

16. Owen J. A., Waldroup P. W., Mabray C. J., Slagter P. J.: *Poult. Sci.* 60, 418, 1981.
 17. Owings W. J., Sell J. L.: *Poult. Sci.* 61, 1897, 1982.
 18. Potemkowska E., Świerczewska E., Szymkiewicz M.: *Zesz. probl. Post. Nauk rol.* 106, 47, 1970.
 19. Potter L. M., Shelton J. R., Meyer G. B.: *Poult. Sci.* 57, 485, 1978.

20. Przedpelski S.: *Biul. Inf. Przem. Pasz.* 17, 12, 1978.
 21. Sell J. L., Owings W. J.: *Poult. Sci.* 60, 2293, 1981.
 22. Stevens V. J., Blair R., Riddell C.: *Poult. Sci.* 62, 1073, 1983.
 23. Sturkie P. D.: *Fizjologia ptaków*. PWRiL, Warszawa 1970.
 24. Wolszczak J.: *Zesz. probl. Post. Nauk rol.* 117, 199, 1971.

Adres autora: dr Anna Krasnodębska-Depta, ul. Pana Ta-
deusza 4 m. 16, 10-461 Olsztyn

HIGIENA ŻYWNOSCI

CZESŁAW KUREK, KRYSZYNA MILKO, MAREK KACPRZYŃSKI

Ocena testu Penzym w warunkach doświadczalnego skażenia mleka substancjami sanitującymi

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Kaprów 10, 80-316 Gdańsk 6

Summary

The evaluation of the Penzym test using experimentally polluted by sanitizing substances milk

The influence of residues in milk at the experimental concentrations detected by microbiological method of some sanitizing substances on the result of the Penzym test was evaluated. The following washing substances: Ixi, Michasia, Krasula and Mirax at concentrations 0.1—1.0‰ and disinfectants: lime, Mastycyd, Incozan W, Chloramin T, chlorinated lime, lime water at concentrations 0.2—1.0‰, H₂O₂ at concentrations 0.025—1.0‰ and Chlorogen D at concentrations 0.03—0.5‰ and 1.0‰ were examined. These substances were used in the test separately or in an association with penicillin. It was found that Chloramin T, Ixi, Chlorogen D, Mastycyd, H₂O₂ and chlorinated lime affected the colour change in the Penzym test and hence these substances might be detected in the test. A false positive results are obtained when milk acidity is changes from pH 6.1. The residues of experimental concentrations i.e. 0.5‰ of Chlorogen D, 0.7‰ Chloramin T, 0.3‰ of chlorinated lime eliminated a possibility to detect 0.017 iu of penicillin/cm³. The microbiological test was free from this unsuitability. These preliminary experiments were done under laboratory conditions.

Obecność pozostałości antybiotyków i innych substancji hamujących (sh) w mleku stwarza zagrożenie dla zdrowia konsumentów oraz trudności technologiczne dla przemysłu mleczarskiego. Ocenia się, że około 10% populacji ludzkiej USA uwrażliwiona jest na obecność penicylin i innych antybiotyków (1, 4). Straty produkcyjne ponoszone przez przemysł mleczarski, wynikające z obecności pozostałości antybiotyków w mleku, oceniane są w tym kraju na 50 mln dolarów rocznie (cyt. 5), we Francji — na kilkaset mln dolarów (9).

Częstości występowania sh w mleku są zróżnicowane, a ich wykrywalność zależy od czułości metod. Do 1960 r. wykazywano w USA 5% próbek dodatnich, po 1960 r. 0.5%, w 1975 r. od 7% do 15%, zaś w 1988 r. tylko 0.1% (2). Analogiczne wskaźniki dla krajów Europy Zachodniej wynoszą od 0.2—0.4% (6, 16). W Polsce — około 25% mleka skupionego przez przemysł mleczarski zawierało w 1984 r. pozostałości sh (14). Tak wysoki odsetek prób wskazujących obecność sh w mleku wynika m.in. z braku jego kontroli w skupie*. Równocześnie wg dotychczasowych ustaleń Polskiej Normy (12) dla mleka surowego obecność tych niepożądanych po-

* — wg ustaleń komisji PKNMiJ z dnia 4.10.1989 wprowadza się obowiązek badania surowca mlecznego na obecność sh w całym kraju.

zostałości jest niedopuszczalna. Jak wiadomo, aktualnie stosowane metody badania mleka pozwalają wykrywać pozostałości penicyliny w stężeniach poniżej poziomu 0,004 jm/cm³, gdy tymczasem w latach 1975 próg jej wykrywalności nie przekraczał 0,05 jm/cm³.

Występowanie sh w mleku może wynikać z:

- nieprzestrzegania karencji dla mleka po leczeniu krów antybiotykami — w tym głównie zapaleń gruczołów mlekowych (*mastitis*),
- świadomego dodawania sh nie będących antybiotykami do surowca mlecznego celem uzyskania cech pozornej jego świeżości,
- obecności środków myjących i dezynfekcyjnych określanych jako środki sanitujące (15), stosowanych powszechnie do mycia naczyń i sprzętu mleczarskiego oraz odkażania skóry wymienia.

Według dostępnego piśmiennictwa pozostałości środków sanitujących w żywności, a przede wszystkim w mleku, stwarzają nowe i nieznanne dotychczas problemy natury organoleptycznej, technologicznej i toksykologicznej (3, 10, 15). Specyfika naszej rozproszonej hodowli, wyrażona liczbą 1300 tys. producentów stwarza podstawy do przypuszczeń o występowaniu sh w mleku nie będących pozostałościami antybiotyków. Obecność tych środków może być niezamierzona jako wyraz nieprawidłowego ich stosowania lub zamierzona — stosowana w celu uzyskania pozornych cech świeżości surowca mlecznego. W związku z powyższym nie wiadomo, w jakim stopniu obecność środków sanitujących w mleku może wpływać na wykrywanie pozostałości antybiotyków przy stosowaniu enzymatycznego testu Penzym.

Celem badań była:

- ocena testu Penzym w warunkach doświadczalnego skażenia mleka substancjami sanitującymi wykrywalnymi metodą mikrobiologiczną STD,
- ocena wpływu tych zanieczyszczeń na wykrywanie penicyliny,
- porównanie wyników próby STD (7, 11) i testu Penzym w wykrywaniu penicyliny w obecności środków sanitujących w stężeniach doświadczalnych.

Materiał i metody

Antybiotyk. Sól potasową penicyliny G (USP Reference Standard USOD Inc. Rocville M. D.) rozpuszczano w buforze fosforanowym o pH=6,0±0,1 do stężenia 1 jm/cm³. Dalsze rozcieńczenia przeprowadzano w mleku rekonstru-

Tab. 1. Wpływ niektórych środków dezynfekcyjnych i myjących oraz zmiana pH mleka na wyniki Testu Penzym (n=5)

Środki dezynfekcyjne i myjące		pH mleka	Próba wg testu Penzym		
nazwa	stężenie % w ml		zabarwienie mleka	wynik	kontrola
Mirax	0,5—1,0	10,37	różowe	—	—
IXI	0,5	8,4	intens. różowe	—!	—
IXI	1,0	9,28	różowe	—	—
Chlorogen D	0,5	10,3	intens. różowe	—!	—
Chlorogen D	1,0	10,7	intens. różowe	—!	—
Mastycyd	0,1	7,0	intens. różowe	—!	—
Mastycyd	0,5	7,0	różowe	—	—
Incozan W	0,5	7,0	różowe	—	—
Incozan W	1,0	6,8	różowe	—	—
Krasula	0,5—1,0	7,0	różowe	—	—
Michasia	0,5—1,0	7,1—7,15	różowe	—	—
Mleko wapienne	1,0	7,1	różowe	—	—
Wapno	0,5	6,9	różowe	—	—
Chloramina T	0,5	6,77	różowe	—	—
Chloramina T	1,0	6,45	jasnoróżowe	+	—
Wapno chlorowane	1,0	10,0	fioletowe	—	—
H ₂ O ₂	0,025—0,05—0,1— 0,2—0,4—0,8—1,0		brązowe		—
Zmiana kwasowości mleka (n=5)					
		6,98	różowe	—	—
		6,64	różowe	—	—
		6,10	jasnoróżowe	+	—
		5,80	mleczne	+	—
		5,50	mleczne	+	—
		4,50	mleczne	+	—

owany z proszku, wolnym od sh, aż do stężenia końcowego 0,004 jm/cm³ i 0,017 jm/cm³.

Środki myjące. Preparaty handlowe: Ixi, Michasia, Krasula i Mirax rozpuszczano w mleku w stężeniu 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 1,0%.

Środki dezynfekcyjne. Preparaty handlowe: wapno, Mastycyd, Incozan W, Chloramina T, wapno chlorowane, mleko wapienne, rozpuszczano w mleku w stężeniach 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 1,0%. Wodę utlenioną (H₂O₂) rozcieńczano w stężeniach 0,025; 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,0%.

Środki myjąco-dezynfekcyjne. Chlorogen D rozpuszczano w mleku w stężeniach 0,08; 0,5; 1,0%.

Wszystkie rozcieńczenia wykonywano w mleku rekonstruowanym z proszku, wolnym od sh, bezpośrednio przed użyciem.

Oznaczenia pozostałości sh dla poszczególnych środków sanitujących i penicyliny przeprowadzono zgodnie z wymogami Polskiej Normy (11) przy zastosowaniu:

— metody enzymatycznej o nazwie Penzym test firmy UCB (11, 13),

— metody mikrobiologicznej w postaci Szybkiego Testu Dyfuzyjnego (STD) w opracowaniu ZHW w Gdańsku (7).

W próbie Penzym obecność poszczególnych substancji sanitujących badano oddzielnie oraz w asocjacji z progowym stężeniem penicyliny 0,017 jm/cm³, w próbie STD łącznie przy koncentracji 0,004 jm/cm³ antybiotyku i uwzględnieniu podprogowych, progowych i wyższych stężeń badanych sh (8).

Wyniki i omówienie

Oznaczanie i wykrywanie pozostałości antybiotyków beta-laktamowych w mleku polega na reakcji barwnej zachodzącej pomiędzy DD-karboksy-peptydazą (penicylinazą) a pierścieniem beta-laktamowym penicylin. Próbkę mleka z pozostałościami antybiotyków nie zmienia barwy, natomiast ich brak wpływa na pojawienie się zabarwienia różowego mleka, podobnie jak w próbie kontrolnej (13, 17). Białe zabarwienie wskazuje na obec-

ność tych antybiotyków w ilości od 0,017 jm/cm³, zabarwienie pośrednie pomiędzy jasnoróżowym do wyraźnie różowego oznacza ich występowanie w stężeniu od 0,010 jm/cm³ do 0,008 jm/cm³ i 0,000 jm/cm³ (13).

Jak wynika z danych tab. 1 obecność niektórych środków sanitujących w mleku wywierała wpływ na powstawanie zmian barwnych w teście Penzym. Chloramina T w stężeniu 1,0% wpłynęła na uzyskanie jasnoróżowego zabarwienia badanych próbek, co mogłoby wskazywać na obecność w mleku penicyliny na poziomie około 0,01 jm/cm³. Trudności interpretacyjne zaznaczyły się również w obecności Ixi w stężeniu 0,5%, Chlorogenu D w stężeniu 0,5%—1,0% oraz Mastycydu 0,1%. Zawartość ich wpłynęła na wytworzenie się intensywnie różowego zabarwienia mleka, które odbiegało od barwy próbek kontrolnych rzeczywiście wolnych od pozostałości penicyliny. Świadczy to, iż w przypadku ww. środków sanitujących test Penzym wykazywał reakcję barwną na obecności innych sh jak antybiotyki Beta-laktamowe. Z przeprowadzonych obserwacji wynika, iż obecność 0,5%—1,0% wapna chlorowanego i 0,025% wody utlenionej wpłynęła odpowiednio na wytworzenie się barwy fioletowej i brązowej badanego mleka.

Nie bez znaczenia na uzyskane wyniki w teście Penzym miała kwasowość badanego mleka. Przy pH 6,10 uzyskiwano jasnoróżowe zabarwienie próbek, a kwasowość niższa wpływała na zupełne odbarwienie mleka, co prowadziło do uzyskania błędnych, fałszywie dodatnich wyników. We wszystkich tych przypadkach kontrola próby pozwalała uzyskać wyniki ujemne, tj. prawidłowe.

Zdecydowanie negatywny wpływ środków sanitujących w mleku na wyniki testu Penzym zaznaczony

Tab. 2. Wpływ obecności środków myjących i dezynfekcyjnych na wykrywanie pozostałości 0,017 jm/cm³ soli potasowej penicyliny G w mleku w próbie Penzym — test

Nazwa	Stężenie %	pH mleka	Liczba próbek	Wynik	Zabarwienie mleka	Kontrola próby	
						ślepa	0,017 jm/cm ³
IXI	0,5	8,4	10	+	białe	—	+
	0,2	7,4	10	+	białe	—	+
Chlorogen D	0,5	10,3	10	—	różowe	—	+
	0,1	8,7	10	+	białe	—	+
Wapno	0,5	10,1	6	+	białe	—	+
			4	—	różowe	—	+
	0,3	6,9	10	+	białe	—	+
Mastyzyd	1,0	7,0	10	+	białe	—	+
	0,5	6,8	10	+	białe	—	+
Incozan W	1,0	7,0	10	±	jasnoróżowe	—	+
	0,7	6,7	10	+	białe	—	+
Krasula	1,0	7,0	10	+	białe	—	+
	0,4	6,8	10	+	białe	—	+
Michasia	1,0	7,1	10	+	białe	—	+
	0,4	6,9	10	+	białe	—	+
Chloramina T	1,0	6,7	10	+	białe	—	+
	0,7	6,6	10	—	różowe	—	+
Wapno chlorowane	1,0	10,0	10	—	różowo-fioletowe	—	+
	0,3	10,9	10	—	różowe	—	+

został w układzie, kiedy penicylina występowała w asocjacji z niektórymi środkami myjąco-dezynfekcyjnymi. Jak wynika z danych tab. 2 obecność 0,5% Chlorogenu, 0,7% Chloraminy T, 0,3%—1,0% wapna chlorowanego, eliminowała możliwość wykrycia 0,017 jm/cm³ penicyliny w mleku. Zamiast białego uzyskano również jasnoróżowe zabarwienie badanych próbek w obecności 1,0% Incozanu W, różowo-fioletowe z 1,0% dodatkiem wapna chlorowanego oraz wyniki fałszywie ujemne w pojedynczych próbkach mleka zawierających 0,5% wapna.

Analogiczne badania przeprowadzone przy zastosowaniu mikrobiologicznej metody STD nie ujawniły niedogodności, które zaobserwowano w przypadku testu Penzym. Jak wynika z danych tab. 3 użycie 9 różnych środków sanitujących w stężeniach podprogowych, progowych i wyższych dla tej metody, nie miało wpływu na wykrywanie pozostałości penicyliny w stężeniach 0,004 jm/cm³ oraz 0,017 jm/cm³ w mleku.

Wyniki przeprowadzonych obserwacji zdają się wskazywać na wpływ obecności środków sanitujących na wykrywalność penicyliny w mleku. Zastosowanie doświadczalnych stężeń tych środków wykazało, iż w przypadku występowania chlorogenu, chloraminy oraz wapna chlorowanego, obecność aktywnego chloru blokuje enzymatyczną reakcję zachodzącą między DD-karboksypeptydazą a pierścieniem beta-laktamowym penicyliny. Istnieje wówczas ryzyko uzyskania wyników fałszywie ujemnych tj. niewykazanie obecności antybiotyku. Badanie takich próbek mleka testem Penzym może przyczynić się do błędnej ich oceny.

Przedstawione wyniki uzyskano w warunkach doświadczalnych, niemniej nie wyklucza się możliwości, że mogą zaistnieć sporadyczne przypadki celowego względnie przypadkowego fałszowania surowca mlecznego w stopniu zbliżonym do zastosowanych stężeń doświadczalnych. Eliminacja surowca z obecnością środków sanitujących w tak wysokiej koncentracji nie

Tab. 3. Pozostałości soli potasowej penicyliny G w mleku w asocjacji ze środkami myjącymi i dezynfekcyjnymi a wyniki próby Szybkiego Testu Dyfuzyjnego (STD) (n=5)

Nazwa środków myj.-dezynfek.	Stężenie* śr. myj.- dezynfek. %	+ Ilość penicyliny w jm/cm ³	Wynik próby STD
IXI	0,1	0,004	+
	0,2*	0,017	+
	0,5	0,017	+
Krasula	0,4	0,004	+
	0,5*	0,017	+
	1,0	0,017	+
Michasia	0,3	0,004	+
	0,4*	0,017	+
	1,0	0,017	+
Incozan W	0,6	0,004	+
	0,7*	0,017	+
	1,0	0,017	+
Mastyzyd	0,4	0,004	+
	0,5*	0,017	+
	1,0	0,017	+
Chlorogen D	0,08	0,004	+
	0,1*	0,017	+
	0,5	0,017	+
Chloramina	0,6	0,004	+
	0,7*	0,017	+
	1,0	0,017	+
Wapno	0,2	0,004	+
	0,3*	0,017	+
	0,5	0,017	+
Wapno chlorowane	0,2	0,004	+
	0,3*	0,017	+
	1,0	0,017	+
Kontrola		0,004	+
		0,017	+

Objaśnienie: * — wartość progowa stężenia śr. myj.-dezynfek. dla próby STD.

powinna nastęrczać trudności w oparciu o rozeznanie organoleptyczne. Przypadki takie, aczkolwiek pojedyncze, są notowane w terenie.

Trudności interpretacyjne związane ze zmianą barwy badanych próbek nasuwać mogą również wyniki uzyskane w obecności Ixi, wapna chlorowanego, wody utlenionej, chloraminy, chlorogenu oraz Mastycydu. Jak wynika z badań, test Penzym może wykazywać obecność niektórych z nich, jeśli występują w stężeniach ekstremalnych. Próba ta zachowuje się wówczas w sposób podobny, jak w obecności pozostałości antybiotyków beta-laktamowych. Kiedy jednak — jak już wspomniano — występują w asocjacji z penicyliną, obecność ich nie pozwala na wykrywanie tego antybiotyku. Niedogodności tej nie wykazuje próba STD.

Warto dodać, że ilość środków sanitujących stosowanych w kraju na 1000 l mleka jest różnicowana i waha się od 11,1 kg do 2,22 kg (13). Nie są to ilości znaczące, niemniej jednak przy zróżnicowanym poziomie kultury technicznej, niedopatrzania w tym zakresie są możliwe.

Wnioski

Z przeprowadzonych badań wynika, że:

- obecność niektórych środków sanitujących w mleku w stężeniach doświadczalnych wykrywalnych w próbie mikrobiologicznej STD, wpływa na zmiany barwy testu Penzym. Zmiany te odbiegają od przyjętych schematów interpretacyjnych;
- niektóre środki sanitujące w mleku w stężeniach

doświadczalnych, zawierające jony chloru, występując w asocjacji z penicyliną, blokują reakcję enzymatyczną testu Penzym;

- niższa kwasowość mleka eliminuje jego ocenę w teście Penzym;
- próba mikrobiologiczna STD wykrywa pozostałości penicyliny niezależnie od obecności środków sanitujących.

Piśmiennictwo

1. Albright J. L., Tuckey S. L., Woods G. T.: *J. Dairy Sci.* 44, 779, 1961.
2. Beran G.: Positive aspects of animal drug use in food animal production. Symp. Drug Use-Dollars and Sense, Washington, DC, 1987.
3. Dunsmore D. G.: *Res. Rev.* 86, 1—63, 1983.
4. Gerald M. C.: Sulfonamides and antibiotics. An introduction to drugs. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, NJ, 1981 s. 561.
5. Jones G. M., Seymour E. H.: *J. Dairy Sci.* 71, 692, 1987.
6. Kroger M.: *Milchwissenschaft* 28, 753, 1973.
7. Kurek C., Miłko K.: *Medycyna Wet.* 37, 306, 1982.
8. Kurek C.: *Zootechniczno-weterynaryjne wskazania higienicznej produkcji mleka*, Lasepress, Warszawa, 1989, s. 67.
9. Labie Ch.: *Recl. Méd. vét.* 157, 2, 161, 1981.
10. Mrozek H.: *Arch. Lebensmittelhyg.* 23 (6), 126, 1972.
11. PN-77/A-86031 — Mleko i Przetwory Mleczarskie.
12. PN-81/A-86002 — Mleko surowe do skupu.
13. *Penzym Technical Bulletin*, UCB — Bioproducts P.O. Box 2650 West Chester PA 19381, Belgium.
14. Sączuk W.: *Przegl. Mleczarski* 2, 2, 1987.
15. Skibniewska K., Smoczyński S.: *Przegl. Mleczarski* 4, 16, 1989.
16. Tolle A.: *Kieler Milchw. Forsch. Ber.* 26, 115, 1974.
17. Wojtoń B., Michalski M.: *Zycie Wet.* 61, 100, 1986.

Adres autora: doc. dr hab. Czesław Kurek, ul. Batorego 37 C, 34, 80-251 Gdańsk 6

JERZY FALANDYSZ, JOANNA CABOŃ

Ołów w przetworach z dziczyzny

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Kartuska 249, 80-125 Gdańsk

Badania toksykologiczne środków spożywczych pochodzenia zwierzęcego prowadzone przez nas w latach 1984—88 wykazały m.in. obecność wysokich poziomów ołowiu w znacznej części kontrolowanych przetworów z dziczyzny, a sporadycznie także w mięśniach zwierząt łownych. Zgodnie z zarządzeniem Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 18 października 1985 r. (17) zawartość ołowiu w konserwach mięsnych i mięsno-warzywnych nie może przekroczyć 1,0 mg/kg produktu. Powyższy limit dotyczy zawartości ołowiu ogółem bez konieczności badania specjacji.

Ołów jest toksyczny niemal w każdej postaci chemicznej — pobrany doustnie, na drodze inhalacji, wchłonięty przez skórę lub przemieszczony do płodu. Istnieją duże różnice w toksyczności poszczególnych związków ołowiu, jak i szereg czynników, które wpływają na wchłanianie ołowiu: wielkość cząsteczek i dawki, współobecność związków działających synergistycznie lub antagonistycznie. Składniki żywności, poza wiekiem i płcią, są głównym czynnikiem modyfikującym wchłanianie i efekt toksyczny ołowiu. Wykazano, że powiększa wchłanianie i efekt toksyczny ołowiu niedobór w żywieniu wapnia, cynku, żelaza, witaminy E, miedzi, tiaminy, fosforu, magnezu, tłuszczu, białka, składników mineralnych i kwasu askorbinowego oraz nadmiar w żywieniu laktozy, kadmu, kwasu etylenodiaminotetraoctowego, cynku, tłuszczu, białka, cytrynianu sodu, aminokwasów, witaminy D, miedzi, rtęci, błonika i kwasu aminotrioctowego (5).

Celem pracy było określenie poziomu ołowiu w różnych rodzajach przetworów z dziczyzny dostępnych w ostatnich latach na rynku krajowym.

Materiał i metody

Zbadane konserwy z przetworami z dziczyzny (tab. 1) wyprodukowano w zakładach zlokalizowanych na terenie północnej części kraju w latach 1985—88. Zawartość ołowiu oznaczono w treści każdej konserwy z wszystkich partii otrzymanych do badania. Zawartość ołowiu oznaczono metodą spektrometrii absorpcji atomowej, po spopieleniu próbek metodą suchą (12).

Wyniki i omówienie

Wartości średnie poziomu ołowiu wykazane dla 9 rodzajów przetworów z dziczyzny zestawiono z podziałem na trzy klasy o następującym przedziale stężeń: 0,01—1,0, powyżej 1,0—2,0 i powyżej 2,0 mg/kg produktu (tab. 1). Na tle danych zestawionych w tab. 1 przeciętnie niższe poziomy ołowiu wykrywano w mięśniach, wątrobie i nerkach dzików, saren oraz jeleni (tab. 2). Surowcem do produkcji przetworów z dziczyzny jest zazwyczaj jakościowo gorsze mięso zwierząt łownych, a w dużej części mięso zwierząt rzeźnych (wołowina) i ewentualne dodatki. Poziom ołowiu w mięśniach zwierząt rzeźnych na terenie części północnej kraju jest przeciętnie znacznie poniżej 0,05 mg/kg masy mokrej (7, 8, 11, 12). W przypadku zbadanych konserw nie wykazano, aby źródłem podwyższonej zawartości ołowiu