

# АНТИБИОТИКИ В МЁДЕ – ПУТИ ПОПАДАНИЯ, ХАРАКТЕРИСТИКА И ОСОБЕННОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

С.И. Викуль, кандидат технических наук, доцент,  
Одесская национальная академия пищевых технологий



(Продолжение, начало в №№ 1-2, 3 журнала «НТИ»)

Ветеринарная служба Украины приказом №111 от 27.12.2006 года запретила использование препаратов, содержащих антибиотики, сульфаниламидные и фурановые компоненты, а также изатизон.

Весь мёд, идущий на экспорт, обязательно проходит контроль на антибиотики. Согласно ДСТУ 4497-2005 г., в мёде недопустимы антибиотики тетрациклин и стрептомицин, а допустимы левомицетин с нормой не более 0,3 мкг/кг, нитрофуран (АОЗ) – не более 0,6 мкг/кг, нитрофуран (АМОЗ) – не больше 0,6 мкг/кг.

Список стран, которым разрешено поставлять мёд в ЕС, ежегодно корректируется и публикуется в Официальном журнале Европейского Союза (Official Journal of the European Union). 15 октября 2011 года был опубликован список из 40 таких стран, среди которых значится и Украина.

Экспорт украинского мёда за последние годы значительно вырос, и в 2013 году он составил 23 тыс. тонн, а в 2014 году – 34 тыс. тонн. В 2015 году наша страна осуществила экспорт мёда в 214 стран, а главным партнером Украины стал Европейский Союз, на который пришлось 31,8% от всего отечественного экспорта. Это стало результатом утверждения допустимых уровней (MRL) лекарственных препаратов в мёде; принятия и плана национального мониторинга остаточных количеств лекарственных препаратов в продукции животного происхождения (в том числе в мёде); создания аккредитованных лабораторий, отвечающих мировым требованиям проведения анализов продукции животноводства, включая мёд.

Для определения содержания антибиотиков в мёде в лабораториях применяют оптические, электрохимические, хроматографические и чаще всего комбинированные методы анализа. Так же применяются иммунологические и микробиологические тест-методы [3, 4, 5, 6].

Существует несколько способов определения антибиотиков в мёде. Один из них – метод диффузии в агар, который базируется на способности антибиотиков диффундировать в агар, засеянный тест-микроорганизмами, и препятствовать их росту [5].

Известен также метод тонкослойной хроматографии, основанный на разделении пробы мёда в тонком слое сорбента на хроматографических пластинках. Чтобы оценить содержание остаточных количеств препаратов, на эту же пластинку одновременно с пробой мёда наносят стандартные растворы антибиотика с известными концентрациями и сравнивают результаты. Оба метода несовершенны: недостаточно чувствительны, исключают возможность получения количественных результатов, длительны в исполнении и т.д.

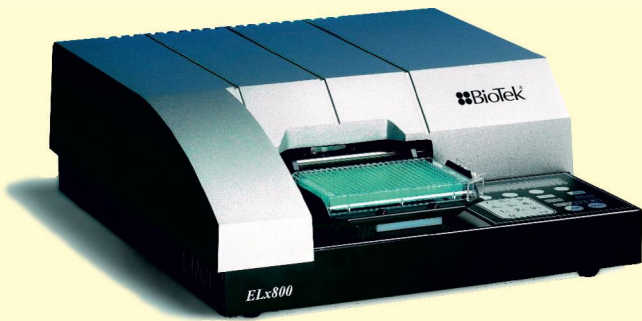
Для определения остаточных количеств левомицетина, тетрациклина и нитрофурана (АОЗ) применяются методы жидкостной хроматографии высокого давления и хромато-масс-спектрологии, однако они предполагают использование дорогого оборудования, которое требует специалистов высокой квалификации [6,7].

Известны и другие методы определения остаточных количеств ветеринарных препаратов в мёде: хлорамфеникол – LC-MS/MS, GC-MS; фторхинолоны, макролиды, метаболиты нитрофурана – LC-MS/MS; стрептомицин – LC-FLD, LC-MS/MS; сульфаниламиды – LC-UV/FLD, LC-MS/MS; тетрациклины – LC-UV, LC-MS/MS [2].

Последнее время широко используются иммуноферментные методы анализа (ИФА, ELISA), которые являются официальными методами контроля продуктов животного происхождения, принятыми в странах Евросоюза (Директива 93/257/ЕЕС).

Данные методы способны обнаружить в мёде любые вещества в любой концентрации и могут применяться с диагностической целью.





Ридер BioTek ELx800



r-biopharm



## АССОРТИМЕНТ КОМПАНИИ «БИОЛА»:

### Тест-системы и оборудование для определения антибиотиков, сахаров, ГМО и других показателей в меде и продуктах пчеловодства

- Иммуноферментный анализ RADASCREEN® Хлорамфеникол (левомецетин), сульфаниламидовая группа, стрептомицин, Тетрациклиновая группа, Энро/Ципрофлоксацин, хинолоновая группа (фторхинолоны), Макролиды, Нитрофураны (AOZ, AMOZ, SEM, AHD)



- Энзиматический анализ Roche Diagnostics Уксусная кислота, этанол, сахароза/глюкоза/фруктоза, глицерин, молочная кислота, мальтоза, щавелевая кислота



- ПЦР в реальном времени SureFood® выделение ДНК скрининг, качественный, количественный анализ ГМО



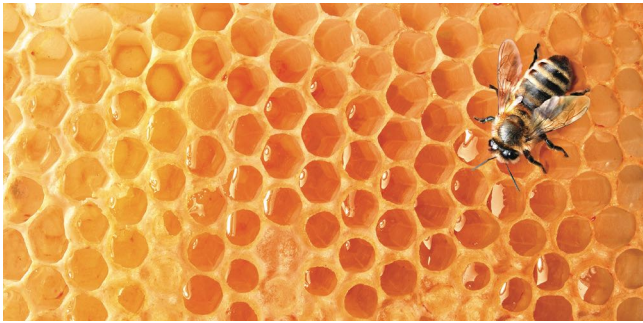
- Иммуноферментные анализаторы (ридеры)
- Фотоэлектроколориметры, спектрофотометры
- ПЦР-амплификаторы в реальном времени
- Микроскопы
- Люминометры
- Микровыпариватели
- Системы и колонки для твердофазной экстракции
- Центрифуги
- Диспенсеры
- Лабораторные мельницы
- Гомогенизаторы
- Инкубаторы
- Термошейкер и термостаты
- Водяные бани
- Интеллектуальные миксеры
- Шейкеры, мульти-шейкеры, шейкеры-инкубаторы
- Магнитные мешалки и Вортекс
- Лабораторные, аналитические весы
- Дозаторы лабораторные
- Пластиковая лабораторная посуда и расходные материалы

### Оборудование ЧП "Биола" и тест-наборы компании R-Biopharm позволяют осуществить ферментативный биоанализ, также определить следующие показатели:

- Анализ витаминов
- Макрокомпонентный состав
- Следы ксенобиотиков (микотоксины, гормоны / анаболики, антибиотики, фикотоксины, фальсификация)
- ГМО
- Пищевые аллергены
- Материал максимального риска (мозговая ткань)
- Видовая идентификация
- Микробиология / Санитарно-гигиенический контроль

Методические указания рассмотрены и одобрены ТК №132 Госпотребстандарта Украины «Средства защиты животных, корма и кормовые добавки» и Утвержденные Научно-методическим советом Государственной ветеринарной и фитосанитарной службы Украины.





В основе процедуры анализа лежит взаимодействие антигенов с антителами. Использование этого метода включает в себя проведение следующих этапов:

1. В лунки планшета, которые сенсibilизированы антителами, поочередно вносятся биопробы (исследуемые образцы /стандартные растворы).

2. Далее в лунки нужно внести конъюгат антибиотика с ферментом.

3. Производится инкубация системы в течении определенного времени. Молекулы антибиотика, содержащиеся в пробе или в стандартном растворе, и молекулы конъюгата антибиотика с ферментом, конкурируя между собой, связываются с специфическими антителами, иммобилизованными на поверхности лунок планшета (конкурентный иммуноферментный метод).

4. Следующий этап анализа включает в себя промывку ячеек планшета. Таким образом удаляется избыток несвязанных молекул конъюгата антибиотика с ферментом.

5. После промывания планшета в его ячейки дозировано вводится раствор субстрата с хромогеном. В процессе инкубации при химическом взаимодействии субстрата с хромогеном образуются окрашенные продукты реакции (в роли катализатора реакции выступает связанный на поверхности ячейки ферментный фрагмент молекулы конъюгата).

6. Через определенное время происходит окрашивание бесцветного хромогена в голубой цвет. В ячейки добавляется стоп-реагент, при этом происходит изменение голубого цвета раствора на желтый.

7. Оптическая плотность в ячейках измеряется на спектрофотометре (ридере) при длине волны равной 450 нм. Полученные данные обрабатывают с помощью программного обеспечения RIDASOFT Win.

Метод конкурентно-иммуноферментного анализа обладает следующими преимуществами:

- 1) возможностью использовать минимум исследуемого материала;
- 2) высокой чувствительностью;
- 3) стабильностью реагентов;
- 4) возможностью автоматизации;



5) исследованием большого количества образцов за короткий промежуток времени.

Метод иммуноферментного анализа с использованием тест-системы применяют для определения остаточных количеств в мёде следующих антибиотиков: хлорамфеникола (левомецетин), сульфаниламидной группы, стрептомицина, тетрациклиновой группы, ципрофлоксацина, хинолоновой группы (фторхинолоны), макролидов, метаболитов нитрофурана (AOZ, AMOZ, SEM, AHD) [8,9,10,11,12,13,14].

При разработке указанного метода и расчете его метрологических характеристик применяют наборы RIDASCREEN® производства немецкой компании R-Biopharm, отличающиеся высокой надежностью.

Каждый набор сертифицирован и для контроля качества измерений снабжен стандартным калибровочным графиком.

В методиках подробно описаны средства измерений, вспомогательные устройства, посуда, материалы и реактивы для выявления указанных антибиотиков.

Пределы обнаружения антибиотиков в мёде: хлорамфеникол (левомецетин) – 18 нг/кг (ppt), сульфаниламидная группа – 3 мкг/кг (ppb), стрептомицин – 5 мкг/кг (ppb), тетрациклиновая группа – 4 мкг/кг (ppb), хинолоновая группа (фторхинолоны, Энро/Ципрофлоксацин) – 3 мкг/кг (ppb), макролиды – 2,5 мкг/кг (ppb), метаболиты нитрофурана (AOZ, AMOZ, SEM, AHD) – 100-300 нг/кг (ppt).

Применение в лабораториях указанного метода позволит ограничить бесконтрольное использование антибиотиков в пчеловодстве, обеспечит высокое качество мёда и, следовательно, повысит его конкурентоспособность.

## ЛИТЕРАТУРА

1. ДСТУ 4497:2005. Мед натуральний. Технічні умови.
2. Фармазян, А.С. Пора позабитись о чистоте мёда [Текст] / Фармазян, А.С. Угринович, Б.А. – Научно-производственный журнал «Пчеловодство» – Москва. – № 9. 2008. – С. 5-7.
3. А. Пономарев. Контроль качества меда в мировом пчеловодстве. (<http://www.fdl.co.uk>).
4. Рут А.И., Рут Э.Р., Рут Х.Х. и др. Энциклопедия пчеловодства; Пер. с англ., Е. Северцовой и Т. Губиной. – М.: Худож. лит. и МП «Брат», 1993. – 368 с.
5. Касаткин В. С. Ветеринарно-санитарная экспертиза меда ГСХИ, Горький, 1985. – 29 с.
6. ГОСТ Р 53992-2010. Продукты пищевые, продовольственное сырье. Методы определения остаточного содержания метаболитов нитрофуранов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрофотометрическим детектором.
7. Соколова, Л.И. Определение антибиотиков (левомецетина и тетрациклина в пищевых продуктах с различными матрицами [Текст] / Соколова, Л.И., Белоусова, К.О., Пивар, Ю.О., Шапкин, Н.П., Радов, В.И. – Научно-производственный журнал «Техника и технология пищевых производств» – Кемерово: КемТИПП. – 2015. – С. 146-151.
8. Методичні вказівки з кількісного визначення сульфаніламідів у зразках м'яса, яєць, молока та меду тест-системою Рідаскрин® Сульфаніламід (Ridascreen® Sulfonamide (виробництво фірми Ар-Біофарм/R-Biopharm, Німеччина) № R3004, Львів, 2009.
9. Методичні вказівки по кількісному визначенню стрептоміцину і дигідрострептоміцину у зразках м'яса, молока та меду тест-системою Рідаскрин® Стрептоміцин (Ridascreen® Streptomycin) (виробництво фірми Ар-Біофарм/R-Biopharm, Німеччина) № R3103, Львів, 2009.
10. Методичні вказівки по кількісному визначенню тетрацикліну у зразках м'яса, молока, твердого сиру, креветок, масла, яєць та меду тест-системою Рідаскрин® Тетрациклін (Ridascreen® Tetracyclin) (виробництво фірми Ар-Біофарм/R-Biopharm, Німеччина) № R3505, Львів, 2012.
11. Методичні вказівки з визначення залишкових кількостей нітрофурану (SEM) у зразках м'яса, креветках, печині, риби, яєць, молока і меду тест-системою Рідаскрин® Нітрофуран (SEM) (Ridascreen® Nitrofurantoin (SEM) (виробництво фірми Р-Біофарм/R-Biopharm, Німеччина) № R3715, Львів, 2011.
12. Методичні вказівки по визначенню залишкових кількостей нітрофурану (AOZ) у зразках м'яса, креветках, печині, риби, яєць, молока і меду тест-системою Рідаскрин® Нітрофуран (AOZ) (Ridascreen® Nitrofurantoin (AOZ) (виробництво фірми Р-Біофарм/R-Biopharm, Німеччина) № R3703, Львів, 2009.
13. Методичні вказівки по кількісному визначенню хлорамфеніколу у зразках м'яса, молока, яєць та меду тест-системою Рідаскрин® Хлорамфенікол (Ridascreen® Chloramphenicol) (виробництво фірми Р-Біофарм/R-Biopharm, Німеччина) № R1505 (методичні вказівки), Львів, 2009.
14. Методичні вказівки по визначенню залишкових кількостей хінолонів у зразках м'яса, яєць, креветок, риби і меду тест-системою Рідаскрин® хінолоні (ridascreen® chinolone/quinolones) (виробництво фірми Р-Біофарм/R-Biopharm, Німеччина).