

Biologiškai aktyviųjų priedų pašaruose įtaka pieno kokybei bei jo savybėms

Antanas Sederevičius¹,

Sigita Urbienė²,

Dovilė Levickienė²

¹ Lietuvos sveikatos mokslų universiteto
Veterinarijos akademija,
Tilžės g. 18, LT-47181 Kaunas
El. paštas: antanas@lva.lt

² Aleksandro Stulginskio universitetas,
Studentų g. 11,
LT-53361 Akademija, Kauno r.
El. paštas: sigita.urbienė@asu.lt;
dlnlulgl@gmail.com

Vienas iš būdų siekiant sumažinti somatinių ląstelių kiekį piene yra karvių sveikatos būklės gerinimas, jų imuniteto stiprinimas. Viena iš alternatyvų – biologiškai aktyvius medžiagas panaudoti kaip pašarų priedą. Žinoma, kad fermentas lizocimas pasižymi plačiu antimikrobinu ir imunostimuliaciniu veikimu. Gyvulių organizmui ypač svarbūs ir vitaminai.

Darbo tikslas buvo nustatyti pašarų priedų fermento lizocimo bei vitaminų įtaką somatinių ląstelių kiekiui bei technologinėms pieno savybėms. Sudarytos dvi karvių grupės, į kurių racioną įmaišyta fermento lizocimo ir vitaminų A, C, E. Šerta 10 dienų. Tyrimai atlikti šėrimo laikotarpiu – 4, 7 ir 10 dienomis bei praėjus 7 dienoms po šėrimo.

Nustatyta, kad šėrimo laikotarpiu ir po jo somatinių ląstelių skaičius piene sumažėjo. Biologiškai aktyvūs pašarų papildai su fermentu ir vitaminais turėjo įtakos ir pieno technologinėms savybėms. Tyrimo metu pieno rūgštingumas kito itin lėtai. Fermentinis pieno traukinimas vyko lėčiau, susidariusių struktūrų savybės skyrėsi nuo kontrolinės karvių grupės pieno mėginių. Pieno, gauto iš karvių, kurioms buvo duodami pašarai su biologiškai aktyviu papildu, technologinės savybės buvo geresnės, palyginti su kontrolinės karvių grupės pienu. Ištyrus fermentinės struktūros susidarymo bei sinerezės procesus, nustatyta, kad pašarų papildai su fermentu ir vitaminais įtakos šių procesų pobūdžiui neturėjo, pienas, gautas po šėrimo pašarų papildais su fermentu ir vitaminais, pasižymėjo geromis technologinėmis savybėmis, tinkamomis sūrių gamybai.

Raktažodžiai: pašarų papildai, somatinės ląstelės, pieno technologinės savybės, kokybė

ĮVADAS

Pienininkystė yra viena iš svarbiausių Lietuvos žemės ūkio šakų, turinti išskirtinę reikšmę ekonomikai.

Pieno produktai sudaro apie 30 % viso žemės ūkio ir maisto produkto eksporto. Kadangi pastaruoju metu ypač didelis dėmesys kreipiamas į pieno produktų kokybę ir jų saugą (Sederevičius, 2004), todėl itin aktualūs pieno kokybės gerinimo klausimai.

Vienas iš pieno kokybės rodiklių yra somatinių ląstelių skaičiaus mažinimas. Paprastai somatinių ląstelių kiekis padidėja susirgus karvei tešmens uždegimu bei sutrikus kitoms organizmo fiziologinėms funkcijoms (Aniulis ir kt., 2000).

Didelis somatinių ląstelių skaičius turi įtakos pagamintų produktų kokybei. Be to, lemia ir technologinių procesų eigą.

Jau nuo seno domimasi lizocimo poveikiu organizmo imunitetui (Dick, 1982; Stelzner et al., 1982). Jis reguliuoja organizmo imuninius ir regeneracijos procesus, veikia uždegiminius procesus, pasižymi antitoksiniu bei priešvėžiniu poveikiu (Dick, 1981). Lizocimo bakteriologinis veikimas – bakterijų, ypač gramteigiamų, ištirpinimas (Kuznecova et al., 1985; Pellegrini et al., 1992; Lesnierowski, Kojowski, 1995).

Vienas iš būdų sumažinti somatinių ląstelių kiekį yra gyvulio imuniteto stiprinimas. Be to, jis pasižymi antimikrobinu ir imunostimuliaciniu poveikiu (Holzapfel et al., 1995; Fuglsang et al., 1995;

Lesnierowski, Kojowski, 1995), nepavojingas gyvuliui, nes natūraliai yra jo organizme, taip pat ir piene. Atliktais tyrimais įrodyta, kad į karvių pašarus pridėjus 50–200 mg/kg gyvulio masės lizocimo, ženkliai sumažėja somatinių ląstelių skaičius (Sederevičius ir kt., 2005; Grūnovas ir kt., 2006).

Nustatyta, kad lizocimas neigiamai veikia bakterijų (pvz., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* ir kt.) augimą (Labbe, Chang, 1995; Wang et al., 1995). Tyrimais įrodyta, kad lizocimas trukdo vystytis net *Clostridium botulinum* (Johnson, Dell'Acqua, 1995; Peck, Fernandez, 1995). Piene ir jo produktuose lizocimas stabdo *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* ir *Clostridium tyrobutyricum* vystymąsi (Payne et al., 1994; Fuglsang et al., 1995; Scherer, 1995). Ypač svarbu, kad lizocimas neigiamai veikia šių bakterijų sporų vystymąsi (Bachman, 1995; Fuglsang et al., 1995; Labbe, Chang, 1995).

Aleksandro Stulginskio universitete atliktais tyrimais įrodyta, kad technologinio proceso metu pridėtas lizocimas pagerina grietinės skonį, sumažina riebalų oksidacijos laipsnį (Urbienė, Poderytė, 2007).

Ištyrus grūdėtos varškės (pagamintos su lizocimo priedu) pokyčius galiojimo laikotarpiu, buvo nustatyta itin teigiama lizocimo, kaip natūralaus konservanto, įtaka slopinant riebalų kitimo procesus (Urbienė, Sasnauskaitė, 2010).

Lizocimo priedas prailgina baktericidinės fazės trukmę, pagerina technologines pieno savybes (Urbienė ir kt., 2006; Urbienė, Sasnauskaitė, 2011).

Piене lizocimo gali būti iki 2 mg (Walstra et al., 1999). Daugiau jo yra tik motinos (moters) piene. Tai rodo, kad lizocimas – biologiškai svarbus organizmui baltymas.

Kaip lizocimas veikia technologines pieno savybes ir jo kokybę, tyrimų gana nedaug. Visai nežinoma, ar lizocimas, patekęs į karvės organizmą su pašarais, turi įtakos pieno kokybei.

Kita biologiškai aktyvių junginių grupė yra vitaminai. Jie būtini gyvam organizmui, dalyvauja fiziologinių procesų veikloje.

Iš gyvulio organizmo vitaminai pereina į pieną, tampa svarbia piene sudėtinė dalimi. Dalis vitaminų turi įtakos oksidaciniams-redukciniais procesams, todėl veikia kaip antioksidantai. Kai kurie vitaminai suteikia pienui ir pieno produktams spalvą, kiti stimuliuoja patekusių į pieną bakterijų dauginimosi procesus, todėl jų kiekis yra svarbus gaminant pieno produktus.

Vitaminai A, E ir C pasižymi stipriomis antioksidacinėmis savybėmis, stiprina imuninę sistemą (Leskauskaitė, 2001; Stukas, 2008). Be to, šie vitaminai turi įtakos somatinių ląstelių skaičiaus mažėjimui (Sederevičius ir kt., 2005). Darbo tikslas – nustatyti fermento lizocimo bei vitaminų A, C, E, pridėtų į karvių pašarus, įtaką somatinių ląstelių kiekiui ir pieno technologinėms savybėms.

TYRIMŲ METODAI IR SĄLYGOS

Tyrimai atlikti su Lietuvos juodmargių veislės karvėmis. Bandymams atrinktos kliniškai sveikos 4 metų, antros laktacijos, prieš 3–6 mėnesius apsi-veršiavusios karvės. Jos suskirstytos į 2 grupes, po 10 karvių kiekvienoje. Į grupes buvo atrinktos karvės, kurių piene rastas padidėjęs somatinių ląstelių skaičius, bet ne daugiau kaip 1 000 tūkst./ml.

Eksperimentas atliktas su Šlynos žemės ūkio bendrovės karvėmis tvartiniu laikotarpiu.

Kiekvienos karvės raciono sudėtyje buvo daugiamečių žolių šienainio (12 kg), kukurūzų siloso (12 kg), šieno (2 kg), šiaudų (1 kg), saladino (4 kg), cukrinių runkelių griežinių (6 kg), koncentruotųjų pašarų (vidutiniškai po 8 kg), mineralinių vitamininių priedų, laižomosios druskos. Racioną sudarė: sausosios medžiagos – 19,4 kg, virškinamieji proteinais – 1 843 g, cukrus – 1 940 g, ląsteliena – 3,88 kg, kalcis – 124 g, fosforas – 91 g, β – karotenas – 854 mg ir valgomoji druska – 124 g.

Bandomosios grupės karvėms į koncentruotuosius pašarus buvo pridėdama pašarų papildų su fermentu ir vitaminais, duodama 200 mg/kg fermento lizocimo (UAB „Biosintezė“ produktas) bei dviguba mitybinės paros normos vitaminų (A, C, E) dozė.

Karvių (grupėse) gyvasis svoris siekė 500 ± 16 kg, vidutinis karvių produktyvumas – apie $20 \pm 0,8$ kg pieno. Pašarų papildų kiekis kiekvienai karvei buvo apskaičiuotas remiantis vidutiniais dydžiais, t. y. 500 kg karvių gyvajam svoriui ir 20 kg pieno produktyvumui – 500 g per parą. Paros dozė buvo sumaišoma su kombinuotaisiais pašarais ir sušeriama per du kartus. Pašarų papildais su fermentu ir vitaminais A, C, E karvės buvo šeriamos 10 dienų iš eilės. Tyrimai atliekami 4, 7, 10 pašarų papildų šėrimo dieną ir praėjus 7 dienoms po šėrimo. Pieno mėginiai somatinių ląstelių kiekiui ištirti buvo imami individualiai rytinio melžimo metu. Kontrolinių ir bandomųjų karvių grupių pieno mėginiai buvo sudaromi iš to pačio ūkio bandos, tik skirtingai

šertų karvių grupių. Bandymo metu somatinių ląstelių kiekis piene nustatytas VĮ „Pieno tyrimai“ prietaisu „Somoscope“ (Savickis, 2003). Pieno fizikinių, cheminių ir technologinių savybių tyrimai atlikti ASU Inžinerijos fakulteto Žemės ūkio produktų kokybės tyrimo laboratorijoje. Visi mėginiai 24 val. buvo laikomi 16 °C temperatūroje.

Atliekant tyrimus nustatyta: juslinės žalio pieno savybės, kintantis rūgštingumas laikymo metu (Urbienė, 2001); pieno tinkamumas fermentinių sūrių gamybai atliekant rūgimo bandymus bei tiriant fermentinės struktūros susidarymą; pieno rūgšties bakterijų vystymasis rauginimo metu (Urbienė, 1999); sinerezė, struktūros klampumas, pieno rūgšties kiekis, baltymų kiekis išrūgose (Urbienė, 1995). Pieno rūgšties kiekis buvo nustatytas AOAC metodu (angl. *Official methods of analysis of association of official analytical chemists*) (Urbienė, 1999). Kiekvieno rodiklio analizė buvo atliekama tris kartus ir apskaičiuota vidutinė vertė. Tyrimų duomenys statistiškai įvertinti „Win Exel“ programa.

TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

Kontrolinės karvių grupės piene somatinių ląstelių skaičius tiriamuoju laikotarpiu turėjo tendenciją didėti (1 lentelė). Tai gali būti siejama su individualiomis gyvulio savybėmis, gyvulio patologiniu laikotarpiu, eksperimento metu (17 dienų) gyvulus nebuvo gydomas.

Somatinių ląstelių kiekio tyrimai parodė, kad, pridėjus į pašarus 200 mg/kg fermento ir dvigubą rekomenduojamos mitybinės paros normos vitaminų dozę, labai sumažėjo jų kiekis. Dėl pašarų papildymo somatinių ląstelių kiekio vidurkis visos bandomosios karvių grupės piene sumažėjo iki 2,8 karto šerimo laikotarpiu ir turėjo tendenciją mažėti nutraukus papildų davimą.

Pieno bandinių fizikinių ir cheminių rodiklių tyrimai karvių šerimo biologiškai vertingais priedais laikotarpiu ir po šerimo pateikti 2 lentelėje. Nustatyta, kad šerimas pašarų papildais su fermentu ir vitaminais didesnės įtakos pieno sudėčiai ir

1 lentelė. Somatinių ląstelių kiekis tūkst./ml

Table 1. Somatic cell count in milk, $\times 10^3/ml$

Karvių grupės pieno mėginiai <i>Milk samples from the groups of cows</i>	Prieš šeriant <i>Before feeding</i>	Šerimo laikotarpis dienomis <i>Feeding period, in days</i>			7 dienos po šerimo <i>7 days after feeding</i>
		4	7	10	
Kontrolinės / <i>Control</i>	741,7	547,6	835,8	847,9	1 270,1
Bandomosios / <i>Experimental</i>	729,6	206,1	305,3	267,7	205,2

2 lentelė. Pieno fizikiniai ir cheminiai rodikliai

Table 2. Physicochemical parameters of milk from the cows under trial

Šerimo laikotarpis dienomis <i>Feeding period, days</i>	Atskirų karvių grupių mėginiai <i>Milk samples from particular groups</i>	Rodikliai / <i>Parameters</i>				
		Baltymai % <i>Protein content, %</i>	Riebalai % <i>Fat content, %</i>	Angliavandeniai % <i>Carbohydrate, %</i>	Pieno rūgštis % <i>Lactic acid content, %</i>	Pieno rūgštingumas °T <i>Milk acidity, °T</i>
4	Kontrolinės / <i>Control</i>	3,02	4,15	4,66	0,130	15,0
	Bandomosios / <i>Experimental</i>	3,05	4,26	4,57	0,153	17,0
7	Kontrolinės / <i>Control</i>	2,98	4,20	4,52	0,126	14,0
	Bandomosios / <i>Experimental</i>	3,10	4,12	4,55	0,139	15,5
10	Kontrolinės / <i>Control</i>	2,96	3,95	4,52	0,144	16,0
	Bandomosios / <i>Experimental</i>	3,16	4,11	4,37	0,162	18,0
7 dienos po šerimo <i>7 days after feeding experiment</i>	Kontrolinės / <i>Control</i>	3,01	3,97	4,57	0,144	16,0
7 dienos po šerimo <i>7 days after feeding experiment</i>	Bandomosios / <i>Experimental</i>	3,16	4,22	4,65	0,153	17,0

rūgštingumui neturėjo. Tyrimai atskleidė, kad bandomosios karvių grupės piene ilgėjant šerimo laikotarpiui baltymų kiekis padidėjo 3,6 %, o kontrolinės karvių grupės piene jis beveik nepakito.

Nustatyta, kad fermentas ir vitaminai pieno laikymo metu turėjo įtakos rūgštingumo pokyčiams.

Laikymo metu stebėta, kaip kinta rūgštingumas. Pagal pokyčius buvo sprendžiama apie baktericidinės fazės trukmę. Nustatyta, kad karvių pieno rūgštingumas laikymo metu (24 val.) 16–17 °C temperatūroje nepakito. Praėjus 7 dienoms po šerimo, nustatyta, kad 24 val. tomis pačiomis sąlygomis laikyto pieno rūgštingumas didėjo, jo pokytis (Δ) sudarė 6–7 °T. Šie rezultatai leidžia teigti, kad lizocimo priedas pašaruose gali pailginti pieno baktericidinę fazę. Lenkų mokslininkai yra pastebėję (Pieczonka, Burek, 1994), kad toks efektas gaunamas ir dedant lizocimą tiesiai į pieną.

Technologinių pieno savybių pokyčiai buvo vertinami analizuojant pieno mėginių rūgimo, fermentinio rūgimo ir modifikuoto fermentinio rūgimo bandinius. Rūgimo ir fermentinio rūgimo bandiniai netiesiogiai charakterizuoja pieno tinkamumą fermentinių sūrių gamybai, o rūgimo bandinys netiesiogiai parodo ir vyraujančią mikroflorą (Urbienė, 2001). Fermentinis rūgimo bandinys rodo pieno kokybės įtaką fermentinės struktūros susidarymui, jos charakteristikai. Modifikuotas fermentinio rūgimo bandinys analizuojamas panaudojant termiškai apdorotą pieną (Urbienė, 2001).

Tyrimo rezultatai parodė, kad pagal rūgimo bandinį karvių šerimo biologiškai aktyviais papildais laikotarpiu pienas buvo I ir II klasės (3 lentelė). Tik bandomosios karvių grupės šerimo laikotarpio pabaigoje ir po jo rūgimo bandiniai buvo priskirti I klasei. Realiausiai pieno tinkamumą sūrių gamybai galima įvertinti analizuojant modifikuotą fermentinį rūgimo bandinį. Modifikuoti fermentinio rūgimo bandiniai kontrolinėje karvių grupėje beveik nepakito. Pagal šį rodiklį matome, kad pienas per visą pašarų papildais šerimo laikotarpį buvo II klasės ir nepakito praėjus 7 dienoms po šerimo. Tikėtina, dalis pašaruose esančių biologiškai aktyvių medžiagų (lizocimas ir vitaminai) perėjo į pieną ir tai pagerino jo kokybę, nes tiriamajame modifikuoto fermentinio rūgimo bandinyje gauta geresnė struktūra (3 lentelė).

Ištirtos rauginto pieno juslinės savybės ir kai kurie fizikiniai bei cheminiai rodikliai. Rauginant

su CH-N₂₂ ir su kefyro raugu atskirų karvių grupių pieno juslinių savybių pokyčiai buvo panašūs.

Galima teigti, kad susidariusios rūgštinės struktūros iš pieno, gauto šeriant karvių grupes pašarais, praturtintais biologiškai aktyviais papildais, yra geresnės, palyginti su struktūromis pieno, gauto šeriant karves įprastais pašarais. Be to, šeriant pašarais su biologiškai aktyviais papildais rūgštinės struktūros aromatas bei skonis buvo švelnesnis.

Tyrimai rodo, kad biologiškai aktyvūs papildai pašaruose turi įtakos pieno rūgštinei struktūros kokybei. Tyrimai atskleidė, kad geresnė rūgštinė struktūra gaunama šeriant karves pašarų papildu, palyginti su rūgštine struktūra, gauta iš kontrolinės grupės pieno. Be to, matome, kad šerimo pabaigoje bei po jo rūgštinė struktūra buvo geresnė negu šerimo pradžioje.

Vadinasi, biologiškai aktyvūs pašarų papildai su fermentu ir vitaminais šiek tiek pagerino karvių fiziologinę būklę, padidėjo baltymų kiekis ir pagerėjo rūgštinės struktūros kokybė.

Somatinių ląstelių kiekis (1 lentelė) bandomosios karvių grupės piene mėginiuose buvo daug mažesnis už kontrolinės karvių grupės. Pagal šiuos rodiklius galima spręsti apie geresnę karvių fiziologinę būklę ir aukštesnės kokybės pieno produkavimą.

Siekiant gauti išsamesnę rūgštinių struktūrų charakteristiką išrūgose buvo nustatytas klampumas, rūgštingumas ir baltymų kiekis.

Gauti rezultatai leidžia daryti išvadą, kad pašarų papildai su biologiškai aktyviais priedais pieno rūgšties bakterijų vystymuisi didesnės įtakos neturėjo. Apie tai galima spręsti lyginant rūgštinių struktūrų rūgštingumą ir pH dydį (4 lentelė).

Efektyvesnė šerimo pašarų su biologiškai aktyviais papildais įtaka nustatyta analizuojant klampumą. Šerimo pradžioje rūgštinių struktūrų klampumas buvo daug mažesnis (1,64–1,86 karto) už analogiškų struktūrų klampumą šerimo pabaigoje ir praėjus 7 dienoms po šerimo. Klampumo padidėjimas nuo šerimo pradžios iki 7 dienų po šerimo padidėjo 86 %, o kontrolinės karvių grupės piene šis rodiklis buvo pastovus. Tai gali būti siejama su pagerėjusia gyvulių sveikata (sumažėjęs somatinių ląstelių kiekis). Geresnė sveikata, be abejo, turėjo įtakos pieno savybėms, koloidinei sistemai, ypač pokyčiams baltyminėje sistemoje, o vėliau – ir struktūros susidarymui. Šerimo metu (2 lentelė) taip pat padidėjo bendras baltymų kiekis (3,6 %). Pokyčius baltyminėje sistemoje rodo baltymų kiekis

3 lentelė. Rūgimo ir fermentinių rūgimo bandinių kokybės charakteristikos
Table 3. Quality characteristics of milk samples after enzymatic coagulation

Šėrimo laikotarpis dienomis <i>Feeding period, days</i>	Atskirų karvių grupių pieno mėginiai <i>Milk samples from different groups of cows</i>	Struktūros kokybės charakteristika / <i>Character of cheese structure quality</i>		
		Rūgimo bandinys <i>Sample of the fermentation</i>	Fermentinis rūgimo bandinys <i>Sample of enzyme fermentation</i>	Modifikuotas fermentinis rūgimo bandinys <i>Modified sample of enzyme fermentation</i>
4	Kontrolinės <i>Control</i>	I klasė. Struktūra gera, be dujų burbuliukų <i>Grade I. Hard cheese</i>	I klasė. Struktūra gera. Sūrelis tamprus <i>Grade I. Hard cheese</i>	I klasė. Sūrelis tamprus. Pjūvyje akučių nėra <i>Grade I. Hard cheese</i>
	Bandomosios <i>Experimental</i>	I klasė. Struktūra gera, be dujų burbuliukų <i>Grade I. Hard cheese</i>	I klasė. Sūrelis tamprus. Paviršius kietas <i>Grade I. Hard cheese, hard surface</i>	I klasė. Sūrelis tamprus, geros kokybės <i>Grade I. Hard cheese</i>
7	Kontrolinės <i>Control</i>	I klasė. Struktūra be dujų burbuliukų <i>Grade I. Hard cheese</i>	II klasė. Susidaręs sūrelis tamprus, paviršius nelygus <i>Grade II. Hard cheese, rough surface</i>	II klasė. Sūrelis blogai susiformavęs, netamprus <i>Grade II. Bad structure, non-tough</i>
	Bandomosios <i>Experimental</i>	II klasė. Struktūra patenkinama. Matyti tuštumos, įplyšimai <i>Grade II. Satisfactory quality, with hollows</i>	II klasė. Sūrelio paviršius lygus, tačiau minkštas, pjūvis akytas <i>Grade II. Smooth but soft surface. Porous cheese</i>	II klasė. Sūrelis susiformavęs, bet netamprus <i>Grade II. Good structure but non-tough</i>
10	Kontrolinės <i>Control</i>	II klasė. Struktūra patenkinama. Nėra vientisumo <i>Grade II. Satisfactory quality</i>	III klasė. Struktūra bloga, sūrelis nesusidarė, matyti atskiri dribsniai <i>Grade III. Poor structure, sporadic flakes</i>	III klasė. Sūrelis suirusios formos, minkštos konsistencijos, išsipūtęs <i>Grade III. Poor structure, soft, swollen cheese</i>
	Bandomosios <i>Experimental</i>	I klasė. Struktūra patenkinama. Yra šiek tiek dujų <i>Grade I. Satisfactory quality</i>	III klasė. Struktūra bloga. Sūrelis nesusidarė. Matyti atskiri dribsniai <i>Grade III. Poor structure, sporadic flakes</i>	II klasė. Sūrelis lygus, vidus akytas <i>Grade II. Smooth cheese but porous interior</i>
7 dienos po šėrimo <i>7 days after feeding</i>	Kontrolinės <i>Control</i>	I klasė. Struktūra su nežymiu dujų burbuliukų kiekiu <i>Grade I. Hard cheese</i>	II klasė. Susidaręs sūrelis minkštas, pjūvis akytas <i>Grade II. Soft cheese, porous interior</i>	III klasė. Sūrelis nesusidarė. Gauta dribsnių pavidalo masė <i>Grade III. Poor structure, multiple flakes</i>
7 dienos po šėrimo <i>7 days after feeding</i>	Bandomosios <i>Experimental</i>	I klasė. Struktūra gera. Dujų kiekis labai nedidelis <i>Grade I. Hard cheese</i>	II klasė. Struktūros kokybė patenkinama, pjūvyje daug akučių <i>Grade II. Satisfactory quality of structure, porous interior</i>	II klasė. Kokybė patenkinama, sūrelis minkštesnis (palyginti su kontrole), išilginiame pjūvyje yra akučių <i>Grade II. Satisfactory quality, soft cheese and porous interior</i>

4 lentelė. Rūgštinių struktūrų fizikiniai ir cheminiai rodikliai

Table 4. Physicochemical parameters of acid structures

Šėrimo laikotarpis dienomis <i>Feeding period, days</i>	Atskirų karvių grupių pieno mėginiai <i>Milk samples from different groups of cows</i>	Rūgštingumas / Acidity		Pieno rūgštis % <i>Lactic acid, %</i>	Klumpumas s <i>Viscosity, s</i>	Baltymų išrūgose % <i>Amount of protein in the whey, %</i>
		Titruojamasis °T <i>Titrateable, °T</i>	pH <i>pH</i>			
4	Kontrolinės / <i>Control</i>	96	4,59	0,864	60	0,55
	Bandomosios / <i>Experimental</i>	104	4,50	0,936	37	0,61
7	Kontrolinės / <i>Control</i>	102	4,55	0,918	62	0,43
	Bandomosios / <i>Experimental</i>	100	4,59	0,90	40	0,62
10	Kontrolinės / <i>Control</i>	100	4,62	0,90	72	0,47
	Bandomosios / <i>Experimental</i>	94	4,67	0,846	61	0,54
7 dienos po šėrimo <i>7 days after feeding</i>	Kontrolinės / <i>Control</i>	95	4,69	0,855	59	0,58
7 dienos po šėrimo <i>7 days after feeding</i>	Bandomosios / <i>Experimental</i>	105	4,52	0,945	69	0,56

išrūgose. Bandomosios grupės karvių šėrimo metu baltymų išrūgose sumažėjo 7 %. Vadinasi, pieno koloidinėje sistemoje sumažėjo smulkiadispersinių ir tirpiųjų baltymų. Šie pokyčiai turėtų teigiamos įtakos pieno produktų kokybei. Rūgštinės struktūros kokybė, didesnis jos klampumas užtikrintų gerą kefyro, rūgpienio ir jogurto konsistenciją. Mažesnis baltymų kiekis išrūgose padidintų išėigą gaminant varškę ir varškės produktus.

Visuose mėginiuose rauginant buvo ištirtas rūgštingumo kitimas. Šių tyrimų metu pienas buvo rauginamas su termofiliniu raugu YC-180. Rūgštinės struktūros susidaro per 5–5,5 val., todėl buvo patogiu nuosekliai ištirti rūgštingumo kaitą, netiesiogiai rodančią pieno rūgšties bakterijų vystymąsi. Rūgštingumo kaita pieno mėginiuose, gautuose iš karvių, 10 dienų šertų pašarų papildu, leido charakterizuoti pieno rūgšties bakterijų vystymosi intensyvumą.

Palyginus rūgštingumo kitimą pagal pieno rūgšties kiekį, prieita prie išvados, kad pašarų papildai su fermentu ir vitaminais pieno rūgšties bakterijų dauginimosi charakteristikos nekeičia. Rūgštingumo kaitos tendencija kontroliniuose mėginiuose bei bandomuosiuose mėginiuose buvo tapati. Tik bandomuose mėginiuose rūgštingumas kilo šiek tiek greičiau, nes pieno rūgšties bakterijos vystėsi intensyviau. Taigi piene buvo daugiau biologiškai vertingų medžiagų.

Atliekant šį tyrimą buvo svarbu nustatyti sinerezės proceso kitimą ilgėjant šėrimo laikotarpiui. 1 pav. pateikti tyrimų rezultatai parodė, kad abiejų karvių grupių šėrimo laikotarpiu sinerezės procesas buvo panašus. Kad gautume akivaizdesnius tyrimo rezultatus, sinerezės kreives aproksimavome, o po to įvertinome sinerezės proceso greitį.

Yra žinoma, kad kuo lėčiau skiriasi išrūgos, tuo stabilėnė rūgštinė struktūra (Urbienė, 1995). Jos stabilumą tarp kitų rodiklių gali apibūdinti ir sinerezės proceso tyrimai. Atlikdami juos stebėjome išrūgų išsiskyrimą 3 val. laikotarpiu (1 pav.).

Aproksimuodami tyrimų rezultatus nustatėme, kad tiriamuoju laiko intervalu (t) išsiskyrusių išrūgų kiekis (q) šėrimo biologiškai aktyviais papildais su fermentu ir vitaminais vyksta pagal tokias priklausomybes:

po 4 šėrimo dienų

kontrolinė

$$q_1 = -0,080 t^2 + 3,249 t + 2,089, R^2 = 0,996; \quad (1)$$

bandomoji

$$q_2 = -0,078 t^2 + 3,226 t + 3,422, R^2 = 0,995; \quad (2)$$

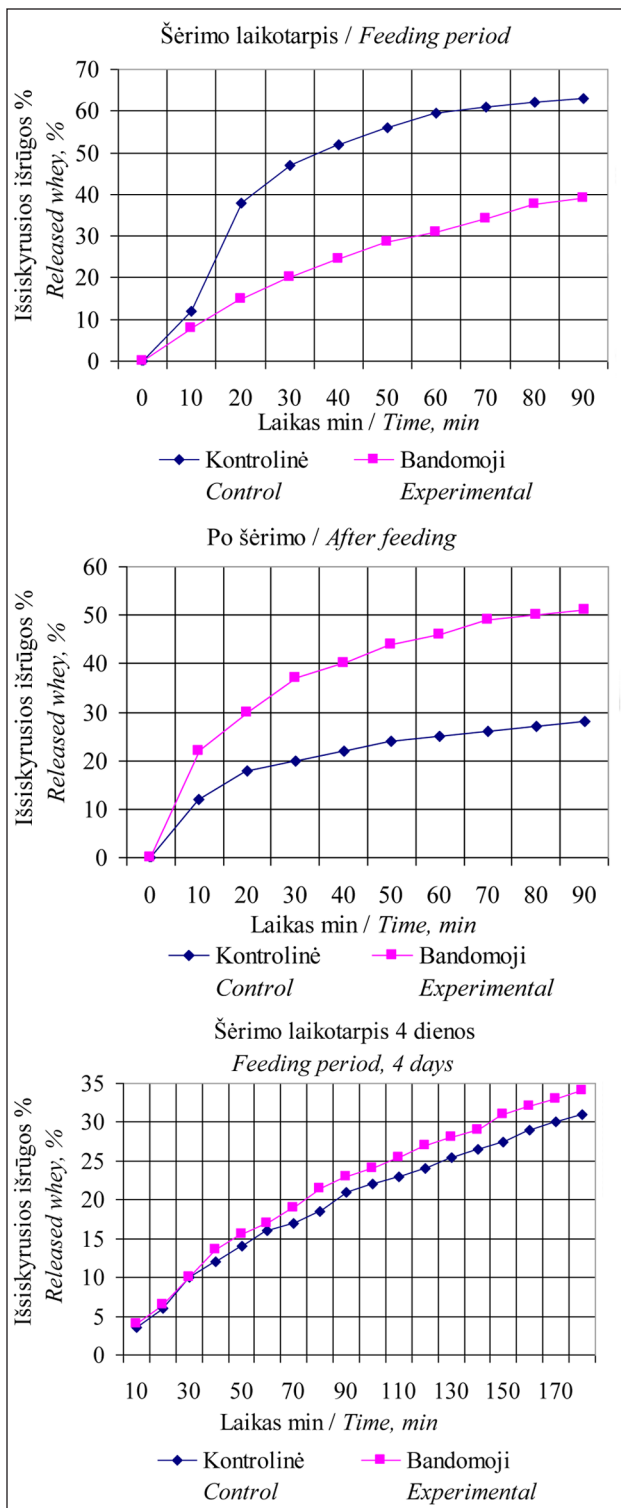
po 10 šėrimo dienų

kontrolinė

$$q_1 = -0,048 t^2 + 2,245 t + 1,097, R^2 = 0,988; \quad (3)$$

bandomoji

$$q_2 = -0,047 t^2 + 2,616 t + 1,238, R^2 = 0,997. \quad (4)$$



1 pav. Rūgštinės struktūros sinerezės procesas
Fig. 1. Process of the acid structure syneresis

Rezultatų analizė leido nustatyti, kad sinerezės procesas visuose tirtuose pieno mėginiuose buvo panašaus pobūdžio.

Siekdami įvertinti sinerezės greitį (v_n) diferencijuojame anksčiau gautas lygtis.

Vykstančių sinerezės procesų greitį (v_n), priklausimai nuo laiko t (min.), galime rasti pagal lygtis:

po 4 šėrimo dienų

$$\text{kontrolinė } v_1 = -0,160 t + 3,249; \quad (5)$$

$$\text{bandomoji } v_2 = -0,155 t + 3,226; \quad (6)$$

po 10 šėrimo dienų

$$\text{kontrolinė } v_1 = -0,097 t + 2,245; \quad (7)$$

$$\text{bandomoji } v_2 = -0,094 t + 2,616. \quad (8)$$

Analizuodami sinerezės greičio lygtis matome, kad lėčiausiai ji vyksta bandomosios karvių grupės pieno mėginiuose, t. y. kai karvės buvo šertos su biologiškai aktyviais papildais. Šėrimo pabaigoje pienas tampa daug lėtesnis (v_n) negu pradžioje.

Kita darbo dalis buvo skirta ištirti pieno savybes, svarbias fermentinių sūrių gamybos technologijai. Šių tyrimų metu buvo stebimas fermentinės struktūros formavimosi laikas, susidariusios struktūros charakteristika, fermentinės struktūros sinerezės procesas.

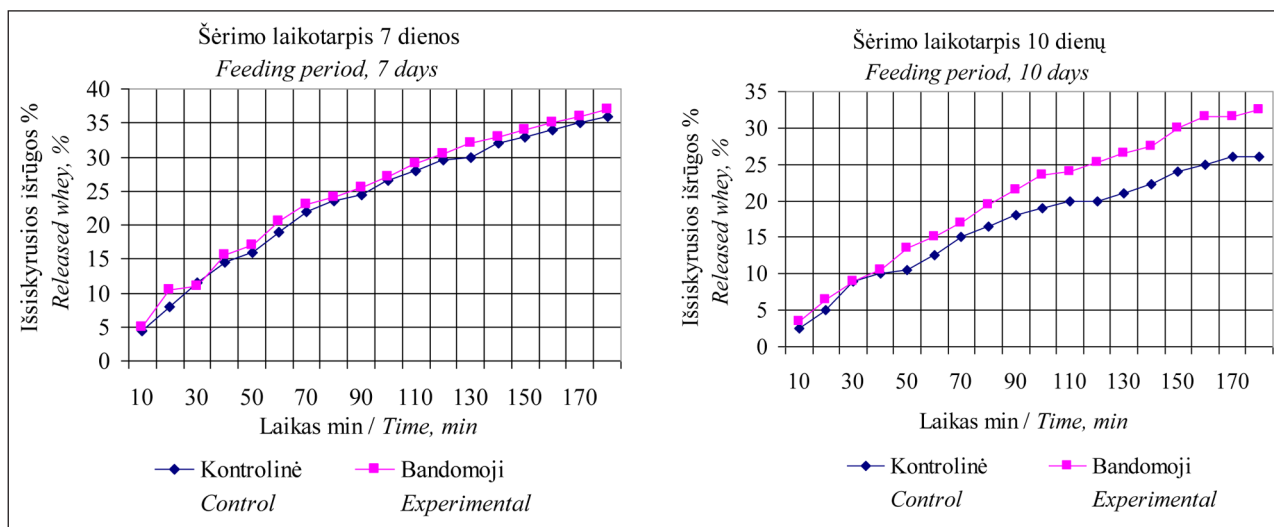
Fermentinės struktūros formavimasis ir susidariusios fermentinės struktūros charakteristika (5 lentelė) rodo, kad pašarų papildais šėrimo laikotarpiu fermentinės struktūros, gautos iš bandomosios grupės, formavimosi laikas priklausė nuo šėrimo trukmės. Kuo buvo ilgiau su papildais šeriamos karvės, tuo greičiau susidarė fermentinė struktūra.

Tik ištyrus karvių bandomosios grupės pieną (praėjus 7 dienoms po šėrimo), pasirodė, kad su biologiškai aktyviais pašarų papildais šertų karvių grupės pienas sutraukinamas apie du kartus greičiau ir gaunama itin geros kokybės struktūra. Matyt, pašarų papildai su fermentu ir vitaminais pagerino karvių pieno kokybę ne iš karto, o baigiant šėrimą ir po jo.

Norėdami detaliau išanalizuoti susidariusios struktūros savybes, ištyrėme fermentinės struktūros sinerezės procesą šėrimo laikotarpiu ir po jo.

Pieno mėginių, gautų po 10 šėrimo dienų pašarų papildais ir praėjus 7 dienoms po šėrimo, fermentinių struktūrų sinerezės proceso kreivės pateiktos 2 pav.

2 pav. pateikti rezultatai papildo 5 lentelėje pateiktus duomenis. Sinerezės procesas taip pat charakterizuoja fermentinės struktūros kokybę ir jos gebėjimą išskirti išrūgas. Gerai žinome, kad iš aukštos kokybės pieno, tinkamo sūrių gamybai, greitai (~30 min.) susiformuoja standi fermentinė struktūra, iš kurios gerai išsiskiria išrūgos (Urbienė, 2001).



2 pav. Fermentinės struktūros sinerezės procesas
Fig. 2. Process of the rennet curd structure syneresis

5 lentelė. Fermentinės struktūros susidarymas ir jos charakteristika
Table 5. Formation and character of the rennet curd structure

Šėrimo laikotarpis dienomis Feeding period, days	Atskirų karvių grupių pieno mėginiai Milk samples from different groups of cows	Struktūros formavimosi laikas Time of structure formation		Susidariusios struktūros charakteristika Character of structure formed
		Pradžia Beginning	Pabaiga End	
4	Kontrolinės / Control	16,0 ± 0,5	26,0 ± 1,0	Struktūra normali, išrūgos skaidrios Standard structure, clear whey
	Bandomosios Experimental	28,0 ± 0,5	42,0 ± 1,0	Struktūra gležna Soft structure
7	Kontrolinės / Control	15,0 ± 0,5	25,0 ± 1,0	Struktūra normali, standi, išrūgos skaidrios Standard hard structure, clear whey
	Bandomosios Experimental	28,0 ± 0,5	40,0 ± 1,0	Struktūra prastesnė už kontrolinę grupę Structure worse than in the control group
10	Kontrolinės / Control	16,0 ± 0,5	25,0 ± 1,0	Struktūra normali, išrūgos skaidrios Hard structure, clear whey
	Bandomosios Experimental	25,0 ± 0,5	31,0 ± 1,0	Struktūra pakankamai standi, tačiau šiek tiek blogesnė, palyginti su kontroline Structure sufficiently hard but worse as compared to the control
7 dienos po šėrimo 7 days after feeding	Kontrolinės / Control	13,0 ± 0,5	26,0 ± 1,0	Struktūra blogesnė negu bandomosios, išrūgos skaidrios Structure worse than in the control group, clear whey
7 dienos po šėrimo 7 days after feeding	Bandomosios Experimental	10,0 ± 0,5	20,0 ± 1,0	Struktūra standi, išrūgos skaidrios Hard structure, clear whey

Matome, kad karvių, šertų su biologiškai aktyviais pašarų papildais šėrimo laikotarpiu, išrūgos iš fermentinės struktūros mėginių skyrėsi lėčiau nei kontrolinės grupės karvių. Aptariant tyrimo rezultatus svarbu atkreipti dėmesį ne į kontrolinės ir bandomosios karvių grupės pieno mėginių skirtumą, o tik į bandomosios karvių grupės pieno mėginius, juos lyginant šėrimo laikotarpiu ir po jo. Matome, kad bandomosios grupės mėginiuose sinerezės procesas iš fermentinės struktūros labai skirtingas. Jeigu šėrimo laikotarpiu išrūgų išsiskyrimas (po 1,5 val.) buvo iki 40 %, tai po šėrimo išrūgų išsiskyrė (po 1,5 val.) per 50 %.

Remiantis gautais rezultatais galima teigti, kad, pašėrus karves papildais, fermentinės struktūros kokybė akivaizdžiai pagerėjo.

Siekiant gauti išsamesnius rezultatus, duomenys aproksimuoti. Atlikę matematinę gautų procesų analizę nustatėme, kad teorinis sinerezės procesas mažai skiriasi nuo eksperimento rezultatų. Išrūgų išsiskyrimas (q) % priklauso nuo laiko t (min.) ir vyksta pagal šias lygtis:

šėrimo laikotarpio pabaigoje

kontrolinė

$$q_1 = -1,238 t^2 + 20,116 t + 17,85, R^2 = 0,970; \quad (9)$$

bandomoji

$$q_2 = -0,348 t^2 + 8,027 t + 7,13, R^2 = 0,996; \quad (10)$$

praėjus 7 dienoms po šėrimo

kontrolinė

$$q_1 = -0,439 t^2 + 7,372 t + 3,533, R^2 = 0,951; \quad (11)$$

bandomoji

$$q_2 = -0,773 t^2 + 13,276 t + 6,466, R^2 = 0,956. \quad (12)$$

Gautas lygtis diferencijavę pagal laiką, gavome fermentinėse struktūrose sinerezės proceso greičio ($v_{„}$) kitimo lygtis:

šėrimo laikotarpio pabaigoje

$$\text{kontrolinė } v_1 = -2,476 t + 20,116; \quad (13)$$

$$\text{bandomoji } v_2 = -0,696 t + 8,027; \quad (14)$$

praėjus 7 dienoms po šėrimo

$$\text{kontrolinė } v_1 = -0,878 t + 7,372; \quad (15)$$

$$\text{bandomoji } v_2 = -1,546 t + 13,276. \quad (16)$$

Analizuodami gautus rezultatus matome, kad nepasibaigus šėrimo laikotarpiui sinerezės greitis yra mažesnis, palyginti su greičiu, nustatytu mėginiuose po šėrimo. Tai rodo geresnę fermentinės struktūros kokybę.

IŠVADOS

1. Pridėjus į karvių šėrimo racioną biologiškai aktyvių papildų, somatinių ląstelių kiekis šėrimo laikotarpiu ir po jo sumažėjo 3,2–4,8 karto.

2. Pieno mėginiuose, paimtuose iš bandomosios karvių grupės, baltymų kiekis padidėjo nuo 3,05 iki 3,16 %.

3. Pieno mėginiuose, paimtuose iš karvių, šertų su biologiškai aktyviais papildais, rūgštinės ir fermentinės struktūros pasižymėjo geresnėmis savybėmis.

4. Pašarų papildai su fermentu ir vitaminais iš esmės pagerino pieno technologines savybes.

Gauta 2014 04 02

Priimta 2014 05 12

LITERATŪRA

1. Aniulis E., Japertas S., Leiputė K. 2000. Karvių pieno kokybės analizė, atsižvelgiant į somatinių ląstelių skaičių. *Veterinarija ir zootechnika*. T. 8(30). P. 5–8.
2. Bachman H. P. 1995. Butyric acid fermentation in cheese: a literature review. *AgrarForschung*. Vol. 2. No. 11/12. P. 523–526.
3. Dick W. 1981. Klinische Bedeutung des Lysozym in Säuglinge und Kleinkinderalter. *Therapiewoche*. Bd. 31. Nr. 31. S. 1740–1745.
4. Dick W. 1982. Lysozym. *Grundlagen und Diagnostische Bedeutung – Fortschritte der Medizin*. Bd. 100. Nr. 26. S. 1230–1234.
5. Fuglsang C. C., Johansen C., Christgau S., Adler-Nissen J. 1995. Antimicrobial enzymes: Application and future potential in the food industry. *Trends in Food Science and Technology*. Vol. 12. No. 6. P. 390–396.
6. Grūnovas A., Lukauskas K., Sederevičius A., Biziulevičius G. A., Tumienė M. 2006. *Pieno kokybę gerinantis karvių pašaras*. Int. Cl.: A 23 K 1/16. Lietuvos patentas, 5317 B. 2006 03 27. P. 7: lent.
7. Holzapfel W. H., Geisen R., Schillinger U. 1996. Biological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food-grade enzymes. *International Journal of Food Microbiology*. Vol. 24. No. 3. P. 343–362.
8. Johnson E. A., Dell'Acqua E. 1995. *Composition Active Against Botulism*. United States Patent US 5393545.
9. Kuznecova T. A., Kislukhina O. V., Avizhienis V. Yu. 1985. Lizis mikroorganizmo fermentnymi preparatai. *Fermentnaya i spirtovaya promyshlennost'*. No. 6. S. 38–39.
10. Labbe R. G., Chang C. A. 1995. Recovery of heat injured spores of *Clostridium perfringens* types B, C

- and D by lysozyme and an initiation protein. *Letters in Applied Microbiology*. No. 21(5). P. 302–306.
11. Leskauskaitė D. 2001. Vitaminas C. *Maisto ūkis*. Nr. 4. P. 4–7.
 12. Lesniewski G., Kijowski J. 1995. Lysozyme activity and use as a food preservative. *Przemysł Spozywczy*. Vol. 49. No. 4. P. 116–119.
 13. Payne K. D., Oliver S. P., Davidson P. M. 1994. Comparison of EDTA and apolactoferrin with lysozyme on the growth of foodborne pathogenic and spoilage bacteria. *Journal of Food Protection*. No. 57(1). P. 62–65.
 14. Peck M. W., Fernandez P. S. 1995. Effect of lysozyme concentration, heating at 90 degree, and then incubation at chilled temperatures on growth from spores of nonproteolytic *Clostridium botulinum*. *Letters in Applied Microbiology*. No. 21(1). P. 50–54.
 15. Pellegrini A., Thomas U., Von Fellenberg R., Wild P. 1992. Bactericidal activities of lysozyme and aprotinin against Gram-negative and Gram-positive bacteria related to their basic character. *Journal of Applied Bacteriology*. No. 72. P. 180–187.
 16. Pieczonka W., Burek E. 1994. Stability of goats milk with added lysozyme. *Przemysł spozywczy*. Vol. 48. No. 4. P. 112–114.
 17. Savickis S. 2003. The milk testing system of Lithuania. The activity and future prospects of SL „Pieno tyrimai“. *Pieno tyrimų sistemos dabartis ir perspektyvos integruojantis į Europos Sąjungą: tarptautinė konferencija*. Kaunas. P. 24–25.
 18. Scherer S. 1995. Biological control of pathogens in food: option or fiction? *Lebensmittelindustrie und Milchwissenschaft*. Nr. 116(10). S. 432–439, 442.
 19. Sederevičius A., Balsytė J., Lukauskas K., Kazlauskaitė J., Biziulevičius G. A. 2005. An enzymatic cow immunity-targeted approach to reducing milk somatic cell count: 3. A comparative field trial. *Food and Agricultural Immunology*. Vol. 16. No. 3. P. 1–7.
 20. Sederevičius A. 2004. *Direktyvos 92/46/EEB, nustatančios žalio pieno, termiškai apdoroto pieno ir pieno produktų gamybos ir patiekimo į rinką taisykles, įgyvendinimo pasekmių įvertinimas*. Kaunas. P. 31–32.
 21. Sederevičius A., Ramanauskienė J., Lukauskas K., Kazlauskaitė J., Biziulevičius G. A. 2005. An enzymatic cow immunity-targeted approach to reducing milk somatic cell count: 2. A study using lysozyme. *Food and Agricultural Immunology*. Vol. 16. No. 3. P. 193–198.
 22. Stelzner A., Klein Y. M., Kittlick M., Klein U. 1982. Lysozym. 2. Mitteilung: Biologische Funktion. *Deutsche Gesundheitswesen*. Bd. 87. Nr. 48. S. 2033–2038.
 23. Stukas R. 2008. Liuteino, vitamino A ir E maisto papildų svarba padedant išlaikyti ir pagerinti regėjimą. *Farmacija ir laikas*. Nr. 8. P. 82–85.
 24. Urbienė S., Avižienis V., Šapošnikova J. 2006. Lizocimo įtaka technologinėms pieno savybėms. *Žemės ūkio mokslai*. Nr. 2. P. 42–50.
 25. Urbienė S. 1995. Išrūgų baltymų koncentrato įtaka raugo savybėms. *Maisto chemija ir technologija*. Akademija. T. 29. P. 89–96.
 26. Urbienė S. 1999. *Pieno ir jo produktų cheminės analizės metodai*. Kaunas. 247 p.
 27. Urbienė S. 2001. *Superkamo pieno kokybės įvertinimas ir tyrimo metodai*. Akademija. 49 p.
 28. Urbienė S. 2005. *Pieno sudėtis ir savybės. Žaliava produktų gamybai*. Akademija. 127 p.
 29. Urbienė S., Poderytė L. 2007. Fermento lizocimo panaudojimas grietinės kokybei pagerinti. *Žemės ūkio mokslai*. T. 14. Nr. 4. P. 45–52.
 30. Urbienė S., Sasnauskaitė L. 2010. Fermento lizocimo įtaka grūdėtos varškės kokybei laikymo metu. *Žemės ūkio mokslai*. T. 17. Nr. 1–2. P. 60–67.
 31. Urbienė S., Sasnauskaitė L. 2011. Influence of bioactive lysozyme on the quality of fermented milk. *Milchwissenschaft*. Vol. 66. No. 2(2011). P. 182–185.
 32. Walstra P., Geurts T. J., Noomen A., Jellema A., Van Boekel M. A. J. S. 1999. *Principles of Milk Properties and Processes*. New York. 727 p.
 33. Wang S. L., Pai C. S., Shieh S. T. 1995. Production of lytic enzyme from *Pseudomonas aeruginosa* M1001. *Proceedings of the National Science Council, Republic of China, Part B: Life Sciences*. No. 19(4). P. 216–224.

Antanas Sederevičius, Sigita Urbienė, Dovilė Levickienė

THE EFFECT OF BIOLOGICALLY ACTIVE FEED SUPPLEMENTS (WITH ENZYME AND VITAMINS) ON MILK QUALITY AND ITS PROPERTIES

S u m m a r y

One of the ways to reduce the somatic cell count in milk is the cow health status improvement and immunity strengthening. It can be done through the feed. The easiest way would be to use biologically active substances as a feed additive. It is known that the enzyme lysozyme has antimicrobial and immunostimulation activities. Vitamins are especially important for the animals.

An experiment was undertaken to study the effect of enzyme lysozyme and vitamins as feed supplements on the milk somatic cell count and technological properties of milk, which are important for production. Twenty cows were randomly divided into 2 equal groups and fed 2 different diets. The diets were based on the normal diet supplemented with lysozyme and vitamins A, C, E and the normal diet without supplementation (control). The experiment lasted for 10 days. The measurements were conducted on 4th, 7th and 10th days as well as after 7 days of the experiment.

The results from this study demonstrate that biologically active feed supplements with enzyme and vitamins significantly reduced the milk somatic cell count and affected technological properties of milk during the experiment and one week after. The results also show that feed supplementation with enzyme and vitamins in comparison to the controls markedly reduced changes in milk acidity, speed of milk fermentation and properties of formed structures. However, biologically active feed supplements with enzyme and vitamins have shown more pronounced influence on technological properties of milk compared to the control group. There was no influence of feed supplementation with enzyme and vitamins on the enzyme structure formation and process of syneresis.

Key words: feed supplements, somatic cells, milk technological properties, quality