

## TECHNOLOGINIŲ VEIKSNIŲ ĮTAKA CHLORAMFENIKOLIO KIEKIO KAITAI GAMINANT PIENO PRODUKTUS

Sigita Urbienė<sup>1</sup>, Saulius Savickis<sup>2</sup>, Aušra Steponavičienė<sup>2</sup>, Marijus Stančikas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>LŽŪ universitetas, tel. 8 37 75 22 07; el. paštas: sigita.urbienė@lzuu.lt

<sup>2</sup>VĮ „Pieno tyrimai“, tel. 8 37 36 11 81

**Santrauka.** Lietuvoje daug dėmesio skiriama antibiotiko chloramfenikolio likučiams superkamame piene aptikti. Kadangi tai vienas iš stipriausių plataus veikimo spektro antibiotikų, labai svarbu, kad per pieno produktus jis nepatektų į žmogaus organizmą.

Buvo iširta, ar chloramfenikolio koncentraciją gaminant pieno produktus gali pakeisti (sumažinti) įvairūs technologiniai veiksniai. Paaiškėjo, kad pasterizavimo temperatūra nuo 63 iki 90 °C chloramfenikolio kiekiui neturėjo įtakos. Jo koncentracija prieš ir po apdoravimo nepakito. Pieno mėginių su chloramfenikoliu laikymas 92°C temperatūroje iki 15 min. taip pat nedarė įtakos jo koncentracijai. Pieno laikymas atšaldžius mėginius 8°C temperatūroje iki 50 val. įtakos chloramfenikolio kiekiui nedarė. Struktūriniai pieno koloidinės sistemos pokyčiai pieno mėginius užšaldant (-20°C) ir atšildant (+10°C), kurie iš dalies gali vykti valgomųjų ledų gamybos metu, laikant ar transportuojant pieno mėginius prieš tyrimus, chloramfenikolio koncentracijos taip pat nepakeitė. Rauginant pieno mėginius su chloramfenikoliu, raugais (Jomix 433, Jomix 860, XT 312) bei atskiromis pieno rūgšties bakterijomis (*Str. lactis*, *Str. thermophylus*, *L. acidophylus*) nustatyta, kad jo koncentracija mėginiuose prieš ir po rauginimo buvo nepakitusi.

Nustatyta, kad tirti tiek fizikiniai, cheminiai, tiek ir biocheminiai procesai, vykstantys pieno terminio apdoravimo, rauginimo bei išlaikymo žemose temperatūrose metu, chloramfenikolio kiekio nekeičia.

**Raktažodžiai:** chloramfenikolis, pienas, technologiniai veiksniai, temperatūra, laikymo trukmė, rauginimo procesas.

## THE IMPACT OF TECHNOLOGICAL FACTORS ON THE LEVEL OF THE CHLORAMPHENICOL IN MILK AND MILK PRODUCTS

Sigita Urbienė<sup>1</sup>, Saulius Savickis<sup>2</sup>, Aušra Steponavičienė<sup>2</sup>, Marijus Stančikas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Lithuanian University of Agriculture, Studentų str. 11, LT-53361 Akademija, Kauno distr. Lithuania.

Phone +37037752207; e-mail: sigita.urbienė@lzuu.lt

<sup>2</sup>Public Enterprise „Pieno tyrimai“, Radvilų dvaro str. 31 LT-48331, Kaunas, Lithuania

**Summary.** Chlaramphenicol (CAP) is a broad-spectrum antibiotic previously used in veterinary medicine because of its broad range of activity and its low cost. Because the European Union (including Lithuania) prohibits the use of CAP as a veterinary drug for milk producing animals, great attention is paid for residues detection of CAP in milk and milk products.

The objectives of performed study were to determine the impact of different technological factors, e.g. pasteurization, freezing, boiling, warming and fermentation on the level of CAP in milk and milk products. There were no impact of pasteurization (from 63°C to 90°C), boiling (at 92°C for 15 minutes), cooling (at 8°C for 50 hours), freezing (-20°C) and warming (+10°C) on the level of CAP in milk and milk products. Furthermore, the fermentation of milk with ferments (Jomix 433, Jomix 860, XT 312) or with a single cultures of microorganisms (*Str. lactis*, *Str. thermophylus*, *L. acidophylus*) had no influence on CAP level.

This investigation showed that the different milk technological factors e.g. pasteurization, freezing, boiling, warming and fermentation have no impact on the level of chlaramphenicol (CAP) in milk and milk products.

**Key words:** chlaramphenicol, milk, milk products, technological factors.

**Įvadas.** Visose pasaulio šalyse dėmesys kreipiamas į maisto kokybę, o pastaruoju metu – į maisto saugą, t. y. jo užterštumą įvairiomis žmogaus organizmui kenksmingomis toksinėmis medžiagomis (antibiotikais, hormonais ir kt.). Nuolat atliekami moksliniai tyrimai, kurių tikslas – sumažinti maisto užterštumą, saugdyti toksines medžiagas.

Į maistą kenksmingos medžiagos patenka per augalininkystės ir gyvulininkystės produktus. Gyvulininkystės produktai (mėsa, pienas) užteršiami per pašarus. Dalis nepageidautinų medžiagų (pvz.,

antibiotikai) į gyvulininkystės produktus patenka dviem būdais – siekiant užtikrinti geresnį gyvulių augimą arba juos gydant (Ракитский и др., 1991). Pirmasis būdas susijęs su antibiotikų naudojimu pašaruose profilaktikos tikslais, norint išvengti užkrečiamųjų ligų (Мурох, 1991). Antibiotikus naudojant kaip priedus pašaruose ir taip apsaugant gyvulius nuo patogeninių bakterijų, atsirado galimybė laikyti dideles galvijų bandas ir nerizikuoti masiniu ligų protrūkiu. Žinoma, kad tuo tikslu JAV sunaudojama apie pusę gaminamų antibiotikų (Шевелева и др., 1994).

Antibiotikų naudojimas gyvulininkystėje profilaktikos tikslais sukėlė rimtų problemų. Greitai tapo aišku, kad po tam tikro laiko su pašarais duodamas antibiotikas tampa neveiksmingas. Sukūrus antros ir trečios kartos antibiotikus, ligas sukeliančios bakterijos pakito – tapo antibiotikams atsparios. Matyt, mikroorganizmai atranda unikalių prisitaikymo ir išlikimo būdų (Šimkus, 2004). Išryškėjus bakterijų gebėjimui mutuoti ir jų atsparumui vartojamiems antibiotikams, kyla rimta grėsmė visuomenės sveikatai (Jaskovikienė, 2006), mat antibiotikai per gyvulininkystės produktus neišvengiamai patenka į žmogaus organizmą. Taigi ir nesirgdamas žmogus tampa antibiotikų vartotoju. Ligos atveju žmogų gydant tos pačios grupės antibiotikais, gydymas yra neveiksmingas. Taip atsparių antibiotikams bakterijų sukeltos infekcijos didina žmonių gydymo išlaidas ir mirtinumą (<http://en.wikipedia.org/wiki/Chloramphenicol>).

Kilus problemoms gydant sunkius ligonius, sergančius užkrečiamosiomis ligomis, siekiama, kad vartotojai kuo mažiau antibiotikų gautų su maisto produktais. Nuo 2006 metų ES šalyse uždrausta antibiotikus dėti į pašarus ir lesalus – tokiu keliu antibiotikas nebegali patekti į maisto produktus.

Tačiau iki šiol išlieka antrasis antibiotikų į maisto produktus patekimo būdas, kai gydomi sergantys galvijai – karvės, ypač sergančios mastitu. Gydant karves antibiotikai per pieną ir jo produktus patenka į žmogaus organizmą. Šiuo atveju į vartotojo organizmą patenka jam nereikalingi antibiotikai. Be to, žmogus gali užsikrėsti patogenine mikroflora, kuri, nepaisant galvijų gydymo, yra mutavusi, gyvybinga ir perėjusi į pieną (Zadikov, Ziv, 1989; Nazer, Mohsenzadeh, 1993; Ракитский и др., 1991). Didelį pavojų kelia patogeniniai, antibiotikams atsparūs stafilokokai, ypač *St. aureus*. Jis sukelia nežymų karvių tešmens uždegimą (subklinikinė forma), todėl pienas su stafilokokais gali patekti į gaminamą produktą. Stafilokokai žmogui sukelia sunkias bakterines infekcijas. Tokiems atvejams Rusijoje priklauso apie 31,2 proc. toksikozių (Баймишева и др., 2007).

Nepaisant to, kad antibiotikai daro neigiamą poveikį žmogaus organizmui (priprantama prie antibiotikų, sukelia disbakteriozę, alergiją, toksikozės ir kitos ligos), jie neigiamai veikia ir pieno produktų gamybos technologinius procesus: stabdo pieno rūgšties bakterijų vystymąsi, fermentų veiklą, iškreipia biocheminius raugintų produktų bei fermentinių sūrinių gamybos technologijų procesus (Krasauskaitė, 2001; „Delvotest® Акселератор“ – инновационный тест на антибиотики в молоке. Молочная промышленность. 2007, Шуляк, Коротченко, 2007).

Dėl šių priežasčių Lietuvoje jau nuo 2003 metų ypač sugriežtinta antibiotikų superkamame žaliaviniame piene kontrolė. Radus šių medžiagų, pienas iš to ūkio nesuperkamas 15 dienų. Didelis dėmesys kreipiamas į tyrimo metodus antibiotikams nustatyti. Šiuo metu tyrimai atliekami naudojant jautrias bakterijų kultūras (Valio T – 101, LPT, Delvo SP ir kt. testais) (Japertas, Japertienė, 2003).

Jau keleri metai Lietuvoje sprendžiama vieno

stipriausių antibiotikų – chloramfenikolio – likučių nustatymo piene bei pieno produktuose problema. Chloramfenikolis – plataus poveikio sintetinis antibiotikas. Jis veikia gramteigiamas ir gramneigiamas bakterijas. Kai jo kiekis nedidelis, jis veikia bakteriostatiškai, kai koncentracija didelė – bakteriocidiškai. Kai kiti antibiotikai neveikia, chloramfenikoliu gydomos itin sunkios infekcinės ligos – vidurių šiltinė, smegenų uždegimas, plaučių uždegimas, įvairios pūlinės ligos (pvz., ausų uždegimas).

Šis antibiotikas naudojamas kraštutiniu atveju, nes žmogui yra pavojingas dėl šių neigiamų savybių: yra kancerogeniškas, sutrikdo hemoglobino gamybą, pažeidžia kepenų funkcijas (gali išsivystyti gelta), paveikia nervų sistemą.

Antibiotiką vartojant jaučiamas pykinimas, vidurių pūtimas, sutrinka kvėpavimas. Be to, chloramfenikolis mažina kitų vaistų poveikį (pvz., vaistų nuo diabeto, anemijos, hormoninių kontraceptikų) (<http://gintarine.lt/index.php?fuseaction=catalog.view&cid=54&id=3039&HPSESSID=29571b9633d7db8389fe32fdff79e72>).

Taigi ypač svarbu, kad chloramfenikolis, nesant būtinybei jį vartoti, nepatektų į žmogaus organizmą. Svarbu, kad jo likučių nebūtų maiste, o ypač plataus vartojimo pieno produktuose. Vartojant pieno produktus su chloramfenikolio likučiais atsiranda galimybė išsivystyti šiam antibiotikui atsparioms bakterijoms. Tokių bakterijų sukeltos ligos gydomos itin sunkiai.

Daugelyje ES šalių chloramfenikolis žaliaviniame piene griežtai kontroliuojamas. Jam nustatyti taikomi jautrūs metodai, įgalinantys aptikti itin mažus kiekius, – aukšto slėgio skysčio chromatografijos bei kolorimetriniai (Bayo et al., 1994; Rybinska, Karkocha, 1992; Martens, 1992). Jautresniais metodais chloramfenikolis tiriamas Vokietijoje, Italijoje, Olandijoje. Tyrimai atliekami imunofermeninės analizės metodu, kuriuo piene šio antibiotiko likučių galima aptikti nuo 0,5 µg/kg (Lochbihler et al, 1995; Schneider et al, 1994; Scortichini et al, 2005; Tramontin et al, 1993; Water, Haagsma, 1991; Water, Haagsma, 1990). Dar mažesnius chloramfenikolio kiekius galima aptikti masės spektrofotometru – nuo 0,2 µg/kg (Keukens et al, 1992; Kijak, 1994).

Pagal ES reikalavimus chloramfenikolio pieno produktuose neturi būti. Europos Sąjungoje chloramfenikolį naudoti visiškai uždrausta nuo 1994 metų (E. U. Directive 27. 01. 94; 7 Nov' 94). Nors šis antibiotikas uždraustas, superkamame žaliaviniame piene bei pieno produktuose (fermentiniuose sūriuose, pieno milteliuose) vis dar aptinkama jo likučių.

Kartais šio antibiotiko likučių aptinkama ir mūsų šalies žaliaviniame piene, todėl jo gali būti ir pieno produktuose (fermentiniuose sūriuose, pieno milteliuose).

Manoma, kad pagrindinis taršos šaltinis – vaistai, kurių veiklioji medžiaga yra chloramfenikolis (<http://en.wikipedia.org/wiki/Chloramphenicol>). Kadangi antibiotikas į žaliavinį pieną patenka gydant karves, nuo 1997 m. Lietuvos Respublikos valstybinės veterinarijos tarnybos įsakymu Nr. 4-49, 1997 03 25 „Dėl veterinarinių vaistų, vaistinių medžiagų, preparatų įvežimo tvarkos“ draudžiama įvežti veterinarinius vaistus, kurių sudėtyje

yra chloramfenikolio (levomicetino) veikliosios medžiagos. Lietuvos valstybinės veterinarijos preparatų inspekcijos patikrinimas parodė, kad veterinarijos vaistinėse tokių vaistų nėra, todėl manoma, kad jie įvežami kontrabanda.

Kadangi Lietuva itin daug eksportuoja sausųjų pieno produktų bei fermentinių sūrių, jų kokybės problema dėl chloramfenikolio likučių labai svarbi pieno pramonės įmonėms. Dėl to buvo sugriežtinta chloramfenikolio kontrolė žaliaviniame piene. VĮ „Pieno tyrimai“ kartu su Nacionaline veterinarijos laboratorija bei Valstybine maisto ir veterinarijos tarnyba 2005–2007 m. įgyvendino chloramfenikolio prevencijos piene programą. Pagal ją vaistas buvo tikrinamas kiekvieno ūkininko piene. Tyrimai buvo atliekami dviejose šalies laboratorijose – VĮ „Pieno tyrimai“ ir Nacionalinėje veterinarijos laboratorijoje. Tyrimai atlikti ELISA ir LC/MC–MC metodais (Ramoškaitė 2004; Tepelienė, 2006). Chloramfenikolio kontrolės analizė parodė, kad šio antibiotiko pieno mėginiuose kartais randama, todėl kontrolė tęsiama iki šiol.

Iš pateiktos literatūrinės apžvalgos apie chloramfenikolio įtaką žmogaus organizmui, žmogaus sveikatai bei jo gydymui susirgus sunkiomis infekcinėmis ligomis, matome, kaip svarbu, kad antibiotikas nepatektų į pieno produktus. Taip pat svarbu žinoti, ar yra galimybė jį suardyti produktų gamybos technologinių procesų metu.

Lenkijoje ir JAV atlikti tyrimai rodo, kad kai kurie antibiotikai gali sumažėti pienui sterilizuojant, ultrafiltruojant arba veikiant atitinkamais fermentais. Žinoma, kad apie 60 proc. penicilino, esančio piene, inaktyvuojama laikant 2°C temperatūroje 48 val. (Krasauskaitė, 1991). Taigi matome, kad kai kurie technologiniai veiksniai turi įtakos ardant atskirus antibiotikus.

Apie chloramfenikolio pokyčius pieno produktų gamybos technologinių ir biotechnologinių procesų metu literatūroje duomenų nerasta. Svarbu nustatyti, ar chloramfenikolio likučiai nepakinta pieno laikymo metu, veikiant temperatūrai bei vykstant biocheminiams pieno rauginimo procesams. Taigi šio darbo tikslas – ištirti kai kurių technologinių veiksnių įtaką chloramfenikolio pokyčiams.

**Tyrimo objektas ir metodai.** Tyrimams buvo naudojamas šviežias pienas, gautas iš Lietuvos žemės ūkio universiteto (LŽŪU) bandomojo ūkio karvių fermos.

Į pieno mėginius buvo dedamas chloramfenikolis ir juose nustatoma pradinė antibiotiko koncentracija. Paveiktuose mėginiuose chloramfenikolis vėl buvo nustatomas.

Chloramfenikolio koncentracija piene buvo tiriama VĮ „Pieno tyrimai“ laboratorijoje imunofermenitinės analizės metodu ELISA naudojant „Euro-Diagnostica“ reagentus. Šia metodika pieno mėginiai gali būti tiriami dviem būdais (Cazemier et al., 1996; Maris, Gaudin, 2002):

- pirmuoju – tyrimas atliekamas tiesiogiai iš paruošto lieso pieno. Tuomet mažiausia chloramfenikolio aptikimo riba piene – 0,1 ng/ml;
- antruoju – tyrimas atliekamas paruoštą lieso pieno bei etilo acetato mišinį ekstrahuojant silpna azoto

srove 50°C temperatūroje; taikant šį tyrimo būdą, mažiausia chloramfenikolio aptikimo riba padidėja 10 kartų, t. y. iki 0,01 ng/ml.

Chloramfenikolio koncentracijos kaitos piene tyrimai atlikti antruoju būdu. Chloramfenikolio koncentracijos kaitos piene skaitinė reikšmė nustatyta fotometru „Tecan“, kai bangos ilgis 450 nm.

Tyrimų tikslas buvo nustatyti, kaip technologinių procesų metu gali pakisti chloramfenikolio kiekis. Tuo tikslu Lietuvos žemės ūkio universiteto Žemės ūkio produktų kokybės tyrimų laboratorijoje žalio pieno mėginiai su žinomu chloramfenikolio kiekiu buvo veikiami įvairiais technologiniais veiksniais:

- pieno mėginiai buvo pasterizuojami skirtingoje temperatūroje (63, 72, 80, 85 ir 90°C) bei pasterizuojami 92°C temperatūroje, keičiant išlaikymo trukmę nuo 0 iki 15 min.;
- pieno mėginiai apie 50 val. buvo laikomi 8°C temperatūroje;
- struktūrinės pieno savybės buvo keičiamos mėginus užšaldant (-20°C) ir atšildant (+10°C);
- pieno mėginiai buvo rauginami su raugais (Jomix 860; XT-312; ir Jomix 433), naudojamais grietinės, jogurto, rūgpienio gamyboje, pieno mėginiai buvo rauginami ir su atskirais pieno rūgšties bakterijomis (*Str. lactis*, *Str. thermophilus*, *L. acidophilus*).

Raugai (Jomix 860 XT312 ir Jomix 433) gauti iš Chr. Hansen laboratorijos (Danija), pieno rūgšties bakterijos – iš KTU Maisto instituto Mikrobiologijos laboratorijos.

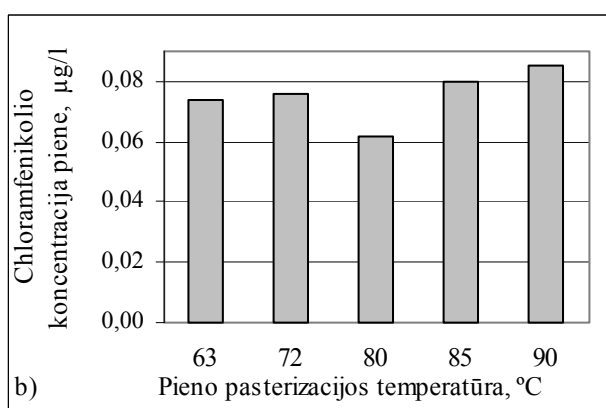
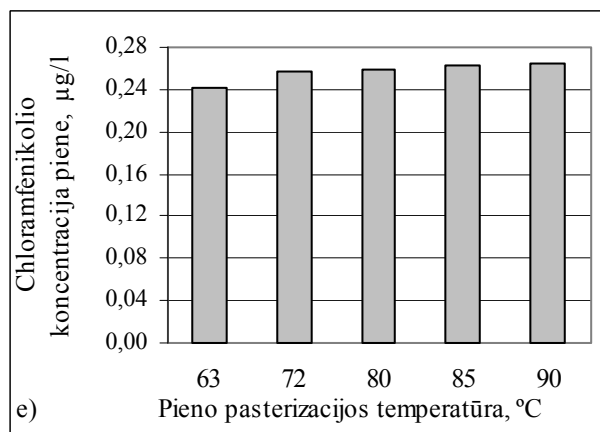
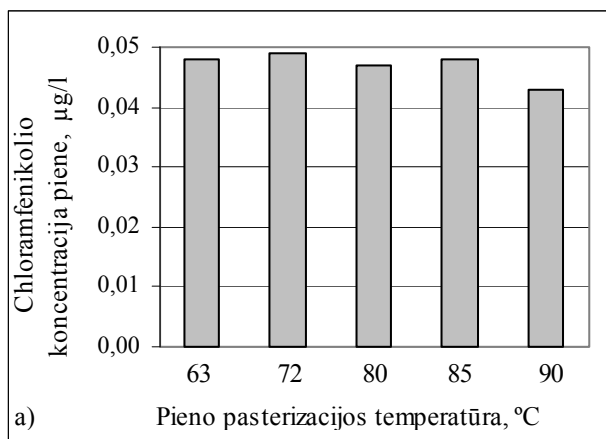
Rauginimo metu buvo vertinama ir chloramfenikolio įtaka pieno rūgšties bakterijų vystymuisi – netiesioginiu būdu nustatomas susidariusios pieno rūgšties kiekis. Pieno rūgšties kiekis buvo nustatytas pagal metodiką (Urbienė, 1999).

Visi bandymai buvo kartoti tris kartus.

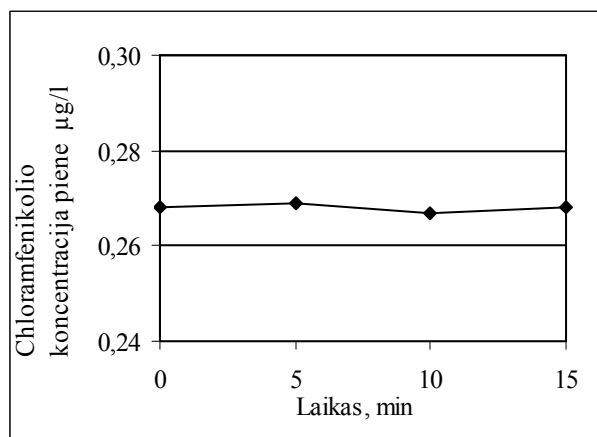
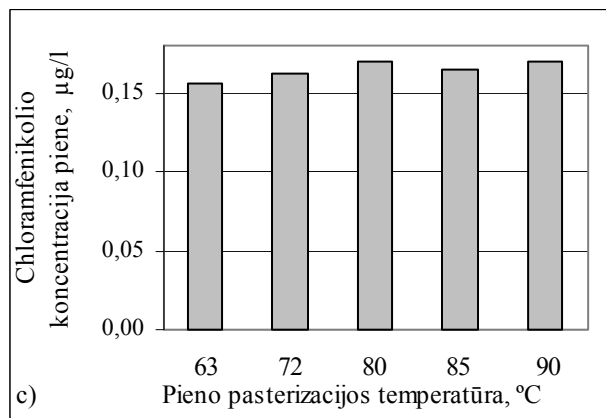
**Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas.** Pirmoje tyrimų dalyje buvo nustatyta vieno iš pagrindinių technologinių veiksnių – pieno pasterizavimo temperatūrų įtaka chloramfenikolio pokyčiams. Kiekvienas pieno mėginys su žinoma chloramfenikolio koncentracija 0,055 µg/l (0,055 ng/ml arba 55 ng/l); 0,070 µg/l (0,070 ng/ml arba 70 ng/l); 0,167 µg/l (0,167 ng/ml arba 167 ng/l); 0,210 µg/l (0,210 ng/ml arba 210 ng/l); 0,267 µg/l (0,267 ng/ml arba 267 ng/l) buvo pasterizuotas skirtingose temperatūrose – 63°C; 72°C; 80°C; 85°C ir 90°C.

Pasterizuoti mėginiai buvo tuoj pat atšaldomi ir nustatoma juose esanti chloramfenikolio koncentracija. Tyrimų rezultatai pateikti 1 pav.

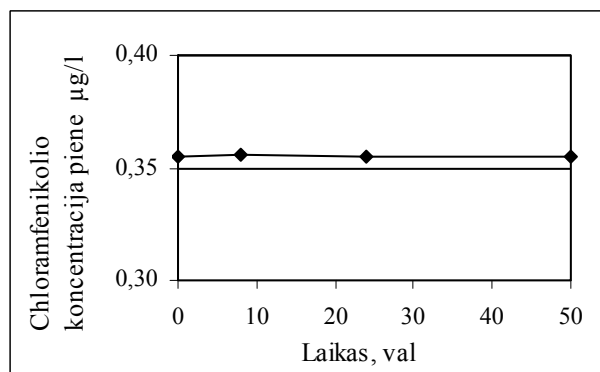
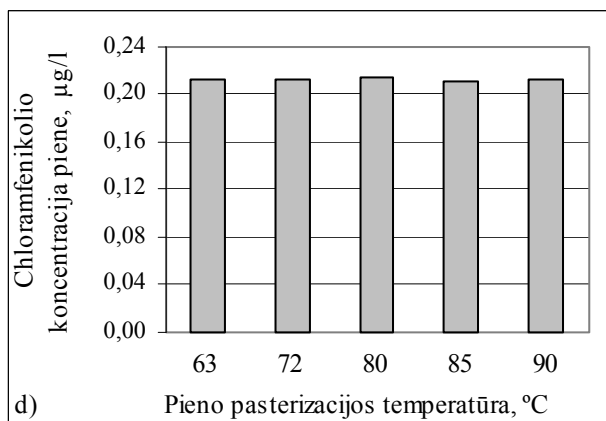
Iš pateiktų duomenų matome, kad temperatūra, nepriklausomai nuo pradinio chloramfenikolio kiekio mėginyje, jo pokyčiams įtakos neturi. Gaminant įvairius pieno produktus, kai taikomos skirtingos pasterizavimo temperatūros, chloramfenikolio kiekis išliks nepakitęs. Taigi jeigu chloramfenikolio bus žaliaviniame piene, tai visas jo kiekis pateks į pagamintus produktus.



1 pav. Pasterizavimo temperatūros įtaka chloramfenikolio koncentracijos kaitai, kai jo pradinė koncentracija: a) 0,055 µg/l; b) 0,07 µg/l; c) 0,167 µg/l; d) 0,21 µg/l; e) 0,267 µg/l



2 pav. Chloramfenikolio koncentracijos kaita pasterizuojant pieno mėginius 92°C temperatūroje, keičiant išlaikymo laiką nuo 0 iki 15 min.



3 pav. Chloramfenikolio koncentracijos kaita pieno mėginiuose juos laikant 8°C temperatūroje

Norint padaryti labiau pagrįstą išvadą apie temperatūros poveikį šiam antibiotikui, atlikta atskira bandymų serija. Ją atliekant mėginiai buvo pasterizuojami

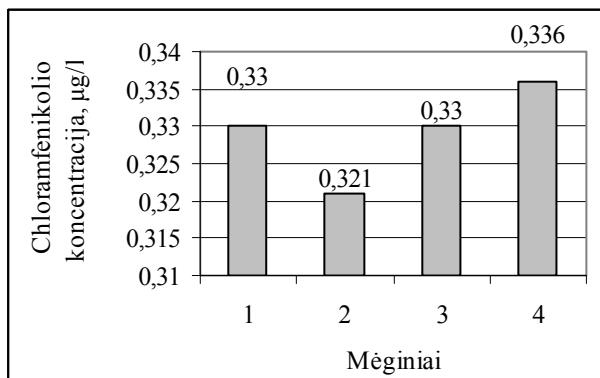
92°C temperatūroje ir išlaikomi nuo 0 iki 15 min. (2 pav.).

Tyrimų rezultatai parodė, kad chloramfenikolio koncentracija, esant aukštai pieno apdorojimo temperatūrai (92°C) ir išlaikant iki 15 min., nepakinta.

Atliekant literatūros analizę buvo rasta teiginių (Krasauskaitė, 1991), kad antibiotikų, t. y. penicilino, kiekis piene laikymo metu pakinta – sumažėja. Buvo svarbu nustatyti, kaip pieno laikymo metu kinta chloramfenikolio kiekis. Todėl kita tyrimų serija buvo skirta nustatyti chloramfenikolio koncentracijai pieno mėginiuose laikant apie 50 val. 8°C temperatūroje. 3 pav. pateikti duomenys rodo, kad laikytame piene šio antibiotiko išlieka tiek pat, kaip ir iki laikant. Taigi, laikymo metu chloramfenikolio kiekis nekinta.

Chloramfenikolio tyrimų praktikoje pieno mėginiai gali būti sušaldomi, o prieš atliekant tyrimą – atšildomi. Šių procesų (sušaldymo ir atšildymo) metu pieno koloidinėje sistemoje vyksta struktūriniai pokyčiai. Be to, ryškūs pieno mišinio struktūriniai pokyčiai vyksta valgomųjų ledų gamybos metu. Todėl buvo ištirta, ar šie pokyčiai gali turėti įtakos chloramfenikolio kiekiui. Pieno mėginiai buvo šaldomi –20°C temperatūroje, o atšildomi +10°C temperatūroje. Mėginiai su žinoma chloramfenikolio koncentracija buvo sušaldomi vieną, du ir tris kartus. Visi mėginiai užšaldant (–20°C) ir atšildant (+10°C) iki trijų kartų buvo išlaikyti tą patį laiką – 50 val.

Tyrimų rezultatai pateikti 4 pav.



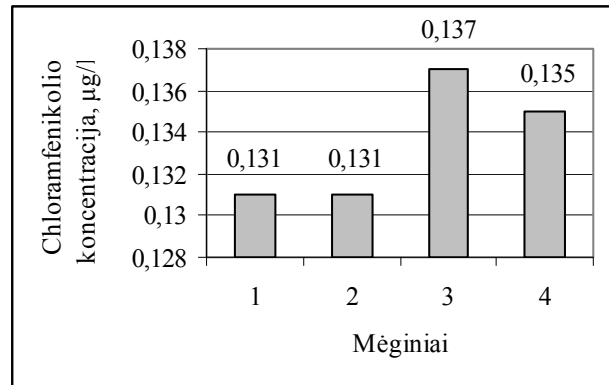
4 pav. Mėginių sušaldymo ir atšildymo įtaka chloramfenikolio koncentracijai: 1 – kartas; 2–1 kartą sušaldytas ir atšildytas; 3–2 kartus sušaldytas ir atšildytas; 4–3 kartus sušaldytas ir atšildytas

Tyrimų duomenys (4 pav.) rodo, kad mėginiuose vykę struktūriniai pokyčiai pieną sušaldant ir jį atšildant chloramfenikolio koncentracijai įtakos neturėjo.

Kadangi daugelis pieno produktų gaminami biotechnologinių procesų pagrindu, naudojant pieno rūgšties bakterijas, t. y. atitinkamus raugus, ištirta, ar rauginimo metu vykstantys biocheminiai pokyčiai turi įtakos chloramfenikolio kiekiui. Visas biotechnologinis rauginimo procesas buvo laikomas vienu iš technologinių veiksnių. Tuo tikslu iš atitinkamo sausojo raugo (Jomix 860, XT–312 ir Jomix 433) buvo pagamintas skystasis raugas. Į mėginius su žinomu chloramfenikoliu kiekiu buvo dedama 5 proc. skysto raugo. Mėginiai buvo rauginami laboratorinėmis sąlygomis termostatuose, esant

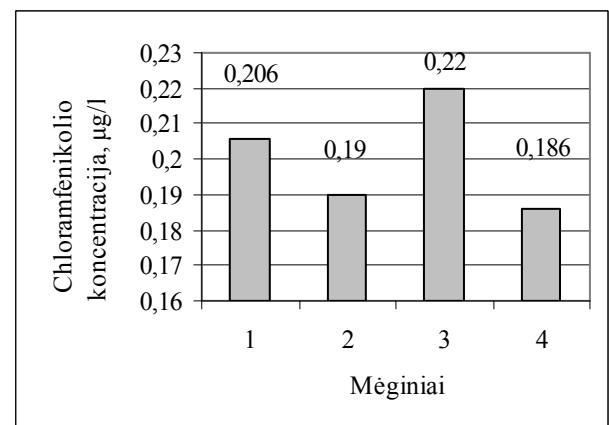
temperatūrai, optimaliai atitinkamam raugui. Mėginiuose iki rauginant ir surauginuose buvo nustatytas chloramfenikolio kiekis.

Tyrimų rezultatai pateikti 5 pav.



5 pav. Chloramfenikolio koncentracijos kaita rauginant pieną skirtingais raugais: 1 – prieš rauginimą; 2 – raugas YO – MIX 433; 3 – raugas YO – MIX 860; 4 – raugas XT - 312

Tyrimų duomenys (5 pav.) rodo, kad dauginantis pieno rūgšties bakterijoms, sudarančioms panaudotus raugus, žymesnių chloramfenikolio kiekio pokyčių nevyksta. Koncentracija pieno mėginiuose prieš rauginant (0,131µg/l) ir surauginus praktiškai nepakito (0,131; 0,137; 0,135µg/l).



6 pav. Chloramfenikolio koncentracija surauginuose pieno mėginiuose, panaudojus atskiras pieno rūgšties bakterijas: 1 – kontrolinis mėginys prieš rauginant; 2 – mėginys surauginamas panaudojant *Str. lactis*; 3 – mėginys surauginamas su *L. acidophilus*; 4 – mėginys surauginamas su *Str. thermophilus*

Papildoma tyrimų serija buvo nustatyta atskirų pieno rūgšties bakterijų įtaka chloramfenikolio kiekio pokyčiams surauginuose pieno mėginiuose. Tuo tikslu mėginiai buvo rauginami su atskiromis bakterijų kultūromis – *Str. lactis*, *L. acidophilus* ir *Str. thermophilus*. Matome, (6 pav.) kad mėginiuose prieš rauginant ir surauginuose, chloramfenikolio

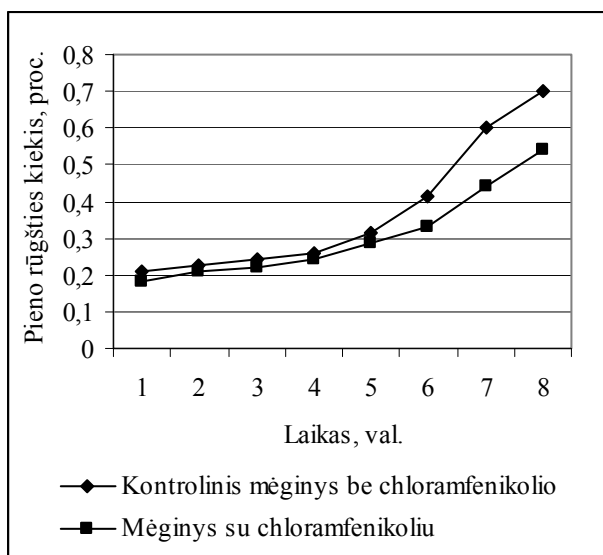
koncentracija praktiškai nepakinta.

Lygiagrečiai buvo ištirta ir atvirkštinė priklausomybė: kaip chloramfenikolis veikia pieno rūgšties bakterijas.

Rauginimo metu buvo ištirtas pieno rūgšties bakterijų vystymosi intensyvumas, įvertintas susidariusiu pieno rūgšties kiekiu (proc.). Tuo tikslu rauginimo metu 7 val. laikotarpiu kiekvieną valandą buvo nustatomas pieno rūgšties kiekis.

Pieno mėginiai su chloramfenikoliu ir be jo (kontroliniai) buvo užraugti su raugu XT-312, kurio į mėginius dėta 5 proc. Chloramfenikolio koncentracija mėginiuose buvo 0,206 µg/l.

Chloramfenikolio įtaka pieno rūgšties bakterijų raugų padermių vystymuisi, vertinant pagal pieno rūgšties susidarymą (7 pav.), rodo, kad chloramfenikolis neigiamai veikia rauginimo procesą, nes pailgina rauginimo proceso trukmę.



7 pav. Chloramfenikolio įtaka pieno rūgšties bakterijų vystymuisi

Mėginyje su chloramfenikoliu bakterijų vystymasis palyginti su kontroliniu mėginiu vyksta lėčiau.

Ši tendencija išlieka visą rauginimo laiką. Rauginimo pabaigoje (po 7 val.) pieno rūgšties kiekis mėginyje su chloramfenikoliu buvo 0,55 proc., tuo tarpu kontroliniame mėginyje pieno rūgšties susidarė daugiau – 0,7 proc. Šitie rezultatai rodo, kad chloramfenikolis slopina pieno rūgšties bakterijų vystymosi procesą, nes kuo aktyviau vystosi pieno rūgšties bakterijos, tuo daugiau susidaro pieno rūgšties. Po 24 val. subrandintuose rauginto pieno mėginiuose su chloramfenikoliu ir be jo pieno rūgšties koncentracija ženkliai skiriasi. Mėginiuose su chloramfenikoliu pieno rūgšties koncentracija buvo 21–22 proc. mažesnė negu kontroliniuose.

#### Išvados

1. Nustatyta, kad pasterizavimo temperatūra – 63, 72, 80, 85, 90°C – neturėjo įtakos chloramfenikolio kiekio pokyčiui, kai pradinis chloramfenikolio kiekis mėginiuose buvo 0,055 µg/l; 0,07 µg/l; 0,167 µg/l; 0,21 µg/l ir 0,267 µg/l.

2. 15 min. laikant pieną 92°C temperatūroje, chloramfenikolio kiekis nekinta.

3. Laikomame atšaldytame žaliaviniame piene chloramfenikolio kiekis nesikeičia. 50 val. išlaikytame 8°C temperatūroje piene chloramfenikolio kiekis nepakito.

4. Struktūriniai pieno koloidinės sistemos pokyčiai užšaldant -20°C ir atšildant +10°C temperatūroje, chloramfenikolio kiekiui įtakos neturėjo.

5. Biocheminiai pokyčiai, vykstantys pieno rauginimo metu (su raugu Jomix 433, Jomix 860, XT 312) ir su atskiromis pieno rūgšties bakterijomis (*Str. lactis*, *Str. thermophilus*, *L. acidophilus*) chloramfenikolio koncentracijai įtakos neturėjo.

6. Nustatyta, kad chloramfenikolis 21–22 proc. lėtina pieno rūgšties bakterijų vystymąsi, neigiamai veikia rauginimo procesą, pailgina jo trukmę.

#### Literatūra

1. Bayo J., Moreno M.A., Prieta J., Diaz S., Suarez G., Dominguez L. Chloramphenicol extraction from milk by using the diphasic dialysis method followed by liquid chromatographic determination. *Journal of the AOAC International*. 1994. Vol. 77. N-4. P. 854–856.

2. Cazemier G., Haasnoot W., Stouten P. Screening or chloramphenicol in urine, tissue, milk and eggs in consequence of the prohibitive regulation. *Proceedings Euroresidue III 1996*, Eds. N. Haagsma and A. Ruiter. P. 315.

3. Chloramfenikolis. – [Žiūrėta 2008-04-16]. – Internetė: <http://gintarine.lt/index.php?fuseaction=catalog.view&cid=54&id=3039&PHPSESSID=29571b9633d7db8389fe32fdff79e72>

4. Chloramphenicol. – [Žiūrėta 2008-05-14]. – Internetė: <http://en.wikipedia.org/wiki/Chloramphenicol>

5. E.U. Directive 27. 01. 94 (7 Nov' 94).

6. Japertas S., Japertienė R. Yra inhibitorinių medžiagų – pienas nesuperkamas. *Mano ūkis*. 2003. N. 08. P. 38–40.

7. Jaskovikienė V. Antibiotikai – didžiulis medicinos išradimas ir nemenka problema. *Farmacija ir laikas*. 2006. N. 2. P. 30–33.

8. Keukens H. J., Aerts M. M. L., Traag W. A., Nouws J. F. M., Ruig W. G., Beek W. M. J., Hartog J. M. P. Analytical strategy from the regulatory control of residues of chloramphenicol in meat: preliminary studies in milk. *Journal of the AOAC International*. 1992. Vol. 75. N 2. P. 245 – 256.

9. Kijak P. J. Confirmation of chloramphenicol residues in bovine milk by gas chromatography / mass spectrometry. *Journal of the AOAC International*. 1994. Vol. 77. N 1. P. 34–40.

10. Krasauskaitė D. Antibiotikai neigiamai veikia pieno produktų kokybę... *Pienininkystė*. 1991. N. 5. P.

14–16.

11. Lochbihler E., Usleber E., Terplan G., Engelhardt G., Wallnoefer P. Enzyme immunological studies on the occurrence of antibiotics and sulphonamides in Bavarian consumer milk. *Archiv fuer Lebensmittelhygiene*. 1995. Vol. 46. N 3. P. 60–62.

12. Maris P., Gaudin V. Report: Proficiency study for the analysis of chloramphenicol residues in milk by ELISA. AFSSA Fougères, January, 2002.

13. Martens R. The presence of chloramphenicol in raw milk. *Revue de l'Agriculture*. 1992. Vol. 45. N 3. P. 567–574.

14. Nazer A. H. K., Mohsenzadeh M. Distribution of R – factor and antibiogram of *Escherichia coli* isolated from dairy products in Fars Province of Iran: its public health implications. *Journal of Applied Animal Research*. 1993. Vol. 4. N 2. P. 99–106.

15. Ramoškaitė A. Chloramfenikolio prevencijos klausimai. – [Žiūrėta 2004-02-12]. – Internetė: <http://www.zum.lt/lt/naujienos/pranesimai-spaudai/4440/>

16. Rybinska K., Karkocha I. Determination of antibiotic residues in selected foods of animal origin. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny*. 1992. Vol. 43. N 3/4. P. 241–244.

17. Schneider E., Maertlbauer E., Dietrich R., Usleber E., Terplan G. Two rapid enzyme immunochemical tests for detection of chloramphenicol in milk. *Archiv fuer Lebensmittelhygiene*. 1994. Vol. 45. N 2. P. 43–45.

18. Scortichini G., Annunziata L., Haouet M. N., Benedetti F., Krusteva I., Galarni R. ELISA qualitative screening of chloramphenicol in muscle, eggs, honey and milk: method validation according to the Commission Decision 2002/ 657/ ES criteria. *Analysis Chimica Acta*. 2005. Vol. 535. P. 43–48.

19. Šimkus A. Gyvieji pašarų priedai. *Mano ūkis*. 2004. N. 08. P. 50–53.

20. Tepelienė L. Chloramfenikolio prevencijos programa. – [Žiūrėta 2006-01-10] – Internetė: <http://www.zum.lt/lt/naujienos/pranesimai-spaudai/5299/>

21. Tramontin S., Bonato P., Spolaor D. Application of an immunoenzymic method for rapid detection of antibiotics in milk. 1993. Vol. 18, N 2. P. 182–185.

22. Urbienė S. Pieno ir jo produktų cheminės analizės metodai. Kaunas, 1999. 247 p.

23. Zadikov I., Ziv G. Chloramphenicol – risk / benefit evaluation. *Israel Journal of Veterinary Medicine*. 1989. Vol. 45. N 2. P. 106–117.

24. Water C. van de Haagsma N. Analysis of chloramphenicol residues in swine tissues and milk: comparative study using different screening and

quantitative methods. *Journal of Chromatography, Biomedical Applications*. 1991. Vol. 566. N 1. P. 173–185.

25. Water C. van de Haagsma N. A sensitive streptavidin–biotin enzyme–linked immunosorbent assay for rapid screening of residues of chloramphenicol in milk. *Food and Agricultural Immunology*. 1990. Vol. 2. N 1. P. 11–19.

26. Баймишева Д. Ш., Коростелева Л. А. Микрофлора молока при маститах. *Молочная промышленность*. 2007. № 11. С. 16–18.

27. „Delvotest® Акселератор” – инновационный тест на антибиотики в молоке. *Молочная промышленность*. 2007. № 8. С. 30–31.

28. Мурох В. И. Лекарственные средства, применяемые в сельском хозяйстве, как возможные контаминанты пищевых продуктов. *Вопросы питания*. 1991. № 6. С. 21–26.

29. Ракитский В. Н., Богораб В. С., Бибненко Л. И., Пovyакель Л. И. Проблемы гигиенической оценки сельскохозяйственных продуктов, полученных с использованием регуляторов роста растений. *Вопросы питания*. 1991. № 6. С. 31–35.

30. Шевелева С. А. Антибиотики в продуктах питания. Новые аспекты проблемы // *Вопросы питания*. 1994. № 4. С. 23–28.

31. Шуляк Т. Л., Коротченко Н. Ф. Совершенствование метода определения ингибирующих веществ в молоке. *Молочная промышленность*. 2007. № 11. С. 26–27.

Gauta 2009 02 05

Priimta publikuoti 2009 06 23