

## УСТАНОВЛЕНИЕ ЛИНЕЙНОСТИ МЕТОДА ВЭЖХ-МС/МС ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСТАТОЧНОГО СОДЕРЖАНИЯ АМФЕНИКОЛОВ В МОЛОКЕ И МОЛОЧНОЙ ПРОДУКЦИИ

Чаплыгина О.С., аспирант, тел. 8(3842) 58-57-97,  
chapligena\_95@mail.ru  
ФГБУ ВО КемГУ

**Ключевые слова:** амфениколы, хроматография, молоко, молочная продукция, антибиотики

*В последнее время большое внимание уделяется контролю молочной продукции на предмет остатков ветеринарных препаратов. В данном исследовании была выполнена постановка методики для определения амфениколов в молоке и молочной продукции. В ходе постановки методик был установлен коэффициент корреляции и подтверждена линейность.*

**Введение.** Амфениколы широко используются в ветеринарной практике для лечения микробных инфекций или инфекций, болезней и в качестве пищевых добавок. Чрезмерное и неосмотрительное использование антибиотиков может привести к появлению остатков лекарств в молоке, несущих риск для здоровья человека, так как они могут вызвать аллергические реакции у гиперчувствительных людей или они могут привести к появлению устойчивых к лекарствам бактерий. Таким образом, анализ остатков антибиотиков важен для гарантии безопасности пищевых продуктов [1].

Одним из самых востребованных методов определения остатков амфениколов в молоке и молочной продукции является ВЭЖХ-МС/МС. Данный метод обладает высокой специфичностью, а также отличается высокой точностью. При постановке метода учитывался ряд критериев. Одним из главных является критерий линейности. Линейность устанавливается путем анализа минимум 5 пошаговых концентраций. Линейность подтверждается путем градуировочной характеристики. Градуировочная характеристика считается приемлемой, если рассчитанное значение квадрата коэффициента

корреляции для градуировочной характеристики каждого фрагментного иона составит не менее 0,99 в соответствии с 2002/657/ЕС [4]

**Материалы и методы исследований.** Постановка метода и основные исследования проводились в соответствии с рекомендациями ГОСТ 34533-2019 [3]. В качестве приборной базы использовался жидкостной хроматограф *Shimadzu* в сочетании с масс-спектрометрическим детектором.

Подготовку приборной базы проводили в соответствии техническими рекомендациями. В качестве индивидуальных растворов стандартных образцов амфениколов использовали: хлорамфеникол (ХАФ), (ФФ) и флорфеникол-амин (ФФА) фирмы *Sigma-Aldrich*.

Подвижная фаза представляла собой смесь метанола и муравьиной кислоты 0,1 %. Оптимальная скорость подвижной фазы для постановки методики – 0,3 мл/мин. Детектирование пиков амфениколов проводилось методом «регистрации выбранных реакций» (MRM-режим).

**Результаты исследований и их обсуждение.** Для определения коэффициента корреляции необходимо построить градуировочную характеристику. Градуировку строили при помощи матричной градуировки. Для этого в анализируемую «чистую» пробу добавляли растворы смесей амфениколов, раствор хлорамфеникола (для точки 0,2 нг/см<sup>3</sup>), раствор внутреннего стандарта хлорамфеникола-Д5. В качестве «чистых проб» использовали образцы молока и молочной продукции. Затем осуществляли пробоподготовку полученных смесей и проводили ВЭЖХ/МС анализ.

Для получения градуировочных данных использовали не менее четырех уровней массовых концентраций матричных градуировочных растворов. При построении градуировочной характеристики для количественного определения остаточного содержания амфениколов в инжектор хроматографа вводили не менее двух раз градуировочные растворы различных уровней массовых концентраций. Диапазон массовых концентраций градуировочной характеристики охватывал диапазон определяемых концентраций амфениколов в анализируемых пробах молока и молочной продукции.

При построении градуировочной характеристики использовали функцию, обеспечивающую наилучшее совпадение с матричными точками.

Для установления линейности был рассчитан коэффициент корреляции. Расчёт коэффициента представлен в таблице 1 [2].

**Таблица 1 – Диапазон линейности метода**

Матрица	Амфениколы	Уравнение линейности	R	Диапазон линейности
Молоко [2]	ХАФ	$10,3430 \times X + 0$	0,9998776	(0,2-1000) нг/см <sup>3</sup>
	ФФ	$6,59222 \times X + 0$	0,9999348	(1-1000) нг/см <sup>3</sup>
	ФФА	$8,96611 \times X + 0$	0,9999881	(1-1000) нг/см <sup>3</sup>
Молочная продукция [2]	ХАФ	$10,6085 \times X + 0$	0,9999593	(0,2-1000) нг/см <sup>3</sup>
	ФФ	$6,48690 \times X + 0$	0,9999869	(1-1000) нг/см <sup>3</sup>
	ФФА	$13,8261 \times X + 0$	0,9999532	(1-1000) нг/см <sup>3</sup>

Исходя из данных, представленных в таблице 1, следует, что коэффициент (R) во всех исследуемых образцах стримится к 1,0. Полученные данные говорят о подтверждение линейности поставленного метода.

**Заключение.** При валидации методики одним из важных значений является коэффициент линейности. В данном исследовании была продемонстрирована постанковка метода с использованием матричной градуировки и коэффициентом корреляции стремящегося к идеальному значению – 1,0. Таким образом методика при валидации данной методики подтверждена ее линейность,

#### **Библиографический список:**

1. Santos, S.M Development and application of a capillary electrophoresis-based method for the simultaneous screening of six antibiotics in spiked milk samples / S.M Henriques, M. Henriques, A.C. Duarte, V.I. Esteves // Talanta. – 2007. – Vol. 71. – P. 731–737.
2. Гармашов, С.Ю. Использование метода ВЭЖХ-МС/МС для определения антибиотиков группы амфениколов в продукции животноводства / С.Ю. Гармашов, Чапыгина О.С. // XXI век: итоги прошлого и проблемы настоящего плюс. – 2021. – Т. 10. – № 2 (54). – С. 113–117.

3. ГОСТ 34533-2019 Продукты пищевые, продовольственное сырье. Метод определения остаточного содержания сульфаниламидов, нитроимидазолов, пенициллинов, амфениколов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200167054>

4. Директиву Совета 96/23/ЕС о проведении аналитических методов и толковании результатов [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/laws/eu/2002-657.pdf>

## **ESTABLISHMENT OF THE LINEARITY OF THE HPLC-MS / MS METHOD FOR DETERMINING THE RESIDUAL CONTENT OF AMPHENICOLS IN MILK AND DAIRY PRODUCTS**

**Chaplygina O.S.**

**Keywords:** *amphenicols, chromatography, milk, dairy products, antibiotics*

*Recently, much attention has been paid to the control of dairy products for residues of veterinary drugs. In this study, a method was formulated for the determination of amphenicols in milk and dairy products. During the formulation of the methods, the correlation coefficient was established and the linearity was confirmed.*