

Antibiotikum-maradványok sorsa és mennyisége különböző tejtermékekben

*Lányi Katalin, Darnay Livia, László Noémi, Lehel József, Laczay Péter
Állatorvostudományi Egyetem, Élelmiszer-higiéniai Tanszék, Budapest*



Bevezető gondolatok

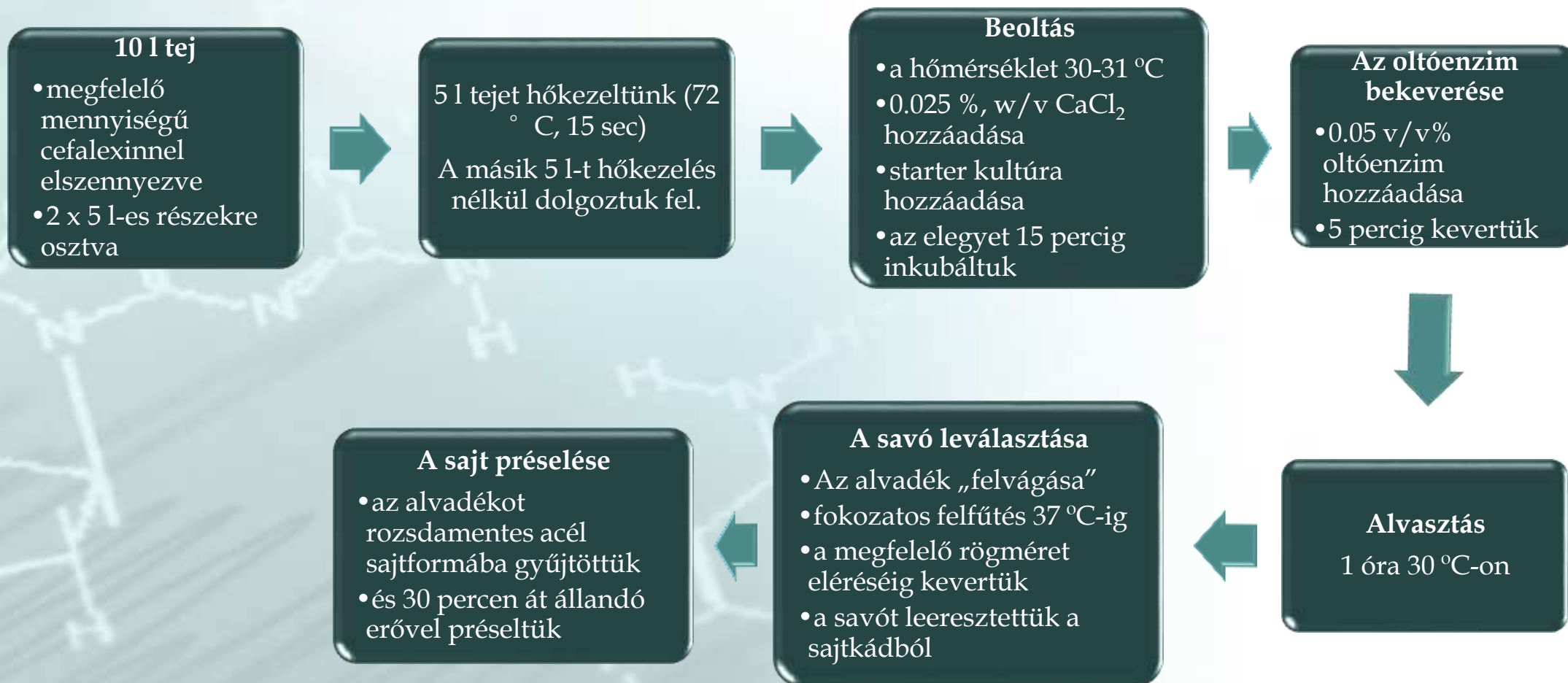
- antibiotikumok használata az állatgyógyászatban → szükségszerű
- antibiotikum-maradványok az élelmiszerekben:
- allergiás reakciót válthatnak ki,
- jelentős bélflóra károsító hatásuk lehet,
- hozzájárulhatnak rezisztens baktériumtörzsek kialakulásához is.
- technológiai problémák: gátló hatás, amit a reziduumok a különböző starter kultúrákra fejthetnek ki

A kutatás célja és eljárásai

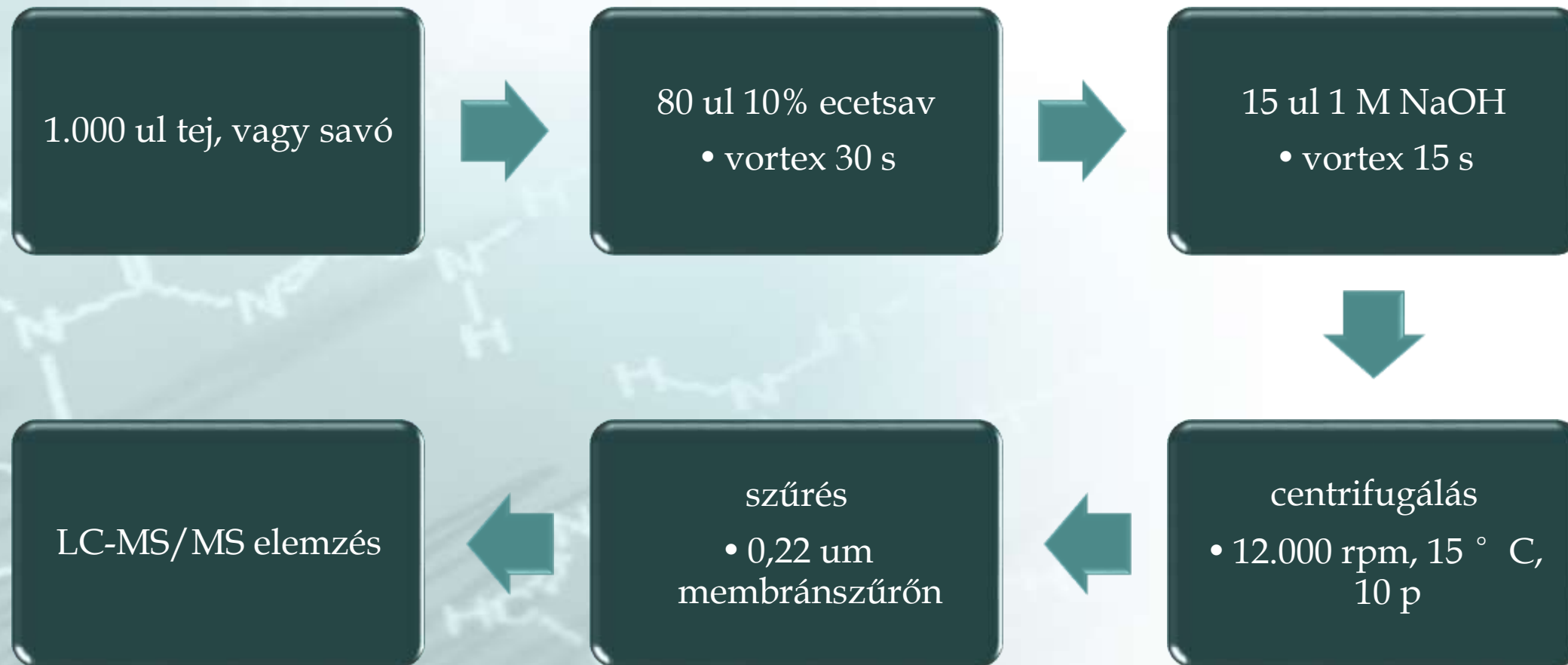
- Milyen arányban kerül át a cefalexin a szennyezett tejből a különböző tejtermékekbe a friss sajt készítés során?
- Az MRL-érték felére, egyszeres és ötszörös értékére mesterségesen elszennyezett nyers tehéntejből
- közvetlenül, illetve az adott tejterméknek megfelelő hőkezelés (72 °C, 15 s) után elkészítettük a megfelelő terméket
- megfelelő mintaelőkészítés után
- HPLC-MS/MS készülékkel vizsgáltuk az eredeti tej, valamint a sajt és a savó cefalexin-tartalmát.

Vegyület	Koncentráció (ng/ml; mg/l; ppb)			mg/kg
	H(igh)	M(edium)	L(ow)	MRL
szorzó	5	1	0,5	
cefalexin	500	100	50	100

A sajt készítés folyamata



Mintaelőkészítés 1.



Mintaelőkészítés 2.

10 g lágy sajt

- Bemérés 250 ml-es főzőpohárba
- 20 ml extrahálószer (EHS)
- homogenizáljuk
- 200 mL ISTD



Extrahálás

- 100 ml-es csavaros tetejű Erlenmeyer lombikban
- **Vízfürdős rázógépb**en
- 180 percen át, 40 °C-on, 130-140 1/perc sebességgel



Ülepítés, centrifugálás

- szobahőmérsékletűre hűtés
- A lombikok teljes tartalmát 50 ml-es centrifugacsövekbe tesszük
- 10 percen át, 15 °C-on, 8.000 rpm sebességgel centrifugáljuk



Szűrés

- A felülúszóból 3 x 1 ml-t a tejnek/savónak megfelelő mintaelőkészítésnek vetünk alá.



LC-MS/MS
elemzés

extrahálószer: 9:1 víz/ acetonitril
elegyben 0,5% 5%-os ammóniás
metanol

A mennyiségi paraméterek nyomonkövetése

		A kiinduló tej mennyisége (ml)	A koagulátum tömege (g)	A savó tömege (g)	A savó térfogata (ml)	A sajt tömege (g)	A sajt átmérője (cm)	A sajt magassága (cm)
Vak kontroll	hőkezeletlen	5000 ± 2	771 ± 6	3873 ± 30	3810 ± 30	645 ± 15	15	3.59 ± 0.08
Alacsony	hőkezeletlen	5000 ± 2	798 ± 10	4030 ± 54	3967 ± 53	670 ± 6	15	3.60 ± 0.04
Közepes	hőkezeletlen	5000 ± 2	872 ± 17	3738 ± 72	3679 ± 71	700 ± 31	15	3.84 ± 0.17
Magas	hőkezeletlen	5000 ± 2	860 ± 11	4086 ± 54	4022 ± 53	718 ± 20	15	3.96 ± 0.11
Vak kontroll	72 ° C	4812 ± 5	918 ± 10	4025 ± 13	3962 ± 13	686 ± 16	15	3.71 ± 0.08
Alacsony	72 ° C	4791 ± 6	874 ± 7	3702 ± 28	3644 ± 27	738 ± 16	15	3.99 ± 0.25
Közepes	72 ° C	4796 ± 9	848 ± 5	3714 ± 24	3627 ± 24	690 ± 13	15	3.81 ± 0.07
Magas	72 ° C	4808 ± 5	738 ± 15	4016 ± 19	3953 ± 18	624 ± 34	15	3.48 ± 0.19

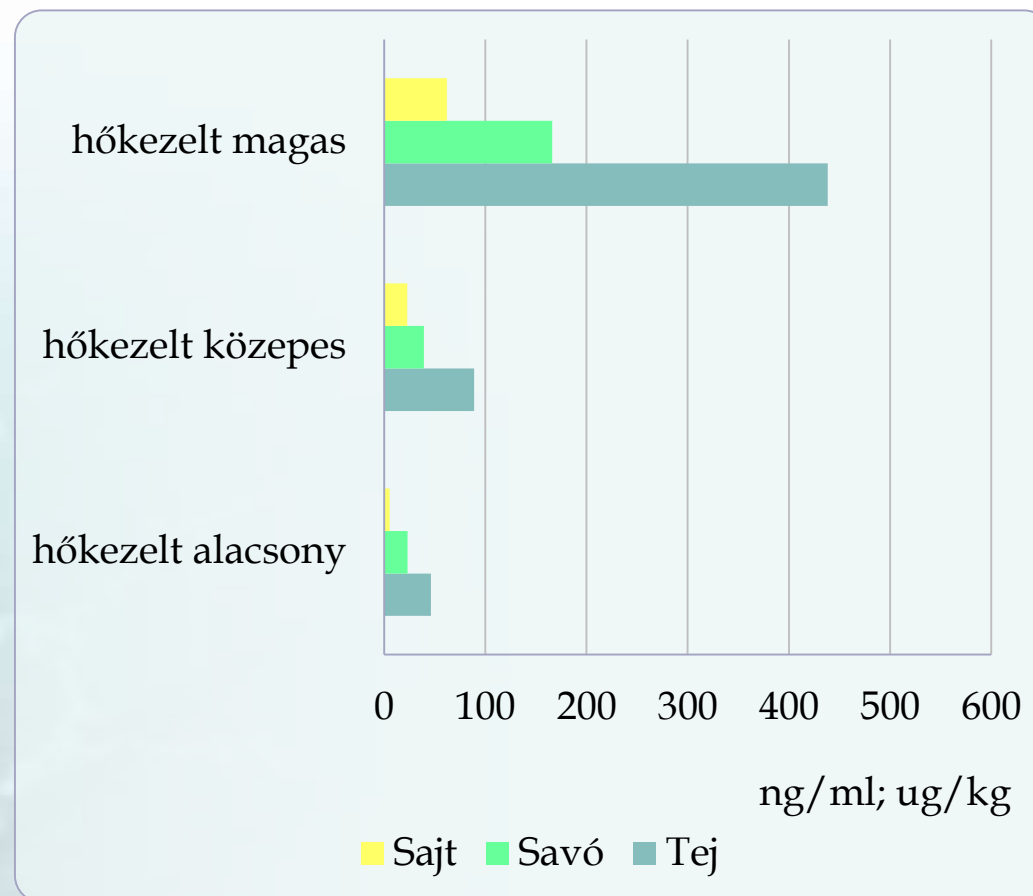
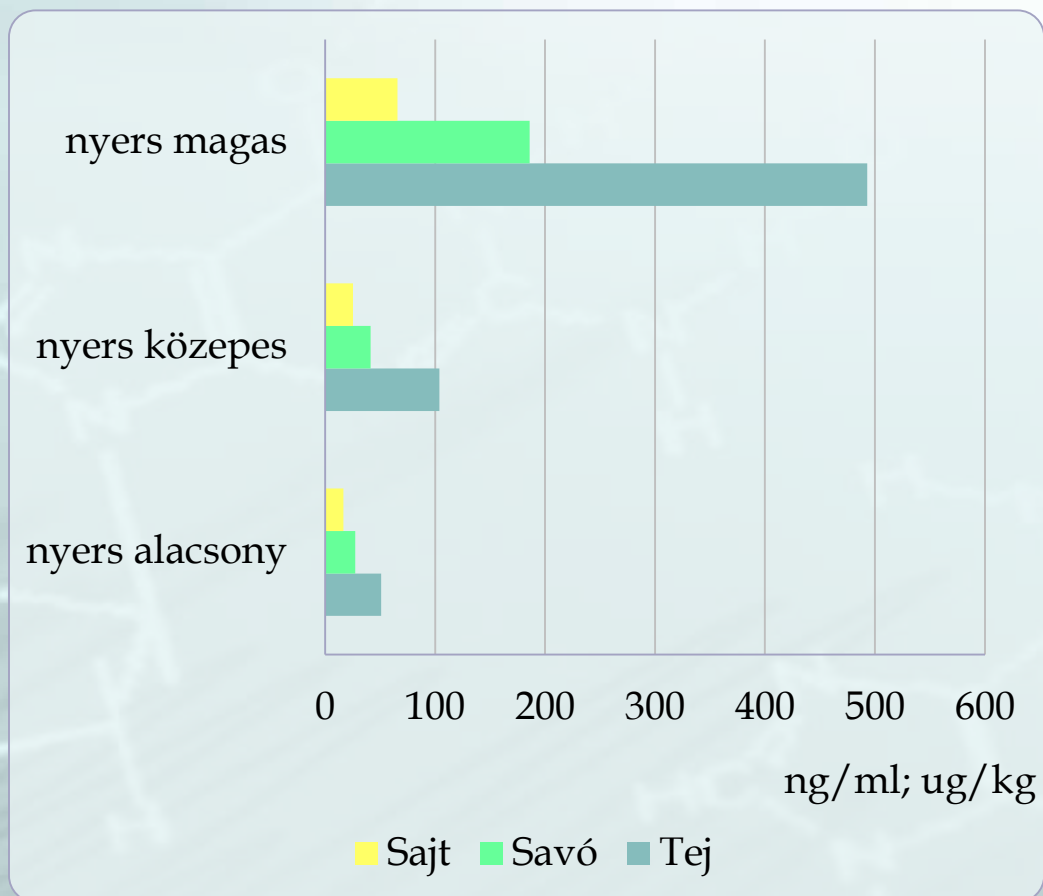
A pH változása

		pH					
		tej	sajttej			savó	sajt
			start	fele	felvágás előtt		
			a folyamat				
Vak kontroll	hőkezeletlen	6.81±0.11	6.79±0.02	6.48±0.12	6.37±0.08	6.38±0.08	5.99±0.13
Alacsony	hőkezeletlen	6.84±0.02	6.67±0.12	6.58±0.14	6.45±0.07	6.53±0.07	5.24±0.03
Közepes	hőkezeletlen	6.56±0.04	6.69±0.09	6.35±0.17	6.34±0.09	6.34±0.03	5.46±0.02
Magas	hőkezeletlen	6.62±0.05	6.79±0.14	6.52±0.09	6.50±0.11	6.21±0.06	5.78±0.05
Vak kontroll	72 ° C	6.74±0.09	6.80±0.11	6.55±0.13	6.48±0.09	6.52±0.06	6.15±0.06
Alacsony	72 ° C	6.79±0.04	6.84±0.05	6.59±0.10	6.55±0.12	6.50±0.06	5.81±0.12
Közepes	72 ° C	6.66±0.08	6.66±0.05	6.58±0.09	6.48±0.07	6.48±0.07	5.71±0.05
Magas	72 ° C	6.77±0.02	6.49±0.07	6.20±0.08	6.21±0.08	6.52±0.08	5.91±0.02

Mérési körülmények

- Shimadzu LCMS-8030 HPLC-MS/MS rendszer
- Kinetex C₁₈, 100 x 4.6 mm ID (2.6 μm) kolonna, 30°C-ra termosztálva
- Eluens: bináris gradiens, A: H₂O (0,1 % HCOOH), B: CH₃CN (0,1 % HCOOH); áramlási sebesség: 0.6 ml/perc
- Injektált mennyiség: 15 μl
- Belső sztenderd (ISTD): Penicillin-V
- Ionforrás: electrospray (ESI+)
- Detektálási mód: MRM (3 átmenet vegyületenként)

Eredmények 1. – tej és tejtermékek cefalexin tartalma



Cefalexin anyagmérleg



Eredmények 2. – a sajt fizikai tulajdonságai

		Sajt textúra paraméter					
		Sűrűség	Száranyag tartalom	Keménység	Rugalmasság	Kohezivitas	Rághatóság
		g cm ⁻³	%	N	mm	-	mJ
Vak kontroll	hőkezeletlen	1.035±0.007	54.00±1.98	15.31±0.95	4.36±0.27	0.248±0.023	16.16±2.24
Alacsony	hőkezeletlen	1.053±0.005	51.03±2.19	19.60±1.53	6.41±0.26	0.257±0.010	31.98±2.41
Közepes	hőkezeletlen	1.032±0.015	52.26±1.92	15.57±1.37	6.53±0.16	0.238±0.018	24.22±2.99
Magas	hőkezeletlen	1.027±0.002	51.24±1.95	16.25±0.82	6.64±0.22	0.247±0.017	26.71±2.46
Vak kontroll	72 ° C	1.032±0.011	45.00±1.02	11.19±1.28	3.70±0.28	0.248±0.019	10.26±2.58
Alacsony	72 ° C	1.048±0.002	48.40±2.81	14.65±1.24	6.89±0.20	0.254±0.019	25.51±2.64
Közepes	72 ° C	1.027±0.014	51.26±3.07	13.68±1.01	6.83±0.11	0.269±0.022	25.02±2.69
Magas	72 ° C	1.016±0.005	58.72±2.37	28.27±1.69	5.86±0.19	0.293±0.013	48.22±2.55

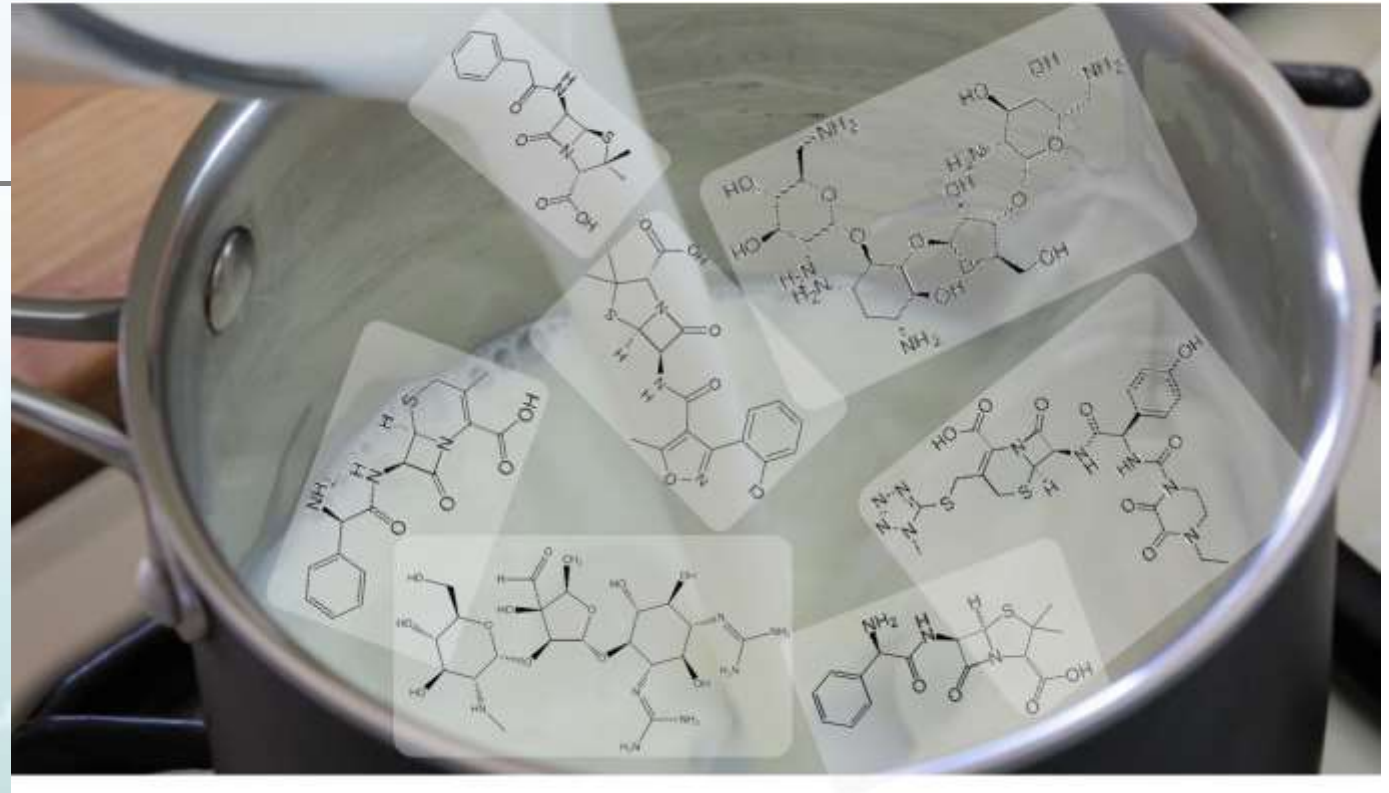
Következtetések 1.

- Az antibiotikumok MRL értékeinek jogi háttere hiányos (pl. sajtra nincs)
- Acceptable daily intake (ADI) értékek:
 - Ausztrál (APVMA, 2017) és európai (EMA, 1999) hatóságok részéről: $0,01 \text{ mg} \cdot \text{kg} / (\text{testsúly kg})^{-1} \cdot \text{nap}^{-1}$.
 - Kevés a toxikológiai adat a toxikológiai ADI megállapításához, ezért a mikrobiológiai ADI-t használják
- Az általunk mért cefalexin szintek igen alacsony mértékben járulhatnak hozzá az antibiotikum-terheléshez:
 - felnőtt (60 kg átlagos testtömeg): legfeljebb 0,3 % napi $29,8 \pm 0,9 \text{ g}$ lágysajt fogyasztás esetén (NIH, 2018);
 - gyerek (20 kg átlagos testtömeg): legfeljebb 0,9 % napi $25,5 \pm 1,1 \text{ g}$ lágysajt fogyasztás esetén (NIH, 2018).

Következtetések 2.

- a várakozásokkal ellentétben a cefalexin jelenléte nem okozott változást a pH alakulásában a sajt készítés folyamán (ez jelezné a starter kultúra gátlását)
- a cefalexin szint a tej → savó + friss sajt irányban jelentősen csökkent mindhárom elszennyezési szinten
- a friss sajtok állományvizsgálata szignifikáns eltérést nem tárt fel az antibiotikummal szennyezett, illetve nem szennyezett termékek állaga között, de a fizikai paraméterek szórása az antibiotikum tartalommal növekedett
- a kiindulási tej cefalexin tartalma alapvetően befolyásolja a termék szennyezettségét
- a tejipari gyártástechnológiára gyakorolt esetleges hatások részletei még vizsgálatra várnak
- nézetünk szerint nem lenne szabad általános(ító) kijelentéseket tenni az antibiotikumok tejipari folyamatok során kifejtett hatása terén
- minden egyes hatóanyag önálló kutatást igényel, kevés és nehezen vázolható a tendencia

**Köszönöm a
megtisztelő
figyelmet!**



A kutatás az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap (ESZA) társfinanszírozásával valósult meg (a támogatási szerződés száma: EFOP-3.6.2-16-2017-00012, projekt címe: *Funkcionális, egészséges és biztonságos élelmiszer termékpálya modell kidolgozása a szántóföldtől az asztalig elv alapján, tematikus kutatási hálózatban*)