



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ ΣΤΟ ΜΕΛΙ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ELISA**



**Εισηγήτριες:**

ANNA ΛΑΜΠΙΡΗ  
ΧΡΥΣΟΥΛΑ ΜΑΝΤΖΑΝΑ

**Επιβλέπουσα καθηγήτρια:**

ΔΗΜΗΤΡΑ ΧΟΥΧΟΥΛΑ

**ΑΘΗΝΑ 2021**

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Περίληψη .....	7
Abstract .....	8
Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή .....	9
1.1 Το μέλι και η παραγωγή του στην Ελλάδα .....	9
1.2 Ιστορική αναδρομή των αντιβιοτικών και η ύπαρξή τους στην μελισσοκομία .....	12
Κεφάλαιο 2: Το μέλι .....	13
2.1 Ορισμός μελιού.....	13
2.2 Η παραγωγή του.....	14
2.3 Ποιοτικά χαρακτηριστικά του μελιού .....	14
2.4 Η σύσταση του μελιού.....	15
2.5 Κρυστάλλωση του μελιού .....	15
2.6 Μέλι – το πρώτο προβιοτικό της φύσης .....	15
2.7 Νοθεία μελιού.....	16
2.8 Αντιμικροβιακή δραστηριότητα μελιού.....	16
2.9 Θεραπευτικές ιδιότητες μελιού .....	16
Κεφάλαιο 3: Τα είδη του ελληνικού μελιού .....	17
3.1 Οι κυριότερες κατηγορίες μέλιτος .....	17
3.2 Μέλι Πεύκου .....	18
3.4 Ανθόμελο.....	19
3.5 Μέλι από Θυμαρί .....	19
3.6 Μέλι Καστανιάς.....	19
3.7 Μέλι από Ρεϊκι (ρεικόμελο) .....	19
3.8 Μέλι Βαμβακιού .....	20
3.9 Μολυσματικοί παράγοντες μελιού .....	20
Κεφάλαιο 4: Αντιβιοτικά .....	21
4.1. Ορισμός και λόγοι χρήσης τους .....	21
4.2 Ο ρόλος των αντιβιοτικών στην κτηνοτροφία .....	22
4.3 Επίδραση της χρήσης των αντιβιοτικών στον άνθρωπο .....	23
Κεφάλαιο 5 : Αντιβιοτικά στο μέλι.....	25
5.1 Η παρουσία των αντιβιοτικών στο μέλι.....	25
5.2 Οι σημαντικότερες ασθένειες μελισσών .....	28

5.3 Ομάδες αντιβιοτικών που συναντώνται στο μέλι .....	29
Κεφάλαιο 6: Νομοθεσία Ε.Ε. και Ελλάδας .....	36
6.1 Ευρωπαϊκή νομοθεσία.....	36
6.2 Ελληνική νομοθεσία .....	38
6.3 Καταγεγραμμένες χρήσεις αντιβιοτικών στο μέλι .....	39
Κεφάλαιο 7: Μέθοδοι ανίχνευσης αντιβιοτικών .....	41
7.1 Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC).....	42
7.2 Υγρή χρωματογραφία σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας (LC- MS).....	42
7.3 Βιαισθητήρες ( Biosensors).....	43
7.4 Charm II .....	43
7.5 ELISA .....	44
Κεφάλαιο 8: Πειραματικό μέρος .....	47
8.1 Στόχος πειραματικής διαδικασίας .....	47
8.2 Μέθοδοι και υλικά.....	48
8.3 Πειραματική διαδικασία .....	49
8.4 Υπολογισμοί.....	53
8.5 Πειραματικά αποτελέσματα .....	54
8.6 Σύγκριση βιομηχανοποιημένων μελιών σε σχέση με μέλια παραγωγών .....	56
Κεφάλαιο 9: Σχολιασμός Αποτελεσμάτων .....	59
9.1 Στόχος της έρευνας.....	Error! Bookmark not defined.
9.2 Ανάλυση των αποτελεσμάτων .....	59
9.3 Έρευνες που πραγματοποιήθηκαν εντός και εκτός Ε.Ε.....	60
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....	64
Βιβλιογραφία.....	67

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

<i>Σχήμα 1: Παραγωγή μελιού στις χώρες της Ε.Ε. ....</i>	<i>10</i>
<i>Σχήμα 2: Εκτιμώμενος αριθμός κυψελών στις χώρες της Ε.Ε. ....</i>	<i>11</i>
<i>Σχήμα 3: Οι κατηγορίες της Elisa.....</i>	<i>44</i>
<i>Σχήμα 4: Αναπαράσταση των αναλυτικών μεθόδων για ανίχνευση αντιβιοτικών στα τρόφιμα .....</i>	<i>45</i>
<i>Σχήμα 5: Αναπαράσταση πειραματικής πορείας .....</i>	<i>52</i>
<i>Σχήμα 6: Γραμμική ευθεία πρότυπων διαλυμάτων .....</i>	<i>53</i>
<i>Σχήμα 7: Γράφημα στήλης απουσία παρουσία.....</i>	<i>55</i>
<i>Σχήμα 8: Γράφημα πίτας ποσοστών.....</i>	<i>56</i>

Σχήμα 9: Ποσοστό παρουσίας- απουσίας .....	57
Σχήμα 10: Διάκριση των δειγμάτων.....	60
Σχήμα 11: Απεικόνιση ποσοτήτων αντιβιοτικών.....	62

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Τα προϊόντα της μέλισσας .....	9
Πίνακας 2: Οι συνηθέστερες ομάδες αντιβιοτικών .....	23
Πίνακας 3: Μηχανισμοί αντιβιοτικών .....	24
Πίνακας 4: Σύγκριση διαφορετικών νομοθεσιών στα αντιβιοτικά στο μέλι .....	37
Πίνακας 5: Βιβλιογραφική ανασκόπηση για τις αναλυτικές μεθόδους και πρακτικές σχετικά με τον προσδιορισμό καταλοίπων στο μέλι .....	46
Πίνακας 6: Πίνακας πρότυπων διαλυμάτων .....	53
Πίνακας 7: Πειραματικά αποτελέσματα.....	54
Πίνακας 8: Δείγματα από βιομηχανίες.....	57
Πίνακας 9: Δείγματα από τοπικούς παραγωγούς .....	58
Πίνακας 10: Αποτελέσματα δειγμάτων έρευνας Πολωνίας.....	63

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Μέλι.....	13
Εικόνα 3: Αμφενικόλες .....	29
Εικόνα 2: Φουμαγγιλίνη .....	
Εικόνα 4: Σουλφοναμίδες .....	
Εικόνα 5: Σουλφαδιαζίνη .....	31
Εικόνα 6: Τετρακυκλίνες.....	31
Εικόνα 7: Τεραμυκίνη.....	32
Εικόνα 8: Αμινογλυκοσίδες.....	32
Εικόνα 9: Στρεπτομυκίνη.....	32
Εικόνα 10: Β-λακτάμες .....	34
Εικόνα 11: Μακρολίδες .....	34
Εικόνα 12: Παράγωγα νιτροφουρανίου .....	35
Εικόνα 13: Τα είδη της Elisa .....	45
Εικόνα 14: Multi Suldanamide Elisa Kit.....	47

**ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: ΧΟΥΧΟΥΛΑ ΔΗΜΗΤΡΑ**

**ΜΕΛΟΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ: ΑΝΤΩΝΟΠΟΥΛΟΣ ΔΙΟΝΥΣΙΟΣ**

**ΜΕΛΟΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ: ΣΤΡΑΤΗ ΕΙΡΗΝΗ**

## ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΩΝ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ

Οι κάτωθι υπογεγραμμένες Μαντζάνα Χρυσούλα του Κωνσταντίνου με αριθμό μητρώου 16124 και Λαμπίρη Άννα του Σπυρίδωνος με αριθμό μητρώου 16148 φοιτήτριες του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστήμης Τροφίμων του Τμήματος Επιστήμη και Τεχνολογία Τροφίμων, δηλώνουμε υπεύθυνα ότι:

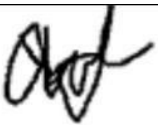
«Είμαστε συγγραφείς αυτής της πτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχαμε για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες κάναμε χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό 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 μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση των πτυχίων μας».

### Οι δηλούσες

Χρυσούλα Μαντζάνα

Λαμπίρη Άννα



## Περίληψη

Τα αντιβιοτικά χρησιμοποιούνται ως φάρμακα από πολύ παλιά προκειμένου να καταπολεμήσουν λοιμώξεις και να θεραπεύσουν ασθένειες, επικίνδυνες για τον ανθρώπινο οργανισμό. Παρόλα αυτά τα τελευταία χρόνια γίνεται συζήτηση σχετικά με τα αντιβιοτικά, που χρησιμοποιούνται στην κτηνοτροφία και έχουν απασχολήσει ιδιαίτερα τους επιστήμονες τροφίμων και τους γεωπόνους. Τα αντιβιοτικά χορηγούνται στα ζώα όταν έχουν νοσήσει, όμως έχουν καταγραφεί πολλά περιστατικά χορήγησης αντιβιοτικών στην κτηνοτροφία, χωρίς να κρίνεται απαραίτητο με αποτέλεσμα να προκαλούν αρνητικές επιπτώσεις όχι μόνο στα ίδια τα ζώα αλλά και στον καταναλωτή. Παρόλο που οι περιπτώσεις χρήσης αντιβιοτικών έχουν μελετηθεί αρκετά σε αγελάδες, χοίρους, πρόβατα και άλλα ζώα που σχετίζονται με την κτηνοτροφία, δεν φαίνεται να έχει μελετηθεί ιδιαίτερα η χρήση τους στο μέλι. Έχουν καταγραφεί αρκετά περιστατικά προσθήκης αντιβιοτικών στο μέλι, τα οποία δεν είναι σύμφωνα με την υπάρχουσα νομοθεσία της Ευρωπαϊκής Ένωσης και θα μπορούσαν ακόμη να χαρακτηριστούν επικίνδυνα για τις μέλισσες αλλά και για την δημόσια υγεία. Για αυτό το λόγο κρίνεται απαραίτητη η ανάπτυξη μεθόδων και πειραματικών εργασιών, προκειμένου να ανιχνευτούν τα αντιβιοτικά που μπορεί να έχουν προστεθεί παράνομα στο μέλι και να πραγματοποιηθεί έλεγχος σχετικά με το ποσοστό παρουσίας τους στην Ευρωπαϊκή και Ελληνική αγορά.

Η παρούσα εργασία γράφτηκε προκειμένου να παρουσιάσει τη σημαντικότητα ανίχνευσης αντιβιοτικών στο μέλι και τους λόγους για τους οποίους πρέπει να αποφεύγεται η χρήση τους στις μέλισσες. Ειδικότερα, αναλύονται 40 διαφορετικά δείγματα μελιού της Ελληνικής αγοράς, ώστε να προσδιοριστεί αν παρουσιάζουν υπολείμματα αντιβιοτικών. Ο πειραματικός έλεγχος πραγματοποιείται με την μέθοδο της ELISA. Με την μέθοδο αυτή ανιχνεύονται συγκεκριμένες ομάδες αντιβιοτικών. Στην συγκεκριμένη μελέτη υπολογίζεται η συγκέντρωση των δειγμάτων μελιού σε σουλφοναμίδη και καταγράφονται τα αντίστοιχα συμπεράσματα.

## Abstract

The antibiotics were widely used as drugs in order to fight against diseases and infections that are dangerous to human. However, recently there has been a discussion about the use of antibiotics in stock- farming and breeding, food scientists and agronomists are particularly concerned about the use of these substances. Antibiotics are given to animals when they are sick, although they have been reported many cases where they were given to animals, without being necessary, resulting in adverse effects to the animals and the consumers. Cases of using antibiotics have been extensively studied in animals, such as cows, pigs, sheep and other livestock-related animals, although their use in bee-derived honey does not seem particularly studied. Nevertheless, there have reported several cases of adding antibiotics to honey, which are not in line with the existing legislation of European Union and they also could considered as threatening to bees and public health. Consequently, it is necessary to develop methods and experimental work, in order to detect antibiotics that may have been illegally added to honey and at the same time, is required to calculate the percentage of their presence in the European and Greek market.

This particular thesis work was written to underline the importance of detecting antibiotics in honey and the reasons why their use in bees should be avoided. More specifically, 40 different honey samples that they were bought from the Greek market were analyzed to determine whether they have antibiotic residues or not. The experimental test conducted with the ELISA method. With this detector method, can be detected different antibiotic groups. In this study is calculated the concentration of honey samples, in sulfonamide. Conclusions are being discussed for this particular study.



# Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

## 1.1 Το μέλι και η παραγωγή του στην Ελλάδα

Το μέλι προέρχεται από την επεξεργασία του νέκταρος των λουλουδιών ή από τις εκκρίσεις διαφορών μερών των φυτών, που επεξεργάζονται από τις μέλισσες. Γενικότερα οι μέλισσες είναι έντομα της οικογένειας των υμενόπτερων, τα οποία θεωρούνται πολύ σπουδαία για τον άνθρωπο και για τη φύση, αφού διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη ζωική παραγωγή και την κτηνοτροφία. Τα πιο σημαντικά προϊόντα της μέλισσας είναι τα εξής:

### Πίνακας 1: Τα προϊόντα της μέλισσας

Πηγή: Η μελισσοκομία χωρίς δάσκαλο Ν.Ι.Νικολαΐδου (1981)

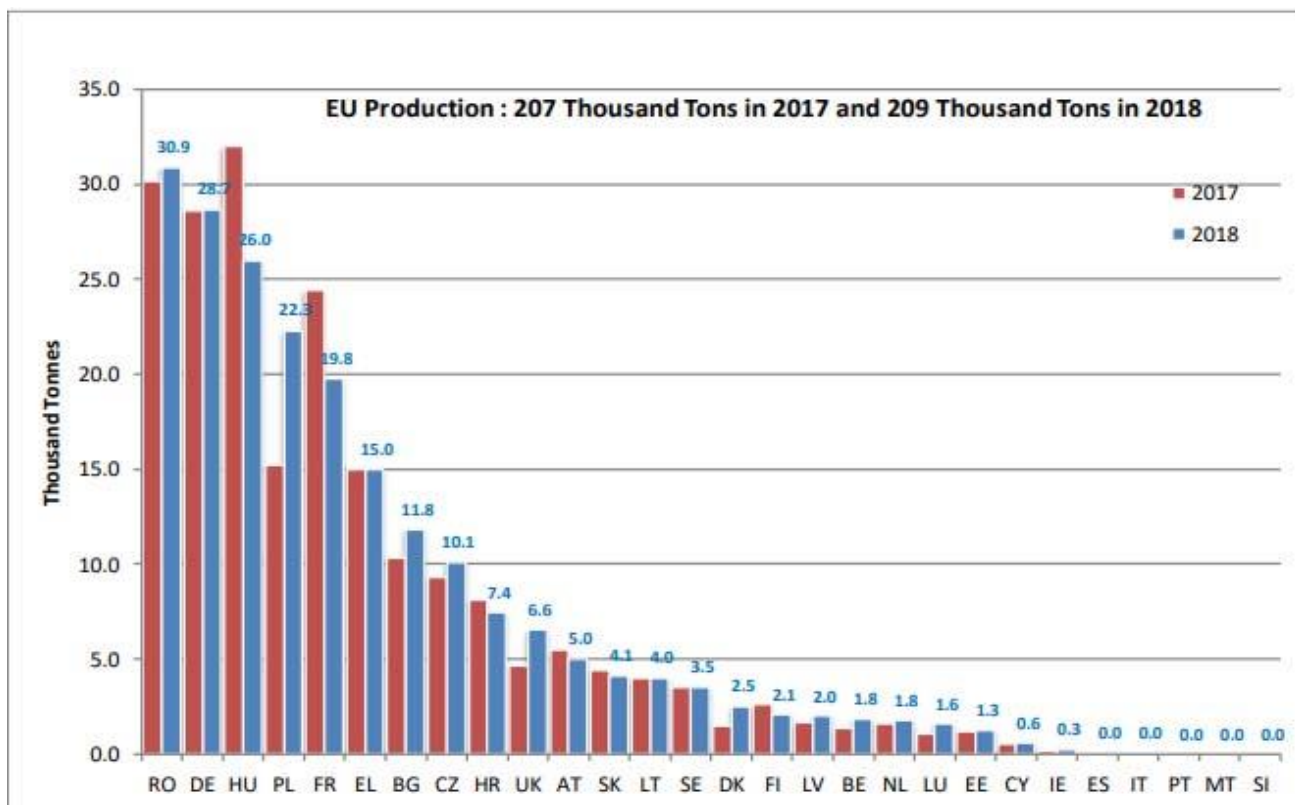
Βασιλικός πολτός	Παράγεται από εκκρίσεις αδένων της μέλισσας
Κερί	Παράγεται από εκκρίσεις αδένων της μέλισσας
Δηλητήριο	Παράγεται επίσης από εκκρίσεις αδένων της μέλισσας
Μέλι	Προϊόν που προέρχεται από το περιβάλλον του μελισσιού
Γύρη	Προϊόν που προέρχεται από το περιβάλλον του μελισσιού
Πρόπολη	Προϊόν που προέρχεται από το περιβάλλον του μελισσιού

Επίσης η μέλισσα συμβάλει σε πολύ μεγάλο ποσοστό στην επικονίαση, δηλαδή στην διαδικασία μεταφοράς γύρης με σκοπό την γονιμοποίηση και αναπαραγωγή των φυτών.

Αντικείμενο μελέτης, στην παρούσα εργασία από αυτά τα προϊόντα που αναγράφονται είναι το μέλι. Το μέλι προερχόμενο από μέλισσες χαρακτηρίζεται ως ένα φυσικό και αγνό προϊόν, αφού συνήθως δεν υφίσταται κάποιου είδους επεξεργασία. Υπάρχουν πολλά και διαφορετικά είδη μελιού, με διαφορετική σύσταση και μοναδική γεύση. Πέρα από εξαιρετική πηγή φαγητού, πολλοί πιστεύουν ότι αποτελεί και φάρμακο (Zaghoul et al, 2001) αφού παρουσιάζει αντιμικροβιακή και θεραπευτική δράση. Επίσης έχει αποδειχθεί ότι χρησιμοποιούνταν σαν φάρμακο ενάντια σε δερματικές μολύνσεις (Zumla & Lulat, 1989).

Σύμφωνα με την έρευνα της Eurostat την περίοδο 2004-2005 βρέθηκε ότι η Ελλάδα κατείχε την τέταρτη θέση στην Ευρώπη στην ετήσια παραγωγή μελιού και την δεύτερη στον αριθμό των κυψελών. Ειδικότερα υπολογίστηκε ότι διαθέταμε περίπου 1.497.690 κυψέλες και είχαμε ετήσια παραγωγή 16.000 τόνους, με κατά κεφαλή κατανάλωση γύρω στα 1,7 κιλά.

Παρακάτω παρουσιάζεται η εκτιμώμενη παραγωγή μελιού σε τόνους αλλά και ο αριθμός των κυψελών στις χώρες της Ε.Ε., σύμφωνα με μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε το 2017-2018 από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή.

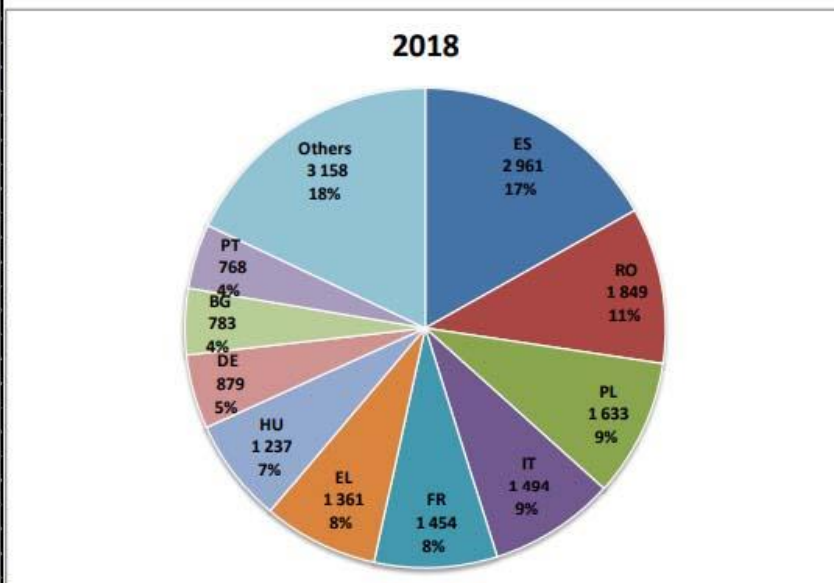


Σχήμα 1: Παραγωγή μελιού στις χώρες της Ε.Ε.

Πηγή: Honey Market Presentation CMO 2019

	2017	2018	
ES	2 868	2 961	↑ +3.2%
RO	1 603	1 849	↑ +15.3%
PL	1 553	1 633	↑ +5.2%
IT	1 396	1 494	↑ +7.0%
FR	1 360	1 454	↑ +6.9%
EL	1 264	1 361	↑ +7.6%
HU	1 239	1 237	↓ -0.2%
DE	859	879	↑ +2.3%
BG	766	783	↑ +2.3%
PT	721	768	↑ +6.4%
CZ	671	673	↑ +0.4%
HR	371	419	↑ +12.7%
AT	329	373	↑ +13.2%
SK	279	302	↑ +8.4%
UK	247	244	↓ -1.2%
SI	195	205	↑ +4.9%
LT	192	197	↑ +2.8%
SE	174	174	↔ +0.0%
DK	141	120	↓ -14.9%
LV	96	103	↑ +6.8%
NL	78	82	↑ +4.6%
FI	67	72	↑ +7.9%
BE	59	60	↑ +0.8%
CY	50	51	↑ +3.2%
EE	50	49	↓ -2.4%
IE	23	25	↑ +5.8%
LU	6	6	↔ -1.5%
MT	4	4	↔ +2.8%
EU	16 663	17 577	↑ +5.5%

European  
Commission



source: MS NAP

## Σχήμα 2: Εκτιμώμενος αριθμός κυψελών στις χώρες της Ε.Ε.

Πηγή: Honey Market Presentation CMO 2019

Σύμφωνα με τα παραπάνω διαγράμματα παρατηρούμε ότι η Ελλάδα κατέχει την έκτη θέση από όλη την Ευρώπη όσον αφορά την παραγωγή μελιού και τον αριθμό των κυψελών, για τα έτη 2017-2018.

Επομένως, γίνεται αντιληπτό ότι η χώρα μας χαρακτηρίζεται από μεγάλη παραγωγή και κατανάλωση μελιού, για αυτό τον λόγο είναι πολύ σημαντικό να μην μεταβάλλεται η σύσταση και η ποιότητά του. Δυστυχώς, αυτό δεν είναι πολλές φορές εφικτό, αφού μπορεί να μολυνθεί από εξωτερικούς παράγοντες, όπως είναι τα φυτοφάρμακα, τα βαρέα μέταλλα και τα αντιβιοτικά. Τα τελευταία θα αποτελέσουν το κύριο αντικείμενο μελέτης στην παρούσα έρευνα.

## 1.2 Ιστορική αναδρομή των αντιβιοτικών και η ύπαρξή τους στην μελισσοκομία

Τα αντιβιοτικά πρώτα χρησιμοποιήθηκαν σαν όρος από τον Selman Walks, το 1941 προκειμένου να περιγράψει τις μικρές ενώσεις, αποτελούμενες από μικρόβια, τα οποία ανταγωνίζονται για την ανάπτυξή τους με άλλα μικρόβια ( Clardy J., Fischbach M.A., Currie C.R. 2009). Το πρώτο όμως αντιβιοτικό που χρησιμοποιήθηκε στην ιατρική ήταν η πενικιλίνη, που ανακαλύφθηκε από τον Sir Alexander Fleming το 1928 και αποτέλεσε θεμέλιο για τα αντιβιοτικά φάρμακα, καθώς χρησιμοποιείται για την θεραπεία πολλών ασθενειών, ακόμη και σήμερα. Προς τα τέλη του 1940, αρχές 1950 χρησιμοποιήθηκαν και άλλα αντιβιοτικά για την θεραπεία κλινικών ασθενειών, όπως η στρεπτομυκίνη και η τετρακυκλίνη. Αυτά τα αντιβιοτικά μπορούν να καταπολεμήσουν μεγάλο πλήθος παθογόνων βακτηρίων ( Kourkouta , Tsaloglidou et al 2018)

Εκτός από την θεραπεία κλινικών ασθενειών, στους ανθρώπους, τα αντιβιοτικά χρησιμοποιούνται ευρέως και στην κτηνοτροφία, προκειμένου να θεραπεύσουν τις βακτηριακές λοιμώξεις των ζώων αλλά και να αυξήσουν την απόδοσή τους (Johnston A.M. 2001). Παρόλο που έχει μελετηθεί αρκετά ο ρόλος τους στους περισσότερους κτηνοτροφικούς κλάδους, δεν φαίνεται να έχει μελετηθεί ιδιαίτερα στην μελισσοκομία.

Αυτό μπορεί να ερμηνευτεί και από το γεγονός ότι το μέλι έχει χαρακτηριστεί από την παγκόσμια αγορά ως ένα φυσικό και υγιεινό προϊόν που είναι μικροβιακά ασφαλές για κατανάλωση. Έτσι υπάρχει η αντίληψη ότι δεν θα περιέχει βλαβερές ουσίες, όπως συμβαίνει σε άλλα τρόφιμα. Όμως η χρήση των αντιβιοτικών στο μέλι είναι ένα φαινόμενο που συμβαίνει αρκετά συχνά, όπως θα αποδειχθεί και στην παρούσα μελέτη και θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη τόσο από τους γεωπόνους , τους επιστήμονες τροφίμων αλλά και από τους καταναλωτές, καθώς η συστηματική χρήση των αντιβιοτικών στις μέλισσες, από τους μελισσοκόμους μπορεί να οδηγήσει σε αρνητικές επιπτώσεις τόσο για τις ίδιες τις μέλισσες, όσο και για τον καταναλωτή. Επομένως κρίνεται απαραίτητη η περαιτέρω έρευνα σχετικά με την ύπαρξη των αντιβιοτικών στην μελισσοκομία αλλά και η ανάλυση δειγμάτων μελιού, προκειμένου να ελεγχθεί η ύπαρξη τέτοιων ουσιών.

## Κεφάλαιο 2: Το μέλι

### 2.1 Ορισμός μελιού



Εικόνα 1: Μέλι

Μέλι είναι η φυσική γλυκιά ουσία που παράγουν οι μέλισσες του είδους *Apis mellifera* από το νέκταρ των φυτών ή από εκκρίσεις ζώντων μερών φυτών ή εκκρίματα εντόμων που βρίσκονται πάνω στα ζώντα μέρη των φυτών, τα οποία οι μέλισσες συλλέγουν, τα μετατρέπουν αναμειγνύοντας με ειδικές ύλες του σώματός τους, τα αποθέτουν, τα αφυδατώνουν, τα εναποθηκεύουν και τέλος τα φυλάσσουν στις κηρήθρες της κυψέλης, προκειμένου να ωριμάσουν (Κώδικας Τροφίμων και Ποτών 2016, Άρθρο 67 Παράρτημα Ι)

Το μέλι είναι ένα από τα πιο σύνθετα φυσικά τρόφιμα, που δεν δέχεται καμία επεξεργασία. Αποτελείται από νερό, φυσικά σάκχαρα, πρωτεΐνες, μέταλλα & ιχνοστοιχεία, ένζυμα, καροτενοειδή, βιταμίνες και αρωματικές ουσίες.

Είναι πλούσιο σε φλαβονοειδή και φαινολικά οξέα που εμφανίζουν ένα ευρύ φάσμα βιολογικών επιδράσεων και τα οποία δρουν επίσης ως φυσικά αντιοξειδωτικά (Alqarni, Owayss, Mahmoud, & Hannan, 2014).

## **2.2 Η παραγωγή του**

Το θεμελιώδες υλικό του μελιού είναι το νέκταρ και το μελίτωμα. Το ανθόμελο παράγεται εξολοκλήρου από το νέκταρ ενώ το πευκόμελο και γενικά τα σκουρόχρωμα μέλια από το μελίτωμα. Το νέκταρ το συλλέγουν οι μέλισσες από τα άνθη, ενώ το μελίτωμα προέρχεται από τα παράσιτα των φυτών.

Τα παράσιτα απορροφούν το χυμό, ο οποίος περνά από το πεπτικό τους σύστημα και σχηματίζεται το μελίτωμα, το οποίο χρησιμοποιούν για τις ανάγκες τους. Αυτό που περισσεύει βγαίνει με μορφή σταγονιδίων, που οι μέλισσες απομυζούν από το σώμα των παρασίτων ή από τα φύλλα των φυτών όπου πέφτει το μελίτωμα. Οι συλλέκτριες προσθέτουν στο νέκταρ και στο μελίτωμα σάλιο, όπου αυτό με τη σειρά του διασπά τη σακχαρόζη σε γλυκόζη και φρουκτόζη. Στη συνέχεια αποθηκεύεται στις κηρήθρες, για να θρέψουν την κυψέλη κατά την διάρκεια του χειμώνα.

Με το πέρασμα του χρόνου στη κηρήθρα το νερό εξατμίζεται μέσω του σταθερού αερισμού από τα φτερά των μελισσών. Επίσης η πυκνότητα του υγρού αυξάνει σε σάκχαρα ώσπου να φτάσει στο 70%-80%. Το προκύπτον κολλώδες, με μεγάλο ιξώδες υγρό είναι το γνωστό σε όλους μας μέλι. Οι μέλισσες το προστατεύουν με ένα κάλυμμα από κερί.

## **2.3 Ποιοτικά χαρακτηριστικά του μελιού**

- 1) Απουσία αντιβιοτικών ή φυτοφαρμάκων
- 2) Απαλλαγμένο από ανόργανες ή ξένες ύλες, π.χ. ευρώτες (μούχλα), έντομα, κόκκους άμμου.
- 3) το μέλι δεν πρέπει: να παρουσιάζει ξένη γεύση ή οσμή, να έχει τεχνητά τροποποιημένη οξύτητα καθώς και να μην έχει παρουσιαστεί το στάδιο της ζύμωσης.
- 4) Να είναι καλά συντηρημένο σε επιλεγμένα και πιστοποιημένα δοχεία
- 5) Να διεξάγονται έλεγχοι ώστε να υποδεικνύει τις προδιαγραφές του
- 6) Να συσκευάζεται σε εργαστήριο που τηρεί τα συστήματα ασφάλειας, υγιεινής και ποιότητας (ISO, HACCP).
- 7) Η χρήση ετικέτας είναι απαραίτητη ώστε να λαμβάνει ο καταναλωτής την ταυτότητα του προϊόντος.

## **2.4 Η σύσταση του μελιού**

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την σύσταση είναι τα είδη φυτών απ' όπου συλλέγουν οι μέλισσες το νέκταρ και το μελίτωμα, η φύση του εδάφους, η ράτσα μελισσών, η φυσική κατάσταση του μελισσιού, η εποχή, οι περιβαλλοντικές συνθήκες και οι συνθήκες κατεργασίας. Τα κύρια διατροφικά συστατικά είναι οι υδατάνθρακες (απλά σάκχαρα: φρουκτόζη και γλυκόζη). Εκτός από νερό, το μέλι περιέχει μικρές ποσότητες πρωτεϊνών, βιταμινών, μετάλλων, ιχνοστοιχείων, ενζύμων και πολυφαινολών, συμπεριλαμβανομένων των φλαβονοειδών από τη γύρη, τα οποία μπορούν να βοηθήσουν στην ταυτοποίηση της πηγής του μελιού.

## **2.5 Κρυστάλλωση του μελιού**

Η κρυστάλλωση γνωστή και ως ζαχάρωμα είναι μια φυσική, βιολογική ιδιότητα του φυσικού ακατέργαστου μελιού και δεν αλλάζει τη θρεπτική του αξία. Η κρυστάλλωση παρατηρείται κυρίως στο ανθόμελο.

Οι βασικοί παράγοντες που συμβάλλουν στην κρυστάλλωση του, είναι η ποσότητα της γλυκόζης και του νερού που περιέχει. Μέλι με υψηλή περιεκτικότητα σε γλυκόζη κρυσταλλώνει πολύ γρήγορα (1-2 μήνες) π.χ. μέλι ρεικιού ενώ μέλι με χαμηλότερη περιεκτικότητα σε γλυκόζη κρυσταλλώνει αργότερα ή καθόλου, π.χ. μέλι πεύκου.

Συνεπώς ένα κρυσταλλωμένο μέλι δεν είναι χαλασμένο ούτε νοθευμένο. Μπορεί να καταναλωθεί σε αυτή την κατάσταση διαφορετικά ρευστοποιείται σε μπεν – μαρί χωρίς να χάσει την αξία του.

## **2.6 Μέλι – το πρώτο προβιοτικό της φύσης**

Αποδείχτηκε, μετά από συνεχείς έρευνες ότι το μέλι των άγριων μελισσών περιέχει μεγάλες ποσότητες καλών βακτηρίων γαλακτικού οξέος, τα οποία καταπολεμούν δύο από τις σημαντικότερες βακτηριακές ασθένειες που επηρεάζουν τις μέλισσες. Παράλληλα, τα καλά βακτήρια γαλακτικού οξέος καταστρέφουν μεγάλες ποσότητες επιζήμιων μικροοργανισμών όπως βακτήρια και μύκητες που βρίσκονται στο νέκταρ και στη γύρη που συλλέγουν οι μέλισσες από τα λουλούδια και που θα μπορούσαν να καταστρέψουν την τροφή του μελισσιού.

## **2.7 Νοθεία μελιού**

Μια από τις συνηθέστερες μορφές νοθείας επιτυγχάνεται με σιρόπι ζάχαρης. Είναι εύκολο να ανιχνευτεί με απλή ανάλυση των σακχάρων του μελιού. Μια άλλη μέθοδος νοθείας που χρησιμοποιούνταν τα προηγούμενα χρόνια αποτελούσε η νοθεία με ιμβερτοποιημένη ζάχαρη ή ιμβερτοποιημένο άμυλο. Άλλου είδους νοθείες αποτελούν η νοθεία με ενζυματικά ιμβερτοποιημένο αμυλοσιρόπιο (ισογλυκόζη), με υψηλή περιεκτικότητα σε φρουκτόζη (HFCS), το οποίο πωλείται σαν υποκατάστατο μελιού αλλά και η νοθεία με ιμβερτοποιημένο αμυλοσιρόπιο (ισογλυκόζη), με θειικό οξύ που περιέχει διοξείδιο του θείου (Υφαντίδης, 1995)

## **2.8 Αντιμικροβιακή δραστηριότητα μελιού**

Το μέλι χαρακτηρίζεται από υψηλή αντιμικροβιακή δράση καθώς πολλά από τα συστατικά του διαθέτουν αντιμικροβιακές ιδιότητες ( Ali A, Al Jabri, 2005). Μερικοί από τους πιο κύριους αντιμικροβιακούς παράγοντες στο μέλι, αποτελούν το χαμηλό pH του, η υψηλή συγκέντρωση σακχάρου, το υπεροξείδιο του υδρογόνου, η μεθυλολοξάλη και το αντιμικροβιακό πεπτίδιο ντεφενσίνη-1 (bee defensin-1). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το υπεροξείδιο του υδρογόνου, το οποίο παράγεται από την οξειδάση της γλυκόζης που προέρχεται από τις μέλισσες και προστατεύει το μέλι ωρίμανσης από την ανάπτυξη παθογόνων οργανισμών. Ωστόσο, μπορεί να περιέχει κάποιου είδους φλεγμονώδεις ιδιότητες που μπορεί να προκαλέσουν ζημιά στους ιστούς, λόγω της παρουσίας ελεύθερων ριζών του οξυγόνου.

## **2.9 Θεραπευτικές ιδιότητες μελιού**

Το μέλι αποτελεί προϊόν με φαρμακευτική και αντιμικροβιακή δράση, δίχως να παρουσιάζει παρενέργειες, σε αντίθεση με άλλου είδους φαρμακευτικές ουσίες. Έχει παρατηρηθεί ότι αν χρησιμοποιηθεί σε πληγές επιταχύνει την επούλωσή τους (Bergman, et al 1983 ; Blomifield, 1973) Επίσης έχει αναφερθεί ότι επιταχύνει την επιθηλίωση της πληγής (Subrahmanyam, 1988 ; Hejase, et al. 1996 ; Effem, 1993)



## Κεφάλαιο 3: Τα είδη του ελληνικού μελιού

### 3.1 Οι κυριότερες κατηγορίες μέλιτος

*Ανάλογα με την προέλευση:*

#### A) Μέλι από νέκταρ.

Είναι το μέλι που παράγεται κυρίως από νέκταρ ανθέων.

#### B) Μέλι από μελιτώματα.

Είναι το μέλι που παράγεται κυρίως από εκκρίσεις που προέρχονται από ζωντανά μέρη των φυτών ή που βρίσκονται πάνω σε αυτά. Το χρώμα του ποικίλει από ανοικτό ή καστανό πρασινωπό, μέχρι σχεδόν μαύρη απόχρωση.

*Ανάλογα με τον τρόπο παραλαβής:*

#### A) Μέλι σε κηρήθρες.

Είναι το μέλι που αποταμιεύεται από τις μέλισσες μέσα σε σφραγισμένα κελιά κηρήθρων που έχουν κατασκευαστεί πρόσφατα από τις ίδιες και δεν περιέχουν γόνο (αυγά). Το μέλι αυτό προσφέρεται σε κηρήθρες ολόκληρες .

#### B) Μέλι με κομμάτια από κηρήθρες.

Είναι το μέλι που περιέχει ένα ή περισσότερα κομμάτια κηρήθρων.

#### Γ) Μέλι στραγγισμένο.

Είναι το μέλι που παραλαμβάνεται με απλή στράγγιση των κηρήθρων, που προηγουμένως έχουν απολεπιστεί (με μαχαίρι απολέπισης) και δεν περιέχουν γόνο,

#### Δ) Μέλι φυγοκεντρισμένο.

Είναι το μέλι που παραλαμβάνεται με φυγοκέντριση των κηρήθρων που προηγουμένως έχουν απολεπιστεί και δεν περιέχουν γόνο.

#### Ε) Μέλι πίεσης.

Είναι το μέλι που παραλαμβάνεται με πίεση (σε πρέσα) των κηρήθρων που δεν περιέχουν γόνο, χωρίς θέρμανση ή με ήπια θέρμανση.

(«Μέλι φύση και πολιτισμός Αλεδάκης» 2001 )

Το μεγαλύτερο ποσοστό της συνολικής ελληνικής παραγωγής μελιού προέρχεται από φυτά του δάσους. Στην κορυφή βρίσκεται το μέλι από πεύκο (55-60%), ενώ αμέσως επόμενο είναι το μέλι ελάτης. Μια σχετικά μικρή παραγωγή μελιού είναι από άνθη φυτών που βρίσκονται στο δάσος, όπως είναι της ερείκης, καστανιάς, θυμαριού κ.ά.

Το παραγόμενο μέλι με βάση την προέλευσή του, διακρίνεται σε δύο μεγάλες κατηγορίες:

α) το ανθόμελο (θυμαριού, πορτοκαλιάς, βαμβακιού, ηλίανθου, ερείκης, κ.ά.).

β) το μέλι από μελιτώματα. Στην κατηγορία αυτή ανήκει το μέλι του πεύκου, της ελάτης και άλλων δασικών φυτών.

### **3.2 Μέλι Πεύκου**

Το 65% περίπου της συνολικής παραγωγής μελιού στην Ελλάδα είναι πευκόμελο. Ένα τεράστιο θετικό χαρακτηριστικό αυτού του μελιού είναι ότι στον τόπο και στην χρονική περίοδο που παράγεται δεν χρησιμοποιείται ράντισμα ή ψέκασμα με φυτοπροστατευτικές ουσίες. Αυτό το καθιστά περιζήτητο, όχι μόνο σαν αμιγές μέλι αλλά και σαν μέλι “υποδομής” στις διάφορες αναμίξεις (χαρμάνια) που γίνονται στις άλλες κατηγορίες μελιού. Η κρυστάλλωση του πευκόμελου γίνεται με αρκετά βραδύ ρυθμό λόγω της χαμηλής περιεκτικότητας του σε γλυκόζη.

Το πευκόμελο θεωρείται μέλι υψηλής θρεπτικής αξίας. Λόγω της χαμηλής περιεκτικότητάς του σε σάκχαρα είναι κατάλληλο για διαβητικούς και έχει λιγότερες θερμίδες σε σύγκριση με το ανθόμελο.

### **3.3 Μέλι Ελάτης**

Καλύπτει περίπου το 5-7% της ετήσιας παραγωγής στη χώρα μας. Λόγω του χαμηλού ποσοστού γλυκόζης δεν κρυσταλλώνει, γεγονός που το κάνει περιζήτητο για ανάμιξη σε εμπορικούς τύπους. Περιέχει πληθώρα ιχνοστοιχείων (κάλιο, μαγνήσιο, φώσφορο, σίδηρο κλπ.), καθώς και βιταμίνες σε μικρές ποσότητες.

### **3.4 Ανθόμελο**

Το μέλι των εσπεριδοειδών σε συνδυασμό με το μέλι των άλλων οπωροφόρων αποτελεί το 25% της ελληνικής παραγωγής. Η κρυστάλλωση του πραγματοποιείται πολύ γρήγορα γι' αυτό καλό είναι να καταναλώνεται σε σύντομο χρονικό διάστημα. Ακόμη, το ανθόμελο έχει την υψηλότερη περιεκτικότητα ψευδαργύρου συγκριτικά με τα υπόλοιπα μέλια.

### **3.5 Μέλι από Θυμάρι**

Αποτελεί ένα μικρό ποσοστό της ελληνικής παραγωγής, της τάξης του 10%. Κρυσταλλώνει σε διάστημα 6 μέχρι 18 μήνες ανάλογα με τον αμιγή του χαρακτήρα. Είναι πλούσιο σε μέταλλα και ιχνοστοιχεία. Είναι τονωτικό, έχει αντισηπτικές ιδιότητες, αυξάνει την ενεργητικότητα και τις φυσικές δυνάμεις του ανθρώπου. Συνίσταται για την πρόληψη – αντιμετώπιση λοιμωδών, πεπτικών και αναπνευστικών παθήσεων.

### **3.6 Μέλι Καστανιάς**

Σύμφωνα με την οδηγία της Ε.Ε. το μέλι καστανιάς, τοποθετείται στην κατηγορία του ανθόμελου με χαρακτηριστικά μελιτώματος (κατ' εξαίρεση). Για τον λόγο αυτό, θα πρέπει να αναγράφεται στην ετικέτα συσκευασίας του η βοτανική προέλευση, είτε αυτό διατίθεται αμιγές είτε σε ανάμιξη. Κρυσταλλώνει πολύ αργά. Σύμφωνα με τον Caillas, (1971) το μέλι καστανιάς επιταχύνει την κυκλοφορία του αίματος και δρα ως στυπτικό σε μερικές περιπτώσεις δυσεντερίας. Είναι πλούσιο σε αμινοξέα και ιχνοστοιχεία.

### **3.7 Μέλι από Ρείκι (ρεικόμελο)**

Το συγκεκριμένο είδος μελιού στην Ελλάδα προέρχεται από τέσσερα είδη φυτών, για αυτό και έχει διαφορετικές ιδιότητες ανάλογα με την προέλευση του. Σε έρευνα του 2012 βρέθηκε ότι το μέλι από το φυτό ρείκι είχε την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φαινόλες, άρα έχει ισχυρή αντιοξειδωτική δράση. Το ρεικόμελο έχει τη μοναδική ιδιότητα να ρίχνει τη χοληστερίνη, είναι πραγματικό φάρμακο για παιδιά που πάσχουν από αδενοπάθεια και αναιμία, ενώ η γύρη θεραπεύει ασφαλώς την προστατίτιδα των ηλικιωμένων. Οι μεγάλες δόσεις θέλουν προσοχή καθώς είναι ελαφρύ υπνωτικό και κατασταλτικό του νευρικού συστήματος.

### **3.8 Μέλι Βαμβακιού**

Το βαμβακόμελο είναι μία από τις αμιγείς κατηγορίες μελιού που παράγει η Ελλάδα σε μεγάλες ποσότητες. Τα τελευταία χρόνια η παραγωγή του περιορίστηκε σημαντικά λόγω των μεγάλων απωλειών που προκαλούνται στις μέλισσες από τα φυτοφάρμακα, καθώς επίσης και από τις μικρές αποδόσεις νέκταρος των νέων καλλιεργούμενων αυτογόνιμων ποικιλιών βαμβακιού. Η κρυστάλλωση του πραγματοποιείται γρήγορα, όπως και στο μέλι ηλίανθου σε 1 με 2 μήνες. Επίσης παρατηρείται και αλλαγή χρώματος λόγω αυτού. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί και σαν συστατικό σε καλλυντικές κρέμες.

### **3.9 Μολυσματικοί παράγοντες μελιού**

Παρόλο που το μέλι χαρακτηρίζεται ως ένα μικροβιακά ασφαλές τρόφιμο, πολλές φορές ενδέχεται να έχει μολυνθεί είτε από περιβαλλοντικούς παράγοντες, μέσω του αέρα, του νερού, του εδάφους και των φυτών, τα οποία μεταφέρουν οι μέλισσες στην κυψέλη τους. Ενδέχεται να έχει μολυνθεί και από μελισσοκομικούς χειρισμούς.

α) Περιβαλλοντικοί παράγοντες:

- Βαρέα μέταλλα (μόλυβδος, κάδμιο)
- Γενετικά τροποποιημένοι μικροοργανισμοί
- Ραδιενεργά ισότοπα
- Παθογενή βακτήρια
- Φυτοφάρμακα

β) Μελισσοκομικοί παράγοντες:

- Ακαρεοκτόνα (ενώσεις παρόμοιες με το οργανικό οξύ και ενώσεις από αιθέρια έλαια)
- Παραδιγλωροβενζόλιο ( χρησιμοποιείται για τον έλεγχο χημικών αποθητικών)
- Αντιβιοτικά ( τα οποία θα αναλυθούν παρακάτω)

## Κεφάλαιο 4: Αντιβιοτικά

### 4.1. Ορισμός και λόγοι χρήσης τους

Ως αντιβιοτικά ορίζονται τα φάρμακα φυσικής ή συνθετικής προέλευσης που έχουν την ικανότητα να θανατώσουν ή να αναστείλουν την ανάπτυξη μικροοργανισμών, όπως είναι τα βακτήρια, οι μύκητες και τα πρωτόζωα (Johnson & Jadon, 2010). Τα αντιβιοτικά μπορεί να παρουσιάσουν τοξική και μη τοξική δράση. Στα μη τοξικά αντιβιοτικά ο ξενιστής χρησιμοποιείται ως χημικοθεραπευτικός παράγοντας στη θεραπεία μολυσματικών ασθενειών σε ανθρώπους, ζώα και φυτά. Τα φάρμακα αυτά βοηθούν στη θεραπεία μολυσματικών ασθενειών, οι οποίες οδηγούν σε δραματική μείωση της νοσηρότητας και της θνησιμότητας, και συμβάλλουν σημαντικά στη βελτίωση της δημόσιας υγείας. Επίσης μπορούν να αποτρέψουν τον ερεθισμό του εντερικού επιστρώματος και μπορούν να ενισχύσουν την πρόσληψη θρεπτικών ουσιών από το έντερο με αραίωση του βλεννογόνου στρώματος. Τα εντερικά βακτήρια απενεργοποιούν τα παγκρεατικά ένζυμα και μεταβολίζουν τη διατροφική πρωτεΐνη με την παραγωγή αμμωνίας και βιογενών αμινών. Τα αντιβιοτικά αναστέλλουν αυτές τις δραστηριότητες και αυξάνουν την πεπτικότητα της διαιτητικής πρωτεΐνης (Hernández Serrano P. 2005)

Όμως, η συνεχής χρήση αντιβιοτικών μπορεί να προκαλέσει την αντίσταση των βακτηρίων σε πολλά είδη φαρμάκων αλλά και την εξάπλωση ανθεκτικών βακτηριακών στελεχών, με αποτέλεσμα τα αντιβιοτικά να γίνουν αναποτελεσματικά. Έτσι μπορεί να συσχετιστούν με ανεπιθύμητα αποτελέσματα, όπως υπερευαισθησία, εξάντληση του ωφέλιμου μικροοργανισμού του εντέρου και ανοσοκαταστολή του βλεννογόνου (Hernández Serrano P. 2005)

Ανάλογα με την χημική τους δομή μπορούν να διακριθούν σε:

- Αντιβακτηριακά
- Αντιμυκοβακτηριακά, Αντιικά
- Αντιπαρασιτικά

## 4.2 Ο ρόλος των αντιβιοτικών στην κτηνοτροφία

Τα αντιβιοτικά χρησιμοποιούνται ευρύτατα και στην κτηνοτροφία, στις υδατοκαλλιέργειες ακόμη και στην μελισσοκομία. Πρωταρχικός τους σκοπός στην κτηνοτροφία είναι η θεραπεία αλλά και η πρόληψη μολυσματικών ασθενειών των ζώων. Ωστόσο τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιούνται σαν πρόσθετα τροφίμων και σαν «παράγοντες ανάπτυξης», δηλαδή ουσίες που βελτιώνουν την απόδοση και την παραγωγή των ζώων (Gelband et al, 2015). Υπάρχουν διάφορες ομάδες αντιβιοτικών που μπορούν να εφαρμοστούν, ανάλογα με τον τύπο και την έκταση της ασθένειας του κάθε ζώου. Όμως, η κάθε ομάδα αντιβιοτικών παρουσιάζει διάφορες χρήσεις, που πολλές φορές είναι αμφίβολες.

Η χορήγησή τους προϋποθέτει ιατρική συνταγή. Παρόλα αυτά δεν είναι λίγες οι φορές που εφαρμόζονται από κτηνοτρόφους, με βάση την δική τους κρίση και ευθύνη ( Landers, et al, 2012) . Θα πρέπει να δίνεται ιδιαίτερη προσοχή ως προς την χορήγηση των αντιβιοτικών και να μην γίνεται κατάχρηση από τους κτηνοτρόφους, καθώς κάτι τέτοιο θα έχει αρνητικές συνέπειες για τα ίδια τα ζώα και κατ επέκταση για τον άνθρωπο. Αξίζει να σημειωθεί ότι έχουν καταγραφεί εδώ και δεκαετίες, αποδείξεις και στοιχεία ότι η χορήγηση αντιβιοτικών σε τρόφιμα ζωικής προέλευσης μπορεί να οδηγήσει σε λοιμώξεις που είναι ανθεκτικές στα αντιβιοτικά ( Landers, et al. 2012)

Όταν γίνεται κατάχρηση αντιβιοτικών, τότε οι μικροοργανισμοί που καλούνται προς αντιμετώπιση, αναπτύσσουν μηχανισμούς αντοχής έναντι των αντιμικροβιακών ουσιών και αυτό συνεπάγεται τον περιορισμό της αποτελεσματικότητας των αντιμικροβιακών φαρμάκων, σε αρκετά μεγάλο βαθμό. Πολλές φορές μάλιστα, οι μικροοργανισμοί αυτοί ενδέχεται να είναι παθογόνοι και υπαίτιοι για την εκδήλωση ασθενειών στους ανθρώπους και στα ζώα (Ζδράγκας, 2018) Τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης είναι φορείς βακτηρίων, τα οποία μπορεί να παρουσιάζουν αντοχή σε αντιβιοτικά και μέσω της ανθρώπινης κατανάλωσης να μεταφέρονται στην χλωρίδα του ανθρώπου, διαταράσσοντας έτσι την υγεία του.

Έχει υπολογιστεί, μετά από έρευνες ότι τα αντιμικροβιακά φάρμακα αποβάλλονται από τα ζώα και τον ανθρώπινο οργανισμό, δίχως να μεταβολιστούν, σε μεγάλο ποσοστό, της τάξεως 75-90 %. Έτσι, τα απόβλητα που προέρχονται από τις κτηνοτροφικές μονάδες παραγωγής που έχουν χορηγήσει αντιβιοτικά στα ζώα, είναι επιμολυσμένα με αντιμικροβιακές ουσίες. Αυτό έχει αρνητικό αντίκτυπο στο περιβάλλον, καθώς τα απόβλητα αυτά είναι φορείς μόλυνσης στα ύδατα, στο έδαφος και στις καλλιέργειες και χρήζουν ειδικής επεξεργασίας. (Ζδράγκας, 2018).

### 4.3 Επίδραση της χρήσης των αντιβιοτικών στον άνθρωπο

Ο ανθρώπινος οργανισμός δεν θα πρέπει να εκτίθεται σε αντιβιοτικά όταν αυτό δεν κρίνεται απαραίτητο, καθώς υπάρχει κίνδυνος εμφάνισης αλλεργικών αντιδράσεων. Τα αντιβιοτικά μπορεί να αντιδράσουν με το ανθρώπινο μικροβίωμα, με το που εισέλθουν στον ανθρώπινο οργανισμό, το οποίο περιέχει πλήθος μικροοργανισμών (National Academies of Science and Medicine, 2018). Επίσης η συνεχής και χρόνια έκθεση του ανθρώπου στα αντιβιοτικά μπορεί να συσχετιστεί με την εμφάνιση μακροχρόνιων νόσων, αφού ενισχύεται η παθογόνος δράση των βακτηρίων, ακόμη και σε χαμηλές δόσεις. Αυτές οι νόσοι σχετίζονται με μικροβιολογικούς κινδύνους, καρκινογενετικότητα ακόμη και τερατογενέσεις (Noori, et al 2012)

Επομένως η χρήση των αντιβιοτικών θα πρέπει να αποφεύγεται, εφόσον δεν παρατηρείται κάποια ασθένεια και ιδιαίτερα σε άτομα που ανήκουν σε ευπαθείς ομάδες. Ωστόσο ο κίνδυνος από τα υπολείμματα αντιβιοτικών δεν θεωρείται τόσο μεγάλος σε σχέση με αυτόν που οφείλεται στη μητρική ουσία του φαρμάκου. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η μητρική ουσία μπορεί να έχει υποστεί εκτενή μεταβολισμό στον οργανισμό στον οποίο χορηγήθηκε (Noori, et al 2012)

Για αυτό το λόγο πραγματοποιούνται διεθνείς, εθνικές ακόμη και τοπικές συζητήσεις και κινητοποιήσεις με στόχο να προβάλλουν την ορθή και συνετή εφαρμογή των αντιβιοτικών, περιορίζοντας την άσκοπη έκθεση των μικροοργανισμών σε αντιβιοτικά, προκειμένου να διατηρείται η αποτελεσματικότητά τους αλλά και να μειώνεται ο κίνδυνος εμφάνισης βακτηριακών λοιμώξεων και αλλεργικών αντιδράσεων (Landers et al, 2012).

#### Πίνακας 2: Οι συνηθέστερες ομάδες αντιβιοτικών

<b>Σουλφοναμίδες</b>	Σουλφαθειαζόλη, σουλφαμεθαζίνη, σουλφαμεθοξαζόλη, σουλφαδιαζίνη, σουλφαμεθοξυπυριδαζίνη, σουλφαδοξίνη, σουλφαδιμιδίνη, σουλφανιλαμίδα
<b>Αμινογλυκοσίδες</b>	στρεπτομυκίνη, γενταμυκίνη, τομπραμυκίνη, αμικασίνη, νετιμυκίνη και η νεομυκίνη
<b>Τετρακυκλίνες</b>	τετρακυκλίνη, οξυτετρακυκλίνη, χλωροτετρακυκλίνη, δοξυκυκλίνη
<b>Αμφενικόλες</b>	χλωραμφενικόλη
<b>Μακρολίδες</b>	μυροσαμίνη τυλοσίνη

### Πίνακας 3: Μηχανισμοί αντιβιοτικών

Πηγή: *Pharmacology 1997*

ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑΤΑ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ	ΤΙ ΠΡΟΚΑΛΟΥΝ	Η ΕΠΙΡΡΟΗ ΤΟΥΣ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ ΚΑΙ ΤΑ ΖΩΑ
Πολυμυξίνες	Ζημιά στην κυτταρική μεμβράνη και έχουν βακτηριοκτόνο δράση	Υψηλή τοξικότητα στα ζώα και στους ανθρώπους. Θα πρέπει να γίνεται μόνο τοπική χρήση
Πενικιλίνες, Αμινοπενικιλίνες, κεφαλοσπορίνες, βακιτρακίνη, βανκομυκίνη	Αναστέλλουν το βακτηριακό κυτταρικό τοίχωμα, κατά την σύνθεση	Οι άνθρωποι και τα ζώα δεν επηρεάζονται, καθώς τα κύτταρά τους διαθέτουν προστατευτικούς «τοίχους»
Σουλφοναμίδες, σουλφασαλαζίνη, τριμεθοπρίνη, συντριμοξαζόλη	Αναστέλλουν την σύνθεση του φολικού οξέος και έχουν βακτηριοκτόνο δράση	Οι άνθρωποι και τα ζώα δεν επηρεάζονται από αυτή την δράση, καθώς λαμβάνουν φολικό οξύ από την τροφή τους
Ναδιλικό οξύ, Μετρονιδαζόλη, ριφαμπίνη, ενροφλοξασίνη, σαραφλοξασίνη, οφλοξασίνη	Τα περισσότερα από αυτά είναι βακτηριοκτόνα και αναστέλλουν την λειτουργία του DNA	Επηρεάζουν κυρίως τα βακτηριακά και τα μυκητιακά κύτταρα. Δεν φαίνεται να επηρεάζουν ιδιαίτερα τα ανθρώπινα και τα ζωικά
Τετρακυκλίνες, αμινογλυσίδες, χλωραμφενικόλη, φλορφενικόλη, μακρολίδες, Φασματομυκίνη, λινκοσαμίδες	Είναι βακτηριοκτόνα και αναστέλλουν την πρωτεϊνική σύνθεση	Σε υψηλές δόσεις επηρεάζουν τα ζώα και τους ανθρώπους, καθώς κάποια ριβοσώματά τους είναι παρόμοια με αυτά των βακτηρίων



## Κεφάλαιο 5 : Αντιβιοτικά στο μέλι

### 5.1 Η παρουσία των αντιβιοτικών στο μέλι

Όπως σε πολλά τρόφιμα ζωικής προέλευσης έτσι και στο μέλι προστίθενται αντιβιοτικά προκειμένου να καταστρέψουν οποιαδήποτε μορφή ασθένειας στις μέλισσες. Ειδικότερα χρησιμοποιούνται όταν πρόκειται για την θεραπεία των βακτηριακών ασθενειών των μελισσών (Serra Bonvehí & Gutiérrez, 2008). Για αυτό όταν πρόκειται για καταπολέμηση ενάντια σε κάποια ασθένεια, οι μελισσοκόμοι καμιά φορά προσθέτουν αντιβιοτικά σε υψηλές δόσεις. Έχουν καταγραφεί όμως και περιστατικά που χρησιμοποιούνται για άλλους λόγους. Συνήθως χορηγούνται σε χαμηλή δόση, προκειμένου να αυξήσουν την απόδοση των μελισσών, αυξάνοντας έτσι το κέρδος των μελισσοκόμων (Johnson & Jadon 2010).

Το μέλι ενδέχεται να επιμολυνθεί εμμέσως από αντιβιοτικά μέσω υπολειμμάτων αντιβιοτικών, πέρα από την απευθείας προσθήκη αντιβιοτικών στις κυψέλες. Για παράδειγμα, υπολείμματα μπορούν επίσης να προέρχονται από την αυξανόμενη χρήση αντιβιοτικών για τη θεραπεία βακτηριακών λοιμώξεων φυτών και οπωροφόρων δέντρων (McManus & Jones, 1994) αλλά και από φυτά που έχουν επιμολυνθεί από τον ενεργό μεταβολίτη του ζιζανιοκτόνου Asulam. Συνήθως έχει μολυνθεί με σουλφοναμίδη. Γίνεται προφανές ότι η μόλυνση του άνθους με υψηλές συγκεντρώσεις αντιβιοτικών συνεπάγεται τον κίνδυνο μεταφοράς των καταλοίπων στο μέλι (Heering et al., 1998, Wan et al., 2005). Εκτός από το Asulam, υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός ζιζανιοκτόνων της ομάδας των σουλφονουλουριών όπως είναι τα: Glean, Logran, Granstar, Rush και Milagro, τα οποία μπορούν να διασπαστούν και να απελευθερώσουν σουλφοναμίδες. Σύμφωνα με τον Wallner (1998), παρατηρήθηκε μεταφορά αντιβιοτικών στην κυψέλη από ανθισμένες μηλιές, στις οποίες είχαν χορηγηθεί σκευάσματα των αντιβιοτικών οξυτετρακυκλίνη και στρεπτομυκίνη.

Εκτός από αντιβιοτικά, μερικοί μελισσοκόμοι προσθέτουν και αλλού είδους ενώσεις, όπως παρα-διγλωροβενζόλιο (PDCB) για τον έλεγχο του κεριού. Κατά την προσθήκη αυτής της ουσίας, από τους μελισσοκόμους, η ουσία εισέρχεται στον κύκλο του μελισσοκήρου, επιμολύνοντας έτσι το κέρι και το μέλι (Wallner, 1992; Seiler et al., 2003; Bogdanov et al., 2004).

Την ύπαρξη τέτοιων ουσιών επιβεβαιώνει μια έρευνα, στην οποία βρέθηκε ότι το 34 %, κατά μέσο όρο, των δειγμάτων μελιού που παρήχθησαν στην Ελβετία περιείχαν παραδιχλωροβενζόλιο (PDCB) (Seiler et al., 2003; Bogdanov et al., 2004)

Πολλοί ερευνητές, αρχικά, υποστήριζαν ότι η μεταφορά φυτοπροστατευτικών ουσιών από τον αγρό στην κυψέλη μπορεί να αποφευχθεί με διάφορους τρόπους. Ο πιο συνηθισμένος από αυτούς είναι ο θάνατος της μέλισσας πριν προλάβει να μεταφέρει το νέκταρ ή τη γύρη στο μελίσσι, με αποτέλεσμα να μην εισβάλλουν σημαντικές ποσότητες φαρμάκων στην κυψέλη. Όμως, έχει διαπιστωθεί ότι σε περίπτωση που το επιμολυσμένο νέκταρ ή η γύρη περάσουν στην κυψέλη, οι οικιακές μέλισσες δεν το επεξεργάζονται περαιτέρω (Johansen & Mayer, 1990). Σύμφωνα με τον Jaycox, 1994 έχει αποδειχθεί ότι οι μέλισσες έχουν την δυνατότητα να μεταφέρουν στην κυψέλη τους συγκεντρώσεις φαρμάκων μέχρι και 25 φορές μεγαλύτερες δόση από τη θανατηφόρο.

Οι Ortiz- Alvarado, et al., (2020) πραγματοποίησαν μία μελέτη, στην οποία παρακολούθησαν τις επιδράσεις των αντιβιοτικών, οξυτετρακυκλίνη και τυλοσίνη, στην φυσιολογία και την συμπεριφορά των μελισσών. Έχει διαπιστωθεί ότι τα αντιβιοτικά μπορούν να επηρεάσουν το προσδόκιμο ζωής της μέλισσας ( Raymann, et al, 2018), το βάρος τους ( Zheng et al, 2017) και την συμπεριφορά τους. Ειδικότερα, στις μέλισσες, στις οποίες είχαν χορηγηθεί αντιβιοτικά, κατά την διάρκεια του σταδίου pupa ( υπάρχει ένας μικροσκοπικός οργανισμός, κάτω από το επικάλυμμα, που αρχίζει να μοιάζει με ενήλικη μέλισσα. Το στάδιο αυτό ολοκληρώνεται σε 7 ως 14 μέρες, ανάλογα με τον τύπο της μέλισσας) είχαν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε λιπίδια, μόνο κατά την πρώτη μέρα της ηλικίας τους. Ενώ, στις μέλισσες που δεν είχαν χορηγηθεί αντιβιοτικά, δίχως να έχει ολοκληρωθεί η ανάπτυξή τους, παρουσίαζαν χαμηλότερη περιεκτικότητα σε λιπίδια συγκριτικά με τις μέλισσες που είχαν αντιβιοτικά. Όμως, όταν χορηγήθηκαν αντιβιοτικά σε ενήλικες μέλισσες, τότε δεν υπήρχε σημαντική διαφορά ως προς την συγκέντρωση των λιπιδίων, σε σχέση με τις ενήλικες μέλισσες δίχως την προσθήκη αντιβιοτικού. Συγκριτικά με τις υπόλοιπες μέλισσες της αποικίας, οι μέλισσες που είχαν θεραπευτεί με αντιβιοτικά, πριν ολοκληρωθεί η ωρίμανσή τους, παρουσίαζαν γρηγορότερο ρυθμό ανάπτυξης, δηλαδή μετέβαιναν ταχύτερα από εργάτριες της κυψέλης σε μέλισσες που πραγματοποιούν εργασίες στους αγρούς. Ωστόσο, στις μέλισσες που γινόταν η χορήγηση, αφότου είχαν ολοκληρώσει όλα τα στάδια ανάπτυξής τους παρατηρήθηκε καθυστέρηση στον ρυθμό με τον οποίο αναπτύσσονται.

Συνεπώς, τα αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται στην μελισσοκομία επηρεάζουν σημαντικά την φυσιολογία, τον ρυθμό ανάπτυξης και την συμπεριφορά των μελισσών. Ειδικότερα, η θεραπεία των μελισσών με αντιβιοτικά οδηγεί σε αύξηση του λιπιδικού κλάσματος, και καθυστέρηση ανάπτυξης και επηρεάζει τον μεταβολισμό των μελισσών. Αξίζει να σημειωθεί ότι η επίδραση του κάθε αντιβιοτικού στην μέλισσα εξαρτάται και από τον χρόνο και την φάση ανάπτυξης της μέλισσας. Η έκθεση σε αντιβιοτικά φαίνεται να μεταβάλλει τον μικροβιακό πληθυσμό και πολλές φορές μπορεί να προκαλέσει μόνιμη αλλαγή στην σύστασή του ( Sekirov et al, 2008 ; Theriot et al, 2014) Τα αντιβιοτικά μεταβάλλουν το προφίλ του μικροβιακού πληθυσμού, όταν εφαρμόζονται στις εργάτριες μέλισσες, κατά την περίοδο ανάπτυξής τους, το οποίο έχει σαν αποτέλεσμα την μείωση των μικροβιακών γονιδίων, συγκριτικά με την συνηθισμένη περιεκτικότητά τους σε αυτά. ( Rayman et al, 2017) Επίσης έχει διαπιστωθεί ότι με την χρήση των αντιβιοτικών, τα καλά βακτήρια στις μέλισσες θανατώνονται και παράλληλα το αμυντικό σύστημα των μελισσών αποδυναμώνεται. Θα πρέπει να πραγματοποιούνται περισσότερες έρευνες σχετικά με την επίδραση των αντιβιοτικών στην συμπεριφορά των μελισσών, καθώς υπάρχουν διάφοροι προβληματισμοί ως προς αυτή.

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, η ύπαρξη αντιβιοτικών, αλλά και των καταλοίπων στο μέλι μπορεί να οδηγήσει σε αρνητικές επιπτώσεις, για τις μέλισσες, αφού αποδυναμώνει το αμυντικό τους σύστημα, επηρεάζει τον τρόπο ανάπτυξής του και τον μεταβολισμό τους. Παράλληλα, οι μέλισσες μπορούν να αποκτήσουν ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά, με αποτέλεσμα να γίνουν αναποτελεσματικά όταν εφαρμοστούν για την θεραπεία ασθενειών τους. Παρά το αρνητικό αντίκτυπό τους στις μέλισσες, μπορούν να υπάρξουν αρνητικές συνέπειες και στον καταναλωτή, έπειτα από κατανάλωση μελιού με παρουσία καταλοίπων αντιβιοτικών, αφού συσχετίζονται με αλλεργικές αντιδράσεις. Επομένως, το πρόβλημα με τα αντιβιοτικά στο μέλι αποτελεί το πιο σοβαρό πρόβλημα για το εμπόριο μελιού,. Για αυτό το λόγο κρίνεται απαραίτητη η παρακολούθησή τους μέσω της ανάπτυξης διαφόρων μεθόδων και πειραματικών μελετών.

## 5.2 Οι σημαντικότερες ασθένειες μελισσών

Όπως προαναφέρθηκε η χρήση αντιβιοτικών είχε πρωταρχικό σκοπό την καταπολέμηση των βακτηριακών ασθενειών των μελισσών. Οι πιο γνωστές από αυτές είναι η Αμερικάνικη Σηψιγονία (AFB), η Ευρωπαϊκή Σηψιγονία (EFB) και η βαρροάτωση (*Varroa*) (Reybroeck, et al., 2012) Άλλες εξίσου σημαντικές ασθένειες των μελισσών που δεν συγκαταλέγονται στις βακτηριακές είναι, η νοσεμίαση (*Nosemia disease*), η οποία είναι πρωτοζωική ασθένεια, η *Trachea mites* και η *Varroa mites*, που είναι ασθένειες που προέρχονται από ακάρεα.

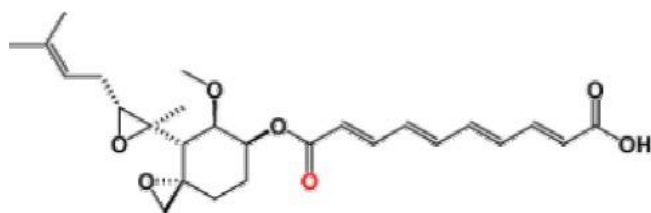
Η Αμερικάνικη Σηψιγονία (AFB) μπορεί να χαρακτηριστεί ως η πιο παθογόνος ασθένεια των μελισσών, και προκαλείται από το βακτήριο *Peenibacillus larvae*. Μπορεί να ελεγχθεί με ολική καταστροφή της κυψέλης με την συγκεκριμένη ασθένεια ή με την χρήση τιτανικής τυλοσίνης. Η εξάλειψη της θεωρείται αρκετά δύσκολη και για αυτό το λόγο η χρήση των αντιβιοτικών θα πρέπει να είναι συστηματική. Αν δεν αντιμετωπιστεί έγκαιρα, μπορεί να εξοντώσει τον πληθυσμό της κυψέλης (von der Ohe, 2003). Ωστόσο, η χρήση αντιβιοτικών για τον έλεγχο της AFB δεν είναι απαραίτητη, καθώς η AFB μπορεί να ελεγχθεί επιτυχώς χωρίς τη χρήση αντιβιοτικών (Waite et al., 2003; von der Ohe, 2003).

Η ασθένεια της Ευρωπαϊκής Σηψιγονίας (EFB) παρουσιάζει παρόμοια συμπτώματα, με εκείνα της Αμερικάνικης, η διαφορά είναι ότι προκαλείται από τον μικροοργανισμό *Melissococcus plutonius* και επίσης είναι πιο ήπια σε σχέση με την Αμερικάνικη Σηψιγονία. Για την αντιμετώπισή της χρησιμοποιούνται οξυτετρακυκλίνη και τετραμυκίνη. Πέρα από την χρήση αντιβιοτικών, η ασθένεια μπορεί να ελεγχθεί και με υποκαπνισμό με αιθανικό οξύ (Reybroeck, 2010)

Τέλος, η ασθένεια της βαρροάτωσης (*Varroa*) που προκαλείται από τον μικροοργανισμό *Varroa destructor*, με τον οποίο οι μέλισσες μπορούν να προσβληθούν όλες τις εποχές του έτους. Η ασθένεια αυτή μεταφέρεται από μελίτσι σε μελίτσι, κατά τον συνωστισμό των μελισσών. Μπορεί να αντιμετωπιστεί με την χρήση φυσικών ή χημικών σκευασμάτων, ειδικότερα με την χρήση οξαλικού οξέος και με βιοτεχνικές μεθόδους (Θρασύβουλλου, 1998).

### 5.3 Ομάδες αντιβιοτικών που συναντώνται στο μέλι

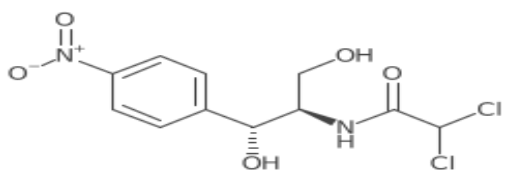
#### Φουμαγγιλίνη



Εικόνα 2: Φουμαγγιλίνη

Χρησιμοποιείται στην μελισσοκομία, από τους μελισσοκόμους προκειμένου να θεραπεύσουν την νοσεμίαση (Stanimirovic et al., 2006). Όμως, η χρήση του στην μελισσοκομία είναι απαγορευμένη. Είναι πολύ σημαντικό να μην παραμείνουν υπολείμματα του συγκεκριμένου αντιβιοτικού στο μέλι και ειδικότερα στην κυψέλη καθώς υπάρχει περίπτωση να δημιουργηθεί γενετική βλάβη στους μελισσοκόμους, οι οποίοι εκτίθενται στην φουμαγγιλίνη, όταν την εφαρμόζουν. Ακόμη αποτελεί κίνδυνο και για τους καταναλωτές, αν καταναλώσουν μέλι με αυτή την ουσία (Μεταπτυχιακή διατριβή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 2012)

#### Αμφενικόλες

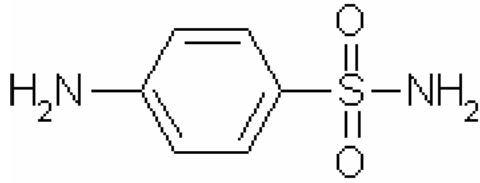


 [www.galinos.gr](http://www.galinos.gr)

Εικόνα 3: Αμφενικόλες

Η σημαντικότερη και η πιο επικίνδυνη εξ αυτών είναι η χλωραμφενικόλη. Θεωρείται ένα από τα πιο τοξικά αντιβιοτικά, καθώς μπορεί να προκαλέσει σοβαρά προβλήματα υγείας στους ανθρώπους (Forti et al., 2004), όπως βλάβη στο νωτιαίο μυελό των οστών και αναιμία, (Bargánska et al., 2011) Χρησιμοποιείται συχνά στην παραγωγή γάλακτος, κρέατος και αυγών. Έχουν αναφερθεί περιπτώσεις χρήσης του στο μέλι, ωστόσο ο ρόλος του στην μελισσοκομία δεν έχει μελετηθεί ιδιαίτερα. Η χλωραμφενικόλη δεν φαίνεται να έχει χρησιμοποιηθεί στην Ελλάδα, από όσο γνωρίζουμε.

## Σουλφοναμίδες



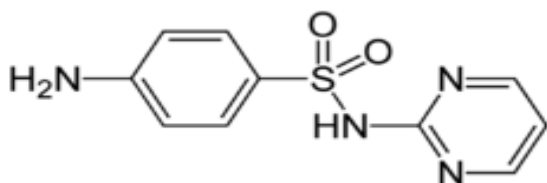
Εικόνα 4: Σουλφοναμίδες

Οι σουλφοναμίδες αποτελούν την πρώτη ομάδα αντιβιοτικών που χρησιμοποιήθηκαν για φαρμακευτική χρήση( Eysen, et al 1971) Μελέτες έχουν δείξει ότι οι σουλφοναμίδες έχουν την δυνατότητα να παρεμποδίσουν καρκινικά κύτταρα ( Stawinski, et al., 2013, Xu, et al. 2014) Επίσης συγκαταλέγονται μεταξύ των αντιβιοτικών που συναντώνται συχνότερα στο μέλι και αναστέλλουν τη σύνθεση του βακτηριακού φυλλικού οξέος. Τα τελευταία 10-15 χρόνια έχει αναφερθεί ότι χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση της βαρροάτωσης (*Varroa*), αλλά και για την θεραπεία της Αμερικάνικης Σηψιγονίας (AFB) (Bargńska et al., 2011)

Επιπλέον, έχει αναφερθεί ότι, στο μέλι, οι σουλφοναμίδες τείνουν να δεσμεύουν σάκχαρα μέσω του σχηματισμού N-γλυκοσιδικών δεσμών μέσω της ομάδας ανιλίνης τους (Sheth, et al 1990) Παρόλο που η δράση τους βοηθά στην αντιμετώπιση ασθενειών και μολύνσεων, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται με προσοχή, διότι είναι τοξικές και μπορούν να προκαλέσουν παρενέργειες, όπως διαταραχές στο ουροποιητικό σύστημα, αναιμία και γενικότερα μεγαλύτερη ευαισθησία (Slatore and Tilles 2004; Choquet-Kastylevsky et al, 2002) Επίσης η δράση τους μπορεί να συμβάλλει στην ανάπτυξη παθογόνων βακτηρίων που είναι ανθεκτικά στα αντιβιοτικά.

Αν και κυβερνητικοί και ρυθμιστικοί οργανισμοί, στην Ευρώπη έχουν θεσπίσει ανώτατα όρια καταλοίπων (ΑΟΚ) για τα υπολείμματα σουλφοναμίδων σε διάφορα προϊόντα διατροφής για τη διαφύλαξη της δημόσιας υγείας (Κανονισμός της Επιτροπής, 1990, Κανονισμοί Τροφίμων , Durg, 1991), δεν έχουν καθοριστεί ΑΟΚ για το μέλι. Η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει απαγορέψει την χρήση των σουλφοναμίδων στην γεωργία και την κτηνοτροφία. Έχει οριστεί ωστόσο όριο ποσοτικοποίησης (LOQ) μεταξύ 20-50 ng/g. Σύμφωνα με την βιβλιογραφία μπορούν να ανιχνευτούν στο μέλι με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας (HPLC) , με ανιχνευτή φασματογράφο μάζας σε συνδυασμό με υγρή χρωματογραφία (LC-MSD), την μέθοδο Charm II Test (Bonvehi & Gutierrez, 2008) αλλά και με την μέθοδο της ELISA.

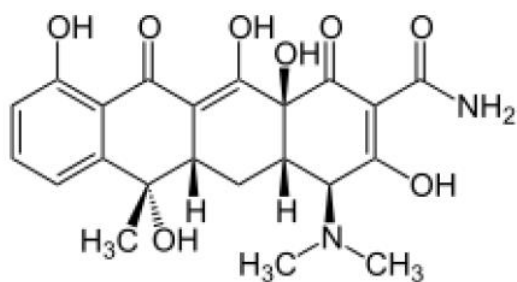
## Σουλφαδιαζίνη



Εικόνα 5: Σουλφαδιαζίνη

Είναι από τα πιο χρησιμοποιούμενα και ταυτόχρονα πιο σταθερά στο μέλι αντιβιοτικά (Bonvehi & Rajuelo, 1983) και ανήκει στην ομάδα των σουλφοναμιδών. Αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των βακτηρίων, λειτουργώντας ως ανταγωνιστικός αναστολέας του p-αμινοβενζοϊκού οξέος στον κύκλο μεταβολισμού του φολικού οξέος. Στη χώρα μας δεν παρατηρείται χρήση του σε μεγάλη κλίμακα. Παρόλα αυτά οι έλεγχοι που γίνονται είναι λίγοι και συνεπώς δεν υπάρχουν αξιόπιστα αποτελέσματα για τον Ελληνικό χώρο. Στις υπόλοιπες Ευρωπαϊκές χώρες που πραγματοποιούνταν περισσότερες αναλύσεις παρουσιαζόταν τακτικότητα και σε υψηλές συγκεντρώσεις. Σε μια περίπτωση στην Ολλανδία βρέθηκε σε θυμαρίσιο ελληνικό μέλι, ότι η συγκέντρωσή του σε σουλφαδιαζίνη ήταν ίση με 0.1 mg/kg.

## Τετρακυκλίνες

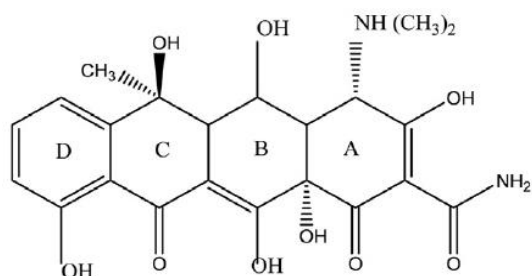


Εικόνα 6: Τετρακυκλίνες

Αποτελούν οικογένεια αντιβιοτικών που περιλαμβάνουν τις: τετρακυκλίνες, οξυτετρακυκλίνες, χλωροτετρακυκλίνες, δοξυκυκλίνες και τις τετραμυκλίνες. Συνήθως χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση βακτηριακών μολύνσεων του πεπτικού και του αναπνευστικού συστήματος αλλά και των δερματικών παθήσεων.

Σε ορισμένες χώρες χρησιμοποιούνται ως πρόσθετα στις ζωοτροφές (Bargánska et al., 2011) Αυτό όμως δεν ισχύει για τις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Σύμφωνα με τους Tsukamoto et al. (2009), τα υπολείμματα τετρακυκλινών μπορούν να καταστήσουν τα παθογόνα βακτήρια να είναι ανθεκτικά σε φάρμακα αλλά και να προκαλέσουν αλλεργικές αντιδράσεις στον ανθρώπινο οργανισμό. Επίσης είναι τοξικά και δεν χρησιμοποιούνται για την θεραπεία ασθενειών των μελισσών, εκτός της οξυτετρακυκλίνης. Η χρήση τους στις χώρες της Ε.Ε. είναι απαγορευμένη, αυτό φαίνεται και από το γεγονός ότι δεν έχουν θεσπιστεί MRL για αυτά στο μέλι.

### Τεραμυκίνη

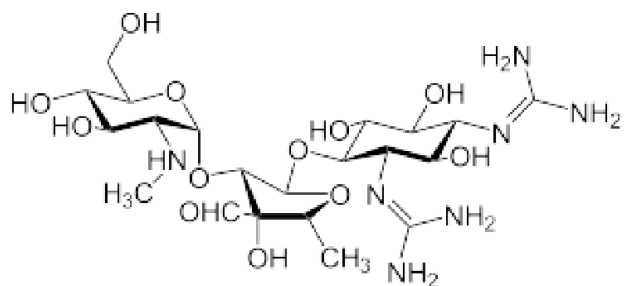


Εικόνα 7: Τεραμυκίνη

Ανήκει στην οικογένεια των τετρακυκλινών και αναφέρεται και αλλιώς ως οξυτετρακυκλίνη. Χρησιμοποιείται ευρέως, κυρίως στον Καναδά, για την θεραπεία της Αμερικάνικης Σηφιγονίας. Συνήθως διασπάται σε 6-10 εβδομάδες στο μέλι (Matsuka & Nakamura, 1990, Gilliam et al, 1979). Σε μερικές περιπτώσεις που μπορεί να διατηρηθεί ως και τρία χρόνια, όταν βρίσκεται σε υψηλές συγκεντρώσεις ( Shakaryan & Akopyan, 1973). Έχει αναφερθεί η παρουσία του συγκεκριμένου αντιβιοτικού στο προϊόν που παράγουν οι μέλισσες κατά την τροφοδότησή τους με σιρόπι (Gilliam et al 1979, Corner & Gochbauer 1971). Επίσης, έχει αναφερθεί ότι είναι πολύ ανθεκτική στη θέρμανση καθώς μετά από τρεις διαδοχικές θερμάνσεις του μελιού στους 90 °C για χρονικό διάστημα 30 λεπτών, το 1,2% της αρχικής ποσότητας του αντιβιοτικού παρέμεινε αδιάσπαστο (Shakaryan & Akopyan, 1972 & 1973).



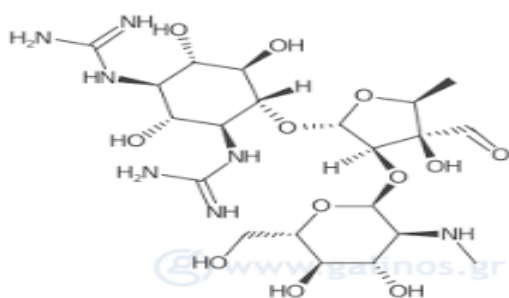
## Αμινογλυκοσίδες



Εικόνα 8: Αμινογλυκοσίδες

Σε αυτές συγκαταλέγονται οι εξής: στρεπτομυκίνη, γενταμυκίνη, τομπραμυκίνη, αμικακίνη, νετιμυκίνη και η νεομυκίνη, η οποία δεν χρησιμοποιείται πλέον. Χρησιμοποιούνται εναντίον επικίνδυνων βακτηρίων, κυρίως Gram αρνητικών (Barganska et al., 2011) Το πιο χρησιμοποιούμενο και πιο γνωστό από αυτά είναι η στρεπτομυκίνη.

## Στρεπτομυκίνη



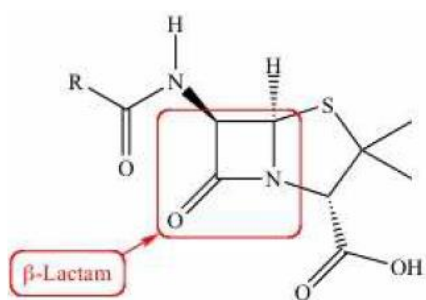
Εικόνα 9: Στρεπτομυκίνη

Η στρεπτομυκίνη έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως για την αντιμετώπιση της φυματίωσης, της βουβωνικής πανώλης και της τουλαραμίας (Talaro & Chess, 2008) Παρόλο που έχει διαπιστωθεί η απίστευτη δράση της ενάντια σε ασθένειες, έχει χαρακτηριστεί ιδιαίτερα τοξική (Etebu & Arikekpar, 2016) Χρησιμοποιήθηκε στην Ελλάδα τις τελευταίες δεκαετίες χωρίς να υπάρχει έγκριση. Σύμφωνα με την Καραμπουρνιώτη (2004) αναφέρει την παρουσία στρεπτομυκίνης σε ελληνικά μέλια πορτοκαλιάς σε ποσοστό 88%.

Σε αντίθεση με τα μέλια πορτοκαλιάς, η παρουσία στρεπτομυκίνης στις υπόλοιπες αμιγείς κατηγορίες μελιού κυμαίνεται από 6 έως 13%

Στις χώρες της Ε.Ε. η παρουσία υπολειμμάτων στρεπτομυκίνης στο μέλι απαγορεύεται (Bruijnsvoort et al., 2004).

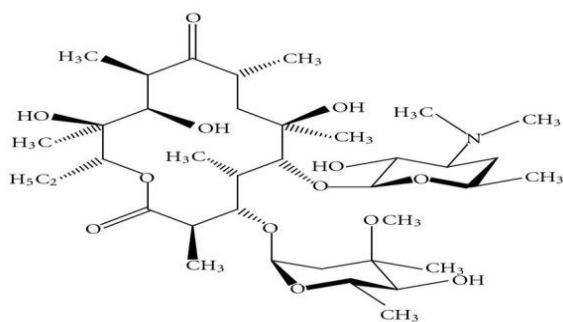
### Β-λακτάμες



Εικόνα 10: Β-λακτάμες

Χρησιμοποιούνται κυρίως στην κτηνιατρική προκειμένου να αντιμετωπιστούν βακτηριακές λοιμώξεις σε κατοικίδια ζώα. Σε αυτές ανήκουν η πενικιλίνη, η κεφαλοσπορίνη, η μονολακτάμες και τις καρβαπενέμες. Κατά κανόνα εφαρμόζονται για την αντιμετώπιση Gram αρνητικών βακτηρίων (Bargánska et al., 2011) Χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή κατά την χρήση τους, καθώς μπορεί να προκαλέσουν δερματικές παθήσεις, όπως δερματίτιδα, γαστρεντερικές λοιμώξεις και αναφυλαξία, ακόμη και σε μικρές δόσεις (Noori et al, 2012) Δεν έχουν επίσης καθοριστεί MRLs για αυτές στο μέλι.

### Μακρολίδες

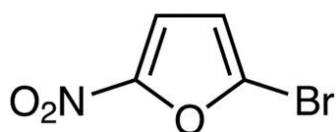


Εικόνα 11: Μακρολίδες

Ανήκουν στις βακτηριοστατικές ομάδες αντιβιοτικών. Όπως και οι β-λακτάμες έτσι και οι μακρολίδες βρίσκουν εφαρμογή στην κτηνιατρική προκειμένου να αντιμετωπίσουν πιθανώς αναπνευστικές λοιμώξεις στα ζώα. Επίσης βρίσκουν εφαρμογή και ως πρόσθετα τροφίμων στις ζωοτροφές (Bargánska et al., 2011) Γνωστά αντιβιοτικά αυτής της ομάδας είναι η τυλοσίνη και η ερυθρομυκίνη. Συγκαταλέγονται επίσης η σπιραμυκίνη, η κλαριθρομυκίνη, η διριθρομυκίνη και η ροξιθρομυκίνη.

Η πιο συχνά χρησιμοποιημένη από αυτές είναι η ερυθρομυκίνη. Αξίζει να σημειωθεί ότι η ερυθρομυκίνη είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική ενάντια σε Gram θετικά βακτήρια και χρησιμοποιείται κυρίως για την θεραπεία σταφυλοκοκκικών μολύνσεων, σε ζώα και σε ανθρώπους. Ωστόσο η έκθεση σε αυτό το αντιβιοτικό, ειδικά σε συχνές δόσεις, μπορεί να προκαλέσει στένωση της πολυουρίας, στα νεογνά, η οποία σχετίζεται με ανεπιθύμητα αποτελέσματα, όπως εμέτους ( Maheshwai, 2007)

#### Παράγωγα νιτροφουρανίου



**Εικόνα 12:** Παράγωγα νιτροφουρανίου

Σε αυτή την ομάδα αντιβιοτικών ανήκουν: η φουραζολιδόνη, η νιτροφουραζόνη, νιτροφουραντοΐνη και η φουραλαδαόνη. Βρίσκουν αντιμικροβιακή δράση σε ένα μεγάλο φάσμα μικροοργανισμών και χρησιμοποιούνται και αυτά στην κτηνιατρική για να θεραπεύσουν δερματικές, ουρολογικές, γαστρεντερικές λοιμώξεις και παράλληλα αποτελούν συντηρητικά τροφίμων. Τα ζώα μεταβολίζουν σχετικά γρήγορα τέτοιου είδους ουσίες, ωστόσο δεν ισχύει το ίδιο και για τους ανθρώπους (Bargánska et al., 2011) Εκτός από την φαρμακευτική δράση, οι νιτροφουράνες προκαλούν και παρενέργειες, όπως καρκινογένεση, πολυγονικότητα, και να προκαλέσουν ζημίες στους πνεύμονες και τους καρδιακούς μυς. Επομένως χαρακτηρίζονται ως επικίνδυνα για την δημόσια υγεία και για αυτό η χρήση τους έχει απαγορευτεί από την Ε.Ε.

# Κεφάλαιο 6: Νομοθεσία Ε.Ε. και Ελλάδας

## 6.1 Ευρωπαϊκή νομοθεσία

Η Ευρωπαϊκή Ένωση εφαρμόζοντας την νομοθεσία 2001/110/ ΕΚ που έχει δοθεί σύμφωνα με το Συμβούλιο και επίσης αναφέρεται στον Κανονισμό (ΕΕ) αριθμό 37/2010 αναφέρει ότι το κάθε αντιβιοτικό θα πρέπει να παρουσιάζει ανώτατο επιτρεπτό όριο (MRL) προκειμένου να χρησιμοποιηθεί σε είδη παραγωγής τροφίμων. Τα ανώτατα επιτρεπτά όρια καταλοίπων αντιβιοτικών και μολυσματικών ουσιών καθορίζονται βάσει των κοινοτικών και εθνικών κανονισμών για τα εγκεκριμένα κτηνιατρικά φάρμακα για διαφορετικά είδη τροφίμων ζωικής προέλευσης, ανάλογα και με το είδος. Σύμφωνα με τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων EMA (European Medicines Agency) ως μέγιστο όριο καταλοίπων MRL (Maximum Residue Limit) ορίζεται η μέγιστη επιτρεπόμενη συγκέντρωση καταλοίπων φαρμακευτικών ουσιών σε ένα προϊόν προερχόμενο από ένα ζώο το οποίο έχει λάβει φαρμακευτική αγωγή ή το οποίο έχει εκτεθεί σε ένα βιοκτόνο προϊόν που χρησιμοποιείται στην κτηνοτροφία. Τα MRL προκύπτουν από υπολογισμούς βάσει της Αποδεκτής Ημερήσιας Πρόσληψης (ADI). Το ADI είναι η εκτιμώμενη ποσότητα ενός υπολείμματος που μπορεί να καταναλώνεται καθημερινά για όλη τη διάρκεια της ζωής του καταναλωτή χωρίς κίνδυνο για την υγεία του.

Ο Κώδικας της Ε.Ε. (Codex Alimentarius) παραθέτει ότι η χρήση κάθε μορφής αντιβιοτικού και η παρουσία υπολειμμάτων στο μέλι και στα άλλα προϊόντα της κυψέλης κρίνεται πλέον παράνομη και μπορεί να οδηγήσει σε επιστροφή ολόκληρων φορτίων από τις χώρες εισαγωγής ή ακόμα και σε καταστροφή του συγκεκριμένου προϊόντος, στις περισσότερες Ευρωπαϊκές χώρες. Αυτό μπορεί να ερμηνευτεί και από το γεγονός ότι δεν υπάρχουν ανώτερα επιτρεπτά όρια ( MRL) για το μέλι. Ωστόσο, για την ρύθμιση καταλοίπων αντιβιοτικών στο εισαγόμενο μέλι, η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει θεσπίσει «σημεία αναφοράς για δράση» (RPA), δηλαδή συγκεντρώσεις υπολειμμάτων τα οποία μπορούν να ανιχνευτούν εργαστηριακά. Συνήθως χρησιμοποιείται για ουσίες, όπως τα νιτροφουράνια και η χλωραμφενικόλη. Η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει ορίσει ένα προσωρινό ανώτατο όριο 25  $\mu\text{g}/\text{kg}$  για την οξυτετρακυκλίνη στο μέλι. Για τις τετρακυκλίνες αποδεκτή συγκέντρωση σύμφωνα με το MRL ισούται με 0,01  $\text{mg} / \text{kg}$  Ενώ σε ορισμένες χώρες, όπως η Ελβετία, το Ηνωμένο Βασίλειο και το Βέλγιο έχουν θεσπίσει όρια δράσης αντιβιοτικών, τα οποία κυμαίνονται από 0,01 έως 0,05  $\text{mg} / \text{kg}$  για κάθε ομάδα αντιβιοτικών.

Σύμφωνα με τους Κοινοτικούς Κανονισμούς 2377/90, 470/2009 και 37/2010, δεν επιτρέπεται η ύπαρξη υπολειμμάτων αντιβιοτικών στο μέλι : σουλφοναμιδών, στρεπτομυκίνης και τετρακυκλίνης, διότι δεν έχουν θεσπιστεί ΑΟΚ (Ανώτατα Όρια Καταλοίπων) για τις παραπάνω ουσίες.

Όπως γίνεται αντιληπτό, δεν έχουν όλες οι χώρες την ίδια νομοθεσία. Παρακάτω παρουσιάζεται ένας πίνακας που συγκρίνει τα διαφορετικά ανώτατα όρια των αντιβιοτικών μεταξύ χωρών της Ε.Ε., των ΗΠΑ ( Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής, Αυστραλίας, Καναδά και Ινδίας.

**Πίνακας 4: Σύγκριση διαφορετικών νομοθεσιών στα αντιβιοτικά στο μέλι**

*(CSE Study: Antibiotics Residues in Honey p.15)*

S. No.	Class	Antibiotic	Codex Alimentarius <sup>1</sup>	EU <sup>2</sup>	USA <sup>3</sup>	Australia <sup>4</sup>	Canada <sup>5</sup>	India- EIC <sup>6</sup>
1	Tetracycline	Oxytetracycline	No MRL	Provisional MRL- 25ppb	No MRL	300 ppb MRL <sup>7</sup>	300ppb AMRL <sup>8</sup>	10ppb
2	Amphenicol	Chloramphenicol	No MRL	No MRL RPA <sup>9</sup> -0.3 ppb	No MRL	No MRL	No MRL	0.3ppb
3	Macrolide	Erythromycin	No MRL	No MRL	No MRL	No MRL	100ppb-AMRL 30ppb -WRL <sup>10</sup>	No LOA <sup>11</sup>
4	Beta Lactam	Ampicillin	No MRL	No MRL	No MRL	No MRL	No MRL	No LOA
6	Fluoroquinolones	Enrofloxacin	No MRL	No MRL	No MRL	No MRL	No MRL	No LOA
		Ciprofloxacin	No MRL	No MRL	No MRL	No MRL	No MRL	No LOA

## 6.2 Ελληνική νομοθεσία

Όσο αναφορά το μέλι, ο Κώδικας Τροφίμων και Ποτών έχει θεσπίσει συγκεκριμένα όρια όσο αναφορά την σύσταση του μελιού και την ποιότητα του, την περιεκτικότητα υγρασίας του, περιεκτικότητα σακχάρων, ζάχαρης και ηλεκτρικής αγωγιμότητας. Ακόμη υπάρχουν καθορισμένοι κανονισμοί όσο αφορά τους τρόπους ανάλυσης του μελιού, τους κανόνες υγιεινής και επισήμανσης του προϊόντος (Κανονισμός 12-1981) . Παρόλα αυτά, δεν φαίνεται να έχει ορίσει ΑΟΚ (Ανώτατα Όρια Καταλοίπων) σε αυτό. Σύμφωνα με την *(Επίσημη Εφημερίδα αριθ. 261 Ε της 18/09/2001 σ. 0106 – 0106)* η χρήση αντιβιοτικών απαγορεύεται καθολικά στο μέλι. Αξίζει να σημειωθεί ότι παλαιότερα δεν πραγματοποιούνταν κανένας έλεγχος σχετικά με την προσθήκη αντιβιοτικών στη χώρα. Παρόλα αυτά ακόμη και σήμερα δεν διεξάγονται επαρκείς έλεγχοι. Η Γενική Ομοσπονδία Καταναλωτών Ελλάδος έχει αναφέρει αυτό το γεγονός καθώς υπάρχει σύγχυση ως προς την αξιοπιστία των προϊόντων. Επιπλέον αναφέρει ότι σε πανελλήνια δειγματοληπτική έρευνα της ποιότητας και της επισήμανσης συσκευασιών μελιού, όπως αναφέρει η Γενική Ομοσπονδία Καταναλωτών, αποδείχτηκε ότι μεγάλο ποσοστό από τις συσκευασίες μελιών, είτε δεν ανταποκρίνονται στις προδιαγραφές που προβλέπονται, είτε παραπλανούν τον καταναλωτή, εφόσον το περιεχόμενο μέλι είναι διαφορετικό από αυτό το οποίο αναγράφεται στην ετικέτα. Επομένως, οι συσκευασίες μελιού που έχουν διατεθεί στην αγορά, θα πρέπει να ανταποκρίνονται στις απαιτούμενες προδιαγραφές με βάση την εθνική και την ευρωπαϊκή νομοθεσία.

Όσον αφορά την παραλαβή προϊόντων που εισάγονται στην Κοινότητα, από τρίτες χώρες, αυτές θα πρέπει να τηρούν τα ευρωπαϊκά πρότυπα, ιδίως όταν πρόκειται για κατάλοιπα κτηνιατρικών φαρμάκων. Πέρα από τους ελέγχους ρουτίνας που πραγματοποιούνται στους μεθοριακούς σταθμούς ελέγχου της Κοινότητας, τα κράτη μέλη οφείλουν να εφαρμόζουν, σε ετήσια βάση, σχέδιο εποπτείας των καταλοίπων στα προϊόντα ζωικής προέλευσης, σύμφωνα με την οδηγία 96/23/ΕΚ του Συμβουλίου της 29ης Απριλίου 1996 περί της λήψης μέτρων ελέγχου για ορισμένες ουσίες και τα κατάλοιπά τους σε ζώντα ζώα και στα προϊόντα τους και κατάργησης των οδηγιών 85/358/ΕΟΚ και 86/469/ΕΟΚ και των αποφάσεων 89/187/ΕΟΚ και 91/664/ΕΟΚ(1). Το σχέδιο αυτό περιλαμβάνει την εποπτεία της παρουσίας αντιβιοτικών στο μέλι. Για το 1999, η Ελλάδα έχει παρουσιάσει τα αποτελέσματα του σχεδίου της για την εποπτεία των καταλοίπων στο μέλι. Κατά συνέπεια, η Ελλάδα πραγματοποιεί τους απαιτούμενους ελέγχους.

### 6.3 Καταγεγραμμένες χρήσεις αντιβιοτικών στο μέλι

Σε μια έρευνα που πραγματοποιήθηκε διαπιστώθηκε ότι το 20 ως 50% του μελιού, που εισήχθη στη Γαλλία, στο Βέλγιο και στην Ελβετία περιείχαν αντιβιοτικά, κυρίως στρεπτομυκίνη και σουλφοναμίδες, αλλά και τετρακυκλίνες και χλωραμφενικόλη. Ωστόσο το μέλι που παράχθηκε στην Ελβετία, στο Βέλγιο και στη Γερμανία περιείχε χαμηλότερο επίπεδο καταλοίπων, κυμαινόμενο από 1 έως 7%. Επίσης τα αποτελέσματα από διαφορετικά εργαστήρια έδειξαν ότι ένα μεγάλο μέρος του κινεζικού μελιού, κινέζικου βασιλικού πολτού αλλά και του μελιού από διάφορες χώρες, περιέχει χλωραμφενικόλη σε ποσότητες μεγαλύτερες από το MRL της ΕΕ, δηλαδή των 0,3  $\mu\text{g} / \text{kg}$  (Reybroeck, 2003; Verzegnassi et al., 2003). Πέρα από χλωραμφενικόλη είχαν βρεθεί και παράγωγα νιτροφουρανίων, τα οποία είναι πολύ τοξικά και ουσιαστικά έχει καθιερωθεί μηδενική ανοχή για αυτά. Επομένως απαγορεύτηκαν από τις αγορές της Ευρώπης και της Βόρειας Αμερικής. Το σημαντικότερο πρόβλημα με τη χλωραμφενικόλη παρουσιάζουν τα προϊόντα που προέρχονται από την Κίνα. Η Ε.Ε στην προσπάθεια της να προστατέψει τους καταναλωτές απαγόρευσε την εισαγωγή κινεζικών προϊόντων ζωικής προέλευσης μέχρις ότου ξεπεραστεί το πρόβλημα με το συγκεκριμένο αντιβιοτικό.

Σύμφωνα με μια άλλη έρευνα που πραγματοποιήθηκε (Noorin, 2004) αναλύθηκαν 50 δείγματα μελιού που συλλέχθηκαν από την Τουρκία, ως προς την παρουσία τους σε ερυθρομυκίνη. Τα 4 από αυτά περιείχαν υπολείμματα ερυθρομυκίνης σε συγκεντρώσεις της τάξεως 50 έως 1776  $\text{ng} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Στην Κίνα πραγματοποιήθηκε επιτυχής διαχωρισμός 5 αντιβιοτικών ενώσεων, τετρακυκλίνη, οξυτετρακυκλίνη, δοξυκυκλίνη, χλωροτετρακυκλίνη και χλωραμφενικόλη και έτσι προσδιορίστηκαν τα όρια ανίχνευσής τους στα δείγματα μελιού. Τα όρια αυτά ήταν: 10  $\mu\text{g} / \text{L}$  για χλωραμφενικόλη, 20  $\mu\text{g} / \text{L}$  για τετρακυκλίνη, οξυτετρακυκλίνη, και δοξυκυκλίνη, και 40  $\mu\text{g} / \text{L}$  για χλωραμφενικόλη.

Υψηλά επίπεδα αντιβιοτικών έχουν καταγραφεί από την Ινδία, τα οποία είχαν πωληθεί στις χώρες της Ε.Ε. και τις ΗΠΑ και είχαν αναφερθεί από τον Οργανισμό Ανάπτυξης Εξαγωγών Προϊόντων (Agricultural Process Food Product Export Development Agency). Περίπου το 14 % των δειγμάτων μελιού που εξήχθησαν το 2006, είχαν μολυνθεί με τετρακυκλίνη. Ενώ το 2007-2008 ο αριθμός των δειγμάτων που είχε μολυνθεί με αυτό το αντιβιοτικό είχε διπλασιαστεί στο 28%. Την επόμενη χρονιά (2009-2010) αναλύθηκαν 362 δείγματα και το 29,2 % των δειγμάτων περιείχαν περισσότερη ποσότητα αντιβιοτικών από το επιτρεπτό.

Μια άλλη μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην Ελβετία έδειξε ότι από τα 75 δείγματα που αναλύθηκαν, τα 34 εκ των οποίων είχαν προέλθει από την Ασιατική ήπειρο, 13 από αυτά παρουσίασαν υπολείμματα χλωραμφενικόλης.

Στην Γαλλία παρουσιάστηκε το εξής φαινόμενο: βρέθηκαν κατάλοιπα τετρακυκλίνης σε μέλι, στο οποίο είχε γίνει προηγουμένως θεραπεία σε κυψέλες. Αυτό το γεγονός αποδεικνύει την αντίσταση των συγκεκριμένων αντιβιοτικών και για αυτό το λόγο θα πρέπει η χρήση τους να γίνεται με ιδιαίτερη προφύλαξη κατά την παραγωγή μελιού. Γενικά από τα 3855 δείγματα μελιού που αναλύθηκαν κάτω από την συγκεκριμένη έρευνα, το 1,7 % εξ αυτών δεν ήταν συμμορφούμενα σύμφωνα με την νομοθεσία της Ε.Ε.

Παράλληλα σύμφωνα με μια έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε δύο Ισπανικές πόλεις, την Αλμέρια και την Γρανάδα, βρέθηκαν υπολείμματα αντιβιοτικών, σουλφοναμιδών, τυλοσίνης, σαραφλοταξίνης και σουλφαχλωροπυριδαζίνης σε 2 δείγματα μελιού. Ταυτόχρονα αναλύθηκαν 183 δείγματα, που το 21 % των οποίων περιείχαν υπολείμματα στρεπτομυκίνης.

Αναλύθηκαν συνολικά 3855 δείγματα μελιού σε χώρες τις Ευρωπαϊκής Ένωσης και παρατηρήθηκε ότι το 1,7 % των δειγμάτων αυτών δεν συμμορφώνονταν με την Ευρωπαϊκή νομοθεσία περί χρήσης αντιβιοτικών.

Από τις παραπάνω καταγεγραμμένες μελέτες παρατηρούμε ότι δεν ήταν λίγα τα δείγματα στα οποία παρουσιάστηκαν υπολείμματα αντιβιοτικών με αποτέλεσμα να καθίστανται πιθανώς επικίνδυνα για την δημόσια υγεία. Επομένως η Ε.Ε. όφειλε να θεσπίσει κάποια συγκεκριμένα όρια προκειμένου να μην τίθεται κίνδυνος για τους καταναλωτές. Ακόμη και υπολείμματα αντιβιοτικών θα πρέπει να καταγράφονται και να αποφεύγονται, όπως είχε αναφερθεί και παραπάνω. Βέβαια έχουν θεσπιστεί διαφορετικά όρια για κάθε χώρα εκτός της Ευρωπαϊκής Ένωσης, όπως ΗΠΑ ( Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής), Αυστραλία, Καναδάς και Ινδία.



## Κεφάλαιο 7: Μέθοδοι ανίχνευσης αντιβιοτικών

Όπως διαπιστώθηκε και παραπάνω, έχουν καταγραφεί αρκετά περιστατικά χρήσης των αντιβιοτικών στο μέλι τα τελευταία χρόνια, γεγονός που αποτελεί κίνδυνο για την δημόσια υγεία. Έτσι κρίνεται απαραίτητη η ανάπτυξη και η χρήση μεθόδων ανίχνευσης αντιβιοτικών στο μέλι, οι οποίες θα εντοπίζουν και θα καταγράφουν τα κατάλοιπα αντιβιοτικών που βρίσκονται σε αυτό, με στόχο την διασφάλιση ασφαλών προϊόντων μελιού στους καταναλωτές. Για τη σωστή ανίχνευση αντιβιοτικών στο μέλι, είναι πολύ σημαντικό να υπάρχει ευαισθησία και ακρίβεια στις μεθόδους που χρησιμοποιούνται. Η ευαισθησία ως προς την επιλογή μεθόδου ποικίλει, καθώς χρησιμοποιούνται διαφορετικές μέθοδοι, που πολλές φορές δεν εναρμονίζονται μεταξύ τους (Kaufman, et al. 2001) Έχουν αναπτυχθεί αρκετές μέθοδοι προσδιορισμού των υπολειμμάτων των αντιβιοτικών στο μέλι. Ανάλογα με τον τρόπο χρήσης τους κατατάσσονται σε επιβεβαιωτικές (confirmatory) και σε διαλογής (screening).

Οι επιβεβαιωτικές (confirmatory) μέθοδοι βασίζονται στον υπολογισμό της συγκέντρωσης της ελεγχόμενης ουσίας στα δείγματα που αναλύονται κάθε φορά. Αυτές συνήθως περιλαμβάνουν την υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC), την υγρή χρωματογραφία σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας (LC-MS), την υγρή χρωματογραφία υπερυψηλής απόδοσης σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας (UHPLC-MS) και την υγρή χρωματογραφία σε συνδυασμό με υπέρυθη ακτινοβολία (LC-UV) ή και αναλύσεις με ηλεκτροφόρηση. Γενικότερα χαρακτηρίζονται από μεγάλη ευαισθησία και ακρίβεια, για αυτό το λόγο βρίσκουν ευρύ φάσμα εφαρμογών (Barganska et al, 2011). Ωστόσο παρουσιάζουν ορισμένες δυσκολίες διότι η χρήση τους απαιτεί εξειδικευμένους αναλυτές, είναι δαπανηρές, καθώς έχουν ακριβό εξοπλισμό και τέλος οι αναλύσεις δειγμάτων με αυτές, απαιτούν μεγάλο χρονικό διάστημα.

Ενώ, οι μέθοδοι διαλογής (screening) είναι μικροβιολογικές ή ανοσολογικές- ενζυμικές. Οι μετρήσεις που πραγματοποιούνται με αυτές τις μεθόδους είναι ημιποσοτικές αλλά κυρίως ποιοτικές, αφού στοχεύουν στον εντοπισμό μιας ουσίας ή μιας ομάδας ουσιών. Για αυτό βρίσκουν ευρεία εφαρμογή στην ανίχνευση των αντιβιοτικών και των υπολειμμάτων τους στα τρόφιμα, αφού τα χαρακτηρίζουν ως προς την απουσία ή την παρουσία καταλοίπων τους σε αυτά. Γενικά προτιμώνται σε σχέση με άλλες, καθώς εμφανίζουν αρκετά πλεονεκτήματα.

Μερικά από αυτά είναι η ευκολία στην χρήση, ο μικρός χρόνος ανάλυσης, άρα και γρήγορα αποτελέσματα, καλή ευαισθησία και ακρίβεια και το πιο σημαντικό το χαμηλό τους κόστος. Τα μειονεκτήματα που εμφανίζουν είναι ότι έχουν αρκετά στάδια που απαιτούν εκπλύσεις και ότι η δράση των ενζύμων υποβαθμίζεται με το πέρασμα του χρόνου κατά την αποθήκευση. Σε αυτές τις μεθόδους συγκαταλέγονται οι δοκιμές μικροβιακής αναστολής, η ανάλυση με βιοαισθητήρες ( biosensors), το τεστ Charm II και η Elisa.

Αξιίζει να σημειωθεί ότι όταν πραγματοποιούνται εργαστηριακοί έλεγχοι, για τον έλεγχο παρουσίας αντιβιοτικών, με μεγάλο αριθμό δειγμάτων τότε εφαρμόζονται αρχικά μέθοδοι διαλογής ( screening) και σε περίπτωση που υπάρχει ασυμφωνία ως προς τα αποτελέσματα εφαρμόζονται στην συνέχεια επιβεβαιωτικές ( confirmatory) μέθοδοι.

### **7.1 Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC)**

Αποτελεί την πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδο καθώς βοηθά επιλεκτικά και με ακρίβεια τον εντοπισμό αντιβιοτικών ουσιών στα προϊόντα των μελισσών, αλλά και γενικότερα στον εντοπισμό πολλών άλλων ουσιών. Θεωρείται η καταλληλότερη μέθοδος για τον εντοπισμό της οξυτετρακυκλίνης και της χλωροτετρακυκλίνης (Tyλονά et al. 2010) αλλά και για τον ταυτόχρονο εντοπισμό αυτών των δύο, δίχως να παρουσιάζει κάποια αντίδραση ή παράγωγο στο μέλι, μετά την τοποθέτησή τους στην στήλη χρωματογραφίας. Παρόλα αυτά η ανίχνευση των αντιβιοτικών με αυτή την μέθοδο παρουσιάζει και ορισμένα μειονεκτήματα: κάθε ομάδα αντιβιοτικών θα πρέπει να ελέγχεται ξεχωριστά, η επιβεβαίωση του κύριου αναλύτη βασίζεται στον χρόνο κράτησής του συγκριτικά με τα πρότυπα και οι αναλύτες θα πρέπει να έχουν συγκεκριμένο όριο ποσοτικοποίησης ( LOQ). Έχει οριστεί (LOQ) μεταξύ 20-50 ng/g, για τις σουλφοναμίδες.

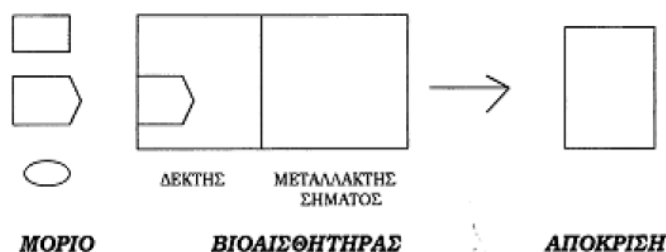
### **7.2 Υγρή χρωματογραφία σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας (LC- MS)**

Θεωρείται από τις πιο αποτελεσματικές μεθόδους ειδικά όταν χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με την υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC-MS) και με την υγρή χρωματογραφία υπερυψηλής απόδοσης σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας (UHPLC-MS).

Η μέθοδος (LC- MS) έχει την δυνατότητα ανάλυσης αντιβιοτικών και σύνθετων ουσιών στα τρόφιμα και έχει μεγάλη ευαισθησία. . Όμως είναι μια δαπανηρή μέθοδος , αφού απαιτεί εξειδικευμένο προσωπικό και ακριβό εξοπλισμό, και έχει σχετικά χαμηλή απόδοση. Σε έρευνα που διεξάχθηκε από τους Hammed et al, 2008 η μέθοδος LC- MS επέτρεψε τον προσδιορισμό των 37, από των 42 ομάδων αντιβιοτικών, τετρακυκλίνες, μακρολίδες, β-λακτάμες, αμινογλυκοσίδες, αμφενικόλες, ήταν εφικτή σε δείγματα μελιού.

### 7.3 Βιοαισθητήρες ( Biosensors)

Η μέθοδος με βιοαισθητήρες περιλαμβάνει βιολογική αναγνώριση στοιχείων, όπως για παράδειγμα ένζυμα , νουκλεϊκά οξέα και πρωτεΐνες. Γενικότερα θεωρείται μια ιδιαίτερα πρακτική μέθοδος η οποία βρίσκει ευρεία εφαρμογή στην ανίχνευση υπολειμμάτων αντιβιοτικών σε ζώα . Μπορεί να εντοπίσει μη πολικά μόρια και άλλες εξειδικευμένες ουσίες και η ανάλυση με αυτόν τον τρόπο γίνεται γρήγορα. Δεν παρουσιάζει όμως μεγάλη ευαισθησία στην ανίχνευση άλλων αντιβιοτικών όπως οι μακρολίδες ,οι αμινογλυκοσίδες,οι β-λακτάμες και οι σουλφοναμίδες



Πηγή: [https://repository.kallipos.gr/bitstream/11419/3673/1/02\\_chapter\\_7.pdf](https://repository.kallipos.gr/bitstream/11419/3673/1/02_chapter_7.pdf)

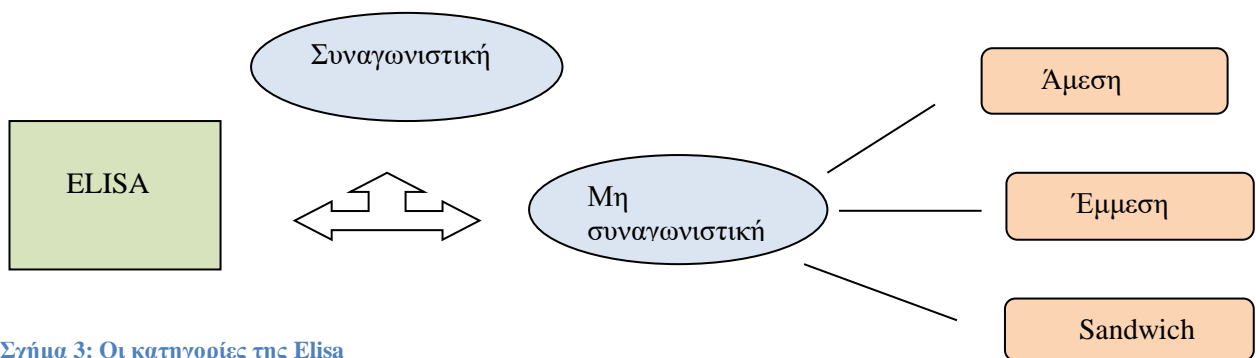
### 7.4 Charm II

Το σύστημα Charm II είναι ένα σύστημα ανάλυσης υποδοχέα πολλαπλών αναλυτών που έχει αποδειχθεί γρήγορο, ανθεκτικό και αξιόπιστο σε όλα τα επίπεδα παραγωγής τροφίμων. Παρουσιάζει ευαισθησία στο εμπλουτισμένο ωμό και θερμικά επεξεργασμένο μέλι όσον αφορά την ανίχνευση στις ακόλουθες ομάδες αντιβιοτικών: β-λακτάμες, τετρακυκλίνες, αμινογλυκοσίδες, σουλφοναμίδες, μακρολίδες και αμφενικόλες.

## 7.5 ELISA

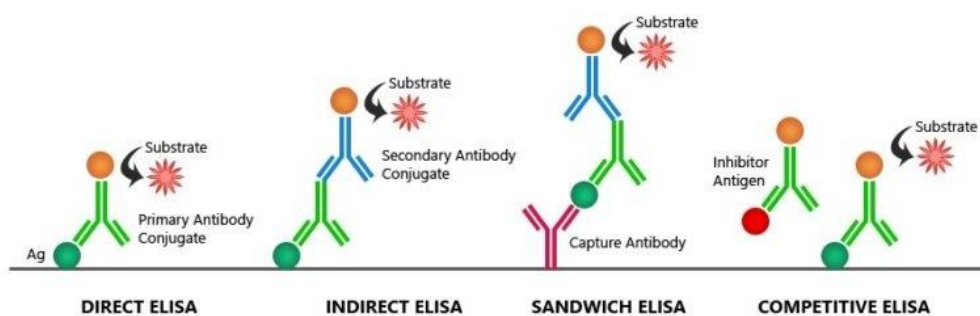
Η Elisa, ή αλλιώς ο ανοσοπροσροφητικός προσδιορισμός συνδεδεμένος με ένζυμο (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay -ELISA) είναι μία ακόμη μέθοδος για την ανίχνευση αντιγόνων και αντισωμάτων. Ειδικότερα είναι ένας ανταγωνιστικός ανοσοπροσδιορισμός για τον έλεγχο και την ποσοτική ανάλυση ειδικών μορίων (πρωτεΐνες, αντιβιοτικά κλπ) σε διάφορα δείγματα, όπως στο κρέας, στο γάλα, στο μέλι, στα αυγά, κλπ.

Η μέθοδος χωρίζεται σε δύο κατηγορίες: την μη συναγωνιστική και την συναγωνιστική. Η πρώτη διακρίνεται σε τρεις περιπτώσεις την άμεση, την έμμεση και το sandwich Elisa.



Σχήμα 3: Οι κατηγορίες της Elisa

Η άμεση περιλαμβάνει τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων για την ανίχνευση ενός συγκεκριμένου αντιγόνου. Η έμμεση περιλαμβάνει την ανίχνευση ενός συγκεκριμένου αντισώματος σε ένα δείγμα, όπως ορός (Galarini et al, 2014). Το sandwich Elisa μετρά το αντιγόνο μεταξύ δύο στρωμάτων αντισωμάτων (αντίσωμα σύλληψης και ανίχνευσης). Το αντιγόνο στόχος πρέπει να περιέχει τουλάχιστον δύο αντιγονικές θέσεις ικανές να συνδέονται με αντισώματα. Μονοκλωνικά ή πολυκλωνικά αντισώματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αντισώματα σύλληψης και ανίχνευσης σε συστήματα sandwich Elisa. Τα μονοκλωνικά αντισώματα αναγνωρίζουν έναν μόνο επίτοπο που επιτρέπει τον ποσοτικό προσδιορισμό των μικρών διαφορών στο αντιγόνο. Ένα πολυκλωνο χρησιμοποιείται συχνά ως αντίσωμα σύλληψης για να τραβήξει όσο το δυνατόν περισσότερο το αντιγόνο.



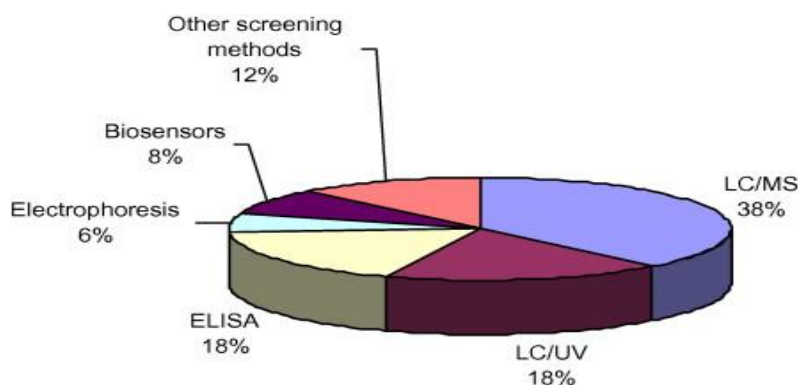
**Εικόνα 13: Τα είδη της Elisa**

Πηγή: Getaway News

Επιτρέπει την ταυτόχρονη ανίχνευση πολλαπλών δειγμάτων, σε σύντομο χρονικό διάστημα, εξασφαλίζοντας την πρακτικότητα των δοκιμών μεγάλης κλίμακας. Στα πλεονεκτήματα συγκαταλέγεται επίσης, το γεγονός ότι είναι μια μέθοδος με μεγάλη ευαισθησία και απαιτείται μικρός όγκος δείγματος.

Η Ευρωπαϊκή Επιτροπή, προκειμένου να διασφαλίσει την ασφάλεια των τροφίμων για τους καταναλωτές, έχει καθορίσει ως ανώτατο επιτρεπτό όριο καταλοίπων (MRL) 100μg/kg για σουλφοναμίδες στους ιστούς του κρέατος και στο γάλα από όλα τα είδη παραγωγής τροφίμων (European Commission, 2010).

Για το μέλι και τα αυγά δεν καθορίστηκαν, επομένως σε αυτά τα προϊόντα τα επίπεδα ελέγχου πρέπει να είναι, αν όχι μη ανιχνεύσιμα, όσο πιο χαμηλά είναι επιτεύξιμο.



**Σχήμα 4: Αναπαράσταση των αναλυτικών μεθόδων για ανίχνευση αντιβιοτικών στα τρόφιμα**

Πηγή: Mungroo & Neethirajan, 2014

**Πίνακας 5: Βιβλιογραφική ανασκόπηση για τις αναλυτικές μεθόδους και πρακτικές σχετικά με τον προσδιορισμό καταλοίπων στο μέλι**

Πηγή: Food chemistry E. Bonerba 2021

Reference	Compounds Examined	Extraction Technique	Detection technique	LOD/LOQ CC $\alpha$ /CC $\beta$ ( $\mu\text{g Kg}^{-1}$ )	Application Min-Max concentration range ( $\mu\text{g Kg}^{-1}$ )
Wang, 2004	5 macrolides	Extraction with phosphate buffer (pH 8.0) and clean up on Oasis HLB	LC-ESI-MS/MS	0.01–0.07	No application
Alfredsson, Branzell, Granelli, & Lundström, 2005	3 tetracyclines	Dilution	Screening by Tetrasensor and confirmation by LC-MS/MS	25	No application
Sheridan et al. 2008	14 sulfonamides and chloramphenicol	Extraction with 2 M HCl and clean up on Oasis HLB	LC-MS/MS	0.2–10	116 honeys (0.7–132)
Debayle, Dessalces, & Grenier-Loustalot, 2008	5 tetracyclines, 4 sulfonamides	Extraction with HCl and clean up on Oasis HLB	HPLC-MS-MS	0.2–7.3	No application
Lopez, Pettis, Smith, & Chu, 2008	4 tetracyclines, 5 fluoroquinolones, 1 macrolide, 1 lincosamide, 1 aminoglycoside, 1 sulfonamide, 1 phenicol	Extraction with H <sub>2</sub> O and clean up on Oasis HLB	HPLC-MS-MS	0.1–10	No application
Hammel, Mohamed, Gremaud, LeBreton, & Guy, 2008	5 tetracyclines, 7 macrolides, 8 $\beta$ -lactams, 3 aminoglycosides, 17 sulfonamides, 2 amphenicols	4 subsequent l/l extractions	LC-MS/MS	27–80	14 honeys (35–147)
Vidal, Aguilera-Luiz, Romero-Gonzalez, & Frenich, 2009	macrolides, tetracyclines, quinolones, and sulfonamides	Extraction with Na <sub>2</sub> EDTA and clean up on Oasis HLB	LC-MS/MS	0.3–3.3	16 honeys (3.2–14.6)
Bohm, Stachel, & Gowik, 2012	macrolides, lincosamides, quinolones, tetracyclines, pleuromutilines and diamino-pyrimidine	Extraction with buffer and clean up on Oasis HLB	LC-MS/MS	7.5–12.9	No application
Galarini et al. 2015	sulfonamide, nitroimidazole and quinolone	acidic hydrolysis followed by defatting and Strata-X-C SPE	LC-MS/MS	0.14–1.7	74 honeys (0.3–1.7)
Kivrak et al. 2016	amphenicols, sulfonamides, tetracyclines	ultrasonic extraction	UPLC-ESI-MS/MS	0.14–0.54	158–647
Shendy et al. 2016	nitrofurans metabolites and nitroimidazole	QuEChERS	LC-MS/MS	0.12–0.74	3.0–3.10
El Hawari, Daher, Verdon, & Al Iskandarani, 2017	tetracyclines, sulphonamides, macrolides, and aminoglycosides	l/l extraction, dispersive SPE using PSA	LC-MS/MS	5–25	No application
von Eyken et al. 2019	3 sulfonamides, 1 lincosamide, 2 macrolides	acid hydrolysis, filtration and dilution	LC-QTOF	1.1–8.4	35 honeys (1.7–70.3)
Aydoğan & El Rassi, 2019	8 sulfonamides	l/l extraction	Nano-LC-HR Orbitrap	0.1–20	2 honeys (0.34–2.05)



## Κεφάλαιο 8: Πειραματικό μέρος

### 8.1 Στόχος πειραματικής διαδικασίας

Ο στόχος της πειραματικής διαδικασίας είναι ο εντοπισμός κατάλοιπων αντιβιοτικών σε δείγματα μελιού με τη μέθοδο Elisa. Η επιλογή του θέματος προέκυψε από το ενδιαφέρον ενασχόλησης με ένα προϊόν που γνωρίζουμε ότι δεν έχει μελετηθεί επαρκώς, καθώς η Ελλάδα ανήκει στις χώρες που άργησε να ξεκινήσει τους ελέγχους στο προϊόν αυτό. Ακόμα μέχρι σήμερα δεν πραγματοποιούνται όσοι έλεγχοι χρειάζονται. Ο λόγος που χρησιμοποιήθηκε η συγκεκριμένη μέθοδος για την ανίχνευση αντιβιοτικών είναι για τον λόγο ότι εντοπίζει με ακρίβεια και με ευαισθησία την παρουσία καταλοίπων. Η Elisa ανιχνεύει συγκεκριμένες ομάδες αντιβιοτικών, στην παρούσα πειραματική διαδικασία ανιχνεύει την παρουσία της σουλφοναμίδης.



Εικόνα 14: Multi Sulfonamide Elisa Kit

Πηγή :Europroxima, Multi Sulfonamides Elisa

## 8.2 Μέθοδοι και υλικά

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε ήταν αυτή της Elisa και συγκεκριμένα το kit “ Multi-Sulfanamide II Elisa”. Όπου είναι μία ανταγωνιστική ανοσοδοκιμασία ενζύμου για ποσοτική ανάλυση ενός ευρέος φάσματος σουλφοναμιδίων σε διάφορα εμπορεύματα. Μπορεί να ανιχνεύσει υπολείμματα σουλφοναμιδίου πολύ πιο κάτω από το MRL του 100μg/kg, το οποίο έχει οριστεί σε διάφορες χώρες.

Στα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν, εξετάστηκαν 40 δείγματα μελιού.

Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για την διεξαγωγή των πειραμάτων είναι τα εξής:

- falcon tubes
- Αναλυτικός ζυγός (Precisa)
- Vortex (V-1 plus Biosan)
- Φυγόκεντρος (Thermo)
- Μικροπιπέτες
- Απεσταγμένο νερό
- 15% μεθανόλη (CH<sub>3</sub>OH)
- Sulfanamide- HRPO
- 7 vials Sulfadiazine standard
- Dilution buffer
- Substrate solution
- Rinsing buffer
- Stop solution
- Φασματοφωτόμετρο (Epoch)



### 8.3 Πειραματική διαδικασία

Αρχικά φτιάξαμε το PBS ( Phosphate Buffered Saline), όπου αναμίχθηκε σε 500ml νερό, 0,3940g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0,0956g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  και  $\text{NaCl}$  4,4777g. Στη συνέχεια ελέγχθηκε το PH, που σύμφωνα με το manual του kit πρέπει να είναι  $7,4 \pm 0,2$ .

Ακόμη για τις εκπλύσεις δημιουργήθηκε διάλυμα με 3,8ml νερό και 0,2ml Rising Buffer.

Αφού τελείωσε το πρώτο στάδιο, ζυγίστηκε 1g δείγματος και αναμίχθηκε με 2ml 15% μεθανόλη ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) στο Vortex μέχρι την ομογενοποίηση του.

Το τοποθετούμε στην φυγόκεντρο όπου και παραμένει για 10min στις 2000 στροφές.

Έπειτα 45μl του άνω στρώματος του διαλύματος αραιώθηκαν με 255μl PBS.

50μl του παραπάνω διαλύματος τοποθετούνται σε πλάκα μικροτιτλοδότησης της ELISA και προστίθεται 50μl σουλφοναμίνη.

Επωάζεται για 25min στο σκοτάδι.

Στη συνέχεια κάνουμε 4 εκπλύσεις με το διάλυμα που φτιάξαμε νωρίτερα και πάνω σε ένα χαρτί χτυπάμε απαλά την πλάκα έως ότου να μη μείνει ούτε μια σταγόνα διαλύματος.

Προστίθεται στην πλάκα 100μl Substrate Solution και επωάζεται για ακόμη 15min στο σκοτάδι.

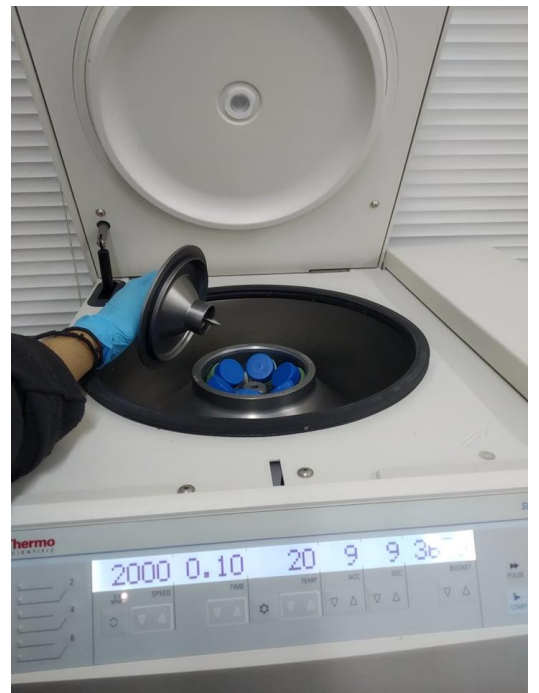
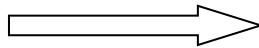
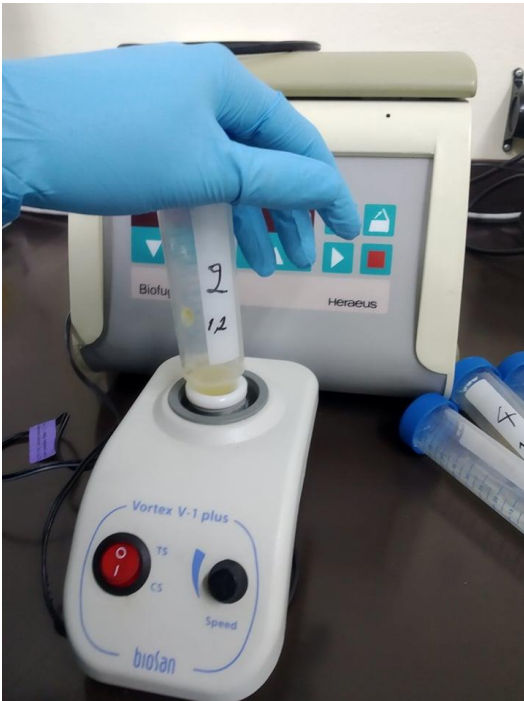
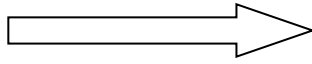
Τέλος προσθέτουμε το Stop Solution και το μεταφέρουμε στο φασματοφωτόμετρο όπου μετράμε την απορρόφηση στα 450nm.

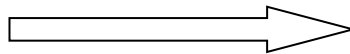
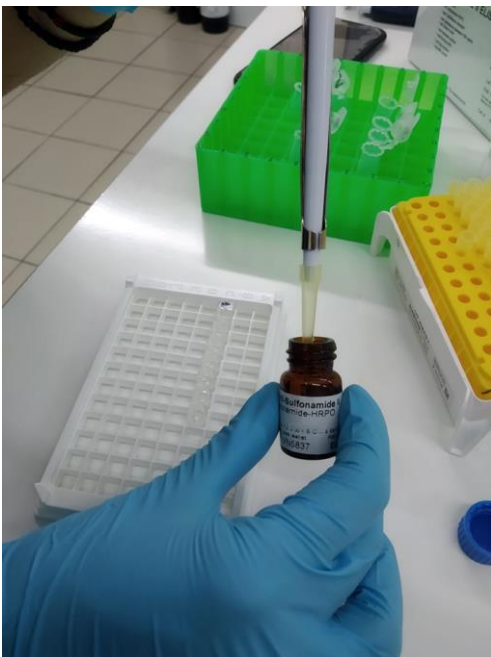
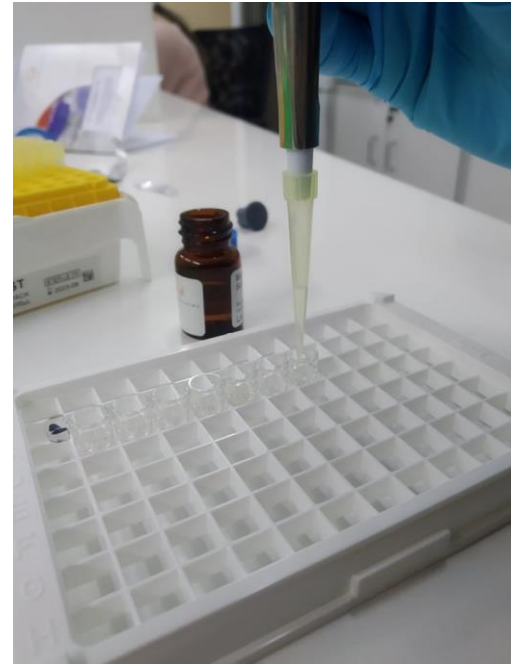
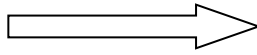
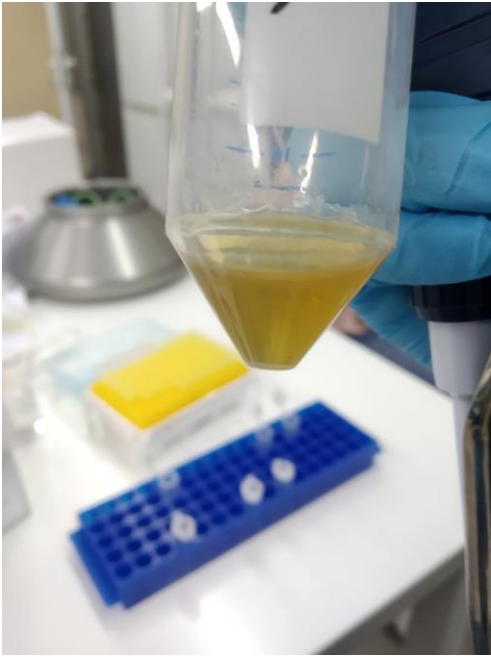
#### 8.3.1 Παρατηρήσεις

Στο στάδιο που προσθέτουμε το Substrate Solution θα παρατηρήσουμε ότι το διάλυμα παίρνει ένα γαλάζιο χρώμα.

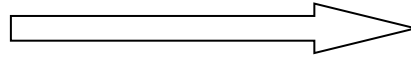
Όταν όμως προστίθεται το Stop Solution το χρώμα αλλάζει σε κίτρινο.

Ανάλογα με το πόσο σκούρο είναι το κίτρινο μπορούμε να καταλάβουμε από αυτό το στάδιο, χωρίς την φασματοφωτομετρία, ποιο δείγμα περιέχει το αντιβιοτικό σουλφοναμίνη.

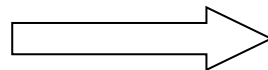




25min in the dark



15min in the dark



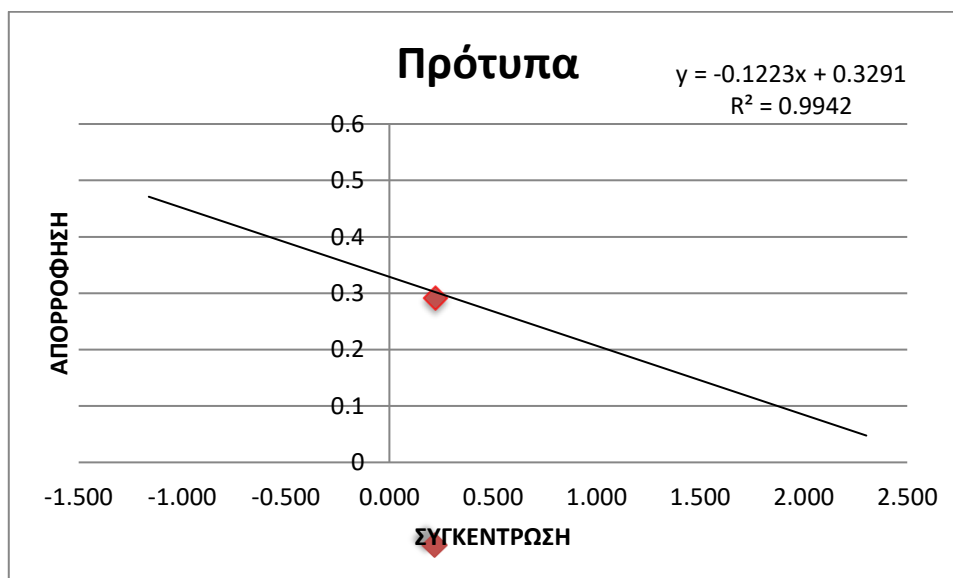
Σχήμα 5: Αναπαράσταση πειραματικής πορείας

## 8.4 Υπολογισμοί

Προκειμένου να υπολογίσουμε την συγκέντρωση 40 δειγμάτων μελιού σε σουλφοναμίδη, μετρήσαμε τις αντίστοιχες απορροφήσεις. Αρχικά χρησιμοποιήσαμε πρότυπα δείγματα, από τα οποία σχεδιάστηκε πρότυπη λογαριθμική καμπύλη.

**Πίνακας 6: Πίνακας πρότυπων διαλυμάτων**

ΠΡΟΤΥΠΑ		
C	ln( C )	A
0,313	-1,162	0,488
0,625	-0,470	0,374
1,25	0,223	0,291
2,5	0,916	0,216
10	2,303	0,055



**Σχήμα 6: Γραμμική ευθεία πρότυπων διαλυμάτων**

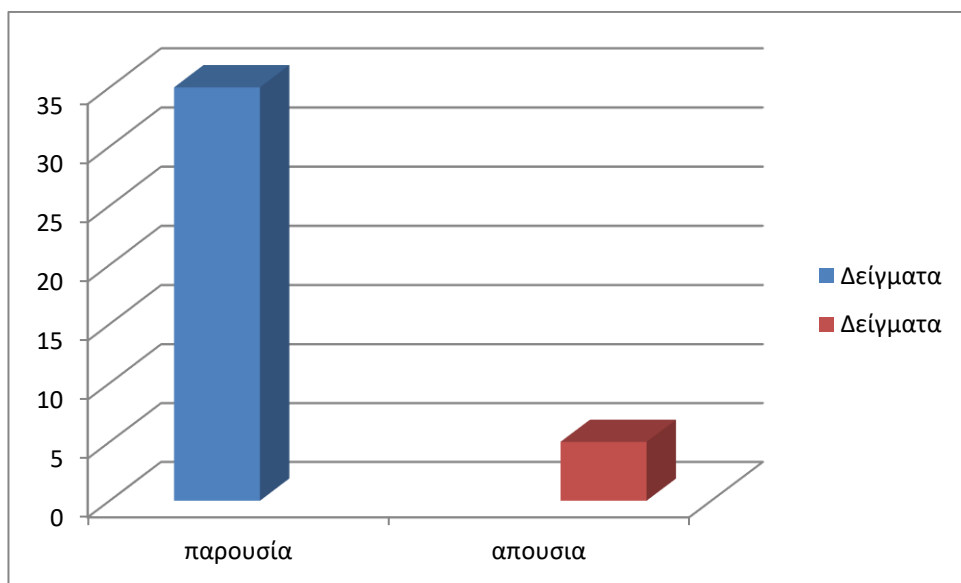
## 8.5 Πειραματικά αποτελέσματα

Πίνακας 7: Πειραματικά αποτελέσματα

ΔΕΙΓΜΑΤΑ	A	$y = -0,1223x + 0,329$	C ( ng/ml)	Cx20 (ng/g)
Θυμαρίσιο	0,948	1,794	0,584	11,685
μέλι δάσους	1,351	1,391	0,330	6,596
χρυσόμελο ελάτης	2,036	0,706	0	0
Θυμαρίσιο	0,833	1,909	0,646	12,928
Θυμαρίσιο Μελιτώ	0,886	1,856	0,618	12,365
"αγνό" μέλι	0,898	1,844	0,612	12,235
ελάτης	1,386	1,356	0,304	6,086
μέλι Βίο	0,799	1,943	0,664	13,281
Ελληνικό ανθέων	1,948	0,794	0	0
Μέλι ελάτου	1,470	1,272	0,240	4,807
Μέλι κυρύθρας	1,708	1,034	0,033	0,662
Ανθέων	0,931	1,811	0,594	11,874
"flora" ανθέων	0,984	1,758	0,564	11,280
θυμαρίσιο Ανάφης	1,009	1,733	0,550	10,993
"Μελάνθη"	1,382	1,360	0,307	6,145
θυμαρίσιο	1,346	1,396	0,333	6,667
Μελίτανθος	1,495	1,247	0,220	4,409
Πεύκου	1,069	1,673	0,514	10,288
Πεύκου	1,139	1,603	0,472	9,433
Ελάτης	1,07	1,672	0,514	10,276
Μέλι πεύκου "Κατσαντώνης"	1,135	1,607	0,474	9,483
Μέλι ελάτου	1,297	1,445	0,368	7,358
Ελάτου	1,103	1,639	0,494	9,878
Έλατου-Βελανιδιάς-Ρεικι	0,842	1,900	0,642	12,834
Θυμαρίσιο	1,356	1,386	0,326	6,524
"Βιολογική μελισσοκομία" Μέλι Ερείκη	1,096	1,646	0,498	9,963
Θυμαρίσιο	1,053	1,689	0,524	10,479
Ανθέων	1,355	1,387	0,327	6,538
Μέλι δάσους	1,429	1,313	0,272	5,441
"Fino attiki"	2,49	0,252	0	0
"Attiki"	2,875	-0,133	0	0
Μέλι "αγρόκτημα"	2,305	0,437	0	0
Μέλι "Μάλλιου"	2,396	0,346	0	0
Ρείκι	0,239	2,503	0,917	18,347
Μέλι "Αδωνης"	0,361	2,381	0,867	17,348
θυμαρίσιο	0,500	2,242	0,807	16,144
Βελανιδιάς	0,439	2,303	0,834	16,681
Ανθέων	0,359	2,383	0,868	17,364
Μέλι ελάτης	0,485	2,257	0,814	16,278
Μέλι "Εύβοιας"	0,145	2,597	0,954	19,085

Σύμφωνα με την παραπάνω γραμμική ευθεία που προέκυψε από την λογαρίθμηση των συγκεντρώσεων των προτύπων και τις αντίστοιχες απορροφήσεις τους, βγήκε η εξίσωση  $y = -1,223x + 0,329$ . Για να βρούμε τις συγκεντρώσεις των δειγμάτων, όπου αυτό είναι και το ζητούμενο, αντικαθιστούμε στην εξίσωση όπου  $y$  την απορρόφηση (A) του εκάστοτε δείγματος, και έτσι καταλήγουμε με έναν άγνωστο  $x$  που είναι η συγκέντρωση. Στη συνέχεια, οι συγκεντρώσεις πολλαπλασιάστηκαν με το 20, όπως παρατηρούμε και στον παραπάνω πίνακα, για τον λόγο ότι τα δείγματα κατά το αρχικό στάδιο του πειράματος αραιώθηκαν με 2ml 15% μεθανόλη (CH<sub>3</sub>OH).

Παρακάτω παρουσιάζεται σε γράφημα στήλης ο αριθμός των δειγμάτων που εντοπίστηκε η παρουσία και η απουσία της σουλφοναμίδης. Όπως παρατηρούμε 35 δείγματα εντοπίστηκαν με την παρουσία του αντιβιοτικού σουλφοναμίδη, ενώ στα υπόλοιπα 5 δείγματα δεν βρέθηκε η ένωση αυτή.



Σχήμα 7: Γράφημα στήλης απουσία παρουσία

Στο παρακάτω γράφημα πίτας παρουσιάζονται τα ποσοστά απουσίας και παρουσίας σουλφοναμίδης στα δείγματα μελιού. Με βάση αυτό βλέπουμε πως το 87% των δειγμάτων βρέθηκαν με κατάλοιπα του αντιβιοτικού ενώ στο υπόλοιπο 13% δεν ανιχνεύθηκε η παρουσία του. Παρατηρούμε πως η διαφορά είναι πολύ μεγάλη και το αποτέλεσμα αυτό κρίνεται άκρως ανεπιθύμητο, όπως θα συζητηθεί στο επόμενο κεφάλαιο, εις βάρος των καταναλωτών.



Σχήμα 8: Γράφημα πίτας ποσοστών

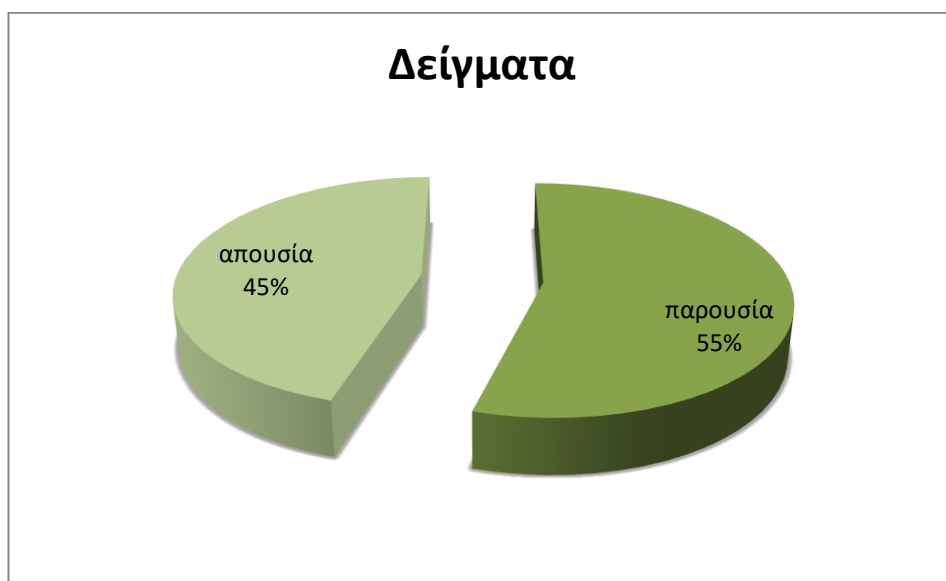
### 8.6 Σύγκριση βιομηχανοποιημένων μελιών σε σχέση με μέλια παραγωγών

Χωρίσαμε τα δείγματα σε δύο κατηγορίες, τα μέλια από βιομηχανίες και τα μέλια από παραγωγούς, ώστε να δούμε πειραματικά που βρίσκεται περισσότερο το πρόβλημα των αντιβιοτικών. Ακολουθεί πίνακας με τα αποτελέσματα μελιών που αγοράστηκαν από αλυσίδες καταστημάτων, κατ' επέκταση από βιομηχανίες. Παρατηρούμε πως υπάρχουν δείγματα που έδωσαν αποτέλεσμα 0, που σημαίνει ότι δεν ανιχνεύθηκε το αντιβιοτικό σουλφοναμίδη σε αυτά. Ωστόσο, υπάρχουν δείγματα που περιέχουν κατάλοιπα και σύμφωνα με τους Κοινοτικούς Κανονισμούς 2377/90, 470/2009 και 37/2010, τα κατάλοιπα αντιβιοτικών απαγορεύονται καθολικά. Άρα, ήδη ξέρουμε τι να περιμένουμε στην περίπτωση των μελιών που προέρχονται από παραγωγούς, αφού από τις βιομηχανίες που γίνονται περισσότεροι έλεγχοι κυκλοφορούν μέλια που περιέχουν αντιβιοτικά.



### Πίνακας 8: Δείγματα από βιομηχανίες

Δείγματα	Απορρόφηση	$y = -0,1223x + 0,329$	C (ng/ml)	C*20 (ng/g)
Χρυσόμελο ελάτης	2,036	0,706	0,000	0
"αγνό" μέλι	0,898	1,844	0,612	12,235
Μέλι Bio	0,799	1,943	0,664	13,281
"Ελληνικό" ανθέων	1,948	0,794	0,000	0
"flora" ανθέων	0,984	1,758	0,564	11,280
"fino attiki"	2,490	0,252	0,000	0
attiki	2,875	-0,133	0,000	0
Μέλι "αγρόκτημα"	2,305	0,437	0,000	0
Μέλι δάσους	1,429	1,313	0,272	5,441
Ανθέων	0,359	2,383	0,868	17,364
Μέλι ελάτης	0,485	2,257	0,814	16,278



Σχήμα 9: Ποσοστό παρουσίας- απουσίας

Παρακάτω, στον πίνακα με τα αποτελέσματα των μελιών από τοπικούς παραγωγούς, θα παρατηρήσουμε ότι το 100% των δειγμάτων βρέθηκαν να περιέχουν κατάλοιπα του αντιβιοτικού. Καταλαβαίνουμε λοιπόν, ότι το πρόβλημα εδώ είναι πολύ μεγαλύτερο σε σχέση με τις βιομηχανίες, καθώς τα μέλια αυτά τις περισσότερες φορές δεν ελέγχονται όσο το απαιτεί η νομοθεσία.

Πίνακας 9: Δείγματα από τοπικούς παραγωγούς

Δείγματα	Απορρόφηση	$y = -0,1223x + 0,329$	C (ng/ml)	C*20 (ng/g)
θυμαρίσιο	0,948	1,794	0,584	11,685
μέλι δάσους	1,351	1,391	0,330	6,596
θυμαρίσιο	0,833	1,909	0,646	12,928
θυμαρίσιο μελιτώ	0,886	1,856	0,618	12,365
ελάτης	1,386	1,356	0,304	6,086
Καστριώτισσας Ελάτης	1,470	1,272	0,240	4,807
Μέλι Κυρήθρας	1,708	1,034	0,033	0,662
Μέλι ανθέων	0,931	1,811	0,594	11,874
θυμαρίσιο Ανάφης	1,009	1,733	0,550	10,993
Μελάνθη	1,382	1,360	0,307	6,145
θυμαρίσιο	1,346	1,396	0,333	6,667
Μελίτανθος Τρίκαλα	1,495	1,247	0,220	4,409
Πεύκου	1,069	1,673	0,514	10,288
Πεύκου	1,139	1,603	0,472	9,433
ελάτης	1,070	1,672	0,514	10,276
Μέλι Κατσαντώνης	1,135	1,607	0,474	9,483
Μέλι ελάτου- Παύλιανης	1,297	1,445	0,368	7,358
Μαυρολιθάρι ελάτου	1,103	1,639	0,494	9,878
Έλατο- Βελανιδιάς- Ερείκι	0,842	1,900	0,642	12,834
θυμαρίσιο-τζιά	1,356	1,386	0,326	6,524
Μέλι ερείκης- Βιολογική Μελισσοκομία Πάρου	1,096	1,646	0,498	9,963
θυμαρίσιο κυρήθρα	1,053	1,689	0,524	10,479
Κυρήθρα	1,355	1,387	0,327	6,538
Μέλι "Αδωνης"	0,361	2,381	0,867	17,348
θυμαρίσιο Άνδρου	0,500	2,242	0,807	16,144
Βελανιδιάς	0,439	2,303	0,834	16,681
Ρείκι	0,239	2,503	0,917	18,347
Μέλι "Εύβοιας"	0,145	2,597	0,954	19,085

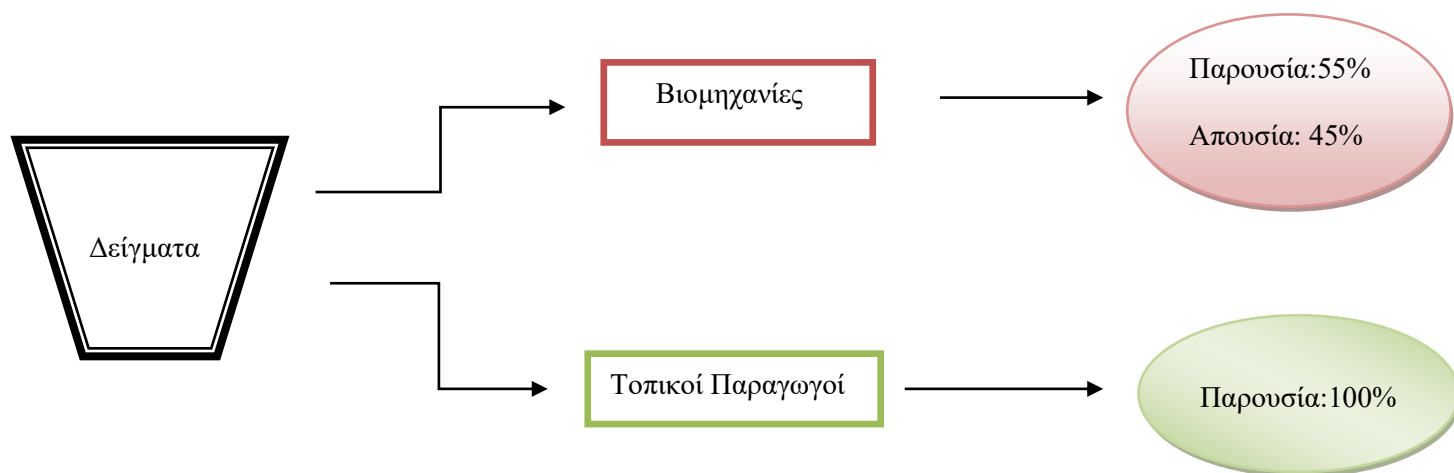
## Κεφάλαιο 9: Σχολιασμός Αποτελεσμάτων

### 9.1 Ανάλυση των αποτελεσμάτων

Αρχικά αξίζει να συζητηθεί το γεγονός ότι κατά το τελικό στάδιο της πειραματικής πορείας μπορούμε να αντιληφθούμε την χρωματική διαφορά που παρουσιάζουν τα δείγματα, δηλαδή την ποσότητα της σουλφοναμίδης, στην πλάκα μικροτιτλοδότησης την χρονική στιγμή που προσθέτουμε το stop solution. Αυτό, σύμφωνα με τον Σφλώμο Κ. (2019), οφείλεται στο γεγονός ότι στην Elisa χρησιμοποιούνται ή χρωμογόνα ή φθορισμού υποστρώματα, τα οποία έχουν υψηλότερη ευαισθησία. Η ένταση του χρώματος είναι ανάλογη της ποσότητας του αντιγόνου. Έπειτα από την μέτρηση των δειγμάτων στο φασματοφωτόμετρο λαμβάνουμε τις τιμές απορρόφησης τους και με αυτόν τον τρόπο μπορούμε να αποδείξουμε την αρχική θεωρία για την ένταση του χρώματος.

Με βάση τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την πειραματική μας μελέτη, η πλειοψηφία των δειγμάτων μελιού που αναλύθηκαν περιείχαν το αντιβιοτικό της σουλφοναμίδης, γεγονός που επαληθεύει την έλλειψη ελέγχων, όσο αναφορά την παρουσία των αντιβιοτικών, στη χώρα μας.

Ειδικότερα, παρατηρήθηκε ότι η χρήση αντιβιοτικών είναι συχνότερη στα μέλια που προέρχονται από τοπικούς παραγωγούς (100% παρουσία) σε σχέση με τα μέλια που παράγονται από επώνυμες βιομηχανίες τροφίμων, παρόλα αυτά και σε αυτή την περίπτωση έχουν βρεθεί υπολείμματα αντιβιοτικών (55% παρουσία). Παρατηρώντας τα αποτελέσματα των αναλύσεων, το 87% των συνολικών δειγμάτων βρέθηκαν να περιέχουν υπολείμματα σουλφοναμίδης. Το μεγαλύτερο ποσοστό από αυτά ανήκει στην κατηγορία των μελιών που παρασκευάζονται από τοπικούς μελισσοκόμους. Σύμφωνα με την νομοθεσία η ανίχνευση αντιβιοτικών κρίνεται παράνομη, ωστόσο παρατηρούμε ότι η μελισσοκομία ενεργεί εις βάρος της και κυρίως εις βάρος των καταναλωτών.



Σχήμα 10: Διάκριση των δειγμάτων

## 9.2 Έρευνες που πραγματοποιήθηκαν εντός και εκτός Ε.Ε.

Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε το 2014 με στόχο την ανίχνευση υπολειμμάτων αντιβιοτικών σε 135 δείγματα μελιού, που συλλέχθηκαν από το Βόρειο Ιράν, ανιχνεύθηκαν δείγματα μελιού που περιείχαν αντιβιοτικά. Αναλυτικότερα, η πειραματική αυτή έρευνα πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Elisa και έδειξε ότι δείγματα μελιού που συλλέχθηκαν σε διαφορετικές εποχές το 2011 περιείχαν διάφορες ποσότητες ενροφλοξασίνης, πενικιλίνης, χλωραμφενικόλης, γενταμικίνης, υπολείμματα τυλοσίνης, τετρακυκλίνης και σουλφοναμίδης. Το αντιβιοτικό που ανιχνεύθηκε σε πολύ υψηλές ποσότητες (0,6-72,1 ng/ml) ήταν η Ενροφλοξασίνη, ενώ ακολουθεί γενταμικίνη, σουλφοναμίδα και υπολείμματα τετρακυκλίνης. Το κατάλοιπο χλωραμφενικόλης ανιχνεύθηκε σε μερικά δείγματα μελιού με πολύ χαμηλά επίπεδα ποσότητα (0,1-0,3 ng / g). Εκτός από τη σουλφοναμίδα και την πενικιλίνη, δεν εντοπίστηκαν άλλα αντιβιοτικά σε δείγματα την άνοιξη. Μεταξύ των αντιβιοτικών που εξετάστηκαν σε αυτή τη μελέτη, η σουλφοναμίδα ήταν το μόνο αντιβιοτικό που ανιχνεύθηκε στα περισσότερα δείγματα μελιού το φθινόπωρο με την ποσότητα  $0,0 \pm 0,03$  ng / g, γενικά, από 135 δείγματα μελιού, 20 (14,8%) ήταν θετικά για το υπόλειμμα σουλφοναμίδης. (Razzagh Mahmoudi, Reza Norian & Mohammadreza Pajohi-Alamoti 2014)

Μια άλλη μελέτη στην οποία αναλύθηκαν 251 δείγματα μελιού σε όλη την Ελλάδα με υγρή χρωματογραφία για την ανίχνευση υπολειμμάτων τετρακυκλίνης βρέθηκε ότι το 21% των δειγμάτων περιείχαν το αντιβιοτικό τετρακυκλίνη. Η πλειονότητα των δειγμάτων περιείχε υπολείμματα από 0,018-0,055 mg / kg μελιού, ενώ μερικά άλλα είχαν υπολείμματα άνω των 0,100 mg / kg. ( Saridaki-Papakonstadinou, M.; Andredakis, S.; Burriel, A.; Tsachev 2006)

Στην Τουρκία πραγματοποιήθηκε άλλη μια πειραματική μελέτη όπου πενήντα δείγματα μελιού που αποτελούνται από μέλια καστανιάς, πεύκου και λουλουδιών που συλλέχθηκαν από τις κυψέλες στην περιοχή του νότιου Μαραμάρ της Τουρκίας αναλύθηκαν για υπολείμματα ερυθρομυκίνης με φασματοφωτομετρία μάζας υγρής χρωματογραφίας. Τέσσερα από τα δείγματα μελιού βρέθηκαν με υπολείμματα ερυθρομυκίνης σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 50 έως 1776 ng / g. (. Gunes, N.; Cibik, R.; Gunes, M.E.; Aydin, L. 2008)

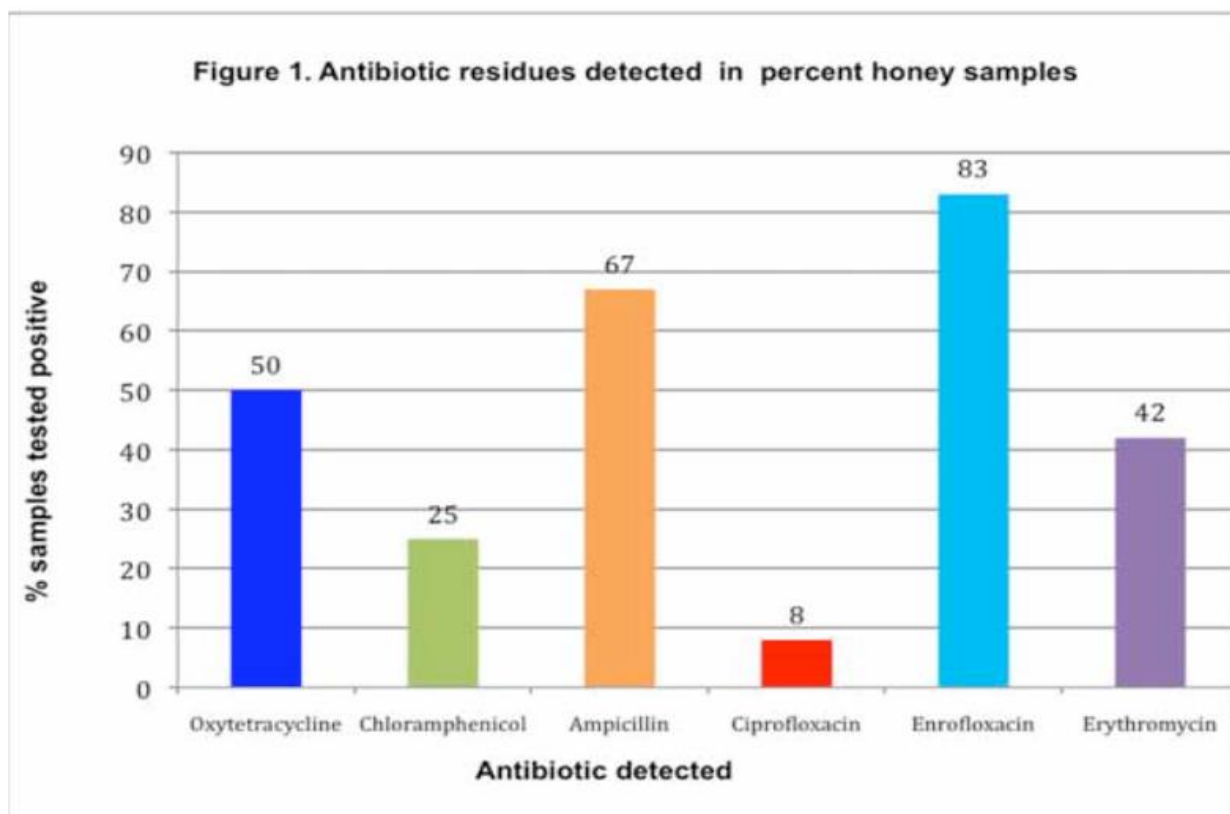
Έρευνα που έλαβε μέρος στο Νέο Δελχί το 2010, εξέτασε 12 δείγματα για υπολείμματα αντιβιοτικών στο μέλι με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας. Βρέθηκε ότι η οξυτετρακυκλίνη, ένα αντιβιοτικό τετρακυκλινών, ανιχνεύθηκε στο 50% των δειγμάτων μελιού. Το ανώτατο επίπεδο δράσης που καθορίστηκε από το Συμβούλιο Επιθεώρησης Εξαγωγής στην Ινδία (EIC) για τις τετρακυκλίνες είναι 10 μg / kg. Η οξυτετρακυκλίνη ανιχνεύθηκε στην περιοχή από 27,1 έως 250,4 μg / kg.

Ακόμη, η γλωραμφενικόλη, όπου απαγορεύεται για χρήση σε ζώα παραγωγής τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων των μελισσών στον Καναδά, στις Ηνωμένες Πολιτείες, την Ευρωπαϊκή Ένωση και άλλες χώρες. Διαπιστώθηκε στο 25% των δειγμάτων μελιού και κυμαίνεται από 3,6 - 4,4 μg / kg, όπου το ανώτατο επιτρεπτό όριο είναι 0,3 μg / kg και καθορίστηκε από το Συμβούλιο Επιθεώρησης Εξαγωγών στην Ινδία (EIC).

Η αμπικιλλίνη όπου ανήκει στο αντιβιοτικό β-λακτάμης, που χρησιμοποιείται ευρέως στην κτηνιατρική για τη θεραπεία και τη πρόληψη των βακτηριακών ασθενειών ανιχνεύθηκε στο 67% των δειγμάτων μελιού. Η συγκέντρωση της αμπικιλλίνης που ανιχνεύθηκε σε δείγματα μελιού ήταν στην κλίμακα 10.1-614.2 μg / kg. Δεν υπάρχει επίπεδο δράσης από το EIC για την κατηγορία της β-λακτάμης, άρα η αμπικιλλίνη, θεωρείται μια μη εξουσιοδοτημένη και παράνομη ουσία στο μέλι.

Η ενροφλοξασίνη, ένα συνθετικό αντιβακτηριακό που ανήκει στην κατηγορία φθοροκινολόνης εγκεκριμένο για θεραπεία βακτηριακών λοιμώξεων σε βοοειδή, θεωρείται μη εγκεκριμένο φάρμακο από το FDA. Η ενροφλοξασίνη ανιχνεύθηκε στο 83% των δειγμάτων - 10 στα 12 δείγματα που αναλύθηκαν.

Τέλος, η ερυθρομυκίνη είναι ένα σημαντικό μακρολίδιο που χρησιμοποιείται ευρέως για την προστασία των μελισσών από βακτηρίδια ανιχνεύθηκε στο 42% των δειγμάτων. Εντοπίστηκε στο εύρος από 69,7 έως 280,3  $\mu\text{g} / \text{kg}$ . Η EIC δεν έχει θεσπίσει όριο για το επίπεδο δράσης της. (Johnson & Jadon 2010)



Σχήμα 11: Απεικόνιση ποσοτήτων αντιβιοτικών

Πηγή: Johnson & Jadon 2010

Οι Szcescena, et al 2009, πραγματοποίησαν μια έρευνα με στόχο την ανίχνευση σουλφοναμιδών σε δείγματα μελιού χρησιμοποιώντας υγρή χρωματογραφία (HPLC). Κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το όριο ανάλυσης όλων των αντιβιοτικών που ανήκουν στην οικογένεια των σουλφοναμιδών ήταν ίσο με 5 µg/kg. Ειδικότερα, στο εργαστήριο ελέγχου ποιότητας για τα προϊόντα μέλισσας ( Bee Products Quality Testing Laboratory) αναλύθηκαν 241 δείγμα μελιού, προερχόμενα από την Πολωνική αγορά και βρέθηκε ότι το 17 % αυτών, δηλαδή τα 41 από αυτά περιείχαν σουλφοναμίδες, πάνω του ορίου ποσοτικοποίησης που έχει θεσπιστεί από Εθνικό Πολωνικό Πρόγραμμα Ελέγχου ( Polish National Monitoring Program) για το μέλι, που είναι 50 µg/kg. Οι ενώσεις που ανήκουν στην οικογένεια των σουλφοναμιδών που ανιχνεύτηκαν ήταν σουλφαμεθαζίνη, σουλφαμεθαζίνη, σουλφακεταμίδη και σουλφανιλαμίδη.

Το συνολικό εύρος που εντοπίστηκαν ήταν μεταξύ 5 με 2891 µg/kg, και τα περισσότερα δείγματα που αναλύθηκαν περιείχαν 3 σουλφοναμίδες: την σουλφαθειαζόλη, την σουλφακεταμίδη και την σουλφαμεθειαζόλη.

Παρακάτω παρουσιάζεται ένας πίνακας, στον οποίο αναγράφονται οι ποσότητες σουλφοναμιδών που ανιχνεύτηκαν σε δείγματα μελιού από το εργαστήριο ποιότητας για τα προϊόντα μέλισσας, για τα έτη 2007-2008.

#### Πίνακας 10: Αποτελέσματα δειγμάτων έρευνας Πολωνίας

Πηγή: Szcescena, et al 2009

Year	Number of samples	Number of samples >50 µg/kg*	Percentage of samples >50 µg/kg*
2007	160	29	18%
2008	81	12	15%
Sum of samples	241	41	17%

Από τα αποτελέσματα αυτά παρατηρούμε ότι η πλειοψηφία των δειγμάτων είναι εντός ορίων με βάση τα όρια που έχει θεσπίσει το Εθνικό Πολωνικό Πρόγραμμα Ελέγχου, για τις χρονολογίες 2007-2008, δηλαδή κάτω από 50 µg/kg. Επομένως είναι συμμορφούμενα με την εθνική νομοθεσία της Πολωνίας.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ο στόχος αυτής της μελέτης ήταν να διερευνηθεί εάν υπάρχουν υπολείμματα του αντιβιοτικού σουλφοναμίδη σε δείγματα μελιού. Τα δείγματα συλλέχθηκαν από αλυσίδες καταστημάτων τροφίμων καθώς και από τοπικούς μελισσοκόμους. Το μεγαλύτερο μέρος ήταν μέλια παρασκευασμένα στην Ελλάδα, ωστόσο μερικά ήταν εισαγόμενα από γειτονικές χώρες.

Η επιλογή της Elisa προέκυψε από την αναζήτηση μιας μεθόδου με ευαισθησία και ακρίβεια. Η Elisa βασίζεται στη χρήση αντισωμάτων τα οποία παρέχουν εξαιρετική εξειδίκευση ως αντιδραστήρια για τον καθορισμό μιας πρωτεΐνης ή κάποιου άλλου αντιγόνου, στην συγκεκριμένη περίπτωση ενός αντιβιοτικού. Στην παρούσα έρευνα το πείραμα διεξάχθηκε με την Elisa Sandwich, όπου επιτρέπει την ανίχνευση και την ποσοτικοποίηση του αντιγόνου ( Σφλώμος Κ. 2019).

Περίληπτικά, τα αντιβιοτικά είναι ουσίες που βοήθησαν σημαντικά τον άνθρωπο για την αντιμετώπιση επικίνδυνων λοιμώξεων τόσο για τον ίδιο όσο και για τα ζώα που είχε υπό την επίβλεψη του. Παρόλα αυτά με την πάροδο του χρόνου η χορήγηση τους στα ζώα έγινε ανεξέλεγκτη. Η χορήγηση των αντιβιοτικών στις μέλισσες ξεκίνησε για την αντιμετώπιση των ασθενειών τους, ωστόσο έχει παρατηρηθεί ότι πλέον γίνεται και για την αύξηση της απόδοσης τους. Η αλόγιστη αυτή χρήση έχει αποδειχθεί ότι ισοδυναμεί με αρνητικές επιπτώσεις στο ίδιο το έντομο και στον καταναλωτή.

Πιο ειδικά, κατά την προσθήκη αντιβιοτικού από τους μελισσοκόμους στην κυψέλη, αποδυναμώνεται το αμυντικό σύστημα των μελισσών καθώς θανατώνει τα καλά τους βακτήρια. Αντίστοιχα όταν ο άνθρωπος καταναλώσει αντιβιοτικά παρουσιάζει αλλεργικές αντιδράσεις και σε χρόνια έκθεση ακόμη και καρκινογενέσεις και τερατογενέσεις.

Για αυτό κρίνεται απαραίτητη η παρακολούθηση των καταλοίπων αντιβιοτικών για την αποφυγή πιθανών κινδύνων για την δημόσια υγεία, καθώς και για την υγεία του περιβάλλοντος γιατί όπως είναι γνωστό η μέλισσα έχει τεράστια αξία για το οικοσύστημα.



Με βάση τα αποτελέσματα των παραπάνω πειραματικών μελετών , που πραγματοποιήθηκαν σε δείγματα μελιού προερχόμενα από τις αγορές της Ινδίας, του Ιράν, της Τουρκίας και της Πολωνίας, γίνεται αντιληπτό ότι η παρουσία αντιβιοτικών στο μέλι είναι ένα φαινόμενο που πλήττει την παγκόσμια αγορά. Πέρα από την εθνική νομοθεσία της Πολωνίας, η οποία έχει ορίσει ΑΟΚ ( Ανώτατα Όρια Καταλοίπων) για τις σουλφοναμίδες, θα πρέπει να θεσπιστούν και στις υπόλοιπες χώρες ΑΟΚ, προκειμένου να διαφυλαχτεί η δημόσια υγεία.

Η Ελλάδα ανήκει στις χώρες που δεν έχει ορίσει συγκεκριμένο ΑΟΚ για τα αντιβιοτικά και ιδιαίτερα για τις σουλφοναμίδες. Αφενός θα πρέπει να θεσπιστούν ΑΟΚ για όλες τις ομάδες αντιβιοτικών στο μέλι, καθώς ήδη υπάρχουν για άλλα προϊόντα κτηνοτροφίας και αφετέρου να πραγματοποιούνται περισσότεροι πειραματικοί έλεγχοι στα προϊόντα μέλισσας της Ελληνικής αγοράς.

Με αυτό τον τρόπο, οι επιστήμονες τροφίμων και οι γεωπόνοι θα αποκτούν εικόνα σχετικά με τον αριθμό των δειγμάτων μελιού που παρουσιάζουν υπολείμματα αντιβιοτικών και με την σειρά τους θα πληροφορούν και θα ενημερώνουν τους εκάστοτε υπεύθυνους για το θέμα αυτό. Επιπλέον, οι καταναλωτές θα πρέπει να ενημερωθούν σχετικά με τους πιθανούς κινδύνους που μπορεί να αντιμετωπίσουν έπειτα από κατανάλωση μη ασφαλών, από αντιβιοτικά προϊόντων.

Είναι λογικό να περιμένουμε πως κατάλοιπα της σουλφοναμίδης στο μέλι, θα συνεχίσουν να είναι ένα τεράστιο πρόβλημα ασφάλειας για πολλά ακόμη χρόνια. Η συστηματική χρήση αντιβιοτικών στην μελισσοκομία, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω αποτελεί απειλή για την δημόσια και περιβαλλοντική υγεία. Συνεπώς κρίνεται απαραίτητο να βρεθούν τρόποι αντιμετώπισης. Η πηγή του προβλήματος είναι οι μελισσοκόμοι όπου χρησιμοποιούν τα αντιβιοτικά χωρίς όμως τους κατάλληλους ελέγχους.

Επομένως οι μελισσοκόμοι θα πρέπει να λάβουν επιτυχημένα μέτρα για να αποτρέψουν τη μόλυνση των προϊόντων μελισσών στην μελισσοκομία, καθώς σε όλες τις περιπτώσεις υπάρχουν οικολογικές εναλλακτικές λύσεις. Ένα σύστημα HACCP (Ανάλυση Κινδύνου και Κρίσιμο Σημείο Ελέγχου) για τον έλεγχο των πηγών μόλυνσης πρέπει να αναπτυχθεί και να εφαρμοστεί στη μελισσοκομία.

Όπως για παράδειγμα την χρήση εναλλακτικών στρατηγικών ελέγχου παρασίτων μελισσών και την ελάχιστη χρήση συνθετικών χημικών ουσιών στη μελισσοκομία μπορούν να διατηρήσουν τα προϊόντα μελισσών καθαρά και ασφαλή. Με αυτό τον τρόπο θα αποφεύγεται η μόλυνση των προϊόντων μέλισσας και θα επιτυγχάνεται η παραγωγή τους σε υψηλή ποιότητα, με απουσία τοξικών, μολυσματικών ουσιών.

Η αναζήτηση όλων των παραπάνω θεωρητικών πληροφοριών αλλά και των πειραματικών αποτελεσμάτων, μας έκανε να αντιληφθούμε πόσα λίγα γνωρίζουμε ως καταναλωτές. Το μέλι αποτελεί ένα αγνό, φυσικό προϊόν ή τουλάχιστον έτσι πιστεύαμε πριν ολοκληρώσουμε αυτή την έρευνα. Το γεγονός αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι οι καταναλωτές παραπληροφορούνται καθώς αγοράζουν προϊόντα που δεν έχουν την σύσταση που περιμένουν και που μελλοντικά υπάρχει πιθανότητα να έχουν επιπτώσεις στην υγεία τους. Πρέπει λοιπόν να αναλογιστούμε την σοβαρότητα αυτού και να ενεργήσουμε άμεσα απέναντι τους ακολουθώντας τους παραπάνω τρόπους αντιμετώπισης.

# Βιβλιογραφία

## ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Α.Σ. Αλεξάκης, Μέλι, Φύση και Πολιτισμός, 2003, Μιχάλη Σιδερέη
2. Βλαδίμηρου Δερματόπουλου. Η σύγχρονη πρακτική μελισσοκομία( Η τέχνη παραγωγής του μελιού), έκδοση Αγροτικός Οίκος Σπύρος Σπύρου
3. Ε. Μελίδου, Ε. Μέλλιου, Σ. Καραμπουρνιώτη, Δ. Γάλαρης, Ι. Χήνου, «Βιολογική δραστηριότητα των ελληνικών μελιών», Διεθνές Συνέδριο «Παραδοσιακή Μεσογειακή Διατροφή: Παρελθόν, Παρόν και Μέλλον», 21-23 Απριλίου 2004
4. Θρασυβούλου Α., Μανίκης Ι., Τανανάκη Χ., Τσέλλιος Δ., Καραμπουρνιώτη Σ., Δήμου Μ. 2002 *Η ΤΑΥΤΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΕΛΛΗΝΙΚΟΥ ΜΕΛΙΟΥ*. Αθήνα : 1ο Επιστημονικό Συνέδριο Μελισσοκομίας – Σηροτροφίας.
5. Θρασυβούλου, Ανδρέας. (2005). Υπολείμματα αντιβιοτικών στο μέλι : νομιμότητα, καταλληλότητα και επικινδυνότητα. ΜΕΛΙΣΣΟΚΟΜΙΚΗ ΕΠΙΘΕΩΡΗΣΗ.
6. Κώδικας Τροφίμων και Ποτών. Έκδοση 4. 2016.
7. Μιχαήλ Δ. Υφαντίδη . Μελισσοκομία (Επιστήμη και εφαρμογή), έκδοση Β΄ 1985
8. Νίκη Ι. Νικολαΐδου Η μελισσοκομία χωρίς δάσκαλο εκδόση 1981
9. Σ. Καραμπουρνιώτη, «Επιβάρυνση του μελιού με αντιβιοτικά», 2ο Επιστημονικό Συνέδριο Μελισσοκομίας-Σηροτροφίας, Αθήνα, 19-21/6/2004
10. Σφλώμος Κ. 2019. Εργαστηριακές Ασκήσεις Χημείας Τροφίμων
11. Υφαντίδης Μ. 2005. "Η σύγχρονη μελισσοκομία ως επιστήμη και ως πράξη". Θεσσαλονίκη Μελισσοκομική
12. Ζδράγκας Α. 2018. Αντιβιοτικά, η ιστορία από τη λύτρωση στον εφιάλτη, άρθρο στο περιοδικό ΔΗΜΗΤΡΑ, έκδοση ΕΛΓΟ (21), 9-11.: [https://www.elgo.gr/images/ioanna/periodiko/Teyxos\\_21/ARTHRO\\_3\\_Αντιβιοτικά.pdf](https://www.elgo.gr/images/ioanna/periodiko/Teyxos_21/ARTHRO_3_Αντιβιοτικά.pdf)
13. Λάγγα Π. 2012. Ανάπτυξη και εφαρμογή μεθόδου προσδιορισμού του αντιβιοτικού φουμαγγιλίνης στο μέλι. Μεταπτυχιακή Διατριβή.

## ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Bogdanov S., 2009. The Beeswax Book, Chapter 1, Beeswax: uses and trade.1-14.
2. A.Muriano, V.Chabottaux, J-M.Diserens, B.Granier, F.Sanchez-Baeza, M.-P.Marco. 2015. Rapid immunochemical analysis of the sulfonamide-sugar conjugated fraction of antibiotic contaminated honey samples (178) 156-163 doi: 10.1016/j.foodchem.2015.01.037
3. Abdulaziz S. Alqarni, Ayman A., Owayss, Awad A. Mahmoud, Mohammed A.Hannan. 2014. Mineral content and physical properties of local and imported honeys in Saudi Arabia. Doi:[10.1016/j.jscs.2012.11.009](https://doi.org/10.1016/j.jscs.2012.11.009)
4. Alfredsson, G., Branzell, C., Granelli, K., & Lundström, Å. (2005). Simple and rapid screening and confirmation of tetracyclines in honey and egg by a dipstick test and LC–MS/MS. *Analytica Chimica Acta*, 529(1–2), 47–51. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.08.050>
5. Ali A., Al-Jabri. 2005. Honey, milk and antibiotics. A Review. *African Biotechnology Journal* 4 (13) 1580-1587.
6. Atkins E.L., Kellum D. 1984. Microencapsulated pesticides: Visual microscopical detection of capsules; Quantification of residue in honey and pollen. *Am. Bee J.* (124):800-804
7. Aydoğan, C., & El Rassi, Z. (2019). MWCNT based monolith for the analysis of antibiotics and pesticides in milk and honey by integrated nano-liquid chromatography-high resolution orbitrap mass spectrometry. *Analytical Methods*, 11(1), 21–28. <https://doi.org/10.1039/C8AY02173B>.
8. Bargańska, Z., Namieśnik, J., Ślebioda. M. 2011. Determination of antibiotics residues in honey (7) 1035-1041 doi: 10.1016/j.trac.2011.02.2014.
9. Bernal J.L., Jimenez J.J., Del Nozal M.J., Toribio L., Martin M. T. 2005. Physico-chemical parameters for the characterization of pure beeswax and detection of adulterations. *European journal of lipids science and technology* 107(3), 158- 166. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200401105>
10. Blasco C., Fernandez M., Pena A., Lino C., Silveira M., Font G. and Pico Y. 2003. Assessment of pesticide residues in honey samples from Portugal and Spain. *J. Agric. Food Chem* (51):8132-8138. Doi: 10.1021/jf034870m
11. Bogdanov S., (2006). Contaminants of bee products. *Apidologie* 37 (1) 1-18. <https://doi.org/10.1051/apido:2005043>

12. Bohm, D. A., Stachel, C. S., & Gowik, P. (2012). Validation of a multi-residue method for the determination of several antibiotic groups in honey by LC-MS/MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 403(10), 2943–2953. <https://doi.org/10.1007/s00216-012-5868-z>
13. Bonerba, Elisabetta, et al. "Determination of antibiotic residues in honey in relation to different potential sources and relevance for food inspection." *Food Chemistry* 334 (2021): 127575. Doi: [10.1016/j.foodchem.2020.127575](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127575)
14. Chen, H., Ying, J., Chen, H., Huang, J., Liao, L. 2008. LC determination of chloramphenicol in honey using dispersive liquid-liquid microextraction (68) 629-634. doi: 10.1365/s10337-008-0753-9
15. Clardy J., Fischbach M.A., Currie C.R. 2009. The natural history of antibiotics. *Magazine R437*.doi:10.1016/j.cub.2009.04.001
16. Debayle, D., Dessalces, G., & Grenier-Loustalot, M. F. (2008). Multi-residue analysis of traces of pesticides and antibiotics in honey by HPLC-MS-MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 391(3), 1011–1020. <https://doi.org/10.1007/s00216-008-2003-2>.
17. Diserens, J.M. 2007. Contaminants and residues in Food. Strategies (if any) to screen and analyze veterinary drug residues in food from animal origin. 5th International Fresenius Conference Nestle Research Center. ([www.biocop.org/.../Contaminants\\_\\_\\_Residuesin\\_Food\\_5th\\_Freseniusppt.pdf](http://www.biocop.org/.../Contaminants___Residuesin_Food_5th_Freseniusppt.pdf).)
18. El Hawari, K., Daher, Z., Verdon, E., & Al Iskandarani, M. (2017). Impact of ion-pairs for the determination of multiclass antimicrobials residues in honey by LC-MS/MS. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 34(12), 2131–2143. <https://doi.org/10.1080/19440049.2017.1372641>.
19. Etebu E., Arikekpar I. 2016. Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. *International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology Research* (4) 90-101. doi.org/10.33500/ijambr.2016.04.011
20. Forti A.F., Campana G., Simonella A., Multari M., Scortichini G. 2004. Determination of chloraphenicol in honey by liquid chromatography-tadem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* (529) 257-263. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.10.059>
21. Galarini R., Saluti G., Guisepponi D., Rosi R., Moretti S.. 2014. Multiclass determination of 27 antibiotics in honey. *J. Agric Food Chem* (57, 5) 1760–1767 <https://doi.org/10.1021/jf8034572>

22. Gombarros- Fuertes P., Fresno J.M., Estevinho M.M., Sousa-Primeta M., Tornadijo E. M., Estevinho L.M. 2020. Honey: Another Alternative in the Fight against Antibiotic- Resistant Bacteria. A Review. (9) 774: <https://doi.org/10.3390/antibiotics9110774>
23. Gunes, N.; Cibik, R.; Gunes, M.E.; Aydin. L. 2008. Erythromycin residue in honey from the Southern Marmara region of Turkey. *Food Additive and Contamination Part A* (25) 1313–1317. Doi:[10.1080/02652030802233472](https://doi.org/10.1080/02652030802233472)
24. Hammel, Y. A., Mohamed, R., Gremaud, E., LeBreton, M. H., & Guy, P. A. (2008). Multiscreening approach to monitor and quantify 42 antibiotic residues in honey by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1177(1), 58–76. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.10.112>.
25. Hernandez Serrano P. 2005. Responsible use of antibiotics in aquaculture (469)
26. J.T. (1984) Beeswax: Production, Harvesting, Processing And Products- A Book Review. *American Bee Journal* 124(11):792.
27. Johnston A.M. 2001. Animals and antibiotics. *International Journal of Antimicrobial agents* (18) 291-294. [https://doi.org/10.1016/S0924-8579\(01\)00379-X](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(01)00379-X)
28. Julian D. 2006. Are Antibiotics naturally antibiotics? A Review. (33) 496-499. doi 10.1007/s10295-006-0112-5
29. Kisala, J., Dzugan, M. 2009. Environmental influence and beekeeping techniques on the quality of honey 28(1):463-467
30. Kivrak I., Kivrak S., Harmanandar M. 2016. Development of a rapid method for the determination of antibiotic residues in honey using UPLC-ESI-MS/MS. *Food Science and Technology* (36) 1. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.0037>
31. Kivrak, I., Kivrak, Ş., & Harmandar, M. (2016). Development of a rapid method for the determination of antibiotic residues in honey using UPLC-ESI-MS/MS. *Food Science and Technology (Campinas)*, 36(1), 90–96. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.0037>.
32. Kourkouta L., Tsaloglidou A., Koukourikos K., Iliadis C., Plati P. and Dimitriadou A. 2018. History of Antibiotics (2) 51-54. *Sumerianz Journal of Medical and Healthcare*.
33. Krell, R. (1996). *Value-added products from beekeeping* (No. 124). Food & Agriculture Org.
34. Kumar A., Gill J.P.S., Bedi J.S., Chhuneja P.K. 2020. Determination of antibiotic residues in Indian honeys and assessment of potential risks to consumers. *Journal of Apicultural Research* (25-34)

35. Landers T.F., Cohen B., Wittum E.T., Larson E.L. 2012. A review of antibiotic use in food animals: Perspective, Policy and Potential public health reports (127) 5-21. <https://doi.org/10.1177/003335491212700103>
36. Lopez, M. I., Pettis, J. S., Smith, I. B., & Chu, P. S. (2008). Multiclass determination and confirmation of antibiotic residues in honey using LC-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(5), 1553–1559. <https://doi.org/10.1021/jf073236w>.
37. Moreno-Bondi, M.C., Marazuela, M.D., Herranz, S., Rodriguez, E. 2009. An overview of sample preparation procedures for LC-MS multiclass antibiotic determination in environmental and food samples. (395) 921-946. doi: 10.1007/s00216-009-2920-8
38. Noori- Al Waili, Khelod Salom, Ahmed- Al Gambi and Mohammand Javed Ansari. 2012. Antibiotic, Pesticide, and Microbial Contaminants of Honey: Human Health Hazards. Review Article. *The Scientific World Journal*. doi: 10.1100/2012/930849
39. Ortiz- Alvarado Y., Clark D.R., Vega- Melendez C.J., Flores-Cruz Z., Dominguez- Bello M.G., Giray T. 2020. Antibiotics in hives and their effects on honey bee philosophy and behavioral development. *Company of Biologists Ltd* 9 (11) 1-11. Doi: 10.1242/bio.053884
40. Pongmalai P., Buakeaw A., Puthong S., Khongchareonporn N. 2021. A specific monoclonal antibody for chlorotetracycline detection in milk and honey samples based on ELISA.
41. Razzagh M., Raza N., Mohammadreza P.A. 2014. Antibiotic Residues in Iranian Honey by Elisa. (17) 2367-2373 <https://doi.org/10.1080/10942912.2013.809539>
42. Sapna J., Nimish J. 2010. Antibiotics Residues in Honey. Center for Science and Environment.
43. Johnson, S., Jadon, N., Mathur, H. B., & Agarwal, H. C. (2010). Antibiotic residues in honey. *Report September*.
44. Saridaki-Papakonstadinou, M., Andredakis, S. Burriel, A. Tsachev, I. 2006. Determination of tetracycline residues in Greek honey. *Trakia Journal Science* (4) 33–36. ([http://www.uni-sz.bg/tsj/Vol4N1\\_2006/Ca4ev.pdf](http://www.uni-sz.bg/tsj/Vol4N1_2006/Ca4ev.pdf) )
45. Shendy, A. H., Al-Ghobashy, M. A., Alla, S. A. G., & Lotfy, H. M. (2016). Development and validation of a modified QuEChERS protocol coupled to LC–MS/MS for simultaneous determination of multi-class antibiotic residues in honey. *Food chemistry*, 190, 982–989. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.048>.
46. Stanimirovic Z., Stephanovic J., Bajic V., Radovic I. 2007. Evaluation of genotoxic effects of fumagillin by cytogenetic tests in vivo. *Mutation Research* (628) 1-10. doi: 10.1016/j.mrgentox.2006.09.014

47. Suelen A., Márcia R.B., Rosemary Hoffmann Ribani, Rui C., Zambiasi. 2018. Stingless bee honey: Quality parameters, bioactive compounds, health-promotion properties and modification detection strategies.
48. Szescena T., Rybak- Chmielewska H., Was E., Pohorecka K. 2009. Study on Sulfonamide Residues in Honey. *Journal of Apiculture Science*. 53 (2) 39-47.
49. Thompson, T.S., Noot, D.K. 2005. Determination of sulfonamides in honey by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. (1-2) 168-176  
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.03.077>
50. Tsai W-H., Chuang H-Y., Chen H-H., Wu Y-W., Cheng S-H. 2010. Application of sugaring-out extraction for the determination of sulfonamides in honey by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*, 1217. (49) 7812-7815. doi: 10.1016/j.chroma.2010.10.008
51. Vidal, J. L. M., Aguilera-Luiz, M. D. M., Romero-Gonzalez, R., & Frenich, A. G. (2009). Multiclass analysis of antibiotic residues in honey by ultraperformance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), 1760–1767. <https://doi.org/10.1021/jf8034572>.
52. Von Eyken, A., Furlong, D., Arooni, S., Butterworth, F., Roy, J. F., Zweigenbaum, J., & Bayen, S. (2019). Direct injection high performance liquid chromatography coupled to data independent acquisition mass spectrometry for the screening of antibiotics in honey. *Journal of Food and Drug Analysis*, 27(3), 679–691. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.12.013>.
53. Wang, J. (2004). Determination of five macrolide antibiotic residues in honey by LC-ESIMS and LC-ESI-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(2), 171–181. <https://doi.org/10.1021/jf034823u>.
54. Witherell 1975.”In the hive and the honey bee”.
55. Yuje B., Caixia F., Min H., Lei L., Ming Hung W., Chunmiao Z. 2019. Human health risk assessment of antibiotic resistance associated with antibiotic residues in the environment. *A Review* (169):483-493. doi: 10.1016/j.envres.2018.11.040



## ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΕΣ ΔΙΕΥΘΥΝΣΕΙΣ

1. <http://www.hellaschem.gr/>
2. <http://www.olymposhoney.gr/> Ιδρυτής Γιώργος Σαμαράς
3. <https://thehealthycook.gr/> Ιδρυτής Εύη 2017
4. <https://www.attiki-pittas.gr/>
5. <https://www.galinos.gr/web/drugs/main/substances/chloramphenicol>
6. <https://www.honey-center.gr/>
7. <https://www.iama.gr/ethno/arta/melissokomia.htm/>
8. <https://www.intechopen.com/books/honey-analysis/residue-determination-in-honey>
9. <https://www.merckmillipore.com/INTL/en/analytics-and-sample-preparation/chromatography-application-world/food-and-beverage/sulfonamides-in-honey/Y1yb.qB.XpYAAAFCTKpYZnTf,nav?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2F&bd=1>
10. <https://www.organic-honey.gr/why-greek/statistics/>