

CHLORAMFENIKOLIO LIKUČIŲ KITIMAS PIENE BEI IŠ JO GAMINAMUOSE PATIEKALUOSE

Aušra Steponavičienė, Nijolė Vasiliauskienė, Ingrida Kraujutienė, Dovilė Gailevičienė, Sidona Buragienė

Kauno kolegija

Anotacija. Pieną gali užteršti daugybė cheminių medžiagų, patenkančių į pieną per orą, vandenį, su pašarais arba naudojamų karvėms gydyti, melžimo sanitarijai užtikrinti. Šios medžiagos gali turėti įtakos pieno ir jo produktų kokybei, jų saugai, taip pat neigiamai veikti technologinius procesus. Visiškai išvengti į pieną patenkančių teršalų neįmanoma, todėl daugumai jų nustatytos didžiausios leistinos koncentracijos. Itin nuodingų medžiagų piene išvis negali būti. Viena iš tokių medžiagų – antibiotikas chloramfenikolis. Chloramfenikolis yra stiprus plataus veikimo spektro antibiotikas ir potenciali kancerogeninė medžiaga. Dėl nenuspėjamo šios medžiagos poveikio organizmui, neįmanoma nustatyti nenkenksmingos chloramfenikolio dozės, kurią žmogus galėtų toleruoti be žalos sveikatai. Nors chloramfenikolis gyvuliams gydyti yra uždraustas (nuo 1997 metų Lietuvos Respublikos Valstybinės veterinarijos tarnybos įsakymu Nr. 4-49, 1997-03-25d. „Dėl veterinarinių vaistų, vaistinių medžiagų, preparatų įvežimo tvarkos“ draudžiama įvežti veterinarinius vaistus, kurių sudėtyje yra chloramfenikolio (levomicetino) veikliosios medžiagos), tačiau neretai karvių tešmenims gydyti yra vartojami žmonėms gydyti skirti vaistai, kurių sudėtyje yra chloramfenikolio.

Tyrimo metu vertinta, kaip kinta žaliaviniame piene esantys chloramfenikolio likučiai gaminant patiekalus iš pieno. Naudojant koncentruotą chloramfenikolio tirpalą (100 µg/l) paruoštas kontrolinis pienas. Pirmiausia buvo nustatyta pradinė chloramfenikolio koncentracija piene (0,09 µg/l ir 0,18 µg/l), iš kurio gaminti patiekalai – manų košė, bandelės, blynai. Antibiotiko chloramfenikolio likučiai nustatyti piene bei iš jo pagamintuose patiekaluose. Chloramfenikolio likučiams nustatyti piene bei iš jo pagamintuose patiekaluose taikytas Imunofermenitinės analizės (ELISA) metodas, naudojant „Euro-Proxima Chloramphenicol“ reagentus. Chloramfenikolio koncentracijai išmatuoti piene bei iš jo pagamintuose patiekaluose naudotas spektrofotometras „TECAN“.

Tyrimais nustatyta, kad iš žaliavinio pieno, kurio sudėtyje buvo chloramfenikolio likučių, gaminant pieniškų bei miltinių patiekalus, antibiotiko kiekis mažėjo nedaug. Chloramfenikolio koncentracija labiausiai sumažėjo blynuose. Iš pieno, kuriame nustatyta pradinė chloramfenikolio koncentracija ~0,1 µg/l ir ~0,2 µg/l, pagamintuose blynuose chloramfenikolio likučių sumažėjo 43,3 % bei 58,3 %.

Raktiniai žodžiai: pienas, chloramfenikolis, chloramfenikolio stabilumas patiekaluose.

Įvadas

Patiekalų saugos ir kokybės reikalavimų užtikrinimas tiesiogiai priklauso nuo jiems gaminti naudojamų žaliavų kokybės. Dažnai patiekalų gamybai naudojamas vienas iš vertingiausių visų gyvulinės ir augalinės kilmės produktų – pienas, kurio sudėtyje yra beveik visi mitybos požiūriu svarbūs komponentai. Piene dėl įvairių priežasčių gali atsirasti ir nepageidaujamų medžiagų, turinčių žalingą poveikį žmogaus sveikatai. Viena iš tokių medžiagų – antibiotikas chloramfenikolis.

Antibiotikai į karvių pieną patenka jas gydant ar šeriant pašarais, kuriuose yra antibiotikų priedų, taip pat kai jų pridedama į pieną norint sumažinti jo bakterinį užterštumą. Per užterštas augalinės bei gyvulinės kilmės žaliavas kenksmingos medžiagos patenka į maistą.

Nors antibiotikas chloramfenikolis gyvuliams gydyti yra uždraustas, tačiau žaliaviniame piene vis dar atrandama šio antibiotiko likučių.

Pieno ir kitų maisto produktų saugai užtikrinti atliekami įvairūs moksliniai tyrimai. Buvo nagrinėjami fiziniai, cheminiai, biologiniai procesai, vykstantys pieno terminio apdorojimo, rauginimo, laikymo žemoje temperatūroje metu. Įvertinus, kad žaliaviniame piene esantis chloramfenikolis yra stabilus, tikslinga nustatyti, ar pakinta chloramfe-

nikolio koncentracija iš pieno pagamintuose patiekaluose.

Tikslas: Nustatyti antibiotiko chloramfenikolio koncentracijos kitimą piene bei iš jo pagamintuose patiekaluose (manų košėje, mielinėse bandelėse, mielinuose blynuose).

Uždaviniai:

1. Atlikti chloramfenikolio likučių tyrimą pieniškų (manų košės) bei miltinių patiekalų (mielinių bandelių, blynų) gamybai skirtame žaliaviniame piene;
2. Nustatyti chloramfenikolio likučius pagamintose manų košėje, paruoštose tešlose bei iš jų pagamintuose patiekaluose (mielinėse bandelėse, mielinuose blynuose);
3. Įvertinti chloramfenikolio stabilumą piene bei iš jo gaminamuose patiekaluose.

Informacinių šaltinių apžvalga

Aplinkos tarša, žemės ūkio produkcijos gamybos intensyvinimas, vis dažniau vartojami antibiotikai ir kitos priežastys sudaro galimybes į pieną patekti įvairioms pašalinėms medžiagoms (Urbienė, 2006).

Pašalinėmis apibūdinamos medžiagos, ku-

rios nėra sudėtinės produktų dalys (Šernienė ir kt., 2007).

Pieną gali užteršti daugybė cheminių medžiagų, patenkančių į pieną per orą, vandenį, su pašarais arba naudojamų karvėms gydyti, melžimo sanitarijai užtikrinti ir pan. Šios medžiagos gali turėti įtakos pieno ir jo produktų kokybei, jų saugai, taip pat neigiamai veikti technologinius procesus (Urbienė ir kt., 2009).

Antibiotikai į pieno produktus patenka gydant gyvulius. Intensyvus antibiotikų vartojimas veterinarinėje medicinoje yra priežastis jų kaupimosi maisto produktuose (Byzova et al., 2010).

Visiškai išvengti į pieną patenkančių teršalų neįmanoma, todėl daugumai jų nustatytos didžiausios leistinos koncentracijos. Itin nuodingoms medžiagoms nustatoma nulinė tolerancija, t.y. tokių medžiagų piene išvis negali būti (Šernienė ir kt., 2007). Viena iš tokių medžiagų – antibiotikas chloramfenikolis.

Nors chloramfenikolis yra uždraustas, tačiau vis dar randamas maisto produktuose (Byzova et al., 2010).

Labai svarbu sukurti greitus, nebrangius ir tikslius metodus, norint surasti chloramfenikolio likučių piene (Byzova et al., 2010; Xu et al., 2012).

Chloramfenikolio nustatymo metodai tobulinami ne tik norint jį surasti piene (Nebot et al., 2012; Freitas et al., 2013), bet ir kituose maisto patiekaluose ruošti vartojamuose produktuose, pvz., jūros gėrybėse (Xu et al., 2006), meduje (Cronly et al., 2010), vištienoje (Zhang et al., 2006), kiaušiniuose (Zhang et al., 2012).

Kadangi chloramfenikolis yra stiprus plataus veikimo spektro antibiotikas ir potenciali kancerogeninė medžiaga, todėl dėl nenusipėjamo šios medžiagos poveikio organizmui neįmanoma nustatyti nekenksmingos chloramfenikolio dozės, kurią žmogus galėtų toleruoti be žalos sveikatai (Wong-tavatchai ir kt., 2005).

Antibiotikai, patekę į pieną sukelia rimtų sunkumų gaminant pieno produktus. Jie pakeičia pieno mikroflorą ir fermentus gaminant sūrius ir rūgščius pieno produktus, esant sudėtingiems biocheminiams procesams. Net ir menkiausias antibiotikų kiekis pablogina pieno kokybę, piene sunkiai vystosi arba visai nesivysto pieno rūgšties bakterijos, todėl jis tampa netinkamas raugintiems pieno produktams gaminti (Urbienė, 2006).

Daugelio autorių teigimu, piene esantis antibiotiko chloramfenikolio likučiai išlieka net ir termiškai apdorojant pieną. Mokslininkų teigimu (Urbienė ir kt., 2009), pieno pasterizavimo temperatūra nuo 63 °C iki 90 °C chloramfenikolio stabilumui piene įtakos neturi. Chloramfenikolio koncentracijai kisti įtakos neturi ir pieno struktūriniai pokyčiai, jį užšaldžius iki -22°C temperatūros (Steponavičienė, Arlauskienė, 2010).

Tyrimo metodas

Tyrimams atlikti iš žalio karvių pieno paruošti kontroliniai pieno mėginiai (naudojant koncentruotą, chloramfenikolio koncentracija 100 µg/l, standartinį tirpalą) su žinoma chloramfenikolio koncentracija (~ 0 µg/l, ~0,1 µg/l ir ~0,2 µg/l), kurie buvo vartoti pieniškiems (manų košės) bei miltiniams patiekalams (mielinių bandelių ir mielinių blynų) gaminti.

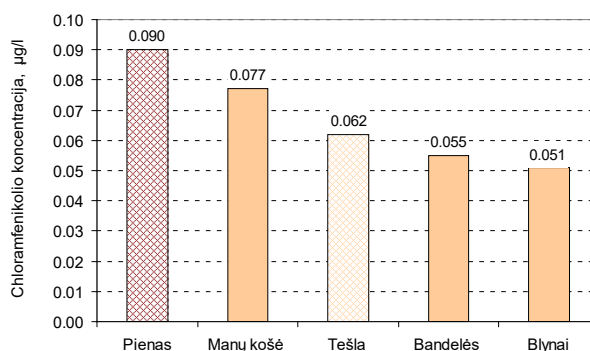
Chloramfenikolio koncentracijai piene bei pieno patiekaluose nustatyti taikytas imunofermentinės analizės metodas. Taikant šį tyrimo metodą, tiriamajame piene esantis chloramfenikolis „konkuruoja“ su antigenais ir užima jų vietą mikroplokštelės akuteje, vyksta konkurentinė imunofermentinė reakcija.

Tyrimo metu, į mikroplokštelės akutes dozuojuojant atskirus reagentus, matomas akuciu turinio spalvos pasikeitimas iš bespalvės į mėlyną. Tyrimas sustabdomas į mikroplokštelės akutes įlašinus „stop“ reagento, spalva iš mėlynos keičiasi į geltoną. Spalvos intensyvumas matuojamas spektrofotometru „TECAN“. Išmatuojama kiekvienos mikroplokštelės akutės absorbcijos skaitinė reikšmė (esant 450 nm šviesos bangos ilgiui). Spektrofotometru išmatuotos absorbcijų reikšmės yra atvirkščiai proporcingos chloramfenikolio koncentracijai pieno mėginyje.

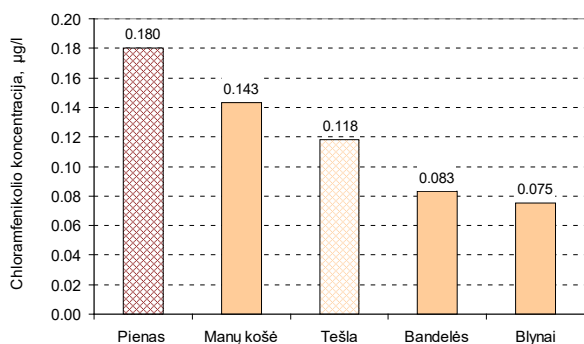
Tiriant skirtingų technologinių procesų įtaką antibiotiko chloramfenikolio likučiams kisti, iš kontrolinio pieno su skirtinga chloramfenikolio koncentracija (~ 0 µg/l, ~0,1 µg/l ir ~0,2 µg/l) paruoštos tešlos buvo pagaminta manų košė bei miltiniai patiekalai (mielinės bandelės ir miltiniai blynai).

Tyrimo rezultatai

Antibiotiko chloramfenikolio likučių kitimas vertintas piene, iš jo pagamintoje manų košėje, paruoštoje mielinių bandelių ir blynų tešloje bei pagamintuose bandelėse ir blynuose (1, 2 pav.).



1 pav. Chloramfenikolio koncentracijos kitimas piene bei iš jo gaminamuose patiekaluose, kai pradinė koncentracija 0,09 µg/l



2 pav. Chloramfenikolio koncentracijos kitimas piene bei iš jo gaminamuose patiekaluose, kai pradinė koncentracija 0,18 µg/l

Atlikus tyrimus nustatyta, kad chloramfenikolio likučiai, esantys piene, išlieka ir iš jo gaminamuose patiekaluose. Iš pieno, esant skirtingai chloramfenikolio koncentracijai (~0,1 µg/l ir ~0,2 µg/l) pagamintoje manų košėje, chloramfenikolio likučių sumažėjo 14,4 % bei 20,6 %, lyginant su pradine chloramfenikolio koncentracija piene.

Iš pieno, esant skirtingai chloramfenikolio koncentracijai (~0,1 µg/l ir ~0,2 µg/l) paruoštoje mielinėje tešloje chloramfenikolio likučių sumažėjo 31,1 % bei 34,4 %, lyginant su pradine chloramfenikolio koncentracija piene.

Chloramfenikolio likučiai nustatyti ir iškeptuose miltiniuose patiekaluose – mielinėse bandelėse bei blynuose. Iš pieno, kuriame nustatyta pradinė chloramfenikolio koncentracija ~0,1 µg/l pagamintose bandelėse chloramfenikolio likučių sumažėjo 38,9 %, o kai koncentracija buvo ~0,2 µg/l – 53,9 %, lyginant su pradine chloramfenikolio koncentracija piene. Palyginus chloramfenikolio koncentraciją pagamintose bandelėse su jo koncentracija tešloje, matomas sumažėjimas 11,3 % ir 29,7 %.

Iš pieno, kuriame nustatyta pradinė chloramfenikolio koncentracija siekė ~0,1 µg/l ir ~0,2 µg/l, pagamintuose mielinuose blynuose chloramfenikolio likučių sumažėjo, atitinkamai, 43,3 % bei 58,3 %, lyginant su pradine chloramfenikolio koncentracija piene. Palyginus chloramfenikolio koncentraciją pagamintuose blynuose su jo koncentracija tešloje, matomas sumažėjimas 17,7 % ir 36,4 %.

Tyrimų rezultatai parodė, kad nepriklausomai nuo pradinės chloramfenikolio koncentracijos piene, chloramfenikolio likučiai nustatyti ir iš jo pagamintuose miltiniuose gaminiuose. Todėl galima teigti, kad, jeigu chloramfenikolio bus žaliaviniame piene, tai jis pateks ir į iš jo gaminamus patiekalus.

Išvados

1. Tyrimais nustatyta, kad chloramfenikolis išlieka stabilus jį apdorojant terminėmis priemonėmis. Nepriklausomai nuo pradinės chloramfenikolio koncentracijos piene (~0,1 µg/l ar ~0,2 µg/l) antibiotiko likučiai esantys piene išliko ir iš jo pagamintuose patiekaluose.
2. Chloramfenikolio koncentracija labiausiai sumažėjo blynuose. Iš pieno, kuriame nustatyta pradinė chloramfenikolio koncentracija ~0,1 µg/l ir ~0,2 µg/l, pagamintuose blynuose chloramfenikolio likučių sumažėjo 43,3 % bei 58,3 %.

Literatūra

1. Cronly, M., Behan, P., Foley, B., Malone, E., Martin S., Doyle, M., Regan, L. (2010). Rapid multiclass multi-residue method for the confirmation of chloramphenicol and eleven nitroimidazoles in milk and honey by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Food Additives and Contaminants*, 27 (09), 1233-1246.
2. Freitas, A., Barbosa, J., Ramos, F. (2013). Development and validation of a multi-residue and multiclass ultra-high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry screening of antibiotics in milk. *International Dairy Journal*. 33 (1), 38–43.
3. Nebot, C., Iglesias, A., Regal, P., Miranda, J., Cepeda, A., Fente, C. (2012). Development of a multiclass method for the identification and quantification of residues of antibiotics, coccidiostats and corticosteroids in milk by liquid chromatography tandem mass spectrometry. – *International Dairy Journal* 22 (1), 78–85.
4. Steponavičienė, A., Arlauskienė, E. (2010). Chloramfenikolio stabilumas žaliaviniame piene. *Maisto produktai – sauga ir kokybė: Respublikinės aukštųjų mokyklų studentų ir dėstytojų mokslinės konferencijos leidinys*. 83–85.
5. Šernienė, L., Sekmokienė, D. (2006). Pieno higiena. *Sanitariniai reikalavimai žaliajo pieno apdorojimui*. Kaunas, 44.
6. Urbienė, S. (2006). Pieno sudėtis ir savybės. *Žaliavinių produktų gamybai*. Akademija, 129.
7. Urbienė, S., Savickis, S., Steponavičienė, A., Stančikas, M. (2009). Technologinių veiksnių įtaka chloramfenikolio kiekio kaitai gaminat pieno produktus. *Veterinarija ir zootechnika*, 48 (70), 86–92.
8. Zhang, Y., Huang, B., Zhang, J., Wang, K., Jin, J. (2012). Development of a homogeneous immunoassay based on the AlphaLISA method for the detection of chloramphenicol in milk, honey and eggs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(9), 1944 – 1947.
9. Zhang, S.X., Zhang, Z., Shi, W.M., Eremin, S.A., Shen, J. Z. (2006). Development of a chemiluminescent ELISA for determining chloramphenicol in chicken muscle. *Journal of Agricultural and Food*

- Chemistry, 54 (16), 5718–5722.
10. Xu, C.L., Peng, C.F., Hao, K., Jin, Z.Y., Wang, W.K. (2006). Chemiluminescence enzyme immunoassay (CLEIA) for the determination of chloramphenicol residues in aquatic tissues. *Luminescence*, 21, 126–128.
 11. Xu, J., Yin, W., Zhang, Y., Yi, J., Meng, M., Wang, Y., Xue, H., Zhang, T., Xi, R. (2012). Establishment of magnetic beads-based enzyme immunoassay for detection of chloramphenicol in milk. – *Food Chemistry*, 134 (4), 2526–2531.
 12. Wongtavatchai, J., McLean, J. G., Ramos, F., Arnold, D. (2005). Chloramphenicol. WHO Food Additives Series. 53, 7–84.

THE CHANGES OF CHLORAMPHENICOL RESIDUES IN RAW MILK AND IN PREPARING MEALS

Summary

Milk is often used to prepare variety of meals so it is important to evaluate the quality of milk as a raw material. The paper contextualizes the problem whether a consumer can be assured that the milk supplied for public catering purposes is safe and free of contamination. Although the antibiotic chloramphenicol is prohibited, cows in some cases are treated with drugs containing chloramphenicol. According to this, raw milk still contains chloramphenicol residues. The changes in concentration of chloramphenicol preparing meals, and such questions whether those meals are safe from chloramphenicol, are researched in this paper. Residues stability was analysed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method. The results and recommendations show how to lower the risk of antibiotics in the meals. The study has shown that preparing meal from raw milk, containing chloramphenicol residues, its concentrations decreased. The chloramphenicol reduction was determined in finished semolina (about 17%), dough (32%), rolls (46%), and pancakes (50%).

Keywords: milk, chloramphenicol, stability of chloramphenicol in meals.

Informacija apie autorius:

Nijolė VASILIAUSKIENĖ. Kauno kolegijos Technologijų fakulteto Viešojo maitinimo katedros vedėja, lektorė. Adresas: Pramonės pr. 22, LT-50387 Kaunas. Tel. (8 675) 47564, el. paštas: nijole.vasiliauskiene@go.kauko.lt.

Aušra STEPONAVIČIENĖ. Kauno kolegijos Technologijų fakulteto Viešojo maitinimo katedros technologijos mokslų daktarė, docentė. Adresas: Pramonės pr. 22, LT-50387 Kaunas. Tel. (8 675) 47564, el. paštas: steponaviciene.ausra@gmail.com.

Ingrida KRAUJUTIENĖ. Kauno kolegijos Technologijų fakulteto Maisto technologijų katedros technologijos mokslų daktarė, katedros vedėja, docentė. Adresas: Pramonės pr. 22, LT-50387 Kaunas. Tel. (8 615) 14051, el. paštas: ingrida.kraujutiene@go.kauko.lt.

Dovilė GAILEVIČIENĖ. Kauno kolegijos Technologijų fakulteto Viešojo maitinimo katedros lektorė. Adresas: Pramonės pr. 22, LT-50387 Kaunas. Tel. (8 616) 84597, el. paštas: dovile.gailevicienne@gmail.com.

Sidona BURAGIENĖ. Kauno kolegijos Technologijų fakulteto Viešojo maitinimo katedros lektorė. Adresas: Pramonės pr. 22, LT-50387 Kaunas. Tel. (8 616) 84597, el. paštas: sidona.buragiene@go.kauko.lt.