

## Premixek oxytetracyclin tartalmának meghatározása gyors módszerrel

ŐSZ JÓZSEFNÉ

Országos Állattenyésztési és Takarmányozási Felügyelőség Laboratóriumi Központ,  
Budapest

Érkezett: 1977. május 10.

Az állati eredetű élelmiszerek iránti kereslet az utóbbi évtizedekben jelentősen megnövekedett. A hústermelés fokozása azonban csak a takarmányozás terén szerzett új ismeretek és módszerek alkalmazásával, intenzív állattenyésztési és tartási körülmények között érhető el.

A belterjes viszonyok között tartott állatok optimális teljesítményének biztosításához a fokozott anyageserét kielégítő, biológiai hatóanyagokat tartalmazó keveréktakarmányok etetése szükséges. A hatóanyagok kis mennyiségeit előzetesen valamilyen vízőanyaghoz keverik, tehát ún. premixet készítenek belőlük. Hazánkban az 1960-as évektől használnak elsősorban baromfi, sertés és szarvasmarha takarmányozására premixeket, amelyek vitaminok, ásványi anyagok, nyomelemek, antioxidánsok és egyéb hatóanyagokon túlmenően kemo-terapeutikumokat és antibiotikumokat is tartalmaznak.

Antibiotikum etetés hatására az állatok gyorsabban fejlődnek, súlygyarapodásuk fokozódik, takarmányértékesítésük javul, ezáltal állati eredetű fehérje-szükségletük csökken. A jelenlegi ismereteink szerint a nutritív hatás egyrészt a bélfóra (bendőflóra) módosulásával, másrészt az anyagesere szabályozás analitikus stimulálásával kapcsolatos (1).

Az antibiotikumoknak ezen kívül profilaktikus szerepük is van, amelyeknek különösen a fiatal haszonállatok takarmányozásában nagy a jelentősége. Növelik az állatok ellenállóképességét, egyes fakultatív baktériumok okozta betegségek elterjedését visszaszorítják, csökkentik az elhullási veszteségeket, és nem utolsósorban hozzájárulnak a zárt, zsúfolt környezet teljesítménycsökkenő hatásának mérsékléséhez. Az antibiotikumoknak az említett zootechnikai hatásukat sokkal kisebb adagban fejtik ki, mint terápiás hatásukat. Olyan stresszhelyzetek leküzdésére, mint pl. az elválasztás, oltás, áthelyezés, az állattenyésztők sikerrel alkalmazzák a magas antibiotikum tartalmú gyógytápokat. (Trierra, Viton stb.)

Az antibiotikumok etetésének azonban árnyoldala is van. Ez egyrészt a nemkívánatos rezisztens mikroflóra felszaporodásában jelentkezik, másrészt az állategészségügyi gondokon túlmenően, egy sor humánegészségügyi probléma kiindulási forrásává válhat. (Rezisztencia, keresztrezisztencia, allergiás hatások, szuperfertőzések.) 2. Ezért volt nagy jelentőségű, hogy hazánkban is érvényre jutott az az elv, hogy embergyógyászatban alkalmazott antibiotikumokat hozamnövelés céljára igénybevenni nem lehet.

1975 augusztusában jelent meg az a rendelkezés, amely előírja, hogy vágás előtt 21 nappal még terápiás célból sem szabad antibiotikumot használni. 3. A

MÉM a rendelkezés betartásának ellenőrzésével Felügyelőségünket bízta meg. A hazai gyártású premixek vizsgálatán kívül igen fontos feladat az importból származó előkeverékek vizsgálata is, tekintettel arra, hogy külföldön hozamnövelés céljára az antibiotikumok széles skáláját használják fel. Ezek között olyan kitűnő takarmánykonverziót biztosító antibiotikumok is találhatóak – mint pl. a penicillin-, vagy a tetracyclin származékok – amelyek nálunk e célra nem vehetők igénybe. Dolgozatomban az ilyen „kitiltott” antibiotikumok közül az oxytetracyclin általam módosított gyors kimutatásával foglalkozik. A hivatalos mennyiségi kimutatáson túlmenően ugyanis szükség volt egy gyors minőségi vizsgálatra is mellyel ki lehet szűrni az oxytetracyclin tartalmú premix mintákat. Az AOAC 11. kiadása a következő kvalitatív metodikát ajánlja, amely egy sztereomikroszkóppal jól észlelhető színreakción alapul (4).

Szakaguchi reagenst készítünk az alábbiak szerint: 500 ml-es mérőlombikban 5 g bórsavat 150 ml desztillált vízben feloldunk, majd állandó hűtés közben kb. 350 ml kénsavval jelig töltjük és felhasználásig hűtőszekrényben tároljuk.

Kb. 10 cm<sup>3</sup> reagenst egy 9 cm átmérőjű Petri-csészébe pipettázunk. A Petri-csésze fölé helyezett szitára kb. fél g takarmányt szórunk és óvatos mozgatással szétoszlatjuk a folyadék felületén. Áteső fényben, sztereomikroszkóp alatt, 15-szörös nagyításban vizsgáljuk, amint az antibiotikum részecskék oldatba mennek. Az elbírálás alapját képező színreakció az oxytetracyclin oldódása után értékelhető.

### Vizsgálati anyagok

A takarmányozásban leggyakrabban használt antibiotikumok közül cinkbacitracin és flavomycint, a „kitiltottak” közül penicillint és tetracyclin féleségeket vizsgáltam, egyrészt tiszta állapotban, másrészt olyan alapanyagokhoz keverve, amelyeket előzőleg szintén vegyi próbának tettem alá.

Szakaguchi reagensbe néhány szemcse antibiotikumot szórva azt tapasztaltam, hogy csak a tetracyclinek oldódnak, a cinkbacitracin, a flavomycin és a penicillin nem. Az oldódás 2,5–4 mp után kezdődik és kb. 23–24 mp alatt befejeződik, az oxytetracyclin (OTC) vörös, a klórtetracyclin (KTC) bíbor, a tetracyclin (TC) pedig lila színű lesz. A KTC és a TC intenzív színe elmélyül, az OTC pedig vörösesbarna-, majd barna árnyalatúvá válik.

Alapanyagok és premixek vizsgálatánál megfigyeltem, hogy a reagens kénsav tartalmánál fogva elszínezheti a takarmány szemcséket. Éppen ezért igen lényeges a színreakció azonnali elbírálása, mivel egyes premixek (pl. malac szuper) Szakaguchi reagensben 1,25–1,35 perc múlva élénk piros színűvé válnak és ez a szín tartós marad. Alaposan megfigyelve jól látható azonban, hogy ebben az esetben csak a takarmányszemcsék színeződnek el. Korpához adagolt tetracyclin, klórtetracyclin és oxytetracyclin oldódása után 10–15 perccel már egyáltalán nem látható az antibiotikum élénk színe, mivel a kénsav roncsoló hatása következtében a búzakorpa szemcséi teljesen megsötétednek, így különösen az alacsony koncentrációban jelenlevő antibiotikumok színét elnyomják.

Megjegyezni kívánom, hogy miután a szín megítélése szubjektív, a próba elbírálásához gyakorlat szükséges.

### Összehasonlító vizsgálatok

A kénsav tartalmú Szakaguchi reagens használata körültekintő kezelést igényel. Vizsgálataim során előfordult – a legnagyobb óvatosság ellenére is – hogy akár pipettázáskor, akár a takarmány szórásakor néhány apró reagens csepp a környezetbe kerülve a bőrön, vagy a ruházaton maradandó nyomot hagyott. Ennek kiküszöbölésére időt rabló előkészítés szükséges (vastag vatta-

papír alátét, közömbösítő oldat készítése, gumikesztyű használata stb.) Így bármilyen gyors is a próba kivitelezése, az „óvatos oldatkezelés” megnöveli a vizsgálatra fordított időt. Az említett hátrány csökkentésére kidolgoztam a vizsgálatnak egyszerűsített változatát:

Kémcsőbe kb. 5 cm<sup>3</sup> Szakaguchi reagenst öntünk és ebbe egy spatulányi őrleményt szórunk. A kémcső óvatos megdöntésével a folyadék felület megnövelhető, amelyen az egyenletesen szétoszlott antibiotikum részecskék oldódása jól észlelhető. Fény felé tartva, szabad szemmel – alacsonyabb koncentrációban kézi nagyító segítségével – értékelhető a színreakció, ezáltal a sztereomikroszkóp használata kiküszöbölhető.

Ez az egyszerűsített technikai kivitelezésű kvalitatív vizsgálat bárhol elvégezhető, helyszíni ellenőrzésre is alkalmas.

Annak megállapítására, hogy milyen alacsony antibiotikum tartalomig használható a kémcsőves próba, összehasonlító vizsgálatokat végeztem a Petri-csészés módszerrel.

Búzakorpához, kukoricadarához és különféle aktivitású oxytetracyclin kevertem és olyan hígításokat készítettem, hogy az egyes minták antibiotikum tartalma 1 – 1000 mg/kg között változzon. A kétféle oxytetracyclin hozzáadásával arra a kérdésre kívántam választ kapni, hogy a csökkent biológiai aktivitás észlelhető-e valamilyen formában.

1–10. sorszámmal ellátott mintákat háromszor analizáltam. Kontroll anyagként medikáció nélküli őrleményeket használtam. A vizsgálatok eredményét az alábbi táblázat foglalja össze:

Örölt vizsgálati anyagok

Sorszám	OTC mg/kg	Korpa		Kukorica		Premix		Kontroll		Korpa		Kukorica		Premix		Kontroll
		Pozitív színreakciót adó vizsgálatok száma														
		T	Cs	T	Cs	T	CS	T	Cs	T	Cs	T	CS	T	Cs	
1	1000	3	3	3	3	3	3	0	3	3	3	3	3	3	0	
2	500	3	3	3	3	3	3	0	3	3	3	3	3	3	0	
3	100	3	3	3	3	3	3	0	3	3	3	3	3	3	0	
4	50	3	3	3	3	3	3	0	3	3	3	3	3	3	0	
5	20	3	3	3	3	3	3	0	1	2	2	1	1	2	0	
6	10	3	3	3	3	3	3	0	0	1	0	0	0	1	0	
7	5	3	2	3	2	2	3	0	0	0	0	0	0	1	0	
8	4	2	2	3	2	2	2	0	T = teljes aktivitású OTC (925 NE/mg) Cs = csökkent aktivitású OTC (841 NE/mg)							
9	3	2	1	2	1	1	1	0								
10	2	2	1	2	1	1	1	0								

Az összehasonlító vizsgálatok eredményéből az alábbi következtetések vonhatók le:

1. 50 mg/kg oxytetracyclin tartalom szabad szemmel vagy lupeval ennél alacsonyabb koncentráció pedig 10 mg/kg-ig Petri-csészében mikroszkópos analízissel egyértelműen kimutatható.

2. Az olyan premixeknél, amelyek előírás szerint nem tartalmazhatnak antibiotikumot az 50 mg/kg-nál magasabb OTC mennyiség már súlyos szennyezésnek számít. Ezt a kémcsőves próbával már ki lehet szűrni.

3. A fenti módszer tájékoztat arra vonatkozóan, hogy a kvalitatív vizsgálat alkalmával milyen bemérést és hígítást kell alkalmazni. Szabad szemmel észlelhető színreakció esetében kevesebb minta elegendő a vizsgálathoz (általában 2 g), míg alacsonyabb antibiotikum koncentráció esetében 5–10-szeres premix mennyiségből határozható meg az oxytetracyclin mikrobiológiai értékével.

4. A teljes és csökkent aktivitású oxytetracyclin kvalitatív kimutatása között nem mutatkozott lényeges különbség. A vegyi próbák ugyanis nem mindig alkalmasak arra, hogy kimutassák a különleges bomlási formákhoz kötött biológiai hatáscsökkenést. Ezek a hatóanyagok általában többé-kevésbé érzékenyek a környezeti behatásokra és csak megfelelő tárolási körülmények között őrzik meg aktivitásukat, azaz az élőlényekre gyakorolt biológiai hatásukat. Ezért minden esetben meg kell nézni, hogy a vizsgálatokban pozitív színreakciót adó keverékek milyen aktivitású antibiotikumot tartalmaznak.

#### I R O D A L O M

- (1) *Bornsch, K.*: A növekedést serkentő anyagok szerepe az állatok termelésében. Hoechst Szimpózium, Budapest 1976.
- (2) *Kirshbaum*: A primer on antibiotich. Drug and Cosmetic Industry 112. v. No. 2. 1973.
- (3) Mezőgazdasági és Élelmezésügyi Értesítő, 29. sz. 695. o. 1975.
- (4) Official Methods of Analysis. Association of Official Agricultural Chemists. Washington 11. ed. 750. p. 1970.

### БЫСТРЫЙ МЕТОД ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ОКСИТЕТРАЦИКЛИНА В ПРЕМИКСАХ

*И. Ёснэ*

В статье автор из антибиотиков не применимых с целью повышения выхода, занимается выявлением качества окситетрациклина. Применяемые химические пробы являются специфичным для тетрациклина, согласно проведенным исследованиям синкбацитраин, флавомицин и пенициллины обеспечивающие хорошую конверсию кормов не мешают в оценке цветной реакции. Автором модифицированной формой быстро осуществима качественная проба и подходящая для проведения проверки премиксов на месте нахождения.

### BESTIMMUNG DES OXYTETRACYCLINGEHALTES VON PREMIXEN MITTELS EINER SCHNELLMETHODE

*J. Ósz*

Von den zwecks Erhöhung der Ausbeute nicht anwendbaren Antibiotika nur der qualitative Nachweis des Oxytetracyclins wurde untersucht. Die angewandte chemische Probe ist spezifisch für Tetracycline, und gemäss der Untersuchungen wird die als Grundlage der Auswertung dienende Farbenreaktion durch die eine gute Umwandlung der Futter sichernden Mittel Zinkbacitracin, Flavomycin und Penicilline nicht beeinflusst.

DETERMINATION OF THE OXYTETRACYCLINE CONTENT  
OF PREMIXES BY A QUICK METHOD

J. Ősz

Of the antibiotics unsuitable for raising the yields, only the qualitative detection of oxytetracycline was studied. The applied chemical test is specific for tetracyclines. According to the investigations, zinc bacitracin, flavomycin and penicillins securing a favourable conversion of feeds do not interfere with the colour reaction serving as a basis of evaluation. The qualitative test in its form modified by the author can be carried out quickly and is suitable also for controls performed on the spot.

---

KÜLFÖLDI LAPSZEMLE

---

SCHWARZENBACH R.

**Folyadékkromatográfiás cukorleválasztás**

(*Flüssigchromatographische Zuckertrennung*)

Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. 68, 64, 1977.

A cukorleválasztásra használható folyadékkromatográfia három változatát említi meg a szerző a bevezetésben: (1) Ioncserés kromatográfia, amelynél a cukor bórsavkomplexéből végzik az ioncserét. (2) Megoszlásos kromatográfia ioncserélőn, ahol a stationer fázis víz, a mobil fázis pedig víz-alkohol elegy. (3) Megoszlásos kromatográfia kémiaiilag kötődő stationer fá-

zison. A megoszlásos módszert előnyösebbnek tartja a szerző és példákat mutat be ennek illusztrálására. Glükózszirup, alma-, szőlő- és narancslé, valamint méz analizésének kromatogramjait közli a cikk, rövid értékeléssel, megadja az alkalmazott oszloptöltetet és eluáló oldószert. Detektálásra differenciál-refraktométert, ill. UV-refraktométert használt. A módszer előnyei közt felsorolja, hogy a vizsgálandó termék közvetlenül, vagy oldatformában vihető fel az oszlopra, gyümölcsleveket közvetlenül, ill. szűrés után, mézet vizes oldatban lehet analizálni. A mérési idő 10–15 perc.

Varga E. (Kaposvár)