

УДК 619:615.33:637.11

МОДИФІКАЦІЯ МЕТОДУ ОДНОЧАСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ДЕВ'ЯТИ СУЛЬФАНИЛАМІДІВ У ЗРАЗКАХ МЕДУ МЕТОДОМ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ З ФЛЮОРОГРАФІЧНИМ ДЕТЕКТУВАННЯМ (ВЕРХ/ФЛД)

Д. Янович, д. с.-г. н., Г. Мисько, м. н. с.
yandmyt@scivp.lviv.ua, galyna_83@mail.ru

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок

За обсягом виробництва меду Україна займає третє місце в світі (FAO, 2009-2011 рр.). Станом на кінець 2013 року цей показник становить приблизно 80 тис. тон, з яких заледве 22 % експортується на світові ринки. За показниками експорту Україна займає тільки 22 місце. Впродовж 2003–2013 років лабораторією інструментальних методів контролю ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок було проведено контроль зразків від експортних партій українського меду загальним обсягом 44 703,7 т. Щорічний обсяг експорту меду станом на кінець 2013 року збільшився приблизно в 10 разів порівняно з 2003 роком. Найбільшою перешкодою, яка стоїть на заваді подальшому збільшенню експорту українського меду, є наявність в ньому залишків антимікробних препаратів. Найчастіше виявляються в вітчизняному меді залишки наступних груп антибіотиків та антимікробних препаратів: хлорамфеніколу, нітрофуранів, нітроїмідазолів, сульфаніламідів, тетрациклінів та аміноглікозидів. В Україні не зареєстровано жодного препарату для лікування бджіл, який би містив вищезгадані діючі речовини, через заборону використання їх в бджільництві. Наявність залишків згаданих речовин в меді є наслідком несанкціонованого застосування бджолярами контрабандних препаратів або медичних препаратів доступних в роздрібних аптеках гуманної медицини.

З вищенаведеного переліку залишків антимікробних препаратів, сульфаніламіди заслуговують на особливу увагу, що пов'язано з їх розповсюдженістю в гуманній та ветеринарній медицині та наявністю великої кількості сполук, що належать до цієї групи. Розпорядженням № 95 від 07.07.06, Державного департаменту ветеринарної медицини України, були встановлені вимоги щодо межі чутливості методики визначення сульфаніламідів в меді, які становить 7 мкг/кг для усіх представників групи, за винятком сульфатіазолу, для якого межа виявлення має бути не вищою за 3 мкг/кг.

З урахуванням вищезазначених вимог у ДНДКІ ветпрепаратів в 2006 році була розроблена методика групового визначення 9 сульфаніламідів в меді з використанням ВЕРХ/ФЛД. Після затвердження розробленої методики Науково-технічною радою Державного департаменту ветеринарної медицини України, методика була впроваджена в лабораторіях ветеринарної медицини України. Попри її високу чутливість основним недоліком є тривала процедура підготовки зразків, яка потребує значних витрат часу, що значно сповільнює темпи проведення випробувань, необхідних для одержання експортерами ветеринарного сертифікату.

Метою нашої роботи було покращення технічних характеристик, раніше розробленої методики, шляхом внесення змін в порядок підготовки зразків для визначення сульфаніламідів в меді методом ВЕРХ/ФЛД. Одним з найтриваліших етапів методики є проведення кислотного гідролізу зразків, необхідного для руйнування стійких комплексів, які утворюють залишки сульфаніламідів з цукрами меду. Першим етапом роботи було оптимізація умов гідролізу в ході якої, з чотирьох випробуваних варіантів, нами була запропонована процедура, яка передбачає розчинення зразка меду 2М розчином хлоридної кислоти в співвідношенні 1:1 з наступним гідролізом за температури 50 °C за дії ультразвуку протягом 30 хв. В наступний етап методики, який передбачає екстрагування етилацетатом звільнених в водне середовище залишків сульфаніламідів, внесено зміни, зміст яких полягає в поетапному екстрагуванні залишків сульфаніламідів етилацетатом за різного значення рН розчину. Додавання етилацетату в пробірки з гідролізованими зразками меду починається відразу після закінчення гідролізу, коли значення рН середовища становить 1,1–1,4. За таких умов залишки звільнених сульфаніламідів починають екстрагуватися етилацетатом, в той же час, як нами було встановлено раніше, оптимальне значення рН необхідне для одночасного екстрагування усіх дев'яти сульфаніламідів становить 7,5–8,0. Зміна значення рН від кислого до лужного приводить одночасно, як до оптимізації умов екстрагування усіх сульфаніламідів, так і до повторного утворення хімічних комплексів сульфаніламідів з цукрами, що значно зменшує відсоток витягу залишків сульфаніламідів зі зразків меду. З метою запобігання повторному утворенню комплексів нами було запропоноване додавання до екстракційної суміші визначеної кількості гідрокарбонату натрію NaHCO_3 . Поступове розчинення гідрокарбонату натрію, яке відбувається одночасно з екстрагуванням звільнених залишків сульфаніламідів призводить до поступової зміни значення рН зразка меду. Протягом часу екстрагування звільнені залишки сульфаніламідів екстрагуються етилацетатом, який є несприятливим середовищем для цукрів, що забезпечує захист залишків сульфаніламідів від повторного утворення комплексів. Застосування запропонованої методики підготовки зразків меду для подальшого визначення в них залишків дев'яти сульфаніламідів методом ВЕРХ/ФЛД дозволяє скоротити час підготовки зразків для випробувань меду на виявлення залишків сульфаніламідів на 40 %. При цьому в 1,8–2,7 рази збільшився витяг аналітів із зразків меду, що дозволяє збільшити чутливість методики. Для більшості сульфаніламідів чутливість методики перевищує характеристики методик, описаних в літературі. У подальшому передбачається провести оцінку придатності розробленої методики у відповідності до вимог рішення СК 2002/657.