УДК 663.2

**ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДА КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА ДЛЯ КОНТРОЛЯ СОДЕРЖАНИЯ**

**АНТИБИОТИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В ВИНЕ**

**PROSPECTS OF APPLICATION OF CAPILLARY**

**ELECTROPHORESIS FOR CONTROL OF ANTIBIOTIC**

**SUBSTANCES IN WINE**

|  |  |
| --- | --- |
| *А.А. Абакумова, М.В Антоненко,* *Т.И. Гугучкина, Ю.В. Гапоненко*  | *A.A. Abakumova, M.V. Antonenko,* *T.I. Guguchkina, Y.V. Gaponenko*  |
| ФГБНУ «Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства», Краснодар, Россия  | North Caucasian Regional Research Institute of Horticulture and Viticulture”, Krasnodar, Russia  |
| **Аннотация.** В винодельческой отрасли особое внимание уделяется безопасности и качеству выпускаемой продукции. В связи с обнаружением в вине остаточных количеств антибиотиков на сегодняшний день разработаны методы их определения. В статье отражены преимущества капиллярного электрофореза как метода определения компонентов, искусственно привнесенных в вино, также показана возможность определения антибиотиков. Подчеркивается актуальность разработки по определению антибиотиков методом капиллярного электрофореза.  | **Summary.** Safety and quality of products are especially focused in the wine industry. The methods of determination of antibiotics’ residues developed today in the connection with their detection in wine. The article shows the advantages of capillary electrophoresis as a method of determining the components artificially introduced into the wine, also the possibility of determination of antibiotics. The urgency of developing of the method to determine the antibiotics by capillary electrophoresis is pointed out. |
| **Ключевые слова:** вино, антибиотики, капиллярный электрофорез, контроль качества, безопасность продукции. | **Keywords:** wine, antibiotics, capillary electrophoresis, quality control, product safety |

**Введение:** Вопрос контроля качества и безопасности винодельческой продукции на территории РФ сегодня стоит особенно остро. Согласно данным главы компании "Абрау-Дюрсо" П. Титова, виноделы поддерживают президента в отказе от импорта виноматериалов. В тоже время на сегодняшний день, нет возможности соответствия спросу даже на одну десятую от необходимого объема без реализации иностранной продукции. В рамках V Всероссийского Саммита Виноделов от 17.10.2015, президентом Союза виноградарей и виноделов России Л.Л. Поповичем было отмечено, что большая доля вина производится из привозных виноматериалов, произведенных в таких странах как Италия, Испания и ЮАР. А также, по его оценке, указано, что из иностранных виноматериалов в России производится до 70% игристого вина [1].

**Обсуждение результатов:** Известно, что современная технология производства вина может включать в себя использование антибиотических веществ, как традиционных, так и консервантов нового поколения, к которым можно отнести антибиотики. Данные вещества после внесения их в состав виноматериалов и вин, без предварительного оповещения потребителей о наличии их в составе вина, могут вызвать резистентность, тем самым, оказать угрозу здоровью человека [2].

Описывая общий механизм действия консервирующих веществ, следует отметить следующую последовательность. Процесс начинается с накопления вещества на поверхности или внутри микроорганизмов после адсорбции, обычной диффузии и активного поглощения. Далее возникает химическая реакция консерванта со структурными компонентами клетки или метаболитами внутри клетки. Затем прекращается нормальная деятельность микробиальной клетки в результате изменения химической реакции среды. После чего происходит постепенное или мгновенное угнетение биохимических механизмов процесса развития микробов.

Согласно литературным данным антибиотические вещества могут быть добавлены к различным пищевым продуктам, к алкогольным напиткам, в том числе к такому виду продукции как пиво, вино [3, 4].

При анализе литературных источников (Xiangyu Sun, Xueyin Lia и др.) было выявлено, что антибиотик под название Натамицин имеет широкое применение в виноделии. Его обнаружение в составе вина может быть вызвано как непосредственной добавкой, так и посредством попадания после обработки натамицином емкостей для приготовления вина. Для качественного и количественного определения содержания антибиотических веществ на сегодняшний день применяют метод высокоэффективной жидкостной хроматографии [5].

Принимая во внимание факт использования иностранных виноматериалов на территории Краснодарского края, авторами данной статьи было выдвинуто предположение, что данное сырье может представлять угрозу для здоровья потребителей. В целях контроля содержания антибиотических веществ в вине ими было предложено использование капиллярного электрофореза.

Метод капиллярного электрофореза имеет в своей основе принцип разделения заряженных компонентов электролита в кварцевом капилляре под действием электрического поля. Результаты получаемых данных выражаются через электрофореграмму в виде определенной последовательности пиков, в которой большое значение имеет время миграции и площадь пика пропорциональная концентрации определяемого вещества.

Важным компонентом анализа является состав и качество приготовления рабочего буферного раствора. Электролит должен иметь концентрацию, необходимую для достаточно большого электрического сопротивления. Это требование выдвигается в связи с выделением тепла при прохождении тока в проводнике [6].

Сотрудниками научного центра «Виноделие» ФГБНУ СКЗНИИСиВ, была проведена работа по разработке метода идентификации антибиотиков в виноматериалах и винах как импортного, так и отечественного производства, которая заключалась в следующем.

Определены параметры и режимы работы капиллярного электрофореза. Проведение работ по определению параметров было начато с выявления значения длины волны, влияющей на максимальное поглощение определяемого вещества. Для оптимизации длительности анализа было подобрано соответствующее напряжение, равное 20 кВ. В целях получения воспроизводимости результатов образцов были проведены исследования по подбору времени ввода пробы. Оптимальные показатели этой величины составили 10 с \* 30 мбар.

Подобраны компоненты, входящие в состав рабочего буферного раствора для проведения анализа и определено их соотношение. На основе тетрабората натрия (10 мМ) и добавки додецилсульфата натрия (40 мМ), обеспечивающих оптимальное разделение целевых компонентов и примесей, был составлен буферный раствор, необходимый для проведения идентификации натамицина в винах и виноматериалах.

Пробоподготовка заключается в фильтрации, разбавлении дистиллированной водой и центрифугировании пробы. Подобраны оптимальные варианты разбавления исходного материала в качестве пробоподготовки образцов. Значения разведения могут варьироваться, но как показали эксперименты, наилучшим является пяти – десятикратное разведение.

На рисунке 1 приведены примеры экспериментальных электрофореграмм.



(А) – натамицин, массовая концентрация 1 мг/дм3

(Б) – белое вино с добавлением натамицина 1 мг/дм3

**Рис. 1. Примеры электрофореграмм стандартного раствора натамицина (А) и**

**белого вина с добавлением антибиотика (Б)**

Пик, свидетельствующий о наличии натамицина в стандартном растворе и в образце, выходит на 12 минуте, что позволяет использовать данную методику для получения результатов определения исследуемого антибиотического вещества в достаточно большом количестве выполняемых анализов в течение восьмичасового рабочего дня.

Мицеллярная электрокинетическая капиллярная хроматография (МЭКХ) предложена нами для количественного определения антибиотиков микробиального происхождения в вине и виноматериалах как альтернатива к ВЭЖХ. Следует отметить, что метод МЭКХ показал хорошую чувствительность, точность и воспроизводимость, сокращал время пробоподготовки, анализа и расход высокочистых реактивов. Под чувствительностью следует понимать нижнюю границу диапазона измерений массовой концентрации натамицина в винах, которая составила 0,2 мг/дм3.

**Выводы:** Проект методики идентификации качественного и количественного содержания натамицина в вине разработан на приборе одной из последних модификаций, а именно КАПЕЛЬ 105, разработанного группой компаний аналитического приборостроения ЛЮМЭКС.

Методика способна точно и быстро идентифицировать наличие антибиотика натамицина в вине, при этом она является достаточно простой в применении и имеет высокую сходимость и воспроизводимость.

В рамках настоящей работы впервые в России изучались возможности быстрого и эффективного определения антибиотиков микробиального происхождения на уровне следа методом капиллярного электрофореза в винах и виноматериалах на приборе капиллярного электрофореза «Капель -105» в связи с тем, что методика [8] их определения методом ВЭЖХ трудоемка и длительна.

Данный метод имеет преимущества перед существующими аналогами. К ним относятся: экологичность, применение доступных на рынке России вспомогательных средств и материалов, снижение времени пробоподготовки и анализа в 3 раза, снижение себестоимости анализа в 2 раза, высокая прецизионность получаемых данных, что делает разработку метода идентификации натамицина актуальной и востребованной у производителей винодельческой продукции.

Учитывая, что в винах, экспортируемых в Канаду, Германию и др. обнаруживался натамицин [7, 8], разработанная нами методика поможет выявить случаи недобросовестной транспортировки вин из–за рубежа.

Литература

1. Эксперты: предложение Ткачева оставит россиян без вина – [Электронный ресурс]. – Режим доступа. – http://www.bbc.com/russian/russia/2015/08/150824\_russia\_wine\_import\_ban

2. P. Michael Davidson, P. Antimicrobials in food / P. Michael Davidson, John N. Sofos, A. L. Branen // Taylor & Francis Group, 2005 Р. 706.

3. Колодязная, В.С. Пищевая химия: учеб. пособие / В.С. Колодязная – СПб.: СПбГАХПТ, 1999. – 140 с.

4. Абакумова, А.А. Контроль натамицина в виноделии / А.А. Абакумова, Т.И. Гугучкина, М.В. Антоненко // Виноградарство и виноделие: Сб. науч. тр. ГБУ ННИИВ и В «Магарач», том ХLV. – Ялта, 2015. – С.116-117.

5. Xiangyu Sun . Detection method optimization, content analysis and stability exploration of natamycin in wine / Xiangyu Sun, Xueyin Li, Peiyue Wang, Tingting Ma, Weidong Huang, Shen Han, Jicheng Zhan // Food Chemistry 194 (2016) 928–937.

6. Комарова, Н.В. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «КАПЕЛЬ» / Н.В. Комарова, Я.С. Каменцев. – СПб.: ООО «Веда», 2006. – 212 с.

7. Немцы испугались вина с натамицином – [Электронный ресурс]. – Режим доступа. – <http://natamycin.com.ua/stati/11-nemtsy-ispugalis-vina-s-natamitsinom>

8. Roberts, D. Development and validation of a rapid method for the determination of natamycin in wine by high- performance liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry / Dominic P. T. Roberts, Michael J. Scotter, Michal Godula, Michael Dickinson and Adrian J. Charlton // Analytical Methods, The Royal Society of Chemistry, 2011. - v.3 – C. 937-943.