СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
КАЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА МЕДА

А.Кравченко[*], **А.Захарова** к.х.н.[*], **А.Исаева**[*], **Ю.Кларк-Карская**[*], **И.Гринштейн**, к.х.н.[*], **Н.Ульяновский**[**], **Д.Фалёв**[**], **О.Минакова**[***]
akr@analit-spb.ru

Мед хорошо известен и популярен во многих странах. Его широко используют не только в качестве пищевого продукта, но и в медицине, косметологии и производстве. Повсеместное распространение меда рождает интерес к его составу. Настолько ли он ценен, как принято считать? Как меняется его состав в зависимости от региона производства? Бывают ли небезопасные компоненты в составе меда? Авторы провели сравнительное исследование образцов меда разных сортов и мест происхождения на углеводный и минеральный состав, кислотность, а также на содержание водорастворимых и жирорастворимых витаминов и антибиотиков.

Существует огромное количество сортов этого продукта, которые отличаются по цвету, вкусу и химическому составу. В любом меде содержатся углеводы (придающие сладость), азотистые вещества, органические и неорганические кислоты, минеральные вещества (они по своему составу очень близки к минералам человеческой крови, поэтому мед легко усваивается организмом). Также в натуральном меде присутствуют в небольшом количестве различные витамины: тиамин, рибофлавин, пантотеновая, аскорбиновая и никотиновая кислоты, пиридоксин, биотин, ниацин. Помимо перечисленных выше компонентов, конечно же, в меде есть вода [1].

Антропогенные факторы, такие как загрязнение окружающей среды, урбанизация, обеднение флоры, массовая обработка гербицидами отрицательно влияют на продуктивность пчел и качество меда, поскольку именно пчелы опыляют растения, тем самым сохраняя природное равновесие [2].

В отечественном пчеловодстве распространено лечение пчел антибиотиками, что означает риск заражения продуктов пчеловодства [3]. В отличие от России, в странах ЕС использование антимикробных препаратов запрещено [4]. Поэтому авторы статьи решили проверить продукты пчеловодства на содержание в них остаточных антибиотиков.

В аналитической лаборатории "Аналит Продактс" проведена работа по изучению состава различных сортов меда отечественного и импортного производства. Девять образцов закуплены случайным образом в магазинах Санкт-Петербурга, а мед из Финляндии предоставлен одним из финских пчеловодов. При выборе руководствовались принципом разнообразия сортов, а также регионов происхождения и переработки. Помимо стандартных исследований углеводного состава, содержания олова, определения кислотности на соответствие требованиям ГОСТ Р 54644-2011, выявлены витаминный и элементный составы образцов. Дополнительно весь мед проанализирован на наличие антибиотиков.

[*] ООО "Аналит Продактс".
[**] ЦКП НО "Арктика" Северного (Арктического) федерального университета.
[***] ФГУП РНЦ "Прикладная химия".

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УГЛЕВОДНОГО СОСТАВА ПО ГОСТ Р 53883-2010 МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Основной составляющей меда являются углеводы. Два моносахарида: глюкоза, или виноградный сахар (27–36%) и фруктоза, или плодовый сахар (33–42%) – содержатся в меде в наибольшем количестве. Благодаря их высокому содержанию (не менее 45–65% для различных сортов) мед – сладкий и высокопитательный. Фруктоза и глюкоза входят в состав нектара, а также образуются в меде при его созревании и хранении путем расщепления сахарозы под действием фермента инвертазы. Из сложных сахаров в меде больше всего содержится дисахарида сахарозы, причем ее концентрация постепенно снижается в продукте, который не подвергался тепловой обработке. Во всех видах меда по ГОСТ Р 54644-2011 "Мед натуральный. Технические условия" содержание сахарозы нормируется [5]. Повышенное по сравнению с нормами содержание сахарозы указывает на недоброкачественность: мед либо фальсифицирован, либо получен пчелами, которых подкармливали сахарным сиропом [6].

В соответствии с ГОСТ Р 53883-2010 содержание сахарозы, глюкозы и фруктозы определялось методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с рефрактометрическим детектированием [7].

Ход эксперимента

Анализ проводили на жидкостном хроматографе Shimadzu LC-20 Prominence (Япония), оснащенном рефрактометрическим детектором RID-20A. Для разделения углеводов использовали аминопропильную колонку Zorbax Carbohydrate 250×4,6 мм с зернением 5 мкм.

В качестве подвижной фазы применяли смесь ацетонитрила с водой в соотношении 82 : 18. Режим элюирования – изократический. Скорость потока подвижной фазы – 2 мл/мин. Объем вводимой пробы – 20 мкл [8].

Навеску меда (около 3 г) растворяли в 25 мл очищенной воды. Полученный раствор отфильтровывали через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

Для построения градуировочной характеристики использовали стандартные образцы производства Sigma Aldrich: сахароза, фруктоза, глюкоза. В качестве растворителя применяли воду. Содержание компонентов в стандартных растворах подбирали таким образом,

Таблица 1. Содержание сахаров в пробах меда

Сорт, регион производства меда	Массовая доля фруктозы и глюкозы суммарно, %		Массовая доля сахарозы, %	
	Результат измерений	Норма по ГОСТ Р 54644-2011	Результат измерений	Норма по ГОСТ Р 54644-2011
Цветочный мед, Финляндия	63,9	Не менее 60	< 0,4	Не более 5
Липовый мед, Башкортостан	64,3		< 0,4	Не более 15
Цветочный (Донниковый) мед, Башкортостан	71,4		< 0,4	Не более 5
Цветочный мед, Башкортостан	75,9		< 0,4	
Полевой мед, Башкортостан	80,5		< 0,4	
Гречишный мед, Башкортостан	62,4		< 0,4	
Луговой мед, Санкт-Петербург	68,8		4,9	
Разнотравный мед, Новгородская область	61,2		< 0,4	
Липовый мед, Краснодарский край	69,8		1,7	Не более 15
Цветочный мед (Донниковый), Ростов	60,6		< 0,4	Не более 5

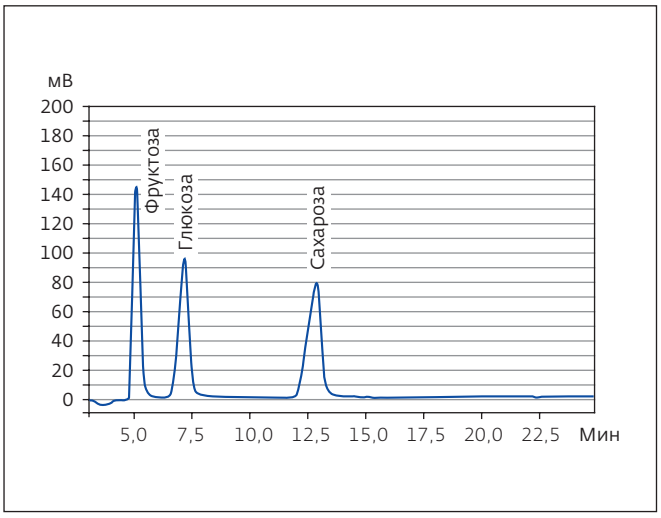

Рис.1. Хроматограмма стандартного раствора глюкозы, фруктозы, сахарозы с концентрацией компонентов по 50 мг/мл

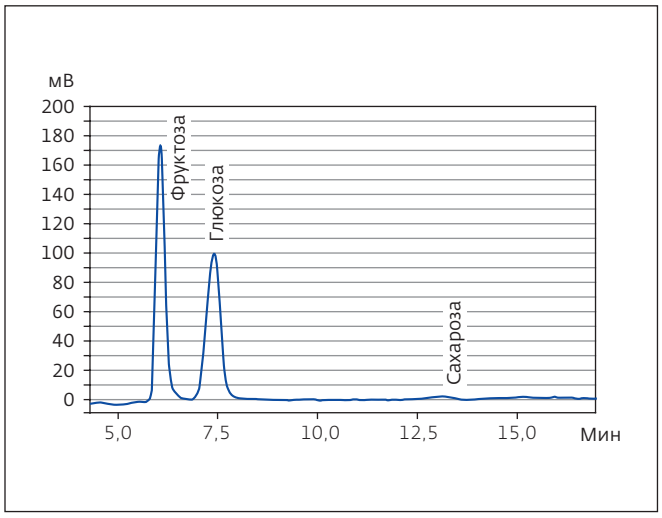

Рис.2. Хроматограмма пробы лугового меда, Санкт-Петербург

чтобы концентрация углеводов и их соотношение были близки к меду.

Результаты исследования углеводного состава десяти проб меда отечественного и импортного производства приведены в табл.1. Видно, что содержание углеводов в проанализированных пробах меда соответствует нормам.

На рис.1 представлена хроматограмма стандартного раствора глюкозы, фруктозы, сахарозы с концентрацией компонентов по 50 мг/мл.

На рис.2 приведена хроматограмма пробы меда лугового, произведенного в Санкт-Петербурге. Это единственный из проанализированных образцов, в котором обнаружено некоторое количество сахарозы, но ниже нормы, предусмотренной в ГОСТ Р 53883-2010.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕЙ КИСЛОТНОСТИ МЕДА ПО ГОСТ Р 53877-2010

С физико-химической точки зрения мед является кислотой (pH<7). По литературным данным в его составе найдены муравьиная, уксусная, масляная, каприловая, капроновая, лауриновая, меристиновая, пальмитиновая, стеариновая, олеиновая, линолевая, линоленовая, молочная, щавелевая, яблочная, винная, лимонная, гликолевая, пировиноградная, а-кетоглуторовая, пироглутаминовая, 2-окси-3-фенилпропионовая, глюконовая, пироглюконовая, сахарная кислоты. Большая часть кислот меда представлена глюконовой, яблочной, лимонной и молочной кислотами. Органические кислоты оказывают существенное влияние на вкус и аромат меда. При добавлении щелочи в количестве, достаточном для нейтрализации кислот, мед в заметной степени теряет свой вкус. Кислоты попадают в мед с нектаром, падью, пыльцой, секретами желез пчел и синтезируются в процессе переработки сахаров.

Общая кислотность меда зависит от его ботанического происхождения, условий сбора и особенностей переработки нектара пчелами. Значение показателя общей кислотности может варьировать даже у медов одного ботанического происхождения. Так, у меда гречишного – от 1,0 до 4,0 см^3, липового – от 0,5 до 2,5 см^3, подсолнечникового – от 1,0 до 3,0 см^3 [9].

В соответствии с ГОСТ 19792-2001 "Мед натуральный. Технические условия" и ГОСТ Р 52451-2005 "Меды монофлорные. Технические условия" содержание кислот в меде характеризуют показателем "общая кислотность" [10, 11]. Максимальное значение общей кислотности меда допускается в соответствии с ГОСТ 19792 – 4,0 см^3. Ограничение по общей кислотности введено для предотвращения попадания на реализацию меда с остановленным брожением или меда, содержащего кислоты, применяемые для лечения пчел.

Ход эксперимента

Показатель "общая кислотность" выражается объемом 0,1 н раствора едкого натрия (см^3), пошедшего на титрование 100 г меда в присутствии фенолфталеина.

АНАЛИТ
WWW.ANALIT-SPB.RU

ГЕНЕРАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

SHIMADZU
Excellence in Science

КОМПЛЕКСНОЕ ОСНАЩЕНИЕ
АНАЛИТИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРИЙ

Группа компаний АНАЛИТ — генеральный дистрибьютор компании Shimadzu.
Мы поставляем аналитическое и испытательное оборудование для лабораторий различных отраслей производства, научно-исследовательских центров и контролирующих организаций.

ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ:

- ФАРМАЦЕВТИКА
- ЭКОЛОГИЯ
- МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
- ХИМИЧЕСКАЯ ПРОМЫШЛЕННОСТЬ
- НЕФТЕХИМИЧЕСКАЯ ПРОМЫШЛЕННОСТЬ
- ГЕОЛОГИЯ
- ПИЩЕВАЯ И АЛКОГОЛЬНАЯ ПРОМЫШЛЕННОСТЬ
- МЕТАЛЛУРГИЯ

ТИПЫ ОБОРУДОВАНИЯ:

- СПЕКТРАЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ
- ГАЗОВЫЕ И ЖИДКОСТНЫЕ ХРОМАТОГРАФЫ И ХРОМАТОМАСС-СПЕКТРОМЕТРЫ
- РЕНТГЕНОВСКИЕ СПЕКТРОМЕТРЫ И ДИФРАКТОМЕТРЫ
- ИСПЫТАТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ
- БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОРУДОВАНИЕ
- ОБОРУДОВАНИЕ ДЛЯ ПРОБОПОДГОТОВКИ

НАШИ ПРЕИМУЩЕСТВА:

- комплексный подход при решении аналитических задач заказчика
- методическая и сервисная поддержка
- наличие собственной аккредитованной лаборатории
- обучение персонала лабораторий

199106, Санкт-Петербург, 26-я линия В.О., д. 15, корп. 2, лит. А, офис 9.06
Тел./факс: 8 (812) 325-5502, 325-4008 | info@analit-spb.ru

Офис в Москве: (495) 640-7631 | Офис в Уфе: (347) 233-8831
Офис в Н. Новгороде: (831) 228-4685 | Офис в Казани: (843) 519-4617

WWW.ANALIT-SPB.RU

Таблица 2. Результаты определения общей кислотности проб меда

Сорт, регион производства меда	Общая кислотность, $см^3$	Норма общей кислотности по ГОСТ 19792-2001, $см^3$
Цветочный мед, Финляндия	1,6	Не более 4,0
Липовый мед, Башкортостан	1,1	
Цветочный (Донниковый) мед, Башкортостан	1,1	
Цветочный мед, Башкортостан	1,3	
Полевой мед, Башкортостан	2,1	
Гречишный мед, Башкортостан	3,2	
Луговой мед, Санкт-Петербург	1,0	
Разнотравный мед, Новгородская область	1,0	
Липовый мед, Краснодарский край	1,1	
Цветочный мед (Донниковый), Ростов	1,9	

Результаты измерений общей кислотности проб меда представлены в табл.2.

Содержание кислот в проанализированных образцах меда не превышает установленную ГОСТ 19792 норму. Это означает, что в пробах продукта нежелательные процессы брожения не начались.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЛАЖНОСТИ МЕДА ПО ГОСТ Р 53126-2008

Влажность меда – один из показателей его качества. Она оценивается через процентное содержание в меде воды и регламентируется в ГОСТ Р 54644-2011 [5]. Влажность меда напрямую зависит от его зрелости, а также – от условий хранения. Незрелый продукт имеет повышенную влажность (выше 20%), поэтому он непригоден к длительному хранению и быстро портится. Зрелый мед содержит в среднем 18–20% воды. Избыток воды способен резко уменьшить полезные качества и срок хранения меда. Продукт может "забродить", превращаясь в пенообразную массу или быстро затвердеть

Таблица 3. Результаты измерений влажности меда

Сорт, регион производства меда	Влажность, %	Норма содержания воды по ГОСТ Р 54644-2011, %
Цветочный мед, Финляндия	16,4	Не более 20
Липовый мед, Башкортостан	16,4	
Цветочный (Донниковый) мед, Башкортостан	16,8	
Цветочный мед, Башкортостан	15,9	
Полевой мед, Башкортостан	14,6	
Гречишный мед, Башкортостан	16,2	
Луговой мед, Санкт-Петербург	16,3	
Разнотравный мед, Новгородская область	17,5	
Липовый мед, Краснодарский край	17,6	
Цветочный мед (Донниковый), Ростов	16,4	

(закристаллизоваться). Такие негативные последствия напрямую зависят от отклонения нормального процентного содержания воды в меде [12].

Ход эксперимента

Измерение массовой доли воды в образцах меда проводили рефрактометрическим методом по ГОСТ Р 53126-2008 [13].

Около 3 см^3 меда выдерживали на водяной бане при 60°С до растворения кристаллов. После охлаждения пробирки с пробой меда измеряли массовую доли воды на рефрактометре PTR 300 фирмы Index.

В табл.3 отображены результаты измеренной влажности всех десяти образцов меда.

Повышенное содержание воды не обнаружено ни в одной из проб меда, то есть весь мед зрелый и не фальсифицирован водой.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИННОГО СОСТАВА

По содержанию витаминов мед уступает многим продуктам питания. Согласно литературным данным, он содержит в основном водорастворимые витамины. Их содержание зависит от источника получения и числа пыльцевых зерен в этом продукте. Витамины в него попадают из пыльцы и нектара цветов. В разных видах меда содержится неодинаковое количество витаминов. А кислая среда меда способствует медленному разрушению этих соединений во время хранения [14].

Содержание витаминов в меде не нормируется, тем не менее, интересно узнать, сколько витаминов в данном продукте и одинаков ли витаминный состав меда, полученного в разных регионах.

Ход эксперимента

Мы исследовали содержание как водорастворимых, так и жирорастворимых витаминов. Анализ проводили в режиме сверхбыстрой высокоэффективной жидкостной хроматографии на жидкостном хроматографе Nexera фирмы Shimadzu (Япония), оснащенном детектором на диодной матрице, автодозатором, насосом, работающим в режиме градиента высокого давления. Для разделения витаминов использовали обращено-фазовую колонку Titan C18 фирмы Supelco, длиной 10 см, внутренним диаметром 2,1 мм и зернением сорбента – 1,9 мкм.

Идентификация искомых соединений подтверждали двумя факторами: совпадением по времени удерживания пиков и спектру поглощения стандартного вещества и витамина в пробе. Таким образом обеспечивалась надежность результатов. Количественное определение проводили при специфичных для каждого витамина длинах волн, позволяющих добиться наилучших пределов обнаружения.

Определение водорастворимых витаминов

Хроматографические условия анализа водорастворимых витаминов: продолжительность анализа 6 мин, скорость потока подвижной фазы 0,5 мл/мин, температура термостата 35°С, начальный состав подвижной фазы – 99,5% А и 0,5% В, применяли градиентный режим элюирования. Объем вводимой пробы – 1 мкл. В качестве подвижной фазы использовали: фосфатный буфер pH=2,5 с добавкой гексансульфоната натрия и ацетонитрила (компонент А) и ацетонитрил (компонент В).

Для построения градуировочной зависимости и выявления спектра поглощения применяли следующие стандартные образцы: аскорбиновая кислота, никотиновая кислота, никотинамид, пантотенат кальция, рибофлавин, фолиевая кислота, пиридоксин, тиамин, цианокобаломин производства Sigma Aldrich.

Для аскорбиновой кислоты, никотиновой кислоты, никотинамида, пантатеновой кислоты, пиридоксина, тиамина, цианокобаламина основной градуировочный раствор готовили в фосфатном буфере (при необходимости для лучшего растворения навеску витамина в колбе помещали в ультразвуковую ванну при 60°С). После охлаждения и доведения до метки фосфатным буфером колбу плотно закрывали пробкой и еще раз перемешивали.

Навески фолиевой кислоты и рибофлавина растворяли в 0,2 М растворе NaOH. Тщательно перемешивали содержимое до полного растворения ингредиентов (при необходимости для лучшего растворения колбу помещают в ультразвуковую ванну при 60°С). После охлаждения доводили раствор до метки фосфатным буфером и еще раз перемешивали.

Рабочие градуировочные растворы витаминов готовили ежедневно путем разбавления из основного градуировочного раствора. Концентрацию и соотношение витаминов подбирали таким образом, чтобы они соответствовали исследуемым образцам.

Таблица 4. Содержание водорастворимых витаминов в пробах меда

Сорт, регион производства меда	Концентрация витамина, мг/100 г меда								
	C	B_3 (в виде никотиновой к-ты)	B_3 (в виде никотинамида)	B_5	B_2	B_9	B_6	B_1	B_{12}
Цветочный мед, Финляндия	2,7	0,3	1,8	2,0	–	–	–	0,1	–
Липовый мед, Башкортостан	0,6	0,15	–	4,06	–	0,01	0,17	7,58	–
Цветочный (Донниковый) мед, Башкортостан	0,63	0,08	–	1,50	–	0,20	0,78	43,88	–
Цветочный мед, Башкортостан	–	–	0,77	–	1,10	0,01	2,20	–	–
Полевой мед, Башкортостан	–	0,19	–	–	–	0,02	1,92	2,47	–
Гречишный мед, Башкортостан	–	–	–	–	0,08	–	0,28	4,36	–
Луговой мед, Санкт–Петербург	–	–	–	–	–	–	0,16	–	–
Разнотравный мед, Новгородская область	–	–	–	1,11	–	0,02	–	16,16	–
Липовый мед, Краснодарский край	0,52	–	–	–	7,61	0,04	0,42	5,22	–
Цветочный мед (Донниковый), Ростов	0,96	–	–	–	0,05	0,04	–	9,41	–

Навески проб меда растворяли в очищенной воде, затем полученный раствор отфильтровывали через мембранный фильтр с размером пор 0,2 мкм в стеклянную виалу автодозатора и сразу подвергали хроматографическому анализу.

Водорастворимые витамины обнаружены во всех проанализированных образцах (табл.4).

На рис.3 представлена хроматограмма цветочного меда, произведенного в Финляндии.

Определение жирорастворимых витаминов

В качестве подвижной фазы использовали смесь: вода (компонент А) и метанол (компонент В). Для построения градуировочной зависимости применяли чистые вещества производства Sigma.

Основной градуировочный раствор ретинола, эргокальциферола, холикальциферола, ß-каротина и токоферола готовили в изопропиловом спирте. Рабочие градуировочные растворы витаминов получали ежедневно, разбавляя основной градуировочный раствор.

Хроматографические условия анализа жирорастворимых витаминов: продолжительность анализа 11 мин, скорость потока подвижной фазы 0,4 мл/мин, температура термостата 40°С, начальный состав подвижной фазы – 40% А и 60% В – использовали градиентный режим элюирования. Объем вводимой пробы – 1 мкл.

Точную навеску ~ 1 г меда растворяли в 10 мл метилового спирта, выдерживали раствор в ультразвуковой бане в течение 10 мин. Затем фильтровали через мембранный шприцевой фильтр с размером пор 0,2 мкм в стеклянную виалу размером 1,5 мл. Анализировали раствор меда сразу после приготовления.

Содержание жирорастворимых витаминов в проанализированных образцах ниже предела обнаружения: витамин А (ретинол и ß-каротин) – менее 0,016 мг/100г, D_2, D_3 – менее 0,015 мг/100г, витамин Е – менее 0,041 мг/100г).

Таким образом, все образцы меда содержали водорастворимые витамины группы В. Аскорбиновая кислота обнаружена только в цветочных сортах меда, произведенного в Финляндии, Башкортостане и Ростове. Наиболее богатым водорастворимыми витаминами оказался липовый мед из Башкортостана и Краснодарского края. В луговом меде из Санкт-Петербурга обнаружен только пиридоксин в небольшом количестве.

Жирорастворимые витамины в проанализированных образцах не найдены. Полученные результаты согласуются с литературными данными.

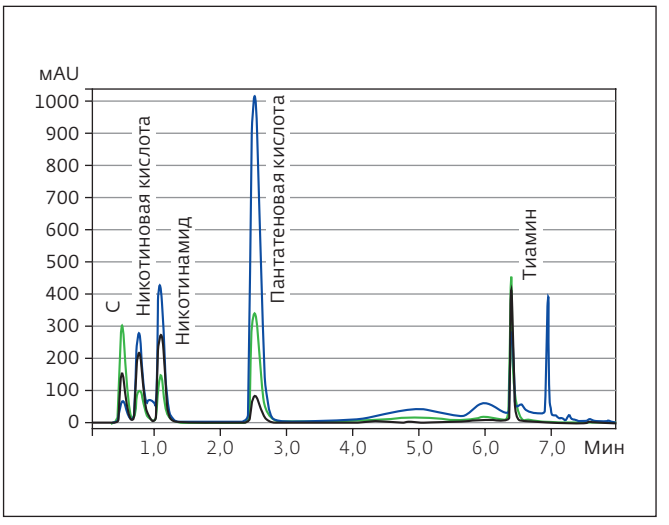

Рис.3. Хроматограмма цветочного меда производства Финляндии

ИЗУЧЕНИЕ МИНЕРАЛЬНОГО СОСТАВА

Содержание макро- и микроэлементов в продуктах пчеловодства представляет интерес с разных позиций. Формирование минерального состава во многом определяется природно-климатическими, геоботаническими и антропогенными факторами среды. Содержание минеральных элементов в меде определяет многие его полезные свойства: пищевую ценность, активность ферментов и др. В совокупности с другими показателями минеральный состав указывает на географическое и ботаническое происхождение [15].

Тяжелые металлы опасны тем, что способны накапливаться, образовывать высокотоксичные соединения и вмешиваться в метаболический цикл живых организмов, вызывая у человека и животных ряд заболеваний. Контроль над содержанием токсичных тяжелых металлов в меде необходим для обеспечения безопасности потребителей и санитарно-гигиенического состояния пчел [16].

Исследования проводили с помощью атомно-эмиссионного спектрометра с индуктивно-связанной плазмой ICPE-9820 (Shimadzu) и атомно-абсорбционного спектрофотометра AA-7000 (Shimadzu).

Ход эксперимента

Для изучения элементного состава меда методами атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП) и атомно-абсорбционной спектрометрии с электротермической атомизацией (ААС ЭТА) необходимо предварительное разложение.

Пробоподготовка. Разложение проводили при помощи микроволновой печи фирмы Anton Paar, модель Multiwave Go. Навеску подготовленной пробы (~0,6 г) отбирали во фторопластовые сосуды, добавляли 5 мл азотной кислоты ($HNO_{3конц}$) и 2 мл деионизированной воды. Сосуды закрывали крышкой и устанавливали специальную температурную программу.

Температурная программа разложения проб меда в микроволновой печи

Ступень нагрева	1-я	2-я
Время нагрева, мин	7	7
Температура,°С	100	145
Время выдержки, мин	5	5

После завершения программы и охлаждения сосудов до комнатной температуры, растворы количественно переносили в полипропиленовые стаканы, устанавливали их в систему термической пробоподготовки Digiblock и нагревали в течение двух часов при температуре 90°С. Доводили объем раствора до 20 мл очищенной водой, перемешивали. Параллельно готовили раствор холостой пробы с выполнением всех указанных выше операций, за исключением – взятия навески проб.

Определение минерального состава проб меда методом атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно-связанной плаз-

Таблица 5. Минеральный состав проб меда

Сорт, регион производства меда	Массовое содержание элемента, мг/кг											
	Al	B	Ca	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	S	Si	Zn
Цветочный мед, Финляндия	1,2	7,9	79,7	0,08	461,0	1,3	0,2	0,9	2,7	1,3	0,6	0,02
Липовый мед, Башкортостан	1,1	3,3	53,8	1,3	774,5	9,6	0,5	10,0	20,5	15,6	9,7	1,0
Цветочный (Донниковый) мед, Башкортостан	0,7	8,1	59,5	1,2	183,5	5,3	0,3	9,8	20,0	10,8	3,9	0,5
Цветочный мед, Башкортостан	0,1	4,6	62,9	2,4	650,1	10,9	1,8	12,9	24,8	22,8	10,4	1,1
Полевой мед, Башкортостан	1,5	4,3	63,7	1,8	653,0	11,9	2,8	13,4	28,6	28,1	11,7	1,6
Гречишный мед, Башкортостан	1,8	5,6	53,9	2,0	254,5	9,4	7,0	13,7	26,7	43,1	13,6	1,1
Луговой мед, Санкт-Петербург	1,0	9,3	86,8	0,1	273,0	0,9	0,002	0,5	1,5	0,9	0,9	0,03
Разнотравный мед, Новгородская область	0,9	5,4	61,9	1,6	178,0	9,8	0,4	26,3	53,8	12,4	14,8	1,0
Липовый мед, Краснодарский край	1,3	8,1	100,7	0,07	562,5	1,02	0,02	0,7	1,6	0,9	0,8	0,02
Цветочный мед (Донниковый) Ростов	1,0	9,1	102,8	0,3	436,0	1,3	0,006	0,7	2,6	1,3	0,9	0,04

Таблица 6. Результаты определения содержания токсичных элементов в пробах меда

Сорт, регион производства меда	Конц. кадмия, мг/кг	ПДК кадмия (СаНПиН 2.3.2.1078-01), мг/кг	Конц. свинца, мг/кг	ПДК свинца (СаНПиН 2.3.2.1078-01), мг/кг	Конц. мышьяка, мг/кг	ПДК мышьяка (СаНПиН 2.3.2.1078-01), мг/кг	Конц. олова, %	ПДК олова (ГОСТ 19792-2001) ,%
Цветочный мед, Финляндия	0,0003	0,05	0,01	1	<0,02	0,5	4×10^{-6}	0,01
Липовый мед, Башкортостан	0,0002		0,06		<0,02		30×10^{-6}	
Цветочный (Донниковый) мед, Башкортостан	0,0001		<0,006		<0,02		2×10^{-6}	
Цветочный мед, Башкортостан	0,0006		0,01		<0,02		9×10^{-6}	
Полевой мед, Башкортостан	0,0006		<0,008		<0,01		6×10^{-6}	
Гречишный мед, Башкортостан	0,0005		0,01		<0,01		7×10^{-6}	
Луговой мед, Санкт-Петербург	0,0002		<0,009		<0,02		3×10^{-6}	
Разнотравный мед, Новгородская область	0,0009		0,2		<0,02		34×10^{-6}	
Липовый мед, Краснодарский край	0,0009		0,01		<0,02		32×10^{-6}	
Цветочный мед (Донниковый), Ростов	0,0003		0,02		<0,01		3×10^{-6}	

мой. Полученные растворы анализировали на атомно-эмиссионном спектрометре с индуктивно-связанной плазмой ICPE-9820 фирмы Shimadzu путем распыления анализируемого образца в плазму и последующей регистрацией спектра эмиссии. Количественное содержание элементов в пробе рассчитывали по градуировочной зависимости, построенной при регистрации значений интенсивности стандартных растворов ионов элементов.

Результаты исследования минерального состава проб меда приведены в табл.5.

Токсичные элементы (As, Cd, Pb, Sn) определяли методом атомно-абсорбционной спектроскопии с электротермической атомизацией на атомно-абсорбционном спектрометре фирмы Shimadzu.

При анализе использовали графитовую кювету с пиропокрытием и платформой типа омега. Объем пробы, дозируемый в атомизатор составлял 20 мкл. Концентрацию элементов определяли методом построения градуировочной зависимости. За результат анализа приняли среднее арифметическое двух параллельных измерений. Полученные результаты приведены в табл.6.

Все проанализированные образцы меда обладают богатым микроэлементным составом, который включает в себя металлы и неметаллы, необходимые для организма человека. По количественному содержанию преобладает калий, что характерно для продуктов растительного происхождения. Если сравнивать образцы меда между собой, то можно выделить некоторые закономерности:

- цветочный мед (Финляндия), луговой мед (Санкт-Петербург), липовый мед (Краснодарский край) и цветочный мед (Ростов) имеют в меньшем количестве такие элементы как натрий, фосфор, сера и кремний, чем образцы меда из Башкортостана и разнотравный мед (Новгородская область);
- содержание калия в разных образцах меда отличается в 2–4 раза. Наибольшее – в липовом (Башкортостан), цветочном (Башкортостан) и полевом меде (Башкортостан), наименьшее – в разнотравном меде из Новгородской области и в цветочном (донниковом) меде из Башкортостана. Содержание кальция колеблется меньше (72,6±18). Содержание остальных элементов меняется в 2–10 раз друг относительно друга.

В результате проведенного эксперимента установлено, что содержание токсичных элементов (кадмия, свинца, олова) в проанализированных образцах меда соответствует нормам, предписанным СаНПиН 2.3.2.1078-01 [17] и ГОСТ 19792-2001.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИБИОТИКОВ ТЕТРАЦИКЛИНОВОЙ ГРУППЫ И ЛЕВОМИЦЕТИНА

Для стимулирования пчелиных семей, профилактики и борьбы с болезнями пчел широко используют антибиотики. Их остаточные количества, по имеющимся сведениям, переносятся пчелами в мед и длительное время в нем сохраняются. На рынках нашей страны мед реализуют практически без исследования на наличие этих соединений. Отсутствие необходимого контроля нередко способствует необоснованному использованию различных антибиотиков в пчеловодстве и значительному превышению предусмотренных доз препаратов [18].

За последние годы произошло много изменений в отношениях между Россией и ее ближайшими соседями. В связи с образованием Таможенного союза между Белорусью, Казахстаном и Россией приняты следующие документы: "Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору" и "Единые ветеринарные (ветеринарно-санитарные) требования, предъявляемые к товарам, подлежащим ветеринарному контролю (надзору)". В соответствии с ними в натуральном меде не допускается или ограничивается присутствие ряда лекарственных препаратов, в том числе антибиотиков. При этом речь идет об очень малых количествах: для левомицетина (хлорамфеникола) отсутствием считается содержание менее 0,3 мкг/кг меда, для антибиотиков тетрациклиновой группы – менее 10 мкг/кг.

Определить остаточные количества этих антибиотиков в меде трудно, поскольку нужны надежные высокочувствительные методы. В России определение данных веществ регламентируют ГОСТ Р 54655-2011 "Мед натуральный. Метод определения антибиотиков", предписывающий определение антибиотиков тетрациклиновой группы и левомицетина твердофазным иммуноферментным анализом, и ГОСТ Р 53609-2011 "Метод определения остаточного содержания антибиотиков тетрациклиновой группы с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором". Мы исследовали образцы меда по ГОСТ Р 53609-2011 [19].

Таблица 7. Оптимальные условия масс-спектрометрического детектирования антибиотиков в режиме мониторинга множественных реакций

Соединение	Молекулярная масса, Да	Ион-предшественник, m/z	Ионный переход	Энергия Q1, В	Энергия соударения, В	Энергия Q2, В
OH	497	461	461→426	-20,6	-19,4	-19,4
			461→444*	-20,6	-15,1	-28,4
TH	481	445	445→410	-28,4	-18,4	-18,1
			445→427*	-31	-11,9	-19,4
DH	513	445	445→428	-11,6	-17,8	-27,1
			445→410*	-40	-21,6	-25,8
CH	323	322	322→152	33,5	18,3	24,5
			322→176*	32,3	16,1	10,3

* Подтверждающий ионный переход.

Ход эксперимента

Определение антибиотиков в меде проводили методом жидкостной тандемной хромато-масс-спектрометрии с использованием ВЭЖХ-МС/МС системы, состоящей из масс-спектрометра с тройным квадруполем LCMS-8030, оснащенным источником электрораспылительной ионизации (ИЭР), а также жидкостного хроматографа LC-30 "Nexera" (Shimadzu, Япония), включающего два насоса LC-30AD, дегазатор DGU-A5R, автодозатор SIL-30AC, термостат колонок CTO-30A, диодноматричный детектор SPD-M20A.

Разделение проводили в обращенно-фазовом режиме на колонке Zorbax Sb-Aq, 150×3,0 мм, 5 мкм (Agilent, США). Хроматографическое разделение осуществлялось при температуре 40°С. Скорость потока элюента 0,6 мл/мин. Объем вводимой пробы составлял 10 мкл.

Параметры режима ионизации электрораспылением: температура нагревательного блока и линии десольватации – 350 и 250°С соответственно; расходы распыляющего и осушающего газов – 3 л/мин и 15 л/мин соответственно; напряжение на капилляре 4,5 кВ (для антибиотика CH ионизацию проводили в отрицательном режиме с напряжением на капилляре 4,5 кВ). В качестве газа для соударения в ячейке соударений тандемного масс-спектрометра использовали аргон с входным давлением 230 кПа.

В режиме Q1 Scan (сканирование на первом квадруполе) оптимизирована работа ионного источника, выбраны ионы-предшественники для каждого из аналитов.

Изучена диссоциация, активированная соударениями, и получены спектры второго поколения ионов (MS2) для соответствующих ионов-предшественников.

Для проведения количественного анализа в режиме мониторинга заданных реакций для каждого соединения выбраны по два ионных перехода, один из которых используется в качестве аналитического, а второй – подтверждающего. Оптимизированы параметры ионной оптики и энергии соударений для получения максимально интенсивных сигналов. Оптимальные условия масс-спектрометрического детектирования антибиотиков представлены в табл.7.

Для хроматографического разделения в качестве элюента использовали смесь 0,5%-ного водного раствора муравьиной кислоты (раствор А) с ацетонитрилом (раствор В). Для сокращения продолжительности анализа подобрана программа градиентного элюирования: 0–5 мин – 15% В; 7–8 мин – 60% В; с 9 мин – 15% В. Общее время анализа составило 10 мин.

Таблица 8. Метрологические характеристики определения антибиотиков в режиме мониторинга заданных реакций

Антибиотик	ПО, мкг/л	НПОК, мкг/л
Окситетрациклина гидрохлорид (oxytatrecycline hydrochloride (OH)	0,08	0,3
Тетрациклина гидрохлорид (tetracycline hydrocloride (TH)	0,08	0,3
Доксициклин (doxycycline hyclate (DH)	0,04	0,1
Хлорамфеникол (cholramphenicol (CH)	0,90	3,1

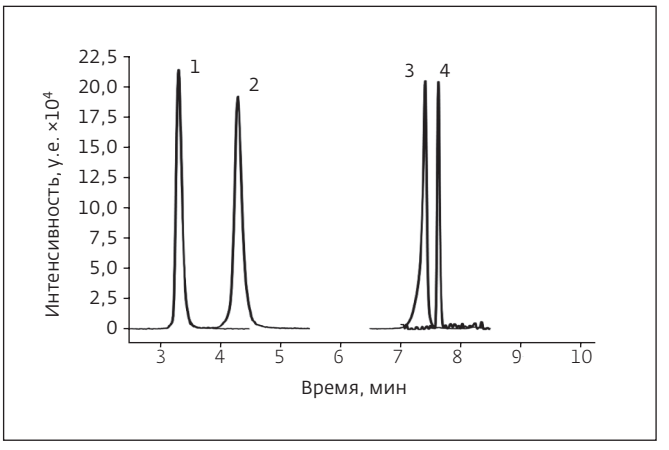

Рис.4. Хроматограмма стандартной смеси антибиотиков с концентрацией 15 мкг/л каждого: 1 – OH, 2 – TH, 3 – DH, 4 – CH

Анализ стандартных образцов показал линейность градуировочных зависимостей в диапазоне концентраций 0,001–0,5 мг/л, при этом коэффициент корреляции составил более 0,999. С использованием 3s-критерия (соотношение сигнал : шум равное 3 : 1) и 10s-критерия выявлены пределы обнаружения (ПО) и нижний предел определяемых концентраций (НПОК) соответственно для каждого компонента. Результаты представлены в табл.8. Хроматограмма стандартной смеси антибиотиков с концентрацией 15 мкг/л представлена на рис.4.

Анализ реальных образцов проводили согласно ГОСТ Р 53601-2009. Целевые компоненты экстрагировали из навески меда около 1 г в 20 мл буферного раствора лимонной кислоты и гидрофосфата натрия в течение 1 мин. Далее пробы центрифугировали и проводили твердофазную экстракцию на патронах с сорбентом С16. Полученные в ходе ТФЭ элюаты упаривали до 1 мл и после фильтрации через мембранный нейлоновый фильтр вводили в хроматографическую систему.

Результаты представлены в табл.9. Хроматограмма экстракта меда представлена на рис.5.

В пробах меда как отечественного, так и импортного производства не обнаружено превышение по содержанию хлорамфеникола и антибиотиков тетрациклиновой группы.

Таблица 9. Результаты анализа образцов меда на антибиотики

Сорт, регион производства меда	OH, мкг/кг	TH, мкг/кг	DH, мкг/кг	CH, мкг/кг
Цветочный мед, Финляндия	<0,08	<0,08	<0,04	<0,9
Липовый мед, Башкортостан				
Цветочный (Донниковый) мед, Башкортостан				
Цветочный мед, Башкортостан				
Полевой мед, Башкортостан				
Гречишный мед, Башкортостан				
Луговой мед, Санкт-Петербург				
Разнотравный мед, Новгородская область				
Липовый мед, Краснодарский край				
Цветочный мед (Донниковый), Ростов				

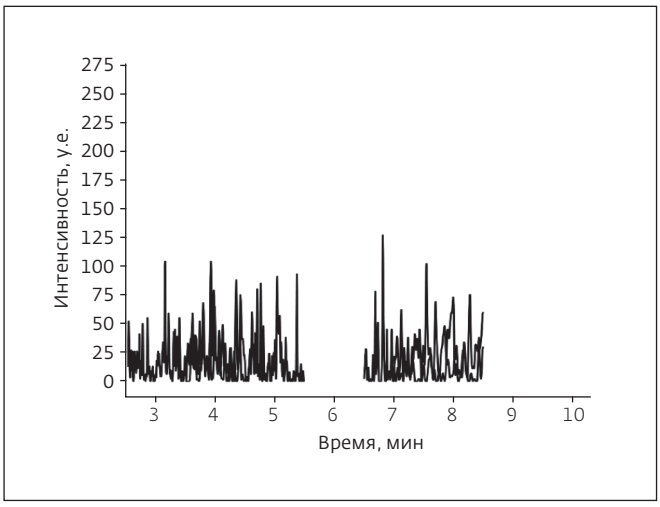

Рис.5. Хроматограмма экстракта образца цветочного (донникового) меда из Башкортостана

РЕЗУЛЬТАТЫ КОМПЛЕКСНОГО АНАЛИЗА МЕДА

По результатам проведенного эксперимента можно заключить, что по всем протестированным показателям – углеводный состав, общая кислотность, влажность, наличие тяжелых металлов, присутствие антибиотиков – десять образцов меда соответствуют нормам.

Несмотря на отсутствие запрета на использование антибиотиков в пчеловодстве РФ, в проанализированных девяти образцах меда отечественного производства эти вещества не обнаружены.

Изучен витаминный состав меда. Во всех пробах найдены водорастворимые витамины, хоть и в небольшом количестве. Жирорастворимых витаминов не обнаружено. Полученные результаты согласуются с литературными данными.

Исследован минеральный состав меда. Он, как и предполагалось, оказался богатым и разнообразным и отличается в зависимости от сорта меда и региона сбора.

Таким образом, все образцы меда, выбранные нами для исследования случайным образом, оказались доброкачественными.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Харчук Ю.** Мед и продукты пчеловодства. – Феникс, 2007. С. 22–23.
2. **Warre A.** Beekeeping for all.– 2007. P. 34–35.
3. **Русакова Т.М., Балашова Е.Ю., Александрова Е.В., Бурмистрова Л.А., Мартынова В.М.** Новый метод определения антибиотиков в меде // Мед. 2012. № 7. С. 45–48.
4. **Edder P., Ortelli D., Corvi C.** Survey of antibiotics residues in honey on the swiss market. – Service de protection de la Consommation, 22 Quai Ernest-Ansermet, CH-1211 Genève 4, Switzerland. 2009. P. 345–351.
5. ГОСТ Р 54644-2011. Мед натуральный. Технические условия.
6. **Буренин Н.Л., Котова Г.Н.** Справочник по пчеловодству. – М.: Колос, 1981. С. 36–37.
7. ГОСТ Р 53883-2010. Мед. Метод определения сахаров.
8. **Гринштейн И.Л., Захарова А.М.** М-02-2107-09 "Методика выполнения измерений массовой доли углеводов и подсластителей в пробах пищевых продуктов и биологически активных добавок методом высокоэффективной жидкостной хроматографии". 2009.
9. **Чудаков В.Г.** Технология продуктов пчеловодства. – М.: Колос. 1979. С. 56–58.
10. ГОСТ 19792-2001. Мед натуральный. Технические условия.
11. ГОСТ Р 52451-2005. Меды монофлорные. Технические условия.
12. **Hoopingarner R.** Beekeeping report from Michigan state university // Bee world 66. № 3. P. 99–104.
13. ГОСТ Р 53126-2008. Мед. Рефрактометрический метод определения воды.
14. **Фархутдинов Р.Р., Баймурзина Ю.Л., Галеев Р.К.** Химический состав меда // Пчеловодство. № 6. 2005. С. 12–14.
15. **Киприянов Н.А.** Экологически чистое сырье и готовая продукция. – М.: Агар. 1997. 176 с.
16. **Ильин В.Б.** Тяжелые металлы в системе почва-растение. – М.: Наука. 1991. 152 с.
17. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы СанПиН 2.3.2.1078-01 "Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов" (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 6 ноября 2001 г.) (с изменениями от 31 мая 2002 г., 20 августа 2002 г., 15 апреля 2003 г.).
18. **Фарамазян А.С., Угринович Б.А.** Пора позаботиться о чистоте меда // Пчеловодство. 2008. № 9. С. 67–70.
19. ГОСТ Р 53609-2011. Метод определения остаточного содержания антибиотиков тетрациклиновой группы с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором.