

REZUMAT

Cuvinte cheie: *produse apicole, apiterapie cu antibiotice, sulfamide, contaminare cu metale grele, test imunoenzmatice ELISA, test RIA CHARM II, TETRASENSOR, cromatografie de înaltă performanță (HPLC), lichid cromatografie cuplată cu spectrometrie de masă (LC – MS).*

Teza de doctorat „*Corelații cantitative ale metalelor grele și ale antibioticelor stabilite prin metode moderne de investigații în flora meliferă, mierea de albine și produse apicole*” este structurată în două părți distincte, prima parte fundamentată teoretic pe 218 referințe bibliografice consultate, cuprinde 74 pagini și reprezintă 31,9 %, iar cea de a II-a, contribuții personale, este extinsă pe 158 pagini reprezentând 68,1% din lucrare.

Primul capitol al studiului bibliografic „*Mierea și semnificația biologică a acesteia*” tratează aspecte legate de structura, compoziția și domeniile de utilizare ale produselor apicole. S-a insistat în mod deosebit pe importanța nutrițională și terapeutică a mierii de albine, a polenului și a lăptișorului de matcă, precizându-se totodată necesitatea elaborării și respectării standardelor de calitate pentru aceste produse atât de valoroase. În încheierea acestui capitol au fost menționate și unele aspecte referitoare la alimentele „bio”, produsele apicole pretându-se foarte bine acestui scop.

În capitolul al II-lea „*Albinele – bioindicatori ai poluării mediului*” sunt prezentate sursele potențiale de contaminare ale stupului și modalitățile prin care albinele pot fi utilizate ca marker de apreciere și monitorizare a poluării mediului. Sunt evidențiate mai multe studii de evaluare a fidelității unor astfel de monitorizări concluzia celor mai multe fiind aceea că albinele răspund acestui deziderat, nivelul de contaminare al mediului putând fi astfel corect și prompt apreciat.

S-au menționat de asemenea situații concrete, care au evidențiat reziduuri de antibiotice, pesticide, acaricide sau metale grele în produsele apicole recoltate și analizate din mai multe areale geografice ale lumii.

Capitolul al-III-lea „*Aspecte privind legislația Uniunii Europene referitoare la controlul reziduurilor*” abordează pe larg prevederile legislației europene în vigoare în domeniul apicol și al siguranței alimentare. O prezentare comparativă a celor mai importanți parametri de calitate caracteristici fizico-chimice și contaminanți, prevăzuți de normativele europene și internaționale, precum și valorile impuse de către acestea sunt menționate succint, dar represiv în tabelele incluse în acest capitol.

Capitolul al IV-lea „*Stadiul actual al metodelor analitice de determinare a reziduurilor de antibiotice și metale grele din mierea de albine și alte produse apicole*” conține trei subcapitole în care sunt trecute în revistă metodele cele mai precise și mai des utilizate pentru decelarea și evaluarea unor astfel de compuși indezirabili în mierea de albine.

Partea a-II-a a tezei de doctorat – Cercetări proprii- cuprinde cinci capitole care includ rezultatele investigațiilor desfășurate în perioada anilor 2004-2009.

A fost efectuat un amplu studiu de monitorizare a mierii de albine, pe probe recoltate din județele nord-estice ale Moldovei, folosindu-se în acest scop teste de screening (teste imunoenzimatic tip ELISA- competitivă, teste RIA și teste rapide) completate cu metode analitice înalt performante precum HPLC și LC-MS.

Capitolul al-V-lea „*Scopul și obiectivele cercetării*” prezintă succint argumentele științifice care susțin strategia investigațiilor întreprinse privind calitatea mierii de albine.

Obiectivele:

1. Determinarea reziduurilor de antibiotice din mierea de albine prin metode de screening (pentru tetraciclină a fost folosit testul Elisa Ridascreen Tetracyclin și testul rapid TETRASENSOR, pentru streptomycină a fost folosit testul imunoenzimatic ELISA competitiv, iar pentru sulfamide s-a apelat la testul RIA CHARM II.)
2. Metodologii de lucru pentru confirmarea prezenței reziduurilor de antibiotice și sulfamide din mierea de albine .
3. Tehnici de lucru pentru determinarea reziduurilor de metale grele (Pb și Cd) din flora meliferă (floare de tei, salcâm, rapiță) mierea de albine (polifloră și de mană) și din polen.

Capitolul al VI-lea „*Determinare a reziduurilor de antibiotic din mierea de albine prin metode de screening*” este unul dintre cele mai ample și mai complexe capitole deoarece au fost folosite mai multe astfel de teste. Pentru decelarea și evaluarea tetraciclinei s-a apelat la testul imunoenzimatic ELISA- competitive (Ridascreen Tetracyclin), pentru streptomycină s-a folosit testul Ridascreen Streptomycin, iar sulfonamidele au fost determinate printr-o tehnică expeditivă dar suficient de precisă, testul RIA Charm II. Rezultatele obținute vor fi prezentate într-o manieră comprehensibilă, astfel încât valoarea lor intrinsecă să poată fi exprimată plener și apreciată în consecință.

În perioada 2004-2008 au fost recoltate și analizate pentru decelarea reziduurilor de tetraciclină prin tehnica ELISA, 59 probe de miere de albine de la producători particulari din patru județe ale Moldovei (Iași, Botoșani și Suceava). Dintre acestea 12 probe, reprezentând 17.92%, au fost încadrate prin conținutul lor în categoria eșantioanelor suspecte de contaminare, deci prezumtiv pozitive.

Testul rapid TETRASENSOR, utilizat de asemenea pentru decelarea reziduurilor de tetraciclină din mierea de albine recoltată din același areal geografic, s-a dovedit cel puțin la fel de sensibil ca și tehnica ELISA .

Din 29 probe de miere polifloră, nouă au fost considerate prezumtiv pozitive, fiind deci neconforme în proporție de 31.2%. Nivelul cel mai ridicat de contaminare a fost înregistrat în cazul eșantioanelor de miere prelevate din județul Bacău, iar gradul cel mai redus de poluare cu tetraciline, apreciat prin numărul probelor prezumtiv pozitive, l-au reprezentat probele recoltate din județul Botoșani.

În perioada anilor 2006-2008, producția mierii de albine recoltată de pe teritoriul a trei județe, Iași, Vaslui și Harghita, a fost monitorizată sub raportul contaminării și cu sulfonamide folosindu-se în acest scop ca metodă de screening, testul RIA CHARM II.

Din cele 69 de eșantioane analizate, 14 au fost decelate ca probe prezumtiv pozitive, reprezentând 20.3%.

Din punct de vedere al distribuției zonale, probele de miere încadrate în categoria celor neconforme au reprezentat în județul Iași 23%, în județul Harghita, 18% și în județul Vaslui, 17%. Distribuția în timp a eșantioanelor de miere contaminate cu sulfamide a evidențiat un fenomen cu caracter evident regresiv, în sensul că probele neconforme au reprezentat în anul 2006, 21.4% , în anul 2007, 20%, iar în 2008, 6.3%.

Gradul cel mai ridicat de contaminare cu sulfamide a fost înregistrat în județul Iași, unde probele de miere potențial pozitive au atins un procent de 19%, iar cea mai scăzută rată a poluării au prezentat probele recoltate din județul Vaslui cu o reprezentare procentuală de 14%.

Capitolul al VII-lea „*Metode de confirmare a reziduurilor de antibiotic din miere de albine*”, tratează o serie de aspecte teoretice privind particularitățile funcționale ale HPLC-ului cu detector de fluorescență și ultraviolete, care are însă legătură strânsă cu modalitățile de explorare ale unui astfel de aparat, justificând și explicând în același timp, nivelul superior de calificare a personalului. Cele 14 probe de miere decelate ca fiind suspecte de contaminare prin testul CHARM II au fost analizate ulterior pentru reziduurile de sulfamide folosind tehnica HPLC cu detector de fluorescență. Rezultatele obținute au evidențiat performanțele deosebite ale acestei metodologii ultrasensibile. Din 14 probe, zece s-au dovedit negative pentru sulfonamidele analizate (sulfatiazol, sulfametazina, sulfamerazina, sulfacetamida). Numai patru probe au fost confirmate ca poluate, trei probe cu un conținut de peste 150 ppb sulfatiazol, iar una cu un grad mai redus de contaminare, conținutul în sulfatiazol fiind de peste 100 ppb.

Analiza reziduurilor de oxitetraciclina din miere prin HPLC cu detector UV, ca metodă de confirmare, demonstrează superioritatea acestei metode analitice față de testul imunoenzimatic ELISA sau testul rapid Tetrasensor.

Din 12 probe considerate prezumtiv pozitive prin testul ELISA și 9 prin testul Tetrasensor, HPLC a confirmat numai cinci probe dintre care trei cu un conținut de oxitetraciclina de peste 150 ppb și două probe cu valori ale aceluiași antibiotic variind între 75 și 150 ppb.

Capitolul al VII-lea prezintă lichid cromatografia cuplată cu spectrometrie de masa (LC-MS) ca o metodă inedită de confirmare a reziduurilor de sulfamide din mierea de albine.

Sunt prezentate câteva noțiuni ale spectrometriei de masă și aplicarea acestei metode în chimia analitică în general și în decelare reziduurilor de sulfamide în particular.

Determinarea reziduurilor de sulfamide din miere prin lichid cromatografie cuplată cu spectrometrie de masă (LC-MS) prezintă în amănunt reactivii necesari, metoda de lucru și condițiile de operare pentru confirmarea reziduurilor de sulfamide din miere.

Aceleași 14 probe de miere analizate în perioada 2006-2008 prin metoda Charm și decelate ca fiind suspecte, au fost analizate și cu metoda LC-MS. În urma analizării s-au obținut 4 probe cu un conținut de sulfatiazol de peste 100 ppb dar mai mic de 150 ppb și 10 probe au fost considerate negative în ceea ce privește conținutul lor de sulfatiazol. Concluzia ce se desprinde din aceste investigații este aceea că metoda LC-MS, deși prezintă dezavantajul unui cost investițional ridicat, precizia determinărilor este superioară metodei HPLC.

Capitolul al IX –lea. Metoda de decelare a reziduurilor de metale grele, respectiv spectrometria de absorbție atomică în flacără (SAAF) reclamă reactivi speciali, metodă de lucru riguroasă și optimizarea parametrilor de lucru funcție de natura elementului evaluat.

În perioada 2007-2009 s-a analizat un număr de 145 de probe de floră meliferă și produse apicole, înregistrându-se 11 probe neconforme pentru parametrul plumb și nici o probă contaminată pentru parametrul cadmiu. S-au analizat factorii care au influențat rezultatele obținute: poluarea atmosferică datorată traficului, categoria de produs analizat, momentul recoltării probelor. Oarecum similar cu situația reziduurilor de antibiotice, dar datorită altor factori, s-a observat descreșterea gradului de contaminare cu metale grele a tuturor categoriilor de probe analizate.

Cu toată această tendință de scădere a contaminării produselor apicole cu metale grele, acest parametru rămâne un punct important în planurile generale de supraveghere a reziduurilor și aceasta datorită importanței din ce în ce mai mari care se acordă domeniului apicol în ultimii ani.