

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ ВЫЯВЛЕНИЯ ХИНОЛОНОВ В СУБПРОДУКТАХ

Галушко Дарья Павловна, студент, E-mail: gdp26032002@mail.ru;

Телегина Софья Александровна, студент, E-mail: telegina.sonya@mail.ru;

Нитяга Инга Михайловна, к.б.н., доцент кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы и биологической безопасности, E-mail: inga99@mail.ru

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств»

Аннотация: Целью данной работы являлось усовершенствование метода выявления хинолонов в субпродуктах животных и птицы (печень говяжья, почки куриные, печень куриная, желудки куриные) с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором.

Ключевые слова: хинолоны, высокоэффективная жидкостная хроматография, антибиотики, противомикробные препараты.

Введение. Мировое потребление противомикробных препаратов в животноводстве оценивается в 63 151 ($\pm 1\ 560$) тонн в 2010 г. и, по прогнозам, вырастет на 67% до 105 596 ($\pm 3\ 605$) тонн к 2030 г. Две трети (66%) глобального прироста (67%) в потреблении противомикробных препаратов связано с растущим поголовьем животных, выращиваемых для производства продуктов питания. Оставшаяся треть (34%) связана с изменением методов ведения сельского хозяйства, при этом прогнозируется, что к 2030 году большая часть животных будет выращиваться в системах интенсивного земледелия. [1]. С пищевыми продуктами в организм человека поступает более 70 чужеродных веществ, значительная часть которых потенциально опасна даже в небольших количествах. К наиболее опасным с точки зрения распространения и влияния на здоровье загрязнителям пищевых продуктов относят токсичные металлы, радионуклиды, пестициды, их метаболиты и продукты метаболической деградации, нитраты, нитриты и N-нитрозамины, полициклические ароматические углеводороды (бензапирен, полихлорированные бифенилы, диоксины), стимуляторы роста сельскохозяйственных животных (гормоны, антибиотики) и другие соединения. Антибиотики хинолонового ряда появились в начале 1960-х годов, причем первые образцы обладали узким спектром действия с неблагоприятными фармакокинетическими свойствами. Со временем разработка новых хинолоновых антибиотиков привела к созданию усовершенствованных аналогов с расширенным спектром действия и высокой эффективностью [3, 5]. Количество хинолонов, используемых в животноводстве, различается в зависимости от страны и вида животных. Сегодня нет точной оценки их глобального использования в животноводстве. Данные об использованных количествах получены из систем активного эпиднадзора, в основном в развитых странах, при этом информация из стран с низким и средним

уровнем дохода является минимальной или вообще отсутствует. Отсутствие систематизированного отслеживания информации затрудняет определение количества и потенциальных рисков хинолонов для здоровья человека и животных. Этот недостаток информации особенно важен, когда речь идет о тех противомикробных препаратах, которые классифицируются как критически важные. Сохранение прослеживаемости будет иметь решающее значение для разработки политики, направленной на сокращение потребления и использования антибиотиков в качестве глобального ответа на угрозу устойчивости.

Целью данной работы являлось усовершенствование метода выявления хинолонов в субпродуктах животных и птицы (печень говяжья, почки куриные, печень куриная, желудки куриные).

Методы и принципы исследования. Для определения остаточного содержания хинолонов применялся ВЭЖХ-МС/МС анализ, в соответствии с ГОСТ 32797-2014 «Продукты пищевые, продовольственное сырье, метод определения остаточного содержания хинолонов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором». Отбор проб проводился согласно ГОСТ 31467-2012 «Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы отбора проб и подготовка их к испытаниям». В соответствии с данными, полученными при анализе градуировочных растворов, проводили количественную обработку хроматограмм с использованием программного обеспечения.

Расчеты содержания хинолона X_i , мкг/кг, и площади пика выполняются системой обработки данных в автоматическом режиме в соответствии с формулой 1:

$$X_i = \frac{X_{ст} \cdot S_i}{S_{ст}}$$

Рисунок 1 - формула 1

где $X_{ст}$ - концентрация внутреннего стандарта, мкг/кг; S_i - площадь пика хинолона; $S_{ст}$ - площадь пика внутреннего стандарта хинолона.

За окончательный результат измерений содержания хинолонов принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, выполненных в условиях повторяемости, округленное до целого числа и выраженное в микрограммах на килограмм (мкг/кг).

Основные результаты. Так как антибиотики влияют на внешний вид субпродуктов, то необходимо было провести исследование на органолептику. Органолептический анализ проводился по ГОСТ 32244-2013 «Субпродукты мясные обработанные». Согласно полученным данным все органолептические показатели исследуемых образцов соответствовали требованиям, установленным в ГОСТ 32244-2013. Отклонений выявлено не было.

В результате проведенных исследований ни в одном образце субпродуктов не было найдено превышение нормы антибиотиков хинолонов (таблица 1), что свидетельствует о надлежащем контроле и качестве выпускаемой продукции.

Таблица 1 - Результаты исследований выявления хинолонов

| Номер образца | № 1 | № 2 | № 3 | № 4 | № 5 | № 6 | № 7 |
|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Результат | Не обнаруж. |

Однако, в результате исследования 7 образце был выявлен офлоксацин в количестве одной единицы, что является допустимым значением для данного вещества согласно техническому регламенту ТР ТС 021/2011 "О безопасности пищевой продукции" (рисунок 2).

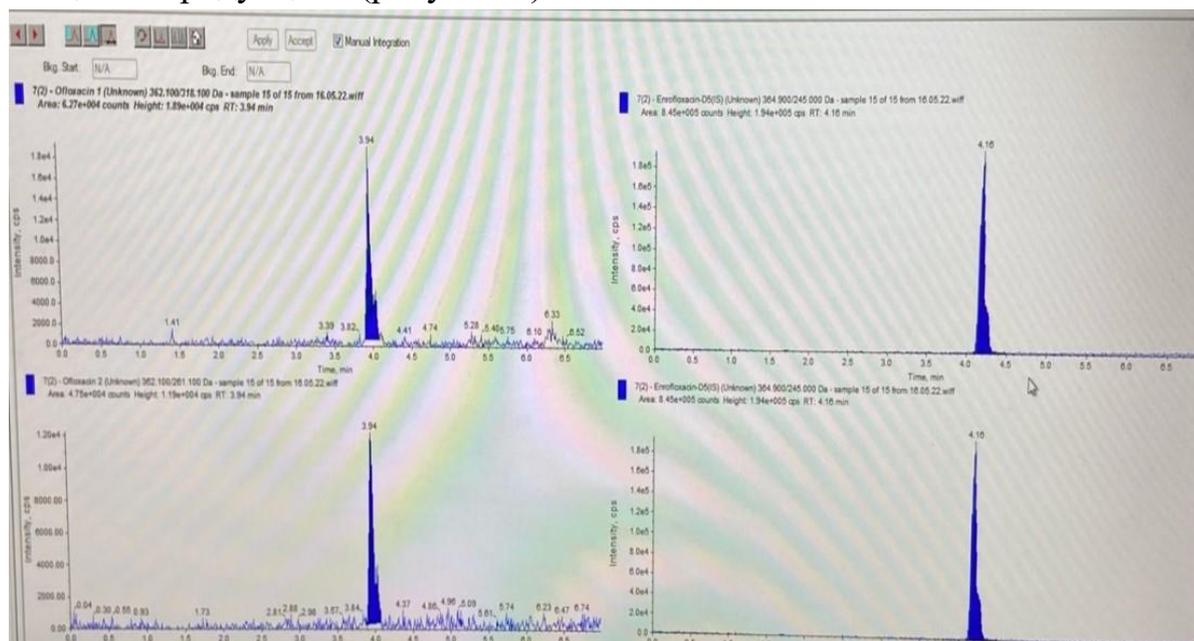


Рисунок 2 - Результаты выявления офлоксацина

Для усовершенствования метода определения хинолонов мы сокращали количество навески образцов с 1г до 0,5г и реагентов в 2 раза. И выполняли пробоподготовку по тому же алгоритму. Далее приведены измененные части алгоритма. Для начала навешивали образцы по 0,5 г. Вносили в пробирку 0, 025 см³ рабочего раствора внутреннего стандарта вместо 0, 05 см³. Приливали ацетонитрил (1,5 см³) и 125 мм³ водного раствора гидроксид аммония. Надосадочные жидкости, полученные при экстракциях, объединяли, добавляя 1,5 см³ гексана, 1, 5 см³ этилового эфира и 125³ мм раствора хлорид натрия. Осадок переносили в микроцентрифужную пробирку, приливали подвижную фазу А до 0,5 см³ и помещали в центрифугу при 15000 об/мин в течении 15 мин при температуре 4 °С. Усовершенствованный метод определения также не выявил антибиотиков хинолонового ряда, выявив при этом офлоксацин. Усовершенствование было проведено аналогичным методом с аналогичной продукцией, результаты методов сопоставимы. Погрешность при исследовании усовершенствованным методом допустимая, обусловлена погрешностями при навеске образцов.

Заключение. Таким образом, в ходе проведения исследований превышения норм хинолонов в субпродуктах обнаружено не было. В результате исследований был

выявлен офлоксацин в пределах нормы согласно Техническому регламенту Таможенного союза "О безопасности пищевой продукции".

Предложен новый усовершенствованный метод выявления хинолонов в мясе и мясной продукции. Он был усовершенствован путем сокращения навески продукта и количества реагентов в 2 раза.

Библиографический список

1. Ван Бокель Т.П. Глобальные тенденции в использовании противомикробных препаратов в пищевых продуктах животного происхождения /Ван Бокель Т.П., Брауэр С., Гилберт М.// Протокол Natl Acad Sci U S. A. 2015. - Том 112. - Изд. - 18. – С. 5649-54.
2. Воз. Информационный бюллетень. Ноябрь 2018. Всемирная неделя правильного использования антибиотиков. Ноябрь 2018 г https://antimicrob.net/wp-content/uploads/VOZ-2016-Globalnyy-plan-deystviy-porborbe-s-rezistentnostyu_russk.pdf?ysclid=l6qrpdnl3l250228106 (Дата обращения: 13.07.2022).
3. Громов И.Ю. Исследование степени загрязнения птицепродуктов остатками некоторых антибиотиков/Громов И.Ю., Горшкова И.В., Филиппова Г.В. //Птица и птицепродукты. 2020. - № 6. - С. 62-65.
4. Жаринов А.И. Антибиотики в мясе: вопросы и ответы /Жаринов А.И., Кузнецова О.В., Куликовский А.В. //Мясная индустрия. 2019. - № 9. - С. 41-45.
5. Чаплыгина О. С. Установление линейности метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором для определения остаточного содержания хинолонов в пищевой продукции. / Чаплыгина О. С., Подлегаева Т. В. // сборник избранных статей по материалам научных конференций ГНИИ «нацразвитие» 2020. - С. 138-140.