



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ, Α΄ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑ. ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ ΘΕΜΑΤΩΝ
ΜΕ
ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ»

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Ανεπιθύμητες ουσίες στο γάλα από το περιβάλλον.

ΚΟΥΛΟΥΡΗΣ ΣΠΥΡΙΔΩΝ
(ΑΡΙΘΜΟΣ ΜΗΤΡΩΟΥ:2006200)
ΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ ΤΕΙ ΑΘΗΝΑΣ

Επιβλέπων Καθηγητής : Δρ. Ιωάννης Τσάκνης,
Καθηγητής Σχολής Τεχνολογίας Τροφίμων & Διατροφής,
Τ.Ε.Ι. Αθηνών.

Επιστημονική Υπεύθυνη : Πολυξένη Νικολοπούλου - Σταμάτη,
Αν. Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής,
Ιατρική Σχολή, Ε.Κ.Π.Α.

ΑΘΗΝΑ 2013



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ, Α΄ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑ. ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ ΘΕΜΑΤΩΝ
ΜΕ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ»

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Ανεπιθύμητες ουσίες στο γάλα από το περιβάλλον.

ΚΟΥΛΟΥΡΗΣ ΣΠΥΡΙΔΩΝ

(ΑΡΙΘΜΟΣ ΜΗΤΡΩΟΥ:2006200)

ΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ ΤΕΙ ΑΘΗΝΑΣ

Επιβλέπων Καθηγητής : Δρ. Ιωάννης Τσάκνης,
Καθηγητής Σχολής Τεχνολογίας Τροφίμων & Διατροφής,
Τ.Ε.Ι. Αθηνών.

Επιστημονική Υπεύθυνη : Πολυξένη Νικολοπούλου - Σταμάτη,
Αν. Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής,
Ιατρική Σχολή, Ε.Κ.Π.Α.

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

- 1. Πολυξένη Νικολοπούλου - Σταμάτη,** Αν. Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής, Διευθύντρια και Επιστημονική Υπεύθυνη του Π.Μ.Σ. «Περιβάλλον και Υγεία. Διαχείριση Περιβαλλοντικών θεμάτων με επιπτώσεις στην Υγεία», Ιατρικής Σχολής Ε.Κ.Π.Α., Πρόεδρος.
- 2. Ιωάννης Τσάκνης,** Καθηγητής Σχολής Τεχνολογίας Τροφίμων & Διατροφής, Τ.Ε.Ι. Αθηνών, Επιβλέπων.
- 3. Ανδρέας Λάζαρης,** Αν. Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρικής Σχολής Ε.Κ.Π.Α. Μέλος

**Αφιερώνεται στην γυναίκα μου Σταυρούλα
και στα παιδιά μου Μαρία και Σταμάτη**

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Το γάλα είναι από τα πιο σημαντικά τρόφιμα για τον άνθρωπο, από την πρώτη ημέρα της ζωής του. Η χρησιμοποίησή του στη διατροφή έχει δοκιμασθεί από πολύ παλιά και η συμβολή του στην επιβίωση και στην υγεία του ανθρώπου είναι σημαντική. Από το γάλα των θηλαστικών στην διατροφή του ανθρώπου, είτε ως θερμικά επεξεργασμένο είτε ως πρώτη ύλη στην παρασκευή γαλακτοκομικών προϊόντων χρησιμοποιούνται το αγελαδινό, το πρόβειο, το γίδινο και το βουβαλίσιο γάλα.

Οι συνθήκες υγείας, διατροφής και ενσταβλισμού των ζώων καθώς και οι συνθήκες παραγωγής του γάλακτος μπορούν να επιμολύνουν το γάλα με ανεπιθύμητες ουσίες που μπορούν να προκαλέσουν είτε προβλήματα στην υγεία του καταναλωτή είτε προβλήματα στην παρασκευή ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων.

Οι ανεπιθύμητες αυτές ουσίες μπορούν να καταταγούν σε 4 κατηγορίες:

α) Κατάλοιπα γεωργικών φαρμάκων. Σε αυτή την κατηγορία εντάσσονται τα εντομοκτόνα και τα ζιζανιοκτόνα με σημαντικότερα τα οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα λόγω της ιδιότητας που έχουν να διαλύονται στο λίπος, με αποτέλεσμα να συσσωρεύονται στον λιπώδη ιστό του ανθρώπου κατά την κατανάλωση τροφίμων μολυσμένων με τα εν λόγω εντομοκτόνα.

β) Κατάλοιπα κτηνιατρικών φαρμάκων. Τα κατάλοιπα αυτά είναι τα αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται για την θεραπεία διαφόρων ασθενειών των ζώων με σημαντικότερη αυτή της μαστίτιδας. Η παρουσία αυτών των αντιμικροβιακών ουσιών στο γάλα δημιουργεί σοβαρά προβλήματα στην Παρασκευή ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων, αλλεργία σε ορισμένες κατηγορίες ανθρώπων καθώς και αλλαγές στην εντερική χλωρίδα των καταναλωτών και στην δημιουργία ανθεκτικών παθογόνων μικροοργανισμών στα αντιβιοτικά.

γ) Κατάλοιπα απορρυπαντικών και απολυμαντικών. Από λανθασμένους χειρισμούς, όταν χρησιμοποιούνται υπερβολικές ποσότητες απορρυπαντικών ή απολυμαντικών στον καθαρισμό του εξοπλισμού και των μηχανημάτων στην παραγωγή και επεξεργασία του γάλακτος, μπορούν να αναμιχθούν διαλύματα αυτών των ουσιών με το γάλα με σοβαρότατα προβλήματα για τους καταναλωτές και την επεξεργασία του γάλακτος.

δ) Διοξίνες και PCBs. Τα PCBs και οι διοξίνες συσσωρεύονται συνεχώς στο περιβάλλον ως αποτέλεσμα της εκτεταμένης βιομηχανικής χρήσης και ανάπτυξης. Η ύπαρξη των κινδύνων αυτών εξαρτάται από την έκθεση των ζώων σε περιοχές όπου έχουν συσσωρευτεί κατάλοιπα από διοξίνες και PCBs ή τα ζώα τρέφονται με ζωοτροφές μολυσμένες με τέτοια κατάλοιπα. Το πρόβλημα εστιάζεται στο ότι οι ουσίες αυτές είναι λιποδιαλυτές με αποτέλεσμα να συσσωρεύονται στον λιπώδη ιστό του καταναλωτή.

Από τις 4 κύριες κατηγορίες ανεπιθύμητων ουσιών στο γάλα στην εργασία αυτή θα αναφερθούμε αναλυτικά στα προβλήματα που δημιουργούνται στον άνθρωπο από τα υπολείμματα γεωργικών και κτηνιατρικών φαρμάκων και τα αντιβιοτικά.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το γάλα αποτελεί σημαντικό στοιχείο στην διατροφή του ανθρώπου από πολύ παλιά και συνέβαλε σημαντικά στην επιβίωση και στην υγεία του ανθρώπου.

Οι συνθήκες διατροφής, διαβίωσης και υγείας των γαλακτοφόρων ζώων επηρεάζουν την υγιεινή του κατάστασης και επιμολύνουν το γάλα με ανεπιθύμητες ουσίες που προκαλούν προβλήματα στην υγεία του καταναλωτή.

Τα κατάλοιπα γεωργικών φαρμάκων με σημαντικότερα τα οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα μολύνουν το γάλα από το περιβάλλον είτε μέσω της βοσκής των ζώων σε μολυσμένα βοσκοτόπια είτε μέσω της διατροφής τους με μολυσμένες ζωοτροφές, μεταφέρονται και συσσωρεύονται στον λιπώδη ιστό του ανθρώπου.

Τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα όπως το aldrin, το dieldrin, το chlordane και το heptachlor προκαλούν καρκίνο στο μαστό του ανθρώπου.

Το DDT και οι μεταβολίτες του προκαλούν καρκίνο στο συκώτι, λευχαιμία, λεμφώματα και αδενώματα στον πνεύμονα.

Έρευνες έδειξαν επίσης ότι το DDT έχει μεταλλαξιογόνες ιδιότητες καθώς και οιστρογονικές επιδράσεις μαζί με τα p,p'-DDE, α-HCH, δ-HCH τα οποία έχουν ανταγωνιστική ή συναγωνιστική συμπεριφορά ενάντια στους ορμονικούς υποδοχείς και χαρακτηρίζονται σαν ορμονικοί διαταράκτες. Για τον λόγο αυτό στις ανεπτυγμένες χώρες έχει απαγορευθεί η χρήση του.

Το Lindane (γ- HCH) προκαλεί ανάπτυξη καρκινωμάτων στο θυροειδή αδένα, στην υπόφυση, στα επινεφρίδια, στις ωθήκες και στο συκώτι, λεμφοσαρκώματα στον πνεύμονα, ατροφία των γεννητικών οργάνων και λευχαιμία.

Το BHC ευθύνεται για ανάπτυξη συμπτωμάτων πορφυρίασης σε ανθρώπους.

Σε έρευνες που έγιναν στην Ελλάδα από το 1974, μετά την απαγόρευση της χρήσης οργανοχλωριωμένων εντομοκτόνων, μέχρι σήμερα βρέθηκαν αρχικά υψηλές συγκεντρώσεις των κυριότερων εντομοκτόνων ενώ σήμερα οι συγκεντρώσεις είτε είναι εντός των ανώτατων επιτρεπομένων ορίων στα γαλακτοκομικά προϊόντα είτε υπάρχει απουσία αυτών.

Τα αντιβιοτικά αποτελούν έναν εξωγενή αντιμικροβιακό παράγοντα που μπορούν να μολύνουν το γάλα. Χρησιμοποιούνται για την θεραπεία διαφόρων ασθενειών των ζώων με σημαντικότερη αυτή της μαστίτιδας. Μετά την χορήγηση του αντιβιοτικού στο ζώο, ένα μέρος από αυτό εκκρίνεται στο γάλα.

Η παρουσία τους στο γάλα δημιουργεί τεράστια προβλήματα στην παρασκευή ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων, αλλεργίες σε ευαίσθητες ομάδες ανθρώπων σε ορισμένα αντιβιοτικά καθώς και μεταλλάξεις σε παθογόνα στελέχη μικροοργανισμών. Με την εκπαίδευση και ενημέρωση των κτηνοτρόφων για την λελογισμένη χρήση αντιβιοτικών, την συνεχή παρακολούθηση από κτηνιάτρους των ζώων, τους συνεχείς ελέγχους της βιομηχανίας στο νωπό γάλα και των κρατικών φορέων στα τελικά προϊόντα, έχει μειωθεί σημαντικά η παρουσία αντιβιοτικών στα γαλακτοκομικά προϊόντα.

Στην έρευνα μας που έγινε στο νομό Αττικής σε 20 δείγματα παστεριωμένου γάλακτος σε διάστημα 2 μηνών με τρείς δειγματοληψίες ήταν αρνητικά στην παρουσία αντιβιοτικών.

Λέξεις-κλειδιά: Φυτοφάρμακα, Οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα, Γάλα, Γαλακτοκομικά προϊόντα, Αντιβιοτικά, Περιβάλλον

ABSTRACT

Milk is an essential component in human nutrition since long time, significantly contributing to human survival and wellbeing.

The conditions of feeding, farming and health of milk producing animals influence milk quality and may represent a source of contamination with undesirable substances which can create problems to consumers health.

The residues of agricultural chemicals, mainly organochlorine insecticides, contaminate milk from the environment either through grazing of animals on contaminated pasture or by feeding them with contaminated feeds, and are transferred and accumulated in man's adipose tissue.

Organochlorine pesticides such as aldrin, dieldrin, chlordane and heptachlor are known to cause breast cancer, while DDT and its metabolites cause hepatic, haematological and lung malignancies.

Research studies have also demonstrated that DDT exhibits mutagenic properties as well as oestrogenic effects in combination with p, p'-DDE, α -HCH, δ -HCH, which influence hormonal receptors and are characterized as hormonal disruptors, therefore its commercial use has been discontinued in developed countries.

Lindane (γ -HCH) may cause thyroid, hypophyseal, adrenal, hepatic, ovarian and lung neoplasms as well as genital organ atrophy and leukaemia, while BHC is in turn responsible for porphyria symptoms.

In research studies which were performed in Greece since 1974, after prohibiting the use of organochlorine pesticides, there were found initially high concentrations of the most important pesticides, while at present the concentrations are either within the Maximum Residue Limits (MRLs) or absent from dairy products.

Antibiotics constitute an exogenous antimicrobial agent, which may contaminate milk. They are applied in the treatment of various animal infections, mastitis is the most important. After the administration of antibiotic to the animal a part of it is secreted to the milk.

Their presence in milk creates huge problems in the production of fermented dairy products, causes allergic reactions in sensitized individuals and mutations in pathogenic microbial strains. Nevertheless through education and training of breeders for a rational use of antibiotics as well as through continuous veterinary control, through testing of raw milk by the dairy industry and the control of final products by the state authorities, the presence of antibiotics in dairy products is significantly decreased.

In our research study which has taken place in Attiki, in 20 samples of pasteurized milk in a 2 month period with three samplings no antibiotics were detected.

Key-words: Pesticides, Organochlorine pesticides, Milk, Dairy products, Antibiotics, Environment.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	13
---------------	----

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ΓΕΩΡΓΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ

1.1 ΟΡΙΣΜΟΙ.....	14
1.2 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ.....	14
1.3 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ.....	15
1.4 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ.....	17
1.4.1 ΒΙΟΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ.....	17
1.4.2 ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ.....	17
1.5 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ.....	18

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΜΟΡΦΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ

2.1 ΜΟΡΦΟΠΟΙΗΣΗ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ (FORMULATION)....	19
2.2 ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ.....	20
2.2.1 ΨΕΚΑΖΟΜΕΝΑ (SPRAYS).....	20
2.2.2 ΣΚΟΝΕΣ (DUSTS).....	22
2.2.3 ΑΕΡΟΛΥΜΑΤΑ (AEROSOL).....	22
2.2.4 ΚΟΚΚΩΔΗ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ (GRANULAR).....	23
2.2.5 ΚΑΙΠΝΟΓΟΝΑ (FUMIGANTS).....	23
2.2.6 ΔΟΛΩΜΑΤΑ (BAITS).....	23

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΑ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΤΩΝ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ..	24
3.2 ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΤΩΝ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΟ ΓΑΛΑ ΚΑΙ ΣΤΑ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ.....	25
3.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΤΩΝ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ.....	28

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ ΠΟΥ ΑΝΙΧΝΕΥΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΓΑΛΑ ΚΑΙ ΣΤΑ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

4.1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	31
4.2	ΕΡΕΥΝΕΣ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ.....	31
4.3	ΕΡΕΥΝΕΣ ΣΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ.....	36

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΥΓΕΙΑΣ - ΝΟΜΟΘΕΤΙΚΕΣ ΡΥΘΜΙΣΕΙΣ

5.1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	46
5.2	ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ ΚΑΙ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΥΓΕΙΑΣ.....	46
5.3	ΝΟΜΟΘΕΤΙΚΕΣ ΡΥΘΜΙΣΕΙΣ.....	48
5.3.1	ΔΟΣΗ ΧΩΡΙΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΙΜΗ ΑΡΝΗΤΙΚΗ ΕΠΙΠΤΩΣΗ (NOAEL).....	49
5.3.2	ΑΠΟΔΕΚΤΗ ΗΜΕΡΗΣΙΑ ΔΟΣΗ (A.D.I.).....	49
5.3.3	ΑΝΩΤΑΤΑ ΟΡΙΑ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ (MRLs).....	49

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΟ ΓΑΛΑ ΚΑΙ ΣΤΑ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

6.1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	51
6.2	ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΜΕΘΟΔΩΝ ΑΝΑΛΥΣΗΣ.....	51
6.2.1	ΠΟΛΥΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ (MRMs).....	51
6.2.2	ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ (SMRs).....	52
6.3	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ.....	52
6.3.1	ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ.....	53
6.3.2	ΕΚΧΥΛΙΣΗ.....	53
6.3.3	ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΣ (CLEAN UP).....	54
6.3.4	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ (ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ-ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ).....	56
6.3.4.1	ΑΕΡΙΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ (GC).....	56
6.3.4.2	ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΗΨΗΛΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ (HPLC).....	57
6.3.4.3	ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΛΕΠΤΗΣ ΣΤΟΙΒΑΔΑΣ (TLC).....	58

6.3.4.4	ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΠΕΡΚΡΙΣΙΜΩΝ ΡΕΥΣΤΩΝ (Supercritical Fluid Extraction).....	59
6.3.4.5	ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	59
6.3.4.6	ΑΛΛΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ.....	60
6.4	ΕΠΙΛΟΓΗ ΜΕΘΟΔΟΥ.....	60

ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7. ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

7.1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	63.
7.2	ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ...	64
7.3	ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΟ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥΣ.....	65
7.3.1	ΠΕΝΙΚΙΛΛΙΝΕΣ (Penicillins).....	66
7.3.2	ΠΡΟΚΑΪΝΟΥΧΟΣ ΠΕΝΙΚΙΛΛΙΝΗ G (Procaine penicillin G).....	67
7.4	ΠΕΝΙΚΙΛΛΙΝΕΣ ΣΤΕΝΟΥ ΦΑΣΜΑΤΟΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΕΣ ΣΤΙΣ β-ΛΑΚΤΑΜΕΣ.....	68
7.5	ΠΕΝΙΚΙΛΛΙΝΕΣ ΕΥΡΕΩΣ ΦΑΣΜΑΤΟΣ ΕΥΑΙΣΘΗΤΕΣ ΣΤΙΣ β-ΛΑΚΤΑΜΑΣΕΣ.....	69
7.5.1	ΑΜΠΙΚΙΛΛΙΝΗ (Ampicillin).....	69
7.5.2	ΑΜΟΞΙΚΙΛΛΙΝΗ (Amoxicillin).....	70
7.5.3	ΚΕΦΑΛΟΣΠΟΡΙΝΕΣ (Cephalosporins).....	71
7.5.4	ΤΕΤΡΑΚΥΚΛΙΝΕΣ (Tetracyclines).....	72
7.5.5	ΟΞΥΤΕΤΡΑΚΥΚΛΙΝΗ (Oxytetracycline).....	74
7.5.6	ΧΛΩΡΟΤΕΤΡΑΚΥΚΛΙΝΗ (CHLORTETRACYCLINE).....	74
7.5.7	ΤΕΤΡΑΚΥΚΛΙΝΗ (Tetracycline)	75
7.5.8	ΔΟΞΥΚΥΚΛΙΝΗ (Doxycycline).....	75
7.5.9	ΜΙΝΟΚΥΚΛΙΝΗ (Minocycline)	76
7.6	ΑΜΙΝΟΓΛΥΚΟΣΙΔΕΣ (Aminoglycosides).....	76

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8. ΤΡΟΠΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ

8.1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	78
8.2	ΤΡΟΠΟΙ ΕΙΣΟΔΟΥ ΤΩΝ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ ΣΤΟ ΓΑΛΛΑ.....	79
8.3	ΑΝΑΧΑΙΤΙΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ	80
8.4	ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ.....	80
8.5	ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΚΑΘΟΡΙΖΟΥΝ ΤΗΝ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ ΣΤΟ ΓΑΛΛΑ – ΧΡΟΝΟΣ ΑΠΕΚΚΡΙΣΗΣ.....	81

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9. ΜΑΣΤΙΤΙΔΕΣ

9.1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	82
9.2	ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΠΡΟΚΑΛΟΥΝ ΜΑΣΤΙΤΙΔΑ.....	82
9.3	ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΕΣ ΣΥΝΕΠΕΙΕΣ ΜΑΣΤΙΤΙΔΑΣ.....	83
9.4	ΜΕΤΡΑ ΥΓΙΕΙΝΗΣ.....	84
9.5	ΞΗΡΗ ΠΕΡΙΟΔΟΣ ΑΓΕΛΑΔΩΝ.....	84
9.6	ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΤΗΣ ΜΑΣΤΙΤΙΔΑΣ.....	85
9.7	ΕΠΠΤΩΣΕΙΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ – ΣΤΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ.....	87
9.8	ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΕΣ – ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΠΠΤΩΣΕΙΣ.....	87
9.9	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ.....	88

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....92

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 11. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....97

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....102

ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ

ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ ΣΤΟ ΓΑΛΛΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα γεωργικά φάρμακα ή φυτοφάρμακα είναι χημικές ουσίες οι οποίες χρησιμοποιούνται ευρύτατα από τον άνθρωπο τις τελευταίες δεκαετίες προκειμένου να βελτιώσει την ποιότητα του περιβάλλοντος του γι' αυτόν, για τα ζώα που εκμεταλλεύεται και για τις καλλιέργειες ή τα φυτά του. Τα γεωργικά φάρμακα έχουν γίνει απαραίτητα για τη σύγχρονη αγροτική παραγωγή. Χρησιμοποιούνται για την αύξηση της παραγωγής και επομένως της ποσότητας αλλά και για τη βελτίωση της ποιότητας των τροφίμων. Έτσι ενώ το 1776 κάθε παραγωγός παρήγαγε αρκετή τροφή για 3 άτομα, το 1960 παρήγαγε αρκετή για 24 άτομα, το 1970 για 45 άτομα και το 1990 για 96 άτομα. Εκτός όμως από τα οφέλη στην αύξηση της παραγωγής, η χρήση των φυτοφαρμάκων βοήθησε και στην μείωση των κρουσμάτων διαφόρων ασθενειών οι οποίες μεταδίδονταν μέσω εντόμων και τρωκτικών. Έτσι για παράδειγμα τα θανατηφόρα κρούσματα της ελονοσίας από 6 εκατομ. το 1939 μειώθηκαν σε 1 εκατομ. το 1991, ενώ ασθένειες όπως η πανώλη που προκαλούσαν θανατηφόρες επιδημίες σχεδόν εξαφανίστηκαν (Walstra and Jenness 1984).

Βέβαια η αναγκαία χρήση των φυτοφαρμάκων παρουσιάζει και σημαντικούς κινδύνους για το περιβάλλον και για τον άνθρωπο. Είναι γνωστά τα προβλήματα που δημιούργησε η εκτεταμένη χρήση του DDT, σε σημείο ώστε να απαγορευθεί η χρήση του καθώς και άλλων ουσιών οι οποίες στην πορεία αποδείχθηκαν ιδιαίτερα επικίνδυνες για το περιβάλλον και τον άνθρωπο. Σε εκατομμύρια ανέρχονται τα θύματα από δηλητηριάσεις από φυτοφάρμακα ενώ χιλιάδες είναι οι περιπτώσεις θανάτου. Ενώ ιδιαίτερα σημαντικές είναι οι επιπτώσεις που προκαλούνται είτε από τα υπολείμματα είτε από τη συνεχή έκθεση σε φυτοφάρμακα. Ασθένειες αρκετά σοβαρές όπως καρκίνος, νευρολογικές διαταραχές, λευχαιμία κ.α.. (Hassal 1990, Χριστοδουλάκης 1998). Για το λόγο αυτό, προκειμένου να υπάρξει ένας προληπτικός έλεγχος των υπολειμμάτων των φυτοφαρμάκων στα τρόφιμα ώστε να μειωθούν οι κίνδυνοι που προέρχονται από αυτά, γίνονται έλεγχοι και έρευνες τόσο ως προς την κατεύθυνση του επιπέδου των συγκεντρώσεων των υπολειμμάτων, όσο και προς την κατεύθυνση της ανάπτυξης μεθόδων ανίχνευσης. Ενώ παράλληλα θεσπίζονται ανώτατα επιτρεπόμενα όρια για διάφορες ουσίες από διεθνείς οργανισμούς όπως ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO), ή από κρατικά όργανα όπως η Επιτροπή Προστασίας Περιβάλλοντος (Ε.Π.Α) των Η.Π.Α. ή τα αρμόδια όργανα της Ε.Ε. (Λέντζα – Ρίζου 1994).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΓΕΩΡΓΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ

1.1 ΟΡΙΣΜΟΙ

Με τον όρο **φυτοφάρμακο ή γεωργικό φάρμακο** νοείται κάθε ουσία που προορίζεται για προστασία, καταστροφή, έλξη, απώθηση ή έλεγχο, οποιουδήποτε παρασίτου, περιλαμβανομένων ανεπιθύμητα είδη φυτών ή ζώων, κατά τη διάρκεια της παραγωγής, αποθήκευσης, μεταφοράς, διανομής και επεξεργασίας τροφίμων, γεωργικών εμπορευμάτων ή ζωοτροφών ή ότι προσφέρεται στα ζώα για τον έλεγχο των παρασίτων. Ο όρος περιλαμβάνει ουσίες που προορίζονται για χρήση σαν φυτορυθμιστές, αποφυλλωτές, φυτορμόνες, ή σαν εμποδιστές ανάπτυξης και ουσίες που εφαρμόζονται στις καλλιέργειες, είτε πριν είτε μετά την συγκομιδή, για την προστασία των προϊόντων από υποβάθμιση της ποιότητας τους κατά την αποθήκευση και τη μεταφορά. Από τον όρο αυτό εξαιρούνται ..συνήθως, λιπάσματα, πρόσθετα τροφίμων και ζωοφαρμακευτικές ουσίες. Ο όρος γεωργικά εμπορεύματα αναφέρεται σε είδη όπως τα σιτηρά, τα ζαχαρότευτλα, οι βαμβακόσποροι, τα οποία μπορεί να μην θεωρούνται με την γενική έννοια τροφή.

Υπολείμματα γεωργικών φαρμάκων ,είναι εξειδικευμένες ουσίες στα τρόφιμα, στα αγροτικά εμπορεύματα, ή στις ζωοτροφές που προέρχονται απ' τη χρήση των γεωργικών φαρμάκων. Ο όρος περιλαμβάνει κάθε παράγωγο ενός φυτοφαρμάκου όπως είναι τα προϊόντα μετατροπής, οι μεταβολίτες, προϊόντα αντιδράσεων και επιμολυντές οι οποίοι θεωρούνται τοξικολογικά επικίνδυνοι. Στον όρο περιλαμβάνονται επίσης υπολείμματα από άγνωστες ή μη δυνατόν να αποφευχθούν πηγές (π.χ. περιβαλλοντικές) (FAO/WHO.1993).

1.2 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Η χρησιμοποίηση χημικών ενώσεων από τον άνθρωπο για την καταπολέμηση ασθενειών φαίνεται ότι γίνεται από αρχαιοτάτων χρόνων. Έτσι μαρτυρίες απ' την Ιλιάδα και την Οδύσσεια φανερώνουν ότι οι αρχαίοι Έλληνες από την εποχή εκείνη και παρόλο ότι δεν γνώριζαν τη φύση των ασθενειών, χρησιμοποιούσαν χημικές ουσίες για να τις αντιμετωπίσουν.

Σε κείμενα που υπάρχουν της εποχής των Ρωμαίων ,γίνονται αναφορές για ασθένειες δένδρων , αμπέλου, σιτηρών και για μεθόδους αποφυγής των ασθενειών αυτών.

Τον ένατο αιώνα οι Κινέζοι χρησιμοποιούσαν αρσενικό αναμεμιγμένο με νερό για τον έλεγχο των εντόμων. Στις αρχές του 1800 χρησιμοποιήθηκαν η πυρεθρίνη και

η ροτενόνη σαν εντομοκτόνα. Ένα μίγμα θεικού χαλκού και άσβεστου χρησιμοποιήθηκε σαν μυκητοκτόνο στα τέλη του 19ου αιώνα ενώ στις αρχές του 20ου αιώνα υδράργυρος σε υγρή μορφή χρησιμοποιήθηκε για προστασία σπόρων από μύκητες.

Τα πρώτα συνθετικά φυτοφάρμακα , οργανικά εντομοκτόνα και παρασιτοκτόνα παράχθηκαν στις αρχές του 1900 , για να ακολουθήσει η παραγωγή εκατοντάδων συνθετικών , οργανικών φυτοφαρμάκων το 1940 και μετά. Τα οργανοφωσφορικά άρχισαν να παράγονται εμπορικά το 1950 ενώ τα οργανοχλωριωμένα είχαν ήδη αρχίσει να παράγονται απ' το 1940.

Στα τέλη του 1950 ανακαλύφθηκαν τα καρβαμιδικά που χρησιμοποιήθηκαν σαν εντομοκτόνα, ζιζανιοκτόνα και μυκητοκτόνα. Στα επόμενα χρόνια αναπτύχθηκαν φυτοφάρμακα περισσότερο εξειδικευμένα ,με καλύτερη απόδοση(Γεωργόπουλος και Ζιώγας 1992).

1.3 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ

Τα γεωργικά φάρμακα διακρίνονται:

α) ανάλογα με το παράσιτο που καταπολεμούν: σε εντομοκτόνα (insecticides),μυκητοκτόνα (fungicides), ζιζανιοκτόνα (herbicides), ακαρεοκτόνα (acaricides), νηματωδοκτόνα (nematicides) κτλ.

β) ανάλογα με τον τρόπο δράσης τους: σε φάρμακα επαφής (contact) αυτά δηλαδή που παραμένουν πάνω στο φύλλωμα και φάρμακα διασυστηματικά τα οποία μεταφέρονται μέσα στο φυτό και κυκλοφορούν στους φυτικούς ιστούς και τα οποία διακρίνονται σε συμπλαστικά και σε αποπλαστικά (Γεωργόπουλος και Ζιώγας 1992).

γ) τα ζιζανιοκτόνα διακρίνονται σε καθολικά (non-selective) και σε εκλεκτικά (selective) ανάλογα με το αν καταπολεμούν όλα ή μερικά από τα ανεπιθύμητα φυτά, ζιζάνια.

δ) ανάλογα με την χημική κατηγορία στην οποία ανήκουν τα φυτοφάρμακα διακρίνονται σε διάφορες κατηγορίες οι κυριότερες των οποίων είναι :

1) οργανοχλωριωμένα (organochlorines): είναι μία μεγάλη κατηγορία με μερικά ευρέως χρησιμοποιούμενα γεωργικά φάρμακα όπως τα HCH, HCB, Aldrin, Dieldrin, Heptachlor κ. α αλλά το πιο γνωστό και περισσότερο χρησιμοποιημένο είναι το DDT. Είναι ενώσεις με μεγάλη σταθερότητα ,αδιάλυτες στο νερό και για το λόγο αυτό συσσωρεύονται στους λιπαρούς ιστούς των οργανισμών (Μηλιάδης 1989).

Αρκετοί όμως μικροοργανισμοί έχουν την ικανότητα να μεταβολίζουν τα οργανοχλωριωμένα όπως για παράδειγμα οι αρουραίοι, στους οποίους το lindane μετατρέπεται σε χλωροφαινόλες (Burton and Bennett 1987).

Ανεβαίνοντας την τροφική αλυσίδα οι οργανοχλωριωμένες ενώσεις έχουν την

ιδιότητα να συσσωρεύονται στους ιστούς των ανώτερων θηλαστικών. Σε εργασίες που πραγματοποιήθηκαν στη Γερμανία (Φυτιανός και συν. 1983) παρατηρήθηκαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις χλωριωμένων υδρογονανθράκων στο γάλα γυναικών απ' ότι στο αγελαδινό γάλα.

Τα οργανοχλωριωμένα απορροφώνται εξωτερικά απ' τα έντομα και δρουν στο νευρικό τους σύστημα με αποτέλεσμα να παρουσιάζεται το πρόβλημα του εθισμού των εντόμων και της απαίτησης για μεγαλύτερες ποσότητες φαρμάκου.

2)Οργανοφωσφορικά (organophosphates): είναι ενώσεις με ευρεία χρήση λόγω της ισχυρής τους δράσης, του ευρέως φάσματος καταπολέμησης εντόμων, της μικρής διάρκειας δράσης λόγω ταχείας διάσπασης προς μη τοξικά προϊόντα και με άμεση αποτελεσματικότητα.

Μειονεκτούν λόγω υψηλής οξείας τοξικότητας ενώ η βιολογική τους δράση γίνεται με δέσμευση της χολινεστεράσης, η οποία είναι απαραίτητη για τους οργανισμούς. Ως προς τη χημική τους δομή, όλα τα οργανοφωσφορικά παράγωγα είναι λιποδιαλυτοί εστέρες του φωσφορικού οξέος(Ιγνατιάδου-Ραγκούση 1996). Μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν εντομοκτόνα, ακαρεοκτόνα, νηματωδοκτόνα, ζιζανιοκτόνα, αποφυλλωτικά. Τυπικά οργανοφωσφορικά είναι το παραθείον, το μαλαθείον, το methyl-parathion κ.α.

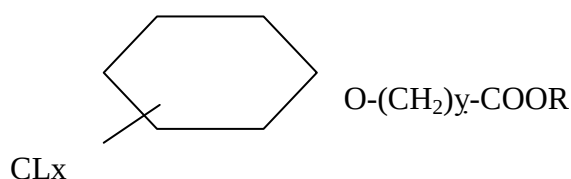
3)καρβαμιδικά (carbamates): είναι παράγωγα του καρβαμιδικού οξέος, με γενικό τύπο $RO-CO-NR'R''$. Οι ενώσεις αυτές συνήθως υδρολύονται εύκολα και λόγω της μικρής σταθερότητας τους δεν δημιουργούν σοβαρό περιβαλλοντικό πρόβλημα. Η δράση τους γίνεται όπως και στα οργανοφωσφορικά με δέσμευση του ενζύμου χολινεστεράση (Πατσάκος 1994).

4) παράγωγα της ουρίας (substituted ureas): είναι κυρίως ζιζανιοκτόνα με γενικό τύπο $RHN-CO-NR'R''$. Έχουν γενικά μικρή διαλυτότητα στο νερό, υπόκεινται σε διάφορες αντιδράσεις αποικοδόμησης με αποτέλεσμα να είναι σχετικά ασταθείς ενώσεις.

5)τριαζίνες (triazines): είναι ενώσεις που περιέχουν εξαμελή δακτύλιο με τρία άτομα αζώτου. Χρησιμοποιούνται ως ζιζανιοκτόνα, ενώ αν και υφίστανται αποικοδόμηση, έχουν μεγάλη διάρκεια δράσης. Οι τριαζίνες δρουν ως αναστολείς της φωτοσύνθεσης.

6)παράγωγα των φαινοξυκαρβοξυλικών οξέων (phenoxycarboxylic acid

derivatives): είναι ζιζανιοκτόνα με γενικό τύπο



όπου τα χ και y είναι από 1-3, ενώ η φύση του R, που εκτός από αλκύλιο μπορεί να είναι και μεταλλικό ιόν ή ιόν αμμωνίου, καθορίζει τη συμπεριφορά των ενώσεων. Οι ενώσεις αυτές είναι ασταθείς, μερικές μάλιστα έχουν χρόνο υποδιπλασιασμού λίγων ωρών.

Βέβαια εκτός αυτών των οργανικών τεχνητών ενώσεων χρησιμοποιούνται και ανόργανα γεωργικά φάρμακα όπως θειάσβεστος, φωσφίνη, χλωριούχος υδράργυρος, ενώσεις του As, Zn, Cu, S κ. α, καθώς επίσης και φυσικά φυτοφάρμακα όπως η θυμόλη, η καρβακόλη κ. α, τα οποία όμως δεν έχουν την απόδοση και αποτελεσματικότητα των τεχνητών (Γεωργόπουλος και Ζιώγας 1992),.

1.4 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ

Οι σημαντικότερες ιδιότητες των φυτοφαρμάκων είναι η βιολογική τους δράση στα φυτά, οι φυσικοχημικές ιδιότητες τους όπως η διαλυτότητα, η τάση ατμών, η τοξικότητα τους, η αποδόμησή τους και η βιοσυσσωρεύσή τους.

Τα φυτοφάρμακα έχουν γενικά μικρή διαλυτότητα στο νερό ενώ είναι διαλυτά στους οργανικούς διαλύτες αν και παρουσιάζονται μεγάλες διαφορές στις ιδιότητες αυτές ακόμα και μεταξύ ουσιών της ίδιας κατηγορίας, όπως για παράδειγμα συμβαίνει με τα οργανοφωσφορικά (Hassal 1990).

1.4.1 ΒΙΟΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ

Ένα απ' τα σημαντικότερα χαρακτηριστικά των φυτοφαρμάκων (κυρίως των οργανοχλωριωμένων) είναι η βιοσυσσωρεύσή τους στους ζωντανούς οργανισμούς, το ποσό δηλαδή των υπολειμμάτων τους που συγκεντρώνεται στους οργανισμούς μέσω της διατροφής κυρίως ή μέσω άλλης οδού.

Κατά τη βιοσυσσωρεύση τα υπολείμματα που μέσω της τροφής εισέρχονται στον οργανισμό των ζώων, εκκρίνονται στο γάλα και ακολούθως μολύνουν τον οργανισμό του καταναλωτή σε συγκεντρώσεις συνήθως μεγαλύτερες απ' ότι βρίσκονται στις ζωοτροφές. Έτσι όσο ανεβαίνει η τροφική αλυσίδα, οι ουσίες συσσωρεύονται στους οργανισμούς καθώς δεν μεταβολίζονται με αποτέλεσμα στους οργανισμούς που είναι στην κορυφή της τροφικής αλυσίδας να ανιχνεύονται μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε σχέση με τους οργανισμούς που είναι στη βάση (Φυτιανός και συν.1983).

1.4.2 ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ

Κάθε χημική ουσία μπορεί να εμφανίσει τοξικά χαρακτηριστικά, οξεία ή χρόνια

ή και τα δύο Τα φυτοφάρμακα εμφανίζουν οξεία αλλά και χρόνια τοξικότητα.

Η οξεία τοξικότητα εκδηλώνεται αμέσως μετά την επαφή με μια ποσότητα του φαρμάκου. Η σοβαρότητα των αποτελεσμάτων εξαρτάται από την εγγενή τοξικότητα της ουσίας και από την μέθοδο εφαρμογής. Έτσι μικρές ποσότητες μιας ουσίας είναι περισσότερο τοξικές από μεγαλύτερες ποσότητες άλλης ουσίας και μια ουσία μπορεί να είναι περισσότερο ή λιγότερο τοξική ανάλογα με τον τρόπο εισόδου στον οργανισμό.

Για την εκτίμηση της οξείας τοξικότητας χρησιμοποιείται συνήθως η τιμή **LD₅₀** η οποία είναι η ποσότητα της ουσίας η οποία θανατώνει το μισό πληθυσμό μιας τυχαίας επιλεγμένης ομάδας ενός είδους ζώου όταν εφαρμόζεται με συγκεκριμένο τρόπο υπό καθορισμένες πειραματικές συνθήκες. Εκφράζεται σε mg/Kg βάρους σώματος του πειραματόζωου. Όσο μικρότερη είναι η τιμή **LD₅₀** μιας ουσίας τόσο περισσότερο τοξική είναι.

Η χρόνια τοξικότητα εκδηλώνεται όταν ένας οργανισμός εκτίθεται συνεχώς σε μικρές, μη θανατηφόρες δόσεις μιας ικανής να βλάψει ουσίας (Hassal 1990).

Τόσο η οξεία όσο και η χρόνια τοξικότητα έχουν δυσάρεστες συνέπειες για τον άνθρωπο όπως καρκίνο, λευχαιμία, νευρολογικές διαταραχές, ορμονικές διαταραχές (Χριστοδουλάκης 1998) κ. α. αν και για τα αποτελέσματα της χρόνιας έκθεσης δεν υπάρχει συμφωνία μεταξύ των επιστημόνων που μελετούν το θέμα. Ενώ και τα προβλήματα στο περιβάλλον από δηλητηριάσεις άλλων οργανισμών (πτηνά ,ψάρια ,μέλισσες) είναι σημαντικά.

1.5 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ

Από την δεκαετία του '60 και μετά η παραγωγή φυτοφαρμάκων έχει παρουσιάσει μεγάλη αύξηση και θα συνεχίσει να αυξάνεται ιδιαίτερα στις ανεπτυγμένες χώρες. Έτσι οι Η.Π.Α. με τον Καναδά κατέχουν το μεγαλύτερο ποσοστό στην κατανάλωση χημικών προϊόντων και ακολουθούν η Ευρώπη και μετά η Ασία. Οι κυριότεροι λόγοι είναι η ανάπτυξη εντατικών καλλιεργειών, η εισαγωγή υψηλής τεχνολογίας, η προσπάθεια μείωσης του κόστους και αύξησης της απόδοσης, ο περιορισμός των φτηνών εργατικών χεριών(Μηλιάδης 1989).

Οι δραστικές ουσίες των γεωργικών φαρμάκων είναι περίπου 700 ενώ τα σκευάσματά τους περίπου 10000 (Wave 1994).

Στην Ελλάδα κυκλοφορούν σήμερα 500 περίπου δραστικές ουσίες και περίπου 1700 εμπορικά σκευάσματα, ενώ η κατά κεφαλή κατανάλωση είναι 2-3 Kg περίπου, ενώ το κόστος τους αναλογεί στο 3% του συνόλου της αξίας της φυτικής παραγωγής (Χριστοδουλάκης 1998).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΜΟΡΦΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ

2.1 ΜΟΡΦΟΠΟΙΗΣΗ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ (FORMULATION)

Πολλά φυτοφάρμακα είναι πολύ ισχυρά δηλητήρια και αρκετά επικίνδυνα σε καθαρή μορφή. Για να μπορούν λοιπόν να χρησιμοποιούνται εύκολα και ακίνδυνα, οι δραστικές ουσίες των φυτοφαρμάκων υφίστανται κάποια επεξεργασία σε ειδικά εργοστάσια μαζί με άλλες ουσίες, βιολογικά αδρανείς, που ονομάζονται βοηθητικές ουσίες ή και έκδοχα. **Η ανάμιξη και επεξεργασία μιας δραστικής ουσίας με τις βοηθητικές ουσίες ονομάζεται μορφοποίηση ή τυποποίηση ή φορμουλάρισμα (formulation).** Το προϊόν της τυποποίησης ονομάζεται σκεύασμα. Με την τυποποίηση επιδιώκεται τα σκευάσματα που θα παραχθούν να είναι όσον το δυνατό ακίνδυνα, ευκολόχρηστα και αποτελεσματικά και να παραμένουν κατά την αποθήκευση. Θα πρέπει επίσης να είναι οικονομικά και να μπορούν να χρησιμοποιούνται με απλά μέσα και μηχανήματα (Μπαλαγιάννης 1997).

Οι βοηθητικές ουσίες μπορεί να είναι διαλύτες, διαβρεκτικοί παράγοντες, προσκολλητικοί παράγοντες, σκόνες κ.α.. και ο σκοπός τους είναι η τροποποίηση της μορφής της βασικής χημικής ουσίας ώστε να διευκολυνθεί η καλή ανάμιξη της με το διαλύτη πριν τη χρησιμοποίησή της. Ο διαλύτης μπορεί να είναι νερό, λάδι, αέριο ή χημικώς ανενεργές στερεές ουσίες.

Κάθε σκεύασμα (πυκνό) λοιπόν γεωργικού φαρμάκου περιέχει τα παρακάτω συστατικά :

- τη δραστική ουσία ή ενεργό παράγοντα
- το φορέα της δραστικής ουσίας
- άλλες βοηθητικές ουσίες όπως π.χ. σταθεροποιητές

του σκευάσματος, εξάπλωτικές ουσίες κ.α.

Η **δραστική ουσία** είναι το κύριο συστατικό ενός σκευάσματος. Προορισμός της είναι να προσβάλλει το φυτοπαράσιτο και να εμποδίσει τη δράση του ή να το καταστρέψει.

Φορείς της δραστικής ουσίας είναι οι ειδικές ουσίες με τις οποίες αναμιγνύεται η δραστική ουσία ώστε να μπορεί να αραιωθεί εύκολα στη συγκέντρωση που θα χρησιμοποιηθεί. Διακρίνονται ανάλογα με τη φυσική κατάσταση στην οποία βρίσκονται σε **στερεούς** και σε **υγρούς φορείς**. Οι στερεοί χρησιμοποιούνται όταν η δραστική ουσία θα φορμουλαριστεί σε σκόνη επιπάσεως, σε κοκκώδη μορφή κ.α. ενώ υγροί θεωρούνται οι διαλύτες των πυκνών διαλυμάτων και των γαλακτοποιήσιμων σκευασμάτων.

Άλλες βοηθητικές ουσίες : στη φυτοφαρμακευτική χρησιμοποιούνται κυρίως οι παρακάτω βοηθητικές ουσίες:

-**διαβρεκτικές ουσίες**, που βελτιώνουν την ικανότητα ενός υγρού να διαβρέχει

στερεές επιφάνειες.

-**εξάπλωτικές ουσίες**, οι οποίες ενισχύουν τις δυνάμεις συνάφειας μεταξύ ψεκαστικού υγρού και ψεκαζόμενης επιφάνειας.

-**διασπορικές ουσίες**, οι οποίες διευκολύνουν τη διασπορά της σκόνης στο

μέσο διασποράς. Χρησιμοποιούνται στην παρασκευή βρέξιμων σκονών.

-**προσκολλητικές ουσίες**, οι οποίες βοηθούν στην προσκόλληση των ψεκαζόμενων τεμαχιδίων στη ψεκαζόμενη επιφάνεια.

-**γαλακτοματοποιητικές ουσίες**, οι οποίες βοηθούν στο σχηματισμό των σταθερών γαλακτωμάτων αλλά συνεισφέρουν και στην εξάπλωση της δραστικής ουσίας στην ψεκαζόμενη επιφάνεια.

Αραιωτικά : είναι αδρανή υλικά που χρησιμοποιούνται για την ομοιόμορφη κατανομή της δραστικής ουσίας πάνω σε μεγάλες επιφάνειες.

Ανάλογα με τη φυσική τους κατάσταση διακρίνονται σε στερεά, υγρά και αέρια. Τα στερεά χρησιμοποιούνται για την παρασκευή σκευασμάτων επικονίασης, τα υγρά για σκευάσματα που ψεκάζονται και τα αέρια για τη παρασκευή αερολυμάτων (Μπαλαγιάννης 1997).

2.2 ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ

Οι κυριότερες κατηγορίες σκευασμάτων είναι οι εξής:

- με μορφή spray** , συνήθως για εντομοκτόνα ,μυκητοκτόνα ,παρασιτοκτόνα
- σκόνες επιπάσεως** , συνήθως για εντομοκτόνα ,παρασιτοκτόνα
- αερολύματα (aerosols)**, συνήθως για εντομοκτόνα , απολυμαντικά
- Κοκκώδη**, συνήθως για εντομοκτόνα, παρασιτοκτόνα
- καπνογόνα πτητικές ουσίες**, συνήθως για εντομοκτόνα, νηματιδοκτόνα παρασιτοκτόνα
- εμποτισμένα υλικά**, συνήθως παρασιτοκτόνα, εντομοκτόνα
- μίγματα** φυτοφαρμάκων με λιπάσματα
- δολώματα**, για τρωκτικά, έντομα
- εντομοκτόνα αργής απελευθέρωσης**

2.2.1 ΨΕΚΑΖΟΜΕΝΑ (SPRAYS)

Τα σκευάσματα για ψέκασμα χρησιμοποιούνται σαν εντομοκτόνα, παρασιτοκτόνα, μυκητοκτόνα, ρυθμιστές ανάπτυξης, αποφυλλωτές και αποξηραντικά. Περίπου πάνω από το 75% των φυτοφαρμάκων εφαρμόζονται σε sprays. Τα σκευάσματα αυτά κυκλοφορούν με διάφορες μορφές. Έτσι κυκλοφορούν πυκνά γαλακτοματοποιήσιμα σκευάσματα, πυκνά υδατοδιαλύματα, βρέξιμες σκόνες, υδατοδιαλυτές σκόνες, ελαιώδη διαλύματα υπερμικρού όγκου γαλακτώματα, πτητικά αιωρήματα και ψεκαζόμενα αιωρήματα ομαλής ροής (Wave 1994),

α) Πυκνά γαλακτοματοποιήσιμα σκευάσματα (emulsifiable concentrates, ES): είναι σκευάσματα με μεγάλη συγκέντρωση δραστικής ουσίας,

διαλυμένη σε ένα ή περισσότερους οργανικούς διαλύτες, συνήθως αρωματικούς υδρογονάνθρακες, που περιέχουν και κατάλληλο γαλακτωματοποιητή, ώστε να μπορούν να αραιώνονται με νερό στην τελική συγκέντρωση ψεκασμού. Η χρήση αρωματικών υδρογονανθράκων έχει αρνητικές επιπτώσεις στο περιβάλλον γι' αυτό γίνονται προσπάθειες ώστε να αντικατασταθούν με άλλους πιο φιλικούς στο περιβάλλον διαλύτες.

β)Πυκνά υδατικά διαλύματα (water-soluble concentrate,WSC): είναι σκευάσματα στα οποία η δραστική ουσία είναι διαλυμένη σε νερό. Η δραστική ουσία μπορεί να είναι διαλυτή σε αλκοόλη οπότε φορμουλάρεται με αλκοόλη ώστε να γίνει υδατοδιαλυτή. Λόγω της υδατοδιαλυτότητας της δεν προκύπτουν προβλήματα αναμίξεως ή σταθερότητας κατά την τελική αραίωση του σκευάσματος προς ψεκασμό.

γ)Βρέξιμες σκόνες (wetable powders ,WP): είναι ουσιαστικά σκόνες που περιέχουν διαβρεκτικούς παράγοντες οι οποίοι διευκολύνουν την ανάμιξη της σκόνης με νερό πριν το ψεκασμό. Αφήνουν λιγότερα υπολείμματα σε σχέση με τα γαλακτωματοποιήσιμα σκευάσματα και συγκρατούνται καλύτερα στις ψεκαζόμενες επιφάνειες σε σχέση με τις σκόνες επιπάσεως. Σε περιπτώσεις προβλημάτων φυτοτοξικότητας ή απορρόφησης μέσω του δέρματος των ζώων χρησιμοποιούνται οι βρέξιμες σκόνες για την αποφυγή των προβλημάτων αυτών.

δ)Υδατοδιαλυτές σκόνες (water-soluble powders,WSP): είναι σκευάσματα όμοια με τις βρέξιμες σκόνες (WP) με τη διαφορά ότι δε χρειάζονται διαρκή ανάμιξη καθώς σχηματίζουν διαλύματα που δεν παρουσιάζουν προβλήματα σχηματισμού ιζήματος.

ε)Ελαιώδη διαλύματα (oil solutions): είναι σκευάσματα παρόμοια με τα ναλακτωματοποιήσιμα σκευάσματα ,τα οποία όμως δεν αναμιγνύονται με οργανικούς διαλύτες, όπως κηροζίνη, ξυλένιο κ.α.

στ)Ψεκαζόμενα αιωρήματα (sprayable suspensions,S, ή flowable,F): είναι σκευάσματα τα οποία προκύπτουν μετά από ανάμιξη της δραστικής ουσίας με πυκνό, αραιωτικό και νερό και σχηματισμό ενός μίγματος ιζηματογενούς αλλά ρευστού. Το μίγμα αυτό έχει καλή διαλυτότητα στο νερό αν και παρουσιάζει προβλήματα δημιουργίας ιζημάτων.

ζ) Υπερμικρού όγκου γαλακτώματα (ultra low-volume concentrates, ULV): είναι σκευάσματα που προκύπτουν με τη διαλυτοποίηση του ενεργού συστατικού στερεής ή υγρής μορφής, σε ένα ή περισσότερους κατάλληλους οργανικούς διαλύτες ,των οποίων η ποσότητα είναι η ελάχιστη δυνατή. Χρησιμοποιούνται χωρίς περαιτέρω αραίωση με ειδικά μηχανήματα. Η τεχνική αυτή έχει αποδειχθεί χρήσιμη για τον έλεγχο εντόμων σε μεγάλες και ξηρές εκτάσεις.

η)Πτητικά αιωρήματα (fogging concentrates): είναι σκευάσματα με τα οποία δημιουργείται ένα νέφος από σωματίδια μεγέθους 1-10μm. Ανάλογα με τα

χρησιμοποιούμενα μηχανήματα, το νέφος των σωματιδίων δημιουργείται είτε με θέρμανση του ελαιώδη διαλύτη είτε με εξαέρωση ποσότητας υγρού, το οποίο μπορεί να είναι νερό, έλαιο ή γαλάκτωμα.

2.2.2 ΣΚΟΝΕΣ(DUSTS)

Οι σκόνες επιπάσεως είναι, ο απλούστερος τύπος μορφοποίησης των φυτοφαρμάκων και ο ευκολότερος τρόπος χρήσης. Τα σκευάσματα αυτά είναι στην ουσία ξηρά μίγματα τα οποία περιέχουν τη δραστική ουσία ομοιόμορφα κατανεμημένη σε ένα αδρανή, στερεής κατάστασης αραιωτικό φορέα, όπως είναι τα αργιλικά άλατα (π.χ. πυρομιλίτης, ηφαιστειογενή υλικά κ.α. Χρησιμοποιούνται συνήθως για εντομοκτόνα και παρασιτοκτόνα και εφαρμόζονται κυρίως στο έδαφος. Το μέγεθος των κόκκων της σκόνης παρουσιάζει μεγάλο εύρος στις διάφορες τυποποιήσεις.

Οι σκόνες επίπασης είναι απλές στη χρήση, χωρίς να χρειάζονται περαιτέρω ανάμιξη ή αραίωση. Όμως δεν είναι αρκετά αποτελεσματικές καθώς απομακρύνονται από την περιοχή εφαρμογής μέσω της βροχής και του αέρα ενώ κατά τη διάρκεια της χρήσης τους υπάρχει κίνδυνος να μολύνουν καλλιέργειες, βοσκοτόπια και άλλες περιοχές άσχετες με την επιθυμητή περιοχή. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιούνται σε μικρής έκτασης περιοχές ή σε επιλεγμένα σημεία μιας περιοχής.

2.2.3 ΑΕΡΟΛΥΜΑΤΑ (AEROSOL)

Μια συνήθης μορφή στην οποία τυποποιούνται τα φυτοφάρμακα και ειδικότερα κάποια εντομοκτόνα είναι τα αερολύματα. Διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες:

1) στα αερολύματα που παράγονται με την ανάφλεξη κατάλληλου υλικού εμποτισμένου με τη δραστική ουσία, η οποία πρέπει να εξαερώνεται και να δίνει τοξικούς ατμούς. Το σκεύασμα περιέχει επίσης μια εύφλεκτη ύλη, ένα αδρανές αραιωτικό και μία οξειδωτική ουσία.

2) στα αερολύματα που παράγονται με τη διασπορά δραστικής ουσίας στο χώρο. Στα σκευάσματα αυτά η δραστική ουσία διαλύεται σε πτητικούς διαλύτες, στη συνέχεια φέρεται σε ανθεκτικό δοχείο, το οποίο γεμίζεται με πτητικό, σε συνήθη πίεση και θερμοκρασία, υλικό όπως οι χλωροφθοράνθρακες και το υγρό CO₂. Όταν ανοίγει η βαλβίδα του δοχείου ο πτητικός διαλύτης εξαερώνεται και παρασύρει τη δραστική ουσία η οποία διασπείρεται σε λεπτότατα σταγονίδια στο χώρο.

3) στα αερολύματα νεφελοψεκαστήρων τα οποία είναι αερολύματα που παράγονται από ειδικά μηχανήματα.

Τα αερολύματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνο σε κλειστούς χώρους με προσοχή ώστε να μην εισπνέονται, έχουν όμως το πλεονέκτημα ότι αφήνουν λίγα ή καθόλου υπολείμματα.

2.2.4 ΚΟΚΚΩΔΗ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ (GRANULAR)

Τα κοκκώδη σκευάσματα καλύπτουν τα μειονεκτήματα των σκευασμάτων στα χαρακτηριστικά εφαρμογής. Οι κόκκοι είναι μικρά τεμάχια (20-80 mesh) τα οποία σχηματίζονται από αδρανή υλικά τα οποία ψεκάζονται με διάλυμα της δραστικής ουσίας, ώστε να αποκτήσουν την επιθυμητή συγκέντρωση του φαρμάκου. Αφού ο διαλύτης εξατμιστεί, οι κόκκοι συσκευάζονται προς χρήση. Με τη μορφή αυτή μορφοποιούνται ορισμένα μόνο παρασιτοκτόνα και εντομοκτόνα. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν και με σχετικά δυσμενείς καιρικές συνθήκες χωρίς τον κίνδυνο να παρυσυρθούν σε μη επιθυμητές περιοχές.

2.2.5 ΚΑΠΝΟΓΟΝΑ (FUMIGANTS)

Ορισμένα φυτοφάρμακα φορμουλάρονται σε στερεή μορφή έτσι ώστε είτε με ανάφλεξη είτε με άλλο τρόπο να εκλύουν τοξικά αέρια ή να εξαερώνονται σε λεπτότατα τεμαχίδια. Τα ξηρά αυτά καπνογόνα είναι κατάλληλα για την καταπολέμηση παρασίτων σε κλειστούς χώρους π.χ. σε θερμοκήπια, σε αποθήκες κλπ. Πολλές φορές όμως χρησιμοποιούνται και στο έδαφος αρκεί με κατάλληλες συσκευές να διεισδύσει ο καπνός μέσα στο έδαφος (Hassal 1990).

2.2.6 ΔΟΛΩΜΑΤΑ (BAITS)

Πολλές φορές γίνεται χρήση φυτοφαρμάκων με τη μορφή δολωμάτων στερεής κατάστασης τα οποία είναι μίγμα της δραστικής ουσίας με μια ουσία ελκυστική στο έντομο – στόχο. Έχουν το πλεονέκτημα της επιλεκτικής δράσης ώστε να αποφεύγεται επιβάρυνση του περιβάλλοντος.

Εκτός όμως των παραπάνω μορφοποιήσεων κυκλοφορούν και άλλα σε μικρότερη κλίμακα. Έτσι, υπάρχουν σκευάσματα τα οποία είναι μίγματα λιπάσματος και φυτοφαρμάκου συνήθως εντομοκτόνου ή μυκητοκτόνου. Επίσης έχουν κυκλοφορήσει σκευάσματα τα οποία αποτελούνται από μία πτητική δραστική ουσία η οποία συνδυάζεται σε μορφή κάψουλας ή σφαιριδίου με υλικά τα οποία επιτρέπουν την σταδιακή απελευθέρωση της όπως είναι για παράδειγμα η πολυχλωροβινυλική ρητίνη ή άλλα πολυμερή υλικά. Έτσι η δράση του φαρμάκου διαρκεί περισσότερο (Wave 1994).

Έχουν κυκλοφορήσει επίσης σκευάσματα με τη μορφή ανεστραμμένου γαλακτώματος, τα οποία αν και είναι δύσκολα στην εφαρμογή τους χρησιμοποιούνται για αεροψεκασμούς καθώς δεν παρασύρονται από ρεύματα αέρα σε άσχετες περιοχές. Για αρκετά χρόνια επίσης χρησιμοποιούνται σκευάσματα στα οποία η προς χρήση ευδιάλυτη ουσία έχει συσκευασθεί σε ευδιάλυτους σάκους οι οποίοι διαλύονται σε ορισμένη ποσότητα διαλύτη απελευθερώνοντας την δραστική ουσία, μειώνοντας έτσι τους κινδύνους για τους χρήστες.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΑ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΤΩΝ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

Ανεξάρτητα από το γεωργικό φάρμακο και τον τρόπο εφαρμογής του, κάθε φυτοφάρμακο απ' τη στιγμή της εφαρμογής του αρχίζει να δέχεται τις επιδράσεις μιας ή περισσότερων διεργασιών. Με τις διεργασίες αυτές τα φυτοφάρμακα διασπώνται και αποσυντίθενται ή μεταφέρονται στο περιβάλλον (Λόλας 1998).

Ένα φυτοφάρμακο αποδομείται στο περιβάλλον με έναν από τους παρακάτω τρόπους:

1.βιολογική αποσύνθεση : το φυτοφάρμακο διασπάται, αποσυνθέτεται ή αδρανοποιείται από ζώντες μικροοργανισμούς. Οι σπουδαιότερες βιοχημικές αντιδράσεις που γίνονται είναι απαλκυσίωση, απαλογόνωση, οξειδοαναγωγή, υδρόλυση κ.α. ανάλογα με το φυτοφάρμακο.

2.χημική αποσύνθεση: πρόκειται για χημική διάσπαση του φυτοφαρμάκου με αναερόβιες ή αερόβιες αντιδράσεις χωρίς τη συμμετοχή μικροοργανισμών, με σημαντικότερη την υδρόλυση.

3.φωτοαποσύνθεση: έμμεση ή άμεση χημική διάσπαση που οφείλεται στη δράση του φωτός, ιδιαίτερα της υπεριώδους ακτινοβολίας. Ευαίσθητα στην φωτοαποσύνθεση είναι μερικά οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα και ζιζανιοκτόνα .

Οι διεργασίες που μεταφέρουν τα φυτοφάρμακα στο περιβάλλον είναι:

1.Προσρόφηση στα εδαφικά κολλοειδή. Είναι η προσέλκυση και συγκράτηση των μορίων ή ιόντων ενός γεωργικού φαρμάκου απ' την επιφάνεια του εδάφους ή άλλων συστατικών του.

2.Έκπλυση στα βαθύτερα στρώματα του εδάφους. Επηρεάζεται από παράγοντες εδαφικούς (φυσική, χημική κατάσταση, χημικές ιδιότητες κ.α) και μη εδαφικούς(κλιματολογικές συνθήκες, τρόπος εφαρμογής κ.α.).

3.πτητικότητα, δηλαδή η διαφυγή με την μορφή ατμών στην ατμόσφαιρα των μορίων ενός υγρού ή στερεού φυτοφαρμάκου, κατά την εφαρμογή ή αργότερα απ' την επιφάνεια του εδάφους, των φυτών ή του νερού. Επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες όπως θερμοκρασία, υγρασία, προσρόφηση, pH εδάφους .

4.Πρόσληψη ή/και έκκριση απ' τους οργανισμούς. Ένας άλλος τρόπος με τον οποίο ένα φυτοφάρμακο μπορεί να απομακρυνθεί απ' το σημείο εφαρμογής του στο αγροοικοσύστημα είναι η πρόσληψη του από τα καλλιεργούμενα φυτά, τα ζιζάνια ή διάφορους ζωικούς οργανισμούς.

5.Συγκράτηση ή/και πρόσληψη απ' τη βλάστηση και στη συνέχεια απομάκρυνση με

τη συγκομιδή.

6.Επιφανειακή μετακίνηση με διάβρωση ,με το νερό ή τον άνεμο. Οι κυριότεροι παράγοντες που επηρεάζουν την επιφανειακή μετακίνηση ενός φυτοφαρμάκου είναι: η υδατοδιαλυτότητα, η μορφή του σκευάσματος, η διάρκεια ζωής, η προσρόφηση, η αποδόμηση, η κλίση του εδάφους, οι καιρικές συνθήκες, η πρόσληψη από τα φυτά (Λόλας 1998).

3.2 ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΤΩΝ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΟ ΓΑΛΑ ΚΑΙ ΣΤΑ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

Ο κυριότερος τρόπος μόλυνσης του γάλακτος και κατά συνέπεια των γαλακτοκομικών προϊόντων είναι μέσω της βοσκής σε μολυσμένα βοσκοτόπια ή μέσω της διατροφής με ζωοτροφές μολυσμένες με φυτοφάρμακα. Επίσης μολυσμένο νερό μπορεί να συνεισφέρει στην επιμόλυνση των προϊόντων ενώ και η μόλυνση της ατμόσφαιρας συνεισφέρει στην επιβάρυνση των ζώων με χημικές ουσίες (Mallatou et.al 1997).

Η κυριότερη κατηγορία γεωργικών φαρμάκων που συσχετίζεται με την μόλυνση των γαλακτοκομικών προϊόντων είναι τα οργανοχλωριωμένα, λόγω της σταθερότητας τους, της επίμονης παρουσίας τους στο περιβάλλον, της ευρείας και πολύχρονης χρήσης τους κατά το παρελθόν και λόγω του έντονα λιποφιλικού χαρακτήρα των ουσιών αυτών. Βέβαια και άλλες κατηγορίες φυτοφαρμάκων μπορεί να ανευρεθούν, κυρίως οργανοφωσφορικά και καρβαμικά, αλλά η γρήγορη αποικοδόμηση των ουσιών αυτών σε συνδυασμό με τη βελτίωση στο τρόπο χρήσης τους, έχει σαν αποτέλεσμα να υπάρχουν λίγες πιθανότητες να ανευρεθούν υπολείμματα των ουσιών αυτών στα γαλακτοκομικά προϊόντα ή σε περίπτωση που ανευρεθούν, είναι σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις.

Οι παράγοντες που καθορίζουν την συγκέντρωση των υπολειμμάτων των φυτοφαρμάκων στο γάλα διακρίνονται σε δύο κατηγορίες ,

- α) στα χημικά χαρακτηριστικά και
- β) στα ατομικά χαρακτηριστικά.

Τα χημικά χαρακτηριστικά περιλαμβάνουν:

- i) το βαθμό ιονισμού
- ii) το μοριακό βάρος
- iii) τη διαλυτότητα στο λιπώδη ιστό
- iv) την ένταση και τη φύση της σχέσης των φυτοφαρμάκων με άλλα συστατικά του αίματος.

Τα ατομικά χαρακτηριστικά περιλαμβάνουν:

- i) το βαθμό έκθεσης του ζώου στα φυτοφάρμακα
- ii) τη λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος
- iii) την ηλικία
- iv) τη μάζα του λιπώδους ιστού.

Από την στιγμή που υπολείμματα φυτοφαρμάκων βρεθούν στον οργανισμό του ζώου ένας τρόπος έκκρισης αυτών των προϊόντων είναι, μέσω του γάλακτος με

αποτέλεσμα τα προϊόντα που θα παρασκευασθούν να περιέχουν, ανάλογα με τη λιποπεριεκτικότητα τους, υπολείμματα σε μεγαλύτερη ή μικρότερη συγκέντρωση (Bentabol and Jodral 1997).

Ένας άλλος τρόπος απομάκρυνσης είναι μέσω των ούρων ενώ ένα σημαντικό ποσοστό παραμένει αποθηκευμένο στο λιπώδη ιστό ή σε διάφορα όργανα του ζώου κυρίως στο συκώτι και στα νεφρά ή στο ενδομυϊκό λίπος (Mussalo-Ranhamna et.al 1990).

Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε απ' τους Smart et al (1972) χορηγήθηκαν σε γαλακτοπαραγωγικές αγελάδες, μέσω του σιτηρεσίου τους για 42 ημέρες , διαφορετικές ποσότητες των ουσιών aldrin, γ-BHC και p,p'-DDT. Κατόπιν έγινε έλεγχος για υπολείμματα των ουσιών αυτών στο γάλα, στο βούτυρο, στο τυρί, στο τυρόγαλα και στο βουτυρόγαλα που παρασκευάστηκαν απ' αυτό το γάλα. Εκείνο που προκύπτει είναι ότι η ουσία aldrin μεταβολίζεται και αποθηκεύεται στο λίπος σαν dieldrin, ενώ ανιχνεύονται και μεταβολίτες του p,p'-DDT και συγκεκριμένα οι ουσίες p,p'-DDE και p,p'-TDE. Επίσης φαίνεται πως μετά από κάποιο χρονικό διάστημα δημιουργείται μια ισορροπία μεταξύ των λειτουργιών της πρόσληψης, του μεταβολισμού και της απέκκρισης των φυτοφαρμάκων, η οποία διαταράσσεται εάν μεταβληθεί η χορηγούμενη ποσότητα. Στην έρευνα αυτή των Smart et.al. αναφέρεται επίσης πως η συγκέντρωση των υπολειμμάτων που ανιχνεύονται εξαρτάται τόσο από την φυλή του ζώου όσο και απ' το στάδιο γαλακτοπαραγωγής που βρίσκεται το ζώο. Συγκεκριμένα αγελάδες απ' τις φυλές Guersney και Holstein διατράφηκαν μέσω του σιτηρεσίου τους με τις ίδιες ποσότητες DDT για 16 ημέρες και παρατηρήθηκε ότι το γάλα από τις αγελάδες Guersney περιείχε μεγαλύτερη ποσότητα DDT (περίπου 33% περισσότερο) απ' το γάλα των αγελάδων Holstein.

Σε έρευνα που πραγματοποίησαν οι Demott et al (1966) σχετικά με την έκκριση της ουσίας heptachlor epoxide στο γάλα παρατηρήθηκε ότι οι αγελάδες στο τελικό στάδιο γαλακτοπαραγωγής παρήγαγαν γάλα με ελαφρώς χαμηλότερη συγκέντρωση της ουσίας σε σχέση με τις αγελάδες που βρίσκονταν στο αρχικό ή μεσαίο στάδιο.

Στην έρευνα αυτή επιβεβαιώνεται και ο ρόλος της φυλής του ζώου στη συγκέντρωση της ουσίας που ανιχνεύεται στο γάλα με σύγκριση ζώων της φυλής Holstein και της φυλής Jersey. Έτσι τα μεν ζώα της φυλής Jersey παρήγαγαν γάλα με ψηλότερη συγκέντρωση heptachlor epoxide ανά Kg γάλατος σε σχέση με αυτά της φυλής Holstein αν και το γάλα των τελευταίων είχε μεγαλύτερη λιποπεριεκτικότητα. Είναι φανερό ότι έχει σημασία να διευκρινίζεται εάν η αναφορά γίνεται επί της συνολικής ποσότητας του προϊόντος ή επί λιπαρής βάσης.

Αξιοσημείωτο είναι επίσης το γεγονός ότι οι αγελάδες που κατανάλωσαν μεγαλύτερη ποσότητα του φυτοφαρμάκου απέκριναν στο γάλα μικρότερο ποσοστό της λαμβανόμενης ποσότητας σε σχέση με τις αγελάδες που κατανάλωσαν μικρότερες ποσότητες. Όπως αναμενόταν η συγκέντρωση της ουσίας που ανιχνεύεται αυξάνεται όσο διαρκεί η χορήγηση της μέσω της τροφής και αρχίζει σταδιακά να μειώνεται μετά τη διακοπή της χορήγησης της.

Παρόμοια αποτελέσματα παρουσιάζονται σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε απ' τους Bruce et al (1965) στην οποία στο σιτηρέσιο των αγελάδων της φυλής Shorthorn χορηγήθηκαν ποσότητες heptachlor epoxide, dieldrin και DDT. Όπως

αναφέρεται, παρόμοια αποτελέσματα προκύπτουν για όλα τα οργανοχλωριωμένα αλλά το heptachlor epoxide επιλέγεται γιατί εμφανίζει την ισχυρότερη τάση για αποθήκευση στο λιπώδη ιστό απ' όλες τις οργανοχλωριωμένες ουσίες. Οι ερευνητές μετά από πειράματα κατέληξαν σε μια συνάρτηση που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον υπολογισμό σε ppm του heptachlor epoxide στο λίπος του γάλακτος μετά από 12 εβδομάδες χορήγησης και συγκεκριμένα ισχύει ότι:

$$X = (1 - y/b)a$$

Όπου,

x: ο δεκαδικός λογάριθμος της συγκέντρωσης (ppm) του heptachlor epoxide στο βούτυρο.

y: ο δεκαδικός λογάριθμος της συγκέντρωσης(ppm) του heptachlor epoxide στο διαιτολόγιο

a = 1,23045

b = -1,455593

Εκείνο όμως που είναι σημαντικό είναι ότι σημαντικές συγκεντρώσεις υπολειμμάτων ανιχνεύονται για αρκετό χρονικό διάστημα μετά τη διακοπή διατροφής με τις μολυσμένες ζωοτροφές. Το διάστημα αυτό μπορεί να είναι εβδομάδες, μήνες ή και χρόνια στις περιπτώσεις που η λαμβανόμενη της ουσίας ποσότητα είναι αυξημένη.

Αυτό ισχύει και για το DDT, όπως αναφέρεται απ' τους Laben et.al (1965) για το οποίο ο ρυθμός μείωσης στο λίπος του γάλακτος υπολογίστηκε στο 9- 11% ανά εβδομάδα περίπου αλλά έφτανε σε ένα κατώτερο όριο (1 ppm από 19 ppm) μετά από 17-26 εβδομάδες.

Επίσης και η ώρα που αρμέγεται το γάλα φαίνεται να επηρεάζει τη συγκέντρωση των υπολειμμάτων καθώς δείγματα από γάλα που αρμέχθηκε τις πρωινές ώρες περιείχε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις της ουσίας.

Σημαντικό ρόλο όμως έχει και η ουσία καθώς όπως αναφέρθηκε κάποιες ουσίες παρουσιάζουν μεγαλύτερη τάση να αποθηκεύονται και να εκκρίνονται στο γάλα από άλλες ουσίες. Έτσι το aldrin αποθηκεύεται και εκκρίνεται σαν dieldrin σε διπλάσια ποσότητα σε σχέση με το dieldrin, δέκα φορές σε σχέση με το DDT, 20 φορές σε σχέση με το heptachlor και 1600 φορές σε σχέση με το methoxychlor. Μάλιστα σε συγκρίσιμες δόσεις περισσότερο dieldrin αποθηκεύεται και εκκρίνεται στο γάλα όταν τα ζώα τρέφονταν με σιτηρέσιο μολυσμένο με aldrin απ' ότι όταν τρέφονταν με σιτηρέσιο μολυσμένο με dieldrin. Ενώ η συγκέντρωση του methoxychlor μειώνεται γρηγορότερα απ'ότι το aldrin ή το heptachlor.

Ανάλογη έρευνα πραγματοποιήθηκε απ' τους Gyrisco et.al (1960) όπου αγελάδες από τις φυλές Brown Swiss, Holstein, Jersey και Ayrshire τράφθηκαν με το εντομοκτόνο Sevin (1-νάφθυλ-N-μεθυλ-καρβμίδιο) σε ποσότητες μέχρι 450 ppm για 2 εβδομάδες (στα αντίστοιχα πειράματα με οργανοχλωριωμένες ουσίες, οι

συγκεντρώσεις που θεωρούνται ψηλές φτάνουν μέχρι 350 ppm).

Οι συγκεντρώσεις που ανιχνεύθηκαν στο γάλα, όπου ανιχνεύθηκαν, ήταν κάτω από 0,01 ppm που ήταν το όριο ευαισθησίας της μεθόδου ανίχνευσης. Το γεγονός αυτό είναι σημαντικό καθώς το Sevin χρησιμοποιείται ευρέως σε καλλιέργειες που προορίζονται για ζωοτροφές. Αλλά και σε πειράματα όπου γίνονταν δερματολογική εφαρμογή του Sevin και ανιχνεύθηκαν την πρώτη μέρα υπολείμματα, τη δεύτερη μέρα οι συγκεντρώσεις είχαν μειωθεί κάτω από 0,025 ppm που ήταν το όριο της μεθόδου ανίχνευσης.

Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξαν και οι Marth (1962) καθώς και οι Karoor και Kalra (1997) που πραγματοποίησαν παρόμοια πειράματα με οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα.

Εκείνο που είναι ιδιαίτερα σημαντικό είναι η παρουσία των οργανοχλωριωμένων υπολειμμάτων για αρκετό χρονικό διάστημα μετά τη διακοπή της διατροφής των ζώων με μολυσμένη τροφή, πράγμα που σημαίνει ότι ακόμη και αν συμβεί ατυχηματικά να τραφούν τα ζώα με επιμολυσμένη τροφή, τα υπολείμματα θα αργήσουν να αποβληθούν απ' το ζώο. Έτσι παρ' όλο που έχει απαγορευθεί η χρήση των περισσότερων οργανοχλωριωμένων οι ουσίες αυτές εξακολουθούν να ανιχνεύονται στα γαλακτοκομικά προϊόντα.

3.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΤΩΝ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ

Το γάλα προκειμένου να μεταποιηθεί στα διάφορα γαλακτοκομικά προϊόντα διέρχεται μια σειρά επεξεργασιών είτε πρόκειται για παστερίωση είτε για ζύμωση είτε για ξήρανση κ.α.

Όπως φάνηκε το είδος του φυτοφαρμάκου αλλά και το είδος του τροφίμου έχουν καθοριστικό ρόλο στην συσσώρευση των ουσιών αυτών στα τρόφιμα. Έτσι τα οργανοχλωριωμένα συσσωρεύονται στο λιπώδες κλάσμα του γάλακτος ενώ τα οργανοφωσφορικά μπορεί να συγκεντρωθούν τόσο στο λιπώδες όσο και στο πρωτεϊνικό κλάσμα του γάλακτος. Με την αποκορύφωση του γάλακτος επομένως δίνεται η δυνατότητα απομάκρυνσης των οργανοχλωριωμένων και ενός ποσοστού των οργανοφωσφορικών.

Μικρή επίδραση φαίνεται να έχει η παστερίωση στη συγκέντρωση των υπολειμμάτων καθώς η συγκέντρωση του DDT μετά από παστερίωση δεν επηρεάστηκε σημαντικά η μείωσή του.

Μεγαλύτερη επίδραση φαίνεται να έχει η συμπύκνωση και η ξήρανση του γάλακτος σύμφωνα με τους Lanclois et al (1964) σε έρευνα που πραγματοποίησαν για την επίδραση της επεξεργασίας για τη παρασκευή βουτύρου, παγωτού, τυριού, συμπυκνωμένου γάλακτος και σκόνης πλήρους γάλακτος στη συγκέντρωση του DDT και του lindane. Η επεξεργασία για την παραγωγή των άλλων προϊόντων δεν έχει

σημαντική επίδραση στη συγκέντρωση των ουσιών ενώ και κατά τη συντήρησή τους δεν παρουσιάζονται σημαντικές μεταβολές. Κατά την ξήρανση με τύμπανα παρουσιάστηκε απώλεια μόνο του lindane ενώ με τη μέθοδο spray-drying παρουσιάστηκε απώλεια και των δύο ουσιών. Όπως φάνηκε το lindane είναι περισσότερο διαλυτό στο τυρόγαλα απ' ό,τι το DDT.

Σε παρόμοια έρευνα των ίδιων επιστημόνων (1965) για την τύχη των ουσιών Eldrin, Dieldrin και Heptachlor παρουσιάστηκαν αποτελέσματα παρόμοια με την προηγούμενη έρευνα. Έτσι η συγκέντρωση των ουσιών μειώνεται αξιοσημείωτα κυρίως κατά την συμπύκνωση και ξήρανση αν και κατά την παρασκευή τυριού και βουτύρου μειώθηκε η συγκέντρωση τους κυρίως λόγω μεταφοράς τους στο τυρόγαλο και στο βουτυρόγαλο, με τις ουσίες heptachlor και heptachlor epoxide να παρουσιάζουν μεγαλύτερη ικανότητα μεταφοράς. Η συγκέντρωση των dieldrin και heptachlor epoxide μειώνεται μέχρι και 50% της αρχικής στο νωπό γάλα κατά την συμπύκνωση. Αντίθετα το heptachlor και το endrin δεν επηρεάζονται. Όλες όμως οι ουσίες επηρεάζονται από την ξήρανση αν και σε διαφορετικό βαθμό και ανάλογα με τη μέθοδο ξήρανσης. Το heptachlor φαίνεται να επηρεάζεται κατά την παρασκευή παγωτού μάλλον λόγω μετατροπής του σε heptachlor epoxide κατά την ψύξη. Κατά την αποθήκευση δεν παρατηρούνται μεταβολές στην συγκέντρωση ή στη δομή των ουσιών.

Οι McCaskey and Liska (1967) σε έρευνα τους σχετικά με τη συμπεριφορά των ουσιών endosulfan sulfate και chlordane κατά την επεξεργασία για την παραγωγή συμπυκνωμένου, αποστειρωμένου και σκόνης πλήρους γάλακτος, αναφέρουν ότι η συγκέντρωση των ουσιών μειώθηκε σε σχέση με το νωπό γάλα κατά 42,0% και 25% αντίστοιχα κατά την ξήρανση με ψεκασμό (spray-drying). Κατά την ξήρανση με τύμπανα μειώθηκε κατά 70% και 50% αντίστοιχα. Κατά την συμπύκνωση η μείωση της συγκέντρωσης ήταν 17,5% και 11,2% αντίστοιχα ενώ κατά την αποστείρωση 42% και 45%.

Η συμπύκνωση επηρεάζει τις ουσίες dieldrin και heptachlor epoxide περισσότερο σε σχέση με άλλες οργανοχλωριωμένες ουσίες όπως τα DDT, lindane, tetodrin, methoxychlor, endosulfan sulfate. Συμπύκνωση του γάλακτος κατά 50% μειώνει τη συγκέντρωσή τους κατά 40-50%. Η αποστείρωση επηρεάζει κυρίως τις ουσίες telodrin, chlordane και endosulfan sulfate, ενώ η ξήρανση επηρεάζει τις περισσότερες ουσίες καθώς οι συγκεντρώσεις τους παρουσιάζουν αξιοσημείωτες μειώσεις. Αυτό οφείλεται στη μεταφορά και συναπόσταξη με το νερό όπως συμβαίνει για το lindane αλλά και στη θερμική καταστροφή όπως συμβαίνει με τις ουσίες DDE και DDD, ή μετατροπή σε μεταβολίτες όπως συμβαίνει με το DDT.

Όπως αναφέρουν οι Montoure and Muldon (1967) κατά τη διάρκεια της παρασκευής τυριού Cheddar και Monterey με γάλα μολυσμένο με DDT, DDE, TDE, παρουσιάζεται μια αλλαγή στη δομή του DDT ενώ οι καλλιέργειες που χρησιμοποιούνται συμβάλλουν στην αποδόμηση του DDT και του DDE.

Όμως και τα φυτοφάρμακα φαίνεται πως επηρεάζουν τη δράση των καλλιιεργειών. Η παρουσία του οργανοχλωριωμένου φυτοφαρμάκου dieldrin επηρεάζει την παραγωγή οξέος κατά την παρασκευή τυριού Cheddar με καλλιέργειες των μικροοργανισμών *S.lactis*, *S.cremoris*, *S.lactis* var. *diacetylactis* με αποτέλεσμα

αυξημένο pH. Αντίθετα οι μικροοργανισμοί streptococci και micrococci δεν επηρεάζουν αλλά ούτε επηρεάζονται απ' τη παρουσία των ουσιών p,p'-DDT και p,p'-DDE (σε συγκεντρώσεις 0,5 ppm) ενώ παρουσία των μικροοργανισμών brevilacterium lineus και geotrichum μειώθηκε η συγκέντρωση των ουσιών αυτών σε ένα εύρος pH 5,5-5,8.

Μείωση των περιεχομένων υπολειμμάτων οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων στο γάλα παρατηρείται με ακτινοβόλησή του με υπεριώδη ακτινοβολία καθώς και με ακτινοβόλησή του γάλακτος σε χαμηλή θερμοκρασία. Επίσης η κατεργασία με υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) έχει παρατηρηθεί πως μειώνει τη συγκέντρωση των υπολειμμάτων του DDT που μπορεί να υπάρχουν στο γάλα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ ΠΟΥ ΑΝΙΧΝΕΥΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΓΑΛΑ ΚΑΙ ΣΤΑ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Λόγω της εκτεταμένης χρήσης των φυτοφαρμάκων, η παρουσία υπολειμμάτων τους στα τρόφιμα, μπορεί να είναι ιδιαίτερα συχνή. Προκειμένου λοιπόν να προστατευθούν οι καταναλωτές, λόγω και των ανησυχιών που προκαλούνται απ' τις τοξικολογικές και άλλες επιβλαβείς ιδιότητες των ουσιών αυτών αλλά και για να διευκολυνθούν οι εμπορικές συναλλαγές έχουν ληφθεί μέτρα προστασίας των καταναλωτών τόσο από εθνικούς φορείς όσο και από διεθνείς. Στο πλαίσιο των μέτρων αυτών γίνονται έλεγχοι στα τρόφιμα προκειμένου να ελεγχθεί, αφενός αν τηρούνται οι καθορισμένες προδιαγραφές των τροφίμων αφετέρου δε σε ποιό βαθμό έχουν μολυνθεί με υπολείμματα φυτοφαρμάκων.

Έτσι και τα γαλακτοκομικά προϊόντα ελέγχονται για παρουσία υπολειμμάτων και κυρίως για παρουσία οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων καθώς αυτά έχουν την μεγαλύτερη πιθανότητα να μολύνουν τα γαλακτοκομικά προϊόντα με αποτέλεσμα στα προγράμματα ελέγχου ποιότητας να δίνεται μεγαλύτερη σημασία στις ουσίες αυτές. Η λιποφιλική φύση τους σε συνδυασμό με την ευρεία χρήση τους έχει σαν αποτέλεσμα να συσσωρεύονται στο λίπος, με τον συντελεστή συσσώρευσης να κυμαίνεται από 0,2-10. Συντελεστής συσσώρευσης είναι τα mg/Kg υπολειμμάτων στο λίπος του γάλακτος προς τα mg/Kg υπολειμμάτων στη ζωοτροφή. Τα οργανοφωσφορικά και τα καρβαμιδικά φυτοφάρμακα παρ' όλο που χρησιμοποιούνται ευρύτατα και παρουσιάζουν μεγαλύτερη οξεία τοξικότητα, δεν συσσωρεύονται στο λίπος και διασπώνται απ' τις γαλακτοπαραγωγικές αγελάδες με αποτέλεσμα να μην προκαλούν μεγάλη ανησυχία (Walstra and Jenness 1984).

Έρευνες πραγματοποιούνται στον διεθνή αλλά και στο ελληνικό χώρο αν και είναι αρκετά περιορισμένες σε αριθμό σε σχέση με τις άλλες χώρες.

4.2 ΕΡΕΥΝΕΣ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Την περίοδο 1991-1992 πραγματοποιήθηκε από τους Μαλλάτου et.al (1997) έρευνα για τον προσδιορισμό 17 φυτοφαρμάκων σε αγελαδινό γάλα και σε τυριά από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας .

Τα φυτοφάρμακα αυτά ήταν:

-13 οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα: α-BHC, β-BHC, γ-BHC (Lindane), heptachlor, heptachlor epoxide, p,p'-DDD, p,p'-DDE, p,p'-DDT και p,p'-DDT. Το lindane χρησιμοποιείται ακόμη, ενώ τα υπόλοιπα χρησιμοποιήθηκαν ευρύτατα τη δεκαετία του '70.

-3 παρασιτοκτόνα : alachlor ,atrazine ,simazine

-1 ορνοφωσφορικό : methyl parathion

Τα φυτοφάρμακα αυτά χρησιμοποιούνται ευρύτατα στις καλλιέργειες ζωοτροφών στην Ελλάδα.

Τα 38 δείγματα γάλακτος (αγελαδινού) και 28 τυριών (από γίδινο, πρόβειο, αγελαδινό ή μίγμα αυτών) προέρχονταν από περιοχές της Θράκης ,της Μακεδονίας ,της Θεσσαλίας ,της Ηπείρου ,της Στερεάς Ελλάδος και της Πελοποννήσου.

Σύμφωνα με την έρευνα στα δείγματα γάλακτος ανιχνεύθηκαν τα φυτοφάρμακα lindane, p,p'-DDE, a-BHC και methyl parathion ενώ στα δείγματα των τυριών τα p,p'-DDE, a-BHC, lindane, aldrin και dieldrin. Συγκεκριμένα στα 38 δείγματα γάλακτος, τα 11 ήταν θετικά, με την έννοια ότι βρέθηκε έστω ένα φυτοφάρμακο, ενώ στα 28 δείγματα τυριών, τα 9 βρέθηκαν θετικά. Στους παρακάτω πίνακες 4.1 και 4.2 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα. Όπως φαίνεται η μέση συγκέντρωση του a-BHC ήταν πάνω απ' τα ανώτερα όρια της Ε.Ε. στα δείγματα γάλακτος ενώ στα τυριά οι συγκεντρώσεις ήταν εντός ορίων εκτός ενός δείγματος στο οποίο η συγκέντρωση του p,p' -DDE ήταν εκτός ορίων. Επίσης όπως αναφέρουν οι συγγραφείς, το παραγόμενο το χειμώνα και το φθινόπωρο γάλα, ήταν περισσότερο μολυσμένο σε σχέση με το αντίστοιχο του καλοκαιριού ή της άνοιξης ενώ το αντίθετο παρατηρείται με τα τυριά.

Πιν.4.1 Συγκέντρωση φυτοφαρμάκων στα δείγματα γάλακτος (n=38)

φυτοφάρμακο	θετικά δείγματα				ανώτατα επιτρεπτά
	συχνότητα	%ποσοστό	συγκέντρωση (ng/g λίπους)		όρια Ε.Ε. ng/g λίπ.
			μέση τιμή	εύρος τιμών	
Lindane	5	13,1	4	0,8-7	8
p,p'-DDE	4	10,5	22	14-32	40
a-BHC	2	5,3	17	16-18	10
Methyl parathion	2	5,3	161	43-280	-

Σημ : για το methyl parathion δεν έχουν θεσπιστεί όρια

Πιν.4.2 Συγκέντρωση φυτοφαρμάκων στα δείγματα τυριών (n =28)

φυτοφάρμακο	θετικά δείγματα				ανώτατα επιτρεπτά όριαΕ.Ε. (ng/g λίπους)
	συχνότητα	%ποσοστό	συγκέντρωση (ng/g λίπους)		
			μέση τιμή	εύρος τιμών	
p, p'-DDE	4	14,3	37	20-70	40
a-BHC	3	10,7	5	0,4-10	10
Lindane	2	7,1	1,4	0,8-2	8
Aldrin και Dieldrin	1	3,6	0,2	—	6

Από τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής και από αναφορές για τη μέση κατανάλωση γάλακτος και τυριού στην Ελλάδα υπολογίστηκε απ' τους συγγραφείς η ανά κάτοικο μέση ημερήσια κατανάλωση των ουσιών αυτών όπως παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα 4.3. Η μέση κατανάλωση εκτιμάται στα 67,2 και 22 Kg/κεφαλή/ χρόνο για γάλα και τυρί αντίστοιχα, για άτομα με σωματικό βάρος 60 Kg.

Πιν.4.3 Εκτιμήσεις μέσης ημερήσιας κατανάλωσης φυτοφαρμάκων

Φυτοφάρμ.	Μέση συγκέντρ. φυτοφαρμάκων μg/g λίπους		Εκτιμώμενη μέση κατανάλωση ανά κάτοικο (μg/ημέρα)			Η.Α.Δ. FAO \ WHO (μg/ημέρα)	%Η.Α.Δ.
	Γάλα	Τυρί	Γάλα	Τυρί	Σύνολο		
Lindane	4	1,4	0,025	0,020	0,045	480	0,01
p,p'-DDE	22	37	0,142	0,540	0,682	1200	0,06
a-BHC	17	5	0,110	0,070	0,180	300	0,06
Methyl Parathion	161	-	1,037	-	1,037	1200	0,09
Aldrin και Dieldrin	-	0,2	-	0,003	0,003	6	0,05

Όπως φαίνεται η κατανάλωση των γαλακτοκομικών καλύπτει ένα μικρό μόνο ποσοστό της ημερήσιας αποδεκτής δόσης (Η.Α.Δ.)

Σε παλιότερη έρευνα που πραγματοποιήθηκε το 1974-75 (Αλμπάνης και συν.1998) σε δείγματα γάλακτος της Β. Ελλάδας βρέθηκε ότι περιείχαν τα παρακάτω υπολείμματα σε συγκεντρώσεις επί λιπαρής βάσης : HCB 625 μg/Kg, HCH 179 μg/Kg, lindane 27 μg/Kg, dieldrin 33 μg/Kg, p,p'-DDE 83 μg/Kg, p,p'-DDT 18 μg/Kg, p,p'-DDD 23 μg/Kg, p,p'-DDT 58 μg/Kg και ΣDDT 162 μg/Kg. Όπως φαίνεται οι συγκεντρώσεις αυτές είναι πολύ ψηλότερες από τις τιμές της εργασίας των Mallatou et.al και πάνω από τα όρια που θεσπίστηκαν από τους FAO/WHO αργότερα(1993). Σύμφωνα με τους συγγραφείς αυτό οφείλεται στο ότι η έρευνα αυτή πραγματοποιήθηκε λίγο μετά την απαγόρευση χρήσης των οργανοχλωριωμένων στην Ελλάδα.

Επίσης σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε το 1975-76, (Αλμπάνης και συν.1998) βρέθηκε ότι το τυρί τελεμές απ' την Βόρεια και Κεντρική Ελλάδα ήταν μολυσμένο με οργανοχλωριωμένα και συγκεκριμένα με : α,β,γ-BHC 3,274 mg/Kg λίπους, heptachlor 4,114 mg/Kg λίπους, ΣDDT 9,861 mg/Kg λίπους, endrin 5,834mg/Kg λίπους, dieldrin 0,942 mg/Kg λίπους, heptachlor epoxide 0,591mg/Kg λίπους.

Σε άλλη έρευνα που έγινε στο Εργαστήριο Ελέγχου Ρύπανσης Περιβάλλοντος του Α.Π.Θ. σε συνεργασία με το Ινστιτούτο Χημείας του Νερού του Πολυτεχνείου του Μονάχου (Φυτιανός και συν.1983) για την προκαταρκτική μελέτη της συγκέντρωσης οργανοχλωριωμένων ενώσεων σε δείγματα γαλακτοκομικών προϊόντων , βρέθηκαν τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα 4.4.

Πιν.4.4 Συγκεντρώσεις υπολειμμάτων σε προϊόντα γάλακτος σε ppm επί λιπαρής βάσης.

Φυτοφαρμ.	Ελλ. Γάλα1	Ελλ. Γάλα2	Γερμ. Γάλα	Ελλ. Τυρί	Ελλ. Βουτ.	Γερμ. Τυρί	Ολλ. Βουτ.	Αγελαδινό Γάλα Επιτρ. τιμές	
								Γερμ.	FAO
α-HCH	0,007	0,015	0,0012	-	-	-	-	0,1	-
β-HCH	0,009	0,003	0,0011	-	0,010	-	-	-	-
γ-HCH	0,022	-	-	-	-	-	0,020	0,1	0,1.
DDT	0,030	-	-	.	-	-	-	-	-
DDT+DDD	-	-	-	-	-	-	-	1,0	1,2
HCB	-	-	-	0,005	-	0,008	-	0,5	0,3
Dieldrin	-	-	-	-	-	0,015	0,020	0,15	0,15
Endrin	-	-	-	-	—	-	0,008	-	-
Heptachlor epoxide								0,1	0,15

Όπως φαίνεται οι προσδιοριζόμενες συγκεντρώσεις είναι κάτω των επιτρεπόμενων ορίων του προτείνει ο FAO.

Η Τσιπλάκου Ε. και συν. (2009) μελέτησαν την μόλυνση του γάλακτος αιγοπροβάτων, που τρέφονταν κυρίως με συμπληρωματικές ζωοτροφές κατά τους χειμερινούς μήνες, με υπολείμματα φυτοφαρμάκων. Διακόσια δείγματα γάλακτος από αιγοπρόβατα συλλέχθηκαν από 10 μονάδες για κάθε ζώο. Γάλα και δείγματα ζωοτροφών (σανό μηδικής, άχυρο σίτου, θάμνοι, το χόρτο και οι συμπυκνωμένες τροφές) ελήφθησαν από κάθε εκμετάλλευση για την ανάλυση για υπολείμματα φυτοφαρμάκων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η Sendosulfan ήταν το κύριο υπόλειμμα των φυτοφαρμάκων που ανιχνεύθηκαν σε όλα τα δείγματα συμπυκνώματος με μέση συγκέντρωση 5,36 mg kg⁻¹, το οποίο είναι πολύ υψηλότερο από το ανώτατο όριο υπολειμμάτων (AOY). Επιπλέον, η Sendosulfan εντοπίστηκε, επίσης, σε όλα τα δείγματα σανό μηδικής, αλλά με μέση συγκέντρωση 0,10 mg kg⁻¹ το οποίο είναι χαμηλότερο από το AOY. Οι μέσες συγκεντρώσεις της α και β endosulfan ήταν 2,82 και 2,39 mg kg⁻¹ στα δείγματα συμπυκνώματος και 0,08 και 0,02 mg kg⁻¹, αντίστοιχα, σε δείγματα σανό μηδικής. Στο άχυρο σίτου, θάμνοι

και στα δείγματα βοσκότοπων δεν εντοπίστηκαν κατάλοιπα φυτοφαρμάκων. Δεν ανιχνεύθηκαν κατάλοιπα φυτοφαρμάκων ούτε σε δείγματα γάλακτος από αιγοπρόβατα. Έτσι, αυτό το γάλα που εξετάστηκε στο δείγμα των εκμεταλλεύσεων δεν παρουσιάζει κινδύνους για την ανθρώπινη υγεία όσον αφορά τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων που αναλύθηκαν.

4.3 ΕΡΕΥΝΕΣ ΣΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ

Έρευνες σχετικές πραγματοποιούνται και στο εξωτερικό είτε για ερευνητικούς σκοπούς είτε για έλεγχο τήρησης των νόμων.

Σε έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί στην Ισπανία από τους Bentabol and Jodral (1997), Riva and Anadon (1991), Losada et.al (1996) εξετάστηκαν δείγματα γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων για παρουσία οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων. Οι Riva και Anadon εξέτασαν 460 δείγματα αγελαδινού γάλακτος τη περίοδο 5/1987-3/88 για παρουσία υπολειμμάτων των ουσιών DDT και μεταβολιτών του, aldrin, dieldrin, endrin, heptachlor, heptachlor epoxide, α - και β -endosulfan, methoxychlor, mirex και α -, β - και γ -HCH. Όλα τα δείγματα περιείχαν μία ή περισσότερες απ' τις προσδιοριζόμενες ουσίες. Στα περισσότερα δείγματα ανιχνεύθηκαν το HCH και τα ισομερή του (100%), DDT και οι μεταβολίτες του (95,5%), aldrin + dieldrin (90,9%), HCB (95%). Τα endrin, heptachlor, heptachlor epoxide, mirex, methoxychlor, α -και β -endosulfan δεν ανιχνεύθηκαν. Οι συγκεντρώσεις κυμαίνονταν από ίχνη (HCB) μέχρι 164 ppb (ΣDDT) αλλά ήταν εντός των ορίων της νομοθεσίας της Ε.Ε. αλλά και των επιτρεπόμενων ορίων του FAO ,εκτός από τρία δείγματα στα οποία το α - HCH βρέθηκε εκτός ορίων.

Οι Losada et.al. εξέτασαν 39 δείγματα βοδινού γάλακτος το 1992 στα οποία ανιχνεύθηκαν οι ουσίες lindane (γ -HCH), α -HCH, aldrin, heptachlor epoxide, dieldrin, p,p'-TDE, p,p'-TDE, p,p'-DDE και το p,p'-DDT σε συγκεντρώσεις εντός των ορίων της Ε.Ε και σε ποσοστό ανίχνευσης από 5,13%(p,p' -TDE)μέχρι 66,0%(lindane) των δειγμάτων.

Οι Bentabol and Jodral εξέτασαν 146 δείγματα τυριών (διαφόρων τύπων) για παρουσία υπολειμμάτων των ουσιών α -, β -, γ - και δ -HCH ,DDT και μεταβολιτών του ,aldrin ,chlordan ,dieldrin ,endrin ,heptachlor ,heptachlor epoxide. Στον πίνακα 4.5 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα ενώ στον πίνακα 4.6 παρουσιάζονται οι εκτιμώμενες ημερήσιες δόσεις (estimated daily intakes, EDI) που υπολογίστηκαν από τους συγγραφείς με βάση στοιχεία του ισπανικού υπουργείου γεωργίας για τη μέση κατανάλωση τυριών ανά κάτοικο.

Σύμφωνα με τους συγγραφείς η παρουσία του aldrin στα τυριά δηλώνει πρόσφατη μόλυνση ή άμεση μόλυνση του γάλακτος καθώς το aldrin μετατρέπεται γρήγορα στο υποξείδιο του π.χ. dieldrin κατά τη διάρκεια του μεταβολισμού.

Πιν.4.5 Συγκέντρωση υπολειμμάτων σε δείγματα τυριού στην Ισπανία (n= 146)

Φυτοφάρμακο	Όριο ανίχνευσης μg/Kg λίπ.	%ποσοστό θετικών δειγμάτων	Μέση συγκέντρωση μg/Kg λίπους	Εύρος μg/Kg λίπους	MRLs μg/kg λίπους (E.E.)	No.> MRLs
ΣDDT	-	100	55,05	4-406	1000	0
Aldrin	0,50	6,1	16,67	1-34	-	-
Dieldrin	0,50	21,2	9,67	3-63	-	-
aldrin+dielrin	-	26,7	14,74	1-63	150	0
Endrin	15,00	0	-	-	20	-
Chlordane	1,00	94,5	50,22	7-962	50	42
Heptachlpr	0,50	12,3	15,94	3-55	-	-
Hep.Epoxyde	1,00	6,8	14,80	4-24	-	-
α-HCH	0,50	85,7	46,32	2-1644	100	δ
β-HCH	1,00	77,4	46,50	2-615	75	20
γ-HCH	0,25	97,9	54,20	1-1071	200	6
δ-HCH	1,00	9,6	16,93	3-53	-	-
ΣΗCH	-	100	130,5	3-1913	-	

Όπως φαίνεται κάποια δείγματα παρουσιάζουν συγκεντρώσεις που υπερβαίνουν τα επιτρεπόμενα όρια της Ε.Ε. (κυρίως ισομερή του HCH το οποίο έχει διασπαρεί ευρέως στο περιβάλλον) όμως καταλαμβάνουν μικρό ποσοστό των Αποδεκτών Ημερήσιων Δόσεων όπως φαίνεται απ' τον παρακάτω πίνακα.

Πίν.4.6 Εκτιμώμενη ημερήσια δόση ορισμένων ουσιών

Φυτοφάρμακο	Αποδεκτή Ημερήσια Δόση(A.D.I.) (μg/Kg β.σ.)	Εκτιμώμενη Ημερήσια Δόση (μg/Kg βάρος σώματος)		
		Μέγιστη	Ελάχιστη	Μέση
lindane	10	$5,55 \times 10^{-2}$	$5,94 \times 10^{-5}$	$3,79 \times 10^{-3}$
Aldrin+Dieldrin	1	$3,65 \times 10^{-3}$	$4,30 \times 10^{-5}$	$9,45 \times 10^{-4}$
Heptachlor+Hep. Epoxide	5	$4,28 \times 10^{-3}$	$2,52 \times 10^{-4}$	$1,10 \times 10^{-3}$
ΣDDT	20	$2,66 \times 10^{-3}$	$2,10 \times 10^{-4}$	$3,71 \times 10^{-3}$

Τη περίοδο 1993-1995 σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε στο Hong-Kong για την ανίχνευση οργανοχλωριωμένων υπολειμμάτων (Wong and Lee 1997), ελέγχθηκαν 252 δείγματα γάλακτος νοπού, UHT και παστεριωμένου και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα 4.7.

Πιν.4.7 Υπολείμματα οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων σε δείγματα γάλακτος στο Hong-Kong (1993,n=98 ,1994,n=84 ,1995,n=70)

Ουσία	Συχνότητα ανίχνευσης			Εύρος συγκέντρωσης mg/Kg λίπους		
	1993	1994	1995	1993	1994	1995
HCB	19	61	52	0,004-0,18	0,004-0,60	0,004-0,74
ΣHCH	76	41	42	0,008-0,88	0,008-0,73	0,008-0,79
DDE*	89	63	43	0,01-0,69	0,01-6,20	0,01-032
TDE*	11	4	5	0,03-0,52	0,01-0,59	0,03-0,81
DDT*	4	5	-	0,01-0,07	0,01-0,08	0
Dieldrin	34	62	18	0,01-0,23	0,01-0,34	0,01-0,44
Heptachlor epoxide	7	3	1	0,006-0,03	0,05-0,49	0,09

* : περιλαμβάνονται τα ισομερή p,p'- και -p,p'.

Η μέση συγκέντρωση των ουσιών παρουσιάζεται στον πίνακα 4.8

Πιν.4.8 Μέση συγκέντρωση υπολειμμάτων σε mg/Kg λίπους

Ουσία	1993	1994	1995
HCB	0,03	0,10	0,09
HCH	0,11	0,11	0,10
DDE	0,14	0,25	0,10
TDE	0,17	0,16	0,08
DDT	0,04	0,05	0
Dieldrin	0,09	0,07	0,09
Heptachlor epoxide	0,02	0,20	0,09

Τα επίπεδα του HCH και του DDE της έρευνας είναι ψηλότερα των αντίστοιχων που είχαν βρεθεί σε μια έρευνα που είχε πραγματοποιηθεί τη περίοδο 1984-1987 , καθώς σύμφωνα με τους συγγραφείς οι τοπικές βιομηχανίες μετακινήθηκαν προς την ενδοχώρα όπου η χρήση των ουσιών αυτών άργησε να απαγορευθεί.

Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε στο Μεξικό απ' τους Waliszewski et.al (1997), ελέγχθηκαν δείγματα αγελαδινού γάλακτος και βουτύρου για υπολείμματα οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων ενώ σε έρευνα των Albert et.al (1990) σε δείγματα τυριών από τρεις περιοχές του Μεξικού.

Στην πρώτη έρευνα εξετάστηκαν 355 δείγματα γάλακτος και 448 δείγματα βουτύρου και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στους πίνακες 4.9 και 4.10. Το HCB είναι παραπροϊόν ορισμένων βιομηχανικών επεξεργασιών χλωρίωσης και έτσι η παρουσία του μπορεί να οφείλεται και σε βιομηχανική μόλυνση και όχι μόνο στη κατανάλωση μολυσμένης τροφής. Στο γάλα παρουσιάζονται ψηλότερα επίπεδα ΣDDT σε σχέση με το βούτυρο λόγω θεραπείας της ελονοσίας που σύμφωνα με τους συγγραφείς πραγματοποιούνταν όταν ελήφθησαν τα δείγματα.

Πιν.4.9 Αποτελέσματα ανάλυσης δειγμάτων γάλακτος στο Μεξικό (η=355)

Φυτοφάρμακο	Συχνότητα ανίχνευσης(%)	Εύρος ανιχνευόμενης συγκέντρωσης σε mg/Kg λίπους (μέση τιμή)
HCB	84,3	0,006-0,019(0,014)
α-HCH	92,0	0,011-0,020(0,015)
β-HCH	63,3	0,018-0,104(0,049)
γ-HCH	80,0	0,014-0,052(0,030)
Aldrin	-	-
Heptachlor	-	-
Hept.Epoxyde	5,0	0,000-0,002(0,001)
p,p'-DDE	98,7	0,018-0,060(0,044)
p,p'-DDT	60,0	0,014-0,044(0,032)
p,p'-DDD	13,7	0,000-0,014(0,004)
p,p'-DDT	83,7	0,036-0,141(0,087)
ΣDDT	-	0,068-0,224(0,159)
α-Endosulfan	30,0	0,006-0,010(0,008)
β-Endosulfan	20,3	0,004-0,007(0,005)
Endosulfansulfate	-	-

Στην έρευνα των Albert et.al οι περιοχές στις οποίες έγινε η δειγματοληψία, (Comarca Lagunera και Soconusco) οι αγελάδες έβοσκαν σε περιοχές οι οποίες είχαν χρησιμοποιηθεί για την καλλιέργεια βαμβακιού και είχε γίνει ευρεία χρήση

Πιν.4.10 Αποτελέσματα ανάλυσης δειγμάτων βουτύρου στο Μεξικό (η=448)

Φυτοφάρμακο	Συχνότητα ανίχνευσης (%)	Εύρος ανιχνευόμενης συγκέντρωσης σε mg/Kg λίπους (μέση τιμή)
HCB	86,5	0,007-0,024(0,016)
α-HCH	77,5	0,007-0,026(0,017)
β-HCH	56,0	0,060-0,096(0,078)
γ-HCH	93,0	0,022-0,044(0,033)
Aldrin	-	.
Heptachlor	-	-
Hept. epoxide	31,5	0,022-0,048(0,035)
p,p'-DDE	85,5	0,031-0,035(0,033)
p,p'-DDT	17,5	0,002-0,018(0,010)
p,p'-DDD	-	-
p,p'-DDT	53,0	0,010-0,051(0,031)
ΣDDT	-	0,038-0,060(0,049)
α-Endosulfane	12,5	0,000-0,030(0,015)
β-Endosulfane	7,0	0,000-0,005(0,003)
Endosulfahesulfate	10,0	0,007-0,026(0,017)

οργανοχλωριωμένων εντομοκτόνων ενώ στη τρίτη περιοχή ,τη πόλη Ahome, δεν είχε γίνει ευρεία χρήση. Βρέθηκαν υπολείμματα δέκα ουσιών και συγκεκριμένα των ουσιών :α-BHC, β-BHC, γ-BHC, HCB, heptachlor, heptachlor epoxide, aldrin, dieldrin, endrin, p,p'-DDE, p,p'-DDD και p,p'-DDT.Στη περιοχή Comarca Lagunera που η χρήση τους διακόπηκε νωρίτερα βρέθηκαν μεγαλύτερες ποσότητες κάποιων μεταβολιτών ή πιο σταθερών ουσιών (β-BHC ,p,p'-DDE) ενώ στην περιοχή Soconusco βρέθηκαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις μητρικών ενώσεων ή λιγότερο επίμονων ουσιών (γ-BHC , p,p'-DDT). Στη πόλη Ahoma βρέθηκαν υπολείμματα μόνο των ουσιών dieldrin και p,p'-DDE.

Στην Αργεντινή πραγματοποιήθηκε έρευνα για τον έλεγχο υπολειμμάτων οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων σε δείγματα παστεριωμένου γάλακτος και βουτύρου, από τους Lenardon et.al (1994) και Maitre et.al (1994) αντίστοιχα, στις

αρχές της δεκαετίας του '90.

Στην πρώτη έρευνα ελέγχθηκαν 150 δείγματα βουτύρου από τις πόλεις Santa Fe και Rosario ,για μια χρονική περίοδο 18 μηνών. Όλα τα δείγματα ήταν μολυσμένα με κάποιο απ' τα HCH (α- και γ-), heptachlor, heptachlor epoxide, aldrin, dieldrin, p,p'-DDE, p,p'-DDT, p,p' DDT. Από 146 δείγματα το 23% περιείχε τουλάχιστον πέντε ουσίες ,το 20% περιείχε τέσσερις και το 2% υπολείμματα οκτώ ουσιών. Το εύρος των συγκεντρώσεων επί λιπαρής βάσης , για μερικές από αυτές τις ουσίες ήταν : για το α-HCH από 0,003-0,4173 ppm, για το γ-HCH (lindane) 0,0002-0,1880 ppm, για το heptachlor epoxide 0,0004-0,2350 ppm, για το dieldrin 0,014-0,940 ppm και για το DDT 0,0204-2,1230 ppm. Τα aldrin και DDT έχουν απαγορευθεί ενώ τα heptachlor, dieldrin και γ-HCH χρησιμοποιούνται, σε άλλες όμως εφαρμογές. Σε τέσσερα δείγματα η συγκέντρωση του α-HCH υπερβαίνει τα όρια του FAO/WHO ενώ το ίδιο συμβαίνει σε 17 δείγματα με το heptachlor ,σε 10 δείγματα με το dieldrin και σε 2 με το DDT.

Στην έρευνα των Maitre et.al. ελέγχθηκαν 120 δείγματα παστεριωμένου γάλακτος απ' την αγορά της περιοχής Santa Fe ,η οποία είναι από τις σημαντικότερες στην παραγωγή γάλακτος. Ανιχνεύθηκαν υπολείμματα των ουσιών α-HCH, γ-HCH, HCB, heptachlor, heptachlor epoxide, aldrin, dieldrin, α-chlordane, γ-chlordane, α-endosulfan, β-endosulfan, DDT και ισομερή του ή μεταβολίτες του. Με μεγαλύτερη συχνότητα ανιχνεύονται το heptachlor και το υποξείδιό του (98%) ,τα α-και γ-HCH (88%,84%) ,το chlordane (77%) και με μικρότερη συχνότητα τα HCB (17%) ,endosulfan (41%) ,DDT(49%). Μεγαλύτερη μέση συγκέντρωση παρουσιάζουν τα DDT (0,990 mg/Kg λίπους),heptachlor και heptachlor epoxide (0,0549 mg/Kg), γ-HCH (0,0421 mg/Kg) και μικρότερη μέση συγκέντρωση το HCB (0,0068 mg/Kg) και το α-HCH (0,0085mg/Kg). Παρ' όλο που κάποιες ουσίες (heptachlor epoxide, aldrin+dieldrin, endosulfan I,II) βρίσκονται σε κάποια δείγματα σε επίπεδα άνω των ορίων ,οι μέσες συγκεντρώσεις είναι κάτω των ορίων ανώτατης συγκέντρωσης των FAO/WHO.

Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε στην Δανία (Juhler et.al1999) τη περίοδο 1995-1999 σε τρόφιμα για την ανίχνευση υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων, ελέγχθηκαν και δείγματα τυριών και βουτύρου ντόπιων αλλά και εισαγωγής για παρουσία οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων. Έγινε έλεγχος για τις ουσίες α-HCH, β-HCH, γ-HCH (lindane), dieldrin, aldrin, heptachlor epoxide, p,p'-DDD, p,p'-DDE, p,p'-DDT. Στα δείγματα από ντόπια προϊόντα βουτύρου (n=99) ανιχνεύθηκαν οι ουσίες ΣDDT (77,78%) ,α-HCH (1,01%) ,dieldrin (1,01%) HCB (75,75%) σε ποσότητες μικρότερες του 10 μg/Kg λίπους και κάτω των ανώτατων επιτρεπομένων ορίων. Παρόμοια ήταν τα αποτελέσματα και για τα δείγματα των εισαγόμενων προϊόντων βουτύρου.

Στα δείγματα των τυριών ανιχνεύθηκαν τα φυτοφάρμακα ΣDDT, α-HCH, γ-HCH, HCB, σε συγκεντρώσεις από 3μg/Kg λίπους (α-HCH) μέχρι 11μg/Kg λίπους (DDT).Στα δείγματα των εισαγόμενων τυριών ανιχνεύθηκαν επιπλέον τα β-HCH και dieldrin ενώ οι συγκεντρώσεις των ουσιών ήταν από 3μg/Kg (α-HCH) μέχρι 210 μg/Kg λίπους(DDT).Πάντως τόσο στα εισαγόμενα όσο και στα ντόπια τυριά οι συγκεντρώσεις δεν υπέρβαιναν τα ανώτατα όρια που έχουν θεσπιστεί απ' την Ε. Ε.

Σε σχετικές έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί στην Αυστραλία και στην Ν. Ζηλανδία (Kannan et.al. 1997), ανιχνεύονται σε μεγαλύτερη συχνότητα οι ουσίες DDT, HCH, HCB, heptachlor, heptachlor epoxide, aldrin και dieldrin, chlordane (το τελευταίο αποτελεί το πιο γνωστό εντομοκτόνο που ανιχνεύεται στις χώρες του Ν. Ειρηνικού). Όπως αναφέρεται τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα χρησιμοποιούνταν μέχρι τα μέσα της δεκαετίας του '80. Οι μέσες συγκεντρώσεις του DDT, το οποίο είναι η πιο κοινή οργανοχλωριωμένη ουσία που ανιχνεύεται στα γαλακτοκομικά, είναι 5,9 ppb (επί συνολικού βάρους), με εύρος 1,6-18ppb, του chlordane 1,4ppb με εύρος 0,31-50ppb, του HCH 6ppb με εύρος 0,11-32 ppb και του dieldrin 13ppb με εύρος 1,4-26 ppb.

Ενδιαφέρον παρουσιάζουν έρευνες σε χώρες όπου τα οργανοχλωριωμένα χρησιμοποιούνται ακόμα όπως είναι η Ινδία (Singh and Chawla 1988). Έτσι σε έρευνες που πραγματοποιήθηκαν (Mukherjee and Gopal 1993), (Kaphalia et.al. 1990) για τον έλεγχο υπολειμμάτων των ουσιών HCH και DDT σε δείγματα γάλακτος, συμπυκνωμένου γάλακτος, κρέμας γάλακτος και βουτύρου παρουσιάστηκαν τα παρακάτω αποτελέσματα.

Στην πρώτη έρευνα όλα τα δείγματα γάλακτος (n=15) που ελέγχθηκαν περιείχαν υπολείμματα των ουσιών HCH και DDT. Το συνολικό HCH βρέθηκε σε συγκεντρώσεις από 0,058 μέχρι 0,166 μg/gr λίπους, ενώ τα υπολείμματα του DDT σε συγκεντρώσεις από 0,104 μέχρι 0,220 μg/gr λίπους. Τα διάφορα ισομερή ανιχνεύονται σε διάφορες συγκεντρώσεις ανάλογα με τη περιοχή δειγματοληψίας. Έτσι το α-HCH ανιχνεύεται σε συγκεντρώσεις από 0,003 μg/gr μέχρι 0,128 μg/gr λίπους, με μέση συγκέντρωση 0,069 μg/gr λίπους, ενώ σε άλλη περιοχή από 0,034 μg/gr μέχρι 0,051 μg/gr λίπους, με μέση συγκέντρωση 0,042 μg/gr λίπους. Το p,p'-DDT ανιχνεύθηκε σε συγκεντρώσεις από 0,016 μg/gr μέχρι 0,098 μg/gr λίπους, με μέση συγκέντρωση 0,058 μg/gr λίπους στη μία περιοχή και από 0,075 μg/gr μέχρι 0,231 μg/gr λίπους, με μέση συγκέντρωση 0,134 μg/gr λίπους σε άλλη περιοχή. Στο τυρί το συνολικό HCH βρέθηκε σε συγκέντρωση 0,110 μg/gr λίπους και το συνολικό DDT σε συγκέντρωση 0,345 μg/gr λίπους. Στη κρέμα οι αντίστοιχες τιμές ήταν 0,132 μg/gr λίπους και 0,382 μg/gr λίπους ενώ στο συμπυκνωμένο γάλα 0,084 μg/gr λίπους και 0,188 μg/gr λίπους αντίστοιχα. Το DDT ξεπερνούσε το όριο σε όλα τα δείγματα ενώ σε κάποια δείγματα (n=4) και το α-HCH ήταν άνω των ορίων.

Στην δεύτερη έρευνα ελέγχθηκαν 30 δείγματα γάλακτος και 8 δείγματα βουτύρου από ένα σύνολο 244 δειγμάτων από διάφορα είδη διατροφής όπως σιτηρά, φρούτα λίπη-έλαια. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 4.11.

Πιν.4.11 Μέση και ανώτατη συγκέντρωση οργανοχλωριωμένων ουσιών σε δείγματα γάλακτος και βουτύρου στην Ινδία (επί λιπαρής βάσης)

Ουσία	Δείγματα γάλακτος (n=30)		Δείγματα βουτύρου(n=8)	
	Μέση συγκ.(ppm)	Ανώτατη συγκ.(ppm)	Μέση συγκ.(ppm)	Ανώτατη συγκ.(ppm)
a-HCH	0,071	0,135	0,667	2,103
β-HCH	0,017	0,144	0,133	0,393
γ-HCH	0,068	0,096	0,390	1,431
ΣΗCH	0,156	0,339	1,190	3,817
p,p'-DDE	0,014	0,076	1,866	4,762
p,p'-DDD	0,037	0,098	1 ,356	4,250
p,p'-DDT	-	-	-	-
p,p'-DDT	0,002	0,028	1,268	3,385
ΣDDT	0,058	0,216	4,851	9,771

Οι ουσίες αυτές ανιχνεύθηκαν σε όλα τα δείγματα εκτός από το β-HCH το οποίο δεν ανιχνεύθηκε σε 14 δείγματα γάλακτος ,το p,p'-DDD που δεν ανιχνεύθηκε σε 4 δείγματα γάλακτος και το p,pp'-DDT το οποίο δεν ανιχνεύθηκε σε 24 δείγματα γάλακτος και 2 δείγματα βουτύρου.

Σε παρόμοια έρευνα των Doghein et al (1988) ελέγχθηκαν δείγματα βουβαλίσσιου νωπού γάλακτος από περιοχές της Αιγύπτου. Ελέγχθηκαν για παρουσία των ουσιών HCH και ισομερών του DDT και μεταβολιτών του heptachlor, heptachlor epoxide, aldrin, dieldrin, HCB, oxychlordane. Σε όλα τα δείγματα ανιχνεύθηκαν υπολείμματα ενός ή περισσότερων φυτοφαρμάκων με το εξαχλωροκυκλοεξάνιο και τα ισομερή του να ανιχνεύονται συχνότερα. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα 4.12

Πιν.4.12 Συχνότητα (f) ανίχνευσης και μέση συγκέντρωση υπολειμμάτων οργανοχλωριωμένων σε δείγματα βουβαλίσιου γάλακτος στην Αίγυπτο. (n=7)

Ουσία	f	Μέση συγκ.* (max. συγκ.)	Ουσία	f	Μέση συγκ.* (max.συγκ.)
α-HCH	2	0,454(0,592)	heptachlor	1	0,063(0,063)
β-HCH	4	6,444(12,509)	h.epoxide	2	0,201(0,311)
γ-HCH	2	3,805(6,675)	Σ-heptac.	3	0,155(0,311)
ΣHCH	4	8,574(13,627)	aldrin	2	0,017(0,018)
p,p'-DDT	1	2,240(2,240)	dieldrin	3	0,510(0,971)
p,p'-DDT	1	2,031(2,031)	aldr.+diel.	3	0,521(0,971)
p,p'-DDE	2	1,124(1,298)	HCB	1	0,423(0,423)
p,p'-DDD	1	0,286(0,286)	oxychlordane	0	-
ΣDDT	2	3,403(5,855)			

*Οι συγκεντρώσεις αναφέρονται σε mg/Kg λίπους.

Οι υψηλές συγκεντρώσεις των δειγμάτων ,αν και ο αριθμός των δειγμάτων είναι μικρός, πιθανόν να οφείλονται εκτός απ' την εκτεταμένη χρήση των ουσιών αυτών, και στη μεγάλη λιποπεριεκτικότητα του βουβαλίσιου γάλακτος σε σχέση με τα άλλα είδη γάλακτος (6,0% ελάχιστη λιποπεριεκτικότητα έναντι 3,5% του αγελαδινού(28,29) καθώς και στη μεγαλύτερη ικανότητα του να συγκρατεί και να αποθηκεύει τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα (Dogheim et.al 1988).

Όπως φαίνεται οι ουσίες που ανιχνεύονται συχνότερα στα γαλακτοκομικά προϊόντα είναι τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα **heptachlor, heptachlor epoxide, aldrin, dieldrin, chlordane, endosulfan, HCH** και τα **ισομερή** του, **DDT** και οι **μεταβολίτες** του ή **ισομερή** του, **HCB**. Είναι πολύ σημαντικό ότι η συγκεντρώσεις που ανιχνεύονται μειώνονται αλλά όμως η λιποδιαλυτότητα και η σταθερή παρουσία τους στα τρόφιμα δεν επιτρέπει τον εφησυχασμό των επιστημόνων αλλά και των καταναλωτών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΥΓΕΙΑΣ - ΝΟΜΟΘΕΤΙΚΕΣ ΡΥΘΜΙΣΕΙΣ

5.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Όπως φαίνεται από το προηγούμενο κεφάλαιο στο γάλα και στα γαλακτοκομικά προϊόντα ανιχνεύεται ένας αριθμός υπολειμμάτων οργανοχλωριω-μένων κυρίως φυτοφαρμάκων, των οποίων η συγκέντρωση ποικίλει από λίγα ppb στις ανεπτυγμένες χώρες μέχρι αρκετά ppm στις αναπτυσσόμενες χώρες, στις οποίες χρησιμοποιούνται ακόμα. Σαν αποτέλεσμα το γάλα και τα υπόλοιπα προϊόντα αποτελούν πηγή επιμόλυνσης με υπολείμματα φυτοφαρμάκων, γεγονός που προκαλεί ανησυχία καθώς έχουν κεντρικό ρόλο στην ανθρώπινη διατροφή.

Η ανησυχία αυτή ενισχύεται από τις ενδείξεις που υπάρχουν και οι οποίες συνδέουν την παρουσία οργανοχλωριωμένων και άλλων φυτοφαρμάκων με σημαντικές παθήσεις όπως καρκίνος, λευχαιμία, νευρολογικές, ορμονικές και ενδοκρινολογικές διαταραχές, μεταλλάξεις και άλλες ανωμαλίες στο γενετικό υλικό.

Όλα αυτά οδήγησαν τους επιστήμονες και τα κράτη στη λήψη μέτρων ώστε να διασφαλιστεί η υγεία και η ποιότητα ζωής των ανθρώπων. Έτσι μέσα από ελέγχους για την παρακολούθηση του βαθμού επιμόλυνσης όπως αναφέρθηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο και ειδικές νομοθετικές ρυθμίσεις που αφορούν τον έλεγχο και την αποδοχή των τροφίμων γίνεται προσπάθεια για την προστασία του καταναλωτή.

6.2 ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ ΚΑΙ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΥΓΕΙΑΣ

Είναι γνωστό ότι οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα όπως το aldrin, το dieldrin, το chlordane και το heptachlor, τα οποία συγκεντρώνονται στον λιπώδη ιστό ζώων και ανθρώπων, προκαλούν καρκίνο του μαστού στα ποντίκια. Το γεγονός αυτό οδηγεί σε σκέψεις για το ρόλο των ουσιών αυτών στην ανάπτυξη καρκίνου του μαστού στον άνθρωπο, καθώς οι περιοχές του σώματος που αναπτύσσεται καρκίνος στα πειραματόζωα είναι γενικά παρόμοιες μ' αυτές του ανθρώπου (Epstein 1994).

Το DDT και οι μεταβολίτες του έχουν επανειλημμένα αποδειχθεί καρκινογόνες ουσίες, σε πειράματα ήδη απ' το 1947 (Westin 1993). Αρκετές έρευνες αναφέρουν ότι οι ουσίες αυτές είναι δυνατόν να προκαλέσουν καρκίνο στο συκώτι, στον πνεύμονα και σε άλλα όργανα, να ευθύνονται για λευχαιμία, λεμφώματα και αδενώματα στο πνεύμονα, σε αρουραίους και σε ποντικούς με δόσεις στη διατροφή τους μέχρι 2 ppm

το ελάχιστο. Επίσης έρευνες δείχνουν το DDT να έχει μεταλλαξιογόνες ιδιότητες, ενώ είναι γνωστό ότι έχει οιστρογονικές επιδράσεις αν και δεν έχουν διευκρινιστεί οι οιστρογονικές επιπτώσεις του DDT, αλλά και άλλων οργανοχλωριωμένων, όπως τα p,p'-DDE, α-HCH, δ-HCH, τα οποία έχουν ανταγωνιστική, συναγωνιστική ή ενδιάμεση συμπεριφορά ενάντια στους ορμονικούς υποδοχείς και χαρακτηρίζονται σαν ορμονικοί διαταράκτες, ενώ για τις ουσίες γ-HCH, oxychlordan, mirex δεν αποδείχθηκε κάτι ανάλογο (Schrader and Cooke 2000). Φαίνεται πάντως πως τα οργανοχλωριωμένα υπολείμματα έχουν μικρή συνεισφορά στη λήψη οιστρογόνων σε σχέση με ουσίες που υπάρχουν φυσιολογικά στα τρόφιμα (Caido et.al.1998), (Safe and Zacharewski 1997).

Επίσης το lindane (γ-HCH) και το α-BHC το οποίο είναι ένας επιμολυντής που υπάρχει στο BHC, έχουν δείχθει ότι είναι καρκινογόνα ήδη απ' το 1950. Το α-BHC έχει αποδειχθεί καρκινογόνο σε δόσεις στη διατροφή μέχρι 10 ppm τουλάχιστον, προκαλώντας σημαντική αύξηση στα καρκινώματα στο συκώτι ποντικών και στο συκώτι και στο θυροειδή αρουραίων καθώς επίσης και λεμφωσαρκώματα. Το lindane σε δόσεις μέχρι 80 ppm, έχει σαν αποτέλεσμα σημαντική αύξηση των καρκινωμάτων στο συκώτι, λεμφωσαρκώματα στο σπλήνα και ατροφία των γεννητικών οργάνων στα ποντίκια, καθώς και αυξημένα ποσοστά λευχαιμίας. Σε αρουραίους έχει φανεί ότι προκαλεί αύξηση στο ρυθμό ανάπτυξης αδενωμάτων ή/και καρκινωμάτων στο θυροειδή, στην υπόφυση, στα επινεφρίδια, στις ωοθήκες και στο συκώτι, λεμφωσαρκώματα στο πνεύμονα, ατροφία στα γεννητικά όργανα και χρόνιες νεφροπάθειες. Επίσης το lindane φαίνεται πως μεταβολίζεται σε 2,4,6-τριχλωροφαινόλη και σε 2,3,4,6-τετραχλωροφαινόλη, τα οποία είναι πιθανά καρκινογόνα. Το lindane όμως, συνδέεται σε έρευνες και με μεταλλαξιογόνο δράση. Επίσης το BHC φαίνεται να ευθύνεται για την ανάπτυξη συμπτωμάτων πορφύρας σε ανθρώπους (Burton and Bennett 1987).

Σε έρευνες που έχουν γίνει το BHC και το Lindane έχουν ενοχοποιηθεί για περιπτώσεις αναιμίας και λευχαιμίας σε ανθρώπους (Westin 1993).

Τα οργανοχλωριωμένα έχουν βρεθεί σε σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις σε γυναίκες με καρκίνο του μαστού, σε σύγκριση με γυναίκες οι οποίες δεν υποφέρουν από κακοήγεις όγκους (Falk et.al.1992), (Wolff et.al. 1993).

Άλλες έρευνες δείχνουν ότι τα φυτοφάρμακα όπως το BHC ή το DDT επηρεάζουν τη λειτουργία ενζύμων με αποτέλεσμα να έχουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη καρκίνου του μαστού (Westin 1993). Το BHC φαίνεται να είναι υπεύθυνο και για δημιουργία όγκων στο συκώτι ποντικών σε επίπεδο δοσολογίας 660 ppm, όμως σε ποσότητες 66 ppm ή λιγότερο δεν αναφέρθηκαν αλλαγές στο συκώτι των ποντικών.

Υποψίες για καρκινογόνες ιδιότητες έχουν δημιουργηθεί και για άλλες ουσίες. Έτσι το chlordan και το heptachlor παρήγαγαν όγκους στο συκώτι ποντικών, ενώ παιδιά με νευροβλάστωμα είχαν εκτεθεί πριν ή μετά τη γέννηση τους στο chlordan, ενώ σε τρία άτομα με λευχαιμία βρέθηκε ότι είχαν εκτεθεί στην ίδια ουσία. Παρόμοια αποτελέσματα βρέθηκαν και για το DDT και το aldrin (Report of an IARC Working Group 1980).

Υψηλές συγκεντρώσεις HCH ανιχνεύθηκαν σε ασθενείς με καρκίνο του ήπατος

ιδιαίτερα του β-HCH, ενώ είναι ύποπτο και για ανάπτυξη καρκίνου του μαστού (Mussalo-Ranhamna et.al. 1990), ενώ υψηλότερες συγκεντρώσεις οργανοχλωριωμένων υπολειμμάτων στον ορό του αίματος ανιχνεύθηκαν σε ασθενείς με καρκίνο στο παχύ έντερο σε σχέση με υγιείς ανθρώπους (Soliman et.al. 1997). Μεγαλύτερες συγκεντρώσεις οργανοχλωριωμένων αναφέρονται και σε ασθενείς που πάσχουν από Non Hodgkins λέμφωμα (NHL), αλλά οι ποσότητες έκθεσης αφορούν εργαζόμενους με τις ουσίες αυτές και όχι καταναλωτές (Hoffmann 1996).

Οι δόσεις στις οποίες παρουσιάζονται προβλήματα υγείας στα πειραματόζωα είναι αρκετά μεγαλύτερες από τις ποσότητες των υπολειμμάτων που ανιχνεύονται στα γαλακτοκομικά προϊόντα (McEwen and McNab 1997). Επίσης όπως αναφέρθηκε στις προηγούμενες έρευνες οι ποσότητες των υπολειμμάτων στις ανεπτυγμένες χώρες καλύπτουν ένα μικρό ποσοστό των αποδεκτών ημερήσιων δόσεων αν και στις αναπτυσσόμενες χώρες οι ποσότητες αυτές είναι πολύ μεγαλύτερες.

Όπως αναφέρει ο Ames, η μόλυνση φαίνεται να ευθύνεται για λιγότερο από το 1% του ανθρώπινου καρκίνου ενώ ανθρώπινες συνήθειες όπως το κάπνισμα ή ακόμα περισσότερο η κακή διατροφή παίζουν σημαντικότερο ρόλο στα προβλήματα υγείας (Rittel 1997).

Επίσης τα πειράματα με πειραματόζωα δεν είναι αρκετά ώστε να καταλήξουν οι επιστήμονες σε οριστικά αποτελέσματα σχετικά με την χρόνια τοξικότητα των υπολειμμάτων στον άνθρωπο, παρά μόνο για την σύγκριση της επικινδυνότητας των ουσιών και την προσεκτική χρήση τους (Ames 1989). Επίσης πολλές ουσίες που αποδεικνύονται καρκινογόνες στα ποντίκια υπάρχουν φυσικώς στα τρόφιμα και φαίνεται πως ο ανθρώπινος οργανισμός διαθέτει ένα ενζυμικό μηχανισμό άμυνας εναντίον κάποιων φυσικών και τεχνητών χημικών ουσιών (Ames and Gold 1998).

5.3 ΝΟΜΟΘΕΤΙΚΕΣ ΡΥΘΜΙΣΕΙΣ

Όπως είναι φανερό από τις προηγούμενες έρευνες, τα γαλακτοκομικά προϊόντα και τα τρόφιμα γενικότερα περιέχουν υπολείμματα φυτοφαρμάκων σε διάφορες συγκεντρώσεις, τα οποία είναι ύποπτα για ανάπτυξη σοβαρών παθήσεων όπως είναι ο καρκίνος και η λευχαιμία. Επίσης είναι αποδεκτό ότι η διατροφή αποτελεί τη σημαντικότερη πηγή χρόνιας έκθεσης στα φυτοφάρμακα ενώ και η ανησυχία των καταναλωτών για θέματα υγιεινής διατροφής και ασφαλών τροφίμων αυξάνεται.

Λόγω των επιπτώσεων (υγειονομικές, οικονομικές, πολιτικές) που έχει το θέμα των υπολειμμάτων, τα κράτη ή διεθνείς οργανισμοί προβαίνουν σε νομοθετικές ρυθμίσεις για την προστασία των καταναλωτών. Έτσι έχουν προκύψει κανονισμοί και περιορισμοί, οι κυριότεροι των οποίων είναι (Λέντζα – Ρίζου 1994):

- η Δόση Χωρίς Παρατηρήσιμη Αρνητική Επίπτωση (No Observable Adverse Effect Level, NOAEL).

- η Αποδεκτή Ημερήσια Λήψη για τον άνθρωπο (Acceptable Daily Intake for man, ADI).

- τα Ανώτατα Όρια Υπολειμμάτων ή Μέγιστη Επιτρεπτή Περιεκτικότητα προϊόντων φυτοπροστασίας στα διάφορα προϊόντα (Maximum Residue Levels, MRLs).

5.3.1 ΔΟΣΗ ΧΩΡΙΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΙΜΗ ΑΡΝΗΤΙΚΗ ΕΠΙΠΤΩΣΗ (NOAEL)

Είναι το πρώτο βήμα για την προστασία του καταναλωτή και βασίζεται στην αθροιστική δράση των τοξικών ουσιών και απορρέει από μελέτες χρόνιας τοξικότητας σε πειραματόζωα. Σαν πειραματόζωα χρησιμοποιούνται κυρίως ποντίκια, τα οποία προσομοιάζουν με τον ανθρώπινο οργανισμό και έχουν μικρό βιολογικό κύκλο, αλλά μπορεί να χρησιμοποιηθούν και άλλα ζώα όπως πίθηκοι και σκύλοι. Στο σιτηρέσιό τους προστίθενται καθημερινά γνωστές ποσότητες από το υπό μελέτη τοξικό. Με σφαγιασμό των ζώων και παρατήρηση των οργάνων τους βρίσκεται η δόση που δεν προκαλεί καμία αρνητική επίπτωση. Επίσης Ν.Ο.Α.Ε.Λ. προσδιορίζονται για ουσίες που το κύριο τοξικολογικό τους χαρακτηριστικό δεν είναι η χρόνια δράση, αλλά η νευροτοξικότητα (οξεία ή χρόνια), η αναπαραγωγική τοξικότητα ή η τερατογένεση (Λέντζα – Ρίζου 1994).

5.3.2 ΑΠΟΔΕΚΤΗ ΗΜΕΡΗΣΙΑ ΔΟΣΗ (A.D.I.)

Η Αποδεκτή Ημερήσια Δόση μιας χημικής ουσίας είναι η ημερήσια δόση, η οποία εάν λαμβάνεται εφ' όρου ζωής, δεν φαίνεται να δημιουργεί κινδύνους για την υγεία του καταναλωτή, με βάση τα γνωστά δεδομένα κατά την στιγμή της εκτίμησης της χημικής ουσίας (FAO/WHO 1993).

Η Η.Α.Δ. προκύπτει από επέκταση του Ν.Ο.Α.Ε.Λ. με χρήση ενός συντελεστή ασφαλείας ο οποίος κυμαίνεται από 100 μέχρι 500 ή και 1000, ανάλογα με την ευρύτητα των τοξικολογικών πειραμάτων, τη διάρκεια των δεδομένων, τη σοβαρότητα των συμπτωμάτων. Εκφράζεται σε mg τοξικού / Kg ζώντος βάρους / ημέρα (Λέντζα – Ρίζου 1994).

5.3.3 ΑΝΩΤΑΤΑ ΟΡΙΑ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ (MRLs)

Σύμφωνα με τον Codex Alimentarius είναι η μέγιστη συγκέντρωση των υπολειμμάτων, σε mg/Kg, η οποία επιτρέπεται στα τρόφιμα και στις ζωοτροφές. Βασίζεται στην Α.Η.Δ. και στη Ορθή Γεωργική Πρακτική (Good Agricultural Practice, G.A.P.). Έτσι τα τρόφιμα που παράγονται από προϊόντα που συμμορφώνονται με τα αντίστοιχα MRLs θεωρούνται τοξικολογικά ασφαλή (FAO/WHO 1993), (Λέντζα – Ρίζου 1994).

Κάθε χώρα θεσπίζει MRLs με βάση δικά της κριτήρια και μεθοδολογία με αποτέλεσμα να υπάρχουν διαφορές από χώρα σε χώρα, ενώ πρόβλημα προκύπτει στις συναλλαγές μεταξύ των κρατών εξαιτίας του μη καθορισμού MRLs από χώρες για προϊόντα τα οποία δεν παράγονται στις χώρες αυτές.

Για το λόγο αυτό οι οργανισμοί όπως FAO και WHO συνέστησαν ειδική επιτροπή, το Codex Committee for Pesticide Residues (C.C.P.R.) και σώμα ειδικών

επιστημόνων, το Joint Meeting for Pesticide Residues (J.M.P.R.), τα οποία επεξεργάζονται όρια υπολειμμάτων τέτοια που να καλύπτουν τις ανάγκες φυτοπροστασίας σε παγκόσμιο επίπεδο και τα προτείνουν για αποδοχή στα κράτη - μέλη. Αυτό όμως κάνει τα όρια αυτά λιγότερο ακριβή και λεπτομερή, με αποτέλεσμα πολλές χώρες να είναι επιφυλακτικές (Λέντζα – Ρίζου 1994).

Στην Ευρωπαϊκή Ένωση έχουν θεσπιστεί Ανώτατα Όρια Υπολειμμάτων για τα τρόφιμα ξεχωριστά για τα φυτικής προέλευσης, ξεχωριστά για τα ζωικής προέλευσης ξεχωριστά για τα θαλασσινά κτλ. Για τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης όπως είναι το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα, τα υπολείμματα μπορεί να προέρχονται είτε από χρήση φυτοφαρμάκων στις καλλιέργειες, που χρησιμοποιούνται για ζωοτροφές, είτε έχουν έγκριση για απ' ευθείας χρήση στα ζώα. Για τον καθορισμό των ορίων λαμβάνεται υπόψη στην πρώτη περίπτωση η συμμετοχή στο σιτηρέσιο των παραγωγικών ζώων των γεωργικών προϊόντων (ή υποπροϊόντων τους), στα οποία κάθε γεωργικό φάρμακο χρησιμοποιείται και το ύψος των υπολειμμάτων στις ζωοτροφές αυτές, έπειτα από τη συνιστώμενη εφαρμογή. Έτσι εκτιμάται η πιθανή μέγιστη ημερήσια λήψη. Απαιτούνται πειράματα διατροφικής λήψης με τη δόση αυτή, τα οποία θα οδηγήσουν στην ανώτατη συγκέντρωση στα ζωικά προϊόντα. Οι συγκεντρώσεις αυτές καθορίζονται σαν Ανώτατα Όρια Υπολειμμάτων, εάν κατά την εκτίμηση των κινδύνων διατροφικής λήψης για τον άνθρωπο,δειχθεί ότι είναι ασφαλείς (Λέντζα – Ρίζου 1994).

Σε περιπτώσεις όπου κάποια φυτοφάρμακα δεν είναι εγκεκριμένα ή για συνδυασμούς φυτοφαρμάκου-τροφίμου για τους οποίους δεν υπάρχει χρήση, τότε σαν Ανώτατη Επιτρεπόμενη Περιεκτικότητα θεωρείται το όριο αναλυτικού προσδιορισμού (limit of determination, LOD),το οποίο είναι η ελάχιστη συγκέντρωση που είναι δυνατόν να ανιχνευθεί και να προσδιορισθεί με τις υπάρχουσες μεθόδους.

Τα όρια αυτά θεσπίζονται κυρίως για φυτοφάρμακα που έχουν έγκριση σε συγκεκριμένες καλλιέργειες στη νομοθετούσα χώρα και δευτερεύοντος για τις οργανοχλωριωμένες ενώσεις, οι οποίες λόγω της εμμονής τους στο περιβάλλον είναι δυνατόν να ρυπαίνουν τα παραγόμενα τρόφιμα ακόμη και πολλά χρόνια μετά την απαγόρευση χρήσης τους (Λέντζα – Ρίζου 1994).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΟ ΓΑΛΑ ΚΑΙ ΣΤΑ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

6.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Όπως αναφέρθηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο τα κράτη και οι διεθνείς οργανισμοί μέσα από νομοθετικές ρυθμίσεις και περιορισμούς προσπαθούν ώστε να ελέγξουν τη παρουσία των υπολειμμάτων των φυτοφαρμάκων στα τρόφιμα και να διευκολύνουν τις εμπορικές συναλλαγές. Έτσι δείγματα τροφίμων ελέγχονται είτε από κρατικές υπηρεσίες είτε από άλλους επιστημονικούς φορείς για την διακρίβωση του είδους και της ποσότητας των περιεχομένων υπολειμμάτων ώστε να διαπιστωθεί εάν βρίσκονται εντός των νομοθετημένων ορίων αλλά και για να διαπιστωθεί ο βαθμός επιμόλυνσης των τροφίμων.

Όμως παρ' όλες τις προσπάθειες που γίνονται δεν είναι δυνατός ο πλήρης έλεγχος, λόγω του πλήθους των τροφίμων και των χρησιμοποιούμενων φυτοφαρμάκων. Επιπρόσθετα οι τεχνικές ανάλυσης έχουν αδυναμίες οι οποίες συμβάλουν στην αβεβαιότητα για την ύπαρξη ή μη κάποιας ουσίας ή ακόμα δεν μπορούν να ανιχνεύσουν μία ουσία. Οπότε γίνεται λόγος για μη ανιχνεύσιμα υπολείμματα και όχι για «μη ύπαρξη» υπολειμμάτων (Λέντζα – Ρίζου 1994).

6.2 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΜΕΘΟΔΩΝ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

Οι μέθοδοι οι οποίες χρησιμοποιούνται θα πρέπει να έχουν μεγάλη ευαισθησία, ακρίβεια, να έχουν λογικό κόστος και να μην απαιτούν μεγάλο χρονικό διάστημα, ενώ θα πρέπει να είναι δυνατή η εφαρμογή τους σε εργαστήρια με το συνηθισμένο εργαστηριακό εξοπλισμό. Επίσης θα πρέπει να μπορούν να εφαρμοστούν σε μεγάλο εύρος τροφίμων και για πολλές ουσίες.

Οι χρησιμοποιούμενες μέθοδοι είναι δύο κυρίως κατηγοριών :

- i) πολυυπολειμματικές μέθοδοι (multiresidue methods, MRMs)
- ii) εξειδικευμένες μέθοδοι (single-residue methods, SMRs)

ενώ υπάρχουν και οι ημιποσοτικές (semiquantitative) και οι ποιοτικές μέθοδοι (qualitative), οι οποίες δεν χρησιμοποιούνται για τρόφιμα πλέον ή έχουν μικρή εφαρμογή.

6.2.1 ΠΟΛΥΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ (MRMs)

Οι μέθοδοι αυτές ανιχνεύουν, ποσοτικά και ποιοτικά, έναν αριθμό φυτοφαρμάκων, καθώς και των τοξικολογικά σημαντικών μεταβολιτών τους,

ταυτόχρονα σε ένα ή περισσότερα είδη τροφίμων. Είναι ευαίσθητες, ακριβής και με ικανοποιητικό κόστος. Επίσης δίνουν τη δυνατότητα ανίχνευσης άγνωστων ουσιών οι οποίες αργότερα ταυτοποιούνται με άλλη μέθοδο ή συγκρίνονται με γνωστές ουσίες. Έχουν όμως την αδυναμία να μην ανιχνεύουν όλα τα φυτοφάρμακα για τα οποία έχουν θεσπιστεί ανώτατα όρια, ενώ κάποιες μέθοδοι απαιτούν χρόνο με αποτέλεσμα να μειώνεται ο αριθμός των δειγμάτων που μπορούν να ελεγχθούν, ιδιαίτερα σε τρόφιμα με μεγάλη λιποπεριεκτικότητα.

Μια πολυπολειμματική μέθοδος που χρησιμοποιείται ευρύτατα είναι η μέθοδος Mills, η οποία χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων οργανοχλωριωμένων και οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων στα γαλακτοκομικά προϊόντα από τον A.O.A.C.

6.2.2 ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ (SMRs)

Είναι μέθοδοι οι οποίες χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση μίας ουσίας, ή σε πολλές περιπτώσεις, μεταβολιτών τους ή προϊόντων διασπάσεως τους.

Είναι απαραίτητες για τον έλεγχο ουσιών οι οποίες δεν μπορούν να ανιχνευθούν απ' τις πολυπολειμματικές μεθόδους, αν και είναι λιγότερο αποτελεσματικές. Έχουν μεγαλύτερο κόστος καθώς ακόμα και για ουσίες της ίδιας κατηγορίας είναι δυνατόν να απαιτούνται διαφορετικά όργανα, αναλυτικές συσκευές και αντιδραστήρια. Συνήθως αναπτύσσονται από τις χημικές βιομηχανίες και από τους σχετικούς επιστήμονες και πολλές φορές προκύπτουν από ήδη υπάρχουσες με τροποποιήσεις σε ορισμένα στάδια.

6.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ

Τα φυτοφάρμακα περιέχονται στα γαλακτοκομικά και στα άλλα τρόφιμα σε μικρές συγκεντρώσεις, επιπέδου ppm, ppb ή και ppi. Το γεγονός αυτό, δημιουργεί δυσκολίες στην ανίχνευση τους λόγω και της παρουσίας πολυάριθμων άλλων χημικών ουσιών οι οποίες πιθανόν να παρεμβάλλονται στις μετρήσεις (F.D.A).

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται ακολουθούν τα παρακάτω βήματα για την ανάλυση των δειγμάτων :

- α) προετοιμασία του δείγματος
- β) εκχύλιση δείγματος
- γ) καθαρισμός δείγματος (clean up)
- δ) προσδιορισμός υπολειμμάτων (ποιοτικός και ποσοτικός)

Πριν όμως ξεκινήσει η διαδικασία ανάλυσης είναι ιδιαίτερα σημαντικό να γίνει σωστά η δειγματοληψία. Ο τρόπος δειγματοληψίας και χειρισμού του δείγματος καθώς και το μέγεθος του δείγματος είναι βασικοί παράγοντες για την αξιοπιστία των τελικών αποτελεσμάτων. Σύμφωνα με διεθνείς εκτιμήσεις η δειγματοληψία είναι υπεύθυνη για το 20-25% της παραλλακτικότητας των αποτελεσμάτων (31). Προκειμένου να διασφαλιστεί η σωστή δειγματοληψία και να μειωθεί η αβεβαιότητα του τελικού αποτελέσματος, έχουν δημοσιευθεί μέθοδοι

δειγματοληψίας απ' τους μεγάλους διεθνείς οργανισμούς όπως ο Α.Ο.Α.С, ο FAO/WHO, από την Ευρωπαϊκή Ένωση αλλά και κάθε κράτος στη σχετική με τα τρόφιμα νομοθεσία του αναφέρει μεθόδους δειγματοληψίας, οι οποίες μπορεί να είναι αυτές που προτείνουν οι διεθνείς οργανισμοί.

6.3.1 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Μετά την ολοκλήρωση της δειγματοληψίας, επιβάλλεται η προετοιμασία του δείγματος για ανάλυση. Το στάδιο αυτό απαιτεί ανάλογη φροντίδα, χρόνο και προσπάθεια με τα υπόλοιπα στάδια της ανάλυσης καθώς αν το δείγμα δεν προετοιμαστεί κατάλληλα ή αν τα συστατικά του ή οι επιμολυντές του, όπως τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων, μεταβληθούν, τα αποτελέσματα θα είναι ανακριβή, ανεξάρτητα από την ακρίβεια του εξοπλισμού και των μεθόδων που χρησιμοποιούνται στην ανάλυση.

Αφού απομακρυνθούν τυχόν ακαθαρσίες που μπορεί να υπάρχουν, ακολουθεί απομάκρυνση των μη εδώδιμων τμημάτων, το βήμα αυτό ακολουθείται σε μερικά τυριά και κυρίως σε άλλες κατηγορίες τροφίμων όπως τα φρούτα και τα λαχανικά. Στη συνέχεια το αρχικό δείγμα μειώνεται στο δείγμα ανάλυσης, έτσι π.χ. για τα τυριά η αρχική ποσότητα του 0,5Kg , το ελάχιστο, μειώνεται στα 20-25 gr ή για το γάλα τα 0,5Lt σε 50-100 ml (68 ,36,20).Για το σκοπό αυτό το αρχικό δείγμα ομογενοποιείται προκειμένου για γάλα ή τεμαχίζεται και αναμιγνύεται για δείγματα στερεών γαλακτοκομικών προϊόντων ενώ δείγματα βουτύρου θερμαίνονται. Στη συνέχεια επιλέγεται μία ποσότητα του αρχικού , ομογενοποιημένου δείγματος το οποίο θα χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση. Οι εργασίες αυτές διευκολύνουν επίσης το επόμενο στάδιο της εκχύλισης.

6.3.2 ΕΚΧΥΛΙΣΗ

Στο στάδιο αυτό γίνεται διαχωρισμός του λίπους των δειγμάτων και των υπολειμμάτων που είναι διαλυμένα στο λίπος καθώς όπως αναφέρθηκε τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα τα οποία είναι η βασικότερη ομάδα που επιμολύνει τα γαλακτοκομικά, είναι λιποδιαλυτά. Εκχύλιση όμως γίνεται για να διαχωριστούν απ' τα υπόλοιπα συστατικά του δείγματος φυτοφάρμακα τα οποία δεν είναι λιποδιαλυτά όπως τα οργανοφωσφορικά.

Το στάδιο αυτό περιορίζει τις ουσίες που μπορούν να ανιχνευθούν ταυτόχρονα σε ουσίες της ίδιας κατηγορίας φυτοφαρμάκων, γιατί η πολικότητα του χρησιμοποιούμενου διαλύτη μπορεί να μην είναι κατάλληλη για την ικανοποιητική εκχύλιση ουσιών και από άλλες κατηγορίες φυτοφαρμάκων που πιθανόν να βρίσκονται στο δείγμα (Bennett et.al 1997).

Η εκχύλιση γίνεται είτε με τη χρήση οργανικών διαλυτών (liquid extraction,LE) είτε με τη μέθοδο της εκχύλισης στερεάς φάσης (solid phase extraction,SPE) (Manes et.al.1993).Στην εκχύλιση με τη χρήση οργανικών διαλυτών, οι διαλύτες που χρησιμοποιούνται συνήθως είναι ακετόνη, ακετονιτρίλιο, πετρελαϊκός αιθέρας και n-

εξάνιο. Το δείγμα αναμιγνύεται μαζί με το διαλύτη σε συσκευή ανάμιξης ενώ για διευκόλυνση της εκχύλισης μπορεί να χρησιμοποιηθούν και συμπληρωματικές, βοηθητικές τεχνικές όπως η χρήση υπερήχων (Prapamontol and Stevenson 1991). Ενώ για την απομάκρυνση της υγρασίας και την αποφυγή σχηματισμού γαλακτώματος χρησιμοποιούνται υγροσκοπικά άλατα, κυρίως θειϊκό νάτριο. Εκτός απ' τον σχηματισμό γαλακτώματος ιδιαίτερη προσοχή χρειάζεται για την πλήρη ανάκτηση του λίπους και των υπολειμμάτων. Επίσης προβλήματα μπορεί να προκύψουν εάν ο διαλύτης που χρησιμοποιείται δημιουργεί σήμα στον ανιχνευτή του οργάνου ανίχνευσης. Οι διαλύτες που χρησιμοποιούνται πρέπει να είναι καθαρότητας «pesticide residue» ώστε να μην προκαλούνται προβλήματα στις μετρήσεις.

Σημαντική βοήθεια στην εκχύλιση, αλλά και στον καθαρισμό, προσφέρει η χρήση των υπερκρίσιμων ρευστών αν και δεν χρησιμοποιούνται ακόμα σε αναλύσεις ρουτίνας (Hopper 1999). Τα υπερκρίσιμα ρευστά αποτελούν μια ενδιάμεση κατάσταση μεταξύ υγρού και αερίου. Διαθέτουν μεγάλη διαλυτική ικανότητα, χαμηλό ιξώδες και μεγάλη διεισδυτική ικανότητα. Οι εκχυλίσσεις γίνονται σε σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες και οι διαλύτες απομακρύνονται εύκολα. Το CO₂, το αιθάνιο, ορισμένοι φθοριωμένοι υδρογονάνθρακες είναι παραδείγματα υπερκρίσιμων ρευστών. Οι χαμηλές θερμοκρασίες εμποδίζουν την θερμική αποδόμηση των φυτοφαρμάκων, ενώ η μεγάλη ικανότητα ανάκτησης των υπολειμμάτων ελαττώνει το χρόνο και τον όγκο του διαλύτη που χρειάζεται.

Η εκχύλιση στερεής φάσης έχει αρχίσει να χρησιμοποιείται ευρύτατα, καθώς επιτρέπει μείωση των απαιτούμενων χειρισμών, μείωση των ποσοτήτων των διαλυτών, μείωση του χρόνου εκχύλισης ενώ χρησιμοποιώντας στατική φάση δεκαοκτάνιο μπορεί να δώσει εκχυλίσματα τα οποία δεν χρειάζονται περαιτέρω καθαρισμό (Pico et.al. 1994). Η εφαρμογή της όμως σε στερεά δείγματα παρουσιάζει δυσκολίες που εμποδίζουν τη χρησιμοποίησή της. Στην τεχνική αυτή διαβιβάζεται το δείγμα σε στήλη η οποία περιέχει ένα οργανικό πολυμερές το οποίο έλκει περισσότερο τα φυτοφάρμακα από τον διαλύτη που είναι διαλυμένα. Έτσι οι ουσίες προσροφώνται στη στερεή αυτή φάση και απομακρύνονται στη συνέχεια με έκλυση με άλλο διαλύτη στον οποίο έλκονται περισσότερο σε σχέση με το στερεό υλικό προσρόφησης. Η εκχύλιση στερεής φάσης έχει ακόμα το πλεονέκτημα της αυτοματοποίησης μια και τα χρησιμοποιούμενα φυσίγγια δίνουν αυτή τη δυνατότητα, ενώ έχουν μικρό κόστος και μέγεθος. Η ύπαρξη πολλών υλικών στερεής φάσης βοηθάει στην επιλογή της καλύτερης δυνατής.

6.3.3 ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΣ (CLEAN UP)

Στο στάδιο αυτό απομακρύνονται συστατικά τα οποία συνεκχυλίστηκαν με τα φυτοφάρμακα και τα οποία παρεμβάλλονται στην ανάλυση των ουσιών που επιθυμεί ο αναλυτής. Ο διαχωρισμός των υπολειμμάτων από τα συνεκχυλισμένα συστατικά γίνεται με την βοήθεια:

- 1) χρωματογραφίας στήλης
- 2) χρωματογραφίας διαπερατότητας με υδροπηκτή (gel permeation

chromatography)

3) αντιδραστηρίων όπως KOH, H₂SO₄ (αλκαλικός ή όξινος διαχωρισμός)

4) χρωματογραφίας υγρού - υγρού (χρωματογραφία κατανομής) (37).

Η επιλογή της τεχνικής καθαρισμού εξαρτάται απ' τις φυσικοχημικές ιδιότητες του φυτοφαρμάκου και τη φύση των συνεκχυλισμάτων(42).

Στη χρωματογραφία στήλης ο διαχωρισμός γίνεται με τη χρήση δύο φάσεων, από τις οποίες η μία είναι στάσιμη ενώ η άλλη κινείται μέσα απ' τη στάσιμη και αποτελεί την κινητή φάση. Σαν στάσιμη φάση μπορεί να χρησιμοποιηθεί στερεή ή υγρή ουσία ενώ σαν κινητή υγρή ή αέρια. Συνήθως χρησιμοποιείται υγρή ή στερεή στάσιμη φάση και υγρή κινητή.

Το δείγμα φέρεται στην κορυφή της στήλης , η οποία αποτελείται από ένα γυάλινο σωλήνα γεμισμένο με τη στάσιμη φάση, και ακολουθεί η ροή της υγρής φάσης (υγρό ανάπτυξης) για το διαχωρισμό των συστατικών του δείγματος (έκλυση). Ο διαχωρισμός βασίζεται κυρίως στην προσρόφηση των συστατικών του μίγματος απ' τη στάσιμη φάση σε διαφορετικό για κάθε ουσία ποσοστό και ένταση. Μερικά από τα υλικά που χρησιμοποιούνται σαν στάσιμη φάση είναι η αλουμίνα (Al₂O₃), το florisil (MgO/SiO), το οξείδιο του πυριτίου, ενεργός άνθρακας ενώ η κινητή φάση μπορεί να είναι εξάνιο, μεθανόλη, αλογονάνθρακες κ.α.

Η χρωματογραφία υδροπηκτής είναι μια τεχνική η οποία διαχωρίζει τα διάφορα συστατικά μεταξύ τους με βάση το διαφορετικό μέγεθος του μορίου τους. Χρησιμοποιούνται παρόμοιες στήλες με την χρωματογραφία στήλης, τα δείγματα τοποθετούνται στην κορυφή της στήλης και εκλύονται με το διαλύτη. Τα μεγαλύτερα μόρια εκλύονται πριν τα μικρότερα με συγκεκριμένη διάταξη. Η διάταξη με βάση το μέγεθος προκύπτει από μικρές θήκες οι οποίες σχηματίζονται από τα τεμαχίδια που πληρώνουν τη στήλη και οι οποίες καθυστερούν τη κίνηση των μικρότερων μορίων μέσα στη στήλη. Παρόμοια φαινόμενα δεν συμβαίνουν στις στήλες προσρόφησης. Η τεχνική αυτή προσφέρει το πλεονέκτημα της αποφυγής απώλειας φυτοφαρμάκων στη στήλη λόγω μη αντιστρεπτής προσρόφησης ή λόγω χημικών αντιδράσεων. Όμως ο εξοπλισμός είναι πιο δαπανηρός αν και μπορεί να αυτοματοποιηθεί και να μειωθούν οι χειρισμοί. Επίσης ένα σημαντικό πλεονέκτημα είναι η δυνατότητα καθαρισμού πολλών δειγμάτων με την ίδια στήλη.

Στην χρωματογραφία κατανομής, ο διαχωρισμός των ουσιών βασίζεται στον διαφορετικό συντελεστή κατανομής στις δύο υγρές φάσεις οι οποίες δεν αναμιγνύονται , όπως π.χ. ακετονιτρίλιο και εξάνιο, ενώ μπορεί να χρησιμοποιηθούν και μίγματα διαλυτών .Η ακίνητη υγρή φάση είναι προσροφημένη σ 'ένα αδρανή φορέα όπως το silica gel, ο οποίος δεν παίρνει μέρος στον διαχωρισμό.

Στον όξινο ή αλκαλικό διαχωρισμό γίνεται κατανομή των ουσιών που μας ενδιαφέρουν στην φάση του οργανικού διαλύτη ενώ τα παρεμβαλλόμενα συστατικά κατανέμονται στη φάση του οξέος ή του αλκάλειου. Πρόκειται δηλαδή για εκχύλιση υγρού-υγρού, η οποία έχει αποδειχθεί πολύτιμη σαν ένα πρόσθετο βήμα καθαρισμού μετά την απομάκρυνση των λιπιδίων (Rodondo et.al.1991).

6.3.4 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ (ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ-ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ)

Αφού τα υπολείμματα εκχυλίστουν από το δείγμα και καθαρίζουν από τα συνεκχυλίσματα, γίνεται ο διαχωρισμός μεταξύ των υπολειμμάτων και ο ποσοτικός προσδιορισμός τους. Χρησιμοποιούνται συνήθως χρωματογραφικές μέθοδοι και κυρίως αεριοχρωματογραφία ή υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης και λιγότερο συχνά χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας και χρωματογραφία υπερκρίσιμων ρευστών.

6.3.4.1 ΑΕΡΙΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ (GC)

Η αεριοχρωματογραφία είναι μια χρωματογραφική τεχνική στην οποία η κινητή φάση είναι αέρια(φέρον αέριο) και η στάσιμη φάση είναι υγρή (αέριο-υγροχρωματογραφία) ή στερεή (αέριο-στερεοχρωματογραφία). Στην πρώτη περίπτωση η ακίνητη υγρή φάση είναι προσροφημένη σε ένα αδρανές στερεό υπόστρωμα σε κατάσταση λεπτού διαμερισμού, που ονομάζεται αδρανής φορέας. Στη δεύτερη, η ακίνητη στερεή φάση είναι ένα αδρανές προσροφητικό υλικό σε κατάσταση λεπτού διαμερισμού όπως το οξείδιο του πυριτίου.

Η αεριοχρωματογραφία εφαρμόζεται στις περισσότερες μεθόδους ανάλυσης για υπολείμματα φυτοφαρμάκων από τον F.D.A. τον A.O.A.C. ή από άλλους οργανισμούς.

Η ανάλυσης πραγματοποιούνται με ειδικά όργανα, τους αεριοχρωματογράφους, οι οποίοι αποτελούνται από:

- τη πηγή του φέροντος αερίου, το οποίο συνήθως είναι άζωτο, ήλιο ή υδρογόνο
- το θάλαμο εξαέρωσης όπου εισάγεται και εξαερώνεται το δείγμα
- τη χρωματογραφική στήλη, όπου γίνεται ο διαχωρισμός των φυτοφαρμάκων
- τον ανιχνευτή, όπου παράγεται ένα σήμα από τα φυτοφάρμακα που περιέχονται στο δείγμα

- το σύστημα καταγραφής (H/Y),

όπου καταγράφεται το σήμα που παράγεται στον ανιχνευτή, ώστε να γίνει η ποιοτική και ποσοτική ανίχνευση.

Οι στήλες που γίνεται ο διαχωρισμός είναι δύο κατηγοριών:

- i) γεμισμένες στήλες (packed columns) με διάμετρο 3-10 mm και μήκος 1-20m
- ii) τριχοειδής στήλες (capillary columns) με διάμετρο 0.25-1.0 mm και μήκος 6-30 m, οι οποίες είναι επικαλυμμένες εσωτερικά με ένα λεπτό στρώμα υγρής φάσης το οποίο παράγει ένα μεγάλο αριθμό θεωρητικών πλακών, έτσι ώστε να είναι δυνατή η καλύτερη ανάλυση.

Μια ποσότητα του εκχυλίσματος του δείγματος (10 μ l ή λιγότερο) αφού εξαερωθεί, με τη βοήθεια του φέροντος αερίου εισάγεται στην στήλη όπου ανάλογα με τη πολικότητα των υπολειμμάτων και της χρωματογραφικής στήλης, κάποιες ουσίες εκλούονται γρηγορότερα από άλλες. Μετά την απομάκρυνση από τη στήλη εισέρχονται στον ανιχνευτή όπου, ανάλογα με τον ανιχνευτή, δημιουργείται ένα σήμα το οποίο κατά γράφεται. Η ταυτοποίηση και η ποσοτικοποίηση γίνεται με τη βοήθεια

χρωματογραφημάτων γνωστών, πρότυπων ουσιών σε γνωστές συγκεντρώσεις οι οποίες εισάγονται στον αεριοχρωματογράφο μαζί με τα δείγματα.

Οι ανιχνευτές εξελίσσονται καθώς εξελίσσεται και η τεχνική της αεριοχρωματογραφίας και έτσι υπάρχει τώρα η δυνατότητα ανίχνευσης μικρότερων ποσοτήτων και περισσότερων ουσιών. Οι ανιχνευτές που χρησιμοποιούνται κυρίως στις αναλύσεις για υπολείμματα φυτοφαρμάκων σε γαλακτοκομικά προϊόντα είναι οι παρακάτω:

- **ανιχνευτής δεσμεύσεως ηλεκτρονίων (electron capture detector, ECD)**, ο οποίος μετράει τη μείωση του ηλεκτρονικού του φορτίου που γίνεται όταν υπάρχουν ουσίες με ηλεκτραρνητικές ιδιότητες όπως το χλώριο, το οξυγόνο. Χρησιμοποιείται κυρίως για ανίχνευση οργανοχλωριωμένων υπολειμμάτων.

- **ηλεκτρολυτικός ανιχνευτής αγωγιμότητας (electrolytic conductivity detector, ELCD)**, ο οποίος ανάλογα με το τρόπο λειτουργίας μπορεί να ανιχνεύσει άζωτο, θείο ή αλογόνα. Τα συστατικά που εκλύονται από την στήλη, μετατρέπονται σε κλίβανο και με τη βοήθεια αντιδραστηρίων, σε ανόργανα οξέα ή βάσεις και αφού διαλυθούν σε ένα διαλύτη με κατάλληλη διάταξη, μετράται η αλλαγή που γίνεται στην τιμή της αγωγιμότητας. Είναι πιο εκλεκτικός από τον ECD αλλά λιγότερο ευαίσθητος.

- **ανιχνευτής ιονισμού φλόγας (flame ionization detector, FID)** στον οποίο προκαλείται ιονισμός των ανθρακατόμων της ουσίας τα οποία συλλέγονται και δημιουργούν ένα σήμα. Είναι πολύπλοκος και έχει αντικατασταθεί από απλούστερους όπως ο NPD.

- **φωτομετρικός ανιχνευτής φλόγας (flame photometric detector, FPD)**, στον οποίο ατομοποιούνται οι ουσίες με τη βοήθεια φλόγας και η ακτινοβολία που εκπέμπεται επιλέγεται με τη βοήθεια φίλτρου και μετατρέπεται με τη βοήθεια φωτοηλεκτρικού κυττάρου σε ηλεκτρική ενέργεια (64). Χρησιμοποιείται για την ανίχνευση οργανοφωσφορικών αν και λιγότερο ευαίσθητος από τον NPD και τον ELCD στην ανίχνευση θείου.

- **ανιχνευτής αζώτου-φωσφόρου (nitrogen-phosphorus detector, NPD)**, είναι εκλεκτικός για ουσίες που περιέχουν άζωτο ή φώσφορο όπως είναι τα οργανοφωσφορικά και τριαζίνες.

Εκτός όμως από τους παραπάνω χρησιμοποιούνται επίσης **ανιχνευτές μικροστήλης**, οι οποίοι όμως απαιτούν ιδιαίτερες γνώσεις και έμπειρο προσωπικό για τη λειτουργία τους, και **φασματογράφοι μάζας (mass spectrometers, MS)**. Οι τελευταίοι χρησιμοποιούνται κυρίως για την επιβεβαίωση αποτελεσμάτων με άλλες μεθόδους ή για ουσίες που οι συνηθισμένοι ανιχνευτές δεν μπορούν να ανιχνεύσουν. Έχουν έτσι αναπτυχθεί τεχνικές όπως η GC/MS ή GC/MS/MS οι οποίες συνδυάζουν την αεριοχρωματογραφία και τη φασματογραφία μάζας. Η φασματογραφία μάζας βασίζεται στην μετατροπή των ουσιών σε ταχύτατα κινούμενα άτομα τα οποία έχουν ένα συγκεκριμένο λόγο μάζας προς φορτίο.

6.3.4.2 ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΗΨΗΛΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ (HPLC)

Η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται για ανίχνευση ουσιών οι οποίες διασπώνται

στις ψηλές θερμοκρασίες που εφαρμόζονται στην αεριοχρωματογραφία (F.D.A).

Στην υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης εφαρμόζονται όλοι οι χρωματογραφικοί μηχανισμοί όπως χρωματογραφία κατανομής, χρωματογραφία προσρόφησης, χρωματογραφία ιοντοανταλλαγής και χρωματογραφία μοριακών ηθμών.

Μια συσκευή HPLC αποτελείται από τα ίδια τμήματα με μια συσκευή GC όπου αντί για πηγή φέροντος αερίου υπάρχει μια αντλία για την άσκηση πίεσης προκειμένου να επιτευχθεί η επιθυμητή ροή της κινητής φάσης καθώς η πυκνότητα πλήρωσης της στήλης επηρεάζει αρνητικά την ταχύτητα ροής. Έτσι η συσκευή αποτελείται από την αντλία, τον injector για την εισαγωγή (στιγμιαία) του δείγματος στην στήλη, τη στήλη, τον ανιχνευτή και το σύστημα καταγραφής.

Ποσότητα του δείγματος εισάγεται μέσω του injector στη στήλη και ο διαλύτης καθώς εισάγεται με μεγάλη πίεση το παρασύρει και οι ουσίες κατανέμονται μεταξύ κινητής και στάσιμης φάσης, ανάλογα με την πολικότητά τους, την πολικότητά του διαλύτη και της στάσιμης φάσης. Οι ουσίες που έλκονται περισσότερο στη στατική φάση απ' ότι στο διαλύτη εκλούνται τελευταίες. Με τη χρήση ακίνητων φάσεων και διαλυτών με ποικιλία δομής (πολική, μη πολική, ιοντική) και διαλυτικής ικανότητας αντίστοιχα γίνεται δυνατή η ανίχνευση αρκετών ουσιών.

Για την ανίχνευση χρησιμοποιούνται κυρίως ανιχνευτές απορρόφησης στο υπεριώδες, ανιχνευτές φθορισμού και ηλεκτροχημικοί. Οι πρώτοι εκμεταλλεύονται την απορρόφηση ενέργειας από τα φυτοφάρμακα σε ένα συγκεκριμένο μήκος κύματος της υπεριώδους ακτινοβολίας. Σε συγκεντρώσεις ιχνών παρουσιάζονται προβλήματα λόγω απορρόφησης συνεκχυλισμένων συστατικών του δείγματος, γι' αυτό χρησιμοποιούνται ανιχνευτές μεταβλητού μήκους κύματος. Έχουν καλή ευαισθησία για πολλά φυτοφάρμακα.

Οι ανιχνευτές φθορισμού είναι αρκετά ευαίσθητοι και χρησιμοποιούνται για φυτοφάρμακα με αρωματικούς δακτυλίους. Εκμεταλλεύονται το φαινόμενο του φθορισμού ορισμένων ουσιών αν και τα περισσότερα φυτοφάρμακα δεν παρουσιάζουν φθορισμό. Για τον λόγο αυτό είτε προστίθενται μόρια ουσιών που φθορίζουν στα μόρια των φυτοφαρμάκων πριν την ανάλυση είτε δημιουργούνται παράγωγα των ουσιών, τα οποία φθορίζουν.

Οι ηλεκτροχημικοί ανιχνευτές επιλέγονται για ουσίες που οξειδώνονται ή ανάγονται εύκολα, καθώς εμφανίζουν καλή ευαισθησία και εκλεκτικότητα. Το δείγμα περνάει από ένα ηλεκτρόδιο με συγκεκριμένο δυναμικό, οπότε ένα ηλεκτρόνιο του προς ανίχνευση χημικού απομακρύνεται ή συλλέγεται. Έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί και άλλοι ανιχνευτές π.χ. ο ECD, FPD, MS.

6.3.4.3 ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΛΕΠΤΗΣ ΣΤΟΙΒΑΔΑΣ (TLC)

Η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται κυρίως για ποιοτικούς προσδιορισμούς και έχει αντικατασταθεί απ' τις προηγούμενες μεθόδους (F.D.A). Ο διαχωρισμός γίνεται λόγω διαφορετικής κατανομής των ουσιών αυτών σε μια στάσιμη (στερεή) και σε μια κινητή (υγρή) φάση. Η προσροφητικότητα της στατικής φάσης για την ουσία, η

διαλυτότητα της ουσίας στην κινητή φάση και η προσροφητική ικανότητα της στατικής φάσης για την κινητή, επηρεάζουν την κατανομή των ουσιών. Το προσροφητικό υλικό χρησιμοποιείται με τη μορφή λεπτής στοιβάδας πάνω σε μια γυάλινη ή πλαστική πλάκα. Το δείγμα τοποθετείται με τη μορφή κηλίδας στο ένα άκρο της πλάκας και αφού εξατμισθεί ο διαλύτης, η πλάκα τοποθετείται με τις κηλίδες προς τα κάτω, σε θάλαμο που περιέχει το υγρό αναπτύξεως (κινητή φάση). Ο διαλύτης λόγω τριχοειδών φαινομένων μετακινείται προς πάνω παρασύροντας τις ουσίες σε διαφορετικό ύψος ανάλογα με την πολικότητα και τη διαλυτότητα τους. Μετά την ανάπτυξη του χρωματογραφήματος οι κηλίδες των ουσιών γίνονται ορατές με διάφορες τεχνικές όπως χρήση λαμπτήρων υπεριώδους φωτός, ψεκασμός με διάφορα αντιδραστήρια, ώστε να παραχθούν έγχρωμα προϊόντα, χρήση διαλυμάτων ενζύμων (18). Κατόπιν μετράται η απόσταση της κηλίδας από το σημείο εκκίνησης και συγκρίνεται με αντίστοιχα γνωστών ουσιών.

Οι σύγχρονες τεχνικές TLC έχουν βελτιωθεί και έχουν αναπτυχθεί μέθοδοι όπως η χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας υψηλής απόδοσης (High Performance Thin Layer Chromatography, HPTLC), η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για πολυπολεμιατικές και ποσοτικές αναλύσεις, με χρήση σύγχρονων μεθόδων προετοιμασίας των δειγμάτων π.χ. SPE.

6.3.4.4 ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΠΕΡΚΡΙΣΙΜΩΝ ΡΕΥΣΤΩΝ (Supercritical Fluid Extraction)

Τα υπερκρίσιμα ρευστά μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην HPLC ή στην GC προσφέροντας την δυνατότητα ανάλυσης ουσιών μη πτητικών ή ασταθών στις ψηλές θερμοκρασίες και ταχύτητες, χωρίς να απαιτείται αλλαγή ανιχνευτή αλλά ακόμα δεν χρησιμοποιούνται για γαλακτοκομικά προϊόντα (F.D.A).

6.3.4.5 ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Εκτός των χρωματογραφικών μεθόδων έχουν χρησιμοποιηθεί και φασματοφωτομετρικές μέθοδοι κυρίως φασματοφωτομετρία ορατού, υπερύθρου και φθορισμομετρία.

Η φασματοφωτομετρία ορατού χρησιμοποιείται περισσότερο λόγω της απλούστερης εφαρμογής της, αν και δεν έχει την ευαισθησία και την εκλεκτικότητα της αεριοχρωματογραφίας. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για επιβεβαίωση των χρωματογραφικών αναλύσεων.

Η φασματοφωτομετρία υπερύθρου έχει περιορισμένη εφαρμογή λόγω της μικρής ευαισθησίας και της ειδικής προετοιμασίας δειγμάτων και διαλυτών που απαιτείται.

Η φθορισμομετρία έχει καλή ευαισθησία και εκλεκτικότητα αλλά χρειάζεται κατάλληλες διαδικασίες καθαρισμού για την απομάκρυνση παρεμβαλόμενων ουσιών και έχει περιορισμένη εφαρμογή.

6.3.4.6 ΑΛΛΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ

Τα τελευταία χρόνια έχουν αρχίσει να αναπτύσσονται και άλλες μέθοδοι. Έτσι οι ανοσοβιολογικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται σαν συμπληρωματικές στις χρωματογραφικές, δίνουν τη δυνατότητα για γρήγορη ποιοτική και ποσοτική ανίχνευση όμως δεν έχουν ακόμη τη δυνατότητα για πολυπολεϊμ-ματικές αναλύσεις. Οι βιολογικές μέθοδοι επίσης είναι απλές, ευαίσθητες, γρήγορες και κοστίζουν λιγότερο από τις GC,HPLC (Manes et.al 1996). Η χρήση ενζύμων όμως για την ανίχνευση φυτοφαρμάκων παρουσίαζε προβλήματα ιδιαίτερης προετοιμασίας των δειγμάτων και αδυναμίας χρήσης για πολυπολεϊμ-ματικές αναλύσεις ενώ και πολλά οργανοφωσφορικά παρουσίαζαν χαμηλή ικανότητα αναστολής της χολινεστεράσης στο εργαστήριο.

Η μέθοδος της φασματογραφίας μάζας έχει αρχίσει να χρησιμοποιείται για την ανάλυση των τροφίμων για φυτοφάρμακα, κυρίως οργανοφωσφορικά, αλλά κυρίως εφαρμόζεται για επιβεβαίωση αποτελεσμάτων άλλων τεχνικών, καθώς επιτυγχάνει άριστη ευαισθησία ακόμα και σε πολύπλοκα δείγματα (Sheridam and Meola 1999, Bennett et.al 1997). Χρησιμοποιούνται επίσης και μέθοδοι όπως η τεχνική NMR (Nuclear Magnetic Resonance) και η χρήση ραδιοϊσοτόπων, οι οποίες όμως κοστίζουν αρκετά (Rathore et.al 1996). Πολύ καλά αποτελέσματα δίνουν οι συνδυασμοί μεθόδων που εκμεταλλεύονται τα πλεονεκτήματα της κάθε μεθόδου, όπως για παράδειγμα οι μέθοδοι LC/MS ή GC/MS που συνδυάζουν τη φασματογραφία μάζας με υγρή και αέριο χρωματογραφία αντίστοιχα.

6.4 ΕΠΙΛΟΓΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Ανεξάρτητα από τα βήματα που ακολουθούνται, προκειμένου να επιλεγεί μία αναλυτική μέθοδος λαμβάνονται υπόψη τα παρακάτω στοιχεία (FAO/WHO 1993):

1. η διεθνής βιβλιογραφία
2. να έχει μελετηθεί η μέθοδος από πολλά συνεργαζόμενα εργαστήρια
3. να είναι ικανή να ανιχνεύει ταυτόχρονα, υπολείμματα από περισσότερα του ενός φυτοφαρμάκων και σε συγκεντρώσεις ίσες ή μικρότερες από το ανώτατο επιτρεπτό όριο
4. να μπορεί να χρησιμοποιηθεί για όσο το δυνατόν περισσότερα προϊόντα
5. να είναι δυνατή η εφαρμογή της σε εργαστήρια εφοδιασμένα με το συνηθισμένο εξοπλισμό ρουτίνας.

Η μέθοδος πρέπει να ικανοποιεί τις απαιτήσεις ευαισθησίας, ακρίβειας και εκλεκτικότητας που καθορίζονται από την αιτία της ανάλυσης (έλεγχος, έρευνα, επιβολή ποινών κ.λ.π.)

Η ακρίβεια της μεθόδου και η εκλεκτικότητα ελέγχεται με την χρήση προτύπων διαλυμάτων, γνωστών ουσιών, σε γνωστές συγκεντρώσεις, τα οποία αναλύονται με τον ίδιο τρόπο που πρόκειται να αναλυθούν και τα δείγματα και στη συνέχεια

συγκρίνονται τα αποτελέσματα με τις ουσίες και τις συγκεντρώσεις που είχαν χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο. Ανακτήσεις (recoveries) από 90 μέχρι 110% είναι αποδεκτές και η μέθοδος μπορεί να εφαρμοστεί.

ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ

ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ (ANTIBIOTIKA)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

7.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα αντιβιοτικά φάρμακα χρησιμοποιούνται στη γαλακτοβιομηχανία πάνω από πέντε δεκαετίες. Αυτά χορηγούνται κυρίως για την πρόληψη ή τη θεραπεία της μαστίτιδας αλλά παράλληλα προλαμβάνουν και άλλες ασθένειες (Hillerton, Halley, & Neaves, 1999). Η θεραπεία με αντιβιοτικά σε ζώα που βρίσκονται σε θηλασμό είτε κατά την διάρκεια της γαλακτικής περιόδου μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση υπολειμμάτων τους στο γάλα. Η παρουσία αντιβιοτικών φαρμάκων στο γάλα είναι πρόβλημα της δημόσιας υγείας. Αν και ο κίνδυνος για τη δημόσια υγεία είναι δύσκολο να οριστεί, είναι αποδεκτό ότι τα υπολείμματα των αντιβιοτικών μπορεί να προκαλέσουν αλλεργία σε ευαίσθητες ομάδες και να έχουν αρνητικές επιδράσεις στη σύνθεση της ανθρώπινης χλωρίδας. Γενικότερα, η υπερβολική χρήση αντιβιοτικών έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη ανθεκτικών ζώων στα φάρμακα και στην ανθρώπινη παθογένεια, όπως αναφέρεται από τον Alanis (2005). Επιπλέον, το μολυσμένο γάλα ακόμη και με μικρή περιεκτικότητα σε υπολείμματα αντιβιοτικών μπορεί να δημιουργήσει προβλήματα στην παραγωγή ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων επειδή τέτοιες ουσίες αναστέλλουν την ανάπτυξη των ωφέλιμων καλλιιεργειών ζύμωσης.

Στις περισσότερες χώρες, έχουν καθιερωθεί ανώτατα όρια για τα υπολείμματα αντιβιοτικών στα τρόφιμα καθώς και στο γάλα. Έτσι στην Ευρωπαϊκή Ένωση και την Αυστραλία, τα ανώτατα όρια (MRLs) έχουν καθοριστεί από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή (1996) και από τον Κώδικα Τροφίμων της Αυστραλίας και της Νέας Ζηλανδίας (2007), αντίστοιχα. Στις Ηνωμένες Πολιτείες τα όρια ανοχής έχουν καθοριστεί για μεγάλο αριθμό αντιβιοτικών. Η Codex Alimentarius Commission έχει επίσης καθιερώσει MRLs για κάθε ξεχωριστή αντιβιοτική ουσία στα τρόφιμα ζωικής προέλευσης (Codex Alimentarius, 2007). Η ακριβής ανίχνευση των χαμηλών επιπέδων σε υπολείμματα αντιβιοτικών στο γάλα δεν είναι μόνο μεγάλης σημασίας για τους κρατικούς ελεγκτικούς μηχανισμούς και τις γαλακτοβιομηχανίες αλλά και για τους αγρότες ούτως ώστε να μπορέσουν να εξασφαλίσουν ότι το μολυσμένο γάλα από μια αγελάδα δεν θα σταλεί στις δεξαμενές συλλογής και επεξεργασίας. Οι Mitchell, Groffiths, McEwen, McNab και Yee (2002) δημοσίευσαν ότι η β-λακτάμη των αντιβιοτικών, πιο συχνά η γ-πενικιλίνη, είναι το συνηθέστερο χρησιμοποιούμενο αντιβιοτικό για την καταπολέμηση της μαστίτιδας. Το γάλα μπορεί επίσης να μολυνθεί ξανά με μια από τις άλλες τέσσερις μεγάλες ενώσεις αντιμικροβιακών φαρμάκων: τις sulphonamides, tetracyclines, macrolides και aminoglycosides. Επομένως, υπάρχει η απαίτηση για μια γρήγορη, απλή και οικονομική εξέταση του γάλακτος για παρουσία των πιο σημαντικών αντιμικροβιακών ουσιών.

Το Delvotest® SP-NT είναι μια ποιοτική μέθοδος ελέγχου για την ανίχνευση αντιβιοτικών ουσιών στο γάλα βασισμένο στην αναστολή της ανάπτυξης του *Bacillus*

stearothermophilus, σύμφωνα με το Παγκόσμιο Πρότυπο ISO/DIS 13969 IDF 183 (IDF, 2001).

Πίνακας 7.1 Τα ανώτατα όρια καταλοίπων (MRL) της Ευρωπαϊκής Ένωσης, της Αυστραλίας και του Codex Alimentarius και τα όρια ανοχής των ΗΠΑ για τους αντιμικροβιακούς παράγοντες στο αγελαδινό γάλα.

Χημική Ένωση	Συγκέντρωση ($\mu\text{g L}^{-1}$) ^a			
	Ανώτατα όρια καταλοίπων (MRL) Ευρωπαϊκής Ένωσης	Ανώτατα όρια καταλοίπων (MRL) Αυστραλίας	Ανώτατα όρια καταλοίπων (MRL) Codex	Όρια ανοχής των ΗΠΑ
Πενικιλίνη	4	1,5	4	0 ^b
Αμπικιλίνη	4	10	-	10
Αμοξικιλίνη	4	-	-	10
Cephapirin	60	10	-	20
Κεφτιοφούρη	100	100	100	100
Κλοξακιλίνη	30	10	-	10
Σουλφαδιαζίνη	100	100	-	-
Οξυτετρακυκλίνη	100	100	100	300 ^c
Νεομυκίνη	1500	1500	500	150
Ερυθρομυκίνη	40	40	-	0 ^b

^a Οι τιμές με μαύρα γράμματα δείχνουν το χαμηλότερο επιτρεπτό όριο για τα τέσσερα σχήματα.

^b Δείχνει τα όρια ανοχής για τα κατάλοιπα της πενικιλίνης και της ερυθρομυκίνης στα τρόφιμα που είναι εγκατεστημένα ως μηδέν.

^c Υποδεικνύει το άθροισμα των υπολειμμάτων της τετρακυκλίνης, χλωροτετρακυκλίνης και οξυτετρακυκλίνης.

7.2 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ

Οι σύγχρονες πηγές παραγωγής αντιμικροβιακών παραγόντων είναι οι εξής :

- μεταβολίτες μυκήτων (π.χ. *Penicillium spp.*, *Streptomyces spp.* κ.λ.π.)
- βακτηρίδια (π.χ. *Bacillus spp.*)

- ημισυνθετικές παραλλαγές φυσικών ουσιών (π.χ. παραγωγή ημισυνθετικών πενικιλίνων από τη βενζυλοπενικιλίνη)
- συνθετικές ουσίες (π.χ. χλωραμφαινικόλη)

Τα αντιβιοτικά μπορούν να ταξινομηθούν σε διάφορες ομάδες με βάση τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες, την αντιμικροβιακή τους δράση, το μηχανισμό δράσης τους κλπ.

Κλινικό ενδιαφέρον παρουσιάζει η ταξινόμηση των αντιμικροβιακών σε βακτηριοκτόνα και βακτηριοστατικά που παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα.7.1

Πίν.7.1 Ταξινόμηση Αντιμικροβιακών Ουσιών

ΒΑΚΤΗΡΙΟΚΤΟΝΑ		ΒΑΚΤΗΡΙΟΣΤΑΤΙΚΑ
Πενικιλίνες	Βανκομυκίνη	Μακρολίδια ²
Κεφαλοσπορίνες	Κυκλοσερίνη	Χλωραμφαινικόλη
Αμινογλυκοσίδες	Νεομυκίνη ¹	Τετρακυκλίνες ²
Νιτροφουράνια	Κινολόνες	Λινκοσαμίδες ²
Τριμεθοπρίμη +	Βανκομυκίνη	Σουλφοναμίδες
Σουλφαδιαζίνη		
Πολυμυξίνες ¹	Τιαμουλίνη	ΡΙστοσετίνη ²
		Νοβοβοκίνη ²

¹ δρουν τόσο στη φάση πολλαπλασιασμού, όσο και στη φάση ηρεμίας του βακτηριακού κυττάρου

² σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις δρουν βακτηριοκτόνα

7.3 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΟ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥΣ.

Σημαντικό κλινικό ενδιαφέρον παρουσιάζει επίσης η ταξινόμηση των αντιμικροβιακών που ακολουθεί και γίνεται με βάση το μηχανισμό δράσης τους

- **Αναστολείς Σύνθεσης του κυτταρικού τοιχώματος.**

Στην ομάδα αυτή ανήκουν τα β-λακταμικά αντιμικροβιακά (πενικιλίνες, κεφαλοσπορίνες), η βανκομυκίνη, η κυκλοσερίνη, η ριστοσετίνη, η βακιτρακίνη, και η νοβοβοκίνη.

- **Αναστολείς Πρωτεϊνικής Σύνθεσης.**

Η σπεκτινομυκίνη, οι λινκοσαμίδες, οι τετρακυκλίνες, η χλωραμφαινικόλη, οι αμινογλυκοσιδάσες και τα μακρολίδια δρουν μέσα στο κυτταρόπλασμα αναστέλλοντας την πρωτεϊνοσύνθεση σε διάφορα στάδια της. Διατηρούν κυρίως τη ριβοσωμική λειτουργία.

- **Αναστολείς Σύνθεσης Πυρηνικών Οξέων.**

Στην ομάδα αυτή ανήκουν οι σουλφοναμίδες, η νοβοβοκίνη, η τριμεθοπρίμη, η ριφαμπικίνη και η κινολόνες. Οι αντιμικροβιακοί αυτοί παράγοντας παρεμβαίνουν σε κάποιο στάδιο σύνθεσης των πυρηνικών οξέων αναστέλλοντας τη σύνθεσή τους.

- **Αναστολείς της λειτουργίας της κυτταρικής μεμβράνης.**

Η πολυμυξίνη Β, η αμφοτερικίνη Β, η πολυμυξίνη Ε (κολιστίνη), η νυστατίνη και η τυροσετίνη παρεμποδίζουν με διάφορους τρόπους τη λειτουργία της μικροβιακής κυτταρικής μεμβράνης.

7.3.1 ΠΕΝΙΚΙΛΛΙΝΕΣ (Penicillins)

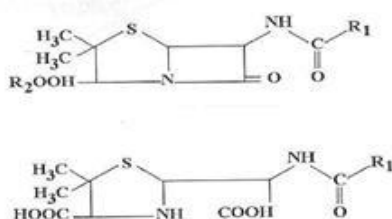
Η ομάδα αυτή των αντιμικροβιακών ουσιών είναι ιστορικά η παλαιότερη. Εξακολουθεί ωστόσο να διαδραματίζει ένα από τους σημαντικότερους ρόλους στη σύγχρονη αντιμικροβιακή θεραπεία.

Όταν ο Αλέξανδρος Φλέμινγκ ανακάλυψε, το 1928, το φαινόμενο ανάσχεσης της ανάπτυξης μιας καλλιέργειας σταφυλόκοκκων, από την τυχαία παρουσία στο τριβλίο του ακτινομύκητα *Penicillium*, ποτέ δε φαντάστηκε ότι σήμερα θα είχαν απομονωθεί άλλες 40 περίπου πενικιλλίνες. Απ' αυτές μόνο ένας μικρός αριθμός χρησιμοποιείται για θεραπευτικούς σκοπούς. Μερικές έχουν φυσική προέλευση ενώ άλλες παράγονται ημισυνθετικά.

Φυσικοχημικές ιδιότητες

Οι φυσικές πενικιλλίνες παράγονται με ζύμωση από μύκητες του γένους *Penicillium*. Η κρυσταλλική ουσία που προκύπτει από τη ζύμωση είναι μίγμα πέντε διαφορετικών φυσικών πενικιλινών οι οποίες χαρακτηρίζονται σύμφωνα με την αμερικάνικη φαρμακοποιία με τα γράμματα F, DF, G, X και K. Όλες έχουν σαν βασικό χημικό μόριο το 6-αμινοπενικιλλανικό οξύ (6-ΑΠΟ).

Οι πέντε αυτές φυσικές πενικιλλίνες διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τη χημική ομάδα στη θέση R₁ του 6-ΑΠΟ. Από αυτές θεραπευτική αξία παρουσιάζει μόνο η πενικιλλίνη G (βενζυλοπενικιλίνη), γιατί εκδηλώνει τη μεγαλύτερη αντιμικροβιακή δράση.



Με την προσθήκη διαφόρων αλάτων στη θέση R₂ της φυσικής πενικιλλίνης G προκύπτουν τα διάφορα άλατα της βενζυλοπενικιλίνης, όπως νατριούχο, καλιούχο, προκαϊνούχο, βενζαθινικό, τα οποία διαφοροποιούνται μεταξύ τους ως προς τις φαρμακοκινητικές τους ιδιότητες.

Απαραίτητη προϋπόθεση για την εκδήλωση αντιμικροβιακής δράσης είναι η διατήρηση της ακεραιότητας του β-λακταμικού δεσμού. Αν αυτός υδρολυθεί και ανοίξει, παράγεται πενικιλλοϊκό οξύ και οι πενικιλλίνες χάνουν την αντιμικροβιακή

τους δράση. Αυτό ακριβώς προκαλούν τα ένζυμα β-λακταμάσες που παράγονται από διάφορους μικροοργανισμούς ανθεκτικούς στη δράση των πενικιλινών.

Το αμινοπενικιλλανικό οξύ είναι επίσης πολύ εθαισθητο στη δράση των διαφόρων οξέων. Το γαστρικό υγρό για παράδειγμα διασπά το αμινοπενικιλλανικό οξύ σε πενικιλλαμίνη, η οποία δε διαθέτει αντιμικροβιακή δράση.

Η ανάγκη να ξεπεραστούν τα προβλήματα αυτά οδήγησε στην αναζήτηση πενικιλινών ανθεκτικών στη δράση των αδρανοποιητικών ενζύμων και του γαστρικού υγρού.

Πέρα από τη φυσική πενικιλίνη G και τα προαναφερθέντα άλατα της, υπάρχει σήμερα ένας μεγάλος αριθμός πενικιλινών που λύνουν τα προβλήματα αυτά. Αυτές παράγονται ημισυνθετικά με την προσθήκη στη θέση R₁ του 6-αμινοπενικιλλανικού οξέος διαφόρων οργανικών χημικών ριζών.

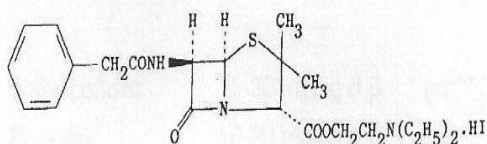
7.3.2 ΠΡΟΚΑΪΝΟΥΧΟΣ ΠΕΝΙΚΙΛΛΙΝΗ G (Procaine penicillin G) (penicillin G)

Η προκαϊνούχος πενικιλίνη G είναι δυσδιάλυτο άλας της βενζυλοπενικιλίνης. Παρασκευάζεται υπό μορφή υδατικών εναιωρημάτων τα οποία χορηγούνται ενδομυϊκά ή υποδόρια. Απορροφάται αργά από το σημείο της ένεσης και υδρολύεται σταδιακά σε βενζυλοπενικιλίνη. Οι θεραπευτικές συγκεντρώσεις στους ιστούς επιτυγχάνονται μετά από 2-3 ώρες και διατηρούνται ανάλογα με το είδος του ζώου για 12-24 ώρες.

Το φάσμα δράσης και οι κλινικές ενδείξεις της προκαϊνούχου πενικιλίνης G είναι οι ίδιες με αυτές της βενζυλοπενικιλίνης. Η προκαϊνική πενικιλίνη δεν πρέπει να χορηγείται ενδοφλέβια γιατί μπορεί να προκαλέσει καρδιακή ανακοπή. Στην περιοχή της ενδομυϊκής ένεσης μπορεί να παρατηρηθεί παροδικό οίδημα και πόνος.

Πεναιθαμάτη υδροϊωδιούχος (Penethamate hydriodide)

Η υδροϊωδιούχος πεναιθαμάτη είναι ιωδιούχος ένωση του εστέρος της βενζυλοπενικιλίνης με την αλκοόλη διαιθυλοαμινοαιθανόλη. Παρασκευάζεται υπό μορφή ενέσιμου σκόνης για την παρασκευή υδατικού εναιωρήματος, πριν από τη χορήγηση.



Έχει παρόμοιο αντιμικροβιακό φάσμα με εκείνο της βενζυλοπενικιλίνης. Διαφέρει ωστόσο σημαντικά ως προς τις φαρμακοκινητικές της ιδιότητες και ιδιαίτερα το βαθμό διεισδυτικότητας δια μέσου των βιολογικών φραγμών και κατ' επέκταση του όγκου κατανομής στους διάφορους ιστούς.

Επιτυγχάνει πολύ υψηλές συγκεντρώσεις σε όλους τους ιστούς και ιδιαίτερα σε αυτούς με κυψελιδική δομή (πνεύμονες και μαστός). Χορηγείται ενδομυϊκά για την αντιμετώπιση λοιμώξεων του αναπνευστικού και του μαστού.

7.4 ΠΕΝΙΚΙΛΛΙΝΕΣ ΣΤΕΝΟΥ ΦΑΣΜΑΤΟΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΕΣ ΣΤΙΣ β-ΛΑΚΤΑΜΕΣ

Στις πενικιλίνες της κατηγορίας αυτής ανήκουν σε δύο ομάδες σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα 7.2

Πίν.7.2 Κατηγορίες Πενικιλινών

ΟΞΕΑΝΤΟΧΕΣ ΗΜΙΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΠΕΝΙΚΙΛΛΙΝΕΣ ΧΟΡΗΓΟΥΜΕΝΕΣ ΑΠΟ ΤΟ ΣΤΟΜΑ	ΗΜΙΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΠΕΝΙΚΙΛΛΙΝΕΣ ΧΟΡΗΓΟΥΜΕΝΕΣ ΠΑΡΕΝΤΕΡΙΚΑ
Οξακιλλίνη (Oxacillin) Κλοξακιλλίνη (Cloxacillin) Δικλοξακιλλίνη (Dicloxacillin) Φλουκλοξακιλλίνη (Flucloxacillin) Ναφκιλλίνη (Nafcillin)	Μεθικιλίνη (Methicillin ή Amidinocillin) Τεμοκιλλίνη (Temocillin)

Η πρώτη ομάδα περιλαμβάνει τις οξεάντοχες ημισυνθετικές πενικιλίνες, την οξακιλλίνη, την κλοξακιλλίνη, τη δικλοξακιλλίνη, τη φλουκλοξακιλλίνη και τη ναφκιλλίνη. Οι πενικιλίνες της ομάδας αυτής σε σχέση με την πενικιλίνη G είναι λιγότερο δραστικές έναντι των κατά Gram θετικών βακτηριδίων και είναι εντελώς αδρανείς έναντι των κατά Gram θετικών σταφυλόκοκκων που παράγουν πενικιλινάση, γιατί είναι ανθεκτικές στη δράση της.

Ως οξεάντοχες μπορούν να χορηγηθούν από το στόμα, αλλά και παρεντερικά για την αντιμετώπιση σταφυλοκοκκικών κυρίως λοιμώξεων, που προκαλούνται από στελέχη ανθεκτικά στη δράση των βενζυλοπενικιλινών.

Η κλοξακιλλίνη ιδιαίτερα, χορηγείται ενδομαστικά για την αντιμετώπιση της σταφυλοκοκκικής μαστίτιδας. Χορηγείται ως νατριούχο άλας κατά τη γαλακτοπαραγωγική περίοδο και ως βενζαθινικό κατά την ξηρά. Συχνά συνδυάζεται με αμπικιλίνη με στόχο τη διεύρυνση του αντιμικροβιακού της φάσματος.

Η δεύτερη ομάδα περιλαμβάνει τις ημισυνθετικές πενικιλίνες, τεμοκιλλίνη και μεθικιλίνη, που είναι δραστικές μόνο έναντι των κατά Gram αρνητικών (με εξαίρεση την ψευδομονάδα). Η πρώτη είναι πάρα πολύ ανθεκτική στη δράση των β-λακταμασών, ενώ η δεύτερη είναι ευαίσθητη.

7.5 ΠΕΝΙΚΙΛΛΙΝΕΣ ΕΥΡΕΩΣ ΦΑΣΜΑΤΟΣ ΕΥΑΙΣΘΗΤΕΣ ΣΤΙΣ β-ΛΑΚΤΑΜΑΣΕΣ

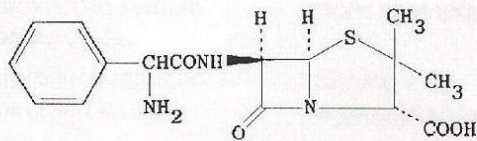
Στις πενικιλλίνες ευρέος φάσματος, που είναι ευαίσθητες στη δράση των β-λακταμασών, ανήκουν δύο ομάδες σύμφωνα με τον πίνακα που ακολουθεί. Η πρώτη περιλαμβάνει τις ημισυνθετικές πενικιλλίνες, αμπικιλίνη και αμοξικιλίνη, καθώς επίσης την ετακιλλίνη, πιβαμπικιλίνη και ταλαμπικιλίνη, που αποκαλούνται και προαμπικιλίνες, γιατί στον οργανισμό μεταβολίζονται σε αμπικιλίνη.

Η δεύτερη ομάδα περιλαμβάνει τις καρβοξυπενικιλίνες (καρβενικιλίνη, τικαρκιλλίνη), τις ουρεΐδοπενικιλίνες (αζλοκιλλίνη, μεζλοκιλλίνη) και τις πιπερζινπενικιλίνες (πιπερακιλλίνη). Λόγω της ιδιαίτερης δράσης τους κατά της ψευδομονάδας αποκαλούνται αντιψευδομοναδικές.

ΠΕΝΙΚΙΛΛΙΝΕΣ ΕΥΡΕΟΣ ΦΑΣΜΑΤΟΣ ΕΥΑΙΣΘΗΤΕΣ ΣΤΙΣ β-ΛΑΚΤΑΜΑΣΕΣ	ΑΝΤΙΨΕΥΔΟΜΟΝΑΔΙΚΕΣ ΠΕΝΙΚΙΛΛΙΝΕΣ		
	ΚΑΡΒΟΞΥΠΕΝΙΚΙΛΛΙΝΕΣ	ΟΥΡΕΪΔΟΠΕΝΙΚΙΛΛΙΝΕΣ	ΠΙΠΕΡΖΙΝΠΕΝΙΚΙΛΛΙΝΕΣ
Αμπικιλίνη (Ampicillin)	Καρβενικιλίνη	Αζλοκιλλίνη	Πιπερακιλλίνες
Αμοξικιλίνη (Amoxicillin)	Τικαρκιλλίνη	Μεζλοκιλλίνη	
ΠΡΟΑΜΠΙΚΙΛΛΙΝΕΣ - Ετακιλλίνη (Hetacillin) - Πιβαμπικιλίνη (Pivampicillin) - Ταλαμπικιλίνη (Talampicillin)			

7.5.1 ΑΜΠΙΚΙΛΛΙΝΗ (Ampicillin)

Η αμπικιλίνη θεωρείται μια από τις σημαντικότερες ημισυνθετικές πενικιλλίνες με ευρύ φάσμα δράσης. Αυτό περιλαμβάνει κατά Gram θετικά και αρνητικά βακτηρίδια όπως Staphylococcus spp., Streptococcus spp., Corynebacterium, Clostridium, Escherichia, Klebsiella, Shigella, Salmonella, Pasteurella, Proteus, Erysipelothrix rhusiopathiae, Fusiformis . Η αμπικιλίνη είναι ευαίσθητη στη δράση των β-λακταμασών.



Χρησιμοποιείται ως άνυδρος ή υπό μορφή νατρίουχου και τριϋδρικού άλατος. Το νατρίουχο άλας της αμπικιλίνης χορηγείται λόγω της υψηλής υδατοδιαλυτότητάς του παρεντερικά. Το έτοιμο διάλυμα ωστόσο είναι ασταθές, γι' αυτό θα πρέπει να χρησιμοποιείται αμέσως μετά την προετοιμασία του. Για να ξεπεραστεί το πρόβλημα αυτό και να εξασφαλιστούν παρατεταμένες συγκεντρώσεις στους ιστούς, χρησιμοποιείται το έτοιμο ελαιούχο εναιώρημα της τριϋδρικής αμπικιλίνης. Μετά την χορήγηση από το στόμα η αμπικιλίνη απορροφάται σχετικά καλά και επιτυγχάνει ανώτατη συγκέντρωση στο πλάσμα σε 2 ώρες περίπου. Η ημιπερίοδος αποβολής της ανέρχεται σε 1-1,5 ώρες. Κατανέμεται σχετικά καλά σ' όλους τους ιστούς με ιδιαίτερα υψηλές συγκεντρώσεις στο ήπαρ και τους νεφρούς. Δύσκολα περνά τον αιμοεγκεφαλικό φραγμό. Αποβάλλεται σε ενεργό μορφή με τα ούρα.

Η αμπικιλίνη παρουσιάζει το φαινόμενο της εντεροηπατικής κυκλοφορίας. Δηλαδή, μετά την απορρόφησή της και την ιδιαίτερα υψηλή συγκέντρωσή της στη χολή επανεκκρίνεται στον εντερικό σωλήνα σε ενεργό μορφή. Αυτό θεωρείται κλινικά σημαντικό, γιατί την καθιστά ιδιαίτερα κατάλληλη για την αντιμετώπιση των γαστρεντερικών λοιμώξεων και των λοιμώξεων της χοληδόχου κύστης.

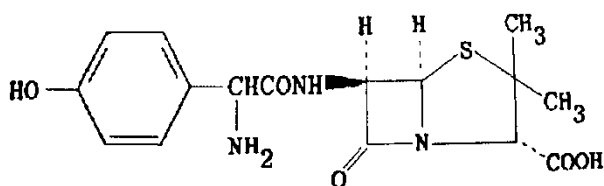
Η αμπικιλίνη συνδυάζεται με πενικιλίνες ανθεκτικές στις β-λακταμάσες, όπως κλοξακιλλίνη και δικλοξακιλλίνη, καθώς επίσης και με αμινογλυκοσίδες. Δεν πρέπει να συνδυάζεται με σουλφοναμίδες, ερυθρομυκίνη, δοξυκυκλίνη, ριφαμυκίνες και χλωραμφαινικόλη.

7.5.2 ΑΜΟΞΙΚΙΛΛΙΝΗ (Amoxicillin)

Η αμοξικιλίνη έχει τις ίδιες φαρμακοδυναμικές ιδιότητες με την αμπικιλίνη. Διαθέτει δηλαδή το ίδιο αντιμικροβιακό φάσμα δράσης με εκείνο της αμπικιλίνης. Η δράση της ωστόσο θεωρείται ισχυρότερη, γεγονός που οφείλεται στον καλύτερο βαθμό απορρόφησης και συγκέντρωσης της στα υγρά και στους ιστούς του οργανισμού. Χορηγούμενη από το στόμα στα μονογαστρικά απορροφάται σχεδόν απόλυτα από το γαστρεντερικό σωλήνα χωρίς να επηρεάζεται από την παρουσία τροφής. Η μέγιστη συγκέντρωσή της στο πλάσμα είναι κατά 1,5-3 φορές υψηλότερη από εκείνη της αμπικιλίνης. Επιτυγχάνει ιδιαίτερα υψηλές συγκεντρώσεις στους νεφρούς και τα ούρα με τα οποία αποβάλλεται.

Η αμοξικιλίνη χρησιμοποιείται στα παραγωγικά ζώα και στα ζώα συντροφιάς (σκύλοι, γάτες) για την αντιμετώπιση αναπνευστικών, γαστρεντερικών και ουρογεννητικών λοιμώξεων, καθώς επίσης λοιμώξεων του δέρματος και των

μαλακών ιστών. Η αμοξικιλίνη, όπως και η αμπικιλίνη, δεν πρέπει να χορηγείται στα μικρά τρωκτικά εξαιτίας των σοβαρών διαταραχών που προκαλεί στην εντερική τους χλωρίδα.



7.5.3 ΚΕΦΑΛΟΣΠΟΡΙΝΕΣ (Cephalosporins)

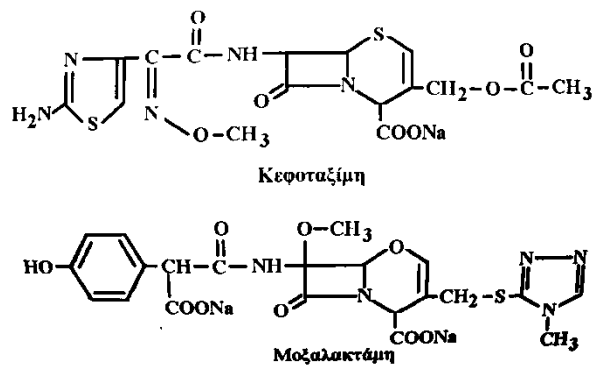
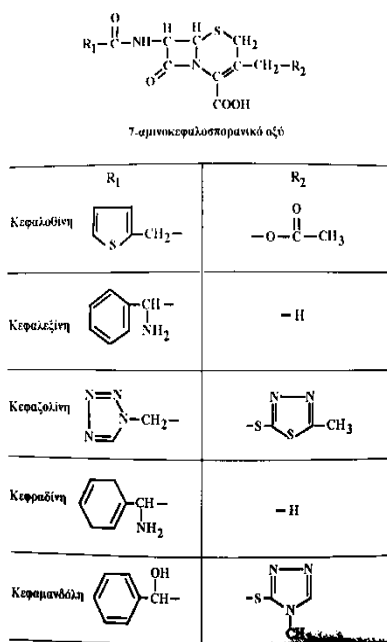
Είναι ημισυνθετικοί αντιμικροβιακοί παράγοντες ευρέος φάσματος, παράγωγα της φυσικής κεφαλοσπορίνης C, η οποία παράγεται με ζύμωση από μύκητα του γένους *Cephalosporium*.

Από άποψη χημικής δομής και φαρμακολογικής δράσης μοιάζουν με τις πενικιλίνες. Ανήκουν μαζί με τις πενικιλίνες στην ομάδα των β – λακταμικών αντιμικροβιακών. Το βασικό χημικό τους μόριο είναι ένα ασθενές οργανικό οξύ, το 7- αμινοκεφαλοσπορανικό οξύ, που αποτελείται από ένα β- λακταμικό δακτύλιο ενωμένο στη θέση 6 με ένα διυδροθειαζινικό δακτύλιο αντί στη θέση 5 του θειαζολιδικού δακτυλίου των πενικιλινών.

Σε αντίθεση με τις πενικιλίνες οι κεφαλοσπορίνες δεν επηρεάζονται από τη δράση της πενικιλινάσης (β- λακταμάση που παράγεται από τους σταφυλόκοκκους). Οι περισσότερες όμως απ' αυτές υδρολύονται από τα ένζυμα β-λακταμάσες που παράγονται από τα Gram αρνητικά βακτηρίδια.

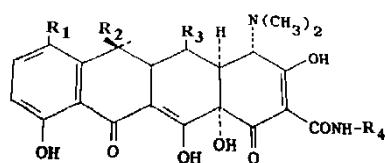
Κατάταξη κεφαλοσπορίνων.

Με βάση την ανθεκτικότητα τους στα αδρανοποιητικά ένζυμα β-λακταμάσες και το φάσμα δράσης τους οι κεφαλοσπορίνες χωρίζονται σε 3 γενεές. Όλες παράγονται ημισυνθετικά με την προσθήκη διάφορων οργανικών χημικών ομάδων στη θέση R₁ και R₂ του 7- αμινοκεφαλοσπορανικού οξέος.



7.5.4 ΤΕΤΡΑΚΥΚΛΙΝΕΣ (Tetracyclines)

Οι τετρακυκλίνες είναι αντιμικροβιακοί παράγοντες με ευρύ φάσμα δράσης που ενώ έχουν τα ίδια αντιμικροβιακά χαρακτηριστικά, διαφέρουν ως προς τις φαρμακοκινητικές τους ιδιότητες.



Φυσικοχημικές ιδιότητες – Κατάταξη.

Ο βασικός χημικός πυρήνας των τετρακυκλινών είναι παράγωγο του ναφθαλενίου και αποτελείται από 4 δακτυλίους, γι' αυτό ονομάστηκαν "τετρακυκλίνες".

Ονομασία	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Τετρακυκλίνη	-H	CH ₃ -OH	-H	-H
Οξυτετρακυκλίνη	-H	CH ₃ -OH	-OH	-H
Χλωροτετρακυκλίνη	-Cl	CH ₃ -OH	-H	-H
Ρολιτετρακυκλίνη	-H	CH ₃ -OH	-H	-CH ₂ -N-
Μετακυκλίνη	-H	CH ₂	-OH	-H
Δοξυκυκλίνη	-H	CH ₃	-OH	-H

Η ονομασία τετρακυκλίνη ανήκει στην ξεχωριστή ημισυνθετική ουσία τετρακυκλίνη (tetracycline), που έδωσε και το όνομα σ' ολόκληρη την ομάδα. Οι πρώτες φυσικές τετρακυκλίνες ήταν η οξυτετρακυκλίνη (oxytetracycline) και η χλωροτετρακυκλίνη (chlortetracycline). Η οξυτετρακυκλίνη απομονώθηκε από το στρεπτομύκητα εδάφους *Streptomyces nimosus*, γι' αυτό πήρε και την εμπορική ονομασία Terramycin (Terra = έδαφος) ενώ η χλωροτετρακυκλίνη απομονώθηκε από το στρεπτομύκητα *Streptomyces aureofaciens*, γι' αυτό πήρε την εμπορική ονομασία Aurromycin (Χρυσομυκίνη Aurro = χρυσός).

Οι σημαντικότερες τετρακυκλίνες καταγράφονται στον πίνακα 7.3 που ακολουθεί.

Πίν.7.4 Κατηγορίες Τετρακυκλινών

ΦΥΣΙΚΕΣ ΤΕΤΡΑΚΥΚΛΙΝΕΣ	ΗΜΙΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΤΕΤΡΑΚΥΚΛΙΝΕΣ
• Οξυτετρακυκλίνη (Oxytetracycline) • Χλωροτετρακυκλίνη (Chlortetracycline) • Διμεθυλχλωροτετρακυκλίνη (Dimethylchlortetracycline)	• Τετρακυκλίνη (Tetracycline) • Δοξυκυκλίνη (Doxytetracycline) • Μετακυκλίνη (Methacycline) • Ρολιτετρακυκλίνη (Rolitetracycline) • Μινοκυκλίνη (Minocycline) • Δεμεκλοκυκλίνη (Demeclocycline)

Όλες οι τετρακυκλίνες είναι αμφοτερικές ουσίες. Σχηματίζουν εύκολα άλατα τόσο με οξέα, όσο και με βάσεις. Το συνηθέστερο άλας είναι το υδροχλωρικό. Είναι ασταθείς σε υδατικά διαλύματα ιδιαίτερα σε υψηλές τιμές pH (7,0 – 8,5). Γενικά διαλύονται δύσκολα στο νερό με εξαίρεση τη ρολιτετρακυκλίνη.

Για την αύξηση της σταθερότητας των ενέσιμων διαλυμάτων της οξυτετρακυκλίνης χρησιμοποιείται διαλύτης προπιλενικής γλυκόλης και πολυβινυλοπυρρολιδόνης σε ελαιώδη διαλύματα.

Απ' όλες τις τετρακυκλίνες η δοξυκυκλίνη και μινοκυκλίνη παρουσιάζουν τη μεγαλύτερη διεισδυτικότητα, γιατί είναι οι περισσότερο λιποδιαλυτές. Αυτό εξηγεί και την καλύτερη δράση τους έναντι του *Staphylococcus aureus*.

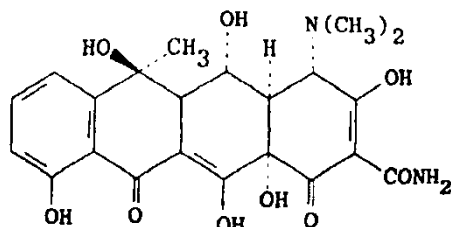
Τέλος, οι τετρακυκλίνες σχηματίζουν σταθερά δυσδιάλυτα σύμπλοκα (χηλικές ενώσεις) με τα μεταλλικά ιόντα ασβέστιο, μαγνήσιο, σίδηρο, γεγονός το οποίο μειώνει αισθητά την απορρόφησή τους από τον εντερικό σωλήνα, σε περίπτωση ταυτόχρονης χορήγησης τους με αντιόξινα ή με την τροφή, στην οποία περιέχεται αυξημένη ποσότητα των ιόντων αυτών.

7.5.5 ΟΞΥΤΕΤΡΑΚΥΚΛΙΝΗ (Oxytetracycline)

Η οξυτετρακυκλίνη απομονώθηκε από στελέχη του *Streptomyces rimosus*. Ίσως να μην είναι υπερβολή να λεχθεί ότι η οξυτετρακυκλίνη είναι ο πλέον πολυχρησιμοποιημένος αντιμικροβιακός παράγοντας στην κτηνιατρική πρακτική.

Οι γαστρεντερικές και πνευμονικές λοιμώξεις αποτελούν τις σημαντικότερες ενδείξεις χρήσης της οξυτετρακυκλίνης.

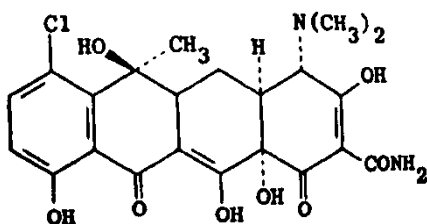
Η από του στόματος χορήγηση της είτε υπό μορφή υδατοδιαλυτής σκόνης είτε υπό μορφή φαρμακούχου προμείγματος με την τροφή θεωρείται ιδιαίτερα κατάλληλη για την αντιμετώπιση των γαστρεντερικών λοιμώξεων, κυρίως των χοίρων και των πτηνών, που οφείλονται σε διάφορα στελέχη *Escherichia coli* και *Salmonella spp.* Η μη ολική απορρόφηση της οξυτετρακυκλίνης από το γαστρεντερικό επιτρέπει στην ποσότητα που παραμένει στο γαστρεντερικό σωλήνα να εκδηλώνει τοπική αντιμικροβιακή δράση. Επιπλέον η παρεντερική της χορήγηση εξασφαλίζει σημαντική συγκέντρωση στο γαστρεντερικό σωλήνα λόγω της απέκκρισης της σε ενεργό μορφή με τη χολή.



7.5.6 ΧΛΩΡΟΤΕΤΡΑΚΥΚΛΙΝΗ (CHLORTETRACYCLIN)

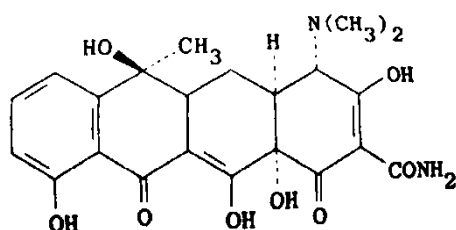
Η χλωροτετρακυκλίνη ήταν το πρώτο στη σειρά αντιμικροβιακό της ομάδας των τετρακυκλινών που ανακαλύφθηκε. Απομονώθηκε από το στρεπτομύκητα *Streptomyces aureofaciens*. Πρόκειται για άοσμη κρυσταλλική σκόνη κίτρινου χρώματος, δυσδιάλυτη στο νερό, με πολύ πικρή γεύση. Λόγω του χρυσίζοντος χρώματος πήρε το όνομα χρυσομυκίνη (Auromycin).

Η χλωροτετρακυκλίνη δεν χορηγείται παρεντερικά λόγω του έντονου ερεθισμού που προκαλεί στο σημείο της έγχυσης. Χορηγείται από το στόμα για την αντιμετώπιση των ίδιων λοιμώξεων που αντιμετωπίζονται με την οξυτετρακυκλίνη. Το φάσμα δράσης της χλωροτετρακυκλίνης δε διαφέρει από εκείνο της οξυτετρακυκλίνης.



7.5.7 ΤΕΤΡΑΚΥΚΛΙΝΗ (Tetracycline)

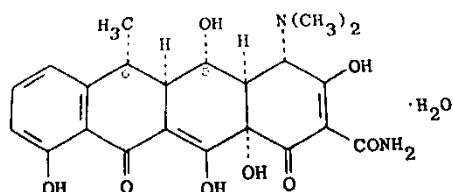
Παρόλο που η χλωροτετρακυκλίνη και η οξυτετρακυκλίνη είναι παράγωγα της τετρακυκλίνης ωστόσο η τετρακυκλίνη ανακαλύφθηκε αργότερα απ' αυτές, όταν δύο ανεξάρτητοι ερευνητές κατέληξαν σ' αυτήν ύστερα από αποδόμηση της οξυτετρακυκλίνης και χλωροτετρακυκλίνης. Η τετρακυκλίνη έχει το ίδιο φάσμα δράσης με την οξυτετρακυκλίνη και χλωροτετρακυκλίνη.



7.5.8 ΔΟΞΥΚΥΚΛΙΝΗ (Doxycycline)

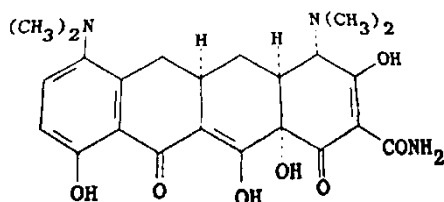
Η δοξυκυκλίνη είναι ημισυνθετικό παράγωγο της οξυτετρακυκλίνης. Μαζί με τη μινοκυκλίνη συγκαταλέγονται στις τετρακυκλίνες παρατεταμένης δράσης. Αυτό το οφείλουν στις ιδιαίτερες φαρμακοκινητικές τους ιδιότητες. Συγκεκριμένα διακρίνονται για τον πολύ υψηλό βαθμό απορρόφησης (90%) και την μεγάλη ημιπερίοδο αποβολής. Το τελευταίο οφείλεται στον υψηλό βαθμό πρωτεϊνικής σύνδεσης που ανέρχεται σε 90% σε αντίθεση με εκείνο της οξυτετρακυκλίνης και τετρακυκλίνης που είναι 30 και 60 % αντίστοιχα. Λόγω των λιποδιαλυτών τους ιδιοτήτων κατανέμονται πολύ καλά στα υγρά και τους ιστούς, ενώ είναι οι μόνες μεταξύ των οξυτετρακυκλινών που διαπερνούν τον αιμοεγκεφαλικό φραγμό. Ανιχνεύονται επίσης στο σάλιο και τα δάκρυα.

Η δοξυκυκλίνη δεν αποβάλλεται με τον ίδιο τρόπο όπως οι υπόλοιπες τετρακυκλίνες αλλά απομακρύνεται κυρίως με τα κόπρανα σε ανενεργό χηλική μορφή. Με αυτό τον τρόπο έχει ελάχιστη επίδραση στην εντερική μικροβιακή χλωρίδα. Σε ζώα που βρίσκονται σε περίοδο γαλουχίας αποβάλλεται και με το γάλα.



7.5.9 MINOKYKΛΙΝΗ (Minocycline)

Η μινοκυκλίνη έχει σχεδόν τις ίδιες φαρμακοκινητικές και φαρμακοδυναμικές ιδιότητες με εκείνες τις δοξυκυκλίνης. Ανήκει και αυτή στις τετρακυκλίνες παρατεταμένης δράσης λόγω του μεγάλου χρόνου υποδιπλασιασμού. Αξίζει ίσως να μνημονευθεί ότι η μινοκυκλίνη είναι η μόνη τετρακυκλίνη που δεν δίνει πλήρη διασταυρούμενη αντοχή. Το υψηλό κόστος περιορίζει τη χρήση της στην κτηνιατρική.



7.6 ΑΜΙΝΟΓΛΥΚΟΣΙΔΕΣ (Aminoglycosides)

Η ομάδα αυτή περιλαμβάνει αντιμικροβιακούς παράγοντες με παραπλήσια χημικά, αντιμικροβιακά, φαρμακοκινητικά και τοξικολογικά χαρακτηριστικά.

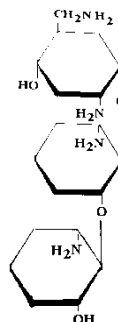
Χημικώς αποτελούνται από αμινοσάκχαρα που συνδέονται μεταξύ τους με γλυκοζιτικό δεσμό (- O -).

Οι αμινοομάδες (H_2N) καθιστούν τις αμινογλυκοσίδες οργανικές βάσεις. Είναι σταθερές σε αλκαλικό περιβάλλον. Οι υδροξυλικές ομάδες (OH) προσδίδουν στις αμινογλυκοσίδες υψηλή υδατοδιαλυτότητα και πολύ φτωχή λιποδιαλυτότητα. Γι' αυτό δεν περνάνε εύκολα τους βιολογικούς φραγμούς. Κατά συνέπεια έχουν μικρό όγκο κατανομής (V_d).

Απορροφώνται ελάχιστα από το έντερο. Χορηγούνται παρεντερικά, συνήθως ενδομυϊκά. Οι αμινογλυκοσίδες έχουν πολύ στενό θεραπευτικό δείκτη και η υπερδοσολογία ή η παρατεταμένη χορήγηση προκαλεί ωτοτοξικά και νεφροτοξικά φαινόμενα.

Κατάταξη αμινογλυκοσιδών.

Οι αμινογλυκοσίδες διακρίνονται σε στενού και ευρέος φάσματος σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα 7.5



Πίν.7.5 Κατηγορίες Αμινογλυκοσιδών

Στενού Φάσματος	Ευρέος Φάσματος
Δραστικές έναντι κατά Gram αρνητικών (Σταφυλόκοκκοι ευαίσθητοι)	Δραστικές έναντι κατά Gram θετικών και αρνητικών. Χρησιμοποιούνται κυρίως κατά των Gram αρνητικών, E.coli, Salmonella spp., Klebsiella spp., Enterobacter, Proteus.
Streptomycin (Στρεπτομυκίνη) Dihydrostreptomycin (Δωδροστρεπτομυκίνη)	Neomycin (Νεομυσίνη), Spectinomycin (Σπεκτινομυκίνη), Framycetin ή Neomycin B(Φραμυκετίνη ή Νεομυκίνη B), Apramycin (Απραμυκίνη) , Kanamycin (Καναμυκίνη), Dibekacin (Διβεκακίνη), Gentamicin (Γενταμικίνη), Netilmicin (Νετιλμικίνη), Tobramycin (Τοβραμυκίνη), Paromomycin (Παρομομυκίνη), Amikacin (Αμικακίνη), Sisomycin (Σισομυκίνη).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8

ΤΡΟΠΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ

8.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η απορρόφηση, η κατανομή και η αποβολή των αντιβιοτικών ρυθμίζεται από φυσικοχημικές διαδικασίες. Σκοπός της χρησιμοποίησης των αντιβιοτικών είναι η καταπολέμηση γενικών ή τοπικών μολύνσεων με την εισχώρηση του αντιβιοτικού μέσω του αίματος, στο σημείο της μόλυνσης. Έτσι το αντιβιοτικό αφού απορροφηθεί, μεταφέρεται με το αίμα από το σημείο εισόδου στην εστία της μόλυνσης όπου διαχέεται στο μολυσμένο ιστό.

Η φύση του αντιβιοτικού, ο τρόπος της χορήγησης του, και οι ουσίες του αίματος που το δεσμεύουν είναι οι πιο σπουδαίοι παράγοντες που ρυθμίζουν την μεταφορά του. Επί πλέον, η συγκέντρωσή του στο αίμα επηρεάζεται από τη διαδικασία του μεταβολισμού, της έκκρισης και της ανενεργοποίησής του.

Τις θεραπευτικές ιδιότητες ενός αντιβιοτικού εκφράζουν οι ακόλουθοι κύριοι παράμετροι :

A) Χρόνος εμφάνισης του αντιβιοτικού (Appearance Time). Η περίοδος μεταξύ της εφαρμογής και της στιγμής που θα φανούν τα πρώτα ίχνη αντιβιοτικού.

B) Μέγιστη συγκέντρωση (Peak concentration – PC). Η υψηλότερη εμφανής συγκέντρωση στο υπόστρωμα.

Γ) Χρόνος που απαιτείται για να φθάσει στο μέγιστο της συγκέντρωσης (TRC). Ο χρόνος που απαιτείται από τη στιγμή της εφαρμογής του αντιβιοτικού μέχρι να φθάσει στην υψηλότερη συγκέντρωση.

Δ) Θεραπευτική περίοδος (Therapeutic Period – TP). Η χρονική περίοδος κατά την οποία η συγκέντρωση είναι επαρκής για τη θεραπεία.

E) Χρόνος ελάττωσης (Elimination Time ET 50). Ο χρόνος που απαιτείται για να μειωθεί κατά 50% η μέγιστη συγκέντρωση.

Z) Χρόνος τελείας αποβολής (Clearance Time CT). Ο χρόνος από την εφαρμογή του αντιβιοτικού μέχρι την εξάλειψη και των τελευταίων ιχνών του αντιβιοτικού.

Η θεραπευτική αξία του αντιβιοτικού εξαρτάται από τη συγκέντρωσή του στο αίμα. Η επίτευξη της απαιτούμενης συγκέντρωσης γρήγορα και η παράταση της θεραπευτικής περιόδου κατά τον επιθυμητό χρόνο μπορεί να ρυθμιστεί με τον τρόπο, την μορφή καθώς και τη δόση, ενώ παράλληλα μπορούν να χρησιμοποιηθούν άλλες ουσίες ώστε να επηρεαστεί η απέκκριση και απορρόφηση. Βέβαια, είναι απαραίτητο να είναι γνωστή η συμπεριφορά του αντιβιοτικού στο υπό θεραπεία ζώο και κάτω από ποιες συνθήκες ώστε να συμπεράνει κανείς για το πόση θα είναι η θεραπευτική συγκέντρωση και ποιά τα αναμενόμενα ποσοστά υπολειμμάτων.

Η απορρόφηση και η αποβολή κάθε αντιβιοτικού εξαρτάται από τον τρόπο εφαρμογής του και από τις φυσικοχημικές ιδιότητες του.

Για τις πενικιλλίνες τις ανθεκτικές στα οξέα η εφαρμογή δια του στόματος βοηθά την γρήγορη απορρόφησή τους στο δωδεκαδάκτυλο. Η αποβολή των πενικιλλινών λαμβάνει χώρα μέσω των νεφρών. Οι φαρμακοκινητικές ιδιότητες της στρεπτομυκίνης και διυδροστρεπτομυκίνης θεωρούνται ιδανικές. Μόνο ένα μικρό ποσοστό από αυτά τα αντιβιοτικά απορροφάται στη γαστρεντερική χώρα. Κατά την παρεντερική εφαρμογή τους ένα 30% της δόσης του αντιβιοτικού δεσμεύεται από τις πρωτεΐνες του ορού του πλάσματος και το υπόλοιπο 50-60% της δόσης εξέρχεται μέσω των νεφρών σε 24 ώρες, ενώ οι άλλοι οδοί απέκκρισης όπως η χολή, εντερική χώρα, ιδρώτας, και γάλα είναι πολύ μικρής σημασίας.

Οι τετρακυκλίνες δεν απορροφούνται εντελώς αν χορηγηθούν από το στόμα. Την απορρόφηση στην εντερική χώρα εμποδίζει το ασβέστιο ενώ αντίθετα το κιτρικό οξύ, η γλυκοζαμίνη, και το τερεθαλικό οξύ βοηθούν στην απορρόφησή του. Η μερική εναπόθεση των τετρακυκλινών στα κόκκαλα και δόντια είναι ένα χαρακτηριστικό αυτών των φαρμάκων που πρέπει να προσέξουμε. Μετά από χορήγηση δια του στόματος ένα ποσοστό 75-95% της δόσης εξέρχεται με τα περιττώματα και 10-20% μέσω των νεφρών.

Η χλωραμφενικόλη απορροφάται γρήγορα μετά από τη χορήγηση δια του στόματος και παρεντερική εφαρμογή. Όταν χορηγείται από το στόμα διασπώνται οι εστέρες στην γαστρεντερική χώρα και απορροφάται η ελεύθερη χλωραμφενικόλη. Σχεδόν το 60% της δόσης δεσμεύεται από την πρωτεΐνη του αίματος από το μόριο της αλβουμίνης. Η αποβολή της χλωραμφενικόλης λαμβάνει χώρα μέσω των νεφρών, μέρος αυτής βρίσκεται σε ενεργό μορφή, ενώ άλλο μέρος δεσμεύεται από το γλυκουρονικό οξύ. Ένα μικρό μέρος εξέρχεται μέσω της χολής.

Οι σουλφοναμίδες κυρίως χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία της οξείας μαστίτιδας και χορηγούνται ενδοφλεβικά διότι προκαλούν ερεθισμό στους ιστούς. Μόνο ένας μικρός αριθμός σουλφοναμίδων δεν ερεθίζουν το μαστό και είναι κατάλληλοι για ενδομαστική εφαρμογή. Η απέκκρισή τους στο γάλα επηρεάζεται από τους ίδιους παράγοντες που επηρεάζουν και τα άλλα αντιβιοτικά. Μετά από ενδομαστική ένεση αποβάλλονται σε 24 ώρες.

8.2 ΤΡΟΠΟΙ ΕΙΣΟΔΟΥ ΤΩΝ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ ΣΤΟ ΓΑΛΑ

Ο όρος ανασταλτικές ουσίες χρησιμοποιείται για να διακρίνουμε ουσίες που δρουν βακτηριοστατικά ή βακτηριοκτόνα.

Μπορούμε να τις διακρίνουμε σε δύο ομάδες σ' αυτές που σχηματίζονται στο γάλα και αυτές που χορηγούνται στο ζώο.

Στην πρώτη περίπτωση ανήκουν οι ενδογενείς ουσίες του γάλακτος που δρουν ανασταλτικά ενώ στη δεύτερη ανασταλτικές ουσίες και κυρίως τα αντιβιοτικά που προέρχονται από την καταπολέμηση ασθενειών και από τη διατροφή των ζώων.

8.3 ΑΝΑΧΑΙΤΙΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

Το πρόσφατα παραγόμενο γάλα από τον μαστό της αγελάδας περιέχει μερικές ουσίες ικανές να αναχαιτίσουν διάφορους μικροοργανισμούς. Τα κολοβακτηριοειδή αναχαιτίζονται από δύο ουσίες μία ειδική για την *E.coli* και μία άλλη δραστική για άλλα κολοβακτηριοειδή.

Η λακτενίνη είναι ο καλύτερος χαρακτηριστικός αναχαιτιστικός παράγοντας στο φρέσκο γάλα. Αυτή η ουσία διακρίνεται ηλεκτοφορετικά σε δυο κλάσματα L_1 που βρίσκεται αρχικά στο πρωτόγαλα και το L_2 που βρίσκεται στο γάλα μετά από θέρμανση στο 70°C . Η παστερίωση καταστρέφει το 50% της L_1 αλλά δεν επιδρά στην L_2 . Η λακτενίνη βρέθηκε ικανή να αναχαιτίσει τον *B. subtilis*, *Str. agalactiae*, *Str. dysgalactiae* και *Str. uberis* και ελαφρώς τον *L. helveticus*. Ο *Str. lactis* μικροοργανισμός που χρησιμοποιείται στη βιομηχανία για πολλές καλλιέργειες γαλακτοκομικών προϊόντων βρέθηκε ισχυρά ευαίσθητος στα δύο κλάσματα μαζί ($L_1 + L_2$) ευαίσθητος στη L_1 και λιγότερο στη L_2 .

Ο *Str. cremoris* (Whitehead 1966) βρέθηκε ότι παράγει πολυπεπτίδια τα οποία αναχαιτίζουν την ανάπτυξη άλλων γαλακτικών στρεπτοκόκκων. Αυτή η ανασταλτική ουσία ονομάστηκε «Διπλοκοκκίνη». Η Διπλοκοκκίνη είναι μια ουσία που αναστέλλει κάποια στελέχη του *Str. cremoris*, *Str. lactis* και *Str. aureus*. Είναι αντιβιοτική ουσία υδατοδιαλυτή, αδιάλυτη στην αιθανόλη και είναι σταθερή σε pH 4.0 στους 100°C αλλά όχι σε pH 6.0-7.0. Είναι μια πρωτεΐνη που περιέχει θείο ή φωσφόρο.

Ο *Str. lactis* παράγει την νιασίνη που αναχαιτίζει βακτήρια και ειδικά είδη των *Clostridium* και *Lactobacillus*. Οι σταφυλόκοκκοι είναι λιγότερο ευαίσθητοι τα δε αρνητικά κατά Gram βακτήρια παραμένουν ανεπηρέαστα.

Η νιασίνη αποτελείται από 4 ενεργά πολυπεπτίδια που ονομάστηκαν A,B,C και D. Τα κλάσματα A και B ενεργούν παρόμοια στον *Str. agalactiae* αλλά τα C και D μόνο κατά το 1/5 της δραστικότητας των δύο πρώτων. Αυτά συνίστανται από αμινοξέα. Η νιασίνη έχει M.B. 7000. Σε υγρή μορφή μπορεί να αποθηκευτεί χρόνια σε θερμοκρασία δωματίου χωρίς να χάσει την ενεργότητά της. Η σταθερότητά της εξαρτάται από το pH, τη θερμοκρασία και τη φύση του υποστρώματος. Σε όξινο διάλυμα αυξάνει την διαλυτότητά της καθώς επίσης και παρουσία πρωτεΐνης, πιθανόν λόγω απορρόφησης. Σε αλκαλικό διάλυμα ανενεργοποιείται, η δε ανενεργοποίηση αυτή ορισμένες φορές είναι αντιστρεπτή. Επίσης ανενεργοποιείται μερικώς από την πτυαλίνη και τελείως από την ακτινοβολία.

8.4 ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ

Στην περίπτωση αυτή σημαντικότερη και συχνότερη αιτία λήψης αντιβιοτικών από τα γαλακτοπαραγωγά ζώα είναι οι φλεγμονές του μαστού από διάφορες αιτίες (μαστίτιδες).

Η θεραπεία των μολύνσεων του μαστού με αντιβιοτικά μπορεί να εφαρμοστεί στις αγελάδες στην περίοδο της γαλακτοπαραγωγής και την ξηρά περίοδο.

Στην πρώτη περίπτωση η χορήγηση του αντιβιοτικού έχει σαν αποτέλεσμα την παρουσία υπολειμμάτων στο παραγόμενο γάλα. Αυτό έχει σαν συνέπεια προβλήματα αφ' ενός στην τεχνολογία του γάλακτος για την παρασκευή ωρισμένων προϊόντων και αφ'ετέρου προβλήματα στη δημσία υγεία. Συνήθως στην περίοδο της γαλακτοπαραγωγής για να αποφύγουμε την ύπαρξη υπολειμμάτων αντιβιοτικών για μεγάλο χρόνο στο γάλα, συνίσταται η χρήση αντιβιοτικών ταχείας απέκκρισης.

Στη δεύτερη περίπτωση δηλαδή όταν το ζώο βρίσκεται στην ξηρά περίοδο, με την εφαρμογή κάποιας θεραπείας αποφεύγουμε τον κίνδυνο της ύπαρξης υπολειμμάτων αντιβιοτικών στο γάλα. Η χρήση δε των αντιβιοτικών βραδείας απέκκρισης είναι πιο αποτελεσματική.

8.5 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΚΑΘΟΡΙΖΟΥΝ ΤΗΝ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ ΣΤΟ ΓΑΛΑ – ΧΡΟΝΟΣ ΑΠΕΚΚΡΙΣΗΣ.

Το διάστημα που μεσολαβεί από τη χορήγηση του αντιβιοτικού μέχρι την απέκκρισή του στο γάλα εξαρτάται από πολλούς παράγοντες οι οποίοι έχουν σχέση με το υπό θεραπεία ζώο και με το χορηγούμενο αντιβιοτικό.

Μερικοί από αυτούς είναι :

- α) το είδος του χορηγούμενου αντιβιοτικού,
- β) ο τρόπος προπαρασκευής του αντιβιοτικού και ειδικά οι φυσικές ιδιότητες του διαλύτη που χρησιμοποιήθηκε σαν βάση,
- γ) η δόση του χορηγούμενου αντιβιοτικού,
- δ) η ατομικότητα του ζώου και
- ε) ο τρόπος χορήγησης του αντιβιοτικού, δηλαδή αν δόθηκε από το στόμα, παρεντερικά ή ενδομαστικά. Στην περίπτωση που δόθηκε παρεντερικά παίζει ρόλο ο τρόπος χορήγησης δηλαδή υποδόρια, ενδοφλέβια, ενδομήτρια ή και ενδομυϊκά.

Γενικά το ποσό των αντιβιοτικών που απεκκρίνεται στο γάλα κυμαίνεται περίπου από 8-80% του ποσού του χορηγούμενου αντιβιοτικού. Τα μεγαλύτερα ποσοστά αντιβιοτικού στο γάλα απεκκρίνονται όταν το αντιβιοτικό χορηγείται από το μαστό. Το μεγαλύτερο ποσοστό απεκκρίνεται στο πρώτο άρμεγμα, ελαττούμενο συνεχώς στα επόμενα. Το 61% των υπολειμμάτων αντιβιοτικών στο γάλα προέρχεται μετά από ενδομαστική χορήγηση κατά το στάδιο της γαλακτοπαραγωγής, το 31% μετά από ενδομαστική χορήγηση στην ξηρή περίοδο, το 6% σε παρεντερική χορήγηση και το 2% σε άλλες αιτίες.

Φαίνεται ότι η απέκκριση του αντιβιοτικού από το μαστό, σχετίζεται με παράγοντες που ρυθμίζουν την διόδο του φαρμάκου μέσω των βιολογικών μεμβρανών των επιθηλιακών κυττάρων των κυψελίδων του μαστού, καθώς και με παράγοντες που καθορίζουν την φαρμακοδυναμική ισορροπία του στο σώμα του ζώου.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9

ΜΑΣΤΙΤΙΔΕΣ

9.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Μαστίτιδα ονομάζεται η ασθένεια του ζώου που οφείλεται στη μόλυνση του μαστού από παθογόνους μικροοργανισμούς και έχει σαν συνέπεια την παραγωγή αλλοιωμένης σύστασης γάλακτος, την παραγωγή γάλακτος με μεγάλο αριθμό παθογόνων μικροοργανισμών, τη μείωση της ποσότητας ή την πλήρη διακοπή του παραγόμενου γάλακτος, τη μόνιμη ή παροδική αλλοίωση των ιστών του μαστού και πολλές φορές το θάνατο του ζώου.

Ανάλογα με τον τρόπο εκδήλωσης της ασθένειας προτείνεται η διάκριση των περιπτώσεων της μαστίτιδας σε δύο κατηγορίες :

1. **Λανθάνουσα μαστίτιδα** : Παρατηρείται εμφάνιση παθογόνων μικροοργανισμών στο γάλα, αύξηση των λευκοκυττάρων, αλλοίωση της ποιότητας και μείωση της ποσότητας του παραγόμενου γάλακτος, αλλά όχι εξωτερικά συμπτώματα του μαστού.
2. **Οξεία μαστίτιδα** : Χαρακτηρίζεται από τα συμπτώματα της προηγούμενης περίπτωσης, επί πλέον όμως ο μαστός παρουσιάζει διόγκωση, υπεραιμία και πόνο σε κάθε επαφή. Το γάλα περιέχει μικρά ή μεγαλύτερα πήγματα και το χρώμα του είναι κίτρινο ή ρόδινο. Η μαστίτιδα είναι χρόνια όταν η φλεγμονή παραμένει για μήνες. Παραμένει σε λανθάνουσα μορφή και πολλές φορές εκδηλώνεται σε οξεία μορφή.

9.2 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΠΡΟΚΑΛΟΥΝ ΜΑΣΤΙΤΙΔΑ

Η εμφάνιση της ασθένειας εξαρτάται από:

- Το είδος του ζώου
- Το είδος των παθογόνων μικροοργανισμών
- Τις συνθήκες του περιβάλλοντος που ζουν και αναπτύσσονται τα ζώα.

Είδος του ζώου.

Η αντίσταση του ζώου στην εκδήλωση της ασθένειας εξαρτάται από το είδος, την ηλικία, την ατομικότητα του ζώου, το στάδιο της γαλακτοπαραγωγής, την ποσότητα του παραγόμενου γάλακτος και την ανατομική και φυσιολογική κατάσταση του μαστού (μακρύς, μαστός, τραύματα μαστού κ.ά.).

Οι παθογόνοι μικροοργανισμοί.

Οι μικροοργανισμοί που συνήθως προκαλούν μαστίτιδα είναι οι στρεπτόκοκκοι, οι σταφυλόκοκκοι που παράγουν κουαγκουλάση, η *E.coli* και το *Corynebacterium pyogenes*.

Από τους Στρεπτόκοκκους ο *Str.agalactiae* θεωρείται ο πιο συχνά υπεύθυνος μικροοργανισμός που προκαλεί μαστίτιδα. Επίσης ένα μεγάλο ποσοστό μολύνσεων οφείλεται στον *Str. dysgalactiae* και τον *Str. uberis*.

Ο *Str.agalactiae* είναι εύκολο να εξαλειφθεί διότι αφ' ενός μεν επιζεί σε περιορισμένη έκταση στο περιβάλλον, αφ' ετέρου είναι ευαίσθητος στην πενικιλίνη. Ο *Str. uberis* υπάρχει σε μεγάλη έκταση στο περιβάλλον του ζώου και συνεπώς του μαστού, ο δε *Str. dysgalactiae* στη φύση.

Η *E.coli* και ορισμένα άλλα είδη της οικογένειας *Enterobacteriaceae*, το *C.pyogenes* και η *P. aeruginosa*, προκαλούν το 10% περίπου των μολύνσεων. Αυτοί οι οργανισμοί βρίσκονται στο νερό, στη στρώμη του ζώου, στις ζωοτροφές και γενικά στο περιβάλλον του σταύλου με αποτέλεσμα να είναι δύσκολο να περιορίσει κανείς τη μετάδοσή τους.

Έρευνες που έγιναν στην Ελλάδα για τις σταφυλοκοκκικές μαστίτιδες των αιγοπροβάτων, οδήγησαν στο συμπέρασμα, ότι αίτια της λανθάνουσας και οξείας μαστίτιδας θεωρούνται οι *S. aureus*, *S. epidermidis* και ορισμένοι μικρόκοκκοι.

Ο *S. aureus* στο αρχικό στάδιο της ασθένειας εξαλείφεται εύκολα όταν όμως διαπεράσει τους ιστούς δεν είναι εύκολη η θεραπεία του.

Με την εισαγωγή των αμελκτικών μηχανών και την αυξημένη χρήση των αντιβιοτικών παρατηρήθηκε μείωση των μαστίτιδων που προκαλούνται από στρεπτόκοκκους και μια αύξηση αυτών που προκαλούνται από σταφυλόκοκκους.

Οι παθογόνοι αυτοί μικροοργανισμοί πρέπει όχι μόνο να εισέλθουν στο μαστό αλλά και να πολλαπλασιαστούν σε αριθμούς ικανούς να προκαλέσουν τη φλεγμονή του. Εισέρχονται κυρίως από τον αγωγό της θηλής και σπανιότερα από τα τραύματα του μαστού, το αίμα και τη λέμφο. Για την είσοδο στο εσωτερικό του μαστού των μικροοργανισμών που υπάρχουν στη θηλή του, βοηθά η διαφορά πίεσης μέσα και έξω από τον μαστό που σχηματίζεται κατά το άρμεγμα. Οι μικροοργανισμοί αυτοί, αν το εσωτερικό περιβάλλον του μαστού είναι ευνοϊκό, αρχίζουν να πολλαπλασιάζονται και να παράγουν τοξίνες που καταστρέφουν τον αδενικό ιστό του μαστού και αρχίζει η εκδήλωση της ασθένειας.

Συνθήκες περιβάλλοντος.

Σε σχέση με τους δύο παραπάνω παράγοντες το περιβάλλον επιδρά έμμεσα ή άμεσα στη δημιουργία μαστίτιδας. Οι παράγοντες του περιβάλλοντος όπως, η τροφή, ο ενσταυλισμός, το κλίμα, οι υγιεινές συνθήκες διαβίωσης και ο άνθρωπος παίζουν σημαντικό ρόλο στη δημιουργία της μόλυνσης. Με σωστά και συστηματικά προγράμματα υγιεινής μπορεί να προληφθεί η μόλυνση του μαστού σε μεγάλο βαθμό.

9.3 ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΕΣ ΣΥΝΕΠΕΙΕΣ ΜΑΣΤΙΤΙΔΑΣ

Η μαστίτιδα είναι ασθένεια των γαλακτοπαραγωγών ζώων με βαρύ οικονομικό κόστος εφόσον δεν παρθούν τα κατάλληλα μέτρα για τον έλεγχο της. Αν υποθεθεί ότι

το ένα τέταρτο του μαστού μιας αγελάδας προσβληθεί από μαστίτιδα μια γαλακτική περίοδο η απόδοση του ζώου σε γάλα μειώνεται κατά 10-12% για την περίοδο αυτή. Αν επιπλέον στο κόστος μείωσης της γαλακτοπαραγωγής προστεθεί και το κόστος θεραπείας με αντιβιοτικά καταλαβαίνει κανείς εύκολα πόσο απαραίτητη είναι η συστηματική εφαρμογή ενός προγράμματος ελέγχου μαστίτιδας.

Η Διεθνής Ομοσπονδία υπολογίζει ότι η μείωση της παραγωγής γάλακτος από μαστίτιδες σε διάφορες χώρες της Ευρώπης και εκτός αυτής, ισοδυναμεί με το 10% του συνόλου της ετήσιας γαλακτοπαραγωγής των χωρών αυτών. Η μετατροπή του ποσοστού αυτού σε αριθμό κάνει αμέσως αισθητό το μέγεθος της οικονομικής ζημιάς που δέχεται η αγροτική οικονομία.

Για τη διαπίστωση της μαστίτιδας χρησιμοποιούνται διάφορες τεχνικές, από απλές δοκιμές όπως η δοκιμή της Καλιφόρνιας, η δοκιμή Wiscosin, όσο και σύγχρονες συσκευές με ηλεκτρονική αρίθμηση των λευκοκυττάρων, όπως η συσκευή Fossomatic η οποία μετράει τα λευκοκύτταρα μετά από χρώση τους με κατάλληλη χρωστική.

9.4 ΜΕΤΡΑ ΥΓΙΕΙΝΗΣ

Για να αποφύγουμε αυτές τις πηγές που προκαλούν μολύνσεις συνίστανται τα παρακάτω μέτρα υγιεινής :

1. Πρέπει να απολυμαίνεται η θηλή με ένα δραστικό απολυμαντικό μετά από κάθε άμελξη.
2. Πρέπει να γίνεται στο τέλος κάθε γαλακτικής περιόδου δηλαδή στην ξηρά περίοδο του ζώου εφαρμογή αντιβιοτικής θεραπείας.
3. Πρέπει να εξετάζεται το πρώτο γάλα που βγαίνει από τη θηλή σε κάθε άμελξη.
4. Στις περιπτώσεις οξείας μαστίτιδας πρέπει να γίνεται έγκαιρα διάγνωση και πλήρης θεραπεία.
5. Να ελέγχονται τακτικά οι αμελκτικές μηχανές και να διορθώνονται τυχόν σφάλματα έγκαιρα.
6. Να διατηρείται καθαρός ο χώρος που ζει και κινείται το ζώο, ο σταύλος, η στρωμνή, τα χέρια του αμελκτή, τα κύπελλα των αμελκτικών μηχανών και γενικά το περιβάλλον του ζώου.

9.5 ΞΗΡΗ ΠΕΡΙΟΔΟΣ ΑΓΕΛΑΔΩΝ

Όταν η αγελάδα μπαίνει στην ξηρή περίοδο τείνει να έχει μεγαλύτερο αριθμό νέων μολύνσεων ειδικά τις πρώτες βδομάδες από την τελευταία άμελξη. Οι μολύνσεις στην ξηρή περίοδο αυξάνουν με την ηλικία του ζώου. Το πλύσιμο του μαστού και η θεραπεία με αντιβίωση θεωρούνται αποτελεσματικά για τη μείωση των νέων μολύνσεων, αν και η επιτυχία ποικίλλει ανάλογα με τον τύπο του παθογόνου που την προκάλεσε. Η θεραπεία στην ξηρή περίοδο έχει μερικά πλεονεκτήματα. Διότι αφενός μεν αποφεύγεται ο κίνδυνος υπολειμμάτων αντιβιοτικών στο γάλα αφετέρου

εφαρμόζοντας ένα σύστημα απλής θεραπείας σ' όλα τα ζώα αποφεύγουμε ίσως τον κίνδυνο απώλειας μολυσμένων αγελάδων για τις οποίες δεν έγινε σωστή διάγνωση και θεραπεία.

Στην Μ. Βρετανία και Β. Ιρλανδία κατά την ξηρή περίοδο χρησιμοποιούν αντιβιοτικά ξηρής περιόδου για να εμποδίσουν τη θερινή μαστίτιδα, εφαρμόζοντας θεραπεία σε κάθε αγελάδα. Τα αποτελέσματα αυτής της πρακτικής φάνηκαν ευνοϊκά αν και δεν εξαλείφθηκαν όλες οι περιπτώσεις θερινής μαστίτιδας. Σε περιοχές με υψηλό κίνδυνο μόλυνσης και όπου υπάρχει εκτεταμένη ξηρή περίοδος μπορεί να ακολουθήσει και μια δεύτερη θεραπεία στα μισά της ξηρής περιόδου. Σε μερικές αγελάδες εφαρμόζεται θεραπεία πριν τον οίστρο για να εμποδίσουν οξείες περιπτώσεις μαστίτιδας αυτή την εποχή. Κάτω απ' αυτές τις συνθήκες είναι αναγκαία η χρήση αντιβιοτικών ταχείας αποβολής για να διασφαλισθεί η περίπτωση της παραγωγής γάλακτος ελεύθερου αντιβιοτικών. Αυτά είναι κάποια μέτρα πρόληψης, για να λυθεί όμως καλύτερα το πρόβλημα της μαστίτιδας πρέπει να διορθωθούν λάθη κατά τη διαχείριση των ζώων.

9.6 ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΤΗΣ ΜΑΣΤΙΤΙΔΑΣ

Η χορήγηση των αντιβιοτικών μπορεί να γίνει ενδομαστικά, παρεντερικά και από το στόμα.

Ενδομαστική θεραπεία.

Ο συνήθης τρόπος για τη χορήγηση των αντιβιοτικών στη θεραπεία της μαστίτιδας είναι η ενδομαστική χορήγηση με παρασκευάσματα που έχουν μορφή υδατικών διαλυμάτων, ελαιωδών αιωρημάτων και αλοιφών.

Μετά την έκχυση του παρασκευάσματος αρχίζει η απορρόφηση του αντιβιοτικού της οποίας η ένταση εξαρτάται κυρίως από τη διαπερατότητα του στους ιστούς του μαστού. Η απορρόφηση και ακολούθως η διαπερατότητα εξαρτώνται από το ζώο και τον τύπο του παρασκευάσματος. Μετά την έκχυση του αντιβιοτικού στο μαστό οι παράγοντες που επηρεάζουν τη σχέση αντιβιοτικού και παθογόνων μικροοργανισμών διακρίνονται στα παρακάτω τρία στάδια :

- **Φαρμακευτικό στάδιο** : Είναι το στάδιο κατά το οποίο συμβαίνει ο διαχωρισμός του αντιβιοτικού από τα υπόλοιπα συστατικά του παρασκευάσματος και μεταφορά στην υδατική και λιπαρή φάση του γάλακτος. Στο στάδιο αυτό συμβαίνει και μερική απώλεια του αντιβιοτικού γιατί απενεργοποιείται το ενεργό του τμήμα πριν διαχυθεί σ' όλο τον όγκο του γάλακτος, μέσα στις αδενικές κυψελίδες και στους γαλακτοφόρους αγωγούς.
- **Φαρμακοκινητικό στάδιο** : Σ' αυτό το στάδιο το αντιβιοτικό δεσμεύεται κυρίως από την υδατική φάση του γάλακτος ή από τις εκκρίσεις του μαστού κατά την ξηρή περίοδο και κατανέμεται στους ιστούς του μαστού.
- **Φαρμακοδυναμικό στάδιο** : Είναι το στάδιο που περιλαμβάνει την επίδραση του αντιβιοτικού στους μικροοργανισμούς του μαστού. Η

αποτελεσματικότητα του αντιβιοτικού θα ήταν γνωστή αν γνωρίζαμε τη συγκέντρωση του στο μολυσμένο ιστό και την ευαισθησία των μικροοργανισμών. Ο προσδιορισμός όμως της συγκέντρωσης του αντιβιοτικού στους ιστούς με διάφορες μεθόδους δεν έδωσε χρήσιμα αποτελέσματα.

Μια γενική παρατήρηση δείχνει ότι κατά το φαρμακοκινητικό στάδιο τα αντιβιοτικά που χορηγήθηκαν από το στόμα και απορροφήθηκαν εύκολα από το πεπτικό σύστημα έδωσαν υψηλότερα επίπεδα συγκέντρωσης στους ιστούς απ' ότι εκείνα με μικρή απορρόφηση. Τα αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται με ενδομαστική χορήγηση απορροφούνται στο μαστό. Η απορρόφηση μερικών αντιβιοτικών και κυρίως της πολυμυξίνης Β, κολιστίνης, νεομυκίνης, σπιραμυκίνης και μερικών τετρακυκλινών είναι πολύ μεγάλη.

Η δυνατότητα απορρόφησης του αντιβιοτικού και η επίδραση του στους μικροοργανισμούς διαπιστώνεται κυρίως μετά από κλινική εμπειρία. Όταν η ενδομαστική θεραπεία γίνεται στη διάρκεια της γαλακτοπαραγωγής θα πρέπει τα αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται να έχουν μικρή υπολειμματική δράση. Ενώ στην ξηρά περίοδο οι υψηλές συγκεντρώσεις του αντιβιοτικού στο μαστό είναι πλεονέκτημα.

Παρεντερική θεραπεία

Η ενδομαστική θεραπεία είναι η κατάλληλη επιλογή για τις λανθάνουσες και χρόνιες μαστίτιδες. Στην περίπτωση όμως της οξείας μαστίτιδας η παρεντερική θεραπεία φαίνεται η πιο αποτελεσματική σε σχέση με την ενδομαστική. Αυτό πιθανόν να οφείλεται στην φτωχή κατανομή του αντιβιοτικού λόγω του διογκωμένου παρεγχύματος στον μολυσμένο ιστό του μαστού μετά από την ενδομαστική χορήγηση.

Από κλινικής πλευράς, η παρεντερική θεραπεία θεωρείται επιτυχής εφόσον επιτευχθεί μια πλήρης μεταφορά του αντιβιοτικού από το αίμα στο γάλα. Αυτό πετυχαίνεται με τη διάχυση του αντιβιοτικού μέσω των μεμβρανών των επιθηλιακών κυττάρων των κυψελίδων του μαστού.

Η μεταφορά του είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του στη μεμβράνη και της σταθεράς διαχωρισμού του αντιβιοτικού στη λιπώδη ή υγρή φάση. Το μεγαλύτερο μέρος των αντιβιοτικών που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία μολύνσεων είναι ασθενή οργανικά οξέα ή βάσεις και βρίσκονται σε διάφορα διαλύματα όπως στον ορό του αίματος σε ιονισμένη και μη ιονισμένη μορφή. Το μη ιονισμένο τμήμα του αντιβιοτικού συνήθως είναι λιποδιαλυτό και μπορεί να διαλυθεί μέσω της μεμβράνης. Αντίθετα το ιονισμένο τμήμα το οποίο έχει μεγάλο μέγεθος δεν διέρχεται τη λιπώδη μεμβράνη διότι είναι χαμηλής λιποδιαλυτότητας.

Η ύπαρξη ανιχνεύσιμων συγκεντρώσεων αντιβιοτικών στο γάλα εξαρτάται επιπλέον από τις φυσικοχημικές ιδιότητες του φαρμάκου, τη δόση του φαρμάκου και την ευαισθησία των παθογόνων μικροοργανισμών του μαστού στα αντιβιοτικά. Η κινητική συμπεριφορά του φαρμάκου στο σώμα παίζει τον κυριότερο λόγο στην επιλογή του αντιβιοτικού και στον καθορισμό του χρόνου λήψης για άριστη θεραπεία.

Οι ασθενείς βάσεις όπως η ερυθρομυκίνη, η τετρακυκλίνη, τυλοσίνη κ.ά. εισέρχονται εύκολα στο γάλα και συμβάλλουν περισσότερο στη καταπολέμηση της μαστίτιδας σε αντίθεση με την οξυτετρακυκλίνη, βενζυλπενικιλίνη κ.ά. οι οποίες χρησιμοποιούνται περισσότερο σ' αυτές τις περιπτώσεις.

9.7 ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ – ΣΤΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ

Τα αντιβιοτικά που περιέχονται στο γάλα προκάλεσαν μεγάλο ενδιαφέρον τόσο τεχνολογικό όσο και από πλευράς δημόσιας υγείας. Σε διάφορες χώρες κυρίως ΗΠΑ, Καναδά, Αγγλία, δημιουργήθηκαν υπηρεσίες εμπορίας γάλακτος που ασχολούνται με υπολείμματα αντιβιοτικών στο γάλα. Σκοπός τους είναι ο έλεγχος δειγμάτων νοπού και παστεριωμένου γάλακτος, για την ύπαρξη υπολειμμάτων αντιβιοτικών. Ο οργανισμός FAO/WHO σύστηνε ότι το γάλα που προέρχεται από αγελάδες που υποβλήθηκαν σε θεραπεία μαστίτιδας να αποκλείεται από την κατανάλωση τουλάχιστον για 72 ώρες και να απορρίπτεται και αν είναι δυνατόν για 96 ώρες μετά τη χρήση αντιβιοτικού.

9.8 ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΕΣ – ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ

Οι οικονομικές επιπτώσεις που επιφέρουν τα αντιβιοτικά σχετίζονται άμεσα με την ύπαρξη τους στο γάλα που θα χρησιμοποιηθεί για την Παρασκευή γαλακτοκομικών προϊόντων.

Η παρουσία υπολειμμάτων αντιβιοτικών στο γάλα είναι δυνατόν να προκαλέσει σοβαρές ανωμαλίες στην επεξεργασία του, στην παραγωγή τυριού, ειδικά του σκληρού και άλλων γαλακτοκομικών προϊόντων.

Το μεγαλύτερο πρόβλημα που δημιουργούν στις βιομηχανίες γάλακτος είναι ότι με την παρουσία τους επιβραδύνουν ή αναστέλλουν τελείως την παραγωγή οξέος από βακτηριακές καλλιέργειες που χρησιμοποιούνται στις βιομηχανίες για διάφορα προϊόντα. Έτσι εμποδίζουν να αναπτυχθεί η χρήσιμη μικροβιακή χλωρίδα κατά την παραγωγή τυριού και άλλων προϊόντων γάλακτος για τις αναγκαίες ζυμώσεις από τις οποίες εξαρτάται η φυσική τους κατάσταση, η οσμή, η γεύση, η ωρίμανση και το χρώμα. Οι μικροοργανισμοί *Str. cremoris*, *Str. diacetylactis*, *Leuc. citrovorum* στις μητρικές καλλιέργειες σταματούν να δρουν αν υπάρχει ικανή ποσότητα αντιβιοτικού με αποτέλεσμα να εμποδίζεται ή να μην είναι δυνατή η παρασκευή γιαούρτης.

Διαταράσσεται επίσης και η δράση των προπιονικών ενζύμων που είναι απαραίτητα για την καλή ωρίμανση του τυριού, ώστε να μην παρατηρούνται ελαττώματα. Η τυπική γεύση του βουτύρου δεν αναπτύσσεται καλά γιατί τα αντιβιοτικά αναστέλλουν τα ένζυμα που δημιουργούν τη γεύση και το άρωμα.

Με την επιβράδυνση ή την τέλεια αναχαίτιση των μικροοργανισμών του γαλακτικού οξέος η οξύτητα δεν μεταβάλλεται γιατί δεν παράγεται γαλακτικό οξύ. Το φαινόμενο αυτό ευνοεί την ανάπτυξη των αεριογόνων κολοβακτηριοειδών που

προκαλούν στο τυρί αλλοιώσεις από την παραγωγή αερίων, ώστε να παρουσιάζει ακανόνιστες μεγάλες οπές και να μην έχει την κατάλληλη γεύση.

Η παρουσία αντιβιοτικών στο γάλα επηρεάζει και τον χρόνο αποχρωματισμού κατά τη δοκιμή της αναγωγής του μπλε του μεθυλενίου, λόγω της επιβράδυνσης της αναγωγής που προκαλεί η παρουσία αντιβιοτικού, ώστε γάλα κακής ποιότητας να θεωρείται κατάλληλο.

9.9 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ

Εφ' όσον δεν έχει περάσει ο χρόνος ασφάλειας της πλήρους αποβολής του αντιβιοτικού από τον μαστό και το γάλα δίνεται στην κατανάλωση με υπολείμματα αντιβιοτικών και ειδικά πενικιλίνης, δημιουργείται σοβαρός κίνδυνος στην υγεία του καταναλωτή.

Τα προβλήματα μπορούν να συνοψισθούν :

1. Έκθεση του καταναλωτή σε παθογόνους μικροοργανισμούς ανθεκτικούς στα αντιβιοτικά οι οποίοι μπορεί να υπάρχουν στα προϊόντα που γίνονται από μη παστεριωμένο γάλα.
2. Αύξηση ή επιδείνωση της ευαισθησίας του καταναλωτή στα αντιβιοτικά.
3. Μεταβολή της εντερικής χλωρίδας του καταναλωτή με αποτέλεσμα τη μείωση στη σύνθεση Βιταμίνης.
4. Μεταβολή στη μικροβιακή χλωρίδα του εντέρου ώστε να επιτρέπει την εγκατάσταση και ανάπτυξη στελεχών παθογόνων μικροοργανισμών ανθεκτικών στο αντιβιοτικό.
5. Αλλεργικές αντιδράσεις.

Σε κύριο θέμα του περιοδικού 'SPIEGEL' παρατηρήθηκαν τα παρακάτω :

- ο Όλο και συχνότερα αμβλύνονται τα κάποτε ισχυρότατα αυτά όπλα στη μάχη τους εναντίον των μολυσματικών ασθενειών, λόγω της αύξησης της αντοχής των παθογόνων στα αντιβιοτικά.
- ο Όλο και περισσότεροι άνθρωποι παρουσιάζουν μια υψηλού βαθμού ευαισθησία έναντι ορισμένων αντιβιοτικών.
- ο Βαριά και κάποτε θανατηφόρα αλλεργικά σοκ είναι το αποτέλεσμα όταν σε αλλεργικούς ασθενείς χορηγούνται σε περίπτωση ανάγκης αντιβιοτικά. Ήδη το 5-10% του πληθυσμού της Δ. Γερμανίας αντιδρούν αλλεργικά στην πενικιλίνη.

Στο ίδιο περιοδικό χαρακτηριστικά αναφέρεται :

Θα υπάρξουν ασθένειες, οι οποίες με τα μέχρι τώρα γνωστά φάρμακα δεν θα μπορούν πλέον να θεραπευθούν, και αν ακόμη ψεκάσουμε την πενικιλίνη με την τρόμπα του «φλιτ». Γιατροί και βιοχημικοί υπογραμμίζουν ότι αιτία αυτής της τρομακτικής εξέλιξης είναι : η αλόγιστη χρήση των αντιβιοτικών α) στα μίγματα τροφών για να αυξήσουν την απόδοση και να επιταχύνουν την ανάπτυξη, β) σαν προσθετικά τροφών για να αυξήσουν το χρόνο διατήρησης γ) και το κυριότερο για την καταπολέμηση ασθενειών.

Τα αντιβιοτικά ευρέως φάσματος όπως οι τετρακυκλίνες, η νεομυκίνη, η στρεπτομυκίνη, βακτριακίνη και πολυμυξίνη έχουν πολύ μικρή ικανότητα να προκαλέσουν ευαισθησία στον καταναλωτή και η παρουσία τους στο γάλα από την άποψη της ευαισθησίας έχει πολύ μικρό ενδιαφέρον.

Αντίθετα η παρουσία της πενικιλίνης στο γάλα έχει το μεγαλύτερο ενδιαφέρον από την άποψη της υπερευαισθησίας του καταναλωτή. Το συμβούλιο φαρμάκων American Medical Association επιβεβαίωσε την σημασία των αλλεργικών αντιδράσεων ευαίσθητων ατόμων που κατανάλωσαν γάλα με μικρά ποσά πενικιλίνης.

Η παρουσία ελαχίστων ποσοτήτων πενικιλίνης μπορεί να προκαλέσει στα ευαίσθητα στο αντιβιοτικό αυτό άτομα, σοβαρές καταστάσεις, από ένα απλό έκζεμα μέχρι και το θάνατο από καρδιοκυκλοφοριακό κολάσο (αναφυλακτικό σοκ). Οι Erskine (1966), Vickers (1966), Borrie and Barret (1961) περιέγραψαν αλλεργική δερματίτιδα σε άτομα που κατανάλωσαν γάλα με πενικιλίνη.

Ο Zimmerman (1966) δημοσίευσε μελέτες για ασθενείς οι οποίοι υπέφεραν από Urticaria μετά από κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων. Όλοι οι ασθενείς προηγούμενα ήταν αλλεργικοί στην πενικιλίνη, και θεραπεύτηκαν μετά από ένεση πενικιλινάσης, η οποία είναι ένζυμο που καταλύει την υδρόλυση της πενικιλίνης σε πενικιλικό οξύ.

Πρέπει επίσης να ληφθεί υπόψη και η έκθεση της Διεθνούς Ομοσπονδίας Γάλακτος, η οποία αναφέρει ότι το 1-5% ανθρώπων που δοκιμάστηκαν ήταν αλλεργικοί στην πενικιλίνη, ώστε το ποσοστό αυτό να κινδυνεύει από την κατανάλωση γάλακτος με υπολείμματα πενικιλίνης.

Σε ορισμένα άτομα ο αριθμός των κολοβακτηριδίων στην εντερική χώρα μειώθηκε αισθητά μετά την πόσιν 500 ml γάλακτος το οποίο περιείχε 0,1 mg/ml στρεπτομυκίνης ή 0,25 μg/ml χλωροτετρακυκλίνης.

Οι Stoltz and Hankinson (1954) παραδέχθηκαν ότι τα αντιβιοτικά προκαλούν μια μείωση στον αριθμό των μικροοργανισμών του εντέρου το οποίο έχει σαν αποτέλεσμα την μείωση της σύνθεσης των βιταμινών στον εντερικό χώρο.

Με την εκλεκτική αυτή δράση στους μικροοργανισμούς του εντέρου, μπορεί να προκύψει μια αύξηση των ανθεκτικών μικροβίων. Διότι με την παρουσία ενός φαρμάκου in vitro ή in vivo δημιουργείται στους μικροοργανισμούς εθισμός (drug-resistant). Αυτό επιβεβαιώνεται και από το γεγονός ότι όταν χρησιμοποιήθηκε σουλφοναμίδα για την θεραπεία του γονοκόκκου μόνο για έξη χρόνια, η πλειονότητα των καινούργιων περιπτώσεων βρέθηκε ότι προκλήθηκαν από γονοκόκκους ανθεκτικούς στην σουλφοναμίδα που δεν αντέδρασαν στην θεραπεία με σουλφοναμίδα.

Η μεγάλη χρήση της πενικιλίνης σε διάφορους ασθενείς μετέτρεψε τους σταφυλόκοκκους τους ευαίσθητους στο αντιβιοτικό σε ανθεκτικούς. Παρόμοια στελέχη του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης έγιναν ανθεκτικά στην στρεπτομυκίνη σε ασθενείς που έκαναν προτεταμένη χρήση του αντιβιοτικού.

Ο εθισμός των μικροοργανισμών σε διάφορα αντιβιοτικά οφείλεται στις γενετικές παραλλαγές των χρωμοσωμάτων των κυττάρων τους που προκαλούνται από τη συνεχή έκθεσή τους σ' ένα αντιβιοτικό. Όταν οι μικροοργανισμοί πολλαπλασιάζονται

εμφανίζεται ένας αριθμός κυττάρων που προήλθαν από μετάλλαξη (ανθεκτικά στο αντιβιοτικό). Αν ο μικροβιακός πληθυσμός συνεχίσει να εκτίθεται στο αντιβιοτικό η μετάλλαξη δεν σταματά αλλά συνεχίζεται. Χωρίς αυτή τη συνεχή έκθεση η μετάλλαξη μπορεί να εξαφανισθεί.

Μερικοί μικροοργανισμοί μπορούν να γίνουν ανθεκτικοί σε αντιβιοτικό μόνο σταδιακά όπως ένα στέλεχος σταφυλόκοκκων ευαίσθητο στην πενικιλίνη μπορεί να αποκτήσει με μετάλλαξη των κυττάρων αντοχή, με συνεχή χρήση 2 Δ.Μ./ml πενικιλίνης. Αυτή η μετάλλαξη μπορεί επιπλέον να μεταβληθεί και να γίνει περισσότερο ανθεκτική για 4 Δ.Μ./ ml και ούτω καθ' εξής. Είναι ευνόητο λοιπόν πως πρέπει να μεταχειριστούμε την πενικιλίνη κατάλληλα και σε κατάλληλες δόσεις.

Αντίθετα τέλεια ανθεκτικότητα στην στρεπτομυκίνη αποκτάται και μια μόνο μετάλλαξη όπως εμφανίστηκαν τύποι ανθεκτικοί στη στρεπτομυκίνη με οποιαδήποτε δόση. Στην περίπτωση που χρησιμοποιείται συνδυασμένη θεραπεία από δύο αρκετά διαφορετικά αντιβιοτικά ο κίνδυνος της ανθεκτικότητας του μικροοργανισμού στα δύο ταυτοχρόνως αντιβιοτικά είναι μικρός.

Από τα παραπάνω διαφαίνεται ο κίνδυνος που υπάρχει όταν δημιουργηθούν μικρόβια ανθεκτικά από την κατανάλωση γάλακτος που περιέχει αντιβιοτικά. Για το λόγο αυτό πρέπει να αποφεύγεται με κάθε τρόπο η διάθεση γάλακτος έστω και με ελάχιστα ίχνη αντιβιοτικών.

Μετά την εισαγωγή στη χώρα μας των αντιβιοτικών βραδείας απέκκρισης (20-24 ημερών από την έκχυση τους στο μαστό) και την απουσία ελέγχου ανίχνευσης αντιβιοτικών στο γάλα, πρέπει να δίνεται μεγάλη προσοχή στην χρήση των αντιβιοτικών αυτών για να αποφεύγονται οι σοβαρές συνέπειες.

Τα αντιβιοτικά βραδείας απέκκρισης πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο κατά την ξηρή περίοδο και ποτέ όταν η αγελάδα παράγει γάλα.

Ο καθορισμός των επιτρεπτών συγκεντρώσεων αντιβιοτικών στο γάλα και στα διάφορα προϊόντα παρουσιάζει δυσκολίες γιατί πολλά αντιβιοτικά όπως η πενικιλίνη μπορεί να προκαλέσουν αλλεργικές καταστάσεις ακόμα και σε ελάχιστες συγκεντρώσεις. Γι' αυτό δημιουργήθηκαν μέθοδοι που θα μπορούσαν να ανιχνεύσουν συγκεντρώσεις αντιβιοτικών όπως 0.01 mg/ml τροφής. (συγκέντρωση που έχει ενδιαφέρον από τοξικολογική άποψη).

Οι τοξικές και αλλεργικές επιδράσεις των αντιβιοτικών στον καταναλωτή καθώς και τα προβλήματα που προκύπτουν από τον εθισμό των μικροοργανισμών ποικίλουν για κάθε αντιβιοτικό. Έτσι :

- Οι πενικιλίνες θεωρούνται φάρμακα με μικρή τοξικότητα και γενικά τα άτομα στα οποία χορηγήθηκε παρουσίασαν ευαισθησία.
- Οι στρεπτομυκίνες έχουν σχετικά υψηλή τοξικότητα και αρκετά αυξημένη αλλεργία σε άτομα που χορηγήθηκε.
- Η χλωραμφενικόλη προκαλεί νευροτοξικές αντιδράσεις και μικρή ευαισθησία.
- Οι τετρακυκλίνες προκαλούν επιβλαβείς επιδράσεις αλλά όχι στο βαθμό που πίστευαν παλαιότερα.
- Τα μακρολιδία αντιβιοτικά όπως η ερυθρομυκίνη έχουν σχετικά χαμηλή τοξικότητα και σχεδόν καθόλου αλλεργικές ιδιότητες.

- Τα πολυένια αντιβιοτικά όπως η νυστατίνη είναι αρκετά τοξικά και με υψηλού βαθμού αλλεργικές αντιδράσεις.
- Τα πολυπεπίδια αντιβιοτικά όπως η βακιτρακίνη, νισίνη, πολυμυξίνες είναι πολύ τοξικές ειδικά σε παιδιά και προκαλούν αλλεργικές αντιδράσεις.

Δραστικά μέτρα που θα μπορούσαν να ληφθούν για την αποφυγή αυτών των επιβλαβών επιπτώσεων είναι :

- Εκπαιδευτικά προγράμματα των παραγωγών για την ενημέρωσή τους σε θέματα σωστής χρήσης των αντιβιοτικών καθώς και του γάλακτος που περιέχει αντιβιοτικά.
- Νομοθεσία που να απαγορεύει την πώληση γάλακτος που περιέχει αντιβιοτικά.
- Νομοθετικός έλεγχος που να καθορίζει τη χορηγούμενη δόση του αντιβιοτικού.
- Απαγόρευση στην πώληση των αντιβιοτικών στου παραγωγούς χωρίς την έγκριση του κτηνίατρου.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Για τον έλεγχο της παρουσίας αντιβιοτικών στο γάλα που διακινείται στην περιοχή της Αττικής χρησιμοποιήθηκαν δείγματα παστεριωμένου γάλακτος και γάλακτος μακράς διάρκειας που πάρθηκαν από Super Market της Αθήνας την περίοδο Απρίλιος 2012 έως Μάιο 2012. Έγιναν 3 λήψεις των ιδίων δειγμάτων σε διάστημα 2 εβδομάδων η μία απ' την άλλη. Τα δείγματα γάλακτος ήταν γάλατα που παράγονται στον Ελληνικό χώρο αλλά και μερικά εισαγόμενα όπως φαίνεται και στον πίνακα.

Για τον έλεγχο των αντιβιοτικών χρησιμοποιήθηκε το κίτ Delvotest SP-NT το οποίο είναι μια ποιοτική μέθοδος ελέγχου για την ανίχνευση αντιβιοτικών ουσιών στο γάλα σύμφωνα με το παγκόσμιο πρότυπο ISO/DIS 13969 : IDF 183 (IDF 2001).

Το τεστ αυτό παρασκευάζεται από την εταιρία Gist- Brocades NY και αποτελείται από κυψελίδες μέσα στις οποίες σε στερεό υπόστρωμα είναι διασπαρμένα τα σπόρια του *Bacillus steatothermophilus* var. *calidolaetis* με τέτοιο τρόπο, ώστε να εξασφαλίζεται η άριστη ανάπτυξη του μικροοργανισμού. Επίσης υπάρχουν ουσίες που διεγείρουν την ανάπτυξη του οργανισμού καθώς και ο δείκτης biomocresol purple, ο οποίος αλλάζει χρώμα ανάλογα με το pH του υποστρώματος. Η επώαση των κυψελίδων με το γάλα έγινε στο επωαστήριο Delvo Incubator της εταιρίας DSM μοντέλο MCI-12 .

Κατά την εκτέλεση του ελέγχου λαμβάνεται δείγμα γάλακτος 100 μl(0,1 ml) και προστίθεται με βαθμολογημένη σύριγγα μέσα στην κυψελίδα. Εν συνεχεία πωματίζεται η κυψελίδα με το αλουμινόφυλλο, τοποθετείται σε επωαστήριο της ίδιας εταιρίας στους 64° C (± 1° C) και επώάζεται για διάστημα 3 ωρών. Παρατηρείται μεταβολή ή μη του χρώματος του δείκτη.

Εάν υπάρχουν συγκεντρώσεις αντιμικροβιακών ουσιών σε ποσότητες υψηλότερες από αυτές που εμφανίζονται στον πίνακα 11.1 ο μικροοργανισμός δεν θα αναπτυχθεί και το χρώμα του δείκτη στην κυψελίδα θα παραμείνει μωβ. Ενώ αν οι συγκεντρώσεις είναι μικρότερες ή μηδενικές από αυτές που φαίνονται στον πίνακα 11.1 ο μικροοργανισμός θα αναπτυχθεί, θα παράγει γαλακτικό οξύ, θα αλλάξει το pH και έτσι ο δείκτης θα αλλάξει χρώμα και θα γίνει κίτρινος.

Πίν. 1.1 Επίπεδα ανίχνευσης Delvotest® SP σε ppb (μέρη στο δισεκατομμύριο ή ng/mL) στο νωπό αγελαδινό γάλα όπως δίνονται από την εταιρεία παρασκευής.

Αντιβιοτικά φάρμακα	Όρια αρνητικού αποτελέσματος και Εμφάνιση κίτρινου χρώματος	Καθορισμένος χρόνος ανάγνωσης μεταξύ 2 ωρών, 45 λεπτών και 3 ωρών
Β-λακτάμες		
Πενικιλίνη –γ	2	2.5
Αμπικιλίνη	2-3	3-5
Αμοξικιλίνη	2	3-5
Κεφακετρίλη	20	20-40
Κεφαλεξίνη	40-60	60-100
Κεφαλόνιο	5-10	10-25
Κεφαπεραζόνη	40	60-100
Κεφαπρίνη	5	5-10
Κεφτιοφούρη	<50	50-70
Κλοξακιλλίνη	15	15-25
Δικλοξακιλλίνη	10	10-15
Οξακιλλίνη	5	10
Ναφκιλλίνη	5	5-10
Σουλφοναμίδες		
Σουλφαδιαζίνη	50	50-100
Σουλφαδιμεθοξίνη	50	50-100
Σουλφαμεθαζίνη	25	50-200
Σουλφαθιαζόλη	50	50-150
Τετρακυκλίνες		
Τετρακυκλίνη	100	200-600
Οξυτετρακυκλίνη	100	200-500
Χλωροτετρακυκλίνη	100-150	200-600
Μακρολίδες		
Ερυθρομυκίνη	50	100-250
Τυλοσίνη	10-20	30-100
Σπιραμυκίνη	200	350-ns
Αμινογλυκοσιδάσες		
Γενταμυκίνη	100-300	200-500
Νεομυκίνη	100-200	300-2000
Διυδροστρεπτομυκίνη	300-500	1500-10000
Καναμυκίνη	2500	7500-ns
Λινκοσαμίδες		
Λινκομυκίνη	100	200-400
Άλλες		
Χλωραμφαινικόλη	2500	7500-10000
Τριμεθοπρίμη	50	100-500
Δαψόνη	1	1-8

Πιν. 10.2 Τα γάλατα της αγοράς που ελέγχθηκαν στις 30/4/12.

	Δείγμα	Είδος	Λιπαρά	Συσκευασία	Ημ. Παραγ.	Ημ. Λήξης
1	Όλυμπος	Γάλα κατσικίσιο Υψηλής Παστερίωσης	Πλήρες	1 Λίτρο	19/4/12	4/6/12
2	Εκλεκτές Γεύσεις	Φρέσκο Γάλα Παστεριωμένο-Ομογενοποιημένο	Πλήρες 3,7-4,1 %	1 Λίτρο	29/4/12	3/5/12
3	Alto fresco	Υψηλής Παστερίωσης - Ομογενοποιημένο	Πλήρες 3,5 %	1 Λίτρο	3/4/12	17/5/12
4	ΜΕΒΓΑΛ	Υψηλής Παστερίωσης	Πλήρες 3,7 %	1 Λίτρο	3/4/12	6/5/12
5	Φάρμα Κουκάκη	Γάλα Παστεριωμένο-Ομογενοποιημένο	Ελαφρύ 1,5 %	1 Λίτρο	29/4/12	3/5/12
6	Όλυμπος	Γάλα Παστεριωμένο	Πλήρες 3,7 %	0,5 Λίτρο	29/4/12	3/5/12
7	Όλυμπος	Γάλα Παστεριωμένο	Ελαφρύ 1,5 %	0,5 Λίτρο	29/4/12	3/5/12
8	ΑΓΝΟ	Γάλα Παστεριωμένο	Πλήρες 3,5 %	1 Λίτρο	29/4/12	3/5/12
9	ΑΓΝΟ	Γάλα Παστεριωμένο	Ελαφρύ 1,5 %	1 Λίτρο	29/4/12	3/5/12
10	NOYNOY Family	Γάλα Υψηλής Παστερίωσης	Πλήρες 3,5 %	330 ml	30/3/12	14/5/12
11	ΦΑΓΕ φάρμα	Γάλα Υψηλής Παστερίωσης	Πλήρες 3,5 %	0,5 Λίτρο		1/6/12
12	ΔΕΛΤΑ	Γάλα Παστεριωμένο-Ομογενοποιημένο	Πλήρες 3,5 %	0,5 Λίτρο	29/4/12	3/5/12
13	ΔΕΛΤΑ	Γάλα Παστεριωμένο-Ομογενοποιημένο	Ελαφρύ 1,5 %	0,5 Λίτρο	29/4/12	3/5/12
14	ΡΟΔΟΠΗ	Γάλα Υψηλής Παστερίωσης - Ομογενοποιημένο	Πλήρες 3,7 %	1 Λίτρο	16/4/12	1/6/12
15	ΡΟΔΟΠΗ	Γάλα Υψηλής Παστερίωσης - Ομογενοποιημένο	Ελαφρύ 1,7 %	1 Λίτρο	9/4/12	25/5/12
16	ΜΕΒΓΑΛ	Γάλα Παστεριωμένο-Ομογενοποιημένο	Πλήρες 3,5 %	1 Λίτρο	1/5/12	5/5/12
17	ΜΕΒΓΑΛ	Γάλα Παστεριωμένο-Ομογενοποιημένο	Ελαφρύ 1,5 %	1 Λίτρο	1/5/12	5/5/12
18	ΔΕΛΤΑ ΜικρέςΟικογ. φάρμες	Παστεριωμένο-Ομογενοποιημένο	Πλήρες 3,7 %	1 Λίτρο	7/5/12	11/5/12
19	Carrefour	Γάλα Παστεριωμένο-Ομογενοποιημένο	Πλήρες 3,5 %	1 Λίτρο	7/5/12	11/5/12
20	Αγρόκτημα Βραχιάς	Γάλα Παστεριωμ-Ομογεν.	Ελαφρύ 1,7 %	1 Λίτρο	7/5/12	11/5/12

Πιν. 10.3 Τα γάλατα της αγοράς που ελέγχθηκαν στις 15/5/12.

	Όνομα	Είδος	Λιπαρά	Συσκευα σία	Ημ. Παραγ	Ημ. Λήξης
1	Όλυμπος	Γάλα κατσίκισιο Υψηλής Παστερίωσης	Πλήρες	1 Λίτρο	25/4/12	10/6/12
2	Εκλεκτές Γεύσεις	Γάλα Παστεριωμένο-Ομογενοποιημένο	Πλήρες 3,7-4,1 %	1 Λίτρο	13/5/12	17/5/12
3	Alto fresco	Υψηλής Παστερίωσης - Ομογενοποιημένο	Πλήρες 3,5 %	1 Λίτρο	25/4/12	9/6/12
4	ΜΕΒΓΑΛ	Υψηλής Παστερίωσης	Πλήρες 3,7 %	1 Λίτρο	27/4/12	30/5/12
5	Φάρμα Κουκάκη	Γάλα Παστεριωμένο-Ομογενοποιημένο	Ελαφρύ 1,5 %	1 Λίτρο	13/5/12	17/5/12
6	Όλυμπος	Γάλα Παστεριωμένο Ομογενοποιημένο	Πλήρες 3,7 %	0,5 Λίτρο	13/5/12	17/5/12
7	Όλυμπος	Γάλα Παστεριωμέν Ομογενοποιημένο ο	Ελαφρύ 1,5 %	0,5 Λίτρο	13/5/12	17/5/12
8	ΑΓΝΟ	Γάλα Παστεριωμένο Ομογενοποιημένο	Πλήρες 3,5 %	1 Λίτρο	13/5/12	17/5/12
9	ΑΓΝΟ	Γάλα Παστεριωμένο	Ελαφρύ 1,5 %	1 Λίτρο	13/5/12	17/5/12
10	NOYNOY Family	Γάλα Υψηλής Παστερίωσης	Πλήρες 3,5 %	1 Λίτρο	2/5/12	16/6/12
11	ΦΑΓΕ φάρμα	Γάλα Υψηλής Παστερίωσης	Πλήρες 3,5 %	0,5 Λίτρο		17/6/12
12	ΔΕΛΤΑ	Γάλα Παστεριωμένο-Ομογενοποιημένο	Πλήρες 3,5 %	0,5 Λίτρο	13/5/12	17/5/12
13	ΔΕΛΤΑ	Γάλα Παστεριωμένο-Ομογενοποιημένο	Ελαφρύ 1,5 %	0,5 Λίτρο	13/5/12	17/5/12
14	ΡΟΔΟΠΗ	Γάλα Υψηλής Παστερίωσης - Ομογενοποιημένο	Πλήρες 3,7 %	1 Λίτρο	30/4/12	15/6/12
15	ΡΟΔΟΠΗ	Γάλα Υψηλής Παστερίωσης - Ομογενοποιημένο	Ελαφρύ 1,7 %	1 Λίτρο	30/4/12	15/6/12
16	ΜΕΒΓΑΛ	Γάλα Παστεριωμένο-Ομογενοποιημένο	Πλήρες 3,5 %	1 Λίτρο	15/5/12	19/5/12
17	ΜΕΒΓΑΛ	Γάλα Παστεριωμένο-Ομογενοποιημένο	Ελαφρύ 1,5 %	1 Λίτρο	13/5/12	17/5/12
18	ΔΕΛΤΑ Μικρ. Οικογ φάρμες	Παστεριωμένο-Ομογενοποιημένο	Πλήρες 3,7 %	1 Λίτρο	13/5/12	17/5/12
19	Carrefour	Γάλα Παστεριωμένο-Ομογενοποιημένο	Πλήρες 3,5 %	1 Λίτρο	14/5/12	18/5/12
20	Αγρόκτημα Βραχιάς	Γάλα Παστεριωμένο-Ομογενοποιημένο	Ελαφρύ 1,7 %	1 Λίτρο	14/5/12	18/5/12

Πιν. 10.4 Τα γάλατα της αγοράς που ελέγχθηκαν στις 28/5/12.

	Όνομα	Είδος	Λιπαρά	Συσκευασία	Ημ. Παραγ	Ημ. Λήξης
1	Όλυμπος	Γάλα κατσικίσιο Υψηλής Παστερίωσης	Πλήρες	1 Λίτρο	29/4/12	27/6/12
2	Εκλεκτές Γεύσεις	Γάλα Παστεριωμένο-Ομογενοποιημένο	Πλήρες 3,7-4,1 %	1 Λίτρο	27/5/12	31/5/12
3	Alto fresco	Υψηλής Παστερίωσης - Ομογενοποιημένο	Πλήρες 3,5 %	1 Λίτρο	16/5/12	30/6/12
4	ΜΕΒΓΑΛ	Υψηλής Παστερίωσης	Πλήρες 3,7 %	1 Λίτρο	4/5/12	6/6/12
5	Φάρμα Κουκάκη	Γάλα Παστεριωμένο-Ομογενοποιημένο	Ελαφρύ 1,5 %	1 Λίτρο	27/5/12	31/5/12
6	Όλυμπος	Γάλα Παστεριωμένο Ομογενοποιημένο	Πλήρες 3,7 %	0,5 Λίτρο	27/5/12	31/5/12
7	Όλυμπος	Γάλα Παστεριωμένο Ομογενοποιημένο	Ελαφρύ 1,5 %	0,5 Λίτρο	27/5/12	31/5/12
8	ΑΓΝΟ	Γάλα Παστεριωμένο Ομογενοποιημένο	Πλήρες 3,5 %	1 Λίτρο	27/5/12	31/5/12
9	ΑΓΝΟ	Γάλα Παστεριωμένο Ομογενοποιημένο	Ελαφρύ 1,5 %	1 Λίτρο	27/5/12	31/5/12
10	NOYNOY Family	Γάλα Υψηλής Παστερίωσης	Πλήρες 3,5 %	330 ml	26/4/12	10/6/12
11	ΦΑΓΕ φάρμα	Γάλα Υψηλής Παστερίωσης	Πλήρες 3,5 %	0,5 Λίτρο		7/6/12
12	ΔΕΛΤΑ	Γάλα Παστεριωμένο-Ομογενοποιημένο	Πλήρες 3,5 %	0,5 Λίτρο	27/5/12	31/5/12
13	ΔΕΛΤΑ	Γάλα Παστεριωμένο-Ομογενοποιημένο	Ελαφρύ 1,5 %	0,5 Λίτρο	27/5/12	31/5/12
14	ΡΟΔΟΠΗ	Γάλα Υψηλής Παστερίωσης - Ομογενοποιημένο	Πλήρες 3,7 %	1 Λίτρο	7/5/12	22/6/12
15	ΡΟΔΟΠΗ	Γάλα Υψηλής Παστερίωσης - Ομογενοποιημένο	Ελαφρύ 1,7 %	1 Λίτρο	14/5/12	29/6/12
16	ΜΕΒΓΑΛ	Γάλα Παστεριωμένο-Ομογενοποιημένο	Πλήρες 3,5 %	0,5 Λίτρο	27/5/12	31/5/12
17	ΜΕΒΓΑΛ	Γάλα Παστεριωμένο-Ομογενοποιημένο	Ελαφρύ 1,5 %	0,5 Λίτρο	27/5/12	31/5/12
18	ΔΕΛΤΑ Μικρ.Οικογ φάρμες	Παστεριωμένο-Ομογενοποιημένο	Πλήρες 3,7 %	1 Λίτρο	27/5/12	31/5/12
19	Carrefour	Φρέσκο Γάλα Παστεριωμένο-Ομογενοποιημένο	Πλήρες 3,5 %	1 Λίτρο		
20	Αγρόκτημα Βραχιάς	Φρέσκο Γάλα Παστερ.-Ομογενοποιημένο	Ελαφρύ 1,7 %	1 Λίτρο	27/5/12	31/5/12

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 11

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

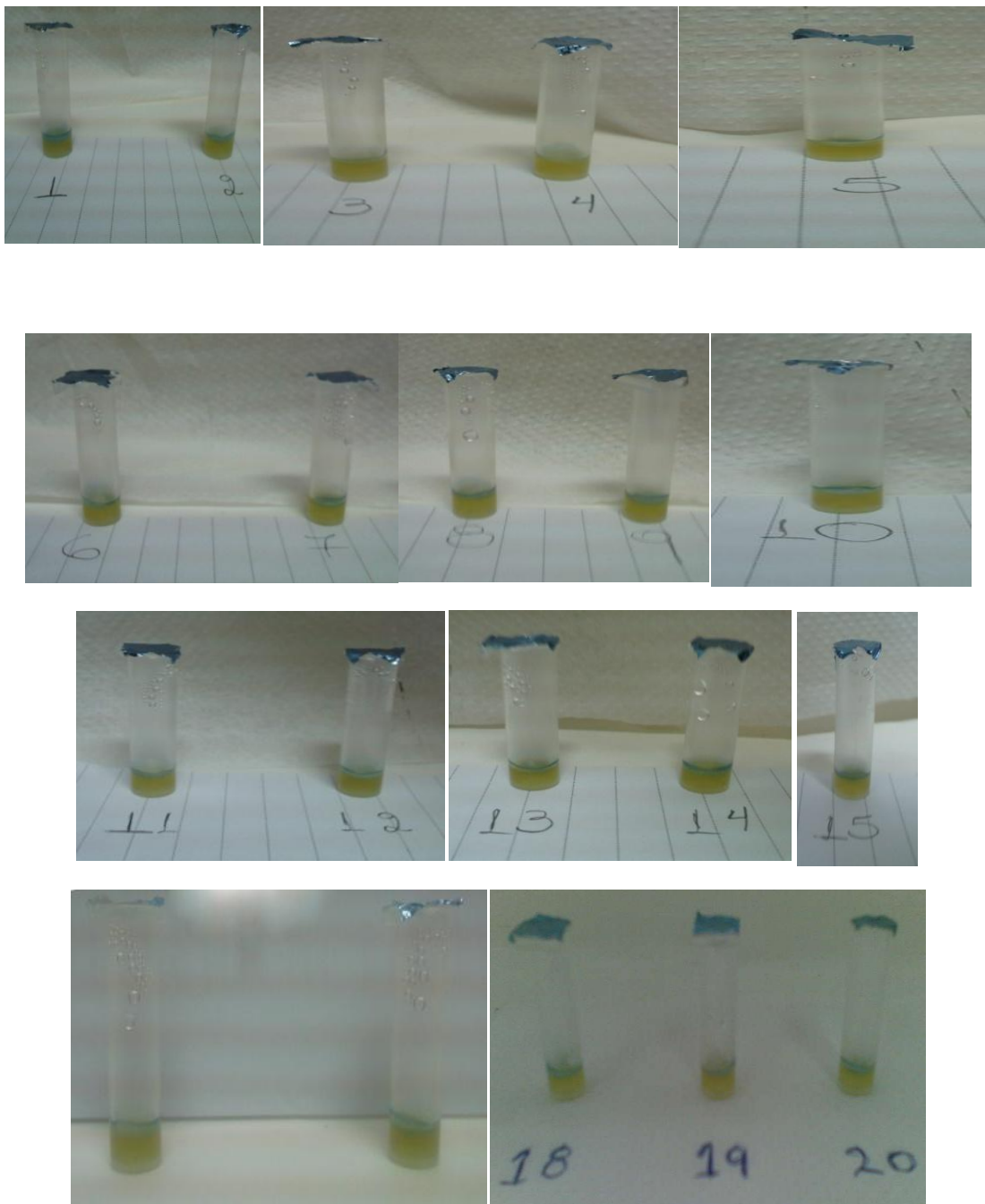
Κατά την πραγματοποίηση όλων των πειραμάτων τα αποτελέσματα που προέκυψαν με το Delvo test σε όλα τα δείγματα γάλακτος το χρώμα του δείκτη που υπήρχε στην κυψελίδα έγινε κίτρινο (αρνητικό). Αυτά τα αποτελέσματα ήταν τα αναμενόμενα, δηλαδή τα γάλατα ήταν είτε χωρίς την παρουσία αντιβιοτικών ουσιών, είτε η παρουσία ήταν σε απειροελάχιστες ποσότητες κάτω από τα όρια ανίχνευσης όπως τα δίνει η εταιρεία παρασκευής του.

Το Delvotest SP-NT είναι υψηλής απόδοσης, γρήγορο και χαμηλού κόστους τεστ που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την γρήγορη ποιοτική μέτρηση των υπολειμμάτων αντιμικροβιακών φαρμάκων σε δείγματα γάλακτος.

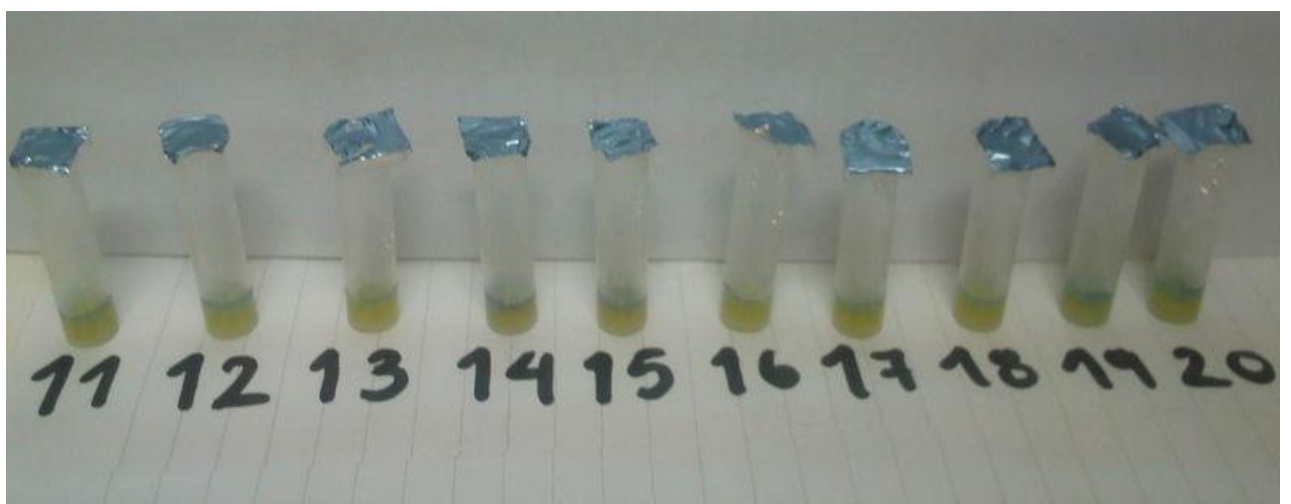
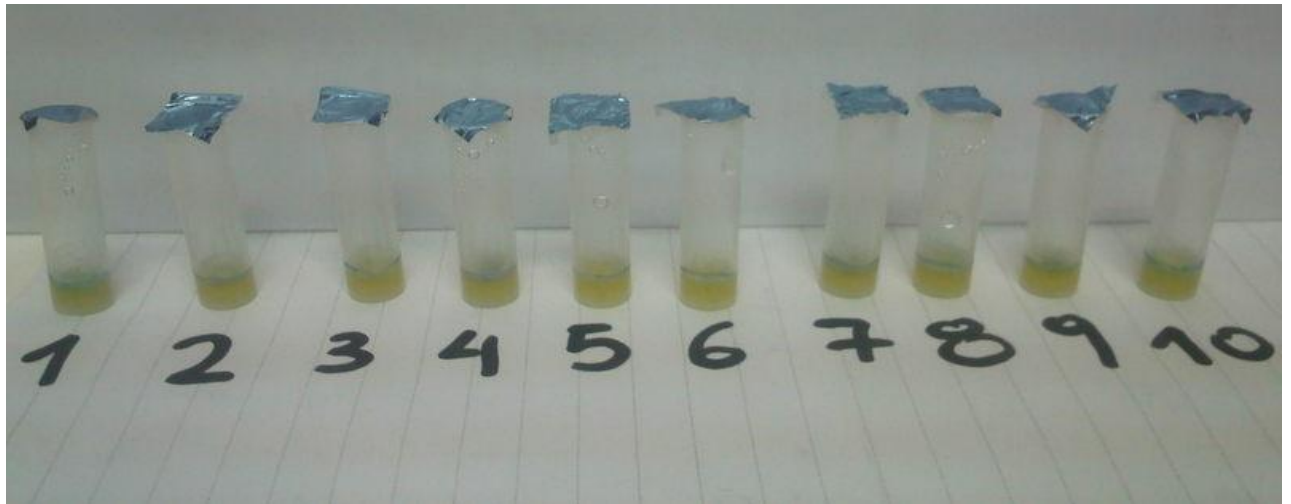
Πιν. 10.5 Αποτελέσματα Ελέγχου Αντιβιοτικών

	Δείγμα	Είδος	30-4-12	15-5-12	28-5-12	
1	Όλυμπος	Γάλα κατσικίσιο Υψηλής Παστερίωσης	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	
2	Εκλεκτές Γεύσεις	Γάλα Παστερ.- Ομογενοποιημένο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	
3	Alto fresco	Υψηλής Παστερίωσης – Ομογενοποιημένο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	
4	ΜΕΒΓΑΛ	Υψηλής Παστερίωσης	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	
5	Φάρμα Κουκάκη	Γάλα Παστερ.- Ομογενοποιημένο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	
6	Όλυμπος	Γάλα Παστεριωμένο Ομογενοποιημένο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	
7	Όλυμπος	Γάλα Παστεριωμένο Ομογενοποιημένο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	
8	ΑΓΝΟ	Γάλα Παστεριωμένο Ομογενοποιημένο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	
9	ΑΓΝΟ	Γάλα Παστεριωμένο Ομογενοποιημένο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	
10	NOYNOY Family	Γάλα Υψηλής Παστερίωσης	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	
11	ΦΑΓΕ φάρμα	Γάλα Υψηλής Παστερίωσης	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	
12	ΔΕΛΤΑ	Γάλα Παστερ.- Ομογενοποιημένο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	
13	ΔΕΛΤΑ	Γάλα Παστερ.- Ομογενοποιημένο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	
14	ΡΟΔΟΠΗ	Γάλα Υψηλής Παστερ. – Ομογενοποιημένο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	
15	ΡΟΔΟΠΗ	Γάλα Υψηλής Παστερ. – Ομογενοποιημένο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	
16	ΜΕΒΓΑΛ	Γάλα Παστερ.- Ομογενοποιημένο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	
17	ΜΕΒΓΑΛ	Γάλα Παστερ.- Ομογενοποιημένο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	
18	ΔΕΛΤΑ Μικρές Οικ. φάρμες	Παστεριωμένο-Ομογενοποιημένο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	
19	Carrefour	Γάλα Παστερ.- Ομογενοποιημένο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	
20	Αγρόκτημα Βραχιάς	Γάλα Παστερ.- Ομογενοποιημένο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	(-) αρνητικο	

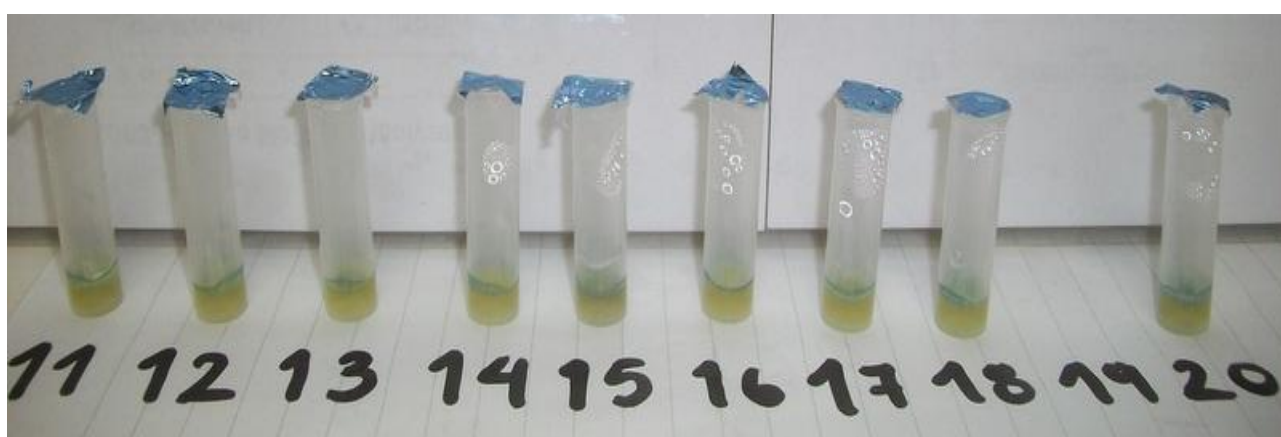
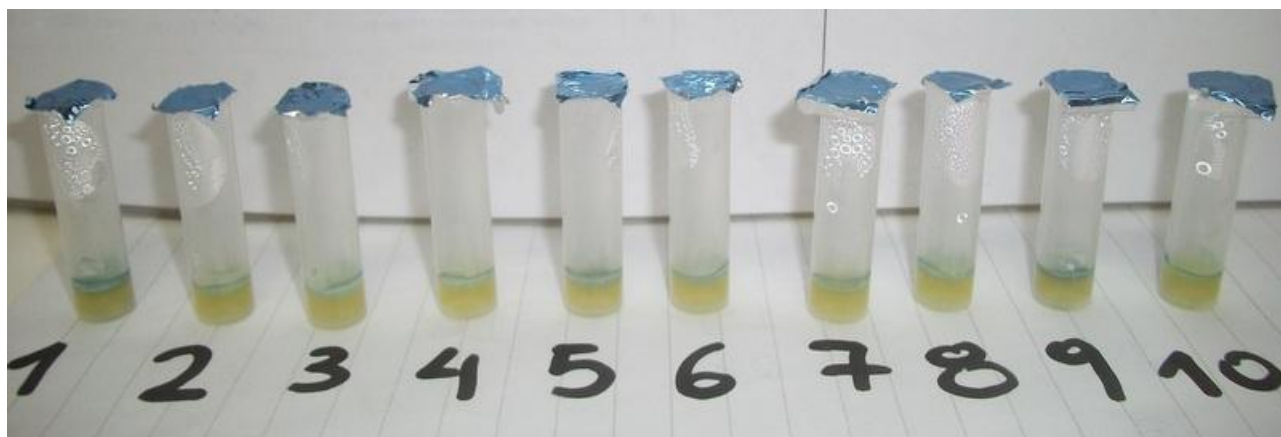
Εικ,10.1 Αποτελέσματα ελέγχου με την χρήση του Delvotest SP-NT στις 30/4/12



Εικ.10.2Αποτελέσματα ελέγχου με την χρήση του Delvotest SP-NT στις 15/5/12.



Εικ.10.3 Αποτελέσματα ελέγχου με την χρήση του Delvotest SP-NT στις 28/5/12.



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Albert, L.A., Alpuche, L., Barenas, G., Rendon, J., (1990), : “A survey of organochlorine pesticide residues in cheese samples from the Mexican region”, Environ.Pollution.65, σελ. 119-126
2. Αλμπάνης, Τ., Μαλλάτου-Μποντίνη, Ε., Κωνσταντίνου, Ι., (1998), : “Ανάλυση και επίπεδα υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε τρόφιμα ζωικής και φυτικής προέλευσης”, Ε.Μ.Π. , Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων, Αθήνα 15 Οκτωβρίου 1998, σελ. 5-15
3. Ames, B.N., (1989), : “Pesticide residues and cancer causation”, ACS Symp.Ser.414 ,σελ.223-237
4. Ames, B.N., Gold, L.S., (1998): “The causes and prevention of cancer : the role of environment”, Biotherapy 11 (2-3), σελ. 205-220.
5. American Public Health Association (APHA) (1992). : Standard Methods for the examination of Dairy Products. 16th edition . Washington, D.C.
6. A.O.A.C.Int., (1997), : “Official methods of analysis, Vol.1-Vol.2”, 16th Ed. , A.O.A.C., Maryland, U.S.A, σελ. (10)1-(10)13, (33)1-(33)4.
7. Avonson, K.J., et.al., (2000), : “ Breast adipose tissue concentration of polychlorinated biphenyls and other organochlorines and breast cancer risk”, Cancer.Epidemiol.Biomarkers.Prev.9 (1), σελ. 55-63.
8. Bennett, D.A., Chung, A.C., Lee, S.M., (1997), : “ Multiresidue method for the analysis of pesticides in liquid whole milk”, J.A.O.A.C.Int.80 (5), σελ. 1065-1078.
9. Bentabol, A., Jodral, M., (1997), : “ Occurrence of organochlorine agrochemical residues in Spanish cheeses”, Pestic.Sci.44(2) , σελ.177-182.
10. Borrie, P. and Barrett, J. (1961) : “Dermatitis caused by penicillin in bulked milk supplies”. Brit. Med. J. 1961 – II, 1267.
11. Bruse, W.N., Link, R.P., Decker, G.C., (1965), : “Storage of heptachlor epoxide in the body fat and its excretion in milk of dairy cows fed heptachlor in their diets” J.Agric.Food.Chem.13 (1) , σελ. 63-67..
12. Burton, M.A.S., Bennett, B.G., (1987), : “ Exposure of man to environmental hexachlorobenzene (HCB) – An exposure commitment assessment”, Sci.Total.Environ.66, σελ.137-146.
13. Γεωργόπουλος, Σ.Γ., Ζιώγας, Β.Ν., (1992), : “ Αρχές και μέθοδοι καταπολέμησης των ασθενειών των φυτών”, Αθήνα , σελ. 71-73, 82-83.
14. Caido, K., et.al., (1998), : “ Comparative estrogenic activity of wine extracts and organochlorine pesticide residues in food”, Environ.Health.Perspect.106 (6), σελ. 1347-1351.

15. Commission of the European Communities,: “Organophosphorus pesticides – Criteria (dose/effect relationship) for the organophosphorus pesticides”
Report of a working group of experts prepared for the Commission of the E.C., Pergamon Press, σελ. 1-3 , 99-102.
16. Demott, B.J., Miles,J.T., Hinton, S.A., Hardin, L.J., (1966),: “ Secretion of heptachlor epoxide in milk”, J.Dairy.Sci.,49 (12), σελ. 1495-1498.
17. Dogheim,S.M., Almaz,M.M., Kostandi,S.N., Hegazy, E.M., (1988),: “ Pesticide residues in milk and fish samples collected from Upper Egypt”
J.Assoc.Off.Anal.Chem.71(5), σελ. 872-874.
18. Epstein,S.S.,(1994),: “ Environmental and occupational pollutants are avoidable causes of breast cancer”, Int.J.Health.Services.24(1), σελ.145-150.
19. Erskine, D.(1966) : “Dermatitis caused by penicillin in milk”. In MARTH E.H. Antibiotics in foods-naturally occurring,developed and added. Residues reviews. F.A. GUNTHER (ed) Volume 12 pp. 65-161.
20. Falk,F., et.al., (1992), :“ Pesticides and polychlorinated biphenyls residues in lipids and their relation to breast cancer”, Arch.Environ.Health.47, σελ. 143-146.
21. FAO/WHO., (1993), :“ Codex Alimentarius Vol. II – Pesticide residues in food” 2nd Ed., Rome, σελ. 375-376,419,461-463.
22. Φάσσας, Π.(1972).: “Μέθοδος ανιχνεύσεως των αντιβιοτικών στο γάλα με την τροποποιηθείσα δοκιμή”. Ελληνική Κτηνιατρική 15, 121-121, 1972.
23. F.D.A., “ Pesticides residues in food, techniques of determination”, Technomic Publications Co,Inc, Lancaster, USA, σελ.1-3,21-33,59-64.
24. Φυτιανός, Κ., Βασιλικιώτης, Γ., Καβλέντης, Ε., Λασκαρίδης, Ν., Weil,L., (1983),: “ Οργανοχλωριωμένες ενώσεις σε γαλακτοκομικά προϊόντα, μητρικό γάλα, φρούτα και λαχανικά”, Πρακτικά 8^{ου} Πανελλήνιου Συνεδρίου Χημείας, 5-10 Δεκεμβρίου 1983, τόμος Β', σελ.404-407.
25. Gyrisco, G.G., et.al., (1960),: “The effects of feeding high levels of sevin onresidue ,flavor and odour of the milk of dairy cattle”, J.A Agric.Food.Chem.8(5), σελ. 409-410.
26. Ιγνατιάδου-Ραγκούση, Β., (1996),: “ Χημεία φυσικών προϊόντων”, Ε.Κ. Πανεπιστήμιο Αθηνών, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας, Αθήνα, σελ. 255-292.
27. IDF, (1993): Inhibitory Substances In Milk – Current Analytical Practice, Bulletin, No 283.
28. Hansen, H.C. , Wiggins, G.E. and Boyo, J.C.(1950). : “Modern methods of mastitis treatment cause trouble in the manufacture of cultured dairy products”. J. Milk Food Technol. 13, 359.
29. Hassal, K.A., (1990),: “ The biochemistry and uses of pesticides” 2nd Ed., VCH New York, Weinheim, σελ. 10-13, 31-44.
30. Hibbs, R.A. and Boyd, J.C. (1957): "Some odservations on testing milk samples for antibiotics". J. Milk Food Technol. 20, 109.
31. Hoffmann,W, (1996), “ Organochlorine compounds : risk of Non-Hodgkin's Lymphoma and breast cancer”, Arch.Environ.Health.51 (3), σελ. 189-192.

32. Hopper, L.M., (1999),: “ Automated one step supercritical fluids extraction and clean up system for the analysis of pesticide residues in fatty matrices”, J.Chromat. A, 840, σελ. 95-105.
33. Juhler, R.K., Lauridsen, M.G., Christensen, M.R., Hilbert, G., (1999), : “ Pesticide residues in selected food commodities : results from the Danish National Pesticide Monitoring Program 1995-1999”, J.A.O.A.C.Int.82 (2), σελ. 337 – 358.
34. Kannan, K., et.al., (1997),: “ Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in foodstuffs from Asia and Oceanic counties”, Rev.Enviro.n.Contam.Toxicol.152 , σελ. 30-37.
35. Kaphalia, S.B., et.al., (1990),: “ Organochlorine pesticide residues in different Indian cereals, pulses, spices, vegetables, fruits, milk, butter, deshi gee, and edible oils”, J.A.O.A.C.Int.73(4) , σελ. 509-512.
36. Karageorgiou, E.G., Samanidou, V.F., Papadoyannis, I.N. (2012).: “Ultrasound-assisted matrix solid phase dispersive extraction for the simultaneous analysis of b-lactams (four penicillins and eight cephalosporins) in milk by high performance liquid chromatography with photodiode array detection”, Volume 35, Issue 19, σελ 2599-2607.
37. Karageorgiou, E.G., Samanidou, V.F. (2011).: “Development and validation according to European Union Decision 2002/657/EC of an HPLC-DAD method for milk multi-residue analysis of penicillins and amphenicols based on dispersive extraction by QuEChERS in MSPD format” , Journal of Seperation Science.
38. Kapoor, S.K., Kalra, R.L., (1997) ,: “ Transfer of HCH isomers from feed into milk of Indian buffalo , Bubalus bubalis L.”, Pestic.Res.J.9 (1) , σελ. 72-78.
39. Κεχαγιάς Χ. (2011) : Γάλα. Επιστήμη, Τεχνολογία και Έλεγχοι για τη διασφάλιση της ποιότητας. Αθήνα. σελ. 135-138.
40. Κεχαγιάς Χ., Κουλούρης Σ., (2004) : Στοιχεία Τεχνολογίας και Έλεγχοι Ποιότητας Γάλακτος και Γαλακτοκομικών Προϊόντων – Εργαστηριακό Εγχειρίδιο. Αθήνα.
41. Kersey, R.C., Visor, F.C. and Wrenshall, C.L.(1966): “Residual antibiotic levels in food products during storage and processing”. In MARTH E.H. Antibiotics in foods-naturally occurring, developed and added. Residues reviews. F.A. GUNTHER (ed) Volume 12 pp. 65-161.
42. Laben, R.C., Archer, T.E., Crosby, D.G., Peoples, S.A., (1965),: “Lactational output of DDT fed prepartum to dairy cows”, J.Dairy.Sci.48, σελ. 701-707.
43. Langlois, B.E., Liska, B.J. and Hill, D.L., (1964), “The effects of processing and storage of dairy products on chlorinated insecticides residues DDT and lindane.”. J.Milk.Food.Technol.27(9), σελ 264-267.
44. Langlois, B.E., Liska, B.J., Hill, D.L., (1965),: “The effects of processing and storage of dairy products on chlorinated insecticides residues , II . Endrin, Dieldrin and heptachlor”. J.Milk.Food.Technol.28(1), σελ 9-11
45. Laurenza, A. and Pianesse, G.(1966): “Effetti delgi antibiotici Sulla flora batterica del latte”. In MARTH E.H. Antibiotics in foods-naturally

- occurring, developed and added. Residues reviews. F.A. GUNTHER (ed)
Volume 12 pp. 65-161.
46. Lenardon, A., Maitre de la Hevia, M.I., Enrique de Carbon, S., (1994):
“Organochlorine pesticides in Argentinian butter”, Sci.Total.Environ.144,
σελ. 273-277.
 47. Λέντζα – Ρίζου, X., (1994): “Υπολείμματα γεωργικών φαρμάκων στα
αγροτικά προϊόντα”, Αθήνα, σελ. 9-27, 34-35.
 48. Λιτοπούλου – Τζανετάκη, Ε. (1985): Μικροβιολογία γάλακτος.
Θεσσαλονίκη.
 49. Λόλας, Π.Χ., (1998): “Η τύχη των ΦΠ στο περιβάλλον μετά την εφαρμογή
τους”, Πρακτικά 2^{ης} Πανελλήνιας Συνάντησης Φυτοπροστασίας, Λάρισα 5-7
Μαΐου 1998, σελ. 67-69.
 50. Losada, A., et.al., (1996): “Organochlorine pesticide residues in bovine milk
from Leon, Spain”, Sci.Total.Environ.181, σελ. 133-135.
 51. Luke, M.A., Masumoto, H.T., (1986): “Pesticide residue analysis of foods”
in “Analytical Methods for Pesticides and Plant – growth Regulators”,
Vol.XV, Academic Press, Inc, σελ. 174-176.
 52. Maitre, M.I., et.al., (1994): “Pesticide residue levels in Argentinian
pasteurized milk”, Sci.Total.Environ.155, σελ. 105-108.
 53. Mallatou, H., Pappas, C.P., Kondyli, E., Albanis, T.A., (1997): “Pesticide
residues in milk and cheeses from Greece”. Sci.Total.Environ.196, σελ. 174-
176.
 54. Manes, J., Font, G., Pico, Y., (1993): “Evaluation of a solid phase extraction
system for determining pesticides residues in milk”. J.Chromat.642, σελ. 195-
204.
 55. Manes, J., Font, G., Pico, Y., Molto, J.E., (1996): “Residues of
organophosphates in food”, in Handbook of Food Analysis Vol.2, edited by
Nollet, L.M.L., σελ. 1437-1453.
 56. Marth, E.H., (1962): “Chlorinated hydrocarbons deposited in biological
material – Animal and animal products”, J.Milk.Food.Technol.25(3), σελ 72-
74.
 57. Marshall, R.T., (ed.), (1992): “Standard methods for the examination of dairy
products” 16th Ed., σελ. 527-528.
 58. McCaskey, T.A. and Liska, B.J., (1967): “Effects of milk processing on
endosulfan, endosulfan sulfate and chlordane in milk.”, J.Dairy.Sci.50(12),
σελ 1991-1993.
 59. McEwen, S.A., McNab, W.B., (1997): “Contaminants of non-biological
origin in foods from animals”, Rev.Sci.Tech.16(2), σελ. 684-693.
 60. Mendonea, G.A., et.al., (2000): “Organochlorines and breast cancer : a case
control study in Brazil”, Int.J.Cancer83 (5), σελ. 569-600.
 61. Μηλιάδης, Γ., (1989): “Μελέτη μεθόδου προσδιορισμού υπολειμμάτων
ζιζανιοκτόνων παραγώγων της ουρίας” Διδακτορική διατριβή, Α.Π.Θ.,
Τμήμα Χημείας, Θεσσαλονίκη 1989, σελ. 1-10.

62. Ministry of Welfare, Health and Cultural Affairs,(1988),:“Analytical methods for residues of pesticides”, 5th Ed., Rijswijk – Netherlands, σελ. 1-12, 53-61.
63. Montoure,J.E., Muldoon,P.J.,(1967),:“Effect of manufacturing and storage on the chlorinated hydrocarbon residue level in Monterey and Cheddar type cheese manufactured from DDE, TDE, DDT contaminated milk.”
J.Dairy.Sci.50(60), σελ. 954.
64. Mattick, A.T.R. and Hirsch (1966).:“Further observations on an inhibitory substance (nisin) from lactic streptococci”. In MARTIN E.H. Antibiotics in foods-naturally occurring, developed and added. Residues reviews. F.A. GUNTHER (ed) Volume 12 pp. 65-161.
65. Μουζούρας Σ.Γ. (1996).: “Κτηνιατρική Φαρμακολογία”. Αθήνα.
66. Μπαλαγιάννης, Π.Γ.,(1997), :“Φυτοπροστασία”, Ευγενίδιο Ίδρυμα, Αθήνα, σελ. 132-141.
67. Mukherjee,I., Gopal, M.,(1993),: “ Organochlorine pesticide residues in dairy milk in and around Delhi” , J.A.O.A.C.Int.76(2), σελ. 283-286.
68. Mushtaq, M., Allen, R.L.S., Cranch, L.S., Wislocki, P.G.,(1997),: “Fate of 3H- and 14C-labeled Emamectin Benzoate in lactating goats” .
J.Agri.Food.Chem.45, σελ. 253-259.
69. Mussalo-Ranhamna,H., et.al.,(1990),: “Occurrence of beta-HCH in breast cancer patients”, Cancer 66(10), σελ. 2124-2127.
70. Πατσάκος, Γ.Π.,(1994),: “Έντομοκτόνα και ακαρεοκτόνα”, Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Αθήνα.
71. Parkins, J.J. (1983).: “Effects of residual levels of a combined antibiotic product in the concentrate feed given to lactating dairy cows”. Veterinary Record 112 (25) 584-585 1982 (από D.S.A. 4690, 1983).
72. Pico,Y.,Molto,J.C., Manes,J., Font,G., (1994),: “Solid phase techniques in the extraction of pesticides and related compounds from foods and soils” ,
J.Microcol.Sep.6, σελ.531-539.
73. Prapamontol,T., Stevenson,D.,(1991),: “Rapid method for the determination of organochlorine pesticides in milk”, J.Chromat.552, σελ. 249-257.
74. Rathore, H.S., Saxena, S.K., Begum,T., (1996),: “Analysis of carbamate pesticide residues in foods”, in Handbook of Food Analysis Vol.2, edited by Nollet,L.M.L., σελ.1381-1395.
75. Report of an IARC Working Group, (1980),: “An evaluation of chemicals and industrial processes associated with cancer in humans based on human and animal data : IARC monographs Volumes 1 to 20” , Cancer.Res.40(1), σελ. 1-12.
76. Rittel,L., (1997),: “Report of a panel on the relationship between public exposure to pesticides and cancer. Ad Hoc Panel on pesticides and cancer. National Cancer Institute of Canada”, Cancer 80 (10), σελ. 2019-2033.
77. Riva,C., Anadon,A., (1991),: “Organochlorine pesticide residues in cow’s milk from agricultural region in Northeastern Spain”. Bull.Enviro. Contam. Toxicol.46, σελ.527-533.

78. Rodondo, M.J., et.al., (1991),: "Organochlorine residues analysis of commercial milks by capillary Gas Chromatography", J.High.Res.Chromat.14, σελ. 597-600.
79. Rusoff, L.L., Lee, G.C. and Stone, E.J.(1957). : "Aureomycin (chrotetracycline) distribution in milk". J. Dairy Sci. 40, 1390.
80. Safe, S.H., Zacharewski, T., (1997),: "Organochlorine exposure and risk of breast cancer", Prog.Clin.Biol.Res.396, σελ. 133-145.
81. Schrader, T.J., Cooke, G.M., (2000) ,: "Examination of selected food additives and organochlorine food contaminants for androgene activity in vitro", Toxicol.Sci.53 (2), σελ. 278-288.
82. Serma, J., (1999): "Recent advances in TLC of pesticides", J.A.O.A.C.Int.82 (1), σελ. 48-55.
83. Singh, P.P., Chawla, R.P., (1988),: "Insecticide residues in total diet samples in Punjab, India", Sci.Total.Environ.76, σελ.139-146.
84. Shanhani, K.M. (1957):. "The effect of heat and storage on the stability of aureomycin in milk, buffer, and water". J. Dairy Sci. 40, 289.
85. Shanhani, M.K. (1961):. "Factors affecting the visual method of detecting antibiotics in milk. J. Milk Food Techn., 24, 138-142.
86. Sheridam, R.S., Meola, R.J., (1999),: "Analysis of pesticide residues in fruit, vegetables and milk by GC/Tandem MS", J.A.O.A.C.Int.82 (4), σελ. 982-991.
87. Smart, N.A., Hill, A.R.C., Roughan, P.A., (1972),: "Residues of some chlorinated hydrocarbon pesticides in milk and milk products after their addition to the feed of cows", Pestic.Sci. 3 σελ 415-419.
88. Soliman, S., et.al., (1997),: "Serum organochlorine pesticide levels in patients with colorectal cancer in Egypt", Arch.Environ.Health.52 (6), σελ. 409-415.
89. Stead, S.L. et al (2008):. " Evaluation and validation according to international standards of the Delvotest® SP-NT screening assay for antimicrobial drugs in milk" International Dairy Journal, σελ 3-11.
90. Stoltz, E.I. and Hankinson, D.J. (1954). : "The effects of antibiotics in milk on the human intestinal coliform bacteria". J. Milk Food Technol. 17, 76.
91. Tsiplakou, E., Anagnostopoulos, C.J., Liapis, K., Haroutounian, S.A., Zervas, G. (2010),: "Pesticides residues in milk and feed stuff of farm animals drawn from Greece". Chemosphere , Vol 80(5), σελ. 504-512.
92. Unlimitited DSM, DSM Food Specialties, Dairy Ingredients. Technical Bulletin, The Netherlands.
93. Vickers, H.R, Bagratuni, L. and Alexander, S.(1966):. "Dermatitis caused by penicillin in milk". In MARTIN E.H. Antibiotics in foods-naturally occurring, developed and added. Residues reviews. F.A. GUNTHER (ed) Volume 12 pp. 65-161.
94. Waliszewski, S.M., et.al , (1997),: "Organochlorine pesticide residues in cow's milk and butter in Mexico", Sci.Total.Environ.208, σελ. 127-132.
95. Walstra, P., and Jenness, R., (1984),: "Dairy chemistry and physics", J.Wiley & Sons, N.Y., σελ. 142-143.

96. Wave, G.W., (1994), :“The pesticide book” , 14th ed., Thomson Publication, U.S.A. , σελ. 11-12, 24-37.
97. Weiser, H.H., Mountney, G.J. and Gould, W.A. (1971).: Practical food microbiology and technology. The AVI publishing company, Westport, Connecticut p. 294 1971.
98. Welch, H.(1966).: “Problems of antibiotics in food as the Food and Dairy Drug Administration sees them”. In MARTH E.H. Antibiotics in foods-naturally occurring, developed and added. Residues reviews. F.A. GUNTHER (ed) Volume 12 pp. 65-161.
99. Westin, B.J., (1993).: “Carcinogens in Israeli milk: a study in regulatory failure” Int.J.Health.Services.23 (23), σελ. 497-517.
100. Whitehead, H.R. : A substance inhibiting bacterial growth, produced by certain strains of lactic streptococci. In Marth, E.H. Antibiotics in foods-naturally occurring, developed and added. Residues reviews. Gunther, F.A (ed) Volume 12 pp. 65-161.
101. Wilson, C.D (1981).: “Antibiotic therapy in mastitis control”. In mastitis control and Herd Management. Bramley, A.J. Dodd, F.H. and Griffin, T.K. (eds) Technical Bulletin 4. NIRD- HRI.
102. Wolff, M.S., Toniolo, P.G., Lee, E.W., Rivera, M., Dubin, N., (1993).: “Blood levels of organochlorine residues and risk of breast cancer”, J.Natl.Cancer.Inst.85 (8), σελ. 648-652.
103. Wong, S.K., Lee, W.O., (1997).: “Survey of organochlorine pesticide residues in milk in Hong Kong (1993-1995)” ,J.A.O.A.C.Int.80(6), σελ. 1332-1339.
104. Zimmerman, M.C.(1966).: “Chronic penicillin urticaria from dairy products proved by penicillinase cures”. In MARTH E.H. Antibiotics in foods-naturally occurring, developed and added. Residues reviews. F.A. GUNTHER (ed) Volume 12 pp. 65-161.
105. Χριστοδουλάκης, Π., (1998).: ‘Φυτοφάρμακα-Περιβάλλον’, Πρακτικά 2^{ης} Πανελλήνιας Συνάντησης Φυτοπροστασίας, Λάρισα, 5-7 Μαΐου 1998, σελ. 169-177.