

Entwicklung eines Monitoring-Systems zur Identifizierung und Quantifizierung von Antibiotika und ihrer Umwandlungsprodukte in Honig

Honig als naturbelassenes Produkt unterliegt strengen Qualitätsauflagen, die durch zahlreiche rechtliche Verordnungen geregelt sind. Dazu zählt unter anderem, dass Honig frei von Antibiotikarückständen sein muss. Antibiotikarückstände in Honig und allgemein in Lebensmitteln können u.a. allergische Reaktionen nach dem Verzehr auslösen. Zudem wird durch das ubiquitäre Vorliegen von Antibiotikarückständen in der Umwelt der Selektionsdruck auf pathogene resistente Bakterienstämme erhöht und dadurch die Resistenzbildung forciert. Aus humanmedizinischer Sicht und im Sinne des Verbraucherschutzes ist es also eminent wichtig, Antibiotikarückstände in Lebensmitteln bzw. Honig und Honigprodukten nachzuweisen, um diese ggf. aus dem Verkehr ziehen zu können.

Ziel dieser Arbeit war es, ein routinetaugliches Monitoringsystem zu entwickeln, das die Mindestleistungskriterien (MRL, MRPL) für den Nachweis von Antibiotikarückständen in Honig erfüllen. Diese Arbeit beschreibt die Entwicklung und Optimierung der Probenvorbereitung und die Identifizierung und Quantifizierung der Analyte mit LC-MS-Verfahren. Die Analyten gehören zu den Antibiotika-Substanzklassen der Aminoglykoside, Tetracycline, Sulfonamide, Makrolide, Fluorchinolone, Nitrofurane. Mit den Einzelwirkstoffen Trimethoprim und Chloramphenicol waren somit insgesamt 63 Substanzen in das Monitoringsystem zu integrieren. Zudem wurde durch Implementierung eines Online-SPE Moduls die manuelle Festphasenextraktion automatisiert, um bessere Reproduzierbarkeiten und eine Kostenreduktion zu erreichen.

Innerhalb einer Marktstudie (70 Honigproben) wurden mit den entwickelten Methoden keine Rückstände von Antibiotika in Honig nachgewiesen, bei der Kontrolle von Rohhonigen jedoch Sulfonamide ($50 \pm 2 \mu\text{g/kg}$ Sulfathiazol, $0,5 \pm 0,03 \mu\text{g/kg}$ Sulfadimidin), Tetracycline ($3 \pm 0,3 \mu\text{g/kg}$ Demeclocyclin) und in zwei Proben Chloramphenicol. Die so gewonnenen Daten wurden außerdem chemometrisch ausgewertet, um geographische und botanische Klassifizierungen von Honigen vornehmen zu können. Die Aussagekraft des erstellten PCA (Principal Component Analysis, Hauptkomponentenanalyse)-Modells ist schon bei geringer Probenanzahl relativ genau. So konnten Sortenhonige (Akazie, Gebirgsblüte, Raps, Wald) anhand der LC-MS Analysendaten in Gruppen eingeordnet werden. Die chemometrische Auswertung der Rückstandsmessdaten kann somit – in Ergänzung zur Pollenanalyse - eine genauere Klassifizierung der Honige ermöglichen.

Im Vergleich zu den bisher veröffentlichten Methoden zur Rückstandsuntersuchung von Honig deckt das in dieser Arbeit entwickelte Monitoringsystem ein größeres Spektrum antibiotisch aktiver Stoffe ab. Insbesondere der Nachweis von Tetracyclinen inklusive Wirkstoff-Epimeren, Isomeren und weiterer Metabolite bzw. Abbau- und Umwandlungsprodukte bietet die umfangreichste Methodik im Vergleich zu literaturbekannten LC-MS-Methoden.

Die Positivbefunde an Antibiotika zeigen, dass eine Kontrolle notwendig ist, um im Sinne des Verbraucherschutzes belastete Ware aus dem Verkehr ziehen zu können. Zukünftig sollte das Monitoringprogramm ständig aktualisiert werden, um weitere, bislang noch nicht berücksichtigte (illegal eingesetzte) Antibiotika-Wirkstoffe und Metabolite mit hoher Empfindlichkeit zu detektieren. Nur so ist zu gewährleisten, dass Honig und Honigprodukte keine relevanten Eintragsquellen für antibiotisch wirksame Stoffe in die Nahrungsmittelkette darstellen und damit langfristig auch keine Risikofaktoren bei der Bildung von Antibiotikaresistenzen.