

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ – ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ

ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ & ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΥΓΙΕΙΝΗ:

ΠΟΙΟΤΗΤΑ – ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΥΔΑΤΩΝ

& ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ



Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

**Συγκριτική μελέτη των επιπέδων λιπόφιλων βιταμινών
(A,D,E) σε συμβατικά και βιολογικά δείγματα αίγειου και
πρόβειου γάλακτος**

ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ Θ. ΛΙΑΠΠΗΣ

Γεωπόνος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων

ΛΑΡΙΣΑ, 2013

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ – ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ

ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ & ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΥΓΙΕΙΝΗ:

ΠΟΙΟΤΗΤΑ – ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΥΔΑΤΩΝ

& ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ



Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

**Συγκριτική μελέτη των επιπέδων λιπόφιλων βιταμινών
(A,D,E) σε συμβατικά και βιολογικά δείγματα αίγειου και
πρόβειου γάλακτος**

ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ Θ. ΛΙΑΠΠΗΣ

Γεωπόνος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων

ΛΑΡΙΣΑ, 2013

Η τριμελής επιτροπή:

- **Γκορτζή Όλγα**, Επιβλέπουσα Διπλωματικής, Επίκουρη Καθηγήτρια του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων, ΤΕΙ Λάρισας,
- **Λαλάς Σταύρος**, Αναπληρωτής Καθηγητής του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων, ΤΕΙ Λάρισας,
- **Χατζηχριστοδούλου Χρήστος**, Αναπληρωτής Καθηγητής του Ιατρικού Τμήματος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας,

Στους γονείς μου...

Συγκριτική μελέτη των επιπέδων λιπόφιλων βιταμινών (A,D,E) σε συμβατικά και βιολογικά δείγματα αίγειου και πρόβειου γάλακτος

Λέξεις κλειδιά: βιολογικό, συμβατικό, πρόβειο-αίγειο γάλα, βιταμίνες

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η εκτίμηση της υπεροχής της διαθρεπτικής αξίας του βιολογικού γάλακτος κρίνεται αναγκαία εξαιτίας την συνεχούς αυξανόμενης ζήτησης των καταναλωτών. Αντικείμενο της παρούσας μελέτης αποτέλεσε η επικαιροποίηση του περιεχομένου των λιπόφιλων βιταμινών (A, D & E) σε δείγματα αίγειου και πρόβειου γάλακτος, προερχόμενα από βιολογικές και συμβατικές μονάδες παραγωγής, από τον νομό Λάρισας και τον νομό Μαγνησίας. Κατά την εξέλιξη της έρευνας, συλλέχθηκαν δείγματα ($n=12$) από συμβατικές και ($n=12$) από βιολογικές μονάδες παραγωγής αίγειου γάλακτος. Επιπλέον ο αντίστοιχος αριθμός δειγμάτων συλλέχθηκε και από συμβατικές και βιολογικές μονάδες παραγωγής πρόβειου γάλακτος. Πιο συγκεκριμένα προσδιορίστηκαν ποσοτικά, η βιταμίνη *all-trans-retinol*, η α - τοκοφερόλη και η χοληκαλσιφερόλη. Η διαδικασία προετοιμασίας των δειγμάτων περιελάμβανε την διενέργεια σαπωνοποίησης και έπειτα την εκχύλιση των ουσιών με διαλύτες τον πετρελαϊκό αιθέρα και τον διαιθυλαιθέρα. Η εκτίμηση του περιεχομένου των βιταμινών πραγματοποιήθηκε με την εφαρμογή της κανονικής και της αντίστροφης υγρής χρωματογραφίας με την κινητή φάση να αποτελούν διαλύτες όπως το εξάνιο:αιθανόλη:2-προπανόλη (97.5:1:0.5) και μεθανόλη ή ακετονιτρίλιο:μεθανόλη (55:45). Η ανίχνευση των βιταμινών έγινε με την χρησιμοποίηση του φθορισμομετρικού ανιχνευτή και του ανιχνευτή φωτοδιόδων. Για τον διαχωρισμό των βιταμινών χρησιμοποιήθηκε η ισοκρατική έκλουση των διαλυτών και προσδιορίστηκαν τα όρια ανίχνευσης, 0.002 $\mu\text{g/ml}$ για την βιταμίνη *all-trans-retinol*, 3ng/ml για την χοληκαλσιφερόλη και 0.02 $\mu\text{g/ml}$ για την α - τοκοφερόλη. Το βιολογικό αίγειο γάλα εμφάνισε τις υψηλότερες τιμές περιεκτικότητας των λιποδιαλυτών βιταμινών, ενώ το πρόβειο γάλα εμφάνισε υψηλότερες τιμές στις συμβατικές παραγωγές. Τέλος σημαντική επίπτωση επί του περιεχομένου των βιταμινών βρέθηκε να ασκεί ο παράγοντας της γεωγραφίας της περιοχής.

Comparison of fat soluble vitamin (A, D & E) content in sheep and goats milk between conventional and organic farming systems in the Greek lands

Keywords: organic; conventional; sheep-goat milk; vitamins

ABSTRACT

Increasing sales of organic milk mean intensified tests for nutritional value are required . The aim of this study is to update the values concerning fat soluble vitamin (A, D & E) nutritional content of milk produced from conventional and organic dairy sheep and goats farms under the farming conditions practiced in Greece. During a 12-month longitudinal research, raw milk was collected from conventional ($n=12$) and organic ($n=12$) sheep dairy farms and another from conventional ($n=12$) and organic ($n=12$) goat farms were selected from Thessaly in Greece. The vitamins determined were all-*trans*-retinol, cholecalciferol and α - tocopherol. The sample preparation procedure, consisting of saponification and extraction by petroleum ether-diethylether was carried out in small-scale. Normal and Reserved phase HPLC separation using n-hexane:abs ethanol:2-propanol (97.5:1:0.5) and methanol or acetonitrile:methanol (55:45) respectively with fluorescence and UV was used. The vitamins could be separated in isocratic mode with detection limits 0.002 $\mu\text{g/ml}$ for all-*trans*-retinol, 8ng/ml for cholecalciferol and 0.02 $\mu\text{g/ml}$ for α - tocopherol. Organic goat milk had the highest content of fat soluble vitamins and conventional sheep milk had the respectively highest content. Finally approved a high influenced level of lowlands and highlands in fat soluble content.

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες	i
Κατάλογος Πινάκων	ii
Κατάλογος Σχημάτων	iii
Κεφάλαιο 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
Κεφάλαιο 2. ΛΙΠΟΔΙΑΛΥΤΕΣ ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ ΓΑΛΑΚΤΟΣ	3
2.1 Εισαγωγή.....	3
2.2 Βιταμίνη Α	4
2.2.1 Χημικά χαρακτηριστικά & Ιδιότητες.....	5
2.2.2 Μεταβολισμός & Φυσιολογικές λειτουργίες	6
2.2.3 Πηγές & ημερήσιες ανάγκες	8
2.3. Βιταμίνη D	10
2.3.1 Χημικά χαρακτηριστικά & Ιδιότητες.....	10
2.3.2 Μεταβολισμός & Φυσιολογικές λειτουργίες	11
2.3.3 Πηγές & ημερήσιες ανάγκες	14
2.4 Βιταμίνη Ε.....	16
2.4.1 Χημικά χαρακτηριστικά & Ιδιότητες.....	16
2.4.2 Μεταβολισμός & Φυσιολογικές λειτουργίες	18
2.4.3 Πηγές & ημερήσιες ανάγκες	20
Κεφάλαιο 3. ΣΥΜΒΑΤΙΚΟ & ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ ΑΙΓΟΠΡΟΒΕΙΟ ΓΑΛΑ.....	21
3.1 Η βιολογική κτηνοτροφία	21
3.1.1 Η Ελληνική αιγοπροβατοτροφία.....	22
3.1.2 Χαρακτηριστικά αιγοπρόβειου γάλακτος	23
3.2 Οι Βιταμίνες του Γάλακτος.....	26
3.2.1 Υδατοδιαλυτές βιταμίνες	26
3.2.2 Λιποδιαλυτές βιταμίνες.....	26
Κεφάλαιο 4. ΣΚΟΠΟΙ & ΣΤΟΧΟΙ ΜΕΛΕΤΗΣ	28
Κεφάλαιο 5. ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	29

5.1 Εισαγωγή	29
5.2 Συλλογή δειγμάτων γάλακτος	30
5.3 Αντιδραστήρια	32
5.4 Προετοιμασία δειγμάτων	33
5.5 Ανάλυση δειγμάτων με υγρή χρωματογραφία (HPLC)	35
5.5.1 Προσδιορισμός βιταμίνης Α	35
5.5.2 Προσδιορισμός βιταμίνης D	35
5.5.3 Προσδιορισμός βιταμίνης Ε.....	35
5.6 Επικύρωση μεθόδου	36
Κεφάλαιο 6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ & ΣΥΖΗΤΗΣΗ	37
6.1 Επικύρωση των μεθόδων	37
6.1.1 Βιταμίνη Α	37
6.1.2 Βιταμίνη D	38
6.1.3 Βιταμίνη Ε.....	39
6.2 Ποσοτικός προσδιορισμός βιταμινών	40
6.2.1 Αίγιο γάλα	40
6.2.2 Πρόβιο γάλα	46
Κεφάλαιο 8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	52
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	53
Ελληνική	53
Ξένη.....	53
Διαδίκτυο.....	56

Ευχαριστίες

Με το πέρας της ολοκλήρωσης της Μεταπτυχιακής Εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερώς την επιβλέπουσα της διατριβής μου κ Γκορτζή Ό., Επίκουρη Καθηγήτρια του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων, ΤΕΙ Λάρισας, για την ανάθεση του θέματος της παρούσας μελέτης και την συνεχή καθοδήγηση της καθ' όλη την διάρκεια της εκπόνησης και συγγραφής της μελέτης.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ Λαλά Σ., Αναπληρωτή Καθηγητή του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων, ΤΕΙ Λάρισας, μέλους της τριμελούς επιτροπής μου, για την συμβουλή του στην εκπόνηση της μελέτης.

Ευχαριστώ τον κ Χατζηχριστοδούλου Χ., Αναπληρωτή Καθηγητή του Ιατρικού Τμήματος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ο οποίος δέχθηκε να είναι μέλος της συμβουλευτικής και εξεταστικής επιτροπής.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά όλο το προσωπικό του εργαστηρίου Ανάλυσης Τροφίμων του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων, ΤΕΙ Λάρισας, και ιδιαίτερώς τον συνάδελφο και φίλο Αθανασιάδη Β., για την υποστήριξη και τις συμβουλές του σε όλη την διάρκεια της παρουσίας μου στο χώρο του εργαστηρίου.

Ξεχωριστά και ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον «Άγγελο» που με κάνει να χαμογελώ.

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1 2.1: Λιποδιαλυτές & Υδατοδιαλυτές Βιταμίνες.....	4
Πίνακας 2 2.2: Συνιστώμενες προσλαμβανόμενες ποσότητες βιταμίνης Α	8
Πίνακας 3 2.3: Συνιστώμενες προσλαμβανόμενες ποσότητες βιταμίνης D	15
Πίνακας 4 3.1: Μέση σύσταση των βασικών θρεπτικών συστατικών του Αίγειου & Πρόβειου γάλακτος.....	23
Πίνακας 5 3.1: Περιεκτικότητα Αίγειου & Πρόβειου γάλακτος σε μέταλλα & ιχνοστοιχεία	24
Πίνακας 6 3.2: Περιεχόμενο Αίγειου και Πρόβειου γάλακτος σε υδατοδιαλυτές βιταμίνες	26
Πίνακας 7 3.2: Περιεχόμενο Αίγειου και Πρόβειου γάλακτος, στις λιποδιαλυτές βιταμίνες Α, D και Ε (μg /ml), από συμβατικές παραγωγές.....	27
Πίνακας 8 5.1: Περιοχές συλλογής δειγμάτων γάλακτος από βιολογικές & συμβατικές μονάδες παραγωγής, αίγειου & πρόβειου γάλακτος	31
Πίνακας 9 6.2: Περιεχόμενο λιποδιαλυτών βιταμινών (Α, Ε) απο βιολογικές και συμβατικές παραγωγές αίγειου γάλακτος, κατά την περίοδο του χειμώνα (1η), την περίοδο Μαρτίου-Απριλίου (2η) και Μαΐου-Ιουνίου (3η)	40
Πίνακας 10 6.2: Περιεχόμενο λιποδιαλυτών βιταμινών (Α, Ε) απο βιολογικές και συμβατικές παραγωγές πρόβειου γάλακτος, κατά την περίοδο του χειμώνα (1η), την περίοδο Μαρτίου-Απριλίου (2η) και Μαΐου-Ιουνίου (3η).....	46

Κατάλογος Σχημάτων

Σχήμα 1 2.2: Τα ρετινοειδή της Βιταμίνης Α	5
Σχήμα 2 2.2: Μεταβολισμός βιταμίνης Α. ROH (ρετινόλη), RE (εστέρες ρετινόλης), Chylo (χυλομικρά), LPL (λιποπρωτεϊνική λιπάση), RBP (ρετινόλη-πρωτεΐνη φορέας), TTR (τρανσθυρετίνη), RA (ρετινοϊκό οξύ)	7
Σχήμα 3 2.3: Κυριότεροι μεταβολίτες της Βιταμίνης D	11
Σχήμα 4 2.3: Μεταβολισμός βιταμίνης D	13
Σχήμα 5 2.4: Οι τέσσερις τοκοφερόλες και οι τέσσερις τοκοτριενόλες που συνιστούν το σύμπλεγμα των Βιταμινών Ε	17
Σχήμα 6 5.1: Γεωγραφική απεικόνιση των περιοχών συλλογής δειγμάτων γάλακτος	30
Σχήμα 7 5.3: Διάγραμμα ροής της προετοιμασίας των δειγμάτων γάλακτος	33
Σχήμα 8 6.1: Διάγραμμα πρότυπης καμπύλης της βιταμίνης Α (all trans retinol)	37
Σχήμα 9 6.1: Διάγραμμα πρότυπης καμπύλης της βιταμίνης D ₃	38
Σχήμα 10 6.2: Διάγραμμα πρότυπης καμπύλης της βιταμίνης Ε (α- τοκοφερόλη)	39
Σχήμα 11 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Α, σε βιολογικές και συμβατικές μονάδες παραγωγής κατά την περίοδο του Χειμώνα, Μάρτιος-Απρίλιος και Μάιος-Ιούνιος	41
Σχήμα 12 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Ε, σε βιολογικές και συμβατικές μονάδες παραγωγής κατά την περίοδο του Χειμώνα, Μάρτιος-Απρίλιος και Μάιος-Ιούνιος	41
Σχήμα 13 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Α αίγειου γάλακτος από βιολογικές και συμβατικές παραγωγές κατά την περίοδο του Χειμώνα	42
Σχήμα 14 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Α αίγειου γάλακτος από βιολογικές και συμβατικές παραγωγές κατά την περίοδο Μάρτιος-Απρίλιος	42
Σχήμα 15 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Α αίγειου γάλακτος από βιολογικές και συμβατικές παραγωγές κατά την περίοδο Μάιος -Ιούνιος	43
Σχήμα 16 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Ε αίγειου γάλακτος από βιολογικές και συμβατικές παραγωγές κατά την περίοδο Χειμώνας	43
Σχήμα 17 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Ε αίγειου γάλακτος από βιολογικές και συμβατικές παραγωγές κατά την περίοδο Μάρτιος-Απρίλιος	44
Σχήμα 18 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Ε αίγειου γάλακτος από βιολογικές και συμβατικές παραγωγές κατά την περίοδο Μάιος –Ιούνιος	44

Σχήμα 19 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Α αίγειου γάλακτος από πεδινές, ημιορεινές και ορεινές περιοχές παραγωγής κατά τις περιόδους Χειμώνα, Μάρτιος-Απρίλιος και Μάιος-Ιούνιος.....	45
Σχήμα 20 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Ε αίγειου γάλακτος από πεδινές, ημιορεινές και ορεινές περιοχές παραγωγής κατά τις περιόδους Χειμώνα, Μάρτιος-Απρίλιος και Μάιος-Ιούνιος.....	45
Σχήμα 21 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Α, σε βιολογικές και συμβατικές μονάδες παραγωγής κατά την περίοδο του Χειμώνα, Μάρτιος-Απρίλιος και Μάιος-Ιούνιος	47
Σχήμα 22 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Α, σε βιολογικές και συμβατικές μονάδες παραγωγής κατά την περίοδο του Χειμώνα, Μάρτιος-Απρίλιος και Μάιος-Ιούνιος	47
Σχήμα 23 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Α πρόβειου γάλακτος από βιολογικές και συμβατικές παραγωγές κατά την περίοδο Χειμώνας.....	48
Σχήμα 24 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Α πρόβειου γάλακτος από βιολογικές και συμβατικές παραγωγές κατά την περίοδο Μάρτιος-Απρίλιος.....	48
Σχήμα 25 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Α πρόβειου γάλακτος από βιολογικές και συμβατικές παραγωγές κατά την περίοδο Μάιος-Ιούνιος.....	49
Σχήμα 26 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Ε πρόβειου γάλακτος από βιολογικές και συμβατικές παραγωγές κατά την περίοδο Χειμώνας.....	49
Σχήμα 27 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Ε πρόβειου γάλακτος από βιολογικές και συμβατικές παραγωγές κατά την περίοδο Μάρτιος-Απρίλιος.....	50
Σχήμα 28 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Ε πρόβειου γάλακτος από βιολογικές και συμβατικές παραγωγές κατά την περίοδο Μάιος-Ιούνιος	50
Σχήμα 29 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Α πρόβειου γάλακτος από πεδινές, ημιορεινές και ορεινές περιοχές παραγωγής κατά τις περιόδους Χειμώνα, Μάρτιος-Απρίλιος και Μάιος-Ιούνιος.....	51
Σχήμα 30 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Ε πρόβειου γάλακτος από πεδινές, ημιορεινές και ορεινές περιοχές παραγωγής κατά τις περιόδους Χειμώνα, Μάρτιος-Απρίλιος και Μάιος-Ιούνιος.....	51

Κεφάλαιο 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το γάλα μαζί με τα γαλακτοκομικά προϊόντα, λόγω της υψηλής διατροφικής τους αξίας, παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην ανθρώπινη διατροφή. Το γάλα αποτελεί πολύτιμη πηγή βιοδραστικών ουσιών με ευεργετικό ρόλο στην καταπολέμηση της αρτηριοσκλήρυνσης, της υπέρτασης και του σακχαρώδη διαβήτη (Palmquist et al., 2006). Η κατανάλωση γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων αποτελεί ένα μέτρο προφύλαξης από παθήσεις, που έχουν ως πηγή τον σύγχρονο τρόπο ζωής.

Η ποιότητα και η σύνθεση του γάλακτος επηρεάζονται από διάφορους παράγοντες (Raynal-Ljutovac et al., 2008). Βασικός παράγοντας για την σύνθεση του γάλακτος αποτελεί η γενετική προδιάθεση των ιδίων γαλακτοπαραγωγικών ζώων.

Πέρα από τα γενετικά χαρακτηριστικά των γαλακτοπαραγωγικών ζώων μια δεύτερη ομάδα παραγόντων που επηρεάζουν καταλυτικά την σύνθεση του γάλακτος είναι τα φυσιολογικά χαρακτηριστικά, από τα οποία τα πιο καθοριστικά είναι το στάδιο της γαλουχίας και η ηλικία του ζώου.

Ουσιώδης παράμετρος για την σύνθεση του γάλακτος αποτελεί η μέθοδος και η σύνθεση της διατροφής των γαλακτοπαραγωγικών ζώων, καθώς επηρεάζει την περιεκτικότητα σε όλα τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά. Οι κλιματολογικές συνθήκες έχουν μικρή επίπτωση στην σύνθεση του γάλακτος, εκτός αν είναι ακραίες οπότε μπορούν να προκαλέσουν στρες στα ζώα με άμεση συνέπεια την μεταβολή της συνθέσεως του γάλακτος. Επιπλέον η αμελκτική πρακτική μπορεί να επιφέρει αλλαγές με πολλούς τρόπους στη σύνθεση του γάλακτος. Μικρό διάστημα μεταξύ των αμέλξεων συνεπάγεται χαμηλότερη παραγωγικότητα και το γάλα περιέχει περισσότερο λίπος (Weiss et al., 2002). Ως εκ τούτου, το προερχόμενο γάλα από την βραδινή άμελξη είναι πιο λιπαρό σε σύγκριση με αυτό της πρωινής άμελξης (Quist et al., 2008).

Την τελευταία δεκαετία η αναζήτηση των καταναλωτών για τρόφιμα που χαρακτηρίζονται από υψηλή ποιότητα και υψηλή περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά τα οποία αποδεδειγμένα είναι ευεργετικά για τον ανθρώπινο οργανισμό έχουν οδηγήσει στην ραγδαία αύξηση της παραγωγής βιολογικών προϊόντων, τα οποία χαρακτηρίζονται ως πιο πλούσια σε θρεπτικά συστατικά και πιο ασφαλή σε σύγκριση με τα αντίστοιχα προϊόντα που παράγονται με συμβατικές μεθόδους παραγωγής.

Αντιλαμβανόμενος τις εξελίξεις, ο κτηνοτροφικός γαλακτοπαραγωγικός κλάδος άρχισε την παραγωγή βιολογικού γάλακτος με στόχο την ικανοποίηση των καταναλωτών. Με γενικό κανόνα ότι τα βιολογικά προϊόντα υπερτερούν σε διατροφική αξία έναντι των προϊόντων από συμβατικές παραγωγές εκτιμήθηκε, ότι κατά την παραγωγή γάλακτος, το βιολογικό γάλα είναι πιο πλούσιο σε θρεπτικά στοιχεία σε σχέση με το συμβατικό.

Τα βιολογικά συστήματα παραγωγής γάλακτος δύναται να είναι περισσότερο επωφελή τόσο για τα παραγωγικά ζώα, όσο και για το ίδιο το περιβάλλον σε σχέση με τα συμβατικά συστήματα παραγωγής (Nicholas et al., 2004). Για πολλούς ανθρώπους αυτός είναι ένας σημαντικός παράγοντας για την αγορά βιολογικού γάλακτος. Ωστόσο, για άλλους ο κύριος λόγος για την αγορά βιολογικού γάλακτος είναι η ιδέα ότι τα βιολογικά τρόφιμα είναι πιο πλούσια σε θρεπτικά συστατικά και συμβάλλουν στην διατήρηση της υγείας. Με βάση αυτή την στροφή των καταναλωτών η απαίτηση για

τεκμηριωμένα επιστημονικά αποτελέσματα για την απόδειξη των παραπάνω ισχυρισμών, συνεχώς αυξάνεται.

Βασικά θρεπτικά συστατικά του γάλακτος για τον ανθρώπινο οργανισμό αποτελούν οι βιταμίνες που περιέχει, όπως είναι η βιταμίνη Α, D (Parodi, 1999) και η βιταμίνη Ε (Lindmark – Mansson & Akesson, 2000). Η παρουσία των βιταμινών Α, D και του β-καροτένιου είναι σημαντική για τον καταναλωτή, ενώ χαρακτηρίζονται για την αντικαρκινική τους δράση (Van Poppel, 1993; Parodi, 1999). Η βιταμίνη Ε δρα κυρίως ως αντιοξειδωτικό (Lindmark – Mansson & Akesson, 2000) ενώ έχει τεκμηριωθεί ότι η βιταμίνη Ε προλαμβάνει την ανάπτυξη των όγκων και των καρδιαγγειακών ασθενειών (Meydani, 2000).

Αποτελέσματα προσφάτων ερευνών έχουν καταδείξει, ότι οι αλλαγές στην μέθοδο παραγωγής του γάλακτος και διαφόρων γαλακτοκομικών προϊόντων δεν μεταβάλλουν συνολικά την περιεκτικότητα αυτών σε λίπος, αλλά επηρεάζουν σημαντικά τα ποσοστά των περιεκτικότητων των συστατικών τους (Bergamo et al., 2003).

Οι διαφορές όσον αφορά πιο συγκεκριμένα το περιεχόμενο των μεμονωμένων βιταμινών δεν έχουν καθοριστεί σαφώς και οι κατά καιρούς μελέτες (Emanuelson and Fall, 2007) παρουσιάζουν διαφορές στο περιεχόμενο του γάλακτος σε βιταμίνες κυρίως λόγω της διαφοροποίησης στα σιτηρέσια που χορηγούνται στα παραγωγικά ζώα (Bergamo et al, 2003; Butler et al, 2008).

Κεφάλαιο 2. ΛΙΠΟΔΙΑΛΥΤΕΣ ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

2.1 Εισαγωγή

Τα θρεπτικά στοιχεία χωρίζονται σε 6 μεγάλες κατηγορίες: υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, λιπίδια, βιταμίνες, ανόργανα στοιχεία και νερό.

Η ανακάλυψη των βιταμινών ή των αποκαλούμενων «βοηθητικών παραγόντων» έγινε στις αρχές του 20ου αιώνα. Ήταν τότε που οι ερευνητές ανακάλυψαν ότι για τη ζωή και την ανάπτυξη των ζώων απαιτείται κάτι περισσότερο από μια χημικά καθορισμένη διαίτα αποτελούμενη από υδατάνθρακες, λίπη, πρωτεΐνες, ανόργανα στοιχεία και νερό. Το πρώτο από αυτά τα «απαραίτητα συστατικά της διατροφής» που ανακαλύφθηκε ήταν ο παράγοντας κατά της beri-beri ασθένειας, από τον Funk, ο οποίος του έδωσε το όνομα *vitamine* επειδή η ένωση αυτή ήταν μια αμίνη (*amine*) απαραίτητη για τη ζωή (*vita*). Στη συνέχεια οι McCollum και Davis απομόνωσαν έναν παράγοντα από το λίπος βουτύρου που ονόμασαν λιποδιαλυτό παράγοντα Α. Αυτοί οι απαραίτητοι παράγοντες έγιναν γνωστοί ως *vitamine A* και *B*. Έκτοτε, κάθε νέα βιταμίνη που γινόταν γνωστή ονομαζόταν με ένα γράμμα της λατινικής αλφαβήτου. Με την απομόνωση και τη διευκρίνιση της δομής της, κάθε βιταμίνη απέκτησε το χημικό της όνομα και το κάθε χημικό όνομα θεωρήθηκε ότι αντιστοιχεί σε μία ένωση που έχει μια καθορισμένη δράση. Σήμερα είναι πλέον γνωστό ότι κάθε βιταμίνη έχει μια ποικιλία λειτουργιών και επιπλέον ότι βιταμινική δράση μπορεί να βρεθεί σε μια σειρά σχετιζόμενων μορίων, τα *vitamers* (ουσίες που διαθέτουν βιταμινική δραστηριότητα). Ένα χαρακτηριστικό τέτοιο παράδειγμα είναι η βιταμίνη Α: υπό τον όρο βιταμίνη Α τίθενται οι ενώσεις ρετινόλη, ρετινάλη και ρετινοϊκό οξύ.

Οι βιταμίνες (Πίνακας 1,2.1) είναι οργανικά μόρια που λειτουργούν ως συστατικά συνενζύμων ή ενζύμων σε διάφορες χημικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα στον οργανισμό. Απαιτούνται σε πολύ μικρές ποσότητες (της τάξεως του mg ή μg ανά ημέρα) και εμπλέκονται σε βασικές λειτουργίες του οργανισμού, όπως η ανάπτυξη και ο μεταβολισμός. Οι βιταμίνες παρέχονται στον οργανισμό, καθ' ολοκληρίαν ή μερικώς, από την τροφή. Διακρίνονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες τις υδατοδιαλυτές βιταμίνες και τις λιποδιαλυτές βιταμίνες (Πίνακας 1,2.1). Κάθε μια κατηγορία περιλαμβάνει έναν αριθμό μη-σχετιζόμενων χημικά ενώσεων που διαφέρουν ως προς το φυσιολογικό τους ρόλο στον οργανισμό (McDowell, 2000).

Ο οργανισμός μεταχειρίζεται τις υδατοδιαλυτές βιταμίνες με διαφορετικό τρόπο από τις λιποδιαλυτές. Οι υδατοδιαλυτές βιταμίνες απορροφώνται στο αίμα και με εξαίρεση τη βιταμίνη B12, δε διατηρούνται για μεγάλες περιόδους στον οργανισμό. Για το λόγο αυτό είναι απαραίτητος ο ημερήσιος ανεφοδιασμός του οργανισμού με τις βιταμίνες αυτές από την τροφή. Η τυχόν αποθήκευσή τους οφείλεται σε σύνδεση αυτών με ένζυμα ή μεταφορικές πρωτεΐνες. Όταν η ημερήσια πρόσληψη κάποιας υδατοδιαλυτής βιταμίνης υπερκαλύπτει τις ανάγκες του οργανισμού, το πλεόνασμα απεκκρίνεται με τα ούρα. Η απορρόφηση και μεταφορά των λιποδιαλυτών βιταμινών σχετίζεται άμεσα με την απορρόφηση και τη μεταφορά των λιπιδίων. Για την απορρόφηση των λιποδιαλυτών βιταμινών απαιτείται η παρουσία χολικών αλάτων και η μεταφορά τους γίνεται αρχικά από τα χυλομικρά. Σε αντίθεση με τις υδατοδιαλυτές βιταμίνες, οι λιποδιαλυτές

αποθηκεύονται στον οργανισμό. Βέβαια κάθε μια από αυτές αποθηκεύεται σε διαφορετικό ποσοστό και ποσό.

Πίνακας 1 2.1: Λιποδιαλυτές & Υδατοδιαλυτές Βιταμίνες

Βιταμίνες	Συνώνυμα
Λιποδιαλυτές	
A	Ρετινόλη, Ρετινάλη, Ρετινοϊκό οξύ
D ₂	Εργοκαλσιφερόλη
D ₃	Χοληκαλσιφερόλη
K ₁	Φυλλοκινόνη
Υδατοδιαλυτές	
Θειαμίνη	Βιταμίνη B ₁
Ριβοβλαβίνη	Βιταμίνη B ₂
Νιασίνη	Βιταμίνη B ₃
Βιταμίνη B ₆	Πυριδοξίνη
Παντοθενικό Οξύ	Βιταμίνη B ₅
Βιοτίνη	Βιταμίνη H
Φολικό Οξύ	
Βιταμίνη B ₁₂	Κυανοξοβαλαμίνη
Χολίνη	
Βιταμίνη C	Ασκορβικό Οξύ

2.2 Βιταμίνη A

Ανήκει στην κατηγορία των λιποδιαλυτών βιταμινών και είναι γνωστή και ως αξεροφθόλη, βιοστερόλη και αντιμολυσματική βιταμίνη. Η ύπαρξη της βιταμίνης αυτής αναγνωρίστηκε το 1913 και η χημική της φύση καθορίστηκε το 1933. Με τον όρο βιταμίνη A, αναφερόμαστε σε μια σειρά ενώσεων που βρίσκονται σε μεγάλη ποικιλία τροφίμων. Την βιταμίνη A, πρωτοανακάλυψαν οι Elmer V. McCollum και M. Davis κατά την διάρκεια ερευνών το 1912-1914. Σύνθεση της βιταμίνης A εργαστηριακά έγινε πρώτη φορά το 1947. Παρά το γεγονός ότι η βιταμίνη A, ανακαλύφθηκε το 1913 από τους Κόλλουμ & Ντέιβις στην Αμερική, πολλές τροφές πλούσιες σε αυτή (όπως το μωρουνέλαιο ή το συκώτι) ήταν γνωστές για τη θεραπευτική τους ιδιότητα από την εποχή των αρχαίων Ελλήνων, αφού ο Ιπποκράτης, πριν από 2500 χρόνια έλεγε ότι πρέπει να αναζητούμε τη θεραπεία στην τροφή μας.

Η βιταμίνη A, αποτελεί σημαντικό συμπλήρωμα διατροφής για όλα τα ζώα, συμπεριλαμβανομένων και των μηρυκαστικών. Η βιταμίνη A, βρίσκεται μόνο σε ζωικά τρόφιμα. ενώ στα φρούτα και λαχανικά βρίσκεται υπό την μορφή προβιταμίνης, της καροτίνης (α,β,γ) η οποία μετατρέπεται από ένα συγκεκριμένο ένζυμο που βρίσκεται στα εντερικά τοιχώματα των ζώων σε βιταμίνη A.

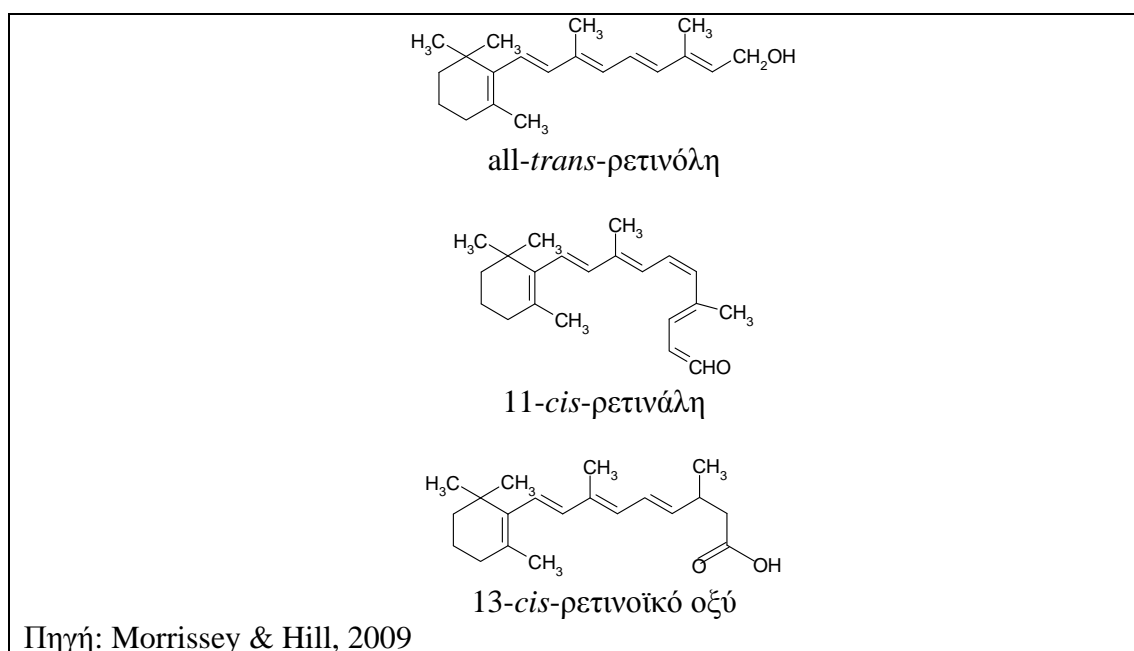
Όσον αφορά την ανθρώπινη διατροφή, η βιταμίνη A είναι μία από τις λίγες βιταμίνες που η ανεπάρκεια της όσο και η υπέρβαση της συνιστούν σοβαρό κίνδυνο για την υγεία. Ανεπάρκεια κατανάλωσης βιταμίνης A εμφανίζεται σε πολλές αναπτυσσόμενες χώρες και θεωρείται ως η πιο κοινή αιτία τύφλωσης σε μικρά παιδιά σε ολόκληρο τον κόσμο.

Στην λίστα του McLaren (1986) απαριθμούνται 73 χώρες και εδάφη που θεωρείται ότι έχουν σοβαρά προβλήματα εξαιτίας της ανεπάρκειας της Βιταμίνης Α (McLaren, 1986).

2.2.1 Χημικά χαρακτηριστικά & Ιδιότητες

Με τον όρο βιταμίνη Α, αναφερόμαστε σε μια σειρά ενώσεων απαντώμενων σε μια μεγάλη ποικιλία τροφίμων. Συνήθως ο όρος αναφέρεται στη ρετινόλη (μια αλκοόλη) και στη ρετινάλη (μια αλδεΐδη) με τη μητρική ένωση να είναι η *all-trans*-ρετινόλη. Το αντίστοιχο οξύ (ρετινοϊκό οξύ) είναι μεταβολίτης της ρετινάλης. Τα ρετινοειδή αποτελούνται από ομάδες ισοπρενίου συνδεδεμένες μεταξύ τους κατά «κεφαλή-ουρά». Η βιταμίνη Α, στα ζωικά προϊόντα υπάρχει σε διάφορες μορφές, αλλά κυρίως ως μακράς αλυσού εστέρες λιπαρών οξέων (π.χ. παλμιτικό ρητινυλεστέρα).

Οι τρεις τύποι της βιταμίνης Α, ρετινόλη, ρετινάλη και ρετινοϊκό οξύ (Σχήμα 1.2.2) εντοπίζονται σε δύο παραλλαγές των χημικών τους τύπων, που είναι η βιταμίνη Α₁ και η Α₂. Είναι αλκοόλες και αποτελούνται από έναν εξαμελή αλκυκλικό δακτύλιο με πλευρική αλυσίδα από δύο μονάδες ισοπρενίου. Η βιταμίνη Α₂ περιέχει στο μόριο της ένα διπλό δεσμό επιπλέον στο δακτύλιο της β – ιονόνης μεταξύ των ατόμων άνθρακα 3 και 4. Στα ζώα επικρατεί ο τύπος Α₁ ενώ στο συκώτι των ψαριών (κύριως του γλυκού νερού) ο τύπος Α₂, που η δραστηριότητα τους όμως φτάνει μόνο το 40% της βιολογικής δραστηριότητας της βιταμίνης Α₁ (Parker, 1996).



Σχήμα 1 2.2: Τα ρετινοειδή της Βιταμίνης Α

Οι προβιταμίνες α-, β- και γ- καροτίνη που υπάρχουν στα φυτά, είναι υδρογονάνθρακες με διπλάσιο μοριακό βάρος από την βιταμίνη Α. Η σπουδαιότερη απ' αυτές είναι η β-καροτίνη γιατί περιέχει στο μόριο της δύο δακτύλους της β- ιονόνης και παρουσιάζει την μεγαλύτερη δραστηριότητα. Η διάσπαση ενός μορίου β- καροτίνης με την πρόληψη δύο μορίων νερού και με την βοήθεια του ενζύμου της καροτινάσης δίνει δύο μόρια βιταμίνης Α. Αντίθετα η διάσπαση της α- και γ- καροτίνης δίνει μόνο ένα μόριο

βιταμίνης Α. Η μετατροπή αυτή της καροτίνης σε βιταμίνη Α, γίνεται στον εντερικό βλεννογόνο.

Η δραστηριότητα της βιταμίνης Α, εκφράζεται σε διεθνείς μονάδες (IU) ή σπανιότερα στις Μονάδες της Φαρμακοποιίας των Ηνωμένων Πολιτειών (USP). Μία IU ορίζεται ως η βιολογική δραστηριότητα των 0,300 μg ρετινόλης. Μία IU της δραστηριότητας της προβιταμίνης Α, είναι ίση με 0,6 μg του β-καροτενίου.. Η βιταμίνη Α, μπορεί να εκφραστεί και ως ισοδύναμο ρετινόλης (RE) αντί των IU. Εξ ορισμού, 1 ισοδύναμο ρετινόλης είναι ίσο με 1 μg ρετινόλη, 6 μg β-καροτενίου. Όσον αφορά τις διεθνείς μονάδες, 1 RE είναι ίση προς 3,33 IU της ρετινόλης ή 10 IU του β-καροτενίου.

Οι περισσότερες αναλυτικές τεχνικές για την ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό των ρετινοειδών και των καροτενοειδών πραγματοποιήθηκαν με την χρήση της υγρής χρωματογραφίας ανάστροφης φάσης (RP-HPLC) με αναλυτικές στήλες που περιείχαν χημικά προσδεδεμένη πλευρική αλυσίδα C₁₈. Επιπροσθέτως οι αναλυτικές στήλες C₃₀ έχουν αποδειχθεί χρήσιμες για ορισμένους απαιτητικούς διαχωρισμούς καροτενοειδών (Sander et al., 1994). Οι ανιχνευτές απορρόφησης υπεριώδους – ορατού (UV-VIS) είναι οι συνήθως χρησιμοποιούμενοι σε σχέση με τους ανιχνευτές φθορισμού, τους ηλεκτροχημικούς ανιχνευτές, ενώ έχουν χρησιμοποιηθεί και οι ανιχνευτές φασματοφωτομετρίας (Furr, 2004). Μελέτες προσδιορισμού ρετινοειδών και καροτενοειδών, με την χρήση της υγρής χρωματογραφίας που περιλαμβάνουν πληροφορίες για την προετοιμασία των δειγμάτων καθώς και για τις μεθόδους ανάλυσης (Song et al, 2000; Strobel et al., 2000; Miyagi et al, 2001).

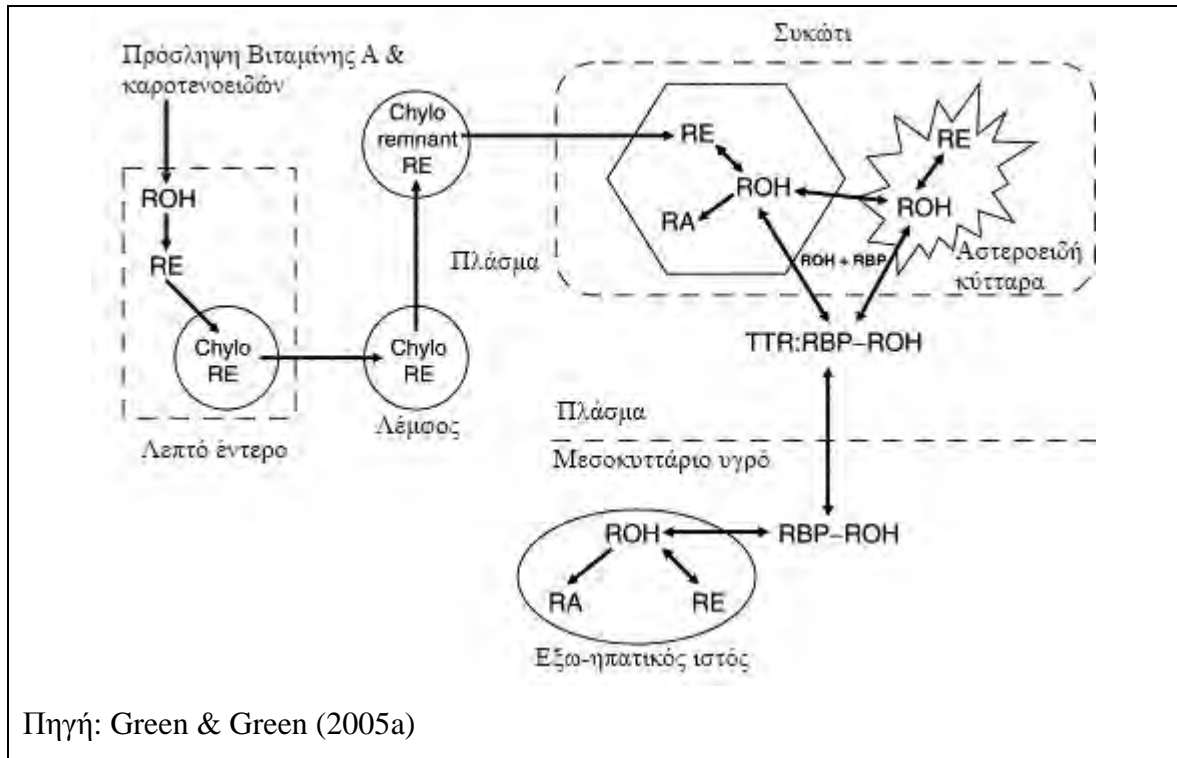
2.2.2 Μεταβολισμός & Φυσιολογικές λειτουργίες

Η βιταμίνη Α, απορροφάται εύκολα από το ανώτερο τμήμα του εντέρου (δωδεκαδάκτυλο και νήστιδα) μέσω ενός φορέα μεσολαβητή και εναποθηκεύεται στο ήπαρ με τη μορφή εστέρα (Σχήμα 2.2.2). Η απορρόφησή της διευκολύνεται από τα χολικά άλατα, την παγκρεατική λιπάση και τα λίπη. Ο ρόλος των χολικών αλάτων είναι προστατευτικός, γιατί σταθεροποιούν τη βιταμίνη που είναι ευαίσθητη σε οξειδώσεις και μεταφορικός γιατί χρησιμεύουν ως φορείς για τη δίοδό της δια μέσου του εντερικού βλεννογόνου. Στο εντερικό τοίχωμα (εντερική βλέννα) τα καροτένια μετατρέπονται σε βιταμίνη Α. Η μετατροπή αυτή ενισχύεται από τη θυρεοειδή ορμόνη και είναι ελαττωματική σε βαριές μορφές μη ρυθμιζόμενου διαβήτη και στη λιποειδή νέφρωση, ενώ επηρεάζεται από το είδος και την ποσότητα των πρωτεϊνών της διατροφής (Harrison & Hussain, 2001).

Η προβιταμίνη, β – καροτένιο είναι η πιο αποδοτική στην μετατροπή σε βιταμίνη Α. Το ρετινοϊκό οξύ είναι η βιολογικά δραστική μορφή της βιταμίνης Α που διευκολύνει τη μεταγραφή. Το ρετινοϊκό οξύ βρίσκεται, εντοπίζεται ενδοκυτταρικά σε μορφή all-trans και σε 9-cis. Ο τύπος all-trans ρετινοϊκό οξύ βρίσκεται σε πλειονότητα και αποτελεί το δραστικό παράγοντα που συνδέεται με τους ρετινοϊκούς υποδοχείς. Οι υποδοχείς αυτοί ανήκουν σε μία οικογένεια των πυρηνικών υποδοχέων που δρουν ως παράγοντες μεταγραφής και που προωθούν τις φυσιολογικές λειτουργίες στη μεταγραφή του DNA.

Οι φυσιολογικές λειτουργίες της βιταμίνης Α περιλαμβάνουν την ομαλή λειτουργία της όρασης, της κυτταρικής διαφοροποίησης, της εμβρυογένεσης, της ανοσολογικής

απόκρισης, της αναπαραγωγής και τέλος της φυσιολογικής ανάπτυξης. Τα καροτενοειδή επίσης έχουν μια ποικιλία διάφορων λειτουργιών, συμπεριλαμβανομένης της αντιοξειδωτικής δράσης, της ενίσχυσης του ανοσοποιητικού συστήματος, της αναστολής ενδεχόμενων μεταλλαξιογενέσεων, μείωση του κινδύνου της ηλικιακής εκφύλισης της ωχράς κηλίδας και καταρράκτη, μείωση του κινδύνου εκδήλωσης ορισμένων τύπων καρκίνου και μείωση του κινδύνου για εμφάνιση καρδιαγγειακές νοσημάτων.



Σχήμα 2 2.2: Μεταβολισμός βιταμίνης Α. ROH (ρετινόλη), RE (εστέρες ρετινόλης), Chylo (χυλομικρά), LPL (λιποπρωτεϊνική λιπάση), RBP (ρετινόλη-πρωτεΐνη φορέας), TTR (τρανσθυρετίνη), RA (ρετινοϊκό οξύ)

Ως κύρια φυσιολογική λειτουργία της βιταμίνης Α, χαρακτηρίζεται η επίδρασή της επί της όρασης. Η λειτουργία των κυττάρων του αμφιβληστροειδούς χιτώνα (ραβδία και κωνία) που είναι υπεύθυνα για την όραση στο ημίφως και στο σκοτάδι, εξαρτάται από την ποσότητα της οπτικής πορφύρας της ροδοψίνης. Η ροδοψίνη είναι μια φωτοευαίσθητη χρωστική ουσία των ραβδίων και αποτελείται από μια πρωτεΐνη την οψίνη και από την 11-*cis*-ρετινίνη, στερεοϊσομερή ένωση της αλδεύδης της βιταμίνης Α από την οποία και σχηματίζεται. Με την επίδραση του φωτός η ροδοψίνη μετατρέπεται σε οψίνη και *TRANS*-ρετινίνη. Στο σκοτάδι γίνεται αναγέννηση της ροδοψίνης από την βιταμίνη Α και την οψίνη. Λόγω της συμμετοχής της βιταμίνης Α στην λειτουργία της όρασης, η έλλειψη της περιορίζει τον σχηματισμό της οπτικής πορφύρας με συνέπεια τον περιορισμό της όρασης στο σκοτάδι. Έτσι μια καλή όραση είναι πάντα στενά συνδεδεμένη με την λήψη βιταμίνης Α (Gerster, 1997).

2.2.3 Πηγές & ημερήσιες ανάγκες

Σε παγκόσμιο επίπεδο, η ανεπάρκεια βιταμίνης Α αποτελεί μείζον πρόβλημα δημόσιας υγείας με την πιο σημαντική συνέπεια να αποτελεί η τύφλωση. Το πρώτο σημάδι της ανεπαρκούς πρόσληψης βιταμίνης Α, είναι η απώλεια της ευαισθησίας με το πράσινο φως, που ακολουθείται από αδυναμία προσαρμογής σε αμυδρό φως και καταλήγει σε αδυναμία όρασης σε αμυδρό φως. Παρατεταμένη ανεπάρκεια πρόσληψης οδηγεί σε ξηροφθαλμία, που περιλαμβάνει την κερατινοποίηση του κερατοειδούς, ακολουθούμενη από έλκωση, η οποία οδηγεί σε μη αναστρέψιμη κατάσταση που προκαλεί τελικά τύφλωση. Επιπλέον τα συμπτώματα ανεπαρκούς πρόσληψης βιταμίνης Α, συνδέονται με τη χαμηλή πρόσληψη λίπους (Olson et al., 2000).

Οι τρέχουσες εκτιμήσεις για την πρόσληψη της βιταμίνης Α (Πίνακας 2.2.2) απαιτούν την πρόσληψη τέτοιων ποσοτήτων ούτως ώστε να διατηρηθεί μια αποθεματική συγκέντρωση τουλάχιστον ίσης με 20 mg ρετινόλης / g ιστού ήπατος (Olson, 1987; Food and Nutrition Board, 2001). Αυτή η συγκέντρωση είναι ικανοποιητική ώστε να διασφαλιστεί σε ασφαλή επίπεδα η επάρκεια της βιταμίνης Α ακόμη και κατά μια περίοδο τεσσάρων (4) μηνών κατά την οποία η διατροφή του ατόμου είναι πτωχή σε βιταμίνη Α.

Όταν προσλαμβάνεται σε μεγάλες δόσεις η βιταμίνη Α, μπορεί να είναι τοξική (Ross, 1999a). Οξεία τοξικότητα σε ενήλικες δύναται να παρατηρηθεί σε περιπτώσεις όπου η προσλαμβανόμενη ποσότητα υπερβαίνει την συνιστώμενη κατά 100 φορές, ενώ για παιδιά η αντίστοιχη ποσότητα είναι ίση με το εικοσαπλάσιο της συνιστώμενης. Όσον αφορά την χρόνια τοξικότητα, αυτή προκύπτει από την κατανάλωση ποσοτήτων μεγαλύτερες ή ίσες προς 30.000 mg / ημέρα για μήνες ή και χρόνια (Food and Nutrition Board, 2001).

Πίνακας 2 2.2: Συνιστώμενες προσλαμβανόμενες ποσότητες βιταμίνης Α

Vitamin A (μg/d)				
Φύλο	Ηλικία	ΣΗΔ ¹	ΑΕ ²	ΥΜΑ ³
Άντρες	9-13	600	1700	445
	14-18	900	2800	630
	19-30	900	3000	625
	31-50	900	3000	625
	51-70	900	3000	625
	>70	900	3000	625
Γυναίκες	9-13	600	1700	420
	14-18	700	2800	485
	19-30	700	3000	500
	31-50	700	3000	500
	51-70	700	3000	500
	>70	700	3000	500

Πηγή: (Food and Nutrition Board Institute of Medicine, National Academies, 2012)

¹ Συνιστώμενη Ημερήσια Δόση (ΣΗΔ / RDA): το μέσο επίπεδο των ημερήσιων προσλήψεων (διατροφικών στοιχείων = Δ.Σ.) τα οποία είναι μέσα στις διατροφικές απαιτήσεις του 97-98 % των υγιεινών ατόμων σε καθορισμένα επίπεδα ζωής και ομάδες φύλου.

² Ανεκτά άνω επίπεδα προσλήψεων (AE / UL): υψηλότερο επίπεδο καθημερινής πρόσληψης ενός διατροφικού στοιχείου (ΔΣ) που δεν βάζει σε κίνδυνο ή δεν δημιουργεί δυσμενείς παρενέργειες στους περισσότερους ανθρώπους του πληθυσμού. Όσο ανεβάζετε την πρόσληψη πιο πάνω από το AE τόσο αυξάνει το ρίσκο για δυσμενείς παρενέργειες. Αυτή είναι η μεγαλύτερη διαφορά μεταξύ των νέων Ημερήσιων συνιστώμενων προσλήψεων ΗΣΠ (DRI) και των παλιών ΣΗΔ (RDA), καθώς ποτέ δεν ανέφεραν τα υψηλότερα επίπεδα που μπορούσαν να καταναλωθούν. Δείτε τους πίνακες με τα AE (Ανώτατα επίπεδα) των διατροφικών στοιχείων.

³ Υπολογιζόμενες μέσες απαιτήσεις (YMA / EAR): χρησιμοποιούμενα σαν βάση για τα ΣΗΔ ενώ είναι μια αξία της ημερήσιας πρόσληψης στοιχείων που υπολογίζεται να ταιριάζει με τις απαιτήσεις του μισού των υγείων ατόμων σε μια ομάδα φύλου ή επιπέδου ζωής. Συνιστάται η προσφυγή στον αρμόδιο επαγγελματία υγείας για μια υπεύθυνη συμβουλή.

2.3. Βιταμίνη D

Υπό τον όρο βιταμίνη D τίθεται μια σειρά ενώσεων με κύριες την εργοκαλσιφερόλη (βιταμίνη D₂) και την χοληκαλσιφερόλη (βιταμίνη D₃). Από την κατάταξη λείπει η βιταμίνη D₁. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι την εποχή που απομονώθηκαν και ονομάστηκαν οι βιταμίνες, η ουσία που είχε ονομαστεί βιταμίνη D₁, ήταν απλά ένα μίγμα των υπολοίπων βιταμινών D και έτσι αποκλείσθηκε από τον κατάλογο.

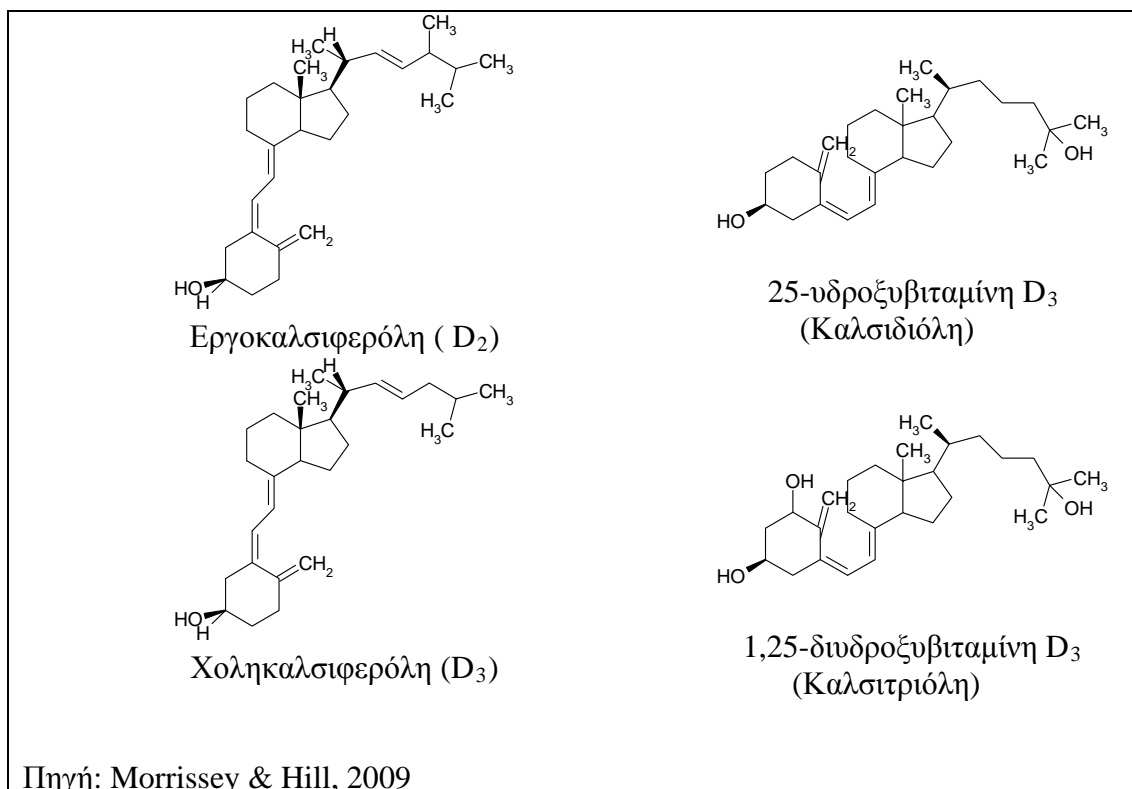
Στα φυτά υπάρχει το στεροειδές εργοστερόλη το οποίο ενεργοποιούμενο από την υπεριώδη ακτινοβολία οδηγεί στην εργοκαλσιφερόλη (βιταμίνη D₂). Στα ζώα δεν υπάρχει εργοστερόλη αλλά ένα άλλο στεροειδές, η 5,7-χολεστανοδιενόλη (7-δεϋδροχοληστερόλη). Η 7-δεϋδροχοληστερόλη υπάρχει στην επιδερμίδα των ζώων και του ανθρώπου. Η παρουσία συζυγιακών διπλών δεσμών στο μόριο επιτρέπει την απορρόφηση UV ακτινοβολίας (UV-B, 290-315 nm) υπό την παρασκευή της προβιταμίνης D₃ (προκαλσιφερόλη). Το μεγαλύτερο ποσοστό της προ βιταμίνης D₃ ισομερίζεται εντός 1-3 ημερών προς τη βιταμίνη D₃ (χοληκαλσιφερόλη ή καλσιόλη). Από την 7-δεϋδροχοληστερόλη παράγεται επίσης λουμιστερόλη υπό την επίδραση UV, ενώ η επιπλέον ακτινοβολία της προβιταμίνης D₃ οδηγεί στο σχηματισμό ταχυστερόλης.

Κατά την έκθεση του ανθρώπινου σώματος στην ηλιακή ακτινοβολία, το λευκό δέρμα απορροφά περίπου το 80% των φωτονίων UV-B που προσπίπτουν σε αυτό, ενώ το μαύρο δέρμα απορροφά το 95% περίπου. Εάν η παραγωγή προβιταμίνης D₃ σχετιζόταν γραμμικά με την απορρόφηση υπεριώδους ακτινοβολίας, αυτό θα εγκυμονούσε σοβαρούς κίνδυνος για την υγεία καθώς υψηλές συγκεντρώσεις βιταμίνης D είναι τοξικές για τον οργανισμό. Στην πραγματικότητα αυτό δε συμβαίνει, καθώς στο δέρμα υπάρχει φωτοχημική ρύθμιση της σύνθεσης της προβιταμίνης. Ως ασπίδα προστασίας από την υπερπαραγωγή προβιταμίνης D δρα η μελανίνη του δέρματος, η οποία συναγωνίζεται την 7-δεϋδροχοληστερόλη για τα UV-B φωτόνια. Επιπλέον, η ίδια η ηλιακή ακτινοβολία δρα ρυθμιστικά στην παραγωγή της προβιταμίνης. Όταν η προβιταμίνη D₃ συντεθεί στο δέρμα μπορεί να ακολουθήσει 2 οδούς: είτε να ισομεριστεί προς τη βιταμίνη D₃, είτε να απορροφήσει ακτινοβολία και να μετατραπεί σε βιολογικά αδρανή μόρια (π.χ. ταχυστερόλη) (Vander, Luciano, Tsakopoulos, 2001).

2.3.1 Χημικά χαρακτηριστικά & Ιδιότητες

Οι χημικές δομές της βιταμίνης D (Σχήμα 3,2.3) που είναι η βιταμίνη D₂ και D₃ διαφέρουν μόνο στην πλευρική αλυσίδα στον C-17, όπου στην βιταμίνη D₂ υπάρχει ένας διπλός δεσμός και μια πρόσθετη ομάδα μεθυλίου.

Σε αντίθεση με τις πρόδρομες προβιταμίνες που διαθέτουν τέσσερις (4) βενζοϊκούς δακτυλίους, οι βιταμίνες D₂ και D₃ διαθέτουν από τρεις (3) δακτυλίους. Εξαιτίας του συστήματος αυτού δημιουργείται το χαρακτηριστικό φάσμα απορρόφησης των D₂ και D₃. Επίσης πρέπει να επισημανθεί ότι η εργοστερόλη και 7-δεϋδροχοληστερόλη δεν παρουσιάζουν αντιραχητικές ιδιότητες.



Σχήμα 3 2.3: Κυριότεροι μεταβολίτες της Βιταμίνης D

Περίπου 50 διαφορετικοί μεταβολίτες των βιταμινών D₂ και D₃ έχουν απομονωθεί και προσδιορισθεί. Οι κύριες ενώσεις της βιταμίνης D που ευρίσκονται σε τρόφιμα περιλαμβάνουν την εργοκαλσιφερόλη και την χοληκαλσιφερόλη, τις προβιταμίνες τους και τους υδροξυλιωμένους μεταβολίτες.

Ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας του περιεχομένου της βιταμίνης D σε τρόφιμα θα πρέπει να παρέχει αξιόπιστη εκτίμηση της ποσότητας της. Παλαιότερες μέθοδοι προσδιορισμού βασιζόμενες σε βιολογικές δοκιμασίες δεν είναι σε θέση να διακρίνουν τις διαφορετικές μορφές της βιταμίνης και επιπλέον χαρακτηρίζονται ως επίπονες και δαπανηρές. Σήμερα η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος προσδιορισμού της βιταμίνης σε τρόφιμα αποτελεί η εφαρμογή της υγρής χρωματογραφίας (HPLC) με αξιόπιστα αποτελέσματα, ευκολία εφαρμογής και κυρίως την ικανότητα να διακρίνει τις διαφορετικές της βιταμίνης.

2.3.2 Μεταβολισμός & Φυσιολογικές λειτουργίες

Η βιταμίνη D είναι μία από τις τέσσερις (4) λιποδιαλυτές βιταμίνες στις οποίες έχουν αποδοθεί σημαντικές βιολογικές δράσεις. Η πρωτοποριακή πειραματική δουλειά της ομάδας του Windaus, οδήγησε στην χημική σύνθεση των αναλόγων της βιταμίνης D, επιβεβαίωσε την χημική τους δομή ως στεροειδών, τερμάτισε την εποχή της απομόνωσης και ταυτοποίησης των διατροφικών της μορφών και της προσέδωσε θεραπευτική αξία, χαρίζοντας του το βραβείο Νόμπελ Χημείας το 1928.

Ο πρωταρχικός φυσιολογικός ρόλος της βιταμίνης D αφορά τον μεταβολισμό του ασβεστίου και των οστών, όπου συμμετέχει στην διατήρηση της σταθερότητας των εξωκυττάρων και ενδοκυττάρων συγκεντρώσεων του ασβεστίου και του φωσφόρου (Reichel et al., 1989). Εντούτοις πρόσφατα δεδομένα συσχετίζουν την βιταμίνη D και την ομοιοστασία του ασβεστίου με ένα πλήθος εξωσκελετικών διαταραχών όπως νευρομυϊκές διαταραχές, ψωρίαση, σκλήρυνση κατά πλάκας και καρκίνο του παχέος εντέρου (Bischoff et al., 2006).

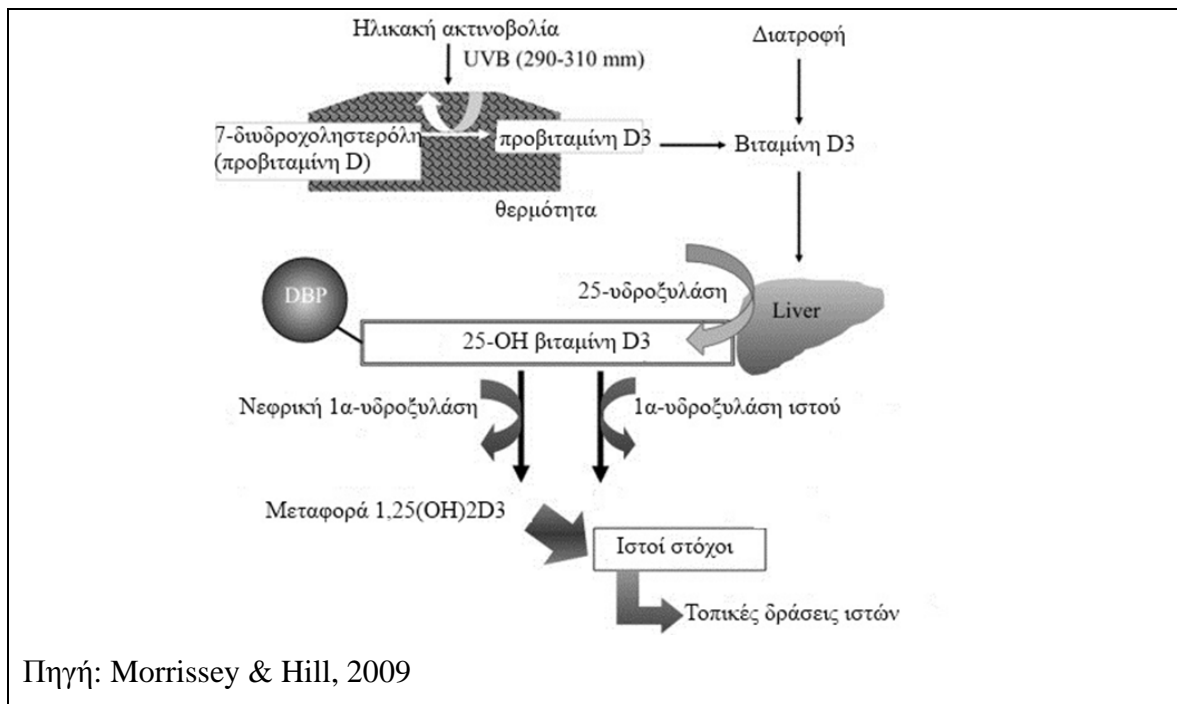
Ανεξάρτητα από την πηγή προέλευσης της, η βιταμίνη D μεταβολίζεται πρώτα στο ήπαρ και μετά σε συγκεκριμένα νεφρικά κύτταρα με την προσθήκη υδροξυλικών ομάδων.

Το τελικό αποτέλεσμα αυτών των αλλαγών είναι η 1,25-διυδροξυβιταμίνη D (1,25-(OH)₂D, καλσιτριόλη) και αποτελεί τον δραστικό τύπο της βιταμίνης D. Πιο αναλυτικά, το στεροειδές 7-δευδροχοληστερόλη ενδιάμεσο προϊόν στη σύνθεση της χοληστερόλης, το οποίο συσσωρεύεται στο δέρμα αλλά όχι στους άλλους ιστούς, υφίσταται μια μη ενζυμική αντίδραση κατά την έκθεση του στην UV ακτινοβολία παράγοντας προβιταμίνη D, η οποία με την σειρά της υφίσταται περαιτέρω διεργασία για αρκετές ώρες προκειμένου να σχηματιστεί χοληκαλσιφερόλη, η οποία εισέρχεται στην κυκλοφορία του αίματος.

Η χοληκαλσιφερόλη, η οποία είτε συντίθεται στο δέρμα είτε προσλαμβάνεται από τη τροφή, υφίσταται δύο υδροξυλίωσεις από όπου και προκύπτει ο ενεργός μεταβολίτης 1,25-διυδροξυβιταμίνη D ή καλσιτριόλη. Η εργοκαλσιφερόλη από τα εμπλουτισμένα τρόφιμα υφίσταται παρόμοιου τύπου υδροξυλίωση από την οποία προκύπτει η εργοκαλσιτριόλη. Το πρώτο στάδιο στον μεταβολισμό της βιταμίνης D, λαμβάνει χώρα στο ήπαρ, όπου και υδροξυλιώνεται προκειμένου να σχηματιστεί το 25-υδροξυ-παράγωγο, η καλσιδιόλη. Το παράγωγο αυτό απελευθερώνεται στην κυκλοφορία του αίματος συνδεδεμένο με μια δεσμεύουσα της βιταμίνης D, σφαιρίνη. Η βιταμίνη D δεν αποθηκεύεται στους ιστούς. Ο βασικός τύπος αποθηκευμένης βιταμίνης D είναι η 25-υδροξυβιταμίνη D (καλσιδιόλη) πλάσματος η οποία είναι και αυτή που παρουσιάζει τις περισσότερες εποχιακές διακυμάνσεις στα εύκρατα κλίματα. Το δεύτερο στάδιο στον μεταβολισμό της βιταμίνης D λαμβάνει χώρα στα νεφρά, όπου και η 25-υδροξυβιταμίνη D υφίσταται είτε υδροξυλίωση από την οποία παράγεται ο ενεργός μεταβολίτης 1,25-διυδροξυβιταμίνη D (καλσιτριόλη) είτε υδροξυλίωση από την οποία παράγεται ένας προφανώς ανενεργός μεταβολίτης, η 24,25-διυδροξυβιταμίνη D (24-υδροξυκαλσιδιόλη) (Holick, 2003).

Η κύρια δράση της 1,25-υδροξυβιταμίνης D είναι η διέγερση της ενεργητικής απορρόφησης ασβεστίου από το έντερο, για αυτό σε ανεπάρκεια της βιταμίνης D η κύρια επίδραση είναι η μειωμένη εντερική απορρόφηση ασβεστίου η οποία επιφέρει μείωση της συγκέντρωσης ασβεστίου στο πλάσμα. Η συγκέντρωση της 1,25-διυδροξυβιταμίνης D στο αίμα υπόκεινται σε φυσιολογικό έλεγχο. Το κύριο σημείο ελέγχου είναι το δεύτερο στάδιο υδροξυλίωσης το οποίο επιτελείται στους νεφρούς. Το ένζυμο το οποίο καταλύει την αντίστοιχη αντίδραση διεγείρεται από την παραθορμόνη, πρωτεϊνική ορμόνη η οποία παράγεται από τους παραθυρεοειδείς αδένες. Έτσι η χαμηλή συγκέντρωση ασβεστίου στο πλάσμα διεγείρει την έκκριση της παραθορμόνης, η οποία με την σειρά της ενισχύει την παραγωγή της 1,25-διυδροξυβιταμίνης D και αμφότερες οι ορμόνες αυτές συμβάλλουν στην τάση επανεγκαθίδρυσης φυσιολογικών τιμών ασβεστίου στο πλάσμα (Σχήμα 4.2.3).

Καθώς η κύρια λειτουργία της βιταμίνης D, είναι ο έλεγχος της ομοιόστασης του ασβεστίου φαίνεται ότι και ο μεταβολισμός της βιταμίνης D ρυθμίζεται στο επίπεδο της 1 ή 24- υδροξυλίωσης από παράγοντες που αποκρίνονται στα επίπεδα ασβεστίου και φωσφορικών στο πλάσμα.



Σχήμα 4 2.3: Μεταβολισμός βιταμίνης D

Η 1,25-διυδροξυβιταμίνη D (καλσιτριόλη) που συντίθεται στους νεφρούς, θεωρείται ότι είναι η ενεργή μορφή της βιταμίνης D και λειτουργεί ως στεροειδής ορμόνη. Η βιταμίνη D, δεν αλληλεπιδρά μόνο με τους υποδοχείς των κυτταρικών μεμβρανών, αλλά επίσης αλληλεπιδρά και με τους πυρηνικούς υποδοχείς της βιταμίνης D, που καλούνται VDR (Vitamin D Receptors) και μέσω αυτών επηρεάζει τη μεταγραφή των γονιδίων. Πυρηνικοί υποδοχείς για τη βιταμίνη D, έχουν βρεθεί σε περισσότερα από 30 όργανα, όπως στα οστά, το έντερο, τους νεφρούς, τους πνεύμονες, τους μύες και το δέρμα.

Οι βιολογικές δράσεις της 1,25-διυδροξυβιταμίνης D, μπορούν να χωριστούν σε δύο κατηγορίες:

1. σχετίζονται με την ομοιόσταση του ασβεστίου
2. συμπεριλαμβάνουν λειτουργίες που δεν σχετίζονται με τον μεταβολισμό του ασβεστίου όπως ρύθμιση κυτταρικής διαφοροποίησης και πολλαπλασιασμού, κυτταρική ανάπτυξη.

Η κλασσική δράση της 1,25-διυδροξυβιταμίνης D, είναι η διατήρηση των επιπέδων ασβεστίου και φωσφόρου στο φυσιολογικά αποδεκτό εύρος. Είναι υψίστης σημασίας να διατηρηθούν τα κανονικά επίπεδα ορού του ασβεστίου, καθώς απαιτούνται με τη σειρά τους για την ομαλή επιμετάλλωση των οστών, σύσπαση των μυών, αγωγιμότητας των νευρών και πολλές άλλες κυτταρικές λειτουργίες.

Η 1,25-διυδροξυβιταμίνη D, ασκεί ποικίλες ρυθμιστικές δράσεις, στις οποίες αποτελεί απαραίτητο αλλά όχι επαρκή παράγοντα για την:

- Απέκκριση της ινσουλίνης

- Σύνθεση και απέκκριση των παραθυρεοειδών και θυρεοειδών ορμονών
- Αναστολή της παραγωγής ιντερλευκίνης μέσω των ενεργοποιημένων T-λεμφοκυττάρων και της ανοσοσφαιρίνης μέσω των ενεργοποιημένων B-λεμφοκυττάρων
- Διαφοροποίηση των μονοκυττάρων πρόδρομων κυττάρων
- Ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού

Η βιταμίνη D, έχει φανεί ότι εμπλέκεται και στην καλύτερη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος. Η αυξημένη παραγωγή 1,25-διυδροξυβιταμίνης D οδηγεί στην σύνθεση της καθελιδίνης, ένα πεπτίδιο ικανό να καταστρέφει το μικρόβιο της φυματίωσης, καθώς και άλλους λοιμώδεις παράγοντες. Όταν τα επίπεδα της 25-υδροξυβιταμίνης D πέσουν <20ng/ml τότε εμποδίζεται η έναρξη της ενδογενούς ανοσολογικής απόκρισης και αυτό εξηγεί και γιατί η μαύρη φυλή που έχει συχνότερα χαμηλά επίπεδα βιταμίνης D είναι πιο επιρρεπής στην εμφάνιση φυματίωσης από την λευκή φυλή. Τέλος, η 1,25-διυδροξυβιταμίνη D αναστέλλει την σύνθεση της ρενίνης, αυξάνει την παραγωγή της ινσουλίνης και αυξάνει την συσταλτικότητα του μυοκαρδίου (Holick, 2007).

2.3.3 Πηγές & ημερήσιες ανάγκες

Οι σπουδαιότερες πηγές της βιταμίνης D, είναι τα ιχθυέλαια και ιδιαίτερα τα ηπατέλαια των ψαριών. Αλλά και τα έλαια του σώματος των ψαριών είναι πολύ πλούσια σε βιταμίνη D. Η πλουσιότερη πηγή είναι το μωρουνέλαιο που περιέχει επίσης και μεγάλες ποσότητες βιταμίνης A. Άλλες τροφές που περιέχουν βιταμίνη D, είναι το βούτυρο, ο κρόκος του αυγού, η μαργαρίνη, το τυρί. Τα φρούτα και λαχανικά δεν περιέχουν βιταμίνη D εκτός από τα μανιτάρια.

Η ανεπάρκεια της βιταμίνης D, όταν πρόκειται για φαινομενικά υγιή πληθυσμό μπορεί να οφείλεται τόσο στην μειωμένη πρόσληψη βιταμίνης D από την διατροφή, όσο και στην ανεπαρκή σύνθεση της από το δέρμα υπό την επίδραση της ηλιακής ακτινοβολίας. Χαμηλά επίπεδα βιταμίνης D (25- υδροξυβιταμίνη D <20ng/ml στο πλάσμα) στους ενήλικες, μπορεί να συμβάλλουν στην ανάπτυξη χρόνιων ασθενειών, όπως καρδιαγγειακά νοσήματα, υπέρταση, σακχαρώδη διαβήτη τύπου I και II, σκλήρυνση κατά πλάκας και ψυχιατρικές ασθένειες (κατάθλιψη και σχιζοφρένεια) καθώς και καρκίνο του προστάτη, στήθους ή παχέος εντέρου (Cashman, 2007).

Τα στοιχεία για την εκτίμηση της επάρκειας των επιπέδων βιταμίνης D (Πίνακας 4,2.3) σε υγιείς αλλά και σε πληθυσμούς ασθενών είναι ελλιπή. Σήμερα για την εκτίμηση της επάρκειας της βιταμίνης D χρησιμοποιείται η μέτρηση της 25(OH)D του ορού, όμως οι μέθοδοι δεν έχουν επαρκώς τυποποιηθεί και λείπουν τα στοιχεία από διεθνείς συγκριτικές μελέτες.

Βασικό πρόβλημα στην εκτίμηση της επάρκειας των επιπέδων βιταμίνης D, αποτελεί η χρησιμοποίηση από τους επιστήμονες διαφορετικών πληθυσμών αναφοράς στις κατά καιρούς έρευνες. Οι φυσιολογικές τιμές έχουν βασιστεί σε υγιείς ενήλικες και αρκετοί συγγραφείς προτείνουν να θεωρείται έλλειψη βιταμίνης D επίπεδο χαμηλότερο από 12 ng/ml, μια τιμή που βρίσκεται συνήθως σε άτομα που εκτίθενται στον ήλιο.

Τα επίπεδα 25(OH)D δεν υπόκεινται σε ομοιοστατική ρύθμιση, αλλά εξαρτώνται από τον τρόπο ζωής και τα χαρακτηριστικά του περιβάλλοντος. Όταν τα επίπεδα της 25(OH)D μειώνονται τον χειμώνα λόγω απουσίας έκθεσης στον ήλιο παρατηρείται μια αντίστοιχη αύξηση της παραθορμόνης (PTH). Αυτό αποτελεί και την βάση ενός μηχανισμού προσαρμογής. Η αύξηση της PTH είναι ένας τρόπος άμυνας του οργανισμού σε χαμηλά επίπεδα βιταμίνης D και ασβεστίου. Τα επίπεδα της PTH μεταβάλλονται στην διάρκεια της ημέρας και στην διάρκεια του χρόνου σε σχέση με τα επίπεδα ασβεστίου, τη διαιτητική πρόσληψη ασβεστίου και την χρήση συμπληρωμάτων ασβεστίου. Αυτή η αύξηση της PTH αποκαλείται συνήθως δευτεροπαθής υπερπαραθυρεοειδισμός. Μια αντίστροφη σχέση μεταξύ PTH και 25(OH)D παρατηρείται επίσης σε όλες τις ηλικίες. Αρκετές μελέτες δείχνουν ότι όταν συσχετίζονται οι συγκεντρώσεις PTH με αυτές της 25(OH)D, η αύξηση στα επίπεδα της PTH διακόπτεται όταν η συγκέντρωση της 25(OH)D πλησιάζει τα 30ng/ml. Χρησιμοποιώντας ως κριτήριο τον δευτεροπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό, οι φυσιολογικές τιμές της 25(OH)D ορού είναι υψηλότερες και μάλλον περισσότερο κατάλληλες για να ορίσουν την επάρκεια ή την ανεπάρκεια της βιταμίνης D.

Αν και οι μελέτες πληθαίνουν, δεν υπάρχει ομοφωνία για το όριο επάρκειας ή έλλειψης της βιταμίνης D, υπάρχει όμως η τάση να αυξάνεται το κατώτερο φυσιολογικό όριο. Τα νεότερα στοιχεία καταδεικνύουν ως κατώτερο όριο της 25(OH)D τουλάχιστον για ενήλικες μεγαλύτερους από 49 ετών, 20ng/ml (Krall et al., 1989).

Ένας άλλος τρόπος αναγνώρισης της ήπιας ανεπάρκειας βιταμίνης D, αποτελεί η εκτίμηση της μείωσης της PTH μετά την αναπλήρωση με βιταμίνη D. Όταν η PTH μειώνεται περισσότερο από 15-20% μετά την αναπλήρωση με βιταμίνη D, αυτό μπορεί να υποδηλώνει κλινικά σημαντική ανεπάρκεια βιταμίνης D.

Πίνακας 3 2.3: Συνιστώμενες προσλαμβανόμενες ποσότητες βιταμίνης D

Vitamin D (μg/d)				
Φύλο	Ηλικία	ΣΗΔ ¹	ΑΕ ²	ΥΜΑ ³
Άντρες	9-13	15	100	10
	14-18	15	100	10
	19-30	15	100	10
	31-50	15	100	10
	51-70	15	100	10
	>70	20	100	10
Γυναίκες	9-13	15	100	10
	14-18	15	100	10
	19-30	15	100	10
	31-50	15	100	10
	51-70	15	100	10
	>70	20	100	10

Πηγή: (Food and Nutrition Board Institute of Medicine, National Academies, 2012)

2.4 Βιταμίνη E

Η βιταμίνη E, ανακαλύφθηκε μετά από πειράματα με επίμυες (αρουραίους) που διατρέφονταν με συνθετικό σιτηρέσιο το οποίο περιείχε τις διάφορες γνωστές θρεπτικές ουσίες σε καθαρή χημικώς μορφή. Στους επίμυες που διατρέφονταν με αυτόν τον τρόπο προκαλούνταν στείριότητα, η οποία τελικά αποδόθηκε στην έλλειψη βιταμίνης E. Η ονομασία της βιταμίνης E, προήλθε από τις ελληνικές λέξεις «tos» (τοκετός) και «φέρω» και την κατάληξη «ol» μιας και επρόκειτο για αλκοόλη.

Η βιταμίνη E, χαρακτηρίζεται ως ένα απαραίτητο θρεπτικό συστατικό για όλα τα είδη των ζώων, συμπεριλαμβανομένων και των ανθρώπων. Η βιταμίνη E, αποθηκεύεται στον οργανισμό με αποτέλεσμα να μην απαιτείται η καθημερινή της πρόσληψη. Η ομάδα των τοκοχρωμανολών, αποτελείται από τις τέσσερις τοκοφερόλες (α -, β -, γ -, δ -) και τις τέσσερις τοκοτριενόλες (α -, β -, γ -, δ -) που παράγονται σε διάφορες ποσότητες και διαφορετικούς συνδυασμούς από όλους τους φυτικούς ιστούς και από ορισμένα κυανοβακτήρια. Μεγάλος αριθμός εκδόσεων περί της βιταμίνης E, έχουν δημοσιευθεί τα τελευταία 40-50 χρόνια όπου τα βιβλιογραφικά δεδομένα εξειδικεύονται περισσότερο στις τοκοφερόλες, ενώ οι τοκοτριενόλες παραμένουν σχετικά άγνωστες. Οι τοκοφερόλες είναι ελαιώδη υγρά διαλυτά στα λίπη και στους διαλύτες των λιπών, είναι εξαιρετικά ανθεκτικές στην θερμότητα αλλά οξειδώνονται εύκολα. Διατηρούνται καλά στα διάφορα τρόφιμα και στις ζωτροφές, καταστρέφονται όμως από τα ταγγισμένα λίπη και τα οξειδωτικά μέσα.

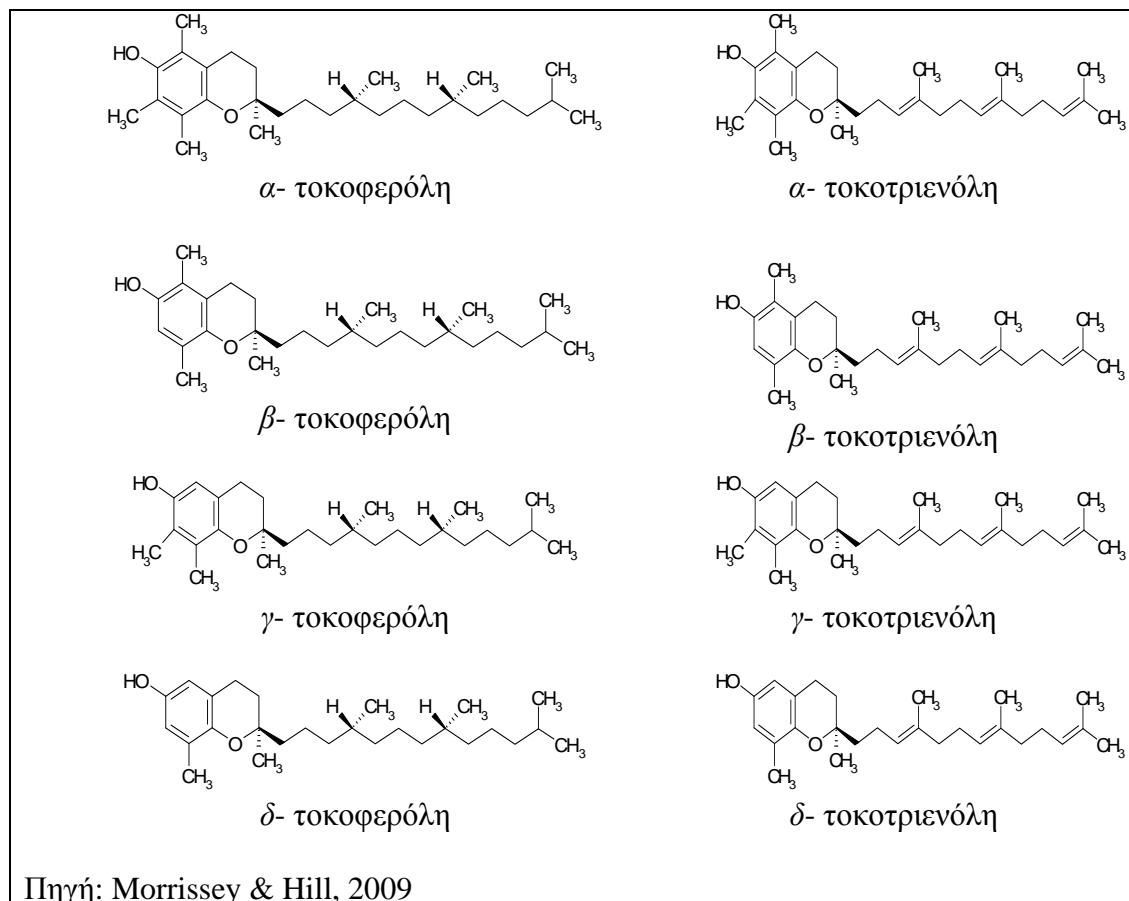
2.4.1 Χημικά χαρακτηριστικά & Ιδιότητες

Κοινό χημικό χαρακτηριστικό των τοκοφερολών (α -, β -, γ -, δ -) είναι η ύπαρξη μια ομάδας χρωμανίου (chromane) η οποία στη θέση 6 περιέχει ένα (φαινολικό) υδροξύλιο, σχηματίζοντας την 6-χρωμανόλη (6-chromanol) όπως και μια πλευρική αλειφατική αλυσίδα, η οποία αναφέρεται στη βιβλιογραφία ως ουρά φυτυλίου (phytyl tail) στη θέση 2 (Σχήμα 5,2.4).

Ο αντιοξειδωτικός χαρακτήρας των τοκοφερολών οφείλεται στο φαινολικό υδροξύλιο του χρωμανίου, ενώ ο έντονα λιπόφιλος χαρακτήρας τους και η ουσιαστική μηδενική διαλυτότητά τους στο νερό, οφείλεται στην ουρά φυτυλίου. Η ομάδα αυτή προέρχεται από την άκυκλη διτερπενική αλκοόλη φυτόλη (phytol) η οποία εστεροποιημένη αποτελεί το "λιπόφιλο" τμήμα του μορίου της χλωροφύλλης. Χάρης σε αυτό το λιπόφιλο τμήμα, η χλωροφύλλη είναι ουσιαστικά αδιάλυτη στο νερό και παραμένει στους χλωροπλάστες των φυτών.

Οι διάφορες τοκοφερόλες διαφέρουν ως προς τον αριθμό και τις θέσεις των μεθυλίων στον αρωματικό δακτύλιο της χρωμανόλης. Όλες οι τοκοφερόλες περιέχουν 3 ασύμμετρα άτομα άνθρακα, επομένως κάθε για κάθε τοκοφερόλη υπάρχουν $2^3 = 8$ οπτικώς ισομερή (RRR, RRS, RSR, RSS, SRR, SRS, SSR, SSS). Στις φυσικές τοκοφερόλες και οι τρεις άνθρακες έχουν στερεοχημική διαμόρφωση R, ενώ στις συνθετικές βιταμίνες και τα οκτώ δυνατά στερεοϊσομερή βρίσκονται στην ίδια

αναλογία. Από τα 3 ασύμμετρα άτομα άνθρακα, αυτό του οποίου η στερεοχημική διαμόρφωση έχει ιδιαίτερη σημασία ως προς την ενεργότητα των τοκοφερολών είναι εκείνο της θέσης 2, της ομάδας της χρωμανόλης. Μόνο οι τοκοφερόλες με στερεοχημική διαμόρφωση R στον άνθρακα αυτόν, είναι βιολογικώς ενεργές (Litwack, 2007).



Σχήμα 5.2.4: Οι τέσσερις τοκοφερόλες και οι τέσσερις τοκοτριενόλες που συνιστούν το σύμπλεγμα των Βιταμινών E.

Από τις τέσσερις τοκοφερόλες η α -τοκοφερόλη βρίσκεται συνήθως σε μεγαλύτερη αναλογία (ακολουθούμενη από τη γ -τοκοφερόλη) και είναι η πλέον ενεργή από βιολογικής απόψεως, ενώ η δ -τοκοφερόλη εμφανίζεται να διαθέτει την εντονότερη αντιοξειδωτική ενεργότητα (ακολουθούμενη και αυτή από τη γ -τοκοφερόλη). Η γ -τοκοφερόλη έχει ελεύθερη τη θέση 5 της χρωμανόλης, η οποία μπορεί εύκολα να δεχθεί τη νιτρομάδα ($-\text{NO}_2$) και έχει αποδειχθεί με πειράματα *in vitro*, ότι δρα ως "παγίδα" οξειδίων του αζώτου, αζωτούχων ριζών και άλλων ηλεκτρονιόφιλων μεταλλαξιγόνων σωματιδίων και θεωρείται ως η κατ' εξοχήν "αντιγηραντική" από τις τοκοφερόλες (FAO/WHO Report, 2001).

Όσον αφορά την βιοσύνθεση των τοκοφερολών, αυτή πραγματοποιείται μόνο από τους φωτοσυνθετικούς οργανισμούς και πιο συγκεκριμένα στο εσωτερικό της μεμβράνης των χλωροπλαστών (Munnè-Bosch et al., 2002).

Για τον προσδιορισμό της βιταμίνης E χρησιμοποιείται ευρέως η υγρή χρωματογραφία (HPLC) με την χρήση φθορισμομετρικού ανιχνευτή.

2.4.2 Μεταβολισμός & Φυσιολογικές λειτουργίες

Η απορρόφηση της βιταμίνης E, από τον οργανισμό σχετίζεται άμεσα με την ικανότητα πέψης των λιπαρών ουσιών από τον οργανισμό και διευκολύνεται από τις φυσιολογικές λειτουργίες της χολής και της παγκρεατικής λιπάσης. Κατά την πέψη, οι λιπαρές ύλες αναμιγνύονται με εκκρίσεις του παγκρέατος, όπου οι παγκρεατικές εστεράσες μετατρέπουν τα τριγλυκερίδια σε μονογλυκερίδια και ελεύθερα λιπαρά οξέα και υπό την επίδραση των χολικών οξέων, σχηματίζονται μικκύλια εντός, των οποίων η βιταμίνη E βρίσκεται διαλυτοποιημένη (Traber & Sies, 1996).

Κατά την απορρόφηση από τον οργανισμό δεν παρατηρούνται επιλεκτικές διαφορές απορρόφησης όσον αφορά την α - και γ - τοκοφερόλη, ενώ αντίθετα η β - και δ -τοκοφερόλη παρουσιάζουν μικρή απορρόφηση και το μεγαλύτερο ποσοστό τους αποβάλλεται από τον οργανισμό (Jiang et al., 2001). Το σύμπλεγμα Golgi των κυττάρων του βλεννογόνου μετατρέπει τις α - και γ - τοκοφερόλες σε χυλομικρά, τα οποία κατόπιν πολύπλοκων διαδικασιών θα βρεθούν στην κυκλοφορία του αίματος (Traber & Sies, 1996), όπου με την με την δράση την λιποπρωτεϊνικής λιπάσης (LPL) διασπώνται και ποσότητες των α - και γ - τοκοφερολών, μεταφέρονται σε περιφερειακούς ιστούς, όπως οι μύες και το δέρμα με την διαμεσολάβηση ενζυμικών μηχανισμών (Jiang et al., 2001). Επιπλέον τα προϊόντα της διάσπασης (κυρίως α - τοκοφερόλη) των χυλομικρών από την λιποπρωτεϊνική λιπάση (LPL) παραλαμβάνονται από το ήπαρ και διανέμονται σε όλο τον οργανισμό.

Οι συγκεντρώσεις α - τοκοφερόλης στο πλάσμα και στον ορό ανέρχονται συνήθως σε 20-35 mmol/l, ενώ οι συγκεντρώσεις της γ - τοκοφερόλης αντιστοιχούν στο 5-15% εκείνων της α - τοκοφερόλης (O'Byrne et al., 2000).

Η βιταμίνη E, έχει αποδειχθεί ότι είναι απαραίτητη για την ακεραιότητα και τη βέλτιστη λειτουργία του αναπαραγωγικού, μυϊκού, κυκλοφορικού, νευρικού, και ανοσοποιητικού συστήματος (McDowell et al., 1996).

Διάφοροι ρόλοι έχουν αποδοθεί στην επίδραση της βιταμίνης E όπως είναι η αντιοξειδωτική δράση της, ο ρόλος της ως μεσολαβητής στο μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος και των προσταγλανδινών, συμμετοχή στο μεταβολισμό του νουκλεϊκού οξέος, των πρωτεϊνών και των λιπιδίων, δράση στα μιτοχόνδρια, προστασία του πνευμονικού ιστού από τη μόλυνση της ατμόσφαιρας, ρυθμιστής επί της ενζυμικής δράσης, λαμβάνει μέρος στον πολλαπλασιασμό κυττάρων, συμβάλλει στην παραγωγή ανδρικών και γυναικείων ορμονών, συμμετέχει στην διατήρηση της ακεραιότητας των μεμβρανών, λαμβάνει μέρος στην προστασία κατά της αιμολυτικής αναιμίας και της μειωμένης ερυθροποίησης, μειώνει τον κίνδυνο για την εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων και τέλος συμβάλλει στην καθυστέρηση της εξέλιξης του βιολογικού γήρατος (Thakur & Srivastava, 1996). Πιο πρόσφατα αναφέρθηκε και ένας νέος πιθανός ρόλος της βιταμίνης E, που αφορά στην αλλοίωση της προλακτίνης και την απελευθέρωση της αυξητικής ορμόνης σε κύτταρα του βλεννογόνου, στους ποντικούς.

Ως βασική φυσιολογική λειτουργία της βιταμίνης E εντοπίζεται η αντιοξειδωτική της δράση. Οι ελεύθερες ρίζες αποτελούν βασικό επιβλαβή παράγοντα του οργανισμού με

δυνατότητα να καταστρέφουν τα βιολογικά συστήματα και έτσι έχουν προταθεί ως παράγοντας γήρανσης (Sastre et al., 2000). Τα κύτταρα που εκτίθενται στο μοριακό οξυγόνο, βρίσκονται σε κίνδυνο από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και τα προϊόντα των οξειδωμένων λιπιδίων. Η βιταμίνη E, όντας λιποδιαλυτό αντιοξειδωτικό σπάει τις ελεύθερες ρίζες και δρα ως “εξολοθρευτής” στα οξειδωμένα λιπίδια, με αποτέλεσμα την προστασία των κυτταρικών μεμβρανών από την οξείδωση. Ο μηχανισμός μέσω του οποίου η βιταμίνη E προστατεύει τις μεμβράνες, βασίζεται στην ικανότητα της να εμποδίζει την οξείδωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων που περιλαμβάνονται στα φωσφολιπίδια των κυτταρικών μεμβρανών. Καθώς οι μιτοχονδριακές μεμβράνες και οι μεμβράνες του ενδοπλασματικού δικτύου περιλαμβάνουν υψηλά ποσοστά ακόρεστων λιπιδίων, διατρέχουν υψηλότερο κίνδυνο οξείδωσης.

Όπως αποδείχθηκε σε έρευνα τη δράση των αντιοξειδωτικών από τους Reznick και τους συνεργάτες (1992) η βιταμίνη E και το Se έχουν την ικανότητα να μειώνουν τις μυϊκές βλάβες που προκαλούνται από ελεύθερες ρίζες έπειτα από εκτεταμένη άσκηση.

Οι τοκοφερόλες και οι τοκοτριενόλες αντιδρούν με τις ελεύθερες ρίζες. Αυτό αποτελεί και τη βάση της αντιοξειδωτικής τους δράσης. Η RRR- α -τοκοφερόλη είναι ο ισχυρότερος “καθαριστής” υπεροξειδίων στις βιολογικές μεμβράνες και στις λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (LDL). Οι αντιοξειδωτικές λειτουργίες, της σχετίζονται με τη μείωση των βλαβών του DNA, της κακοήθους μετάλλαξης και άλλων παραμέτρων της κυτταρικής καταστροφής, με τη μείωση εμφάνισης περιστατικών συγκεκριμένων τύπων καρκίνου και εκφυλισμένων νόσων, ισχαιμικών καρδιαγγειακών επεισοδίων και καταρράκτη.

Η βιταμίνη E, βελτιώνει στα ποντίκια την επιβίωση των ερυθρών κυττάρων και προστατεύει τις μεμβράνες τους, από την παραμόρφωση και λαμβάνει μέρος στην κυτταρική αναπνοή, είτε σταθεροποιώντας το συνένζυμο Q, είτε συνεισφέροντας στη μεταφορά ηλεκτρονίων στο συνένζυμο Q. Σε διάφορα πειραματόζωα η έλλειψη της βιταμίνης E μπορεί να συσχετίζεται με στειρότητα, μυϊκή δυστροφία, αλλαγές στο κεντρικό νευρικό σύστημα και μεγαλοβλαστική αναιμία. Στους ανθρώπους τα συμπτώματα περιορίζονται στις πιο εύθραυστες μεμβράνες των ερυθροκυττάρων, πιθανόν λόγω των αντιδράσεων τη υπεροξείδωσης (Paterson et al., 1994).

Μια ακόμη σημαντική λειτουργία της βιταμίνης E, είναι η συμμετοχή στη βιοσύνθεση του DNA και την ενσωμάτωση των πυριμιδινών μέσα στη δομή του πυρηνικού οξέος. Η έλλειψη της βιταμίνης E, έχει βρεθεί να προκαλεί μια μείωση στην μυϊκή πρωτεΐνη και αυτή η μείωση του πρωτεϊνικού περιεχομένου είναι κυρίως εξαιτίας της απώλειας μυοσίνης και μυϊκών ινών, αν και άλλα κλάσματα χάνουν πρωτεΐνη αλλά σε πολύ μικρότερο ποσοστό. Η ανεπάρκεια σε βιταμίνη E, επιβραδύνει την ανάπτυξη των μυϊκών κυττάρων, η οποία δε μπορεί να πραγματοποιηθεί δια μέσου φυσιολογικής πρωτεϊνικής συσσώρευσης.

Στις πρωτεΐνες, η σύνθεση DNA και RNA και η πρωτεϊνική σύνθεση αυξάνεται στους σκελετικούς μύες ζώων με ανεπάρκεια σε βιταμίνη E κάτω από *in vivo* και *in vitro* συνθήκες. Η πρωτεϊνική σύνθεση αυξάνεται σε διάφορα κυτταρικά κλάσματα στους μύες κουνελιών με έλλειψη βιταμίνης E. Η ανεπάρκεια βιταμίνης E προκαλεί μια μεταλλαγή στη σύνθεση μυϊκής πρωτεΐνης (Συντώσης, et al., 2001).

2.4.3 Πηγές & ημερήσιες ανάγκες

Η βιταμίνη E, βρίσκεται στο περιεχόμενο τόσο των φυτικών όσο και των ζωικών τροφίμων. Η πλουσιότερη πηγή βιταμίνης E, είναι τα φυτικά έλαια. Το μεγαλύτερο ποσοστό βιταμίνης E, που παρέχεται από τη διατροφή, προέρχεται από τα φυτικά έλαια που χρησιμοποιούνται στο μαγείρεμα και στις σαλάτες, σε συνδυασμό με κάποια φρούτα και λαχανικά. Το επίπεδο βιταμίνης E, γενικά συμβαδίζει με το επίπεδο πολυακόρεστων λιπιδίων της τροφής (Χίου, 2001).

Οι τοκοφερόλες, βρίσκονται στα φύλλα και στα άλλα πράσινα μέρη των φυτών. Τα φύλλα και οι χλωροπλάστες των φυτών περιέχουν κυρίως α- τοκοφερόλη και μικρότερα ποσά της γ- τοκοφερόλης, ενώ οι γ-, δ-, β- τοκοφερόλες βρίσκονται κυρίως σε περιοχές του φυτού εκτός των χλωροπλάστων. Οι τοκοτριενόλες, βρίσκονται κυρίως στα λαχανικά, τα πίτουρα και στους σπόρους ορισμένων φυτών, όπως το σιτάρι, το κριθάρι, το ρύζι και η βρώμη.

Στις ζωικές τροφές η βιταμίνη E (κυρίως η α- τοκοφερόλη) βρίσκεται στους λιπαρούς ιστούς του ζώου. Πάντως σε σχέση με τα φυτικά τρόφιμα, τα ζωικά τρόφιμα αντιπροσωπεύουν φτωχή πηγή βιταμίνης E (Ζερφυρίδης, 1998).

Οι τροφές λοιπόν ανάλογα με την περιεκτικότητα τους σε βιταμίνη E διακρίνονται σε:
Πλούσιες πηγές: Σαλάτες και μαγειρικά έλαια, σιτηρά, μαργαρίνη, ξηροί καρποί, ηλιόσποροι και πυρηνέλαια, φυστικοβούτυρο, βαμβακέλαιο και σε προϊόντα από επεξεργασία ντομάτας.

Καλές πηγές: Σπαράγγια, αβοκάντο, μοσχάρι, και εντόσθια ζώων, βούτυρο, αυγά, πράσινα φυλλώδη λαχανικά, αλεύρι από βρώμη, σίκαλη, ντομάτα, θαλασσινά (αστακός, σολομός, τόνος), βατόμουρα.

Πτωχές πηγές: Μήλα, φασόλια, φασολάκια, καρότα, σέλινο, τυρί, κοτόπουλο, αρακάς. Πρέπει να ληφθεί σοβαρά υπόψιν ότι η κατεργασία, η αποθήκευση και το μαγείρεμα των τροφών μπορεί να επηρεάσει το επίπεδο περιεχόμενης βιταμίνης E, προκαλώντας σημαντικές απώλειες.

Ο πλήρης ρόλος της βιταμίνης E, στον ανθρώπινο οργανισμό δεν έχει αποσαφηνιστεί, αλλά είναι αποδεκτό ότι αποτελεί βασικό συστατικό στην βιολογία των οργανισμών. Σύμφωνα με την Επιστημονική Επιτροπή Τροφίμων (SCF) ως μέγιστο ανεκτό επίπεδο πρόσληψης (UL) βιταμίνης E, για ενήλικες, τίθενται τα 300 mg α- τοκοφερόλης/ισοδύναμες μέρες. Η Επιτροπή Εμπειρογνομόνων για τα πρόσθετα τροφίμων (JECFA), έχει καθορίσει, ως αποδεκτή την ημερήσια πρόσληψη (ADI) βιταμίνης E (κυρίως α-τοκοφερόλη) την ποσότητα των 0.15–2.0 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα. Σύμφωνα με πρόσφατη Ευρωπαϊκή Οδηγία σχετικά με τις διατροφικές επισημάνσεις των τροφίμων και όσον αφορά τις ημερήσιες συνιστώμενες δόσεις (RDA) καθόρισε την τιμή στα 12 mg και όρισε κανόνα για το πως ορίζει την «σημαντική ποσότητα» (Colombo, 2010).

Κεφάλαιο 3. ΣΥΜΒΑΤΙΚΟ & ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ ΑΙΓΟΠΡΟΒΕΙΟ ΓΑΛΛΑ

3.1 Η βιολογική κτηνοτροφία

Η βιολογική κτηνοτροφία, ορίζεται ως η ανάπτυξη παραγωγικών συστημάτων σχεδιασμένων να παράγουν ποσότητα τροφίμων άριστης διατροφικής ποιότητας με την εφαρμογή πρακτικών διαχείρισης που αποφεύγουν τη χρήση αγροχημικών. Ελαχιστοποιούν τις δυσμενείς επιδράσεις των συνθηκών εκτροφής στο περιβάλλον, τη φυσική χλωρίδα και πανίδα και διατηρούν τα εκτρεφόμενα ζώα σε συνθήκες που εναρμονίζονται με αυτές του φυσικού τους περιβάλλοντος.

Στον κοινωνικό τομέα αναγνωρίζεται ο διττός ρόλος της βιολογικής γεωργίας ως ασφαλής μέθοδος παραγωγής τροφίμων, που ανταποκρίνεται στις ανησυχίες του καταναλωτή και ως υπεύθυνη για την προώθηση της βιώσιμης ανάπτυξης και για την προστασία του περιβάλλοντος και των ζώων, τόσο σε τοπικό όσο και σε περιφερειακό επίπεδο.

Στα είδη, στις περιοχές και στις δραστηριότητες όπου είναι εφικτή η παραγωγή βιολογικών προϊόντων, η βιοκαλλιέργεια και η βιολογική κτηνοτροφία είναι ο στόχος που πρέπει να πετύχουμε στο άμεσο μέλλον.

Οι στόχοι της Βιολογικής Γεωργίας και Κτηνοτροφίας είναι:

1. Παραγωγή προϊόντων και τροφίμων υψηλής διατροφικής αξίας, ασφαλή για τον καταναλωτή χωρίς υπολείμματα φυτοφαρμάκων, αντιβιοτικών και χημικών λιπασμάτων.
2. Προστασία του περιβάλλοντος (προστασία του εδάφους και του υδροφόρου ορίζοντα, αειφορική διαχείριση φυσικών πόρων, εξασφάλιση της βιοποικιλότητας)
3. Μη χρήση γενετικά τροποποιημένων οργανισμών (ΓΤΟ) ή/και προϊόντων που παράγονται από αυτούς.
4. Προστασία της υγείας των αγροτών από την έκθεσή τους σε βλαβερές χημικές ουσίες.
5. Η φυσική διαβίωση των ζώων και η εξασφάλιση της ευζωίας τους.
6. Χρήση ζωοτροφών που έχουν παραχθεί με βιολογικό τρόπο και χωρίς τη χρήση γενετικά τροποποιημένων οργανισμών (ΓΤΟ) ή/και προϊόντων που παράγονται από αυτούς (minagric, 2012).

Η βιολογική κτηνοτροφία ασκείται πάντα σε σχέση με τη διατιθέμενη έκταση, αποκλείοντας τις υπερβολικές πυκνότητες ζώων.

Η βιολογική μέθοδος παραγωγής, καν. (ΕΚ) αρ.834/07, μέσω του ειδικού καθεστώτος Ελέγχου και Πιστοποίησης εξασφαλίζει στον καταναλωτή ότι τα βιολογικά προϊόντα έχουν ελεγχτεί σε όλα τα στάδια από την παραγωγή μέχρι την στιγμή που θα φτάσει στο τραπέζι του.

Το εθνικό σύστημα ελέγχου της χώρας μας, που θεσπίστηκε με την ΚΥΑ αριθμ. 245090/06 (ΦΕΚ 157Β), στο οποίο υπόκεινται οι επιχειρηματίες που έχουν ενταχθεί στο βιολογικό τρόπο παραγωγής γεωργικών προϊόντων και τροφίμων, το διαχειρίζονται δημόσιες αρχές και ιδιωτικοί φορείς οι οποίοι λειτουργούν με την άδεια και υπό την εποπτεία του Δημοσίου.

Ειδικότερα η Δ/ση Βιολογικής Γεωργίας του ΥπΑΑ&Τ ασκεί την εποπτεία του συστήματος ελέγχου, πραγματοποιώντας εποπτικούς ελέγχους για την διαπίστωση της αποτελεσματικής, αντικειμενικής και αξιόπιστης λειτουργίας του.

Ο ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ ως αρμόδια αρχή επίβλεψης του συστήματος ελέγχου, διενεργεί τακτικούς ή/και αιφνιδιαστικούς ελέγχους, στους εγκεκριμένους οργανισμούς ελέγχου και πιστοποίησης βιολογικών προϊόντων, στους ενταγμένους επιχειρηματίες, στους χώρους εμπορίας και σε κάθε σημείο λιανικής χονδρικής πώλησης.

Οι ιδιωτικοί οργανισμοί ελέγχου και πιστοποίησης, οι οποίοι εγκρίνονται ως φορείς ελέγχου από το ΥπΑΑ&Τ και ελέγχονται από τις προαναφερόμενες αρχές, πραγματοποιούν τακτικούς ελέγχους σε όλους τους συμβεβλημένους επιχειρηματίες. Επίσης, πραγματοποιούν αιφνιδιαστικούς ελέγχους και δειγματοληψίες βάσει του βαθμού επικινδυνότητας, στις μονάδες παραγωγής, εμπορίας, παρασκευής, αποθήκευσης ή/και εισαγωγής βιολογικών προϊόντων (minagric, 2013).

3.1.1 Η Ελληνική αιγοπροβατοτροφία

Για την Ελλάδα η αιγοπροβατοτροφία, αποτελεί τον πιο παραδοσιακό κλάδο της κτηνοτροφίας και είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με την ιστορία και την παράδοση του τόπου της. Αν και στις περισσότερες ευρωπαϊκές χώρες, παρατηρείται μια ισορροπημένη σχέση μεταξύ της γεωργίας και της κτηνοτροφίας, στη χώρα μας ο τομέας της κτηνοτροφίας καλύπτει μόλις το 30% ενώ η γεωργία βρίσκεται να καλύπτει το 70%. Παρά την περιορισμένη συμμετοχή της στην ακαθάριστη αξία της γεωργικής παραγωγής δεν μπορεί να παραβλεφθεί ο ρόλος στην εθνική οικονομία και η συμβολή της στην περιφερειακή ανάπτυξη και στη διατήρηση του κοινωνικού ιστού σε περιοχές, με ιδιαίτερα προβλήματα (ορεινές-μειονεκτικές).

Στην Ελλάδα, εκτρέφονταν συνολικά περίπου 14 εκατομμύρια πρόβατα και αίγες, σύμφωνα με τα στοιχεία απογραφής της Εθνικής Στατιστικής Υπηρεσίας Ελλάδος (Ε.Σ.Υ.Ε.) του 1999-2000 από τα οποία ο συνολικός πληθυσμός των προβάτων ανέρχεται περίπου σε 9 εκατομμύρια κεφαλές, από τις οποίες το 90% περίπου είναι κυρίως διασταυρώσεις μεταξύ των διαφόρων ελληνικών φυλών. Η χώρα μας έχει την μεγαλύτερη αναλογία ενήλικων θηλυκών ζώων (προβατίνες και αίγες) που φθάνει περίπου στο 90% του συνολικού πληθυσμού των ζώων. Οι πληθυσμοί των προβάτων και των αιγών έχουν αντίστοιχη κατανομή στις διάφορες περιοχές της χώρας και η πυκνότητά τους σχετίζεται με την ύπαρξη βοσκοτόπων.

Οι προβατοτροφικές εκμεταλλεύσεις στην Ελλάδα είναι στην πλειονότητά τους, μικρές, εκτατικές και οικογενειακής μορφής και με υψηλό βαθμό διαφοροποίησης σχετικά με το ζωικό κεφάλαιο, τον εξοπλισμό, τις εγκαταστάσεις και την παραγωγικότητα. Παρόλα αυτά τα τελευταία χρόνια παρατηρείται μια τάση εγκατάστασης νέων σύγχρονων και

εντατικών εκμεταλλεύσεων σε πεδινές περιοχές που παράγουν ζωοτροφές για να καλύψουν ένα μεγάλο μέρος των διατροφικών αναγκών των ζώων. Το συμβατικό παραγωγικό σύστημα της αιγοπροβατοτροφίας στις ορεινές περιοχές μοιάζει αρκετά με το βιολογικό. Επιπλέον, η βιολογική αιγοπροβατοτροφία δραστηριοποιείται κυρίως σε ορεινές περιοχές, όπου υπάρχουν άφθονοι βοσκότοποι, ενώ το ζωικό κεφάλαιο των εκμεταλλεύσεων αυτών είναι μικρότερο, με το ποίμνιο να αποτελείται από λιγότερο παραγωγικές φυλές, οι οποίες όμως είναι αυτόχθονες και καλά προσαρμοσμένες στο περιβάλλον. Σημαντική παράμετρος για τη βιωσιμότητα των βιολογικών εκτροφών αποτελεί το γεγονός ότι ο αριθμός των εκτρεφόμενων ζώων ανά κτηνοτρόφο είναι αρκετά υψηλός. Για όσους διατηρούν αιγοπρόβατα ο μέσος όρος ανά μονάδα είναι 280 ζώα, ενώ για βοοειδή 47 ζώα. Και στις δύο περιπτώσεις ο αριθμός των ζώων είναι συγκριτικά υψηλός για βιολογικές εκτροφές και δεν διαφέρει σημαντικά από το μέσο όρο των αντίστοιχων συμβατικών (Κράσσο, 2005).

Ο κύριος όγκος της ελληνικής αιγοπροβατοτροφίας έχει ως παραγωγική κατεύθυνση την γαλακτοπαραγωγή και προέρχεται από γενετική ανομοιογενή ποίμνια, τα οποία απαρτίζονται από ζώα διαφορετικών φυλών και κυρίως από ζώα διασταυρούμενα άγνωστης γονοτυπικής σύνθεσης, παρουσιάζοντας μεγάλη παραλλακτικότητα σε ότι αφορά τα μορφολογικά, φυσιολογικά και παραγωγικά χαρακτηριστικά τους.

3.1.2 Χαρακτηριστικά αιγοπρόβειου γάλακτος

Η παραγωγή αιγοπρόβειου γάλακτος αποτελεί βασικό παράγοντα τόνωσης της εθνικής οικονομίας, κυρίως για χώρες την μεσογείου και είναι ιδιαίτερος οργανωμένη σε χώρες όπως η Γαλλία, Ισπανία και η Ελλάδα (Park & Haenlein, 2006).

Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του γάλακτος ποικίλουν και βρίσκονται σε άμεση συνάρτηση με παράγοντες, όπως το είδος του παραγωγικού ζώου, την διατροφή και φυσικά τις περιβαλλοντικές συνθήκες διαβίωσης. Το αιγοπρόβειο γάλα παρουσιάζει διακυμάνσεις στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά και εξαιτίας της εποχικότητας που δρα καθοριστικά στην παραγωγή. Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά (Πίνακας 5.3.1) του αιγοπρόβειου γάλακτος διαφέρουν σημαντικά σε σχέση με το αγελαδινό γάλα, που είναι το κατεξοχήν εμπορεύσιμο στην αγορά φρέσκου γάλακτος.

Πίνακας 4 3.1: Μέση σύσταση των βασικών θρεπτικών συστατικών του Αίγειου & Πρόβειου γάλακτος

Θρεπτικό συστατικό	Αίγειο Γάλα	Πρόβειο Γάλα
Λίπος (%)	3,8	7,9
Λακτόζη (%)	4,1	4,9
Πρωτεΐνη (%)	3,4	6,2
Τέφρα (%)	0,8	0,9
ΣΥΑΛ (%)	8,9	12,0

Πηγή: Park et al., 2007

3.1.2.1 Πρωτεΐνες

Το γάλα αποτελεί πηγή πρωτεϊνών υψηλής ποιότητας, με ταυτόχρονη ισορροπημένη περιεκτικότητα αμινοξέα. Η συσχέτιση και η διακύμανση της περιεκτικότητας του γάλακτος σε πρωτεΐνες με διάφορους παράγοντες είναι επαρκώς τεκμηριωμένη από σχετικές έρευνες. Σε γενικές γραμμές, το περιεχόμενο καζεΐνης αs1 στο κατσίκισιο γάλα είναι μικρότερο έναντι άλλων μηρυκαστικών. Η συνολική περιεκτικότητα πρωτεΐνης μπορεί να ποικίλει από 2,6g/l έως 4,1g/l για το γάλα κατσίκας και από 4,7g/100 g έως 7,2g/100g για το πρόβειο γάλα. Ως κυρίαρχοι παράγοντες επίπτωσης στο πρωτεϊνικό περιεχόμενο μπορούν να χαρακτηριστούν το στάδιο της γαλουχίας, εποχικότητα, η ηλικία και η διατροφή.

3.1.2.2 Υδατάνθρακες

Η λακτόζη αποτελεί τον βασικό υδατάνθρακα του γάλακτος και πιο συγκεκριμένα για το αίγιο γάλα αποτελεί το 44% των υδατανθράκων, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό για το πρόβειο γάλα είναι 49% (Raynal-Ljutovac et al., 2008). Το υπόλοιπο ποσοστό του περιεχομένου των υδατανθράκων περιλαμβάνει ολιγοσακχαρίτες, γλυκοπεπτίδια, γλυκοπρωτεΐνες και νουκλεοτίδια σακχάρων σε μικρές ποσότητες και με τις δράσεις τους να μην έχουν μελετηθεί επαρκώς (Park et al., 2007).

3.1.2.3 Μέταλλα & Ιχνοστοιχεία

Το μεταλλικό περιεχόμενο του αιγοπρόβειου γάλακτος είναι σημαντικά υψηλότερο σε σύγκριση με άλλα είδη γάλακτος. Το πρόβειο γάλα έναντι του αίγιου εμφανίζει υψηλότερες τιμές σε ολικά στερεά. Στον πίνακα 5,3.1 παρουσιάζεται το περιεχόμενο του πρόβειου και αίγιου γάλακτος με μέταλλα και ιχνοστοιχεία.

Πίνακας 5 3.1: Περιεκτικότητα Αίγιου & Πρόβειου γάλακτος σε μέταλλα & ιχνοστοιχεία

	Αίγιο Γάλα (mg/l)	Πρόβειο Γάλα (mg/kg)
Ασβέστιο	1260	1950-2000
Φώσφορος	970	1240-1580
Κάλιο	1900	1360-1400
Νάτριο	380	440-580
Μαγνήσιο	130	180-210
Σίδηρο	550	720-1222
Χαλκός	300	400-680
Μαγγάνιο	80	53-90
Ιώδιο	80	104
Σελήνιο	20	31

Πηγή: Raynal-Ljutovac et al., 2008

3.1.2.4 Λίπος

Το λίπος αποτελεί το πιο σημαντικό χαρακτηριστικό του γάλακτος και βάσει αυτού αξιολογείται η χρηματική του αξία, η διαθρεπτική του αξία καθώς επίσης επηρεάζει άμεσα και καθοριστικά τα φυσικοχημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τόσο του ιδίου του γάλακτος όσο και τα αντίστοιχα των γαλακτοκομικών προϊόντων. Ταυτόχρονα το περιεχόμενο του λίπους αποτελεί και το πιο μεταβλητό χαρακτηριστικό καθώς επηρεάζεται καθοριστικά από το στάδιο γαλουχίας του ζώου, την διατροφή του, την εποχή, το είδος και την φυλή.

Η συσχέτιση και ο προσδιορισμός του βαθμού επίπτωσης της διατροφής επί της σύστασης του λίπους (λιπαρά οξέα C18:2 *cis* 9 *trans* 11, Ω3) σε αίγαιο και πρόβιο γάλα, έχουν μελετηθεί διεξοδικά στην έρευνα του Sampelayo και συνεργάτες, (2007).

Το λίπος του γάλακτος είναι μίγμα τριγλυκεριδίων (περίπου 98%), δικλυκεριδίων (1,5 έως 2,0%) και μονογλυκεριδίων (σε ίχνη). Το λίπος του γάλακτος παρουσιάζει τα εξής ιδιαίτερα χαρακτηριστικά (Ανυφαντάκης, 1993):

- Μεγάλη ποικιλία λιπαρών οξέων, περισσότερα από 150
- Σχέση μεταξύ κορεσμένων λιπαρών οξέων προς τα ακόρεστα περίπου 2:1
- Αυξημένη αναλογία πτητικών λιπαρών οξέων με μικρό μοριακό βάρος και κατά συνέπεια αυξημένο αριθμό σαπωνοποίησης.

Η λιπαρή φάση του γάλακτος υπάρχει διασκορπισμένη σ' αυτό υπό μορφή μικροσκοπικών σφαιρών που καλούνται λιποσφαίρια. Ο αριθμός και το μέγεθος των λιποσφαιρίων εξαρτάται από το είδος του γάλακτος, τη φυλή του ζώου το στάδιο της γαλακτικής περιόδου και το στάδιο άλμεξης (Ανυφαντάκης, 1993).

3.2 Οι Βιταμίνες του Γάλακτος

Οι βιταμίνες κατατάσσονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες. Τις υδατοδιαλυτές που βρίσκονται σχεδόν πάντοτε στη μη λιπαρή φάση του γάλακτος και τις λιποδιαλυτές που είναι οι A,D,E και K και απαντούν στο λίπος του γάλακτος.

3.2.1 Υδατοδιαλυτές βιταμίνες

Κοινό χαρακτηριστικό των βιταμινών της κατηγορίας αυτής, είναι ότι συντίθενται από την μικροχλωρίδα της μεγάλης κοιλίας των μηρυκαστικών και για τον λόγο αυτό τα ζώα αυτά, σε αντίθεση με τα μονογαστρικά, δεν έχουν ανάγκη εφοδιασμού τους σε βιταμίνες B με το σιτηρέσιο. Η συγκέντρωση των βιταμινών B, που εκκρίνονται στο γάλα μηρυκαστικών, δεν επηρεάζεται από την σύσταση των παρεχόμενων σιτηρεσίων και παραμένει σχετικά σταθερή (Ανυφαντάκης, 1993). Στον πίνακα 6,3.2 παρατίθενται ενδεικτικές συγκεντρώσεις βιταμινών B σε αίγαιο και πρόβειο γάλα, με βάσει τις οποίες συμπερασματικά καταδεικνύεται το υψηλότερο περιεχόμενο πρόβειου γάλακτος, σε υδατοδιαλυτές βιταμίνες, έναντι του αίγιου γάλακτος.

Πίνακας 6 3.2: Περιεχόμενο Αίγιου και Πρόβειου γάλακτος σε υδατοδιαλυτές βιταμίνες

Υδατοδιαλυτές Βιταμίνες	Αίγαιο Γάλα	Πρόβειο Γάλα
B ₁ (Θειαμίνη) mg/100g	0,05	0,08
B ₂ (Ριβοφλαβίνη) mg/100g	0,14	0,35
B ₃ (Νιασίνη) mg/100g	0,20	0,42
B ₅ (Παντοθενικό Οξύ) mg/100g	0,31	0,41
B ₆ (Πυροξιδίνη) mg/100g	0,05	0,08
B ₈ (Βιοτίνη) μg/100g	2,00	-
B ₉ (Φολλικό οξύ) μg/100g	1,00	5,00
B ₁₂ μg/100g	0,06	0,71
Ασκορβικό οξύ mg/100g	1,30	5,00

Πηγή: Raynal-Ljutovac et al., 2008

3.2.2 Λιποδιαλυτές βιταμίνες

Την τελευταία δεκαετία, η αξία της διαθρεπτικής σημασίας του αιγοπρόβειου γάλακτος συνεχώς αναβαθμίζεται, κυρίως λόγω του περιεχομένου του σε λιποδιαλυτές βιταμίνες (Πίνακας 7,3.2) καθώς και της περιεκτικότητας του κυρίως σε συζευγμένο λινελαϊκό οξύ. Το λίπος του γάλακτος αποτελεί καλή διαθρεπτική πηγή των λιποδιαλυτών βιταμινών και κυρίως των A και E που είναι γνωστές και για την αντιοξειδωτική τους δράση (Bergamo et al., 2003).

Πίνακας 7 3.2: Περιεχόμενο Αίγειου και Πρόβειου γάλακτος, στις λιποδιαλυτές βιταμίνες A, D και E (μg /ml), από συμβατικές παραγωγές

Αίγιο Γάλα			Πρόβιο Γάλα			Αναφορά
A	D	E	A	D	E	
4,32	nd	6,5	4,32	nd	3,05	Gentili et al., 2012
0,28	-	1,62	0,50	-	2,14	Kondyli et al., 2011
0,4	0,0006	0,4	0,8	0,0018	1,1	Raynal-Ljutovac et al., 2008

Η πρώτη έρευνα για την μελέτη των διαφορών, των συγκεντρώσεων λιπόφιλων βιταμινών σε δείγματα βιολογικών και συμβατικών γαλακτοκομικών προϊόντων (Bergamo et al, 2003), ανέφερε ως αποτελέσματα την παρουσία υψηλότερων συγκεντρώσεων βιταμίνης E, CLA (συζευγμένο λινολεϊκό οξύ), λινολεϊκού οξέως και β καροτενίου σε βιολογικά δείγματα γάλακτος και τυριού τύπου μοτσαρέλας. Η αναλογία CLA/LA και το περιεχόμενο trans-βασενικό οξύ (TVA) ήταν περίπου διπλάσια στα οργανικά δείγματα. Ωστόσο, στα δείγματα γάλακτος και τυριού που προέρχονταν από τη συμβατική παραγωγή, παρουσιάστηκαν υψηλότερα επίπεδα συγκεντρώσεων της βιταμίνης A και του λινελαϊκού οξέως (ωμέγα-6). Το περιεχόμενο ποσοστό λίπους ήταν παρόμοιο και στα δύο συστήματα.

Η παραπάνω μελέτη αποκαλύπτει, ότι οι αλλαγές στην μέθοδο παραγωγής του γάλακτος και διαφόρων γαλακτοκομικών προϊόντων δεν αλλάζουν συνολικά την περιεκτικότητα αυτών σε λίπος, αλλά επηρεάζουν σημαντικά τα ποσοστά των περιεκτικοτήτων των συστατικών τους. Ένα βασικός παράγοντας, που επιτρέπει την διαφοροποίηση των προϊόντων των μεταξύ βιολογικών και συμβατικών παραγωγών, είναι ο λόγος του CLA/LA, συνεπώς, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ένας αξιόπιστος δείκτης για τον προσδιορισμό του γάλακτος και των προϊόντων του από ένα βιολογικό σύστημα.

Η περιεκτικότητα του γάλακτος σε αντιοξειδωτικά, κυρίως βιταμίνη E και καροτενοειδή, αποτελεί άλλο ένα επιχείρημα για την κατανάλωση του βιολογικού γάλακτος. Η περιεκτικότητα τους, στο βιολογικό αγελαδινό γάλα ήταν υψηλότερη, η οποία προκύπτει από το γεγονός ότι η διατροφή των αγελάδων αυτών βασίζεται στην πράσινη χορτονομή βοσκοτόπων (Butler et al., 2008).

Οι διαφορές όσον αφορά το περιεχόμενο των μεμονωμένων βιταμινών δεν έχουν καθοριστεί σαφώς και οι κατά καιρούς μελέτες (Emanuelson and Fall, 2007), παρουσιάζουν διαφορές στο περιεχόμενο του γάλακτος σε βιταμίνες κυρίως λόγω της διαφοροποίησης στα σιτηρέσια που χορηγούνται στα παραγωγικά ζώα (Bergamo et al., 2003; Butler et al., 2008).

Με βάσει τα ερευνητικά αποτελέσματα της Ellis και των συνεργατών (2007), καταδεικνύεται η υπεροχή του περιεχομένου της βιταμίνης A κατά την συμβατική παραγωγή γάλακτος έναντι της βιολογικής, γεγονός που αποδεικνύεται και από τα αποτελέσματα του Bergamo και των συνεργατών (2003). Επιπλέον τονίζεται πως η αύξηση του περιεχομένου των βιταμινών A και E οφείλεται κυρίως στην αλλαγή της διατροφής των ζώων και κυρίως όταν αυτά βόσκουν ελεύθερα στην ύπαιθρο. Η διατροφή των γαλακτοπαραγωγικών ζώων αποτελεί τον πιο καθοριστικό παράγοντα για την αύξηση του περιεχομένου των λιπόφιλων βιταμινών στο γάλα.

Κεφάλαιο 4. ΣΚΟΠΟΙ & ΣΤΟΧΟΙ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοπό της παρούσας διπλωματικής εργασίας, αποτελεί ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας των λιπόφιλων βιταμινών (A, D, E) σε δείγματα φρέσκου αίγειου και πρόβειου γάλακτος, το οποίο δεν έχει υποστεί καμιά επεξεργασία, από βιολογικές και συμβατικές παραγωγές της περιφέρειας Θεσσαλίας.

Η σύγκριση των περιεκτικοτήτων μεταξύ συμβατικών και βιολογικών δειγμάτων έχει ως στόχο να προσθέσει μια ακόμη απάντηση στο ερώτημα εάν το βιολογικό γάλα υπερτερεί έναντι του συμβατικού όσον αφορά το περιεχόμενο των λιποδιαλυτών βιταμινών. Η διεθνής έρευνα που έχει στοχοποιήσει μέχρι σήμερα τον προσδιορισμό των λιπόφιλων σε αίγιο και πρόβιο γάλα από βιολογικές παραγωγές μπορεί να χαρακτηριστεί άκρως περιορισμένη και ως εκ τούτου η παρούσα εργασία θα αποτελέσει βάση για την περαιτέρω διερεύνηση του παρόντος στόχου διερεύνησης.

Η πρωτοτυπία της μελέτης έγκειται στο γεγονός, ότι για πρώτη φορά γίνεται μια τόσο ευρεία έρευνα, με μεγάλο αριθμό δειγμάτων (48 δείγματα) που πέρα από τον σκοπό της κατάδειξης της υπεροχής ή όχι του βιολογικού γάλακτος έναντι του συμβατικού, δύνανται και η δυνατότητα της μελέτης της διακύμανσης του περιεχομένου των βιταμινών σε συνάρτηση με την εποχικότητα κατά τη διάρκεια της γαλακτικής περιόδου.

Πρόσθετο μέλημα της μελέτης αποτελεί η εκπόνηση ενός επικυρωμένου πρωτοκόλλου ανάλυσης και προσδιορισμού των λιπόφιλων βιταμινών σε δείγματα φρέσκου γάλακτος.

Κεφάλαιο 5. ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

5.1 Εισαγωγή

Σήμερα, υπάρχει μια αυξανόμενη ανάγκη για πιο γρήγορες και ειδικές μεθόδους για την ανάλυση των βιταμινών. Για τον προσδιορισμό μεμονωμένων βιταμινών καθώς και μιγμάτων αυτών χρησιμοποιείται συνήθως ισοκρατική έκλυση των διαλυτών, ενώ σε περιπτώσεις που διενεργείται ανάλυση πολυπλοκότερων μιγμάτων χρησιμοποιείται η βαθμωτή έκλυση διαλυτών. Ο προσδιορισμός των βιταμινών μπορεί να πραγματοποιηθεί με υγρή χρωματογραφία κανονικής φάσης αλλά η πιο κοινή μέθοδος είναι αυτή της ανάστροφης φάσης. Αρκετές τεχνικές ανίχνευσης μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τις βιταμίνες με τον ανιχνευτή UV να είναι η πιο κοινή (Paixao & Campos, 2003)

Η προετοιμασία των δειγμάτων και η δημιουργία του κατάλληλου πρωτοκόλλου ανάλυσης είναι τα πιο σημαντικά μέτρα για να εξασφαλίσουν ότι η μεταγενέστερη ανάλυση των δειγμάτων θα είναι αποτελεσματική. Η προετοιμασία των δειγμάτων απαιτεί προσεκτικούς χειρισμούς εξαιτίας της ευαισθησίας τους στο φως, σε οξειδωτικά αντιδραστήρια, το pH και τη θερμότητα.

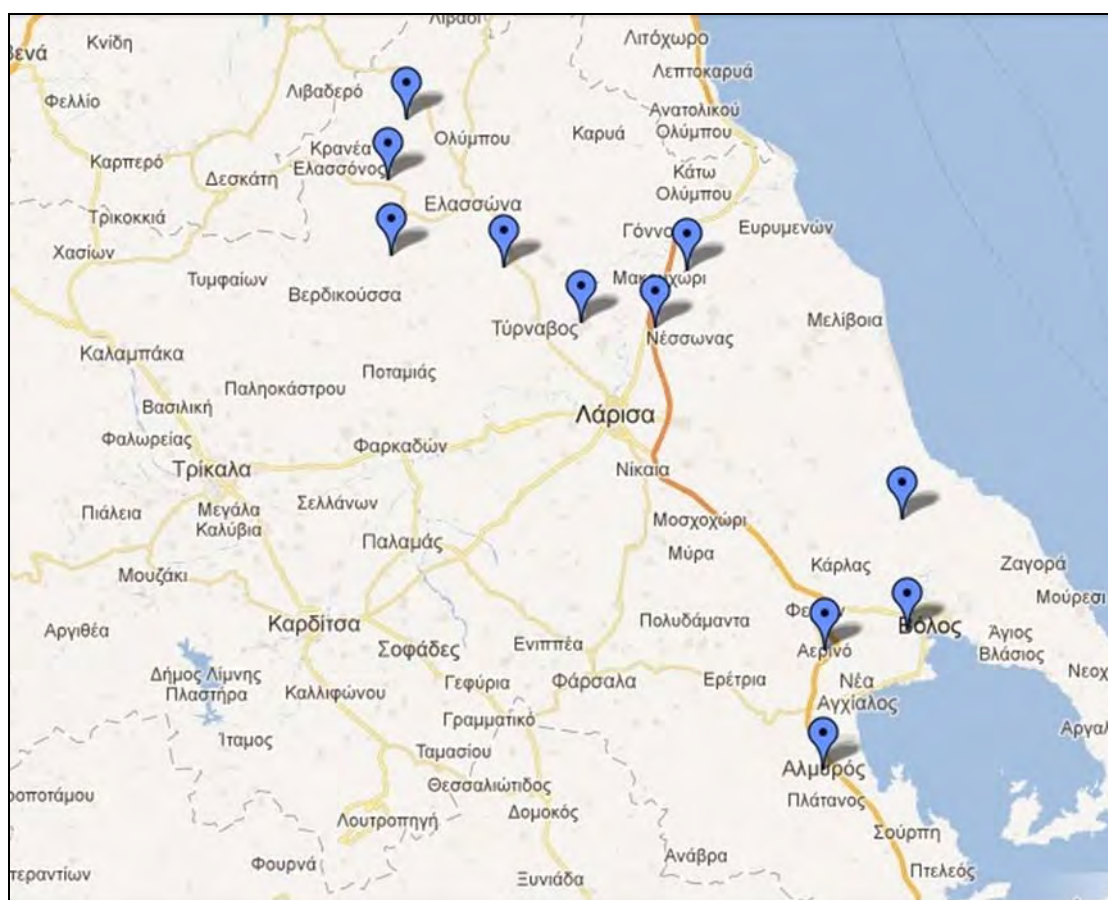
Παραδοσιακά, η ανάλυση λιποδιαλυτών βιταμινών εκτελείται με αλκαλική σαπωνοποίηση του συνόλου του δείγματος ή από ένα απομονωμένο μέρος των λιπιδίων και ακολουθείται από εκχύλιση υγρού με οργανικούς διαλύτες (Mendoza et al., 2003). Η σαπωνοποίηση έχει συχνά χρησιμοποιηθεί για την αφαίρεση του μεγαλύτερου μέρους του λίπους ώστε να διευκολυνθεί η απομόνωση των καροτενοειδών, των ρετινοειδών, των τοκοφερολίων και ενώσεων της βιταμίνης D από το δείγμα (Salo-Vaananen et al., 2000; Gimeno et al., 2000). Η σαπωνοποίηση πραγματοποιείται με επεξεργασία του δείγματος σε ισχυρά αλκαλικό περιβάλλον, αυτό μειώνει την εκχύλιση ουσιών που παρεμποδίζουν μαζί με τις βιταμίνες στην οργανική φάση. Με την ολοκλήρωση της σαπωνοποίησης το δείγμα εκχυλίζεται με διαλύτη, όπως διαιθυλαιθέρας, χλωροφόρμιο, εξάνιο ή μείγματα τους (Gimeno et al., 2000).

5.2 Συλλογή δειγμάτων γάλακτος

Τα δείγματα γάλακτος συλλέχθηκαν από συμβατικές και βιολογικές παραγωγές οι οποίες γεωγραφικά βρίσκονται σε γειτνίαση (Σχήμα 6.5.1) ούτως ώστε να περιοριστεί η ενδεχόμενη επίπτωση των εδαφοκλιματολογικών συνθηκών επί της σύστασης του παραγόμενου γάλακτος.

Συνολικά συλλέχθηκαν σαράντα οκτώ (48) δείγματα, από τα οποία τα εικοσιτέσσερα (24) δείγματα από βιολογικές παραγωγές και τα υπόλοιπα εικοσιτέσσερα (24) δείγματα από συμβατικές παραγωγές, κατά την γαλακτική περίοδο 2011. Η δειγματοληψία από κάθε μονάδα παραγωγής πραγματοποιήθηκε σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα, Χειμώνας (1^η δειγματοληψία), Μάρτιος-Απρίλιος (2^η δειγματοληψία) και Μάιος-Ιούνιος (3^η δειγματοληψία) ώστε να είναι η επίπτωση της εποχικότητας στο περιεχόμενο των βιταμινών (A, D, E).

Τα δείγματα μετά την συλλογή, αποθηκεύτηκαν σε κατάψυξη (-80°C) μέχρι την στιγμή της επεξεργασίας τους. Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 8.5.1) δίδονται αναλυτικά οι περιοχές συλλογής των δειγμάτων, το είδος (Πρόβειο – Αίγριο) καθώς και ο τρόπος παραγωγής (Βιολογικό – Συμβατικό).



Σχήμα 6 5.1: Γεωγραφική απεικόνιση των περιοχών συλλογής δειγμάτων γάλακτος

Πίνακας 8 5.1: Περιοχές συλλογής δειγμάτων γάλακτος από βιολογικές & συμβατικές μονάδες παραγωγής, αίγειου & πρόβειου γάλακτος

Είδος παραγωγής	Είδος παραγωγικού ζώου	Περιοχή
Βιολογικό	Αίγειο	Άζωρος
	Αίγειο	Κανάλια
	Αίγειο	Βοτανοχώρι
	Αίγειο	Αλμυρός
	Πρόβειο	Κανάλια
	Πρόβειο	Βαλανίδια
	Πρόβειο	Άζωρος
	Πρόβειο	Αμπελώνας
Συμβατικό	Αίγειο	Συκιά
	Αίγειο	Διμήνι
	Αίγειο	Βοτανοχώρι
	Αίγειο	Αερινό
	Πρόβειο	Κανάλια
	Πρόβειο	Διμήνι
	Πρόβειο	Ελάτεια
	Πρόβειο	Αμφιθέα

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω βασικό μας μέλημα ήταν η συλλογή των δειγμάτων να προέλθει από μονάδες παραγωγής, οι οποίες γεωγραφικά να ήταν όσο το δυνατό πλησιέστερα ούτως ώστε να ελαχιστοποιηθούν πιθανά σφάλματα στο περιεχόμενο των βιταμινών εξαιτίας των διαφορετικών εδαφοκλιματολογικών χαρακτηριστικών της κάθε περιοχής.

5.3 Αντιδραστήρια

Για την διενέργεια των πειραματικών διαδικασιών χρησιμοποιήθηκαν αντιδραστήρια υψηλής αναλυτικής καθαρότητας.

Πιο συγκεκριμένα το n-εξάνιο, ο πετρελαϊκός αιθέρας, ο διαιθυλεθαίρας, η αιθανόλη, προμηθεύτηκαν από την εταιρεία Penta (Praha, Czech Republic) και η μεθανόλη από την Panreac (Barcelona, Spain). Το υδροξείδιο του καλίου και το ασκορβικό οξύ προμηθεύτηκαν από την εταιρεία Penta (Praha, Czech Republic) ενώ το βουτυρικό υδροξυτολουόλιο από την Sigma-Aldrich (St Louis, USA).

Οι λιποδιαλυτές βιταμίνες, all trans ρετινόλη, α- τοκοφερόλη, εργοκαλσιφερόλη και η χοληκαλσιφερόλη προμηθεύτηκαν από την Sigma-Aldrich (St Louis, USA).

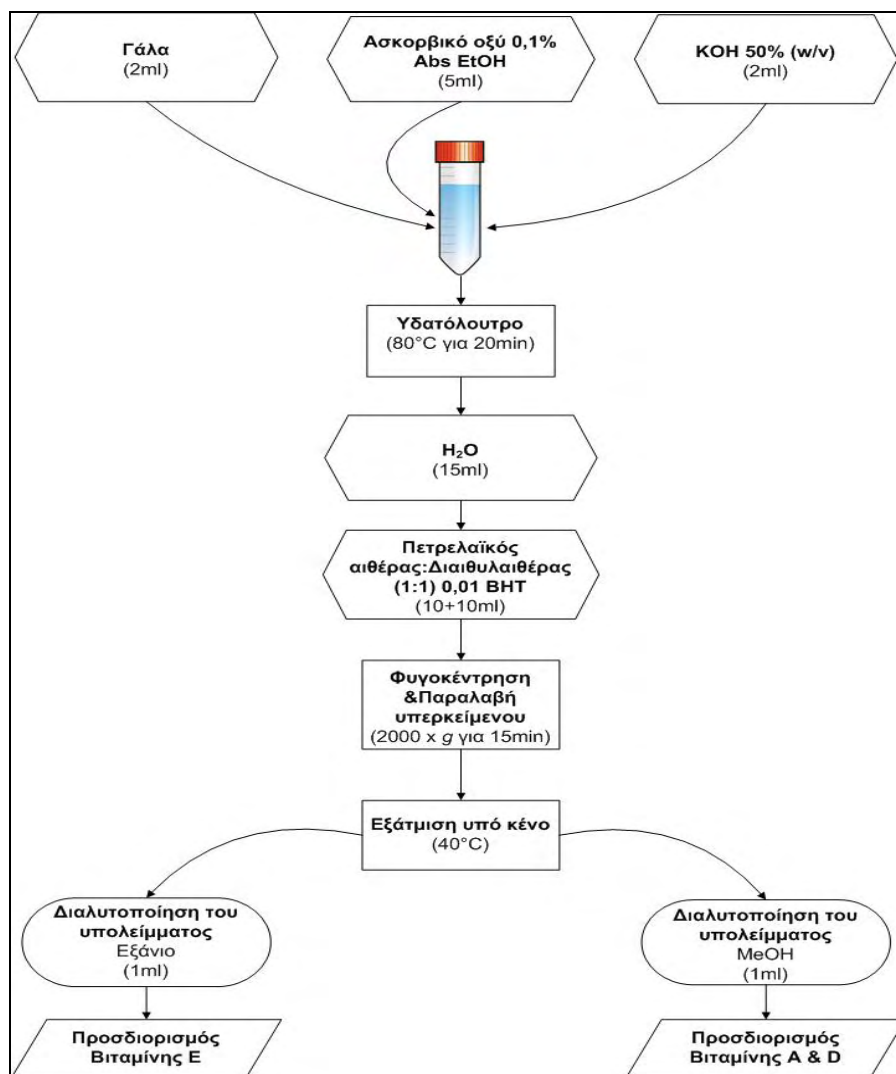
Η παρασκευή των μητρικών διαλυμάτων για την ανάλυση των λιποδιαλυτών βιταμινών περιελάμβανε συγκεντρώσεις των 5mg/ml για την α- τοκοφερόλη σε εξάνιο, 400 µg/ml για την all trans ρετινόλη σε μεθανόλη και 200 µg/ml για τις D₃ και D₂ σε μεθανόλη.

Η παρασκευή των προτύπων διαλυμάτων εργασίας προετοιμαζόταν με τις κατάλληλες αραιώσεις ποσοτήτων των μητρικών διαλυμάτων για την επίτευξη συγκεκριμένων αραιώσεων.

Η όλη διαδικασία παρασκευής των διαλυμάτων πραγματοποιήθηκε υπό συνθήκες περιορισμού της φωτεινής ακτινοβολίας.

5.4 Προετοιμασία δειγμάτων

Η εξέλιξη της προετοιμασίας των δειγμάτων γάλακτος και γενικότερα η πειραματική διαδικασία έλαβε χώρα υπό τον μέγιστο δυνατό περιορισμό της δράσης του φωτός. Επίσης δόθηκε ιδιαίτερη προσοχή στην διαδικασία απόψυξης (2 κύκλοι απόψυξης) των δειγμάτων, ούτως ώστε να περιορισθούν ενδεχόμενες αλλοιώσεις της σύστασης του γάλακτος από μη ορθό αποψυκτικό χειρισμό.



Σχήμα 7 5.3: Διάγραμμα ροής της προετοιμασίας των δειγμάτων γάλακτος

Η προετοιμασία των δειγμάτων (Σχήμα 7,5.3) αποτελεί αποτέλεσμα βελτιώσεων επί της αντίστοιχης μεθοδολογίας που χρησιμοποιήθηκε από την Kondyli και τους συνεργάτες (2007). Αρχικά παρελήφθησαν 2ml γάλακτος, από το εκάστοτε αποψυχθέν δείγμα και μεταφέρθηκαν σε falcon των 50ml. Εν συνεχεία προστέθηκαν 5ml καθαρής αιθανόλης (περιείχε 0,1% ασκορβικό οξύ) και 2ml υδροξειδίου του καλίου. Το μείγμα ανακινήθηκε (vortex) για 2 λεπτά και στην συνέχεια τοποθετήθηκε σε υδατόλουτρο (S100H, elma, Germany) με θερμοκρασία 80°C για χρονικό διάστημα 20 λεπτών και με το πέρας της παραμονής στο υδατόλουτρο το δείγμα ψύχθηκε αμέσως με την χρήση πάγου.

Με την ολοκλήρωση της παραπάνω διαδικασίας (σαπωνοποίηση) στο δείγμα προστέθηκαν 10ml διαλύματος πετρελαϊκού αιθέρα και διαιθυλαιθέρα (περιείχε 0,01% BHT), σε αναλογία 1:1, υπό ανάδευση για 1 λεπτό και αφέθηκε σε ηρεμία για 5 λεπτά. Εν συνεχεία προστέθηκαν ακόμη 10ml του παραπάνω διαλύματος το δείγμα ανακινήθηκε για 2 λεπτά και τελικά αφέθηκε σε ηρεμία για 5 λεπτά. Έπειτα στο δείγμα προστέθηκαν 15ml απεσταγμένου νερού, θερμοκρασίας 4 °C.

Ακολούθησε ανακίνηση για τον διαχωρισμό των φάσεων του συστήματος και εν συνεχεία οδηγήθηκε σε φυγοκέντρηση (2000 x g) (digicen20-R, ortoalresa, Madrid, Spain) για 15 λεπτά. Συλλέχθηκε η υπερκείμενη φάση του συστήματος η οποία εξατμίστηκε υπό κενό με την χρήση περιστροφικού εξατμιστήρα (Laborota 4000, Heidolph, Schwabach, Germany) στους 40 °C. Το εναπομένον στερεό υπόλειμμα, ανακτήθηκε με την διάλυση του σε εξάνιο, για τον προσδιορισμό της βιταμίνης E ενώ για τον προσδιορισμό των βιταμινών A και D χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης η μεθανόλη. Πριν την ανάλυση των δειγμάτων με την μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας έγινε διήθηση με ηθμό (Disposable Syringe Filter, Sigma-Aldrich , St Louis, USA).

5.5 Ανάλυση δειγμάτων με υγρή χρωματογραφία (HPLC)

Για την ανάλυση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε η υγρή χρωματογραφία κανονικής φάσης σε συνδυασμό με ανιχνευτή φθορισμού (βιταμίνη E) και η υγρή χρωματογραφία ανάστροφης φάσης σε συνδυασμό με ανιχνευτή υπεριώδους – ορατού (βιταμίνη A & D).

Το σύστημα υγρής χρωματογραφίας (CBM-20A, Shimadzu) αποτελούνταν από:

- Αντλία (LC-20AD, Shimadzu)
- Αυτόματος δειγματολήπτης (SIL-20AC, Shimadzu)
- Θερμοστατούμενος κλίβανος (CTO-20A, Shimadzu).

5.5.1 Προσδιορισμός βιταμίνης A

Η μέθοδος προσδιορισμού της βιταμίνης A προέκυψε από τροποποιήσεις επί του πρωτοκόλλου της μεθόδου του Mendoza και των συνεργατών (2003). Πιο συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκε η αναλυτική στήλη Luna C₁₈, 250 x 4.6 mm, 5μm (phenomenex, Torrance, USA). Η κινητή φάση αποτελούνταν από 100% μεθανόλη, με ταχύτητα ροής 1ml/min. Επιπλέον η θερμοκρασία της αναλυτικής στήλης διατηρούνταν σταθερή καθ όλη την διάρκεια της ανάλυσης στους 30 °C. Ο προσδιορισμός της all trans ρετινόλης πραγματοποιήθηκε με την χρήση του ανιχνευτή UV-DAD με μήκος κύματος 325 nm.

5.5.2 Προσδιορισμός βιταμίνης D

Η μέθοδος προσδιορισμού της βιταμίνης D προήλθε από τροποποιήσεις επί της μεθόδου του Byrdwell (2009). Για τον προσδιορισμό της βιταμίνης D, χρησιμοποιήθηκε η αναλυτική στήλη Luna C₁₈, 250 x 4.6 mm, 5μm (phenomenex, Torrance, USA). Η έκλουση ήταν ισοκρατική με μείγμα διαλυτών ακετονιτριλίου : μεθανόλης με αναλογία όγκων 55:45. Για την ανίχνευση του αναλύτη χρησιμοποιήθηκε ο ανιχνευτής UV-DAD με μήκος κύματος 265 nm.

5.5.3 Προσδιορισμός βιταμίνης E

Η μέθοδος προσδιορισμού της βιταμίνης E (α- τοκοφερόλη) βασίστηκε στην μέθοδο του Lalas και των συνεργατών (2011).

5.6 Επικύρωση μεθόδου

Η ανάγκη για επικύρωση των αναλυτικών μεθόδων (Analytical Method Validation) γίνεται όλο και εντονότερη τα τελευταία χρόνια, προκειμένου να αποδειχθεί ότι η κάθε μέθοδος δίνει αξιόπιστα αποτελέσματα. Ουσιαστικά με τον όρο «επικύρωση» ορίζεται η επιβεβαίωση που προκύπτει μετά από την εξέταση σειράς πρότυπων και εμβολιασμένων δειγμάτων και τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων τους. Οπότε η επικύρωση αναλυτικής μεθόδου είναι μια διαδικασία, με σκοπό να αποδειχθεί ότι η αναλυτική διαδικασία που έχει επιλεγεί για μία συγκεκριμένη δοκιμασία, είναι τελικά κατάλληλη για το σκοπό της.

Γενικά η επικύρωση μιας αναλυτικής μεθόδου περιλαμβάνει μελέτες για την εξειδίκευση της μεθόδου, τη γραμμικότητα, την ακρίβεια, την επαναληψιμότητα, το εύρος, τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικού προσδιορισμού και την ανθεκτικότητά της. Ως ορισμοί των παραπάνω μελετών δίνονται:

Η γραμμικότητα (linearity), διερευνάται με την κατασκευή καμπυλών αναφοράς και λαμβάνονται μετρήσεις σε τουλάχιστον πέντε επίπεδα συγκεντρώσεων χρησιμοποιώντας διαλύματα μιγμάτων των προσδιοριζόμενων ενώσεων.

Ως ακρίβεια (accuracy), νοείται η εγγύτητα του αποτελέσματος μιας δοκιμής και της αποδεκτής τιμής αναφοράς. Προσδιορίζεται με τον προσδιορισμό της ορθότητας και της πιστότητας. Η ορθότητα ορίζεται ως η εγγύτητα μεταξύ της τιμής του μέσου όρου που λαμβάνεται από μια μεγάλη σειρά αποτελεσμάτων δοκιμών και της αποδεκτής τιμής αναφοράς. Για τον προσδιορισμό της ορθότητας χρησιμοποιείται ένα πιστοποιημένο υλικό αναφοράς (CRM), ενώ στην περίπτωση που δεν υπάρχει CRM, αντί για την ορθότητα προσδιορίζεται η ανάκτηση. Ως πιστότητα (precision) νοείται η εγγύτητα μεταξύ των αποτελεσμάτων ανεξαρτήτων δοκιμών υπό ρητά καθορισμένες συνθήκες.

Ως επαναληψιμότητα (repeatability), νοείται ο έλεγχος της πιστότητας υπό συνθήκες επαναληψιμότητας, οι οποίες ορίζονται ως οι συνθήκες εκείνες υπό τις οποίες τα αποτελέσματα ανεξάρτητων δοκιμών αποκτώνται με την ίδια μέθοδο επί ταυτόσημων τεμαχίων δοκιμής στο ίδιο εργαστήριο, με τον ίδιο χειριστή που χρησιμοποιεί τον ίδιο εξοπλισμό.

Ως όριο ανίχνευσης (LoD) μπορεί να θεωρηθεί η ελάχιστη ποσότητα η οποία στο όργανο αναλυτικής μέτρησης παράγει ένα επαναλήψιμο σήμα πάνω από τον θόρυβο, το οποίο είναι στατιστικώς διαφορετικό από το σήμα θορύβου ενός λευκού προσδιορισμού και μπορεί να θεωρηθεί ότι είναι σήμα προκαλούμενο από τον αναλύτη. Ως όριο ποσοτικοποίησης (LoQ) ορίζεται η συγκέντρωση για την οποία ο αναλύτης μπορεί αν ποσοτικοποιηθεί με αποδεκτή ακρίβεια και επαναληψιμότητα (Δεληγιαννάκης, 2010).

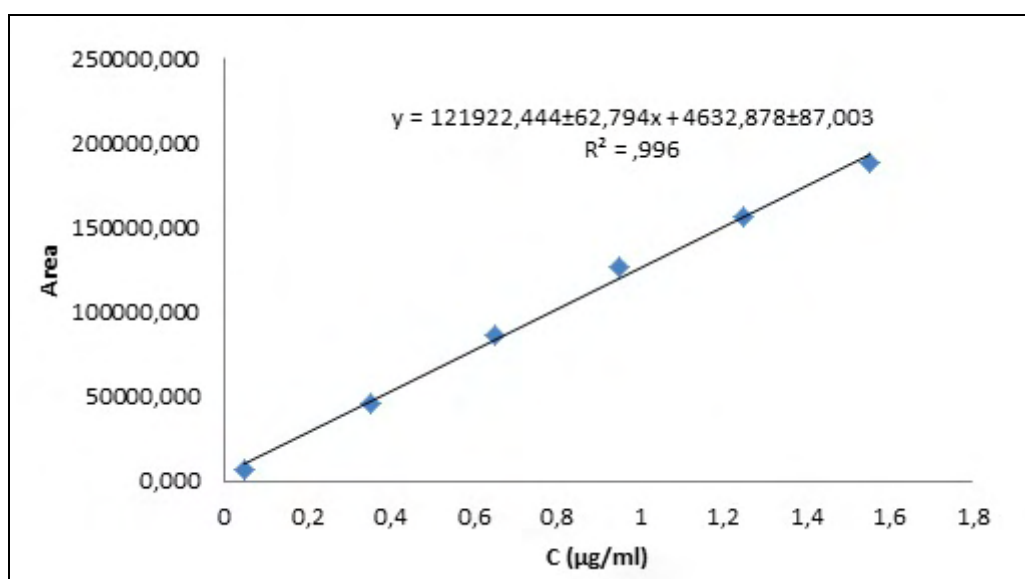
Κεφάλαιο 6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ & ΣΥΖΗΤΗΣΗ

6.1 Επικύρωση των μεθόδων

6.1.1 Βιταμίνη Α

Η γραμμικότητα της μεθόδου προσδιορίστηκε έπειτα από την κατασκευή προτύπων καμπυλών που προήλθαν από τον συσχετισμό των συγκεντρώσεων των προτύπων διαλυμάτων και του εμβαδού κάτω από την καμπύλη στο αντίστοιχο χρωματογράφημα.

Συγκεκριμένα παρασκευάστηκαν έξι πρότυπα διαλύματα βιταμίνης Α, σε συγκεντρώσεις 0.05, 0.35, 0.65, 0.95, 1.25 και 1.55 µg/ml, που καλύπτουν το 50%-150% της αναμενόμενης τιμής και εκτελέστηκαν 4 επαναλαμβανόμενες μετρήσεις, για τη χάραξη των καμπυλών αναφοράς της χρωματογραφικής μεθόδου που αναπτύχθηκε. Η περιοχή γραμμικότητας εκτείνεται (Σχήμα 8,6.1) μέχρι 1.55 µg/ml, ενώ σύμφωνα με την ανάλυση παλινδρόμησης ο συντελεστής γραμμικότητας υπολογίστηκε 0.996.



Σχήμα 8 6.1: Διάγραμμα πρότυπης καμπύλης της βιταμίνης Α (*all trans retinol*)

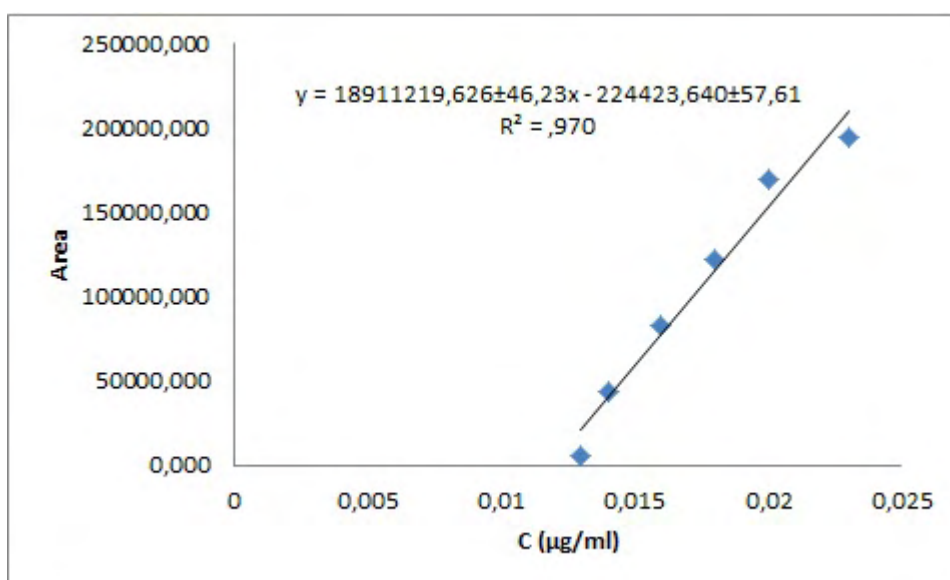
Επίσης προσδιορίστηκε το όριο ανίχνευσης (LoD) και το όριο ποσοτικοποίησης (LoQ) που ήταν 0.002 και 0.007 µg/ml αντίστοιχα.

Η ακρίβεια εκτιμήθηκε με τον ποσοτικό προσδιορισμό του αναλύτη σε εμβολιασμένα δείγματα γάλακτος σε δύο επίπεδα συγκέντρωσης. Το κάθε επίπεδο συγκέντρωσης αναλύθηκε τρεις φορές στη διάρκεια μίας ημέρας. Ο εμβολιασμός των δειγμάτων έγινε με 0.35 και 0.65 µg/ml βιταμίνης Α. Οι ανακτήσεις της χρωματογραφικής μεθόδου κυμάνθηκαν μεταξύ 96.0% και 107.0%.

6.1.2 Βιταμίνη D

Ο προσδιορισμός της βιταμίνη D σε δείγματα γάλακτος παρουσιάζει πολλές δυσκολίες, από αναλυτικής, άποψης που έγκεινται στην πολύ μικρή συγκέντρωση της (1-2ng/ml) και της ύπαρξης ουσιών με παρόμοια χημική δομή σε υψηλότερες συγκεντρώσεις (Perales et al., 2005).

Συγκεκριμένα παρασκευάστηκαν έξι πρότυπα διαλύματα βιταμίνης A, σε συγκεντρώσεις 13, 14, 16, 18, 20 και 23 ng/ml, εκτελέστηκαν 4 επαναλαμβανόμενες μετρήσεις, για τη χάραξη των καμπυλών αναφοράς της χρωματογραφικής μεθόδου που αναπτύχθηκε. Η περιοχή γραμμικότητας εκτείνεται (Σχήμα 9,6.1) μέχρι 23 ng/ml, ενώ σύμφωνα με την ανάλυση παλινδρόμησης ο συντελεστής γραμμικότητας υπολογίστηκε 0.97.



Σχήμα 9 6.1: Διάγραμμα πρότυπης καμπύλης της βιταμίνης D₃

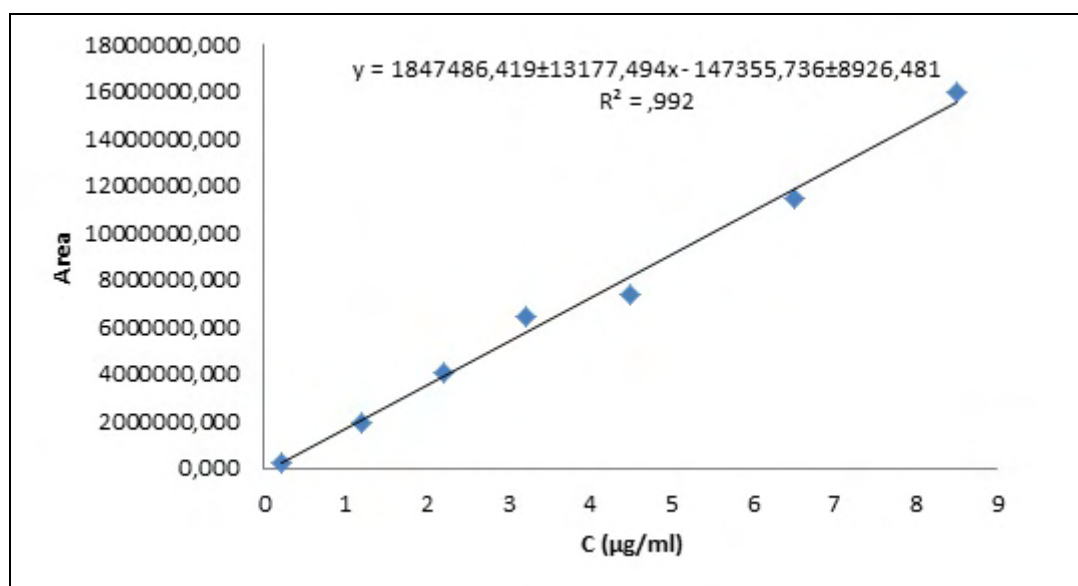
Επίσης προσδιορίστηκε το όριο ανίχνευσης (LoD) και το όριο ποσοτικοποίησης (LoQ) που ήταν 6 και 15 ng/ml αντίστοιχα.

Οι ανακτήσεις της χρωματογραφικής μεθόδου κυμάνθηκαν μεταξύ 85.2% και 90.0%.

6.1.3 Βιταμίνη Ε

Η γραμμικότητα της μεθόδου προσδιορίστηκε έπειτα από την κατασκευή προτύπων καμπυλών που προήλθαν από τον συσχετισμό των συγκεντρώσεων των προτύπων διαλυμάτων και του εμβαδού κάτω από την καμπύλη στο αντίστοιχο χρωματογράφημα..

Συγκεκριμένα παρασκευάστηκαν έξι πρότυπα διαλύματα βιταμίνης Α, σε συγκεντρώσεις 0.2, 1.2, 2.2, 3.2, 4.5, 6.5 και 8.5 µg/ml, που καλύπτουν το 50%-150% της αναμενόμενης τιμής και εκτελέστηκαν 4 επαναλαμβανόμενες μετρήσεις, για τη χάραξη των καμπυλών αναφοράς της χρωματογραφικής μεθόδου που αναπτύχθηκε. Η γραμμικότητας της επιβεβαιώθηκε (Σχήμα 10,6.2) μέχρι 8.5 µg/ml, ενώ σύμφωνα με την ανάλυση παλινδρόμησης ο συντελεστής γραμμικότητας ευρέθηκε 0.992.



Σχήμα 10 6.2: Διάγραμμα πρότυπης καμπύλης της βιταμίνης Ε (α- τοκοφερόλη)

Το όριο ανίχνευσης (LoD) και το όριο ποσοτικοποίησης (LoQ) ήταν 0.02 και 0.06 µg/ml αντίστοιχα.

Η ακρίβεια εκτιμήθηκε με τον ποσοτικό προσδιορισμό του αναλύτη σε εμβολιασμένα δείγματα γάλακτος σε δύο επίπεδα συγκέντρωσης. Το κάθε επίπεδο συγκέντρωσης αναλύθηκε τρεις φορές στη διάρκεια μίας ημέρας. Ο εμβολιασμός των δειγμάτων έγινε με 1.0 και 3.2 µg/ml α- τοκοφερόλης. Οι ανακτήσεις της χρωματογραφικής μεθόδου κυμάνθηκαν μεταξύ 97.0% και 110.0%.

6.2 Ποσοτικός προσδιορισμός βιταμινών

6.2.1 Αίγιο γάλα

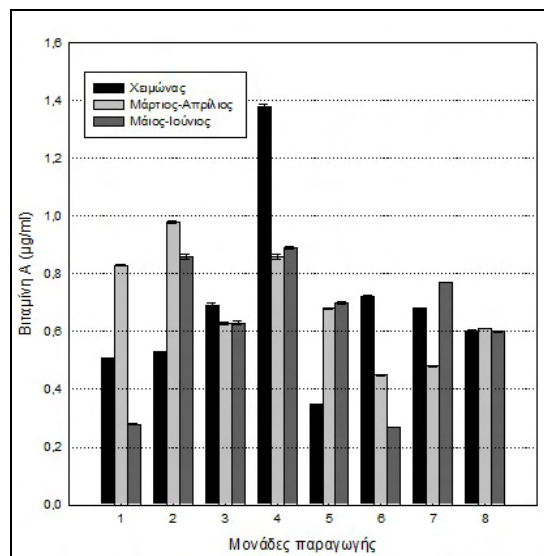
Τα αποτελέσματα του ποσοτικού προσδιορισμού παρουσιάζονται στον Πίνακα 9,6.2.

Πίνακας 9 6.2: Περιεχόμενο λιποδιαλυτών βιταμινών (Α, Ε) από βιολογικές και συμβατικές παραγωγές αίγιου γάλακτος, κατά την περίοδο του χειμώνα (1η), την περίοδο Μαρτίου-Απριλίου (2η) και Μαΐου-Ιουνίου (3η)

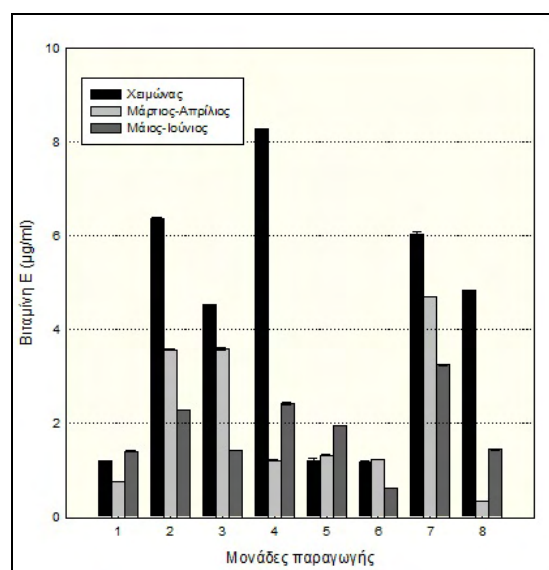
Εκτροφή	Περίοδος	Παραγωγή	Περιοχή	Βιταμίνη Ε (α- τοκοφερόλη) (μg/ml)	Βιταμίνη Α (all trans retinol) (μg/ml)	Βιταμίνη D (ng/ml)
1	1η	Βιολογικό	Λάρισα	1,22±0,001	0,51±0,001	ND
	2η			0,76±0,005	0,83±0,001	ND
	3η			1,41±0,021	0,28±0,002	ND
2	1η	Βιολογικό	Μαγνησία	6,37±0,016	0,53±0,003	ND
	2η			3,58±0,021	0,98±0,004	ND
	3η			2,29±0,004	0,86±0,007	ND
3	1η	Βιολογικό	Λάρισα	4,53±0,000	0,69±0,009	ND
	2η			3,60±0,023	0,63±0,004	ND
	3η			1,44±0,004	0,63±0,006	ND
4	1η	Βιολογικό	Μαγνησία	8,29±0,005	1,38±0,007	ND
	2η			1,22±0,018	0,86±0,007	ND
	3η			2,43±0,034	0,89±0,004	ND
5	1η	Συμβατικό	Μαγνησία	1,22±0,043	0,35±0,001	ND
	2η			1,33±0,008	0,68±0,001	ND
	3η			1,95±0,003	0,70±0,003	ND
6	1η	Συμβατικό	Μαγνησία	1,19±0,027	0,72±0,006	ND
	2η			1,24±0,006	0,45±0,002	ND
	3η			0,62±0,002	0,27±0,001	ND
7	1η	Συμβατικό	Λάρισα	6,04±0,047	0,68±0,003	ND
	2η			4,71±0,008	0,48±0,003	ND
	3η			3,25±0,009	0,77±0,016	ND
8	1η	Συμβατικό	Μαγνησία	4,85±0,005	0,60±0,005	ND
	2η			0,35±0,004	0,61±0,001	ND
	3η			1,45±0,006	0,60±0,001	ND

Όσον αφορά στο περιεχόμενο της βιταμίνης Α και Ε του αίγιου γάλακτος, από βιολογικές και συμβατικές μονάδες παραγωγής γάλακτος (Πίνακας 9,6.2) η εξέταση των διαφορών μεταξύ των διαφορετικών ειδών παραγωγής καθώς και της περιοδικής διακύμανσης του μέσου περιεχομένου της βιταμίνης εξετάσθηκε με ανάλυση

διακύμανσης μονής κατεύθυνσης (One-Way Anova). Η εκτίμηση της επίπτωσης της εποχικότητας επί του περιεχομένου της βιταμίνης A (Σχήμα 11,6.2) και της βιταμίνης E (Σχήμα 12,6.2) ανεξαρτήτως της παραγωγής (Βιολογικό/Συμβατικό) καταδεικνύει πως το μέσο περιεχόμενο της βιταμίνης A, είναι υψηλότερο την περίοδο Μάρτιος-Απρίλιος έναντι της περιόδου Χειμώνα που συσχετίζεται καλώς και από τους Morand-Fehr και τους συνεργάτες (2007) και από τον Ellis και τους συνεργάτες (2007). Όσον αφορά το μέσο περιεχόμενο της βιταμίνης E, το μέσο περιεχόμενο της βιταμίνης είναι υψηλότερο την περίοδο του χειμώνα έναντι των δύο άλλων περιόδων, εύρημα που μπορεί να αποδοθεί στην χορήγηση σιτηρεσίου πλούσιου σε βιταμίνη E, που επισημάνθηκε και από τους Fall & Emanuelson (2011) όπου κατά την περίοδο της σταβλισμένης διαβίωσης (Χειμώνα) το περιεχόμενο της είναι υψηλότερο σε σχέση με την περίοδο των θερινών μηνών.

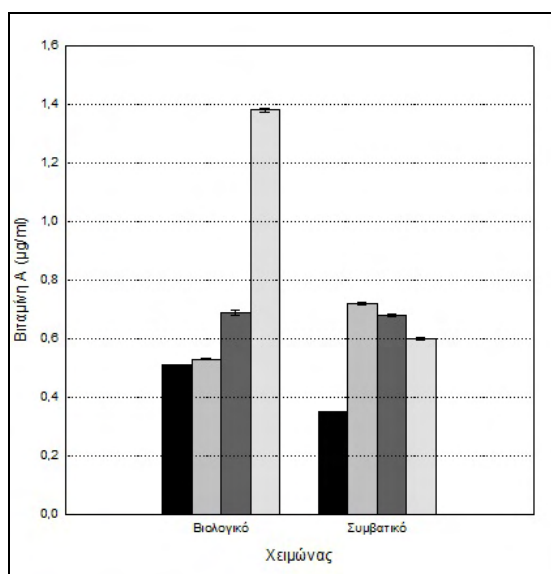


Σχήμα 11 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης A, σε βιολογικές και συμβατικές μονάδες παραγωγής κατά την περίοδο του Χειμώνα, Μάρτιος-Απρίλιος και Μάιος-Ιούνιος

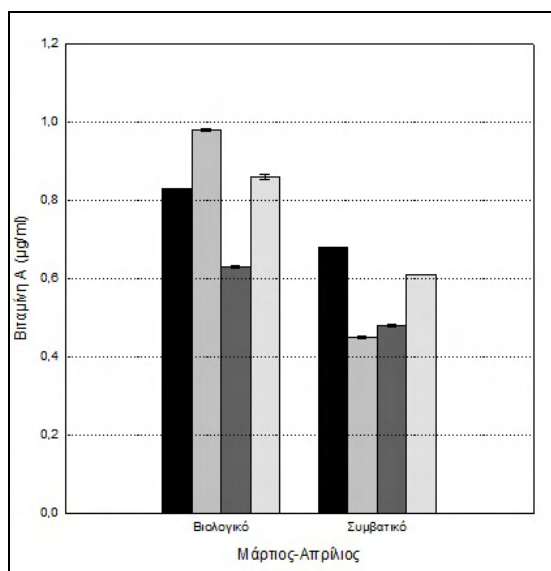


Σχήμα 12 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης E, σε βιολογικές και συμβατικές μονάδες παραγωγής κατά την περίοδο του Χειμώνα, Μάρτιος-Απρίλιος και Μάιος-Ιούνιος

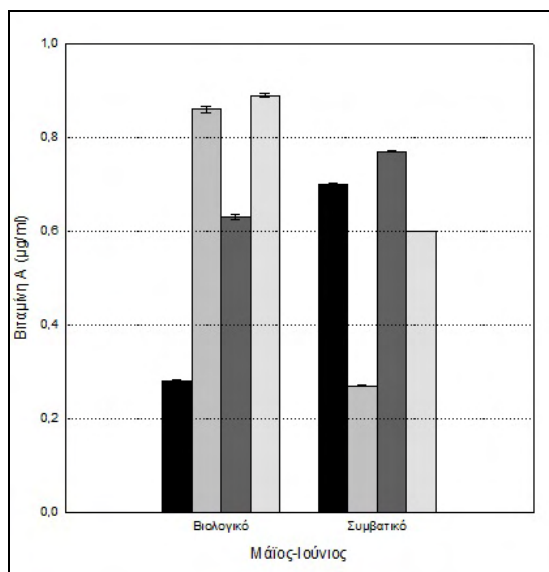
Κατά την εξέταση της επίπτωσης του τρόπου παραγωγής (Βιολογικό/Συμβατικό) στις διακεκριμένες περιόδους δειγματοληψίας, επί του περιεχομένου των βιταμινών (Α, Ε) καταδεικνύουν την στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P = 0.05$) για την περίοδο Μάρτιος-Απρίλιος του περιεχόμενου της βιταμίνης Α ανάμεσα στην βιολογική και συμβατική παραγωγή (Σχήμα 14,6.2) με την βιολογική παραγωγή να υπερτερεί έναντι της συμβατικής. Η ανάλογη σύγκριση για τις περιόδους του Χειμώνα (Σχήμα 13,6.2) και Μάιος-Ιούνιος (Σχήμα 15,6.2) δεν παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P = 0.05$).



Σχήμα 13 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Α αίγιου γάλακτος από βιολογικές και συμβατικές παραγωγές κατά την περίοδο του Χειμώνα

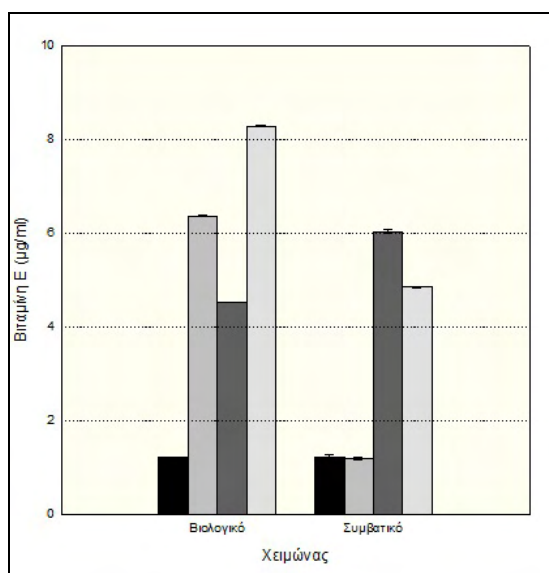


Σχήμα 14 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Α αίγιου γάλακτος από βιολογικές και συμβατικές παραγωγές κατά την περίοδο Μάρτιος-Απρίλιος

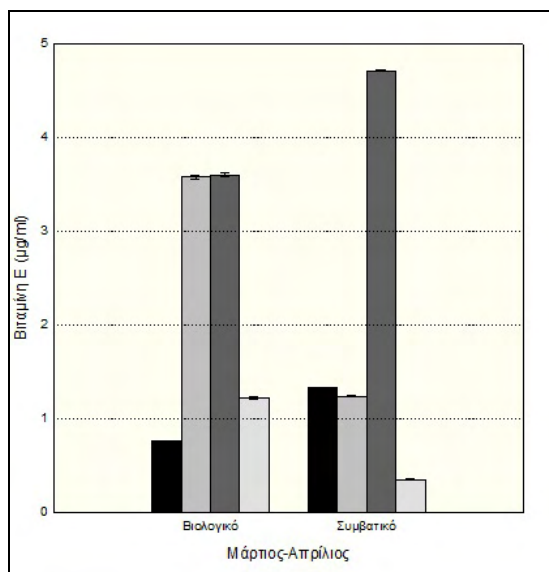


Σχήμα 15 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Α αίγειου γάλακτος από βιολογικές και συμβατικές παραγωγές κατά την περίοδο Μάιος -Ιούνιος

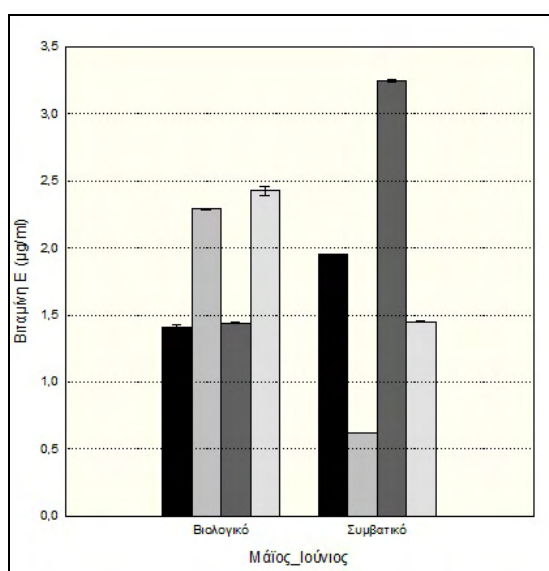
Ο προσδιορισμός του βαθμού επίπτωσης της παραγωγής (Βιολογικό/Συμβατικό), στις διακεκριμένες περιόδους δειγματοληψίας, επί του περιεχομένου της βιταμίνη Ε, καταδεικνύουν την στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0.05$) για την περίοδο Μάρτιος-Απρίλιος ανάμεσα στην βιολογική και συμβατική παραγωγή (Σχήμα 17,6.2). Η ανάλογη σύγκριση για τις περιόδους του Χειμώνα (Σχήμα 16,6.2) και Μάιος-Ιούνιος (Σχήμα 18,6.2) δεν παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές αποκλίσεις ($P > 0.05$).



Σχήμα 16 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Ε αίγειου γάλακτος από βιολογικές και συμβατικές παραγωγές κατά την περίοδο Χειμώνας



Σχήμα 17 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης E αίγειου γάλακτος από βιολογικές και συμβατικές παραγωγές κατά την περίοδο Μάρτιος-Απρίλιος

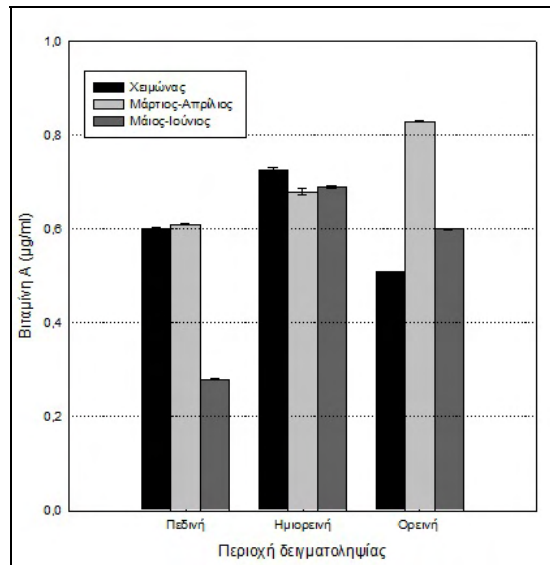


Σχήμα 18 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης E αίγειου γάλακτος από βιολογικές και συμβατικές παραγωγές κατά την περίοδο Μάιος –Ιούνιος

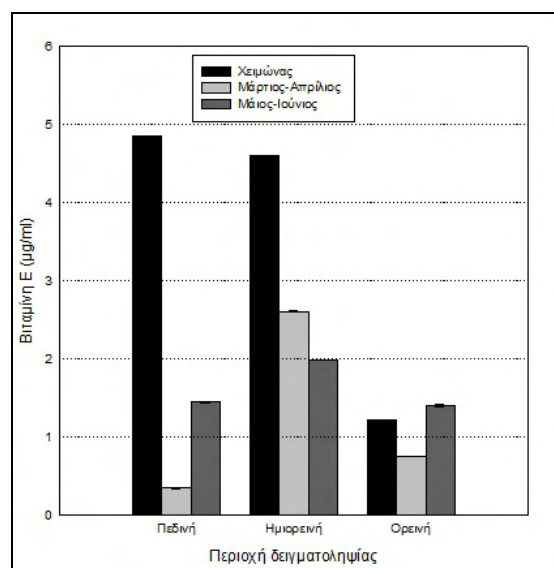
Ως συμπέρασμα των παραπάνω αποτελεσμάτων αναφέρεται πως και στις περιπτώσεις όπου δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές, το μέσο βιταμινικό περιεχόμενο (A, E) των δειγμάτων αίγειου γάλακτος από βιολογικές παραγωγές είναι υψηλότερο έναντι των αντίστοιχων συμβατικής παραγωγής, γεγονός που επιβεβαιώνεται και από τον Ρορονίς και τους συνεργάτες (2011).

Επιπλέον των μέχρι τώρα συγκρίσεων των παραγόντων επίπτωσης επί του περιεχομένου των λιπόφιλων βιταμινών (A, E), αξίζει να σημειωθεί πως μελετήθηκε η επίπτωση του παράγοντα της γεωγραφίας της περιοχής παραγωγής γάλακτος επί του περιεχομένου των βιταμινών. Συγκεκριμένα οι περιοχές συλλογής διαχωρίστηκαν σε τρεις κατηγορίες, βάσει υψομέτρου, πεδινές, ημιορεινές και ορεινές. Όπως καταδεικνύεται (Σχήμα 19,6.2, Σχήμα 20,6.2) η γεωγραφία της περιοχής ασκεί σημαντική επίπτωση επί του

περιεχομένου των βιταμινών του αίγειου γάλακτος καθώς το μέσο περιεχόμενο τόσο της βιταμίνης A, όσο και της βιταμίνης E, είναι υψηλότερο στις ημιορεινές περιοχές σε σχέση με τις πεδινές και τις ορεινές.



Σχήμα 19 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης A αίγειου γάλακτος από πεδινές, ημιορεινές και ορεινές περιοχές παραγωγής κατά τις περιόδους Χειμώνα, Μάρτιος-Απρίλιος και Μάιος-Ιούνιος



Σχήμα 20 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης E αίγειου γάλακτος από πεδινές, ημιορεινές και ορεινές περιοχές παραγωγής κατά τις περιόδους Χειμώνα, Μάρτιος-Απρίλιος και Μάιος-Ιούνιος

6.2.2 Πρόβειο γάλα

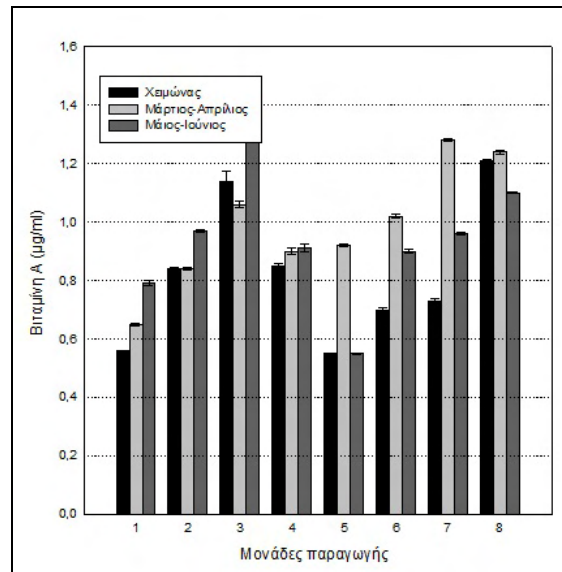
Τα αποτελέσματα του ποσοτικού προσδιορισμού των λιπόφιλων βιταμινών στο πρόβειο γάλα παρουσιάζονται στον πίνακα 10,6.2.

Πίνακας 10 6.2: Περιεχόμενο λιποδιαλυτών βιταμινών (Α, Ε) από βιολογικές και συμβατικές παραγωγές πρόβειου γάλακτος, κατά την περίοδο του χειμώνα (1η), την περίοδο Μαρτίου-Απριλίου (2η) και Μαΐου-Ιουνίου (3η)

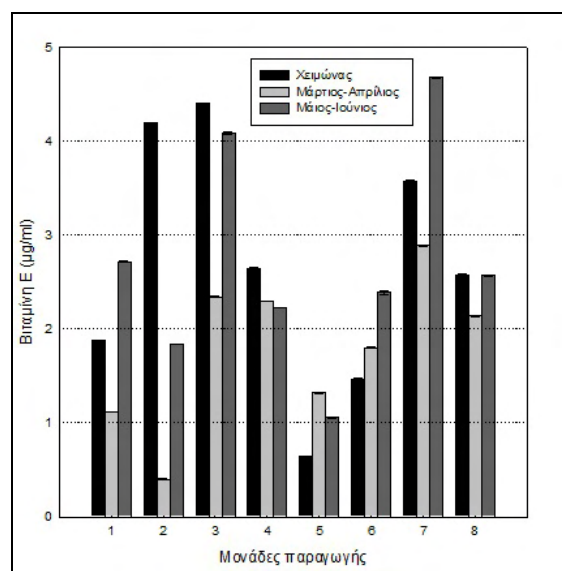
Εκτροφή	Περίοδος	Παραγωγή	Περιοχή	α- τοκοφερόλη (μg/ml)	Ρετινόλη (μg/ml)	Βιταμίνη D (ng/ml)
1	1η	Βιολογικό	Λάρισα	1,88±0,005	0,56±0,001	ND
	2η			1,12±0,003	0,65±0,003	ND
	3η			2,72±0,004	0,79±0,009	ND
2	1η	Βιολογικό	Λάρισα	4,20±0,004	0,84±0,006	ND
	2η			0,40±0,003	0,84±0,006	ND
	3η			1,84±0,005	0,97±0,005	ND
3	1η	Βιολογικό	Λάρισα	4,41±0,002	1,14±0,036	ND
	2η			2,34±0,007	1,06±0,010	ND
	3η			4,09±0,013	1,36±0,003	ND
4	1η	Βιολογικό	Μαγνησία	2,64±0,014	0,85±0,010	ND
	2η			2,30±0,005	0,90±0,010	ND
	3η			2,23±0,002	0,91±0,013	ND
5	1η	Συμβατικό	Μαγνησία	0,64±0,001	0,55±0,002	ND
	2η			1,32±0,004	0,92±0,006	ND
	3η			1,06±0,005	0,55±0,001	ND
6	1η	Συμβατικό	Λάρισα	1,47±0,008	0,70±0,005	ND
	2η			1,80±0,008	1,02±0,006	ND
	3η			2,39±0,020	0,90±0,008	ND
7	1η	Συμβατικό	Λάρισα	3,58±0,005	0,73±0,008	ND
	2η			2,89±0,006	1,28±0,005	ND
	3η			4,68±0,011	0,96±0,004	ND
8	1η	Συμβατικό	Μαγνησία	2,58±0,012	1,21±0,004	ND
	2η			2,14±0,007	1,24±0,006	ND
	3η			2,57±0,007	1,10±0,002	ND

Το περιεχόμενο των βιταμινών Α και Ε του πρόβειου γάλακτος, από βιολογικές και συμβατικές μονάδες παραγωγής γάλακτος παρουσιάζεται στον Πίνακα 10,6.2. Η εκτίμηση της επίπτωσης της εποχικότητας επί του περιεχομένου της βιταμίνης Α (Σχήμα 21,6.2) και της βιταμίνης Ε (Σχήμα 22,6.2), ανεξαρτήτως της παραγωγής (Βιολογικό/Συμβατικό) δεν χαρακτηρίζεται στατιστικά σημαντική ($P > 0.1$), όπως δείχθηκε και από την Kondyli και τους συνεργάτες (2012). Όπως εκτιμήθηκε και στα αντίστοιχα δεδομένα του αίγιου γάλακτος, το μέσο περιεχόμενο της βιταμίνης Α,

πρόβειου γάλακτος, είναι υψηλότερο την περίοδο Μάρτιος-Απρίλιος έναντι της περιόδου του Χειμώνα γεγονός που αποδεικνύεται και από τους Morand-Fehr και τους συνεργάτες (2007) και Ellis και τους συνεργάτες (2007). Όσον αφορά το μέσο περιεχόμενο της βιταμίνης E, προσδιορίστηκε πως στα δείγματα πρόβειου γάλακτος είναι υψηλότερο την περίοδο του χειμώνα έναντι των δύο άλλων περιόδων, γεγονός που μπορεί να αποδοθεί στην χορήγηση σιτηρεσίου πλούσιου σε βιταμίνη E, που επισημάνθηκε και από τους Fall & Emanuelson (2011) όπου κατά την περίοδο της σταβλισμένης διαβίωσης (Χειμώνα) το περιεχόμενο της είναι υψηλότερο σε σχέση με της περίοδο των θερινών μηνών.

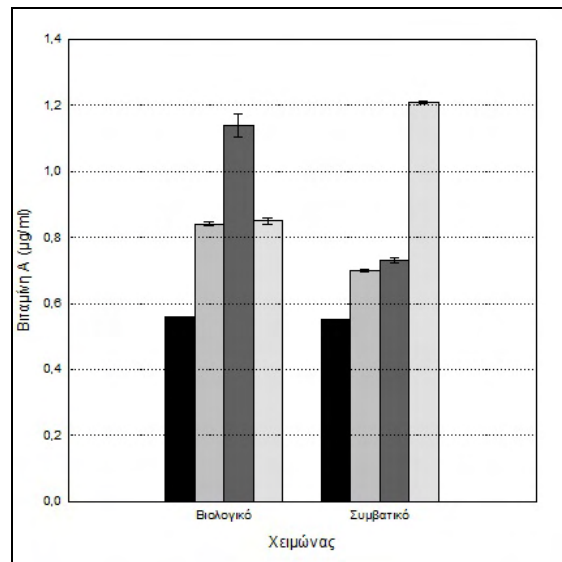


Σχήμα 21 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης A, σε βιολογικές και συμβατικές μονάδες παραγωγής κατά την περίοδο του Χειμώνα, Μάρτιος-Απρίλιος και Μάιος-Ιούνιος

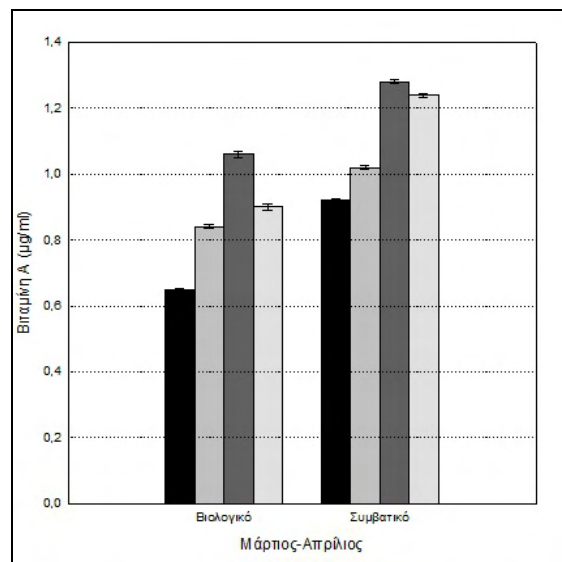


Σχήμα 22 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης E, σε βιολογικές και συμβατικές μονάδες παραγωγής κατά την περίοδο του Χειμώνα, Μάρτιος-Απρίλιος και Μάιος-Ιούνιος

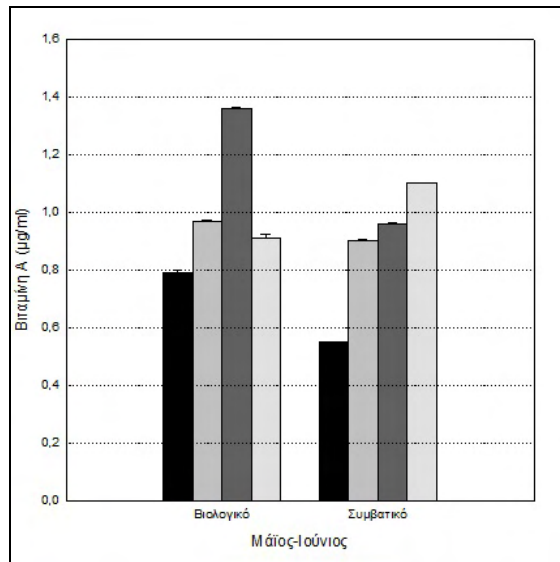
Η εκτίμηση της επίπτωσης της παραγωγής (Βιολογικό/Συμβατικό), στις διακεκριμένες περιόδους δειγματοληψίας, επί του περιεχομένου των βιταμινών (Α, Ε) καταδεικνύουν την στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0.05$) για την περίοδο Μάρτιος-Απρίλιος του περιεχομένου της βιταμίνης Α ανάμεσα στην βιολογική και συμβατική παραγωγή (Σχήμα 24,6.2), όπου η συμβατική υπερτερεί έναντι της βιολογικής, όπως αποδείχθηκε και από την Ellis και τους συνεργάτες (2007). Η ανάλογη σύγκριση για τις περιόδους του Χειμώνα (Σχήμα 23,6.2) και Μάιος-Ιούνιος (Σχήμα 25,6.2) δεν παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές αποκλίσεις ($P > 0.05$).



Σχήμα 23 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Α πρόβειου γάλακτος από βιολογικές και συμβατικές παραγωγές κατά την περίοδο Χειμώνας

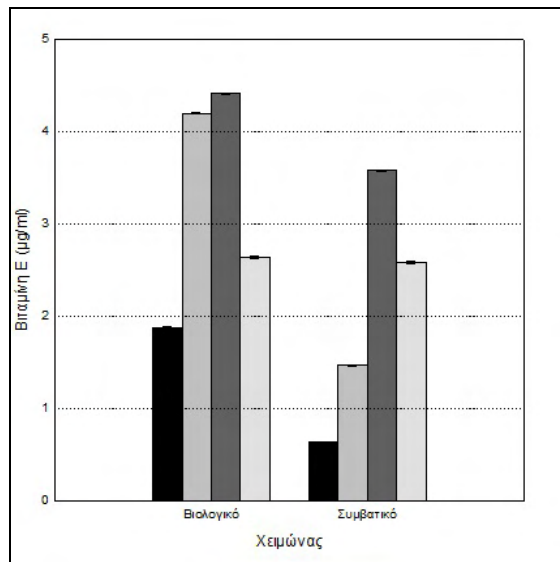


Σχήμα 24 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Α πρόβειου γάλακτος από βιολογικές και συμβατικές παραγωγές κατά την περίοδο Μάρτιος-Απρίλιος

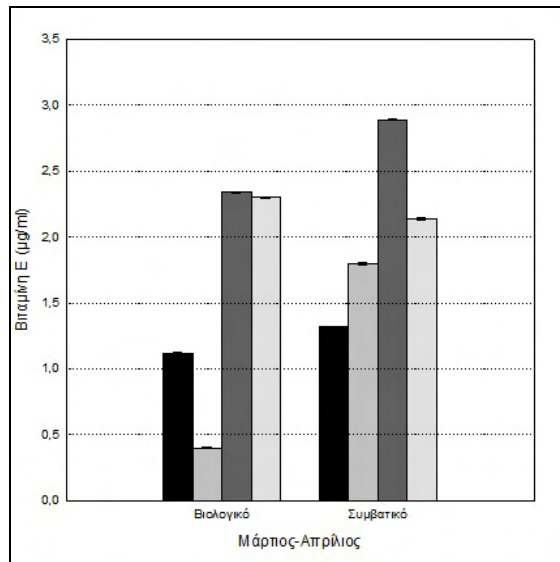


Σχήμα 25 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Α πρόβειου γάλακτος από βιολογικές και συμβατικές παραγωγές κατά την περίοδο Μάιος-Ιούνιος

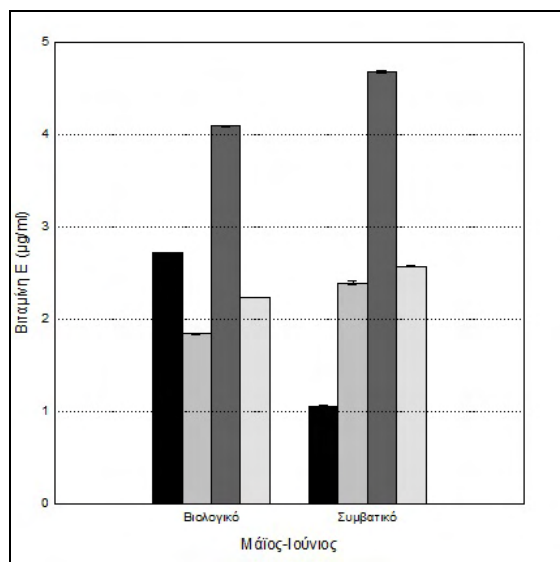
Ο προσδιορισμός του βαθμού επίπτωσης της παραγωγής (Βιολογικό/Συμβατικό) στις διακεκριμένες περιόδους δειγματοληψίας, επί του περιεχομένου της βιταμίνη E, καταδεικνύουν την στατιστικώς σημαντική διαφορά ($P < 0.05$) για την περίοδο Μάρτιος-Απρίλιος ανάμεσα στην βιολογική και συμβατική παραγωγή (Σχήμα 27,6.2) εν αντιθέσει με τα συμπεράσματα της Ellis και τους συνεργάτες (2007) όπου δεν παρατηρήθηκαν αξιοσημείωτες διαφορές. Η ανάλογη σύγκριση για τις περιόδους του Χειμώνα (Σχήμα 26,6.2) και Μάιος-Ιούνιος (Σχήμα 28,6.2) δεν παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές αποκλίσεις ($P > 0.05$).



Σχήμα 26 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης E πρόβειου γάλακτος από βιολογικές και συμβατικές παραγωγές κατά την περίοδο Χειμώνας

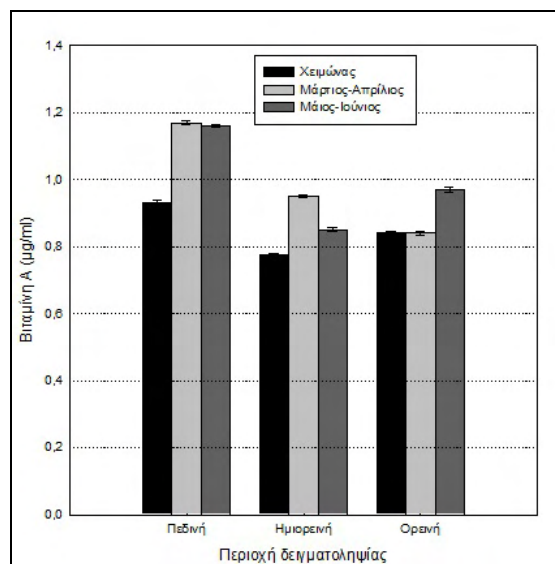


Σχήμα 27 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης E πρόβειου γάλακτος από βιολογικές και συμβατικές παραγωγές κατά την περίοδο Μάρτιος-Απρίλιος

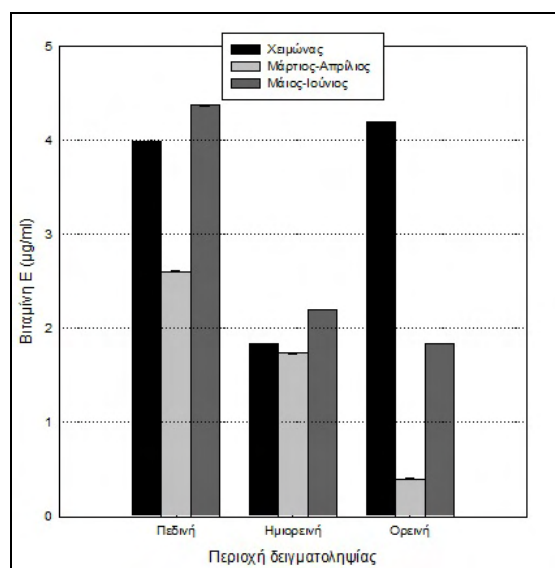


Σχήμα 28 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης E πρόβειου γάλακτος από βιολογικές και συμβατικές παραγωγές κατά την περίοδο Μάιος-Ιούνιος

Αντίστοιχη μελέτη, όπως και στα δείγματα αίγιου γάλακτος, για την εκτίμηση της επίπτωσης της γεωγραφίας της περιοχής παραγωγής γάλακτος επί του περιεχομένου των λιπόφιλων βιταμινών (A, E) σε δείγματα πρόβειου γάλακτος, κατέδειξαν (Σχήμα 29,6.2 και Σχήμα 30,6.2) πως η γεωγραφία της περιοχής, ασκεί σημαντική επίπτωση επί του περιεχομένου των βιταμινών του πρόβειου γάλακτος, καθώς το μέσο περιεχόμενο τόσο της βιταμίνης A όσο και της βιταμίνης E είναι υψηλότερο στις πεδινές περιοχές σε σχέση με τις ημιορεινές και τις ορεινές.



Σχήμα 29 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Α πρόβειου γάλακτος από πεδινές, ημιορεινές και ορεινές περιοχές παραγωγής κατά τις περιόδους Χειμώνα, Μάρτιος-Απρίλιος και Μάιος-Ιούνιος



Σχήμα 30 6.2: Περιεχόμενο βιταμίνης Ε πρόβειου γάλακτος από πεδινές, ημιορεινές και ορεινές περιοχές παραγωγής κατά τις περιόδους Χειμώνα, Μάρτιος-Απρίλιος και Μάιος-Ιούνιος

Κεφάλαιο 8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Με την ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας εξάγονται τα κάτωθι συμπεράσματα:

Όσον αφορά τα δείγματα αίγιου γάλακτος μπορούμε να επισημάνουμε πως το μέσο περιεχόμενο της βιταμίνης Α, είναι υψηλότερο την περίοδο Μάρτιος-Απρίλιος ενώ η βιταμίνη Ε, παρουσιάζει υψηλότερο μέσο περιεχόμενο την περίοδο του χειμώνα.

Τα δείγματα γάλακτος που προέρχονταν από βιολογικές παραγωγές, εμφάνισαν το υψηλότερο μέσο περιεχόμενο καθ' όλη την γαλακτική περίοδο έναντι των αντιστοίχων δειγμάτων από συμβατικές παραγωγές αίγιου γάλακτος.

Επιπλέον εκτιμήθηκε πως η γεωγραφία της περιοχής παραγωγής γάλακτος ασκεί επίπτωση στο βιταμινικό περιεχόμενο, με την βιταμίνη Α και την βιταμίνη Ε, να παρουσιάζουν το υψηλότερο περιεχόμενο τους σε δείγματα αίγιου γάλακτος που προέρχονταν από ημιορεινές περιοχές.

Σχετικά με τα δείγματα πρόβειου γάλακτος μπορούν να επισημανθεί πως το μέσο περιεχόμενο της βιταμίνης Α, πρόβειου γάλακτος, είναι υψηλότερο την περίοδο Μάρτιος-Απρίλιος ενώ η βιταμίνη Ε, εμφάνισε υψηλότερο μέσο περιεχόμενο την περίοδο του χειμώνα.

Η σύγκριση μεταξύ βιολογικών δειγμάτων γάλακτος με τα αντίστοιχα από συμβατικές παραγωγές κατέδειξε την υπεροχή του περιεχομένου της βιταμίνης Α και της βιταμίνης Ε, την περίοδο Μάρτιος-Απρίλιος, στα συμβατικά δείγματα.

Επιπλέον το μέσο περιεχόμενο τόσο της βιταμίνης Α όσο και της βιταμίνης Ε είναι υψηλότερο στις πεδινές περιοχές σε σχέση με τις ημιορεινές και τις ορεινές.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ελληνική

- **Vander, A. S. J., Luciano, D., & Tsakopoulos, M.** *Φυσιολογία του ανθρώπου*, Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδης, 2001, Αθήνα.
- **Ανυφαντάκης, Ε., Καλαντζόπουλος, Γ.** *Γαλακτοκομία*, Εκδόσεις Σταμούλης, 1993, Αθήνα.
- **Δεληγιαννάκης, Ι., Χέλα, Δ., Κωνσταντίνου, Ι.** *Ενόργανη Περιβαλλοντική Ανάλυση*. Εκδόσεις Τζιόλα, 2010, Αθήνα.
- **Ζερφυρίδης Γ.Κ.** *Διατροφή του ανθρώπου*, Εκδόσεις Παχούδη, 1998 Θεσσαλονίκη.
- **Κράσσο, Δ., Σκούφος, Ι., Βόιδαρου, Χ., Αναστασίου, Ι., Τσόλκας, Φ., Τζώρα, Α., Μάργαρης, Ν.** *Η βιολογική κτηνοτροφία και το προφίλ των κτηνοτρόφων βιολογικών εκτροφών*, 2ο Διεθνές Συνέδριο Βιολογικής Κτηνοτροφίας «Βιολογική κτηνοτροφία και Βιώσιμη Ανάπτυξη της Υπαίθρου». 2005. Αγρίνιο, 28- 29 Μαΐου.
- **Συντώσης, Α., Σκενδέρη, Κ., Κούτσαρη, Χ.** *Διατροφή και Μεταβολισμός*, Σημειώσεις Μαθήματος, 2001, Αθήνα.
- **Χίου, Α.** *Μέταλλα, Βιταμίνες και Διατροφή*. Σημειώσεις Μαθήματος, 2001, Αθήνα.

Ξένα

- **Bergamo, P., Fedele, E., Iannibeli, L., Marzillo, G.** «*Fat-soluble vitamins contents and fatty acid composition in organic and conventional Italian dairy products*». **Food Chemistry**, 82, 2003, 625-631.
- **Bsichoff-Ferrari, H. A., Giobannucci, E., Willett, W. C., Dietrich, T., Dawson-Hughes, B.** «*Estimation of optimal serum concentration of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes*». **American Journal of Clinical Nutrition**, 84, 2006, 18-28.
- **Butler, G., Nielsen, J. H., Slots, T., Seal, C., Eyre, M. D., Sanderson, R., Leifert C.** «*Fatty acid and fat-soluble antioxidant concentrations in milk from high- and low-input conventional and organic systems: seasonal variation*». **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 88, 2008, 1431-1441.
- **Byrdwell, C.W.** «*Comparison of Analysis of Vitamin D3 in Foods Using Ultraviolet and Mass Spectrometric Detection*». **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 57, 2009, 2135-2146.
- **Cashman, K. D.** «*Vitamin D in childhood and adolescence*». **Postgraduate Medical Journal**, 83, 2007, 230-235.
- **Colombo, M. L.** «*An Update on Vitamin E, Tocopherol and Tocotrienol-Perspectives*». **Molecules**, 15, 2010, 2103-2113.
- **Ellis, A. K., Monteiro, A., Innocent, T. G., Grove-White, D., Cripps, P., McLean, W. G., Howard, C. V., Mihm, M.** «*Investigation of the vitamins A and E and β- carotene content in milk from UK organic and conventional dairy farms*». **Journal of Dairy Research**, 74, 2007, 484-491.

- Emanuelson, U., Fall, N. *Vitamins and selenium in bulk tank milk of organic and conventional dairy farms*. EAAP, 2007, Dublin, Ireland.
- **FAO/WHO Report.** «*Human Vitamin and Mineral Requirements*»: Chapter 9. Vitamin E.
- Furr, H. C. «*Analysis of retinoids and carotenoids: problems resolved and unsolved*». **Journal of Nutrition**. 134, 2004, 281-285.
- Gentili, A., Caretti, F., Bellante, S., Ventura, S., Canepari, S., Curini, R. «*Comprehensive Profiling of Carotenoids and Fat-Soluble Vitamins in Milk from Different Animal Species by LC-DAD-MS/MS Hyphenation*». **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2012, Publication Date (Web):September 27, 2012.
- Gerster, H. «*Vitamin A – Functions, Dietary Requirements and safety in Humans*». **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, 67, 1997, 71-90.
- Green, M. H., and Green, J. B. «*Contributions of mathematical modeling to understanding whole-body vitamin A metabolism and to the assessment of vitamin A status*». **Sight Life Newsletter**, 2, 2005a, 4-10.
- Harrison, E. H., Hussain, M. M. «*Mechanisms involved in the intestinal digestion and absorption of dietary vitamin A*». **Journal of Nutrition**, 131, 2001,1405-1408.
- Holick, M.F. «*Evolution and function of vitamin D*». **Recent Results Cancer Res**, 164, 2003, 3-28.
- Holick, M.F. «*Vitamin D deficiency*». **New England Journal of Medicine**, 357, 2007, 266-281.
- Jialal, I., Traber, M. G. «*Studies of LDL oxidation following alpha-, gamma-, or deltatocotrienyl acetate supplementation of hypercholesterolemic humans*». **Free Radical Biology & Medicine**, 29, 2000, 834-845.
- Jiang, Q., Christen, S., Shigenaga, M. K., Ames, B. N. «*γ- Tocopherol, the major form of vitamin E in the US diet, deserves more attention*». **American Journal of Clinical Nutrition**, 74, 2001, 714-722.
- Kondyli, E., Katsiari, M., Voutsinas, L. «*Variations of vitamin and mineral contents in raw goat milk of the indigenous Greek breed during lactation*». **Food Chemistry**, 100, 2007, 226-230.
- Kondyli, E., Svarnas, C., Samelis, J., Katsiari, M.C. «*Chemical composition and microbiological quality of ewe and goat milk of native Greek breeds*». **Small Ruminant Research**, 103, 2012, 194-199.
- Krall, E. F., Sahyoun, N., Tannenbaum, S., Dallal, G. E., Dawson-Hughes, B. «*Effect of vitamin D intake on seasonal variations in parathyroid secretion in postmenopausal women*». **New England Journal of Medicine**, 321, 1989, 1777-1783.
- Lalas, S., Athanasiadis, V., Gortzi, O., Bounitsi, M., Giovanoudis, I., Tsaknis, J., Bogiatzis, P. «*Enrichment of table olives with polyphenols extracted from olive leaves*». **Food Chemistry**, 127, 2011, 1521-1525.
- Lee, P. «*Vitamin D metabolism and deficiency in critical illness*». **Best Practice & Research: Clinical Endocrinology & Metabolism**, 25, 2011, 769-781.
- Lindmark-Mansson, H., Akesson, B. «*Antioxidative factors in milk*». **British Journal of Nutrition**, 84, 1, 2000, 103-110.
- Litwack, G. *Vitamin E*. Elsevier, 2007, Volume 76 (Vitamins and Hormones).
- McDowell, L. R. *Vitamins in animal and human nutrition*, Iowa State University Press, 2000, South State Avenue, Ames, Iowa.

- McDowell, L. R., Williams, S. N., Hidirolou, N., Njeru, C. A., Hill, G. M., Ochoa, L., & Wilkinson, N. S. «Vitamin E supplementation for the ruminant». **Animal Feed Science and Technology**, 60, 1996, 273-296.
- McLaren, D.S. *In Vitamin A Deficiency and Its Control*, Academic Press, 1986, Orlando, Florida.
- Mendoza, B.R., Morena, S.P., Castellote, A.I.B., Lopez-Sabater, M.C. «Rapid determination by reserved-phase high-performance liquid chromatography of Vitamins A and E in infant formulas». **Journal of C**
- Meydani, M. «Vitamin E and prevention of heart disease in high-risk patients». **Nutrition Reviews**, 8, 2000, 278-281.
- Miyagi, M., Yokoyama, H., Shiraishi, H., Matsumoto, M., Ishii, H. «Simultaneous quantification of retinol, retinal, and retinoic acid isomers by high performance liquid chromatography with a sample gradation». **Journal of Chromatography B**, 757, 2001, 365-368.
- Morand-Fehr, P., Fedele, V., Decandia, M., Frileux, Y. «Influence of farming and feeding systems on composition and quality of goat and sheep milk». **Small Ruminant Research**, 68, 2007, 20-34.
- Munnè-Bosch, S., Alegre, L. «The function of tocopherols and tocotrienols in plants». **Critical Reviews in Plant Sciences**, 21, 2002, 31-57.
- Nicholas, P. K., Padel, S., Cuttle, S. P., Fowler, S. M., Hovi, M., Lampkin, N. H., Weller, R. F. «Organic dairy production: a review». **Biological Agriculture & Horticulture**, 22, 2004, 217-249.
- Paixao, J. A., Campos, J. M. «Determination of Fat Soluble Vitamins by Reversed-Phase HPLC Coupled with UV Detection: A Guide to the Explanation of Intrinsic Variability». **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, 26, 2003, 641-663.
- Palmquist, D. L., Stelwagen, K., Robinson, P. H. «Modifying milk composition to increase use of dairy products in healthy diets». **Animal Feed Science and Technology**, 131, 2006, 149-153.
- Park, Y. W., Juarez, M., Ramos, M., Haenlein, G. F. W. «Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk». **Small Ruminant Research**, 68, 2007, 88-113.
- Park, Y.W., Haenlein, G.F.W. *Goat milk, its products and nutrition*, In: Hui, Y.H. (Ed.), *Handbook of Food Products Manufacturing*. John Wiley, 2006, New York, NY
- Parker, R.S. «Absorption, metabolism, and transport of carotenoids». **FASEB Journal**, 10, 1996, 542-551.
- Parodi, P. W. «Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat». **Journal of Dairy Science**, 82, 1999, 1339-1349.
- Paterson, P. G., Gore&I, D. R. J., Card, R. T. «Vitamin E deficiency and deformability in the rat». **Journal of Nutritional Biochemistry**, 5, 1994, 298-302.
- Perales, S., Alegria, A., Barbera, R., Farre, R. «Review: Determination of Vitamin D in Dairy Products by High Performance Liquid Chromatography». **Food Science and Technology International**, 11, 2005, 451-462.
- Popovic, V. A., Savic, M., Pejanovic, R., Jovanovic, S., krajnovic, G. «The effect of organic milk production on certain milk quality parameters». **Acta Vetinaria**, 61, 2011, 415-421.

- **Quist, M. A., Blanc, S. J., Hand, K. J., Lazenby, D., Miglior, F., Kelton, D. F.** «Milking to milking variability for milk yield, fat and protein percentage, and somatic cell count». **Journal of Dairy Science**, 91 (9), 2008, 3412-3423.
- **Raynal-Ljutovac, K., Lagriffoul, G., Paccard, P., Guillet, I., Chilliard, Y.** «Composition of goat and sheep milk products: An update». **Small Ruminant Research**, 79, 2008, 57-72.
- **Reichel, H., Koeffler, H. P., Norman, A. W.** «The role of vitamin D endocrine system in health and disease». **New England Journal of Medicine**, 320, 1989, 981-991.
- **Sander, L. C., Sharpless, K. E., Craft, N. E., Wise, S. A.** «Development of engineered stationary phases for the separation of carotenoid isomers». **Analytical Chemistry**, 66, 1994, 1667-1674.
- **Sastre, J., Pallardo, F. V., Garcia de la Asuncion, J. & Vina, J.** «Mitochondria, oxidative stress and aging». **Free Radical Research**, 32, 2000, 189-198.
- **Song, W. O., Beecher, G. R., Eitenmiller, R. R.** *Modern Analytical Methodologies in Fat- and Water-Soluble Vitamins*, John Wiley & Sons, 2000, New York.
- **Strobel, M., Heinrich, F., Biesalski, H.K.** «Improved method for rapid determination of vitamin A in small samples of breast milk by high-performance liquid chromatography». **Journal of Chromatography A**, 898, 2000, 179-183.
- **Thakur, M. & Srivastava, U.** «Vitamin-E metabolism and its application». **Nutrition Research**, 10, 1996, 1767-1809.
- **Traber, M. G., Sies, H.** «Vitamin E in humans: demand and delivery». **Annual Review of Nutrition**, 16, 1996, 321-347.
- **Van Poppel, G.** «Carotenoids and cancer: an update with emphasis on human intervention studies». **European Journal of Cancer**, 29, 1993, 1335-1344.
- **Weiss, D., Hilger, M., Meyer, H. H. D., Bruckmaier, R.** «Variable milking intervals and milk composition». **Milchwissenschaft**, 57, 2002, 246-249.

Διαδίκτυο

- **Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων**, <http://www.minagric.gr>, Ημερομηνία πρόσβασης 10/1/2013.