

**УДК 543.5**

**МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСТАТОЧНОГО СОДЕРЖАНИЯ  
АНТИБИОТИКОВ В МОЛОЧНОЙ ПРОДУКЦИИ**

А.А. Кляшторная,  
Е.Ю. Ван,  
Д.В. Ясногор

На сегодняшний день потребление молочных и кисломолочных продуктов является одним из немаловажных компонентов питания современного человека. Производителями и поставщиками молочного сырья являются сельскохозяйственные предприятия различных организационно-правовых форм собственности (ОАО, ЗАО, ООО, агрофирмы, СХПК и др.) и крестьянско-фермерские хозяйства.

Неправильная организация условий нахождения животных на данных предприятиях приводит к их заболеванию. Возникновение болезней у крупного рогатого скота обусловлено несколькими факторами: воспалительными процессами, вызванными подачей молока на круглогодичной основе, а также теснота, вследствие которой могут развиться инфекции на фермах. Для купирования и эффективного лечения заболевания у крупного рогатого скота используют антибиотики в водорастворимой форме. При тяжелом и осложненном течении болезни возможно применение инъекционных антибиотиков, также препараты применяются в субтерапевтических количествах, как кормовые добавки для стимуляции роста крупнорогатого скота, тем самым затраты корма на единицу прироста снижаются на 5-8 %, активируется резистентность организма, сокращается период откорма животных. Также применяемые в кормлении животных антибиотики оказывают стимулирующее действие на продуктивность и воспроизводство, что приводит к 4-5 % увеличению массы животных по сравнению с контрольными группами.

В животноводстве применяются более семидесяти видов антибиотиков. Лечебные препараты способны долгое время оставаться в продуктах питания животного происхождения, и могут попадать в человеческий организм с их потреблением. В молочную и кисломолочную продукцию поступают не сами антибиотики, а лишь их остаточное содержание, за счет обмена веществ животного и пастеризации продуктов.

В России контролируются четыре базовых группы антибиотиков: левомицетин, стрептомицин, тетрациклин и пенициллин. Чаще всего применяются антибиотики тетрациклической группы за счет того, что данные препараты дешевле и действуют эффективнее. Тетрациклин является одним из самых сильнодействующих противомикробных антибиотиков, обладающим широким спектром антибактериального действия. Поэтому существует норма остаточного содержания тетрациклина в продукции со-

гласно законодательству РФ – 100 мкг/кг. Превышение данного показателя в производстве является противозаконным. Тетрациклин увеличивает сроки хранения продукции, что является выгодным для производителя. Антибиотики тетрациклической группы имеют способность накапливаться в костной ткани, тем самым нарушая ее формирование, что приводит к замедлению роста у детей, а у взрослых приводит к разрушению зубов. Полярные молекулы тетрациклина выводятся в неизмененном виде с мочой (20 – 60 % дозы в течение суток). Период полуэлиминации тетрациклина – 6 – 12 ч, его производных – 16 – 18 ч. Максимально допустимое суточное поступление тетрациклина, а также пенициллина в организм человека с продуктами питания не должно быть в пределах их чувствительности, то есть не более 10 мкг/кг.

Таблица 1.

Наименование продукта	Допустимый уровень содержания антибиотика, ед/г ( $\text{см}^3$ ), менее:			
	Левомицетин	Тетрациклическая группа	Стрептомицин	Пенициллин
Молоко, пахта, сыворотка молочная, жидкие кисломолочные продукты.	0,01/0,0003	0,01/0,01	0,5/0,2	0,01/0,004
Продукты молочные, молочные составные, сухие и сублимированные в пересчете на восстановленные продукты.	0,01	0,01	0,5	0,1
Молочные продукты детского питания для детей раннего возраста, адаптированные молочные смеси.	0,01/0,0003	0,01/0,01	0,5/0,2	0,04/0,004

Таблица 1. Допустимый уровень содержания антибиотиков в молочной продукции.

Хочется отметить, что применение антибиотиков негативно влияет на технологический процесс: антибиотики ингибируют рост закваски и делают невозможным получение продукции требуемого стандарта качества. Еще в продукции активнее развивается патогенная микрофлора. Также каждодневное употребление молочной и кисломолочной продукции, содержащей остаточное содержание антибиотиков различных групп, может оказывать негативное воздействие на организм человека. Тем самым ответная реакция организма на повышенное содержание антибиотиков может про-

явиться, как возникновение аллергической реакции, изменение микрофлоры желудочно-кишечного тракта, дисбактериоза и угнетением активности полезных ферментов, а также может выработать устойчивость человеческого организма к антибиотикам. Поэтому подбор методики, которая позволяет проводить регулярный количественный и качественный анализ продуктов животного происхождения, в особенности крупного рогатого скота, имеет важную значимость для здоровья населения в целом.

В настоящее время существует множество различных методов для определения остатков антибиотических препаратов, например, микробиологические методы, основанные на непосредственном биологическом действии антибиотиков на чувствительные штаммы микроорганизмов. Содержание антибиотиков выявляют при их диффузии в агар и сравнении угнетения роста тест-микроорганизма определенными концентрациями испытуемого препарата со стандартами антибиотика [1]. Минимально определяемая концентрация составляет 0,05 мкг/мл. Основными недостатками метода являются низкая избирательность, продолжительность (термостатирование образцов проводят в течение 18-24 часов) и трудоемкость определения. Также микробиологические тесты являются дорогостоящими и имеют невысокую селективность и чувствительность. Методика определения содержания антибиотиков микробиологическим методом в молочной продукции описана в ГОСТ 33626-2015 [2].

Широко используются иммунохимические и микробиологические экспресс-тесты, позволяющие проводить анализ в полевых условиях и не требующие дополнительного оборудования. Пределы обнаружения таких тестов составляют 0,01-0,05 мкг/мл. Иммунохимических методы основаны на высокоспецифичных реакциях антиген-антитело. Эти методы, которые относят к скрининговым методам анализа, отличаются простотой выполнения аналитических операций, экспрессностью, возможностью автоматизации и использования для массовых анализов, высокой чувствительностью и селективностью. Чаще всего используют метод твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) [3].

Наиболее широкое применение для определения антибиотиков в молочной продукции нашел метод ВЭЖХ (высокоэффективной жидкостной хроматографии) с флуоресцентным, УФ- и масс-спектрометрическими детекторами. Диапазон измерений массовых долей антибиотиков для левомицетина (хлорамфеникола) от 0,0001 мг/кг до 1,0 млн мг/кг, для антибиотиков пенициллиновой и тетрациклической групп от 0,001 млн мг/кг до 1,0 млн мг/кг, для стрептомицина от 0,005 млн кг/кг до 1,0 млн мг/кг. Методика определения содержания антибиотиков методом ВЭЖХ в молочной продукции описана в ГОСТ 33626-2015 [4].

Помимо метода ВЭЖХ применяется тонкослойная хроматография (ТСХ), позволяющая регистрировать появление индивидуального пятна анализируемого вещества. Для определения хлорамфеникола в молоке жи-

вотных предложено использовать метод ТСХ с УФ–детектированием. Предел обнаружения составляет 1 мг/кг, метод по чувствительности является альтернативой метода ВЭЖХ.

Метод капиллярного электрофореза со спектрофотометрическим детектированием применим для одновременного определения спарфлоксацина (предел обнаружения-19,8 мг/кг), ципрофлоксацина (предел обнаружения -15,2 мг/кг), энрофлоксацина (предел обнаружения -13,3 мг/кг) и флумехина (предел обнаружения -15,9 мг/кг) в молоке [5]. Достоинствами этого метода является высокая эффективность разделения, экспрессность анализа и его простота, а также малый объем вводимой пробы (несколько нанолитров) и меньший расход реактивов. Метод капиллярного электрофореза является альтернативным по пределу обнаружения методу жидкостной хроматографии при определении антибиотиков в пищевых продуктах животного происхождения.

Из электрохимических методов нашли применение амперометрическое титрование, ионометрия, вольтамперометрия. Эти методики отличаются высокой чувствительностью, простотой и селективностью. Разработаны методики электрохимического определения антибиотиков тетрациклинового ряда (окситетрациклина, метациклина и тетрациклина) в молоке с использованием амперометрического титрования и ионометрии. Методики отличаются высокой чувствительностью, простотой и селективностью. Пределы обнаружения составляют  $7 \cdot 10^{-6}$ – $1 \cdot 10^{-5}$  моль/л.

Также предложены ионселективные электроды с мембраной на основе электродно-активных соединений из аниообменников, азосоединений и фталоцианатов металлов для определения антибиотиков. Пределы обнаружения для бензпенициллина –  $1.0 \cdot 10^{-5}$  моль/л, ампициллина –  $3.1 \cdot 10^{-5}$  моль/л [6]. Электрохимические методы привлекают интерес благодаря простоте, экспрессности и их низкой стоимости. Однако, необратимый характер окисления определяемых соединений и адсорбция продуктов их окисления на поверхности электрода ухудшают метрологические параметры результатов анализа.

Спектроскопический метод применяется за счет того, что в спектрах поглощения тетрациклической группы наблюдается несколько характерных полос с максимумами при 220, 265 и 335 – 365 нм, что делает возможным их определение по собственному поглощению. Несмотря на то, что этот подход не получил широкого распространения в силу низкой селективности и необходимости в предварительном выделении определяемого компонента из анализируемого продукта, его иногда применяют для определения тетрациклических антибиотиков в относительно простых по составу объектах. Описана методика определения тетрациклических антибиотиков в молоке [7] по собственному поглощению растворов в УФ–области.

При выборе методики определения антибиотика необходимо учитывать, что остаточные количества антибиотиков в молочной продукции, в

основном, имеют низкие значения ПДК, поэтому методы их определения должны быть селективными, экспрессными и высокочувствительными. Этому требованию всецело отвечают хроматографические методы в частности метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), однако, из-за высокой стоимости аппаратуры он не всегда доступен для предприятий пищевой промышленности. Наиболее оптимальной альтернативой можно считать метод капиллярного электрофореза со спектрофотометрическим детектированием за счет его способности одновременного определения антибиотиков различных групп, а также высокой селективностью и экспрессностью.

#### Список литературы:

1. Фирсов, А.А. Алексеева М.Е., Кулешов С.У., Каденаци И.Б., Гагаева Е.В., Агапитова И.А., Кулешова Е.Э., Домбровский В.С., Назаров А.Д. Ципрофлоксацин: ВЭЖХ и микробиологический метод при оценке биоэквивалентности лекарственных форм. Хим. фарм. журн. 1995, 3, 24–27.
2. ГОСТ 31502-2012. Молоко и молочные продукты. Микробиологические методы определения наличия антибиотиков. – М: Изд-во стандартов, 2013.
3. Fernandes S.A.A., Magnavita A.P.A., Ferrao S.P.B., Gualberto S.A., Fa-leiro A.S., Figueiredo A.J., Matarazzo S.V. Daily ingestion of tetracycline residue present in pasteurized milk: a public health problem. // Environ. Sci. Pollut. Res.
4. ГОСТ 33526-2015. Молоко и продукты переработки молока. Методика определения содержания антибиотиков методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. – М: Изд-во стандартов, 2016.
5. Barron D., Jimenez-Lozano E., Bailac S., Barbosa J. Simultane-ons determination of flumequine and oxolinic acid in chicken tissues by solid phase extraction and capillary electrophoresis. Anal. Chim. Acta. 2003, 477(1), 21–27.
6. Шведен Н.В., Боровская С.В. Ионометрическое определение  $\beta$  – лактамных антибиотиков. Журн. аналит. хим. 2003, 58(11), 1208– 1213.
7. Divya M.P., Rajput Y.S., Sharma R. Synthesis and application of tetracycline imprinted polymer. // Anal. Lett. 2010. V. 43. P. 919–928.