

Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska Wydziału Zootechnicznego Akademii Rolniczej w Lublinie

MAGDALENA POPIOŁEK - PYRZ

*Jakość higieniczna mleka surowego z rejonów środkowowschodniej
Polski o zróżnicowanym stopniu zanieczyszczenia środowiska
II. Obecność substancji hamujących, w tym antybiotyków beta-la-
ktamowych oraz zawartość toksycznych jonów metali ciężkich*

A Sanitary Value of Raw Milk from the Central and Eastern Regions of Differentiated
Degree of Environment Contamination in Poland

II. Presence of Inhibitors, in That Beta-Lactamic Antibiotics and a Content of
Heavy Metal Toxic Ions

Współczesna industrializacja i chemizacja powoduje, że mleko stało się przedmiotem intensywnych badań chemicznych i toksykologicznych. Badania te wynikają z potrzeby poznania ujemnego wpływu, jaki wywiera często niekontrolowany przez człowieka postęp techniczny na środki spożywcze pochodzenia zwierzęcego. W odniesieniu do mleka dotyczą one głównie biocydów i chemikalii przemysłowych, które obejmują: terapeutyki weterynaryjne wchodzące w skład pozostałości substancji hamujących, pestycydy, grupę substancji chemicznych pochodzenia przemysłowego zwanych PCB, toksyczne metale ciężkie, azotany, radionuklidy i mykotoksyny. Z tych względów podejmowane są próby analizy mleka jako wskaźnika skażenia środowiskowego, które poprzez zwierzę może przenosić niepożądane komponenty na odbiorcę - konsumenta, czyli każdego z nas.

Istotnym kryterium kształtującym jakość higieniczną mleka surowego jest stopień jego skażenia pozostałościami antybiotyków i innych substancji hamujących.

Spożywanie mięsa, z wyjątkiem narządów mięsowych (nerki, wątroba), zwierząt hodowanych nawet w warunkach poważnie zanieczyszczonego środowi-

*Skrót pracy doktorskiej, wykonywanej w ramach tematu Nr 5 P06K 019 08 finansowanego przez KBN.

ska nie wpływa w istotny sposób na zwiększenie narażenia człowieka. Sprzeczne dane natomiast dotyczą spożywania mleka i nabiału.

Celem podjętych badań była ocena jakości higienicznej mleka surowego pochodzącego z makroregionu środkowowschodniej Polski, obejmująca obecność substancji hamujących, w tym antybiotyków beta-laktamowych oraz zawartość toksycznych jonów metali ciężkich: Cu, Zn, Fe, Pb i Cd.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiło mleko zbiorcze pochodzące od dostawców indywidualnych z wybranych punktów skupu. Wyselekcjonowane punkty skupu mleka znajdowały się w rejonach oddziaływania dużych kompleksów przemysłowych: Cementowni Chełm, Fabryki Nawozów Azotowych w Puławach oraz Zakładów Metalurgicznych URSUS w Lublinie. Materiałem kontrolnym było mleko pochodzące z typowo rolniczego rejonu Podlasia – okolic Radzyna Podlaskiego.

Każdy z czterech rejonów – chełmski, lubelski, puławski oraz radzyński reprezentowany był przez 10 punktów skupu mleka. Łącznie próby pobierano w 40 punktach skupu, w okresie od maja 1992 r. do października 1994 r. Celem określenia wpływu sezonowości na badane wskaźniki próby podzielono na dwie grupy. Pierwsza reprezentowała okres letniego żywienia zwierząt, druga - okres żywienia zimowego.

Obecność substancji obcych w mleku zbiorczym oznaczono Szybkim Testem Dyfuzyjnym (STD – Abiotest) oraz testem Penzym (K Bioproducts Bruksela) wykrywającym antybiotyki beta-laktamowe. Prowadzono także badanie nad zawartością Zn, Fe, Cu, Cd i Pb w mleku surowym, posługując się metodą absorpcyjnej spektrofotometrii atomowej.

Uzyskane wyniki poddano odpowiednim analizom statystycznym.

Istotność różnic między średnimi w zależności od okręgu pozyskiwania mleka oraz od okresu żywieniowego zwierząt sprawdzono testem t-Studenta, c-Cohrana i Coxa oraz za pomocą jednoczynnikowej i dwuczynnikowej analizy wariancji dla układu nieortogonalnego.

Prawdopodobieństwo (p) zaistnienia obserwowanych różnic między odsetkami oraz między średnimi w drodze losowej odczytano z tablic funkcji rozkładu t-Studenta, F-Fischera i χ^2 .

Na podstawie χ^2 obliczono współczynnik siły związku r_p .

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Jednym z istotnych kryteriów jakości higienicznej mleka jest jego stopień skażenia pozostałościami antybiotyków i innych substancji hamujących. Są to substancje wpływające hamująco na wzrost szczepów bakteryjnych używanych do ich wykrywania metodami mikrobiologicznymi lub enzymatycznymi. Należą do nich środki myjące i dezynfekcyjne, detergenty, konserwanty, pestycydy, składniki nawozów mineralnych oraz antybiotyki i inne leki. Substancje te przechodzą do mleka w wyniku pośredniego lub bezpośredniego jego zanieczyszczenia. Jedynie w mleku z OSM Radzyń zdecydowana większość analizowanych prób - 87,8% w

Tab. 1. Obecność substancji hamujących w próbach mleka w zależności od rejonu pozyskiwania
Inhibitor presence in milk samples depending on the region of collection

Okres testu	Wynik	Liczba %	OSM				χ^2					
			Chełm	Lublin	Puławy	Radzyń	Ch-L	Ch-P	Ch-R	L-P	L-R	P-R
Let.	+	f %	17 b 25,0	16 ab 18,8	2 a 5,9	11 a 12,2	0,852	5,465	4,337	3,168	1,460	1,057
	+-	f %	10 b 14,7	7 ab 8,2	2 ab 5,9	0 a 0	1,601	1,700	14,130	0,192	-	-
	-	f %	41 a 60,3	62 ab 72,9	30 bc 88,2	79 c 87,8	2,747	8,365	16,017	3,238	6,147	0,0049
	razem	f %	68 100	85 100	34 100	90 100	-	-	-	-	-	-
Zim.	+	f %	18 c 26,5	5 ab 10,0	1- bc 19,6	0 a 0	4,981	0,763	0,026	1,843	-	4,128
	+-	f %	9 a 13,2	14 b 28,0	7 ab 13,7	0 a 0	4,0003	0,006	2,661	3,124	6,347	2,750
	-	f %	41 a 60,3	31 a 62,0	34 a 66,7	18 b 100	0,035	0,508	10,418	0,240	9,492	7,962
	razem	f %	68 100	50 100	51 100	18 100	-	-	-	-	-	-

a, b, c . . . średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $p \leq 0,05$.

Tab. 2. Obecność antybiotyków beta-laktamowych w próbach mleka w zależności od okresu żywienia
 Presence of beta-lactamic antibiotics in milk samples in relation to the feeding period

OSM	Wynik testu	Liczba prób		% prób		χ^2	r_p	p
		let.	zim.	let.	zim.			
Chełm	+	13	7	19,1	10,3	2,110	+ 0,17	>0,10
	+-	5	6	7,4	8,8	0,099	- 0,04	>0,70
	-	50	55	73,5	80,9	1,045	- 0,12	>0,30
	razem	68	68	100	100	-	-	-
Lublin	+	16	2	18,8	4,0	5,986	+ 0,29	<0,02*
	+-	12	7	14,1	14,0	0,0004	+ 0,00	>0,98
	-	57	41	67,1	82,0	3,532	- 0,23	=0,0,06
	razem	85	50	100	100	-	-	-
Puławy	+	2	7	5,9	13,7	1,326	- 0,18	>0,20
	+-	4	6	11,8	11,8	0	0	>0,99
	-	28	38	82,4	74,5	0,723	+ 0,13	>0,30
	razem	34	51	100	100	-	-	-
Radzyń	+	1	0	1,1	0	-	-	-
	+-	1	0	1,1	0	-	-	-
	-	88	18	97,8	100	-	-	-
	razem	90	18	100	100	-	-	-
Ogółem	+	32	16	11,6	8,6	1,081	+ 0,07	>0,25
	+-	22	19	7,9	10,2	0,682	- 0,05	>0,30
	-	223	152	80,5	81,3	0,044	- 0,01	>0,80
	razem	277	187	100	100	-	-	-

- wartości różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$.

okresie letnim i 100% w okresie zimowym nie wykazywała obecności sh. Najwięcej substancji hamujących wykryto w mleku z okolic Chełma, gdzie ich ilość kształtowała się na poziomie 25% latem i 26,5% zimą (tab. 1).

Obecność antybiotyków β -laktamowych stwierdzano na podstawie enzymatycznego testu Penzym. Nie wykazano wpływu okresu utrzymania zwierząt na zawartość antybiotyków w mleku chełmskim i puławskim, jedynie mleko z OSM Lublin zawierało istotnie więcej pozostałości antybiotyków w okresie letnim niż zimowym. Należy podkreślić fakt, iż niemal wszystkie próby mleka radzyńskiego w obu okresach były wolne od antybiotyków (tab. 6)

Z przeprowadzonych badań, omówionych w części I, wynika, że mleko zbiorcze cechowało się niską jakością pod względem normalności niezależnie od okresu utrzymania zwierząt i rejonu, z jakiego pochodziło. Jedynie mleko pochodzące z punktów skupu podległych Spółdzielczej Mleczarni "Spomlek" w Radzynie wyróżniało się dobrą jakością higieniczną, o czym świadczy niewielki udział mleka mastitowego, jak również niska zawartość inhibitorów procesów biologicznych mleka. Niezadowolająca jakość mleka z OSM Lublin, Chełm i Puławy nasuwa

Tab. 3. Poziom badanych pierwiastków w mleku w zależności od rejonu pozyskiwania w okresie żywienia letniego

Level of the elements examined in the milk in relation to the region of its collection over the summer feeding period

Pierwia- stek	OSM	n	M	SD	SE	V%	$\sqrt{MSe}$	P
Cu (ppb)	Chełm	6	52,83	19,18	7,83	36,3	10,102	b
	Lublin	6	34,00	5,80	2,37	17,0		a
	Puławy	5	47,20	6,02	2,69	12,7		b
	Radzyń	10	41,80	4,66	1,47	11,2		ab
Fe (ppm)	Chełm	6	0,582	0,053	0,022	9,2	0,1069	ab
	Lublin	6	0,462	0,132	0,054	28,5		a
	Puławy	5	0,630	0,034	0,015	5,4		b
	Radzyń	10	0,615	0,132	0,042	21,5		b
Zn (ppm)	Chełm	6	4,247	0,515	0,210	12,1	0,5204	b
	Lublin	6	3,242	0,288	0,118	8,9		a
	Puławy	5	4,600	0,214	0,096	4,7		b
	Radzyń	10	4,260	0,692	0,219	16,2		b
Cd. (ppb)	Chełm	6	0,863	0,437	0,178	50,6	1,1838	a
	Lublin	6	2,123	1,829	0,747	86,1		a
	Puławy	5	2,158	0,444	0,198	20,6		a
	Radzyń	10	2,053	1,237	0,391	60,2		a
Pb (ppb)	Chełm	6	3,567	1,334	0,545	37,4	0,9718	ab
	Lublin	6	3,583	0,483	0,197	13,5		ab
	Puławy	5	4,226	1,144	0,511	27,1		b
	Radzyń	10	3,038	0,844	0,267	27,8		a

P - wyznaczono z przedziałów ufności $LSd = D_{0,05} \sqrt{MSe} \frac{\sqrt{n+n}}{2n}$

a, b, c... - średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $p \leq 0,05$.

przypuszczenie, iż producenci mleka nie wyłączają z produkcji zwierząt wykazujących *mastitis subclinika* (6). Można też sądzić, że w okresach zaostrzenia stanów zapalnych wymion, gdy stosowana jest terapia antybiotykowa, właściciele nie przestrzegają okresu karencji, co znajduje potwierdzenie w obecności w mleku penicylin i leków penicylinopochodnych (1,5). Nie wyklucza się również celowego dodawania antybiotyków do mleka przez producentów w celu powstrzymania procesów ukwaszających (7). Wysoki odsetek prób, w których wykazano obecność substancji hamujących na podstawie testu STD przy ujemnym wyniku testu Penzym, świadczy o przedostawaniu się do mleka środków sanitujących. Mogą to być pozostałości środków stosowanych w higienie doju i sprzętu mleczarskiego. Niejednokrotnie jednak są obecne w mleku na skutek nieuczciwych działań producentów. Dodają oni do mleka środki alkalinizujące w celu uzyskania cech pozornej świeżości surowca (10).

Mleko krowie zawiera w swoim składzie szereg pierwiastków śladowych. Badania monitoringowe produktów pochodzenia zwierzęcego (mleko, jaja) wskazują na znaczne zróżnicowanie poziomu Cd, Hg i Pb oraz innych metali ciężkich w tym materiale, od śladowego do wielokrotnie przekraczającego wielkości fizjologiczne (2).

Zawartość pierwiastków szkodliwych w mleku jest ograniczona normami państwowymi i wynosi: dla miedzi 0,5 mg/kg, dla cynku 5 mg/kg, dla ołowiu 0,15 mg/kg, dla kadmu 0,01 mg/kg, dla arsenu 0,1 mg/kg i dla cyny 20,0 mg/kg. Badania własne obejmowały oznaczenie w mleku surowym pięciu z nich, a mianowicie Cu, Fe, Zn, Pb, Cd (tab. 3).

Badania własne wykazały średnią zawartość miedzi na poziomie od 34,00 ppb w próbach lubelskich do 52,83 ppb w próbach chełmskich. W mleku z OSM Chełm obserwowano ponadto wyższy poziom miedzi w okresie letnim niż zimowym (52,83 ppb wobec 38,00 ppb), jednakże wartości te mieściły się w dolnych granicach zakresu wahań podawanych przez innych autorów (4, 11).

Średni poziom żelaza kształtował się w próbach mleka lubelskiego od 0,462 ppm w okresie letnim do 0,721 ppm w okresie zimowym. Dla mleka z rejonu Chełma, Lublina i Puław w okresie letnim poziom żelaza był niższy średnio o 0,115 ppm niż w okresie zimowym i różnica ta było statystycznie istotna. Wykazano także, iż na wielkość różnic pomiędzy okresami żywieniowymi nie miał wpływu rejon, z którego pochodziło mleko.

Średnia zawartość Zn w badanym mleku kształtowała się w granicach norm dla wszystkich okręgów pozyskiwania, przy czym dla mleka z OSM Lublin w okresie letnim poziom tego pierwiastka był niższy niż w okresie żywienia zimowego (średnio o 0,544 ppm) i różnica ta była istotna statystycznie. Przedstawione wyniki korespondują z wynikami badań Monkiewicza (8), według którego zawartość Zn w mleku krów kształtuje się na poziomie 2,78 mg/l - 4,57 mg/l.

Kadm jest pierwiastkiem wysokotoksycznym, podlegającym dużej bioakumulacji, dlatego też różnicowanie jego zawartości w wybranych tkankach zwierząt jest wykorzystywane do oceny stopnia zanieczyszczenia środowiska, jak również do celów biomonitoringu.

Po opracowaniu statystycznym wyników nie stwierdzono, aby okres żywieniowy miał istotny wpływ na zawartość Cd w mleku ($p > 80$) i to niezależnie od rejonu pozyskiwania surowca przez poszczególne Okręgowe Spółdzielnie Mleczarskie. Zawartość kadmu w badanym mleku utrzymywała się na poziomie naturalnego tła tego pierwiastka, nie przekraczając normy przewidującej 0,01 mg/kg. Zbliżone zawartości kadmu w mleku surowym wykazują w swoich badaniach Górska i Litwińczuk (3) oraz Popko (9).

Jednym z lepiej poznanych metali ciężkich, stanowiących zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt, jest ołów. Z badań własnych wynika że zawartość ołowiu w mleku pochodzącym ze wszystkich badanych rejonów kształtowała się w tych granicach i była zbliżona do wartości podawanych przez innych autorów, zwłaszcza badających mleko z terenów rolniczych, a niższa od wartości podawanych dla mleka pochodzącego z terenów uprzemysłowionych (4,8).

W świetle wyników badań własnych obrazujących zawartość metali ciężkich w mleku surowym należy przychylić się do opinii B o d a k i D o b r z a ń s k i e g o (2), według których wartość mleka jako bioindykatora zanieczyszczenia środowiska jest niska, gdyż gruczoł mlekowy tworzy naturalną barierę biologiczną, ograniczającą przechodzenie toksycznych pierwiastków z organizmu matki do pokarmu.

WNIOSKI

1. Zanieczyszczenie substancjami obcymi było najwyższe w okresie żywienia zimowego i sięgało w mleku chełmskim 26,5% prób. W tym samym okresie w żadnej z prób mleka radzyńskiego nie wykazano obecności sh.

2. Najniższe zanieczyszczenie mleka antybiotykami beta-laktamowymi wykazano w mleku z rejonu Radzyna (0 - 1,1%), najwyższe zaś w mleku chełmskim (10,3 - 19,1%).

3. Wysokiemu udziałowi mleka mastitowego w mleku zbiorczym towarzyszy zwiększony odsetek antybiotyków beta-laktamowych, co sugeruje nieprzestrzeganie przez producentów okresu karencji po leczeniu krów.

4. Niezależnie od stopnia degradacji środowiska naturalnego zanieczyszczenie mleka surowego metalami ciężkimi (Cu, Fe, Zn, Cd, Pb) nie przekraczało dopuszczalnej normy dla mleka surowego w skupie, przy czym najwyższe poziomy Fe, Zn, Cd i Pb stwierdzono w mleku z rejonu Puław, zaś Cu – w mleku chełmskim.

PIŚMIENNICTWO

1. Aureli P., Dominici S., Ferrini A. M., Lepri M. L.: Kinetics of Extraction in Milk of Some Antimastitis Drugs. Ann. Ist. Super. Sanita., 26, 161, 1990.
2. B o d a k E., D o b r z a ń s k i Z. (praca zbiorowa): Ekotoksykologiczne problemy chowu zwierząt w rejonach skażeń metalami. Wrocław - Rudna 1997.
3. G ó r s k a A., L i t w i ń c z u k Z.: Występowanie ołowiu i kadmu oraz substancji hamujących w mleku woj. siedleckiego. Med. Wet., 52, 591, 1996.
4. G ó r s k i J., N i k o d e m s k a E.: Zawartość ołowiu, kadmu, cynku i miedzi w mleku krów z wybranych rejonów województwa katowickiego. Przegl. Mlecz., 1, 1991.
5. K i t a g a w a T., G o t o h Y., U c h i h a r a K., K o h r i Y., K i n o u e T., F u j i w a r a K., O t h a n i W.: Sensitive Enzyme Immunoassay of Cephalixin Residues in Milk, Hen Tissues, and Eggs. J. Aaaoc Off. Anal. Chem., 71, 915, 1988.

6. Krzyżanowski J., Szczubiak M.: Stan zdrowotny krów w świetle badań laboratoryjnych mleka. *Med. Wet.*, 50, 131, 1993.
7. Kurek Cz., Milko K.: Ekonomiczny i zdrowotny aspekt występowania pozostałości substancji hamujących w mleku. *Przegl. Mlecz.*, 8, 4-7, 1984.
8. Monkiewicz J., Geringer H., Nicpoń J.: Wpływ specyficznych zagrożeń środowiskowych na krowy użytkowane w Okręgu Miedziowym. *Med. Wet.*, 50, 162, 1994.
9. Popko R., Popko H.: Badania zawartości metali ciężkich w mleku i przetworach mlecznych. *Przegl. Mlecz.*, 4, 272, 1994.
10. Skibniewska K., Smoczyński S.: Środki sanitujące w mleku - nowy problem? *Przegl. Mlecz.*, 4, 16, 1989.
11. Zapletal P., Bonczar G.: Zawartość makro i mikroelementów w mleku surowym skupowanym w rejonie Krakowa. *Przegl. Mlecz.*, 11, 298, 1993.

SUMMARY

The objective of the examinations undertaken was to assess the sanitary value of raw milk from the central and eastern macroregions in Poland. The assessment covered presence of inhibitors, in that beta-lactamic antibiotics and a content of heavy metal toxic ions like : Cu, Zn, Fe, Pb and Cd.

Contamination with impurities was the highest over the winter feeding time and reached 26.5% milk samples in the Chełm region Throughout the same period, no such presence was recorded with beta-lactamic antibiotics in the milk from Radzyń region (0 -1.1%), whereas the highest was in the Chełm milk (10.3 - 19.1%).

A high contribution of mastitis milk in the milk collected is accompanied by a high percentage of beta-lactamic antibiotics. This fact indicates that the producers do not comply with a quarantine time after the medical treatment of cows.

Irrespective of a degradation degree of the natural environment, raw milk contamination with heavy metals (Cu, Fe, Zn, Cd, Pb) did not exceed the standards acceptable for raw milk in a purchase center. The highest levels of Fe, Zn, Cd. and Pb were noted in the milk from the Puławy region, while Cu content was the highest in the Chełm milk.