

Technologinių veiksnių įtaka penicilino kiekiui gaminant pieno produktus

Antanas Šarkinas¹,

Sigita Urbienė²,

Andrius Šarka²,

Lina Sasnauskaitė²

¹ Kauno technologijos universiteto
Maisto institutas, Taikos pr. 92,
LT-51180 Kaunas
El. paštas: antanas.sarkinas@ktu.lt

² Lietuvos žemės ūkio universitetas,
Studentų g. 15,
LT-53361 Kaunas-Akademija
El. paštas: sigita.urbiene@lzuu.lt

Difuzijos į agarą metodu ištirta pieno perdirbimo technologinių veiksnių įtaka antibiotiko penicilino aktyviajai medžiagai. Pieno mėginiai su žinoma penicilino aktyviosios medžiagos koncentracija buvo veikiami tokiais technologiniais veiksniais: pasterizuojami keičiant pasterizavimo temperatūrą nuo 63 iki 80 °C; keičiamas laikymo laikas nuo 0 iki 15 min., esant 85 °C temperatūrai, homogenizuojami, laikomi 7–8 °C temperatūroje 72 val., užšaldomi (–20 °C) ir atšildomi (+10 °C). Taip pat ištirti penicilino veikliosios medžiagos pokyčiai biotechnologinių procesų metu rauginant mėginius su skirtingais raugais (DT 1000 I; YC-380; CHN-19).

Penicilino aktyviosios medžiagos pokyčiams įvertinti panaudotas mikrobiologinis difuzijos į agarą metodas nustatant slopinimo zonų skersmenį. Slopinimo zonų skersmens pokyčiai panaudojant testavimo kultūras *Bacillus subtilis* ir *Micrococcus luteus* netiesiogiai parodė penicilino aktyviosios medžiagos kiekio sumažėjimą.

Atlikus tyrimus nustatyta, kad pieno mėginius laikant 8 °C temperatūroje, penicilino veikliosios medžiagos kiekis per 72 val. sumažėja apie 6,6 %.

Išaiškinta, kad terminio pieno mėginių apdorojimo metu penicilino veikloji medžiaga kinta – mažėja. Sumažėjimas priklauso nuo temperatūros. Kuo aukštesnė mėginių apdorojimo temperatūra, tuo labiau veikloji medžiaga sumažėja. Paveikus 80 °C temperatūroje veikloji medžiaga sumažėja 25–29,4 %.

Panaudojus vieną technologinių procesų – mėginių užšaldymą nustatyta, kad –20 °C temperatūroje taip pat sumažėjo veikliosios medžiagos. Po 15 parų laikymo užšaldytuose mėginiuose penicilino veikliosios medžiagos neberandama.

Ištirta, kaip penicilino veikloji medžiaga kinta biotechnologinių procesų metu. Nustatyta, kad vystantis pieno rūgšties bakterijoms, penicilino veikloji medžiaga sumažėja iki 29,5 %, o penicilino veikliosios medžiagos sumažėjimas priklauso nuo pieno rūgšties bakterijų vystymosi intensyvumo. Intensyviau besivystančios pieno rūgšties bakterijos penicilino aktyviąją medžiagą ardo labiau.

Raktažodžiai: pienas, technologiniai veiksniai, penicilinas, aktyvioji medžiaga, difuzijos į agarą metodas, pasterizacijos temperatūra, biotechnologiniai procesai, laikymas esant –20 °C ir +8 °C

ĮVADAS

Maisto produktai gali būti užteršti įvairiais cheminės ir biologinės kilmės junginiais, kurie kelia pavojų žmogaus sveikatai. Į maistą kenksmingi junginiai patenka per orą, vandenį, dirvožemį ir gyvulininkystės bei augalininkystės produktus. Labai svarbu, kad įvairūs žmogaus organizmui kenksmingi junginiai nepatektų per kasdienius, dažniausiai vartojamus produktus. Vieni tokių – pieno produktai.

Į pieno produktus per pašarus gali patekti nitratai, pesticidai, sunkieji metalai ir kt. Gydant galvijus į pieną gali patekti antibiotikų likučiai. Nepaisant griežtos kontrolės, toks pienas pasiekia ir vartotoją.

Jie yra labai nepageidautini tiek produktų gamybos technologiniams procesams, tiek vartotojų sveikatai.

Vartojant pieno produktus su antibiotikų likučiais, žmogus be reikalo tampa antibiotikų vartotoju. Ligos atveju tos pačios grupės antibiotikai tampa neveiksmingi,

nes bakterijos virsta jiems atspariomis (Walstra, Geurts, Noomen et al., 1999; Valintėlienė, 2006; Narkevičiūtė, 2008). Šiuo metu žinoma, kad daugelyje Europos šalių antibiotikui eritromicinui bakterijų atsparumas siekia net iki 50 % (Narkevičiūtė, 2008). Be to, ligos atveju antibiotikai tampa neveiksmingi, žmogaus organizme jie gali sukelti disbakteriozę, alergiją, pykinimą, toksikozes ir kitas ligas (Aukštakalnienė, 2006; Žukauskienė, 2006).

Antibiotikai stabdo pieno rūgšties bakterijų vystymąsi, fermentų veiklą. Esant jų likučiams piene sunku pagaminti kokybiškus pieno produktus bei fermentinius sūrius. Dėl to Lietuvoje nuolat vykdoma griežta antibiotikų kontrolė superkamame žaliaviniame piene.

Labai svarbu, kad po galvijų gydymo būtų išlaikytas atitinkamas periodas (tai laikas, kai su pienu nustoja išsiskirti antibiotikai). Šis laikas paprastai būna nurodytas vaistų naudojimo instrukcijoje. Neprisilaikant nurodyto (vartojant antibiotikus) laiko antibiotikų likučiai patenka į pieną. Ši problema yra ne tik Lietuvoje, bet ir kitose Europos šalyse. Dažniausiai randama penicilino likučių (Žvirdauskienė, Šalomskienė, Urbšienė, 2004). Penicilino likučių randama piene praėjus 5 paroms po paskutinio jo panaudojimo (Skioeldebrand, Franklin, Olofsson et al., 1994; Andrade, Figueiredo, Lins, 1993). Todėl Švedijos maisto veterinarinė tarnyba padidino pieno nesupirkimo laiką iki 12 parų po paskutinio antibiotiko (benzilpenicilino) panaudojimo (Beckman Sundh, 1994; Funke, 1994).

Siekiant apsaugoti vartotojus nuo patekusių į pieno produktus antibiotikų jų nustatymui kuriami bei taikomi vis jautresni metodai. Dabar įvairiose šalyse penicilino nustatymui taikomi skirtingi metodai: aukšto slėgio chromatografijos bei kolorimetriniai metodai (Šuliak, 2007; Rybinska, Karkocha, 1992). Panaudojant aukšto slėgio skysčio chromatografą penicilino nustatymui pasiekiamas jautrumas yra 0,02 µg/l (Himei, Koide, Tsuji et al., 1993). Labai didelio tikslumo pasiekama nustatant penicilino likučius imunofermentinės analizės metodais (Lochbihler, Usleber, Terplan et al., 1995; Scortichini, Annunziata, Haouet et al., 2005; Maris, Gaudin, 2002). Pritaikius imunofermentinės analizės metodus (ELISA) penicilino nustatymo jautrumas siekia 0,005 TV/ml (Jackman, Chesham, Mitchell et al., 1990). Tačiau šie tyrimai reikalauja didelio laboratorinio darbo imlumo, aukštos darbuotojų kvalifikacijos ir brangių įrangos.

Lietuvoje antibiotikų kontrolei yra taikomi ir imunofermentinės analizės (ELISA) metodas, mikrobiologiniai metodai, taip pat difuzijos į agarą metodas panaudojant specialias testavimo kultūras (Žvirdauskienė, Šalomskienė, Urbšienė, 2004; Šarkinas, 2005; Urbienė, Savickis, Stančikas ir kt., 2009; Šalomskienė, Žvirdauskienė, 2005). Taikant difuzijos į agarą metodą dažniausiai naudojamos testavimo kultūros yra *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, ar *Bacillus stearothermophilus* (Žvirdauskienė, Šalomskienė, Urbšienė, 2004). Žinoma, kad kitose šalyse taip pat taikomi mikrobiologiniai metodai. Pavyzdžiui, Australijoje naudojamas standartas penicilino nustatymui piene ir pieno produktuose

taikant mikrobiologinį difuzijos į agarą metodą (*Bacillus stearothermophilus*), matuojant susidariusias slopinimo zonas agaro terpėje (Standards Association of Australia, 1991). Teigiama, kad šio metodo tikslumas siekia 0,03 µg/l.

Kaip matyti, antibiotikų nustatymui žaliaviniame piene skiriama pakankamai dėmesio. Nepaisant to, žinomi atvejai, kai penicilino likučių aptinkama ir pieno produktuose. Tyrimų, kaip produktų gamybos technologinių procesų metu (jeigu antibiotikų netikėtai pateko į pieną) kinta įvairūs antibiotikai, labai mažai.

Lenkijoje ir JAV atlikti tyrimai rodo, kad kai kurių antibiotikų kiekiai gali sumažėti po terminio pieno apdoravimo arba veikiant atitinkamais fermentais (Krasauskaitė, 1991).

Žinomi tyrimai, kurių metu nustatyta penicilino likučio (0,3 TV), esančio piene, įtaka jogurto kokybei. Gauti rezultatai parodė, kad toks mažas penicilino aktyviosios medžiagos kiekis neturi įtakos jogurto technologinio proceso trukmei, konsistencijai bei skoniui (Maciejaska, Czarnocka Rocznikowa, 1989).

Taip pat tyrimais nustatyta, kad ne tik antibiotikai veikia pieno rūgšties bakterijas trukdydami joms vystytis, bet ir bakterijos gali sumažinti antibiotikų veikliąją medžiagą. Tačiau tokiam poveikiui turi būti atitinkamos sąlygos. Nustatyta, kad laikant pieną su penicilino likučiais ir bakterijomis šaltai (4 ir 10 °C temperatūroje) penicilino veikliosios medžiagos kiekis reikšmingai nesumažėjo. Tačiau laikant 30 °C temperatūroje penicilino veiklioji medžiaga sumažėjo labai ryškiai (Champagne, 1992). Matyt, tai susiję su pieno rūgšties bakterijų atliekama fermentacija. Laikant 48 val. šaltai pieno rūgšties bakterijos nesivystė, todėl penicilino veikliajai medžiagai įtakos neturėjo, o laikant 30 °C temperatūroje 48 val. bakterijoms vystantis penicilino veikliosios medžiagos kiekis sumažėjo.

Keli darbai nustatant antibiotikų veikliosios medžiagos pokyčius technologinių procesų metu gaminant pieno produktus yra atlikti Lietuvos žemės ūkio universiteto (LŽŪU) Žemės ūkio produktų kokybės tyrimų laboratorijoje bendradarbiaujant su VĮ „Pieno tyrimai“ ir Kauno technologijos universiteto (KTU) Maisto instituto Mikrobiologijos laboratorija.

Imunofermentinės analizės metodu (ELISA), kurio tikslumas 0,01 ng/ml, buvo ištirtas antibiotiko chloramfenikolio kitimas pieno produktų gamybos metu (veikiant įvairiai terminio apdoravimo temperatūrai, laikant pieną 8 °C temperatūroje, raugiant pieno produktus ir kt.). Nustatyta, kad nei vienas technologinis procesas chloramfenikolio koncentracijos nepakeitė (Urbienė, Savickis, Stančikas ir kt., 2009). Matyt chloramfenikolis pasižymi itin aukštu stabilumo laipsniu, ir temperatūros, mechaniniai bei biotechnologiniai poveikiai šio antibiotiko aktyvumo nepakeitė.

Kitas darbas atliktas siekiant nustatyti veikliosios tetraciklino medžiagos pokytį taikant mikrobiologinį metodą.

Difuzijos į agarą metodu buvo ištirta pieno gamybos technologinių veiksnių įtaka antibiotiko tetraciklino aktyviosios medžiagos pokyčiams. Pieno mėginiai, kuriuose

tetraciklino aktyviosios medžiagos buvo 0,015 mg/ml, buvo veikiami tokiais technologiniais veiksniais: pasterizuojami keičiant pasterizacijos temperatūrą nuo 63 iki 85 °C, keičiamas laikymo laikas nuo 0 iki 25 min. esant 90 °C temperatūrai, laikomi 7–8 °C temperatūroje 72 val., užšaldomi (–20 °C) ir atšildomi (+10 °C), homogenizuojami bei rauginami. Nustatyta, kad visų technologinių procesų metu tetraciklino veiklioji medžiaga sumažėjo (Urbienė, Šarkinas, Jonavičius, 2009). Kadangi piene dažnai aptinkama penicilino likučių, todėl svarbu žinoti penicilino stabilumą technologinių procesų metu.

Šio darbo tikslas buvo taikant difuzijos į agarą metodą įvertinti pagrindinių pieno fizikinių-cheminių ir biotechnologinių veiksnių įtaką penicilino stabilumui, t. y. jo aktyviosios medžiagos pokyčiams.

TYRIMŲ SĄLYGOS IR METODAI

Darbas atliktas Lietuvos žemės ūkio universiteto Žemės ūkio produktų kokybės tyrimo laboratorijoje ir Kauno technologijos universiteto Maisto instituto Mikrobiologijos laboratorijoje 2009–2010 metais.

Tyrimams buvo naudotas šviežias pienas, gautas iš Lietuvos žemės ūkio universiteto bandomojo ūkio karvių fermos. Į pieno mėginius buvo dedami žinomi penicilino veikliosios medžiagos kiekiai.

Kadangi tyrimų tikslas buvo nustatyti, ar technologinių ir biotechnologinių procesų metu gali pakisti penicilino veiklioji medžiaga, todėl LŽŪU Žemės ūkio produktų kokybės tyrimų laboratorijoje pieno mėginiai (su žinomu penicilino veikliosios medžiagos kiekiu) buvo veikiami tokiais veiksniais:

- laikomi 8 °C temperatūroje iki 72 val.;
- pasterizuojami esant skirtingoms temperatūroms (63, 72, 80, 85 °C nelaikant);
- pasterizuojami 85 °C temperatūroje nelaikant ir laikant mėginius iki 15 min.;
- veikiami mechanškai, panaudojant laboratorinį homogenizatorių (MPW-302), iki 5 min.;
- keičiamos struktūrinės pieno koloidinės sistemos savybės mėginius užšaldant (–20 °C) ir juos atšildant (+10 °C);
- laikant užšaldytus mėginius iki 30 parų;
- vykdomi biotechnologiniai procesai su įvairiomis pieno rūgšties bakterijomis, panaudojant raugus, skirtus kefyro (DT 1000 l), jogurto (YC-380), rūgpienio (CHN-19) gamybai. Rauginimo procesas buvo vykdomas pridodant 5 % grynų pieno rūgšties bakterijų kultūrų raugo.

Tyrimams naudojami raugai buvo gauti iš Chr. Hansen laboratorijos (Danija).

LŽŪU Žemės ūkio produktų kokybės tyrimų laboratorijoje mėginiai su penicilino priedu, paveikti įvairiais technologiniais veiksniais, buvo atšaldomi iki +10 °C temperatūros ir toliau tiriami KTU Maisto instituto Mikrobiologijos laboratorijoje.

Technologinių veiksnių įtakai penicilino likučiams piene įvertinti taikytas difuzijos į agarą metodas ir dvi testavimo kultūros: *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*. Šie mikroorganizmai buvo parinkti kaip tinkami įvertinant penicilino aktyviosios medžiagos pokyčius.

Vertinant antibakterinį aktyvumą difuzijos į agarą metodu bakterijų kultūros 18 valandų auginamos 37 °C temperatūroje ant nuožulnaus agaro. Nuplauta bakterijų suspensija praskiedžiama pagal Mc Farland standartą Nr. 0,5, gerai permaišoma minipustykle. Atitinkamas skaičius ląstelių supilama į ištirpintą ir atvėsintą iki 47 °C temperatūros agarizuotą terpę bendram mikroorganizmų skaičiui nustatyti, dar kartą gerai pamaišoma, kad ląstelės tolygiai pasiskirstytų. Tokiu būdu paruoštas bakterijų ląstelių suspensijos mišinys su terpe išpilstomas po 10 ml į 90 mm skersmens stiklines Petri lėkšteles. Terpei sustingus, joje padaromos 6 įdubos (8 mm skersmens), į kurias įpilama 50 µl tiriamojo pieno mėginio.

Mėginiai 24 valandas buvo laikomi 37 °C temperatūroje. Po to išmatuotos susidariusios skaidrios zonos.

Penicilino aktyviosios medžiagos pokytis vertinamas pagal antimikrobinį poveikį bakterijų kultūroms (*Bacillus subtilis* ir *Micrococcus luteus*) po 24 valandų, pagal skaidrių slopinimo zonų, susidariusių aplink įdubas, skersmenį, išreiškiamą milimetrais. Mažesnės skaidrios zonos, susidariusios aplink įdubas, reiškia, kad tirtos medžiagos koncentracija sumažėjusi ir ji daro mažesnę baktericidinį poveikį pasirinktoms *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* bakterijoms. Teigiama, kad penicilino likučių nustatymo metodo tikslumas yra 0,01 TV/g (Šarkinas, Jasinauskaitė, 1997).

Įvertinant penicilino aktyviosios medžiagos pokytį dėl įvairių technologinių veiksnių, slopinimo zonos nustatytos apskaičiuojant aritmetinį vidurkį iš 3-ų serijų pakartojimo.

Duomenys statistškai apdoroti. Tam tikslui panaudota regresinė analizė.

Mėginių rodiklių skirtumų patikimumas (P) buvo nustatytas pagal Studento kriterijų. Kai kurių procesų tyrimų rezultatams apdoroti panaudota regresinė analizė.

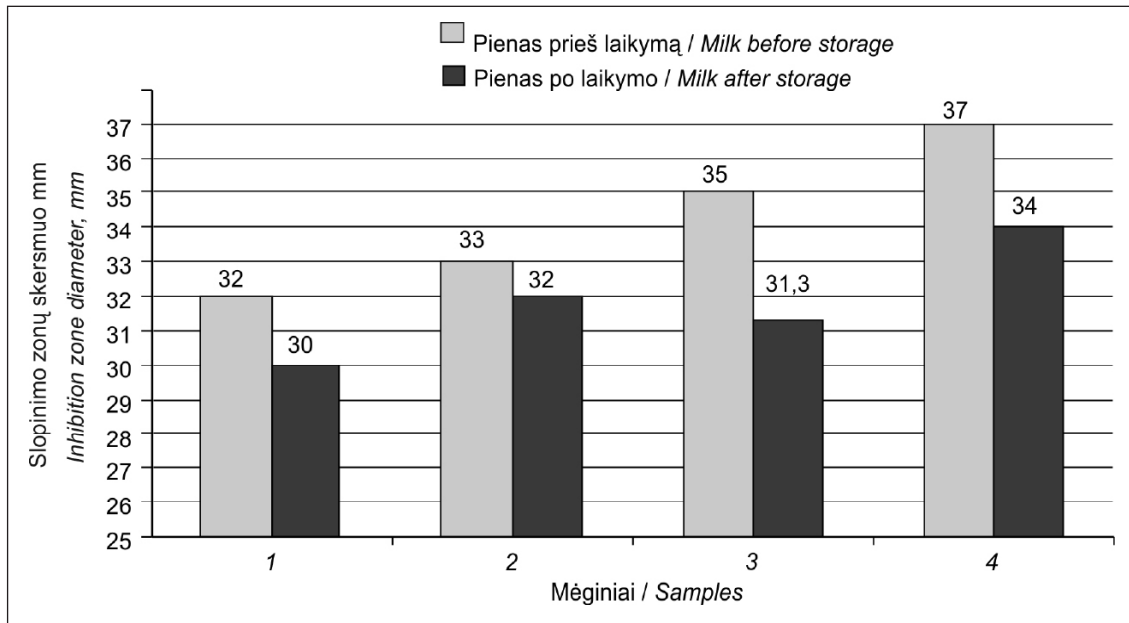
TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

Žaliaviniam pienui patekus į pieno perdurbimo įmonę vienas pirminių procesų yra atšaldyto pieno laikymas. Pienas gali būti atšaldytas iki 6–8 °C temperatūros.

Todėl pirmoje tyrimų dalyje buvo nustatyta atšaldyto pieno laikymo įtaka penicilino veikliosios medžiagos pokyčiui su testavimo kultūra *Bacillus subtilis*.

Į pieno mėginius buvo dėta skirtingas penicilino veikliosios medžiagos kiekis – nuo 40 iki 280 TV/100 ml pieno. Mėginiai ištirti prieš laikymą ir po laikymo 72 val. 8 °C temperatūroje.

Tyrimas buvo atliekamas panaudojant testavimo kultūrą *Bacillus subtilis*. Slopinimo zonų skirtumas ištyrus mėginius prieš laikymą ir po 72 val. rodo, kad po laikymo slopinimo zonos sumažėjo (1 pav.).



1 pav. Pieno laikymo įtaka penicilino antimikrobiniam poveikiui (pagal slopinimo zonas su testavimo kultūra *Bacillus subtilis*, kai veikliosios medžiagos mėginiuose yra: 1 – 40 TV/100 ml; 2 – 200 TV/100 ml; 3 – 280 TV/100 ml; 4 – 480 TV/100 ml)

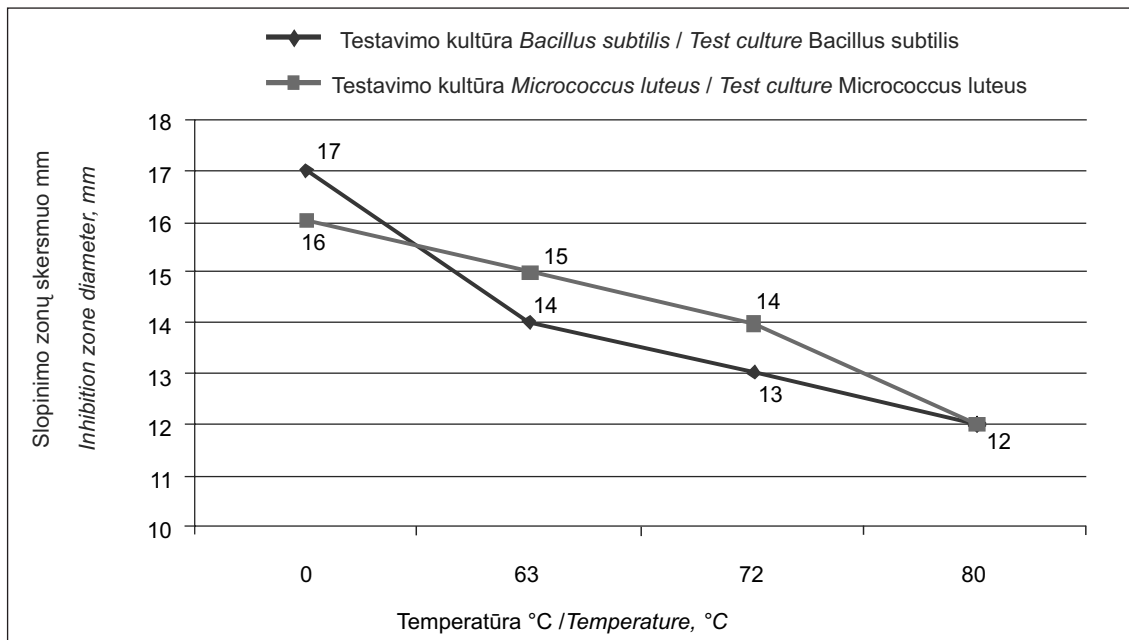
Fig. 1. Influence of milk storage on penicillin antimicrobial effect intensity (according to inhibition zones with *Bacillus subtilis* test culture at the antimicrobial substance quantity in samples: 1 – 40 TV/100 ml; 2 – 200 TV/100 ml; 3 – 280 TV/100 ml; 4 – 480 TV/100 ml)

Gauti rezultatai leidžia daryti neabejotiną išvadą, kad laikant pieno mėginius su penicilinu, jo veiklioji medžiaga sumažėja nuo 3,2 iki 10,3 %.

Tiesioginės priklausomybės tarp veikliosios medžiagos sumažėjimo ir jos kiekio pieno mėginiuose nenustatyta. Apskaičiavus veikliosios medžiagos sumažėjimą mėginiuose nuo 40 iki 280 TV/100 ml gauta, kad laikymo metu penicilino veikliosios medžiagos sumažėjimo vidurkis yra 6,6 %.

Analogiški rezultatai gauti ir su testavimo kultūra *Micrococcus luteus*.

Kita tyrimų dalis buvo skirta nustatyti pieno terminio apdorojimo įtakai penicilino veikliajai medžiagai. Esant skirtingoms temperatūroms (0, 63, 72, 80 °C) pasteurizuoti mėginiai, kuriuose penicilino veikliosios medžiagos kiekis vienodas (15 TV/100 ml), buvo testuojami su dviem kultūromis (*Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*). Gauti rezultatai (slopinimo zonų vidurkiai) parodyti 2 pav.



2 pav. Pasterizavimo temperatūros įtaka penicilino antimikrobiniam poveikiui su testavimo kultūromis *B. subtilis* ir *M. luteus*

Fig. 2. Impact of pasteurization temperature on the intensity of penicillin antimicrobial effect with *B. subtilis* and *M. luteus* test cultures

Tyrimų rezultatai rodo, kad naudojant abi testavimo kultūras slopinimo zonų skersmuo priklauso nuo temperatūros poveikio. Kuo temperatūra aukštesnė, tuo slopinimo zonų skersmuo mažesnis. Tai rodo, kad kuo aukštesnė temperatūra, tuo didesnė jos įtaka penicilino aktyviosios medžiagos kiekio sumažėjimui.

Gautų rezultatų analizė, įvertinant penicilino veikliosios medžiagos kiekio sumažėjimo zonas, pateikiama 1 lentelėje. Duomenų analizė atlikta kiekvienos pasterizacijos įtaką lyginant su nepasterizuotais mėginiais.

Matyti, kad didėjant pasterizavimo temperatūrai penicilino aktyvioji medžiaga yra slopinama gana efektyviai.

Pasterizavus mėginius 80 °C temperatūroje su abiem testavimo kultūromis penicilino veiklioji medžiaga sumažėja iki 25–29,41 %.

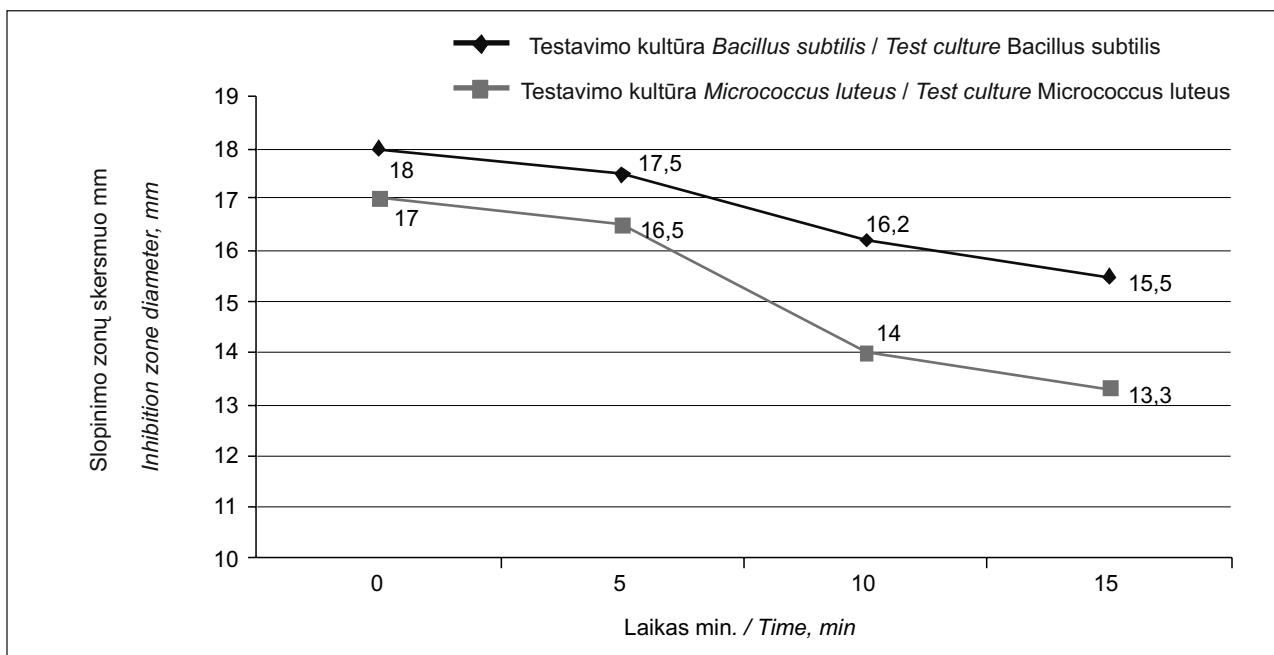
Atskira tyrimų serija buvo skirta nustatyti temperatūros įtakai penicilino aktyviajai medžiagai poveikis, kai kinta (ilgėja) laikymo laikas esant tai pačiai temperatūrai. Penicilino veikliosios medžiagos mėginiuose buvo 15 TV/100 ml. Tuo tikslu buvo pasirinkta mėginių su penicilinu pasterizavimo 85 °C temperatūra laikant iki 15 min.

Gauti rezultatai rodo, kad ilgėjant laikymo laikui slopinimo zonos mažėja. Palyginus kiekvieno mėginio su skirtingu laikymo laiku rezultatus su kontroliniu mėginiu (2 lentelė)

1 lentelė. Penicilino veiklioji medžiaga (%) esant skirtingoms pasterizavimo temperatūroms

Table 1. Reduction of penicillin active substance at different pasteurization temperature (%)

Pasterizavimo temperatūra °C Pasteurization temperature, °C	Testavimo kultūra / Test culture	
	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Micrococcus luteus</i>
	Veikliosios medžiagos kiekio sumažėjimas % / Reduction of active substance content, %	
Nepasterizuoti mėginiai / Non-pasteurized samples	0	0
63	17,65	6,25
72	23,53	12,5
80	29,41	25



3 pav. Pasterizavimo 85 °C temperatūros su skirtingu laikymo laiku įtaka penicilino antimikrobinio poveikio sumažinimui naudojant testavimo kultūras *B. subtilis* ir *M. luteus*

Fig. 3. Influence of pasteurization at 85 °C with different keeping time on the reduction of penicillin antimicrobial effect with *B. subtilis* and *M. luteus* test cultures

2 lentelė. Penicilino veikliosios medžiagos sumažėjimas (%) esant tai pačiai (85 °C) temperatūrai, bet skirtingam temperatūros poveikio laikui

Table 2. Reduction of penicillin active substance at the same temperature (85 °C), but at different keeping time (%)

Pasterizavimo laikas min. Pasteurization time, min	Testavimo kultūra / Test culture	
	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Micrococcus luteus</i>
	Veikliosios medžiagos kiekio sumažėjimas % / Reduction of active substance content, %	
0	0	0
5	2,8	2,34
10	10	17,65
15	13,9	21,76

matyti, kad ilgėjant laikymo laikui penicilino veikliosios medžiagos kiekio sumažėjimas (%) didėja. Mėginiuose, laikytuose 15 min. 85 °C temperatūroje, palyginti tik su pasteurizuotais mėginiais, penicilino aktyviosios medžiagos sumažėja ~14 % su *B. subtilis* ir apie ~22 % su *M. luteus*.

Gaminant įvairius pieno produktus pienas patiria nemažą mechaninį poveikį. Jis yra valomas (veikia separatorius – centrifuga), separuojamas (veikia separatorius), homogenizuojamas (veikiant dideliame slėgiui – iki 25 MPa). Keičiantis procesams pienas perduodamas siurbliais, taip pat mechanškai veikiančiais pienu, todėl buvo svarbu nustatyti galimą mechaninį poveikį penicilino veikliajai medžiagai. Dėl to laboratorinėmis sąlygomis mėginiai su penicilinu buvo skirtingai paveikti mechanškai: naudojamas laboratorinis homogenizatorius (MPV-302) ir keičiamas poveikio laikas nuo 1 iki 3 min. Penicilino aktyviosios medžiagos mechaninio apdorojimo tyrimui mėginiuose buvo 15 TV/100 ml.

Gauti rezultatai (4 pav.) rodo, kad dėl mechaninio poveikio sumažėja penicilino aktyviosios medžiagos kiekis. Šis sumažėjimas priklauso nuo poveikio laiko. Didėjant poveikio laikui slopinimo zonų skersmuo mažėja. Mėginiuose po 3 min. apdorojimo (veikiant mėginius laboratoriniu homogenizatoriumi), palyginus su mechanškai neapdorotais mėginiais, slopinimo zonos sumažėja 23,6 % (su *B. subtilis*) ir 12,5 % (su *M. luteus*). Iš gautų rezultatų galima spręsti, kad gaminant pieno produktus, kai būtina homogenizacija, mechaninis poveikis bus gerokai stipresnis negu veikiant mėginius laboratoriniu homogenizatoriumi. Todėl, reikia manyti, penicilino aktyvioji medžiaga bus ardoma intensyviau.

Gaminant valgomuosius ledus, sudarytas mišinys yra sušaldomas iki minusinių temperatūrų. Šioje gamyboje sušaldymo procesas yra vienas svarbiausių technologinių veiksnių. Todėl buvo atlikta serija bandymų, kurių metu

nustatyta, ar pieno mišinio koloidinės sistemos pokyčiai užšalimo (iki –20 °C) ir atšildymo (iki +8 °C) metu veikia penicilino aktyviąją medžiagą. Tuo tikslu mėginiai su skirtingu penicilino veikliosios medžiagos kiekiu (1 – 80 TV/100 ml, 2 – 200 TV/100 ml, 3 – 800 TV/100 ml, 4 – 1 000 TV/100 ml) buvo padalyti į dvi dalis. Viena dalis buvo laikoma +8 °C temperatūroje, o kita – užšaldyta iki –20 °C temperatūros, palaikyta 24 val. ir atšildyta iki +8 °C temperatūros. Laikas nuo mėginio paruošimo iki penicilino veikliosios medžiagos nustatymo visuose mėginiuose buvo vienodas – 72 val. Antimikrobinio poveikio tyrimai buvo atlikti panaudojant testavimo kultūrą *B. subtilis*. Gauti rezultatai parodyti 5 pav.

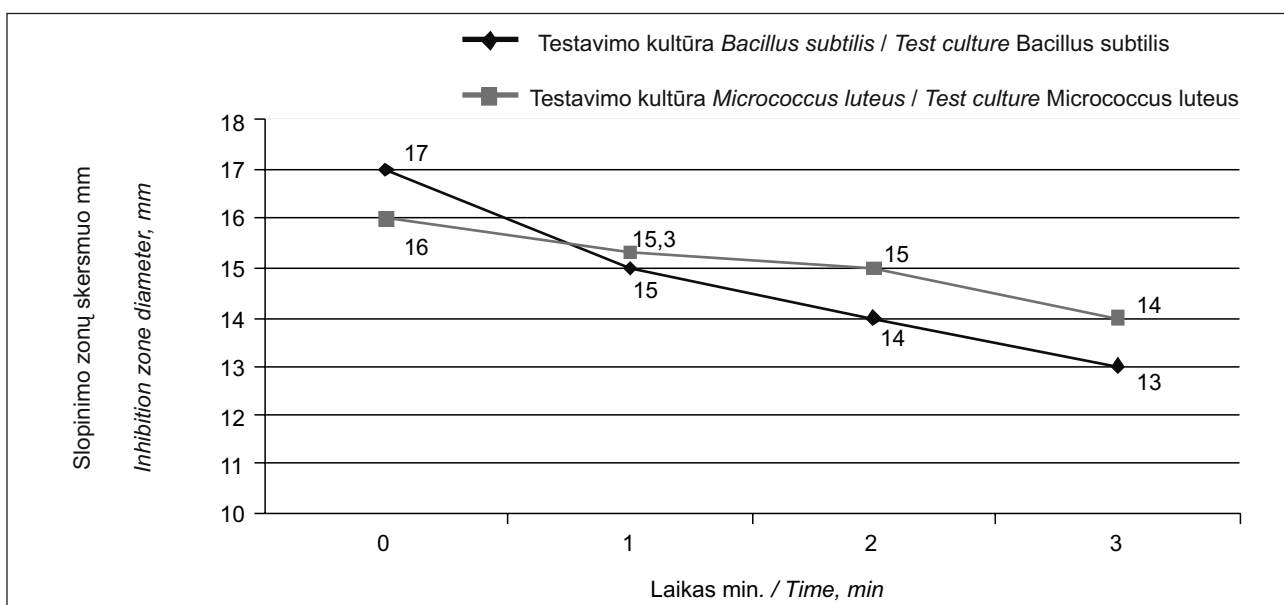
Gauti rezultatai neabejotinai rodo, kad užšaldymas turi įtakos penicilino veikliajai medžiagai. Visuose užšaldytuose mėginiuose penicilino veikliosios medžiagos kiekis sumažėjo nuo 9,25 iki 20,3 %. Sumažėjimas buvo efektyvesnis, kai penicilino veikliosios medžiagos mėginiuose buvo mažiau.

Kadangi valgomieji ledai po pagaminimo ilgą laiką yra laikomi minusinėje temperatūroje, todėl svarbu ištirti, ar ilgo laikymo metu kinta penicilino aktyvioji medžiaga.

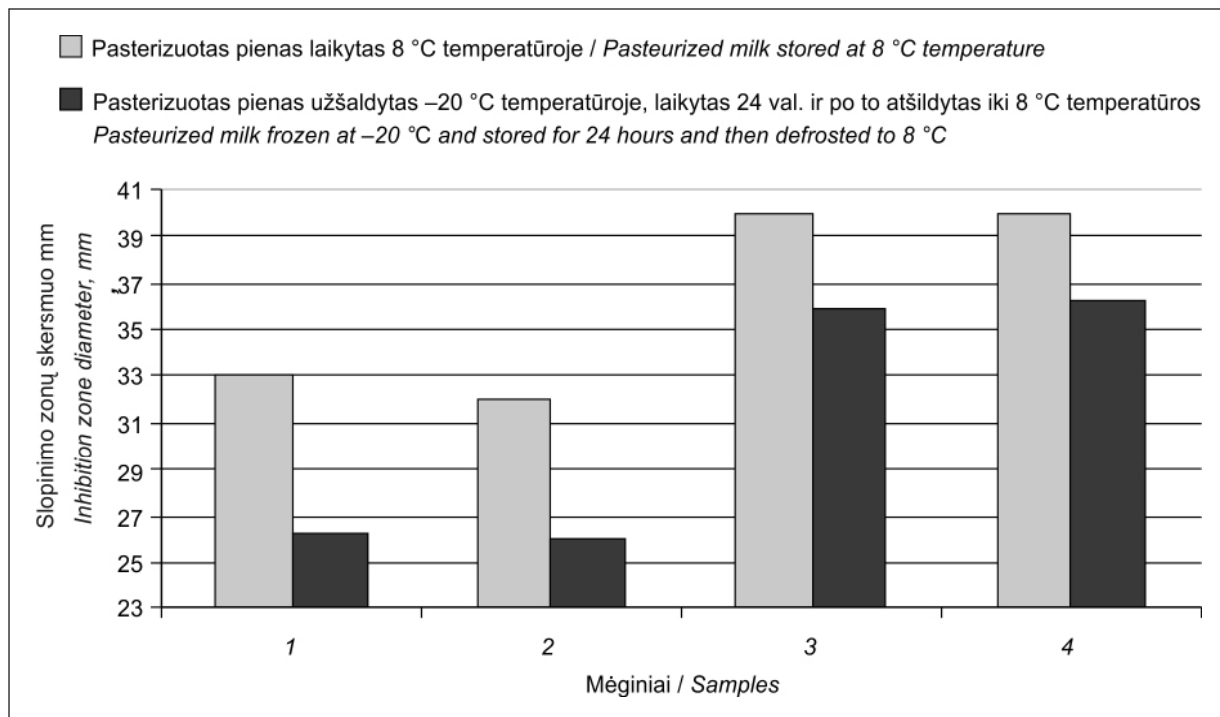
Mėginiai su 15 TV/100 ml penicilino aktyviosios medžiagos buvo užšaldyti iki –20 °C temperatūros ir laikomi 25 paras. Penicilino veikliosios medžiagos pokyčiai buvo stebimi visas 25 paras. Šie tyrimai buvo atlikti su dviem testavimo kultūromis *B. subtilis* ir *M. luteus*.

Tyrimų rezultatai parodyti 6 pav. Matyti, kad laikant užšaldytus mėginius penicilino veiklioji medžiaga palaipsniui mažėja. Po 15 parų laikymo penicilino likučių, taikant difuzijos į agarą metodą, nebeįmanoma aptikti. Iš gautų rezultatų galima padaryti išvadą, kad laikant mėginius minusinėje temperatūroje penicilino veiklioji medžiaga suyra.

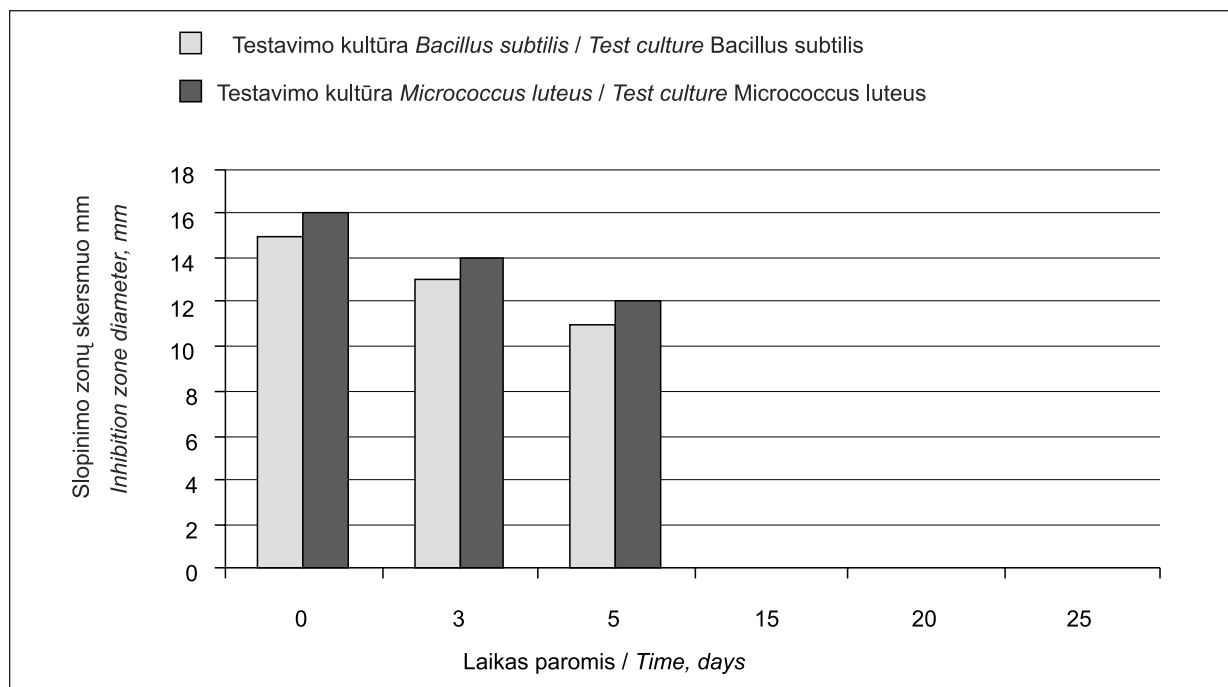
Dar viena tyrimų serija buvo atlikta siekiant nustatyti biotechnologinių procesų poveikį (t. y. pieno rūgšties



4 pav. Mechaninio apdorojimo įtaka penicilino antimikrobiniam poveikiui su testavimo kultūromis *Bacillus subtilis* ir *Micrococcus luteus* kintant apdorojimo laikui
Fig. 4. Impact of mechanical processing on the intensity of penicillin antimicrobial effect with *Bacillus subtilis* and *Micrococcus luteus* test cultures at different processing time



5 pav. Užšaldymo iki $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ir atšildymo iki $+8\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros įtaka penicilino antimikrobiniam poveikiui su testavimo kultūra *B. subtilis*
 Fig. 5. Impact of freezing at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ and defrosting at $+8\text{ }^{\circ}\text{C}$ on the intensity of penicillin antimicrobial effect with *Bacillus subtilis* test culture

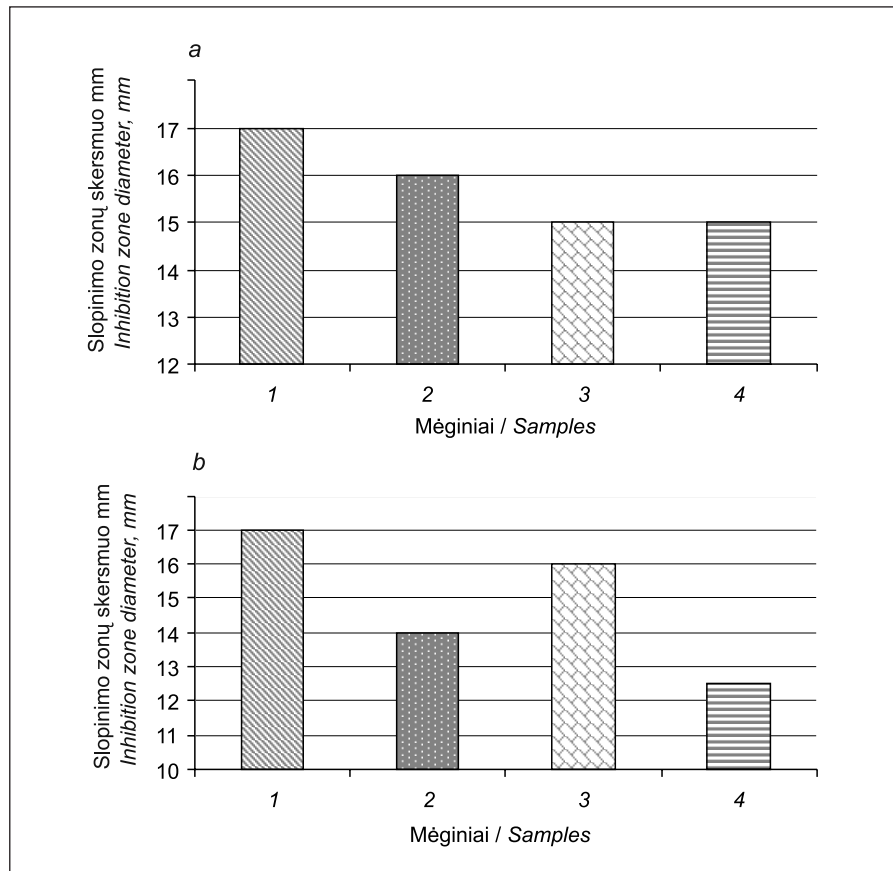


6 pav. Užšaldytų ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje) mėginių laikymo įtaka penicilino antimikrobiniam poveikiui su testavimo kultūromis *B. subtilis* ir *M. luteus*
 Fig. 6. Influence of storage of frozen ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) samples on the intensity of penicillin antimicrobial effect with *Bacillus subtilis* and *Micrococcus luteus* test cultures

bakterijų vystymosi įtaką) penicilino aktyviajai medžiagai. Tam tikslui pasiekti pieno mėginiai su skirtingais raugais buvo rauginami iki rūgštinės struktūros susidarymo. Penicilino aktyviosios medžiagos tyrimai buvo atliekami mėginiuose prieš rauginant ir po jo.

Šioje tyrimų serijoje taip pat buvo naudojamos abi testavimo kultūros (*B. subtilis* ir *M. luteus*). Tyrimų re-

zultatai (7 pav.) rodo, kad po surauginimo (po 24 val.) penicilino veikliosios medžiagos sumažėjo. Sumažėjimo procentas priklausė nuo raugų sudarančių pieno rūgšties bakterijų. Išanalizavus tyrimų rezultatus su testavimo kultūra *B. subtilis* (7 pav., a) gauta, kad vystantis kefyro raugą (DT 1 000 l) sudarančioms mezofilinėms bakterijoms penicilino aktyviosios medžiagos sumažėjo tik



7 pav. Pieno rūgšties bakterijų vystymosi įtaka penicilino antimikrobiniam poveikiui su testavimo kultūromis: a – *Bacillus subtilis*, b – *Micrococcus luteus*. Mėginiai: 1 – kontroliniai prieš rauginimą; 2 – su kefyro raugu (DT 1 000 l); 3 – su rūgšpio raugu (YC-380); 4 – su CHN-19 raugu

Fig. 7. Influence of the development of lactic acid bacteria on the intensity of penicillin antimicrobial effect with *Bacillus subtilis* and *Micrococcus luteus* test cultures. Samples: 1 – tests before fermentation; 2 – samples with kefir ferment (DT 1 000 l); 3 – samples with sour milk ferment (YC-380); 4 – samples with CHN-19 ferment

5,9 %, vystantis jogurtinį raugą (YC-380) sudarančioms termofilinėms bakterijoms – 11,8 %. Analogiškas poveikis penicilino aktyviajai medžiagai gautas ir su raugu CHN-19 (7 pav., a). Panaudojus testavimo kultūrą *Micrococcus luteus* (7 pav., b) nustatyta, kad penicilino aktyvioji medžiaga, palyginti su *B. subtilis*, paveikiama kur kas efektyviau: kefyro raugu DT 1 000 l – 17,7 %, YC-380 raugu – 17,7 % ir raugu CHN-19 – 29,5 %.

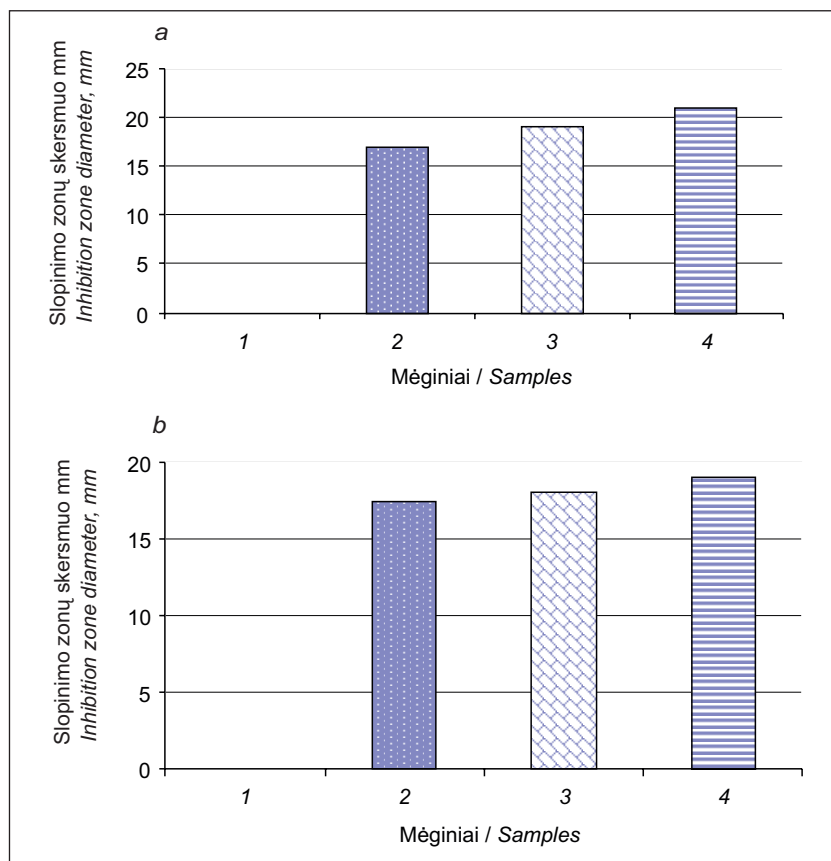
Iš literatūros analizės žinoma, kad pieno rūgšties bakterijos skaldo toksiškas medžiagas (mikotoksinus, nitratus, nitritus ir kt.) (Jasutienė, Garmienė, Kulikauskienė, 2003; Urbienė, Stankevičiūtė, 2003; Urbienė, 2010; Urbienė, Šarkinas, Jonavičius, 2009), todėl penicilino veikliosios medžiagos kiekio sumažėjimas vystantis pieno rūgšties bakterijoms, nustatytas su testavimo kultūromis *B. subtilis* ir *M. luteus*, papildė žinomus literatūros duomenis. Be to, tyrimų rezultatai rodo, kad nustatytos slopinimo zonos priklauso nuo pieno rūgšties bakterijų vystymosi intensyvumo, kurį netiesiogiai parodo mėginiuose rauginimo procesu susidariusi pieno rūgštis. Mėginiuose su

raugu DT 1 000 l pieno rūgšties buvo mažiausiai (0,33 %), o su raugu CHN-19 – daugiausiai (0,48 %).

Siekiant tiksliau nustatyti pieno rūgšties bakterijų vystymosi poveikį penicilino veikliajai medžiagai ir paaiškinti 7 pav. parodytus rezultatus (skirtumus tarp testavimo kultūrų) buvo nustatyta pieno rūgšties bakterijų vystymosi surauginant mėginius be penicilino įtaka testavimo kultūroms.

Rezultatai (8 pav.) paaiškina tyrimų duomenis, parodytus 7 pav. Matyti, kad pieno rūgšties bakterijos turi įtakos slopinimo zonų susidarymui. Mažiausios slopinimo zonos gautos mėginiuose, surauginuose su DT 1 000 l raugu, didesnės – su raugu YC-380 ir didžiausios – su CHN-19 raugu. Slopinimo zonų skirtumas (7 ir 8 pav.) susidaro dėl to, kad penicilinas sumažina pieno rūgšties bakterijų vystymąsi (tai rodo mėginiuose po surauginimo per 24 val. susidaręs pieno rūgšties kiekis, 3 lentelė).

Iš pateiktų duomenų matyti, kad mėginiuose su penicilinu, palyginti su mėginiais be penicilino, naudojant skirtingas pieno rūgšties bakterijas (raugus), susidariusios pieno rūgšties kiekis sumažėja nuo 11,1 iki 28,3 %.



8 pav. Pieno rūgšties bakterijų vystymosi poveikis slopinimo zonų susidarymui su testavimo kultūromis: a – *B. subtilis*, b – *M. luteus*. Mėginiai: 1 – kontrolinis pienas be penicilino; 2 – su kefyro raugu (DT 1 000 l); 3 – su rūgpienio raugu (YC-380); 4 – su CHN-19 raugu

Fig. 8. Influence of development of lactic acid bacteria on the composition of inhibition zones with a) *Bacillus subtilis* and b) *Micrococcus luteus* test cultures. Samples: 1 – milk without penicillin; 2 – samples with kefir ferment (DT 1 000 l); 3 – samples with sour milk ferment (YC-380); 4 – samples with CHN-19 ferment

Gauti rezultatai parodė, kad slopinimo zonos priklauso nuo pieno rūgšties bakterijų aktyvumo. Mėginiuose, kuriuose buvo daugiau pieno rūgšties, slopinimo zonos buvo didesnės.

Paaiškėjo, kad ne tik penicilinas, bet ir pieno rūgšties bakterijos turi įtakos slopinimo zonų susidarymui. Todėl tyrimų rezultatai (slopinimo zonos), parodyti 7 pav., atspindi dviejų veiksnių įtaką: pieno rūgšties bakterijų vystymosi ir penicilino. Manome, kad 7 pav. parodytos slopinimo zonos turėtų būti kur kas mažesnės, t. y. penicilino veikliosios medžiagos turėtų būti gerokai mažiau. Todėl šiuo metodu tiksliai įvertinti pieno rūgšties bak-

terijų vystymosi įtaką penicilino aktyviosios medžiagos sumažėjimui negalėjome.

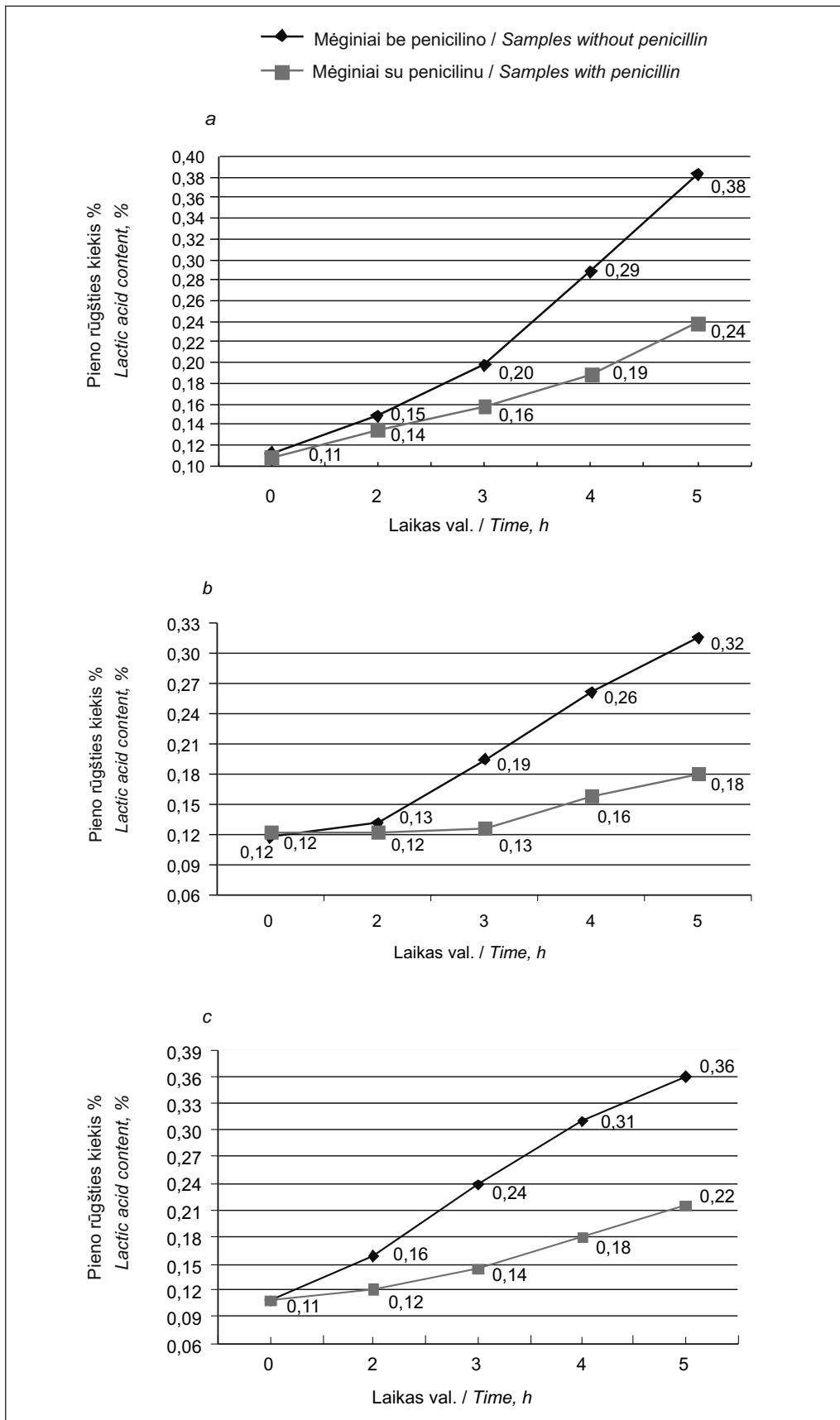
Nustatyta, kaip penicilinas veikia pieno rūgšties bakterijų vystymąsi rauginimo proceso pradžioje (per 5 val.). Pieno rūgšties susidarymas rauginimo procesu mėginiuose su penicilinu ir be jo pavaizduotas 9 pav. Gauti rezultatai rodo, kad mėginiuose su penicilinu pieno rūgštis susidarė gerokai lėčiau.

Praėjus 5 val. nuo proceso pradžios rauginant su DT 1000 l raugu pieno rūgšties mėginiuose su penicilinu susidarė 36,84 %, su YC-380 raugu – 43,75 %, o su CHN-19 raugu – 38,9 % mažiau.

3 lentelė. Pieno rūgštis, susidariusi mėginiuose per 24 val., %

Table 3. Amount of lactic acid in samples to form in 24 hours, %

Mėginiai / Samples	Raugai / Ferments		
	DT-1 000 l	YC-380	CHN-19
Mėginiai be penicilino / Samples without penicillin	0,46	0,56	0,58
Mėginiai su penicilinu / Samples with penicillin	0,33	0,42	0,48
Pieno rūgšties sumažėjimas % / Reduction of lactic acid, %	28,3	25	11,1



9 pav. Pieno rūgšties susidarymas per 5 val.: a – rauginant su kefyro raugu (DT 1 000 l); b – rauginant su rūgpienio raugu (YC-380); c – rauginant su CHN-19 raugu

Fig. 9. Amount of lactic acid within 5 hours: a – with kefir ferment (DT 1 000 l); b – with sour milk ferment (YC-380); c – with CHN-19 ferment

Taigi penicilino likučiai piene prailgina technologinių procesų laiką gaminant įvairius raugintus pieno produktus.

Siekdami įvertinti pieno rūgšties susidarymo greičio kinetiką, gautus tyrimų rezultatus aproksimavome. Gavome, kad pieno rūgšties susidarymas (y) laiko (t) atžvilgiu priklauso nuo panaudotų pieno rūgšties bakterijų ir vyksta pagal šias aproksimuotas lygtis:

Raugas DT 1 000 l:
mėginys be penicilino

$$y_1 = 0,0112 t^2 + 0,0005 t + 0,1008 \quad R_1^2 = 0,99 \quad (1)$$

mėginys su penicilinu

$$y_2 = 0,0039 t^2 + 0,0084 t + 0,0981 \quad R_2^2 = 0,99 \quad (2)$$

Diferencijuodami gautas lygtis nustatome pieno rūgšties susidarymo greitį per pirmąsias 5 proceso valandas. Jį surandame taip:

mėginys be penicilino

$$v_1 = \frac{dy_1}{dt} = 0,0224t - 0,0005; \quad (3)$$

mėginys su penicilinu

$$v_2 = \frac{dy_2}{dt} = 0,0078t - 0,0084. \quad (4)$$

Analogiškai surandame pieno rūgšties susidarymo proceso greitį, kai rauginimui naudojamas YC-380 raugas:

mėginys be penicilino

$$y_3 = 0,0061 t^2 + 0,016 t + 0,0882 \quad R_3^2 = 0,99 \quad (5)$$

mėginys su penicilinu

$$y_4 = 0,0051 t^2 - 0,0156 t + 0,1314 \quad R_4^2 = 0,98 \quad (6)$$

Išdiferencijavus šias lygtis gautas pieno rūgšties susidarymo greitis yra:

mėginys be penicilino

$$v_3 = \frac{dy_3}{dt} = 0,0122t + 0,016; \quad (7)$$

mėginys su penicilinu

$$v_4 = \frac{dy_4}{dt} = 0,0102t - 0,0156. \quad (8)$$

Naudojant CHN-19 raugą pieno rūgšties susidarymo procesas vyksta pagal tokias aproksimuotas lygtis:

mėginys be penicilino

$$y_5 = -0,0006 t^2 + 0,0696 t + 0,0333R_5^2 = 0,99; \quad (9)$$

mėginys su penicilinu

$$y_6 = 0,0042 t^2 + 0,0024 t + 0,100 \quad R_6^2 = 0,99. \quad (10)$$

Pieno rūgšties susidarymo greitis yra apskaičiuojamas taip:

mėginys be penicilino

$$v_5 = \frac{dy_5}{dt} = -0,0012t + 0,0696; \quad (11)$$

mėginys su penicilinu

$$v_6 = \frac{dy_6}{dt} = 0,0084t + 0,024. \quad (12)$$

Pasinaudojus gautomis lygtimis galima apskaičiuoti pieno rūgšties susidarymo greitį bet kuriame proceso t momente nuo 1 iki 5 val.

Paanalizavę pieno rūgšties susidarymo greitį po 4 val. mėginiuose su DT 1 000 l raugu gauname, kad:

mėginys be penicilino $v_1 = 0,0891$;

mėginys su penicilinu $v_2 = 0,0228$.

Matyti, kad penicilino priedas mėginiuose pieno rūgšties susidarymo greitį sumažina 3,9 karto.

Panaudoję YC-380 raugą apskaičiavome, kad po 4 val. pieno rūgšties susidarymo greitis buvo:

mėginys be penicilino $v_3 = 0,0648$;

mėginys su penicilinu $v_4 = 0,0252$.

Šiuo atveju penicilino priedas pieno rūgšties susidarymo greitį po 4 val. sumažina tik 2,6 karto.

Naudojant CHN-19 raugą, tuo pačiu proceso laiku pieno rūgšties susidarymo greitis:

mėginys be penicilino $v_5 = 0,0648$;

mėginys su penicilinu $v_6 = 0,0576$.

Mėginiuose su CHN-19 raugu penicilino priedas pieno rūgšties susidarymo greitį po 4 val. sumažina tik 1,1 karto.

IŠVADOS

1. Nustatyta, kad pieno mėginiuose laikymo metu, esant 8 °C temperatūrai, penicilino veiklioji medžiaga per 72 val. sumažėja vidutiniškai 6,6 %.

2. Gauta, kad terminio pieno mėginių apdoravimo metu penicilino veiklioji medžiaga kinta – mažėja. Sumažėjimas priklauso nuo temperatūros. Kuo aukštesnė mėginių apdoravimo temperatūra, tuo labiau sumažėja veiklioji medžiaga. Po 80 °C temperatūros poveikio veiklioji medžiaga sumažėja 25–29,4 %.

3. Mechaninis poveikis mažina penicilino veikliosios medžiagos kiekį. Mėginiuose po 3 min. mechaninio poveikio penicilino veiklioji medžiaga, palyginti su kontroliniais (mechanškai neapdorotais) mėginiais, sumažėja iki 23,6 %.

4. Panaudojus vieną technologinių procesų – mėginių užšaldymą nustatyta, kad užšaldymas esant –20 °C taip pat mažina veikliąją medžiagą. Po 15 parų laikymo užšaldytuose mėginiuose penicilino veikliosios medžiagos neberandama.

5. Gauta, kad biotechnologinių procesų metu, veikiant pieno rūgšties bakterijoms, penicilino veiklioji medžiaga sumažėja iki 29,5 %. Nustatyta, kad penicilino veikliosios me-

džiaugos sumažėjimas priklauso nuo pieno rūgšties bakterijų vystymosi intensyvumo. Intensyviau besivystančios pieno rūgšties bakterijos penicilino aktyviają medžiagą ardo stipriau.

6. Nustatyta, kad penicilino veikioji medžiaga trukdo vystytis pieno rūgšties bakterijoms. Panaudojant regresinę analizę pateikta galimybė nustatyti pieno rūgšties susidarymo greitį bet kuriuo biotechnologiniu procesu.

Gauta 2011 03 07

Priimta 2011 05 03

Literatūra

- Andrade L. R. A., Figueiredo J. B., Lins J. L. F. H. A. 1993. Evaluation of the discharge of antibiotic residues in milk after medication with penicillin and streptomycin in aqueous and oily formulations with dimethyl sulfoxide adjuvant. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*. Vol. 45. N 4. P. 343–351.
- Beckman Sundh U. 1994. Extension of the withholding period for benzylpenicillin procaine preparations. *Svensk Veterinartidning*. Vol. 46. N 8/9. P. 406–407.
- Champagne C. P. 1992. Effect of penicillin on free or immobilized lactococci: milk acidification and residual antibiotic level. *Journal of Food Safety*. Vol. 12. N 4. P. 327–337.
- Funke H. 1994. Time course of benzylpenicillin G residues excretion into milk. *Svensk Veterinartidning*. Vol. 46. N 8/9. P. 385–390.
- Himei R., Koide K., Tsuji I. et al. 1993. Simultaneous determination of penicillins and sulfonamides in milk by high performance liquid chromatography. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan*. Vol. 34. N 5. P. 392–397.
- Jackman R., Chesham J., Mitchell S. J. et al. 1990. Performance of a rapid ELISA for penicillin G in milk. *Journal of the Society of Dairy Technology*. Vol. 43. N 4. P. 93–95.
- Jasutienė I., Garmienė G., Kulikauskienė M. 2003. Aflatoksino M₁ stabilumas jogurto gamybos metu: nustatymas imunofermeninės ir skysčių chromatografijos metodu. *Maisto chemija ir technologija*. T. 37. Nr. 3. P. 34–40.
- Krasauskaitė D. 1991. Antibiotikai neigiamai veikia pieno produktų kokybę. *Pienininkystė*. Nr. 5. P. 14–16.
- Lochbihler E., Usleber E., Terplan G. et al. 1995. Enzyme immunological studies on the occurrence of antibiotics and sulphonamides in Bavarian consumer milk. *Archiv fuer Lebensmittelhygiene*. Vol. 46. N 3. P. 60–62.
- Maciejska A., Czarnocka Rocznikowa B. 1989. Possibilities of utilization of penicillinase-positive strains of *Micrococcus* sp. in the technology of fermented milk products. III. Attempts to utilize penicillinase-positive strains of *Micrococcus* sp. for the manufacture of yohurt. *Acta Alimentaria Polonica*. Vol. 15. N 3. P. 261–266.
- Maris P., Gaudin V. 2002. Report: Proficiency study for the analysis of chloramphenicol residues in milk by ELISA. *AFSSA Fougeres, January*.
- Narkevičiūtė I. 2008. Bakterijų atsparumo antibiotikams problemos. *Gydymo menas*. Nr. 10(157). P. 10–11.
- Rybinska K., Karkocha I. 1992. Determination of antibiotic residues in selected foods of animal origin. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higijene*. Vol. 43. N 3/4. P. 241–244.
- Scortichini G., Annunziata L., Haouet M. N. et al. 2005. ELISA qualitative screening of chloramphenicol in muscle, eggs, honey and milk: method validation according of the Commission Decision 2002/657/ES criteria. *Analysis Chimica Acta*. Vol. 535. P. 43–48.
- Skioeldebrand E., Franklin A., Olofsson B. et al. 1994. Procaine penicillin-an evaluation of the withholding period for milk. *Svensk Veterinartidning*. Vol. 46. N 1. P. 5–10–15.
- Standards Association of Australia. *Food Microbiology. Method 3.11: Examination for Specific Products-dairy Products-test for Penicillin*. Australia Standard; AS 1766, Part 3.11–1991. 1991. 11 p.
- Šalomskienė J., Žvirdauskienė R. 2005. Inhibitorių žaliame karvių piene nustatymo problemos. *Maisto chemija ir technologija*. T. 39. Nr. 2. P. 54–60.
- Šarkinas A. 2005. Bakterijų jautrumo antimikrobinėms medžiagoms priklausomybė nuo kultūrų fiziologinės būklės ir kultivavimo temperatūros. *Maisto chemija ir technologija*. T. 39. Nr. 1. P. 76–81.
- Šarkinas A., Jasinauskaitė D. 1997. Kai kurių maisto produktų užterštumo inhibitoriais pakitimai. *Maisto chemija ir technologija*. T. 31. P. 83–87.
- Urbienė S., Savickis S., Stančikas M. ir kt. 2009. Technologinių veiksnių įtaka chloramfenikolio kiekio kaitai gaminant pieno produktus. *Veterinarija ir zootechnika*. T. 48(70). P. 86–92.
- Urbienė S., Šarkinas A., Jonavičius V. 2009. Pieno perdirbimo procesų įtakos tetraciklino aktyviajai medžiagai įvertinimas difuzijos į agarą metodu. *Maisto chemija ir technologija*. T. 43. Nr. 2. P. 96–105.
- Urbienė S. 2010. Maisto toksikologijos pagrindai. Kaunas: Akademija. 372 p.
- Urbienė S., Stankevičiūtė J. 2003. Sausųjų išrūgų priedo įtaka denitrifikacijos procesams raugintuose pieno produktuose. *Vagos*. Nr. 58(11). P. 118–125.
- Valintėlienė R. 2006. Antibiotikai – didžiulis medicinos išradimas ir nemenka problema. *Farmacija ir laikas*. Nr. 2. P. 30–31.
- Walstra P., Geurts T. J., Noomen A. et al. 1999. *Dairy Technology*. New York: Basel. 727 p.
- Žukauskienė R. 2006. Antibiotikai ir disbiozė: mitai ir tikrovė. *Gydymo menas*. Nr. 05(128). P. 24–25.
- Žvirdauskienė R., Šalomskienė J., Urbšienė L. 2004. Inhibitorinių grupių nustatymas žaliame karvių piene mikrobiologiniais metodais. *Maisto chemija ir technologija*. T. 38. Nr. 2. P. 55–62.
- Muroch V. I. 1991. Lekarstvennyye sredstva, primenjaemye v selskom khozyaystve, kak vozmozhnnyye kontaminanty pishchevykh produktov. *Voprosy pitaniya*. N 6. P. 21–26.
- Šuliak T. L., Korotchenko N. F. 2007. Sovershenstvovaniya metoda opredeleniya ingibiruyushchikh veshchestv v moloche. *Molochnaya promyshlennost*. N 11. P. 26–27.

Antanas Šarkinas, Sigita Urbienė, Andrius Šarka,
Lina Sasnauskaitė

INFLUENCE OF TECHNOLOGICAL FACTORS ON PENICILLIN CONTENT IN DAIRY PRODUCTS

Summary

The influence of dairy technological factors on the content of the active substance of the antibiotic penicillin was studied using the agar diffusion method. Milk samples with a known concentration of penicillin active substance were tested under the following technological conditions: pasteurized by changing the pasteurization temperature from 63 °C to 80 °C, homogenized by changing the preservation time from 0 to 15 min at a temperature of 85 °C, kept at a temperature of 7–8 °C for 72 hours, frozen (–20 °C) and defrosted (+10 °C), and homogenized. Also, changes in penicillin active substance during biotechnological processes (fermentation) were determined.

To evaluate changes in penicillin active substance, the microbiological agar diffusion method of determining the inhibition zone diameter was used.

Changes in the inhibition zone diameter, examined with *Bacillus subtilis* and *Micrococcus luteus* test cultures, indirectly showed the reduction of penicillin active substance.

In milk samples stored at 8 °C, within 72 hours the content of penicillin active substance decreased by 6.6 percent.

During the heat treatment of milk samples, the content of penicillin active substance was found to decrease depending on the temperature: the higher the temperature of the sample treatment, the greater the reduction of the active substance. After treatment at 80 °C, the content of the the active substance decreased by 25 to 29.4 percent.

Freezing at –20 °C was also found to reduce the content of the active substance. After storing for 15 days, penicillin active substance was no longer found in frozen samples.

The way in which penicillin active substance changes during the biotechnological processes was tested. Under the effect of lactic acid bacteria, the content of penicillin active substance decreased by 29.5 percent. The reduction was found to depend on lactic acid bacteria development. An intensive development of lactic acid bacteria eliminates penicillin active substance more rapidly.

Key words: milk, technological factors, penicillin, active substance, agar diffusion method, pasteurization temperature, biotechnological processes, storage at –20 °C and +8 °C