

بررسی انواع آنتی بیوتیک ها و روش های اندازه گیری آنها در عسل

زهرا علائی روزبهانی ، میترا نیازی

۱- پژوهشگاه استاندارد، پژوهشکده غذایی و کشاورزی، گروه پژوهشی مواد غذایی

۲- پژوهشگاه استاندارد، پژوهشکده غذایی و کشاورزی، گروه پژوهشی مواد غذایی

چکیده

عسل به عنوان یک منبع خوب تغذیه ای حاوی ترکیبات مفیدی از قبیل قند ، آنزیم ها ، املاح معدنی و ویتامین ها می باشد که علاوه بر این ترکیبات مغذی حاوی دیگر ترکیبات قابل اندازه گیری است که اثرات منفی بر روی مصرف کننده خواهد داشت از این میان می توان به باقیمانده آنتی بیوتیک ها و سموم اشاره نمود. تعداد زیادی عوامل باکتریایی که باعث بیماری در زنبور عسل شده وجود دارد که برای کنترل این بیماری ها از آنتی بیوتیک های مختلفی از قبیل سولفونامیدها ، جنتومایسین ، اریترومایسین ، پنی سیلین ، تتراسایکلین و استرپتومایسین و ... استفاده می شود. تقریباً نیمه عمر باقیمانده همه آنتی بیوتیک ها نسبتاً بالا است و این عامل اثرات مضر بر روی مصرف کننده خواهد داشت و در حال حاضر وجود آنتی بیوتیکها در عسل مشکل بسیار حادی را برای تجارت عسل ایجاد کرده است. در این تحقیق به بررسی روش های مختلف اندازه گیری این آنتی بیوتیک ها پرداخته شده است

واژگان کلیدی: عسل، آنتی بیوتیک ها، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، تتراسیکلین

مقدمه:

عسل که آن را به فارسی انگبین (همچنین «انگبین» و «انگوبین») گویند، مایعی شیرین و گران رو است که زنبور عسل از شهد گل ها تولید می کند. عسل به طور کلی یک ترکیب محلول در آب بسیار غلیظ قندی است. مهم ترین قندهای عسل فروکتوز، گلوکز و ساکاروز هستند. در مجموع یک کیلوگرم عسل ۳۲۵۰ کالری حرارت و انرژی دارد. عسل به لحاظ داشتن برخی مواد تخمیری در تبدلات غذایی و کمک به هضم غذا بالاترین مرتبه را در میان غذاها دارد، از این دسته مواد می توان به آمیلاز، اینورتاز، کاتالاز و پراکسیداز اشاره کرد. تعدادی از ویتامین های اصلی هم در عسل وجود دارند، اما مقدار آنها قابل توجه نیست. میزان املاح معدنی در انواع مختلف عسل متفاوت است و عسل های تیره املاح معدنی بیشتری دارند که مهم ترین آنها کلسیم، پتاسیم، سدیم، منگنز، آهن، مس، فسفر، منیزیم و گوگرد است. عسل دارای انواع پروتئین، اسیدهای آمینه، اسیدهای آلی مثل اسید فرمیک و مشتقات کلروفیل و مقداری آنزیم و رایحه های معطر است. بسیاری از پژوهشگران تأکید دارند که عسل حاوی عوامل قوی ضد میکروب و نیز حاوی هورمون های نباتی و هورمون هایی از مشتقات استروژن است. در کنار ویژگی های خوب عسل امروزه در عسل ترکیباتی قابل اندازه گیری است که اثرات منفی بر روی مصرف کننده خواهد داشت از این میان می توان به باقیمانده آنتی بیوتیک ها و سموم اشاره نمود هدف از این تحقیق بررسی انواع آنتی بیوتیک ها و روش های اندازه گیری باقیمانده این آنتی بیوتیک ها در عسل می باشد. (Kawano, 2009)

بحث

تعداد زیادی عوامل باکتریایی که باعث بیماری در زنبور عسل شده وجود دارد که برای کنترل این بیماری ها از آنتی بیوتیک های مختلفی از قبیل سولفونامیدها، جنتومایسین، اریترومایسین، پنی سیلین، تتراسایکلین و استرپتومایسین و ... استفاده می شود. تقریباً نیمه عمر باقیمانده همه آنتی بیوتیک ها نسبتاً بالا است و این عامل اثرات مضر بر روی مصرف کننده خواهد داشت و در حال حاضر وجود آنتی بیوتیکها در عسل مشکل بسیار حادی را برای تجارت عسل ایجاد کرده است. باقی مانده های آنتی بیوتیکی به علت مصرف آنتی بیوتیکها بر علیه بیماریهای لوک آمریکائی و لوک اروپائی بوجود می آیند. در اروپا مصرف آنتی بیوتیکها مجاز نیستند. در حالی که در کشورهای زیادی به میزان فراوان استفاده می شوند. در نتیجه در تعداد زیادی از کشورهای اتحادیه اروپا میزان حداکثر باقی مانده مجاز آنها مشخص نشده است، که بدین معنی است که اجازه مصرف به عسل های واجد باقی مانده آنتی بیوتیکها داده نمی شود. با این حال تعدادی از کشورهای اروپائی از جمله سوئیس، انگلیس و بلژیک محدوده هایی را تعیین نموده اند که در حد ۰/۱ تا ۰/۵ میلی گرم در کیلوگرم برای هر گروه آنتی بیوتیک است. (Ullah, et al, 2012)

در حال حاضر در ایران از انواع آنتی بیوتیکها در کلنی های زنبور عسل استفاده می شود که تنها در موارد بسیار نادری بر مبنای تشخیص بیماریهای باکتریائی کلنی ها صورت می گیرد و اکثر زنبورداران بدون رعایت اصول بهداشت فراورده های زنبور عسل اقدام به مصرف آنتی بیوتیکها در فصل تولید عسل نموده و با اینکار میزان باقی مانده مواد شیمیائی در عسل و سایر فراورده کلنی ها را افزایش می دهند. بطوریکه در یک بررسی (طرح تحقیقاتی) انجام گرفته است مشخص شده که بیش از ۶۰ درصد زنبورداران مناطق مختلف ایران از انواع آنتی بیوتیکها بویژه اکسی تتراسیکلین استفاده می

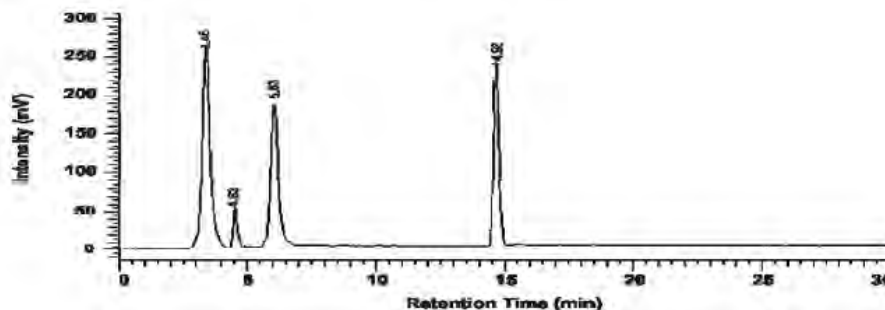
نمایند. در جدول شماره ۲ انواع آنتی بیوتیکها که باقی مانده آنها در عسل مورد مطالعه قرار گرفته اند ذکر شده است. علاوه بر باقی مانده آنتی بیوتیکها در عسل امکان باقی مانده آنها در ژله رویال هم وجود دارد. بطوریکه باقی مانده کلرامفنیکل در ژله رویال تولید شده از کشور چین مشاهده شده است. میزان باقی مانده آنتی بیوتیکها در عسل و ژله رویال با توجه به میزان باقی مانده این مواد در سایر مواد غذایی با منشاء دامی در حد سمی و مشکل ساز نیستند. ولی گاهی میزان آنها در حد غیر مجاز و خطر ساز است. استفاده از آنتی بیوتیکها برای کنترل بیماری لوک آمریکائی ضروری نیست و منجر به کنترل این بیماری نخواهد شد. لذا بدون استفاده از آنتی بیوتیکها هم این بیماری با موفقیت کنترل شده است، بطوریکه تجارب کشورهای اتحادیه اروپا و نیوزلند نشان می دهد که کنترل دراز مدت بیماری لوک آمریکائی بدون استفاده از دارو هم صورت می گیرد. (Granados, et al, 2007)

دسته آنتی بیوتیک	انواع آنتی بیوتیکها
سولفانامیدها	سولفاتیازول، سولفامرازین، سولفامتازین، سولفامتاکسازول، سولفادیازین، سولفامتوکسی پیریدازین، سولفادوکسین، سولفامیدین، سولفانیلامید
آمینو گلیکوزیدها	استرپتومایسین، دی هیدرواسترپتومایسین
تتراسیکلین	تتراسیکلین، اکسی تتراسیکلین، کلر تتراسیکلین، دوکسی سیکلین
آمفنیکولها	کلرامفنیکل
ماکرو لیدها	تایلوزین، میروسامین
بتا لاکتامها	پنی سیلینها
متابولیت های نیترو فوران	۳-آمینو-۲-اکسازولیدینون، سمیکاربازید

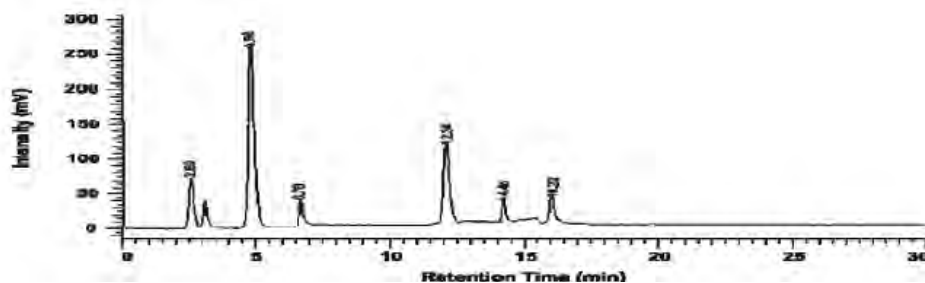
جدول شماره ۱- انواع باقیمانده آنتی بیوتیکها در عسل

تحقیقات زیادی در خصوص روش های اندازه گیری این ترکیبات توسط محققین صورت گرفته است در سال ۲۰۰۹ Bernal و همکارانش یک روش جدید برای تعیین باقیمانده سولفونامیدها در عسل به روش HPLC با دتکتور فلورسانس ارائه نمود در این تحقیق بر روی نحوه استخراج این ترکیب کار شده به نحوی که درصد بازیافت نمونه های عسل را افزایش دهند. در سال ۲۰۰۸ Rodrigo و همکارانش روش HPLC با دتکتور UV را برای اندازه گیری سه ترکیب عمده از سولفانامیدها که در عسل استفاده می شود (سولفاتیازول، سولفاتیزین و سولفودیمتوکسین) را بررسی نمودند برای این کار از استاندارد داخلی سولفاپریدین استفاده شد و در نهایت حد تشخیص این ترکیبات توسط این دستگاه را محاسبه نمودند. در سال ۲۰۱۳ Zai و همکارانش کلیه آنتی بیوتیک های موجود در عسل را با دستگاه HPLC و دتکتور UV مورد بررسی قرار دادند در این تحقیق قبل از اندازه گیری باقیمانده آنتی بیوتیک ها نوع آنتی بیوتیک ها به روش کروماتوگرافی لایه نازک مشخص شده است. در سال ۲۰۱۴ Galarini و همکارانش ۲۷ آنتی بیوتیک موجود در عسل را به روش LC-MS/MS بررسی و شناسایی نمودند. در سال ۲۰۰۹ Tadao و همکارانش باقیمانده آنتی بیوتیک های تتراسیکلین را در عسل با دستگاه HPLC و دتکتور UV-VIS مورد بررسی و اندازه گیری قرار دادند. در سال ۲۰۰۰ Bonta Vctorita و همکارانش بر باقیمانده تتراسیکلین

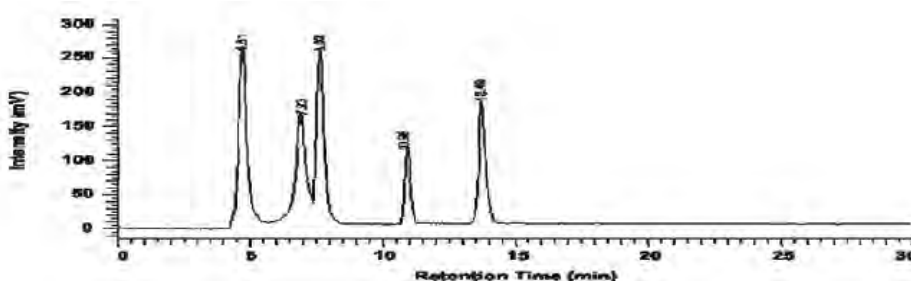
ها در عسل با دستگاه HPLC کار کرده و شرایط مناسب دستگاهی برای اندازه گیری این ترکیبات را مورد بررسی قرار دادند. در سال ۲۰۱۳ توسط محققین کلیه آنتی بیوتیک ها در عسل به روش کروماتوگرافی مورد اندازه گیری قرار گرفته شد شکل های ۱ تا ۳ کروماتوگرام سه نوع آنتی بیوتیک نمایش داده شده است. (Ulah, I et al 2013)



شکل ۱- کروماتوگرام باقیمانده تتراسیکلین در نمونه های عسل



شکل ۲- کروماتوگرام باقیمانده استرپتومایسین در نمونه های عسل



شکل ۳- کروماتوگرام باقیمانده جنتومایسین در نمونه های عسل

ردیف	نام کشور	نویسنده و سال	روش آنالیز	درصد آلودگی	محدوده
۱	هند	Reybroeck, 2003	HPLC	۲/۷۷	-
۲	هند (وارداتی)	Reybroeck, 2003	HPLC	۲۹/۵۸	-
۳	یونان	Saridaki et al., 2006	HPLC	۲۹	0.018-0.055PPM
۴	ترکیه	Gunes et al, 2009	HPLC	-	-
۵	پاکستان	Muhhammad Zai et al., 2013	HPLC	۷	1.12-2.13PPM

2.10- 120.60PPM	۲۳/۴۴	HPLC و ELYZA	Mahmoudi et al., 2012	ایران	۶
--------------------	-------	--------------	--------------------------	-------	---

جدول ۲-مقایسه باقیمانده اکسی تتراسیکلین در نمونه های عسل مورد مطالعه کشور های مختلف

نتیجه گیری:

با توجه به اینکه زنبورداران کشور از انواع آنتی بیوتیک ها بخصوص انواع تتراسیکلین استفاده می کنند ضروری است میزان انواع آنتی بیوتیک ها در عسل های تولیدی کشور مورد بررسی قرار گرفته و حدود قابل قبولی برای آنها بر اساس نتایج حاصل از این بررسی و حدود مجاز سایر کشورها در نظر گرفته شود .

منابع

- 1-Delgado, J.N. and W.A. Remers, 1998. Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry, 10th ed., Williams and Wilkins, Lippincott. United States Pharmacopeia, 2007. The National Formulary. Streptomycin Sulfate. USP 30, NF 25,3: 3222.
- 2-Granados, O., G. Meza and J. Pharma, 2007. A direct HPLC method to estimate streptomycin and its
- 3-Kawano, S.I., 2009. Analysis of impurities in streptomycin and dihydrostreptomycin by Mass ,Ch. Hu, Y. Dong and Z.Cai, 1999. Hearing Res. Spectrom, 23: 907-914.
- 4-Martindale, 1996. The Extra Pharmacopoeia, 31st ed., 13. Holzgrabe, U., C. Nap and N. Kunz, 2011.374: 1065-1076.
- 5-putative ototoxic derivative, streptidine. Biomed.Analysis, 432: 625-630.
- 6-Sharma, D., A.R. Cukras, E.J. Rogers, D.R. Southworth and R. Green, 2007. Mutational analysis of S12 protein and implications for the accuracy of decoding by the ribosome. J. Mol. Biol., 374: 1065-1076
- 7- Ullah, I., Zai, M., Rehman, K Hussain, A., and Shafqatullah, 2013, Detection and Quantification of Antibiotics Residues in Honey Samples by Chromatographic Techniques, Middle-East Journal of Scientific Research 14 (5): 683-687.
- 8-Ullah , S., Hussain A., Ullah, A., Hussain W. ,2012. Simple and Rapid Method on High Performance Liquid Chromatography (HPLC) for Estimation of Streptomycin Sulphate, World Applied Sciences Journal 19 (5): 645-649,
- 9-United States Pharmacopeia, 2002. Pharmacopeial Forum, Streptomycin for Injection, 28(1): 86-88.