαμβάνουν μεταχρωματισμούς, καθιστώντας την ανίχνευση και την ανάλυση των αποτελεσμάτων εύκολη στη χρήση.

4.9.1 Delvotest®

Το Delvotest® είναι μια δοκιμή μικροβιακής αναστολής ευρέος φάσματος που χρησιμοποιείται στα γαλακτοκομικά προϊόντα για τον έλεγχο υπολειμμάτων αντιβιοτικών στο γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα. Χρησιμοποιείται για τη διασφάλιση της ασφάλειας του γάλακτος και παράγεται από την παγκόσμια εταιρεία DSM. Το Delvotest® είναι μια μέθοδος δοκιμής που χρησιμοποιείται σε όλη την αλυσίδα αξίας των γαλακτοκομικών προϊόντων από εργαστήρια μέχρι και τους πρωτογενή και δευτερογενή τομείς. Είναι επικυρωμένο από πολλούς παγκόσμιους οργανισμούς, αλλά και από εταιρείες τροφίμων (Institute for Agricultural and Fisheries Research, 2014; Nestlé Research Centre, 2015; Embrapa & Brazilian Ministry of Agriculture, 2016).



Εικόνα 14: Ανίχνευση αντιβιοτικών με την μέθοδο Delvotest®

4.11 Άλλες Τεχνικές

Οι τεχνικές που δεν κατατάσσονται στις ανωτέρω κατηγορίες συμπεριλαμβάνουν:

- Φθορισμομετρικές τεχνικές (Kaur, Saini, Singh, & Malik, 2012; Meng, Chen, Guo, Chen, Cai, & Tian, 2014)
- Τεχνικές ηλεκτροφόρησης (Piñero, et al., 2012; Wang, et al., 2012)
- Μικροβαρυμετρικές τεχνικές (Mishra, Sharma, & Bhand, 2015)
- Αμπερομετρικές τεχνικές (Conzuelo, et al., 2014)
- Τεχνικές φασματοσκοπίας Raman (Chen, et al., 2017)

Κεφάλαιο 5: Πειραματικό μέρος

Στα πλαίσια της συγκεκριμένης πτυχιακής εργασίας πραγματοποιήθηκε πείραμα στον εργαστηριακό χώρο του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, στο Πολυδύναμο Εργαστήριο με σκοπό να μελετηθεί η ύπαρξη αντιβιοτικών ή μη σε γάλατα που παραλήφθηκαν από το εμπόριο. Τα γάλατα βρίσκονταν στα ράφια των supermarkets και ήταν έτοιμα προς πώληση και κατ' επέκταση κατανάλωση. Αναλύθηκαν 12 δείγματα γάλακτος του εμπορίου από διαφορετικούς προμηθευτές.

Η ανίχνευση αντιβιοτικών είναι πολύ σημαντική διαδικασία διότι τα αντιβιοτικά μπορούν να προκαλέσουν σοβαρά προβλήματα στην υγεία του καταναλωτή αλλά και στη βιομηχανία τροφίμων όταν πρόκειται να παρασκευαστούν άλλα γαλακτοκομικά προϊόντα. Για την ανίχνευση των αντιβιοτικών χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος ELISA με κιτ. Το νομοθετικό όριο για τις σουλφοναμίδες στο γάλα είναι 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (100 ppb). Σύμφωνα με την νομοθεσία, ο Κανονισμός 2377/90, αναφέρεται στον καθορισμό των MRL κτηνιατρικών καταλοίπων στα τρόφιμα ζωικής προέλευσης. Ο κανονισμός θεσπίστηκε τόσο για την διασφάλιση της υγείας των καταναλωτών, όσο και για την διευκόλυνση της διάθεσης τροφίμων ζωικής προέλευσης στην Ε.Ε.

5.1. Μέθοδοι και Υλικά

Προετοιμασία δειγμάτων:

Για την προετοιμασία των δειγμάτων γάλακτος φυγοκεντρίθηκαν κρύα τα δείγματα γάλακτος για 15 min σε 2000 x g και θερμοκρασία 4 °C με σκοπό να αποκορυφωθεί το λίπος. Αφαιρούμε την πάνω στιβάδα λίπους με τη χρήση σπάτουλας. Στην συνέχεια, τοποθετήθηκε, με πιπέτα, 1 ml αποκορυφωμένου δείγματος σε δοκιμαστικό σωλήνα και προστέθηκε 1 ml μεθανόλης (CH_3OH) 30%. Το μίγμα αναδεύτηκε καλά σε Vortex για 15 min. Έπειτα, φυγοκεντρίθηκε για 10 min σε 2000 x g, παραλήφθηκαν 50 μl διαλύματος τα οποία αναμίχθηκαν με 450 μl από το buffer Phosphate-Buffered Saline (PBS) και τοποθετήθηκαν μαζί σε πηγάδια (wells). Για την μέθοδο της ELISA χρησιμοποιούνται 50 μl από το τελικό διάλυμα για κάθε δοκιμή.

Προετοιμασία των αντιδραστηρίων:

Για την προετοιμασία των αντιδραστηρίων για την συγκεκριμένη μέθοδο, απαιτείται η θερμοκρασία τους πριν την παρασκευή τους να είναι σε θερμοκρασία δωματίου.

- Rinsing buffer: Για κάθε δοκιμή, απαιτούνται 20 ml αραιωμένου buffer έκπλυσης (rinsing buffer). Αυτό παρασκευάζεται με αραιώση 1 ml παρεχόμενου από το κιτ buffer έκπλυσης με 19 ml απεσταγμένου νερού.
- Dilution buffer: Το buffer αραιώσης dilution buffer χρησιμοποιείται για να αραιωθούν τα δείγματα και το σύζευγμα (conjugate).
- Conjugate: Έγινε ανασύσταση στο παρεχόμενο λυοφιλοιωμένο σύζευγμα (conjugate) με 6 ml buffer αραιώσης (dilution buffer). Ανακινήθηκε καλά και φυλάχθηκε σε σκοτεινό μέρος μέχρι τη χρήση του.
- Substrate/chromogen solution: Το παρεχόμενο υπόστρωμα (substrate) διατηρείται σε θερμοκρασία δωματίου σε σκοτεινό μέρος και ανακινείται πριν την τοποθέτηση στα πηγάδια.
- Phosphate Buffered Saline (PBS): Το συγκεκριμένο Buffer παρασκευάστηκε ως εξής: Σε ένα λίτρο buffer, περιέχονται 0,77g Na_2HPO_4 , 0,18g KH_2PO_4 και 8,94g NaCl. Γίνεται ρύθμιση του pH μέχρι να είναι $7,4 \pm 0,2$.
- Milk solution 10 ml: Παρασκευάζεται και χρησιμοποιείται φρέσκο. Προσθέσαμε 1 γραμμάριο (g) σκόνης γάλακτος (milk powder) και 9 ml απεσταγμένο νερό και το ομογενοποιήσαμε καλά.
- 30% methanol: Τοποθετήθηκαν 3 ml μεθανόλη και 7 ml απεσταγμένο νερό.
- 15% methanol: Τοποθετήθηκαν 1,5 ml μεθανόλη και 8,5 ml απεσταγμένο νερό.

Διαδικασία αξιολόγησης:

Τα μη δεσμευμένα συστατικά πρέπει να αφαιρούνται αποτελεσματικά μεταξύ των σταδίων επώασης στις δοκιμές με κιτ ELISA. Αυτό επιτυγχάνεται με κατάλληλο ξέπλυμα. Θα πρέπει να είναι σαφές ότι κάθε διαδικασία έκπλυσης πρέπει να εκτελείται με προσοχή ώστε να διασφαλίζονται καλά αποτελέσματα. Το χειροκίνητο ξέπλυμα ή το ξέπλυμα με εξοπλισμό αυτόματου πλυσίματος πλακών μπορεί να πραγματοποιηθεί ως εξής:
Χειροκίνητο Ξέπλυμα:

- Αδειάστηκε το περιεχόμενο κάθε πηγαδιού γυρίζοντας τα πηγαδάκια ανάποδα και αφαιρέθηκαν τα υπολείμματα υγρού χτυπώντας τα σε μια χαρτοπετσέτα.
- Γεμίσθηκαν όλα τα πηγάδια μέχρι την χαραγή τους (300 μl) με διάλυμα έκπλυσης.
- Τα δύο προηγούμενα στάδια ξεπλύματος επαναλήφθηκαν 3 φορές.

- Γυρίσθηκαν τα πηγαδάκια ανάποδα και αδειάσθηκαν με μια σταθερή σύντομη κάθετη κίνηση.
- Αφού τοποθετήθηκαν τα ανεστραμμένα πηγαδάκια σε απορροφητικές πετσέτες, χτυπήθηκαν σταθερά με σκοπό να αφαιρεθεί το υπολειμματικό διάλυμα εκπλύσης. Φροντίσθηκε να μην στεγνώσει κανένα από τα πηγαδάκια προτού τοποθετηθεί το επόμενο αντιδραστήριο.

Ξέπλυμα με εξοπλισμό αυτόματου πλυσίματος των πηγαδακίων:

Κατά τη διαδικασία αυτόματου ξεπλύματος, για να χρησιμοποιηθεί ο εξοπλισμός αυτόματης πλύσης, πρέπει να είναι βέβαιο ότι όλα τα πηγαδάκια μπορούν να αναρροφηθούν πλήρως και ότι το διάλυμα έκπλυσης διανέμεται καλά φτάνοντας στη χαραγή κάθε πηγαδιού κατά τη διάρκεια του κύκλου ξεπλύματος. Τέλος, η επανάληψη των 3 κύκλων ξεπλύματος ισχύει και στην περίπτωση του αυτόματου ξεπλύματος.

Πρωτόκολλο ανάλυσης:

- Αρχικά έγινε η προετοιμασία των δειγμάτων και των αντιδραστηρίων όπως αναφέραμε στις αντίστοιχες παραγράφους.
- Έπειτα προστέθηκαν, με πιπέτα, 100 μl μηδενικού προτύπου (zero standard) εις διπλούν (πηγάδια H1, H2, λευκό), προστέθηκε, επίσης, με πιπέτα, 50 μl μηδενικού προτύπου (zero standard) (Bmax) εις διπλούν (πηγαδάκια A1, A2, maximal signal) και τέλος προστέθηκαν 50 μl από το καθένα από τα πρότυπα διαλύματα εις διπλούν (πηγαδάκια B1,2 έως G1,2 π.χ 0,313/0,625/1,25/2,5/5,0/10,0 ng/ml).
- Προστέθηκαν, με πιπέτα, 50μl διαλύματος δείγματος εις διπλούν στα υπόλοιπα κενά πηγαδάκια.
- Προστέθηκε, με πιπέτα, 50 μl συζεύγματος (conjugate) σε όλα τα πηγαδάκια, εκτός του H1 και H2.
- Σφραγίσθηκαν τα πηγαδάκια καλά και ανακινήθηκαν για μερικά δευτερόλεπτα σε Vortex.
- Ακολούθησε επώαση για 30 min στο σκοτάδι και σε θερμοκρασία δωματίου (περίπου 20-25 °C).
- Στην συνέχεια έγινε απόρριψη του διαλύματος από τα πηγαδάκια και ακολούθησε ξέπλυμα 3 φορές με διάλυμα έκπλυσης.

- Έπειτα προστέθηκαν 100 μl υποστρώματος (substrate) σε κάθε πηγαδάκι.
- Ακολούθησε επώαση για 15 min σε θερμοκρασία δωματίου στο σκοτάδι.
- Έπειτα προστέθηκαν 100 μl από το παρεχόμενο διάλυμα λήξης (stop solution) σε κάθε πηγαδάκι.
- Τέλος, αναγνώστηκαν άμεσα τα αποτελέσματα, δηλαδή οι τιμές σε απορρόφηση στα 450 nm.

Ερμηνεία των αποτελεσμάτων:

Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων αφαιρέθηκε η μέση οπτική πυκνότητα O.D των H1 και H2 (λευκά-blank) από κάθε οπτική πυκνότητα των δειγμάτων και των προτύπων.

Οι τιμές των προτύπων και των δειγμάτων διαιρέθηκαν από τη μέση τιμή της οπτικής πυκνότητας του μηδενικού προτύπου, B_{max} (πηγαδάκια A1 και A2) και πολλαπλασιάστηκαν με 100. Το μηδενικό πρότυπο, B_{max} εξισώθηκε με το 100% (μέγιστη απορρόφηση) και οι άλλες τιμές εκφράστηκαν ως ποσοστά της μέγιστης απορρόφησης.

$$\frac{\text{O.Π προτύπου}}{\text{O.Π μηδενικού προτύπου B}_{\max}} \times 100 = \text{ποσοστό μέγιστης απορρόφησης}$$

όπου O.Π = οπτική πυκνότητα

Πρότυπη καμπύλη αναφοράς:

Οι τιμές των ποσοστών των προτύπων παρατάθηκαν στον άξονα των Y και οι συγκεντρώσεις ng/ml στον άξονα X.

5.2. Αποτελέσματα

Πραγματοποιήθηκε φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός στα 450 nm σε φασματοφωτόμετρο UV-Vis. Οι απορροφήσεις που παραλήφθηκαν, καθώς και οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις για το κάθε δείγμα ξεχωριστά παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα:

Αριθμός δειγμάτων	Απορρόφηση στα 450 nm	Συγκέντρωση σε ng/ml (ppb)
Δείγμα 1	0,285	4,162
Δείγμα 2	0,250	5,906
Δείγμα 3	0,346	2,261
Δείγμα 4	0,578	0,222
Δείγμα 5	0,772	0,032

Δείγμα 6	0,781	0,029
Δείγμα 7	0,753	0,039
Δείγμα 8	0,672	0,087
Δείγμα 9	0,710	0,059
Δείγμα 10	0,864	0,013
Δείγμα 11	0,964	0,005
Δείγμα 12	0,901	0,009

5.3. Συζήτηση

Το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα αποτελούσαν ανέκαθεν αλλά και συνεχίζουν να αποτελούν μία βασική τροφή για την διατροφή του ανθρώπου. Αυτό συμβαίνει διότι το γάλα παρουσιάζει ιδιαίτερα θρεπτικά χαρακτηριστικά που συμβάλλουν θετικά στην υγεία του καταναλωτή. Η ποιότητα του γάλακτος που τελικά φτάνει στον καταναλωτή εξαρτάται από πολλούς παράγοντες. Ένας βασικός παράγοντας είναι η υγεία των γαλακτοφόρων ζώων από τα οποία και παραλαμβάνεται το νωπό γάλα. Πολλές φορές οι συνθήκες διαβίωσης των ζώων και η διατροφή τους μπορεί να επηρεάζουν την υγεία τους και κατ' επέκταση και την ποιότητα του γάλακτος που παράγουν. Στα πλαίσια της διατήρησης της καλής υγείας των ζώων για τη καταπολέμηση των ασθενειών τους και ειδικά της μαστίτιδας, χορηγούνται στα ζώα αντιβιοτικά. Τα αντιβιοτικά αποτελούν έναν εξωγενή αντιμικροβιακό παράγοντα που μπορεί, εν δυνάμει, να μολύνει το γάλα καθώς ένα μέρος αυτών εκκρίνεται στο γάλα. Η ύπαρξη αντιβιοτικών ή υπολειμμάτων αυτών στο γάλα είναι σπουδαία υπόθεση, καθώς τα αντιβιοτικά μπορούν να προκαλέσουν αλλεργίες στον άνθρωπο, προβλήματα στην παρασκευή ζυμωμένων τροφίμων και τέλος ανάπτυξη ανθεκτικών στελεχών παθογόνων βακτηρίων. Για αυτούς τους λόγους, τα τελευταία χρόνια δίνεται μεγάλη σημασία στην παρακολούθηση των αντιβιοτικών στο γάλα μέσω εκπαίδευσης των κτηνοτρόφων ως προς την χρήση τους, αλλά και ως προς την ανίχνευσή τους. Πραγματοποιούνται συνεχείς έλεγχοι από τους παραγωγούς του γάλακτος, αλλά και από την βιομηχανία τροφίμων τόσο στις πρώτες ύλες όσο και στα τελικά προϊόντα. Τέλος, η καθιέρωση αυστηρότερου νομοθετικού πλαισίου έχει μεριμνήσει για τα όρια ανίχνευσης υπολειμμάτων αντιβιοτικών στο γάλα. Στα πλαίσια της συγκεκριμένης εργασίας, καθώς, όπως προαναφέρθηκε το φαινόμενο ύπαρξης αντιβιοτικών στο γάλα μπορεί να προκαλέσει πληθώρα επιπτώσεων τόσο στον άνθρωπο όσο και στην βιομηχανία τροφίμων, μελετήθηκε πειραματικά, με την μέθοδο Elisa, η ανίχνευση αντιβιοτικών σε γάλατα του εμπορίου. Παραλήφθηκαν, από την αγορά γάλατα που βρίσκονται στα ράφια των supermarkets και προορίζονται για πώληση, με σκοπό να

αναλυθούν στο Πολυδύναμο εργαστήριο του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων και να διαπιστωθεί η ύπαρξη αντιβιοτικών. Συμπερασματικά, καταλήξαμε πως κανένα από τα γάλατα που μελετήθηκαν περιείχαν αντιβιοτικά σε συγκεντρώσεις πολύ μικρότερες από αυτές των ορίων της νομοθεσίας.

5.4. Συμπεράσματα

Επί του παρόντος, η ύπαρξη αντιβιοτικών στο γάλα είναι ένα από τα φλέγοντα ζητήματα, έχοντας μεγάλο ενδιαφέρον για τη δημόσια υγεία από πολλές απόψεις. Σύμφωνα με τις ερευνητικές μελέτες, οι αιτιολογικοί παράγοντες των αντιβιοτικών στο γάλα δεν είναι λίγοι. Διάφορες αιτίες ευθύνονται επίσης για την παρουσία υπολειμμάτων αντιβιοτικών στο γάλα. Η ανίχνευση και η ποσοτικοποίηση των υπολειμμάτων με ακρίβεια και οικονομικά αποδοτικό τρόπο εντός του συντομότερου δυνατού χρόνου είναι πάντα μια πρόκληση. Λίγες τεχνικές έχουν αναπτυχθεί πρόσφατα για την ανίχνευση υπολειμμάτων και οι ερευνητικές μελέτες βρίσκονται σε εξέλιξη σε αυτόν τον τομέα για την επίτευξη των δυνατοτήτων. Οι αυξανόμενες τάσεις της εργασίας σε αυτό το θέμα υποδηλώνουν σίγουρα την ανησυχητικά αυξανόμενη χρήση αντιβιοτικών στα ζώα και την απειλή καταλοίπων, καθώς και την αυξανόμενη ανησυχία. Από την ανάλυση της βιβλιογραφίας, η χρωματογραφική τεχνική έχει βρεθεί ότι είναι η πιο ευαίσθητη, συγκεκριμένη, και αξιόπιστη για αυτή τη σύγχρονη εποχή. Ως εκ τούτου, εξακολουθούν να εφαρμόζονται διάφορες τροποποιήσεις στις χρωματογραφικές μεθόδους και πρέπει να εκτελεστούν ολοκληρωμένες ερευνητικές εργασίες στο μέλλον για τη μεγιστοποίηση των δυνατοτήτων. Οι πρόσφατοι κανονισμοί, ωστόσο, που απαγορεύουν την χρήση των κτηνιατρικών φαρμάκων, πλην ορισμένων εξαιρέσεων, τονίζουν τη σημαντικότητα της ταχείας ανίχνευσης των αντιβιοτικών στο γάλα με μεθόδους όπως η ELISA. Η ανίχνευση των αντιβιοτικών είναι πλέον πιο σημαντικό να γίνεται γρήγορα με φθηνότερες μεθόδους, παρά αναλυτικά, με πιο πολύπλοκες όπως την υγρή και την αέρια χρωματογραφία.

Βιβλιογραφία

- Adachi, S. (1958). *Nature*. *Nature* 181, p. 840.
- Ahmed, S., Ning, J., Peng, D., Chen, T., Ahmad, I., Ali, A., . . . Yuan, Z. (2020). Current advances in immunoassays for the detection of antibiotics residues: a review. *Food and Agricultural Immunology*, 31(1), 268-290.

- Al.Kubaysi, S. A. (2008). Clinical and subclinical mycotic mastitis and the sensitivity and specificity of California Mastitis Test for diagnosis of subclinical mastitis in ewes in Al –Fallouja city. *. Vet.Sci.1,1*.
- Ali Mohammed Hasan, K., & Nabhan Yassein, S. (2018). Prevalence and type of fungi in milk from. *Online Journal of Veterinary Research*, pp. 669-674.
- Anetta, L., Peter, M., Agnieszka, G., & Josef, G. (2012). Concentration of selected elements in raw and ultra heat treated cow milk. *J Microbiol Biotechnol Food Sci.*, pp. 795-802.
- Artursson, K., Schelin, J., Lambertz, S. T., Hansson, I., & Olsson, E. (2018, November 2). Foodborne pathogens in unpasteurized milk in Sweden. *International Journal of Food Microbiology*, pp. 120-127.
- Aziz, M. M. (2012). *Prevalence of Bovine mastitis caused by C. albicans*. M.Sc. Thesis-Zoonotic diseases/College of Veterinary Medicine-Baghdad University.
- Bauman, D. E., Maher, I. M., Wall, R. J., & Lock, A. L. (2006, April 4). Major Advances Associated with the Biosynthesis of Milk. *Journal of Dairy Science*, pp. 1235-1243.
- Belete, T., Hussen, A., & Maheswara Rao, V. (2014). Determination of Concentrations of Selected Heavy Metals in Cow's Milk: Borena Zone, Ethiopia. *Journal of Health Science*, pp. 105-112.
- Beyene, T. (2016). Veterinary drug residues in food-animal products: its risk factors and potential effects on public health. *J Vet Sci Technol.*, 7(1), 1-7.
- Bleich, S. N., & Vercammen, K. A. (2018). The negative impact of sugar-sweetened beverages on children's health: An update of the literature. *BMC Obesity*, pp. 5, 1–27.
- Bole, F., Goffin, V., Edery, M., Binart, N., & Kelly, P. (1998, June). Prolactin (PRL) and its receptor: actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice. *Endocrine Reviews*, pp. 225-68.
- Bos, C., Gaudichon, C., & Tome, D. (2000). Nutritional and physiological criteria in the assessment of milk protein quality for humans. *J Am Coll Nutr*, pp. 191–S205.
- Bradley, A. J., & Green, M. J. (2000, September). A Study of the Incidence and Significance of Intramammary Enterobacterial Infections Acquired During the Dry Period. *Journal of Dairy Science*, pp. 1957-1965.
- Carson, M. C., Chu, P. S., & Von Bredow, J. (1995). Toward a Regulatory Method: Comparison and Validation of Multi-residue Procedures for Determination of β -Lactam Antibiotics in Milk. In W. A. Moats, & M. B. Medina, *Veterinary Drug*

Residues: Food Safety; Symposium at the 209th National Meeting of the American Chemical Society (pp. 2-7). Washington DC, U.S.A.: American Chemical Society.

- Chen, Y., Li, X., Yang, M., Yang, L., Han, X., Jiang, X., & Zhao, B. (2017). High sensitive detection of penicillin G residues in milk by surface-enhanced Raman scattering. *Talanta*, 167(15), 236-241.
- Chilliard, Y., Glasser, F., Ferlay, A., Bernard, L., Rouel, J., & Doreau, M. (2007). Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*, pp. 828–855.
- Codex Alimentarius, 2011. (n.d.). Milk and Milk Products, Second edition. *WORLD HEALTH ORGANIZATION, FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS*. Rome.
- Coffey, L., Margo, H., & Wells, A. (2007, 04 02). *Goats: Sustainable Production Overview*. Retrieved from Wayback Machine.
- Conzuelo, F., Montiel, V. R., Campuzano, S., Gamella, M., Torrente-Rodríguez, R. M., Reviejo, A. J., & Pingarrón, J. M. (2014). Rapid screening of multiple antibiotic residues in milk using disposable amperometric magnetosensors. *Analytica Chimica Acta*, 820(11), 32-38.
- Conzuelo, F., Ruiz-Valdepenas Montiel, V., Campuzano, S., Gamella, M., Torrente-Rodríguez, R. M., Reviejo, A. J., & . (2014). Rapid screening of multiple antibiotic residues in milk using disposable amperometric magnetosensors. *Anal Chim Acta*, 8(20), 32-8.
- Cooper, S., Huntley, S. J., Crump, R., Lovatt, F., & Green, L. E. (2016, March 16). A cross-sectional study of 329 farms in England to identify risk factors for ovine clinical mastitis. *Preventive Veterinary Medicine*, pp. 89-98.
- Currirer, R. W., & Widness, J. A. (2018). A Brief History of Milk Hygiene and Its Impact on Infant Mortality from 1875 to 1925 and Implications for Today: A Review. *International Assosiation for Food Protection*, pp. 1713-1722.
- Du Preez, J. H. (2000, September 1). Bovine mastitis therapy and why it fails : continuing education. *Sabinet African Journals*.
- Du, B., Wen, F., Guo, X., Zheng, N., Zhang, Y., Li, S., . . . Wang, J. (2019). Evaluation of an ELISA-based visualization microarray chip technique for the detection of veterinary antibiotics in milk. *Food Control*, 106.
- Duarte, C. M., Freitas, P. P., & Bexiga, R. (2015, October 8). Technological advances in bovine mastitis diagnosis: an overview. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*.

- EFSA. (2014, December 19). Scientific Opinion on the welfare risks related to the farming of sheep for wool, meat and milk production. *EFSA Journal (European Food Safety Authority)*.
- EFSA. (2016). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and foodborne outbreaks in 2015. *EFSA J.*, 14(12), σ. 4634.
- Elwood, P. C., Pinckering, J. E., & Hughes, J. (2004). Milk drinking, ischemic heart disease and ischemic stroke II. Evidence from cohort studies. *Eur J Clin Nutr*, pp. 718–72.
- Embrapa & Brazilian Ministry of Agriculture. (2016). Delvotest® T - according to the criteria of the project 'Performance evaluation and validation of tests for antibiotic residues in raw milk.
- Enb, A., Abou , D. M., Abd-Rabou,, N. S., Abou-Arab,, A. K., & El-Senaity, M. H. (2009). Chemical composition of raw milk and heavy metals behavior during processing of milk products. *Global Veterinaria*, pp. 268-275.
- European Commission Council Directive. (2010). Commission staff working document on the implementation of national residue monitoring plans in the member states in 2009.
- Fagiolo, A., & Lai, O. (2007). Mastitis in buffalo. *Italian Journal of Animal Science*, pp. 200-206.
- FAO Production Yearbook. (1979). Food and Agriculture Organization of the United Nations. *FAO*.
- FAO, 2019. (n.d.). Dairy and dairy products- OECD-FAO agricultural outlook 2019-2028.
- FAO/WHO. (2004). *Code of Hygienic Practice for Milk and Milk Products*. World Health Organization : Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Fei, X., Kang, R., Yu-ze, Y., Jiang-peng, G., Guang-peng, M., Yi-ming, L., & . (2015). Immunoassay of chemical contaminants in milk: a review. *J. Integr. Agric.*, 14(11), 2282-2295.
- Fetrow, J. (2000). Mastitis: an economic consideration. *Proceedings of the 39th Annual Meeting of the National Mastitis Council.*, pp. 3-47.
- Galanidis, N., Petridou, E., & Filioussis, G. (2008, September). Mortality in adult goats attributed to *Mycoplasma capricolum* subspecies *capricolum*. *ResearchGate*, pp. 278-9.

- Gonzalo, C., Martinez, J. R., Carriedo, J. A., & Primitivi, F. S. (2003, January). Fossomatic Cell-Counting on Ewe Milk: Comparison with Direct Microscopy and Study of Variation Factors. *Journal of Dairy Science*, pp. 138-145.
- Gopal, N., Hill, C., Ross, P. R., Beresford, T. R., Fenelon, M. A., & Cotter, P. D. (2015). The prevalence and control of bacillus and related spore-forming bacteria in the dairy industry. *Front. Microbiol.*, p. 1418.
- Gulbe, G., & Valdovska, A. (2014). Diversity of Microscopic Fungi in the Raw Milk from Latvian Organic Farms. *Proc. Latv. Univ. Agr*, p. 326.
- Haenlein, G., & Wendorff, W. (2006). Sheep milk—production and utilization of sheep milk. In Y. Park, & G. Haelein, *Handbook of milk of non-bovine mammal* (pp. 137–194). UK and Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing Professional,.
- Hamann, J., Tolle, A., & Hesscheu, W. (1979). Antibiotic and sulfonamides. *Int Dairy Fed Bull*, 113-143.
- Hassan, M. M., Amin, K. B., Ahaduzzaman, M., Alam, M., Faruk, S. A., & Uddin, I. (2014). Antimicrobial resistance pattern against E. coli and Salmonella in layer poultry. *Res. J. Vet. Pract.*, 2, 30-5.
- Hayden, S., Kuchler, F., & Haln, W. (2021, April 24). Is competition among soft drinks, juices, and other major beverage categories responsible for reducing Americans' milk consumption? *Agribusiness* .
- Hennekinne, J. A., De Buyser, M. L., & Dragacci, S. (2012). Staphylococcus aureus and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiol. Rev.*, 36, pp. 815-836.
- Hillerton, E., Halley, J., Noaves, B. I., & Rose, P. R. (1999). Detection of Antimicrobial Substances in Individual Cow and Quarter Milk Samples Using Delvotest Microbial Inhibitor Tests. *Journal of dairy Science*, pp. 704-711.
- Huth, P. J., DiRienzo, D. B., & Miller, G. D. (2006, April 4). Major Scientific Advances with Dairy Foods in Nutrition and Health. *Journal of Dairy Science*, pp. 1207-1221.
- Institute for Agricultural and Fisheries Research. (2014). Validation of Delvotest®T for screening antimicrobials in milk.
- Jenness, R. (1997). Composition of Milk. In R. Jenness, *Composition of Milk* (pp. 1-38).
- Jensen, R. G. (1995). Handbook of milk composition. In R. G. Jensen, *Handbook of milk composition*. London: Academic Press.
- Katzung, B. (2009). Βασική & Κλινική Φαρμακολογία. In B. Katzung, *Βασική & Κλινική Φαρμακολογία* (pp. 774-776). Πασχαλίδης.

- Kaur, K., Saini, S., Singh, B., & Malik, A. K. (2012). Highly Sensitive Synchronous Fluorescence Measurement of Danofloxacin in Pharmaceutical and Milk Samples Using Aluminium (III) Enhanced Fluorescence. *Journal of Fluorescence*, 22, 1407–1413.
- Kebede, G., Zenebe, T., Disassa, H., & Tolosa, T. (2014). Review on detection of antimicrobial residues in raw bulk milk in dairy farms. *Afr. J. Basic Appl. Sci.*, 6(4), 87-97.
- Khanal, B. S., Sadiq, M. B., Singh, M., & Anal, A. K. (2018). Screening of antibiotic residues in fresh milk of Kathmandu Valley, Nepal. *J. Environ. Sci. Health*, 53(1), 57-86.
- King, C. G., & Waugh, W. A. (1934, July). The Effect of Pasteurization upon the Vitamin C Content of Milk. *Journal of Dairy Science*, pp. 489-496.
- Kratz, M., Baars, T., & Guyenet, S. (2013). The relationship between high-fat dairy consumption and obesity, cardiovascular, and metabolic disease. *Eur J Nutr*, pp. 1–24.
- ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΚ) Αριθ. 853/2004. (2004, Απρίλιος 29). Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης. για τον καθορισμό ειδικών κανόνων υγιεινής για τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης.
- Lam, T., Riekerink, O. R., Sampimon, O., & Smith, H. (2009). Mastitis diagnostics and performance monitoring: a practical approach. *Irish Veterinary Journal*.
- Lee, G. J., Birken, C. S., & Parkin, P. C. (2014). Consumption of non-cow's milk beverages and serum vitamin D levels in early childhood. *CMAJ*, pp. 1287–1293.
- Lucey, J. A. (2015). Raw milk consumption: Risks and benefits. *Nutr. Today*, pp. 189-193.
- Makinen, O., Wanhalinna, V., & Zannini, E. (2015). Foods for special dietary needs: non-dairy plant based milk substitutes and fermented dairy type products. *Crit Rev Food Sci Nutr*, pp. 339–349.
- McMurry, J. (2011). *Organic chemistry: with biological applications 2nd ed.* Belmont, CA: Brooks/Cole.
- Meng, H. L., Chen, G. H., Guo, X., Chen, P., Cai, Q. H., & Tian, Y. F. (2014). Determination of five quinolone antibiotic residues in foods by micellar electrokinetic capillary chromatography with quantum dot indirect laser-induced fluorescence. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 406, 3201–3208.

- Mensah, S. E., Koundande, O. D., Sandres, P., Laurentie, M., & Mensah, G. A. (2014). Antimicrobial residues in foods of animal origin in Africa: public health risks. *Rev. Sci. Tech.*, 33, 987–96. 975–86.
- Mishra, G. K., Sharma, A., & Bhand, S. (2015). Ultrasensitive detection of streptomycin using flow injection analysis-electrochemical quartz crystal nanobalance (FIA-EQCN) biosensor. *Biosensors and Bioelectronics*, 67, 532-539.
- Mohammadzadeh, M., Montaseri, M., Hosseinzadeh, S., Majlesi, M., Berizi, E., Zare, M., . . . Conti, G. O. (2022). Antibiotic residues in poultry tissues in Iran: A systematic review and meta-analysis. *Environmental Research*, 204.
- Moore, L. L., Bradlee, L., Gao, M. D., & Singer, M. R. (2008). Effects of average childhood dairy intake on adolescent bone. *The Journal of Pediatrics*, pp. 153(5), 667-673.
- Murphy, M. M., Douglass, J. S., Johnson, R. K., & Spence, L. A. (2008). Drinking flavored or plain milk is positively associated with nutrient intake and is not associated with adverse affects on weight status in USA children and adolescents. *Journal of the American Dietetic Association*, pp. 108 (4), 631-639.
- Na lampang, K., Chongsuivatwong, V., & Kitikoon, V. (2007). Pattern and determinant of antibiotics used on dairy farms in Songkhla province. *Trop. Anim. Health Prod.*, 39(5), 355-361.
- Nagao, K., & Yanagita, T. (2010). Medium-chain fatty acids: functional lipids for the prevention and treatment of the metabolic syndrome. *Pharmacol*, pp. 208–212.
- Nasr, I. N., Sallam A., A. A., & Abd El-Khair, A. A. (2007). Monitoring of certain pesticide residues and some heavy. *J Appl Sci*, pp. 3038-3044.
- Nestlé Research Centre. (2015). Delvotest® T validation in analysis of 27 antibiotic residues in raw cow's milk and milk-based products. Lausanne, Switzerland: Nestlé Factory Laboratory.
- Nisha, A. R. (2008). Antibiotic residued - a global health hazard. *Vet World*, 1(12), 375-377.
- Olatoye, I. O., Daniel, O. F., & Ishola, S. A. (2016). Screening of antibiotics and chemical analysis of penicillin residue in fresh milk and traditional dairy products in Oyo state, Nigeria. *Vet. World*, 9(9), 948-954.
- Oliver, S. P., Jayrao, B. M., & Almeida, R. A. (2005, June 1). Foodborne Pathogens in Milk and the Dairy Farm Environment: Food Safety and Public Health Implications. *Foodborne Pathogens and Disease*.

- Oste, R., & Jargerstand, M. (1997). Vitamins in milk and milk products. In *Dairy Chemistry Volume 3* (pp. 347-402). Beltsville, Maryland.
- Ozen, A. E., Pons, A., & Tur, J. A. (2012, August 1). Worldwide consumption of functional foods: a systematic review. *ILSI*, pp. 472–481.
- Pagona, P. A. (2010). *Διερεύνηση των αιτιών που οδηγούν τα μεγάλα αιγοπρόβατα (μεγαλύτερα των 14 μηνών) σε σφαγή*. Θεσσαλονίκη.
- Patton, S. (2017). Milk: Its Remarkable Contribution to Human Health and Well-Being. In S. Patton, *Milk: Its Remarkable Contribution to Human Health and Well-Being* (p. 263). Transaction Publishers.
- PAVIĆ, V., ANTUNAC, N., MIOČ, B., IVANKOVIĆ, A., & HAVRANEK, J. L. (2002). Influence of stage of lactation on the chemical. *Czech J. Anim. Sci.*, pp. 80–84.
- Pereira, M. A., Jacobs, D. R., & Van Horn Jr., L. (2002). Dairy consumption, obesity, and the insulin resistance syndrome in young adults. *JAMA*, pp. 2081–2089.
- Piñero, M. Y., Garrido-Delgado, R., Bauza, R., Arce, L., Valcárcel, M., ., & . (2012). Easy sample treatment for the determination of enrofloxacin and ciprofloxacin residues in raw bovine milk by capillary electrophoresis. *Electrophoresis*.
- Prajapati, J. O., Kleinekathofer, U., & Winterhalter, M. (2021). Prajapati, J. D., Kleinekathöfer, U., & Winterhalter, M. (2021). How to Enter a Bacterium: Bacterial Porins and the Permeation of Antibiotics. *CHEMICAL REVIEWS*, pp. 5158-5192.
- Pulina, G. (2004). *Dairy Sheep Nutrition*. Italy: CABI.
- Qin, Y., Jatamunua, F., Zhang, J., Li, Y., Han, Y., Zou, N., . . . Pan, C. (2017). Analysis of sulfonamides, tilmicosin and avermectins residues in typical animal matrices with multi-plug filtration cleanup by liquid chromatography–tandem mass spectrometry detection. *Journal of Chromatography B*, 1053, 27-33.
- Riekerink, R., Barkema, H. W., Kelton, D. F., & Scholl, D. T. (2008, April 4). Incidence rate of clinical mastitis on Canadian dairy farms. *Journal of Dairy Science*, pp. 1366-1377.
- Rossi, R., Saluti, G., Moretti, S., Diamanti, I., Giusepponi, D., & Galarini, R. (2018). Multiclass methods for the analysis of antibiotic residues in milk by liquid chromatography coupled to mass spectrometry: a review. Food additives and contaminants. *Food Addit. Contam Part A Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.*, 35(2), 242-257.
- Ruegg, P. L. (2003, March 1). Investigation of mastitis problems on farms. *Veterinary Clinics: Food animal practice*, pp. 47-73.

- Sachi, S., Ferdous, J., Sikder, M. H., & Hussani, S. M. (2019). Antibiotic residues in milk: Past, present, and future. *J. Adv. Vet. Anim. Res.*, 6(3), 315-332.
- Sahan, H. F. (2011). *Prevalence of mycotic mastitis in cows in Missan Governorate*. M.Sc. Thesis-College of Veterinary Medicine-Baghdad University.
- SanJose, C., Fernandez, L., & Palacios, P. (1987). Food Protect. *Food Protect* 50, p. 1004.
- Seyedmousavi, S., Bosco, S., Hoog, D., Ebel, F., Elad, D., Gomes, R. R., . . . Guillot, J. (2018). Fungal infections in animals: a patchwork of different situations. *Medical Mycology*, pp. 165-187.
- Shahani, K. M., Harper, W. J., Jensen, R. M., Parry, J., & Zittle, C. A. (1973, May). Enzymes in Bovine Milk: A Review. *Journal of Dairy Science*, pp. 531-543.
- Sinanoglou, V. J., Koutsouli, P., Fotakis, C., Sotiropoulou, G., Cavouras, D., & Bizelis, I. (2015). Assessment of lactation stage and breed effect on sheep milk fatty acid profile and lipid quality indices. *Dairy Scienc and Technology*, pp. 509-531.
- Singh, S., Shukla, S., Tandia, N., Kumar, N., & Paliwal, R. (2014). Antibiotic residues: a global challenge. *Pharma. Sci. Monitor*, 5(3), 184-197.
- Singhal, S., Baker, R. D., & Baker, S. S. (2017, May). A Comparison of the Nutritional Value of Cow's Milk and Nondairy Beverages. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition (JPGN)*, pp. 799-805.
- Spanamberg, A., Fraga, C., Ferreiro, L., Aguinisky, M., Sanches, E., Roehe, C., . . . Santurio, J. (2014). Yeasts in the Raw Ewe's Milk. *Acta Scientiae Veterinariae*.
- Stergiadis, S., Nørskov, N. P., Purup, S., Givens, I., & Lee, M. R. (2019, October 11). Comparative Nutrient Profiling of Retail Goat and Cow Milk. *Nutrients*.
- Straub, R. F., & Voykner, R. D. (1993). Determination of penicillin G, ampicillin, amoxicillin, cloxacillin and cephalosporin by high-performance liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography*, 647(1), 167-181.
- Thureen, P. J., & Hay, W. W. (2006). Neonatal nutrition and metabolism. *Cambridge University Press*, 377.
- Tremonte, P., Tipaldi, L., Succi, M., Pannella, G., Falasca, L., Capilongo, V., . . . Sorrentino, E. (2014, June). Raw milk from vending machines: Effects of boiling, microwave treatment, and refrigeration on microbiological quality. *Journal of Dairy Science*, pp. 3314-3320.

- Troyano, E., Olano, A., Fernández-Díaz, M., Sanz, J., & Martínez-Castro, I. (1991). Gas chromatographic analysis of free monosaccharides in milk. *Chromatographia*, 32 (7-8), pp. 379-382.
- Vaclavik, V. A., & Christian, E. A. (2014). *Essentials of Food Science*. New York: Springer.
- Van Boeckel, T. P., Brower, C., Gilbert, M., Grenfell, B. T., Levin, S. A., Robinson, T. P., & . (2015). Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 112(18), 5649-5654.
- Van den Meersche, .., Van Pamel, .., Van Poucke, .., Herman, L., Heyndrickx, M., Rasschaert, G., & . (2016). Development, validation and application of an ultra-high performance liquid chromatographic-tandem mass spectrometric method for the simultaneous detection and quantification of five different classes of veterinary antibiotics in goat milk. *J Chromatogr A.*, 14(29), 248–57.
- Van Toon, H., & Hettinga, K. (2015, August). Dairy in a sustainable diet: a question of balance. σσ. 48-54.
- Vieitez, I., Irigaray, B., Callejas, N., Gonzalez, N., Gimenez, S., Arechavaleta, A., . . . Gambaro, A. (2016, May). Composition of fatty acids and triglycerides in goat cheeses and study of the triglyceride composition of goat milk and cow milk blends. *Journal of Food Composition and Analysis*, pp. 95-101.
- Voutsinas, L., Pappas, C., & Katsiari, M. (2009, June 01). The composition of Alpine goats' milk during lactation in Greece. *Journal of Dairy Research*, pp. 41 - 51.
- Wang, L., Wu, J., Wang, Q., He, C., Zhou, L., Wang, J., & Pu, Q. (2012). Rapid and Sensitive Determination of Sulfonamide Residues in Milk and Chicken Muscle by Microfluidic Chip Electrophoresis. *J. Agric. Food Chem.*, 60(7), 1613-1618.
- Wang, Y., Li, X., Zhang, Z., Ding, S., Jiang, H., Li, J., . . . Xia, X. (2016). Simultaneous determination of nitroimidazoles, benzimidazoles, and chloramphenicol components in bovine milk by ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 192, 280-287.
- Wayback Machine. (2008, 05 03). *The World's Healthiest Foods- Milk goat*. Retrieved from Wayback Machine.
- Weaver, L. (1992). Antibiotic residues in milk and meat: perceptions and realities. *Vet Med.*, 12, 1222-8.
- Weiss, S., Davis, E., Wojtanowski, A. C., Foster, G. D., Glanz, K., & Karpyn, A. (2014, September 16). Consumer taste tests and milk preference in low-income, urban. *Public Health Nutrition*, pp. 1419–1422.

- Welch, H. (1957). Problems of Antibiotics in Food as the Food. *Public Health and the Nations Health*.
- WHO/FAO, 2021. (n.d.). Dairy market review - Emerging trends and outlook.
- Yetisen, A. K. (2013). Paper-based microfluidic point-of-care diagnostic devices. *Lab on a Chip*, 13(12), 2210-2251.
- Yves, B. (2010). Guide to Raising Dairy Sheep. *Extension Livestock team- Raising animals- Focus on production*.
- Zhang, H., Ren, Y., & Bao, X. (2009). Simultaneous determination of (fluoro) quinolones antibacterials residues in bovine milk using ultra performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Pharm. Biomed. Anal.*, 49(2), 367-374.
- ΑΑΔΕ. (2009). ΙΧ. Προϊόντα ζωικής προέλευσης εκτός αυτών του Κεφαλαίου Χ. Άρθρο 79, Συνθήκες και όροι παραγωγής και εμπορίας νωπού γάλακτος, θερμικά επεξεργασμένου γάλακτος και προϊόντων με βάση το γάλα.
- Αγροτικός Συνεταιρισμός Στρυμών. (2011). *Wayback Machine*. Ανάκτηση από Wayback Machine.
- Επίσημη Εφημερίδα των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων. (1986).
- Καμιναρίδης, Σ., & Μοάτσου, Γ. (χ.χ.). Γαλακτοκομία. Στο Σ. Καμιναρίδης, & Γ. Μοάτσου, *Γαλακτοκομία*. Αθήνα: ΕΜΒΡΥΟ.
- Κεχαγιάς, Χ. (1997). ΓΑΛΑ- ΕΠΙΣΤΗΜΗ, ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΕΛΕΓΧΟΙ ΓΙΑ ΤΗ ΔΙΑΣΦΑΛΙΣΗ ΤΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ. Στο Χ. Κεχαγιάς, *ΓΑΛΑ- ΕΠΙΣΤΗΜΗ, ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΕΛΕΓΧΟΙ ΓΙΑ ΤΗ ΔΙΑΣΦΑΛΙΣΗ ΤΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ* (σσ. 20-23). Αθήνα: ΙΩΝ.
- Κούλουρης, Σ. (2013). *Ανεπιθύμητες ουσίες στο γάλα από το περιβάλλον*. Διπλωματική Εργασία, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.
- Παππάς, Α., & Καλαντζόπουλος, Γ. (2007). Η ιστορία της ελληνικής βιομηχανίας γάλακτος. Στο Α. Παππάς, & Γ. Καλαντζόπουλος, *Η ιστορία της ελληνικής βιομηχανίας γάλακτος* (σ. 255). Αθήνα: Περιοδικός Τύπος Α.Ε.
- Ρογδάκης Εμμανουήλ. (2006). Γενική Ζωοτεχνία. Στο Ρ. Εμμανουήλ, *Γενική Ζωοτεχνία*. Αθήνα: Σταμούλη.
- Το Βήμα. (2008). Ανιχνεύτηκαν υπολείμματα γαλακτοκομικών ειδών σε αγγεία της προϊστορικής εποχής. *Εφημερίδα "Το Βήμα"*.
- Το Βήμα. (2015). *Εφημερίδα "Το Βήμα"*.

