

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2593>
<https://elibrary.ru/KENGCB>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Расширение области применения иммунофлуоресцентного метода для определения ветеринарных лекарственных препаратов в молочных продуктах



А. А. Криницына*, А. Н. Петров^{ORCID}

Российский биотехнологический университет^{ORCID}, Москва, Россия

Поступила в редакцию: 24.02.2025

Принята после рецензирования: 26.03.2025

Принята к публикации: 06.05.2025

*А. А. Криницына: Anna.Krinityna@pepsico.com

А. Н. Петров: <https://orcid.org/0000-0001-9879-482X>

© А. А. Криницына, А. Н. Петров, 2025



Аннотация.

Современные методы контроля остаточных количеств антибиотиков и ветеринарных препаратов в молочной продукции требуют повышения точности и расширения спектра анализируемых образцов. Иммунофлуоресцентные методы демонстрируют высокий потенциал, однако их эффективность зависит от физических и химических характеристик исследуемых продуктов, таких как массовая доля сухих веществ, белка и жира, уровень pH. Цель работы – изучить иммунный ответ иммунофлуоресцентного биоанализатора на физико-химические показатели пермеата и ретентата молочных, пахты и сливок, установить границы определения остаточных количеств антибиотиков.

Объектами исследования являлись цельное нормализованное, сырое цельное и обезжиренное молоко, сухое цельное и сухое обезжиренное молоко, сливки, пермеат и ретентат молочные, пахта и их композиционные системы. Для всех образцов проводился контроль на отсутствие остаточных ветеринарных препаратов, а также анализ их физико-химических характеристик. Все исследования проводились в пятикратной повторности. Обработка данных выполнялась с использованием программного обеспечения Unisensor S. A., Wolfram Mathematica и Microsoft Excel с надстройками «Поиск решения» и «Анализ данных».

Установлено, что одновременный учет указанных параметров позволяет минимизировать вероятность возникновения ложноотрицательных и ложноположительных результатов при детекции остаточных количеств ветеринарных препаратов. Применение данного подхода способствует повышению аналитической точности метода и воспроизводимости получаемых данных. Разработан и экспериментально верифицирован универсальный алгоритм адаптации иммунофлуоресцентного анализа к различным типам молочных продуктов. Данный алгоритм позволяет точно определять остаточные количества антибиотиков в сыром молоке, пахте, пермеате и ретентате молочных, сливках и продуктах их переработки, что свидетельствует о его практической значимости в системе контроля качества молочной продукции.

Полученные результаты имеют важное практическое значение для молочной промышленности. Внедрение предложенных методик позволит повысить стандарты безопасности продукции, что критически важно для здоровья потребителей и укрепления доверия к отрасли.

Ключевые слова. Молочные продукты, ветеринарные лекарственные препараты, безопасность, иммунофлуоресцентный метод, биохимический анализатор

Для цитирования: Криницына А. А., Петров А. Н. Расширение области применения иммунофлуоресцентного метода для определения ветеринарных лекарственных препаратов в молочных продуктах. Техника и технология пищевых производств. 2025. Т. 55. № 3. С. 521–539. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2593>

Immunofluorescence in Determining Veterinary Drugs in Dairy Products



Anna A. Krinitzyna*, Andrey N. Petrov^{ID}

Russian Biotechnological University^{ROR}, Moscow, Russia

Received: 24.02.2025
Revised: 26.03.2025
Accepted: 06.05.2025

*Anna A. Krinitzyna: Anna.Krinitzyna@pepsico.com
Andrey N. Petrov: <https://orcid.org/0000-0001-9879-482X>

© A.A. Krinitzyna, A.N. Petrov, 2025



Abstract.

The current methods for detecting residual antibiotics and veterinary drugs in dairy products require more accuracy and a wider target range. Immunofluorescence demonstrates high potential, but its efficiency depends on the physical and chemical properties of the dairy product, e.g., mass fraction of solids, protein, and fat, pH, etc. This research featured the immune response of an immunofluorescence bioanalyzer to the physicochemical parameters of milk permeate, milk retentate, buttermilk, and cream in order to establish the limits of determination of residual antibiotics.

The experiment involved whole standardized milk, raw whole milk, skim milk, whole milk powder, skim milk powder, cream, milk permeate, milk retentate, buttermilk, and their composite systems. All samples were tested for residual veterinary drugs and physicochemical profile (five replications). The data obtained were processed in Unisensor S. A., Wolfram Mathematica, and Microsoft Excel (Solver and Data Analysis add-ins).

A simultaneous consideration of the specified parameters minimized the probability of false negative and false positive results in detecting residual veterinary drugs. The approach increased the analytical accuracy and reproducibility. The research yielded a universal algorithm for adapting immunofluorescence analysis to various types of dairy products. This algorithm provided accurate determination of residual amounts of antibiotics in raw milk, buttermilk, permeate, retentate, cream, and processed dairy products, which indicated its practical significance in dairy quality control.

If implemented on commercial scale, the new method will improve the current dairy safety standards, strengthen consumers' trust in the domestic dairy industry, and improve their health.

Keywords. Dairy products, veterinary drug, safety, immunofluorescence, biochemical analyzer

For citation: Krinitzyna AA, Petrov AN. Immunofluorescence in Determining Veterinary Drugs in Dairy Products. Food Processing: Techniques and Technology. 2025;55(3):521–539. (In Russ.) <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2593>

Введение

Неконтролируемое применение антибиотиков для лечения и профилактики заболеваний животных способствует загрязнению продуктов питания как животного, так и растительного происхождения [1, 2]. Циркуляция антибиотиков в биосфере способствует распространению устойчивых к лекарственным средствам штаммов микроорганизмов, что усложняет борьбу с инфекционными заболеваниями у людей и животных [4]. Бесконтрольное применение антибиотиков приводит к тому, что их остаточные количества попадают в продукты животного происхождения, оказывая негативное воздействие на здоровье человека [3].

Государственные программы «Стратегия повышения качества пищевой продукции в РФ до 2030 г.» и «Укрепление общественного здоровья» нацелены на контроль качества пищевых продуктов. Эти инициативы утверждены Правительством и Минздравом РФ в рамках национального проекта «Демография».

Это не только вопрос здоровья населения, но и ключевой аспект продовольственной безопасности страны. Актуальность данного исследования обусловлена внедрением в России новых требований безопасности, утвержденных Решением Совета ЕЭК № 70, которые включены в технический регламент Таможенного союза ТР ТС 021 и охватывают полный перечень фармакологически активных веществ, обеспечивая дополнительную защиту здоровья потребителей. Обеспечение безопасности пищевых продуктов требует разработки и совершенствования высокочувствительных и высокопроизводительных методов детекции антибиотиков и лекарственных препаратов. Решение поставленных в данной работе задач связано с ужесточением контроля над применением антибиотиков в ветеринарии.

В настоящее время разработано множество методов для анализа остатков антибиотиков в пищевых продуктах, от быстрого скрининга до подтверждающих методов. В таких нормативных документах как

ГОСТ 32219-2013 «Молоко и молочные продукты. Иммуноферментные методы определения наличия антибиотиков», ГОСТ 32254-2013 «Молоко. Инструментальный экспресс-метод определения антибиотиков», ГОСТ 33526-2015 «Молоко и продукты переработки молока...», для определения антибиотиков используются хроматографические методы в сочетании с масс-спектрометрией. В 2021 г. разработан и утвержден ГОСТ Р 59507-2021 «Молоко и молочное сырье. Определение наличия остаточного содержания антибиотиков и лекарственных веществ иммунологическими методами», где для определения остаточного содержания лекарственных препаратов применяются иммунологические методы.

Нормативные документы и апробированные в лабораторной практике методы, с использованием ВЭЖХ (в сочетании с масс-спектрометрией), имеют ряд существенных недостатков – сложная подготовка образцов, долгая продолжительность анализа и значительные затраты ресурсов. Кроме того, они не предназначены для массового контроля, а также не всегда обеспечивают необходимую точность и чувствительность при определении остаточных количеств анти-

биотиков и лекарственных веществ в соответствии с установленными нормами [5–7].

Иммунофлуоресцентный метод, основанный на специфичном средстве антител, меченных флуоресцентной меткой, целевому агенту, обладая рядом существенных преимуществ, представляет собой альтернативу ВЭЖХ-МС/МС. Его использование сокращает время анализа, по сравнению с ВЭЖХ-МС/МС [8–9].

В практике молочной промышленности иммунофлуоресцентный метод активно применяется для контроля лекарственных препаратов. Биоанализатор EXTENSO (Unisensor S. A., Бельгия) представляет собой иммунохимический анализатор с флуоресцентной детекцией. Он является единственным зарегистрированным в России средством измерения, с доказанной эффективностью в обеспечении полного контроля спектра нормируемых фармакологически активных веществ [10]. Благодаря данной аналитической системе определяются до 100 наименований загрязнителей (табл. 1).

Существенным ограничением биоанализатора является относительно ограниченный список исследуемых объектов: сырое, пастеризованное, восстановленное и обезжиренное молоко. Этот перечень не отражает

Таблица 1. Пределы обнаружения остаточного содержания антибиотиков и лекарственных веществ иммунофлуоресцентным методом в молочных продуктах

Table 1. Residual antibiotics and medicinal substances in dairy products: Immunofluorescence detection limits

Группы антибиотиков / лекарственных веществ	Антибиотики / лекарственные вещества	Порог определения, мкг/кг	Решение № 70, мкг/кг
β -лактамы-пенициллины	Амоксициллин	3	4
	Ампициллин	4	4
	Бензилпенициллин (Пен G)	2	< 4
	Клоксациллин	12	30
	Нафциллин	350	30
	Диклоксациллин	8	30
	Оксациллин	16	30
β -лактамазные ингибиторы	Клавулановая кислота	> 20000	200
β -лактамы-цефалоспорины	Цефалониум	3	20
	Цефазолин	9	не нормируется
	Цефоперазон	3	50
	Цефкином	14	20
	Цефтиофур	8	100
	Дезфлюорилцефтиофур	60	100
	Цефепим	4	10
	Дезацетилцефепим	16	10
	Цефазетрил	9	125
	Цефалексин	4	100
Фениколы	Хлорамфеникол – левомецетин	0,15–0,25	0,30
Полимиксины	Колистин	30	50
Аминогликозиды	Гентамицин (C_1 , C_{1a} , C_2 , C_{2a})	2–5	100
	Канамицин А	1	150
	Неомицин В	1000	1500
	Фрамицетин	–	не нормируется
	Дигидрострептомицин	50–100	не нормируется
	Стрептомицин	50–100	< 200

Продолжение таблицы 1

Группы антибиотиков / лекарственных веществ	Антибиотики / лекарственные вещества	Порог определения, мкг/кг	Решение № 70, мкг/кг
Макролиды	Эритромицин	30	40
	Спирамицин	100	200
	Неоспирамицин	100	не нормируется
	Тилозин А	2–5	50
	Тилмикозин	2–5	50
Линкозамиды	Линкомицин	3–5	150
	Клиндамицин	1–3	не нормируется
	Пирлимицин	15–25	100
Сульфаниламиды	Сулфадиазин	3	25
	Сульфамеразин	1	25
	Сульфадиметоксин	5	25
	Сульфаметазин	1	25
	Сульфаметоксазол	100	25
	Сульфаквиноксалин	4	25
	Сульфамонометоксин	2	25
	Сульфаметоксипиридазин	1	25
	Сульфазтоксипиридазин	< 25	25
	Сульфазалазин	115	25
	Сульфапиридин	1	25
	Сульфаклоропиридазин	8	25
	Сульфагуанидин	7	25
	Сульфатиазол	3	25
	Сульфисоксазол	< 25	25
	Сульфаметизол	150	25
	Сульфаметер	2	25
	Сульфамоксол	1	25
Производные пиридина	Баквиприм	25–35	30
	Триметоприм	1–2	50
Тетрациклины	Тетрациклин	9	< 10
	Хлортетрациклин	5	< 10
	Окситетрациклин	9	< 10
	Доксициклин	3	< 10
Хинолоны	Данофлоксацин	14	30
	Энрофлоксацин	14	100 в сумме
	Ципрофлоксацин	16	100 в сумме
	Пефлоксацин	10–15	100 в сумме
	Офлоксацин	10–15	100 в сумме
	Марбофлоксацин	14	75
	Норфлоксацин	20	100 в сумме
	Флумеквин	25	50
	Левифлоксацин	< 1	не нормируется

весь спектр современных потребностей и возможностей иммунофлуоресцентного метода. В первую очередь, необходим контроль именно сырья, так как оно – основа для производства ряда функциональных и специализированных молочных продуктов, включая детское питание. Расширению ассортимента тестируемых молочных продуктов препятствует отсутствие научно обоснованного диапазона физико-химических параметров для существующего иммунофлуоресцентного метода. Без такого диапазона невозможно гарантиро-

вать получение адекватных результатов с помощью иммунохимического биоанализатора.

Особенности иммунофлуоресцентного метода объясняют сложности, возникающие при анализе таких продуктов, как пермеат и ретентат молочные, а также пахты, и препятствующие расширению списка тестируемых образцов. Избирательность антител, взаимодействующих только с определенными антигенами, затрудняет точное определение общего содержания белка в образце. Например, в ретентате молочном около 9 % белка,

но антитела реагируют лишь с его частью, что может привести к возможным ошибкам. Дополнительную сложность создает высокое содержание жиров в образцах, которое блокирует доступ антителам к клеточным поверхностям и изменяет морфологию клеток, ухудшая их распознавание. Кроме того, жир способен поглощать и рассеивать свет, ослабляя флуоресценцию и мешая визуализации сигналов [11–12].

Другой причиной отсутствия корректности в работе биоанализатора является высокая концентрация сухих веществ, что негативно влияет на стабильность белков, включая антитела и антигены. Сахара и соли в больших количествах вызывают денатурацию белков, изменяя их структуру, что ведет к потере антителами способности связываться с антигенами. Помимо этого, некоторые компоненты сухих веществ могут конкурировать с антигенами за сайты связывания на антителах. Например, полисахариды или другие макромолекулы при определенных условиях способны соединиться с антителами, занимая места, предназначенные для антигенов. Высокие концентрации сухих веществ способствуют формированию комплексов между антителами и другими компонентами, такими как лиганды или примеси, что препятствует доступу антител к антигенам. Изменение концентрации сухих веществ влияет на pH продукта и его ионную силу, что отражается на структуре и функции белков, включая антитела и антигены [13].

Высокая специфичность взаимодействия антитела и антигена, обусловленная соответствием формы их активных центров (эпитопов), может нарушаться под воздействием кислотности среды (pH). Изменение pH приводит к деформации молекул антител и антигенов и к нарушению их совместного функционирования. При низких значениях pH (кислой среде) белки могут денатурироваться, меняя свою трехмерную структуру, что ухудшает доступность эпитопов для антител или полностью разрушает их структуру, делая их невидимыми для антител. Низкие значения pH изменяют заряд антител и антигенов, что существенно сказывается на их способности к взаимодействию [14]. Высокие концентрации сухих веществ способствуют формированию комплексов между антителами и другими компонентами, что препятствует доступу антител к антигенам. Изменение концентрации сухих веществ влияет на pH продукта и его ионную силу, что, в свою очередь, воздействует на структуру и функции белков, включая антитела. В составе молока и его производных лимитирующими физико-химическими характеристиками являются массовые доли белка, жира и сухих веществ, а также активная кислотность. Соответственно, влияние данных показателей на связывание антител с антигенами является ожидаемым [11–14]. В связи с широким диапазоном варьирования численных значений, существует вероятность того, что лишь ограниченное их сочетание может быть оптимальным для выявления антигена иммунофлуоресцентным методом.

Установленные факты, рассуждения и предположения приводят к необходимости определить систему корректных интервалов варьирования данных факторов для обеспечения возможности фиксирования присутствия в среде целевых антигенов представляет собой весьма актуальную задачу. Ее решение позволит расширить возможности детекции антибиотиков и лекарственных веществ в таких видах молочного сырья, как пермеат и ретентат молочные, пахта и сливки.

В ходе исследований иммунофлуоресцентного метода было выдвинуто и подтверждено предположение. При определенных условиях пробоподготовки возможно эффективное выявление остаточных количеств антибиотиков и лекарственных веществ. Причем, не только в сыром, пастеризованном, восстановленном и обезжиренном молоке, но и в других молочных продуктах, таких как пермеат и ретентат молочные, пахта и сливки.

Цель работы – изучить иммунный ответ иммунофлуоресцентного биоанализатора на физико-химические показатели пермеата и ретентата молочных, пахты и сливок, установить границы определения остаточных количеств антибиотиков.

Для достижения поставленной цели должны быть реализованы следующие задачи:

- исследовать характеристики, определяющие применимость иммунофлуоресцентного метода для качественного определения содержания антибиотиков в объектах исследования, с целью оценки влияния различных стадий пробоподготовки на увеличение точности аналитических измерений;
- разработать многоэтапный эмпирический подход для определения оптимальных интервалов значений ключевых факторов;
- разработать и экспериментально подтвердить универсальный алгоритм применимости иммунофлуоресцентного анализа для определения остаточных количеств антибиотиков в различных видах молочных продуктов и продуктах их переработки, включая молоко, пахту, пермеат молочный, ретентат молочный и сливки;
- провести обсуждение полученных результатов исследования.

Объекты и методы исследования

Для установления границ определения антибиотиков и лекарственных препаратов в качестве модельных объектов выбраны: молоко цельное нормализованное, сырое цельное и обезжиренное молоко, сухое цельное (СЦМ) и сухое обезжиренное (СОМ) молоко, сливки, пермеат и ретентат молочные, пахта, а также системы на их основе.

В начале исследования все анализируемые продукты были проверены на отсутствие остаточных антибиотиков в соответствии с требованиями ГОСТ Р 59507-2021. Определение массовых долей белка (ГОСТ 34454-2018), жира (ГОСТ 5867-90) и сухих веществ (ГОСТ 3626-73) проводилось согласно указанным выше стандартам.

Определены значения рН во всех модельных объектах, кроме СЦМ и СОМ. Для них показатель рН определен расчетным путем на основании измеренных значений рН в восстановленных образцах молока по формуле:

$$pH_{dm} = -\lg \left[\frac{10^{2-pH_m} - (100 - w_{dm}) \times 10^{-pH_w}}{w_{dm}} \right] \quad (1)$$

где pH_{dm} – расчетное значение рН в СЦМ и СОМ, ед.; pH_m – рН восстановленного молока, ед.; pH_w – рН воды, используемой для восстановления, ед.; w_{dm} – массовая доля СОМ или СЦМ в составе восстановленного молока, %.

Определение состава сливок для анализа является сложной задачей. Согласно концепции аддитивного формирования значений ключевых показателей, на первом этапе необходимо установить значения рН и массовых долей смеси сливок с СЦМ. Это можно сделать на основании уравнений аддитивности и представления о рН как логарифмическом отражении концентрации катионов H^+ :

$$\begin{cases} \omega_{p(a)} = \frac{\omega_{p(c)} \times \omega_c + \omega_{p(dm)} \times (100 - \omega_c)}{100} \\ \omega_{f(a)} = \frac{\omega_{f(c)} \times \omega_c + \omega_{f(dm)} \times (100 - \omega_c)}{100} \\ \omega_{s(a)} = \frac{\omega_{s(c)} \times \omega_c + \omega_{s(dm)} \times (100 - \omega_c)}{100} \\ pH_a = -\lg \left[\frac{10^{-pH_c} \times \omega_c + 10^{-pH_{dm}} \times (100 - \omega_c)}{100} \right] \end{cases} \quad (2)$$

где $\omega_{p(c)}$, $\omega_{f(c)}$, $\omega_{s(c)}$ – массовые доли белка, жира и сухих веществ в сливках, соответственно, %; pH_c – рН сливок, ед.; $\omega_{p(dm)}$, $\omega_{f(dm)}$, $\omega_{s(dm)}$ – массовые доли белка, жира и сухих веществ в СЦМ, соответственно, %; pH_{dm} – расчетное значение рН СЦМ, определенное по формуле (1), ед.; $\omega_{p(a)}$, $\omega_{f(a)}$, $\omega_{s(a)}$ – массовые доли белка, жира и сухих веществ в смеси «сливки – СЦМ», соответственно, %; pH_a – рН смеси «сливки – СЦМ», ед.; ω_c – массовая доля сливок в смеси «сливки – СЦМ», %.

В результате формирования смеси неизбежно происходит разбавление остаточного количества антибиотиков (при их наличии в сливках) в k_1 раз:

$$k_1 = \frac{100}{\omega_c} = f_{k_1}(\omega_c) \quad (3)$$

На втором этапе смесь «сливки – СЦМ» необходимо разбавить дистиллированной водой. Для каждого из ключевых показателей необходимая степень разбавления будет разной. Предельные значения степени разбавления, необходимые для достижения нижних границ соответствующих интервалов, рассчитаны по формуле:

$$\begin{cases} k_p^u = \frac{\omega_{p(a)}}{\omega_{p(\min)}} \\ k_f^u = \frac{\omega_{f(a)}}{\omega_{f(\min)}} \\ k_s^u = \frac{\omega_{s(a)}}{\omega_{s(\min)}} \\ k_{pH}^u = -\lg \left[\frac{10^{-pH_a} + 10^{-pH_w}}{10^{-pH_{\max}} + 10^{-pH_w}} \right] \end{cases} \quad (4)$$

где k_p^u , k_f^u , k_s^u – степени разбавления, необходимые для достижения нижних границ интервалов массовых долей белка, жира и сухих веществ в образце, соответственно, раз; k_{pH}^u – степень разбавления, необходимая для достижения верхней границы интервала рН в образце (ей соответствует минимум концентрации катионов H^+), раз; $\omega_{p(\min)}$, $\omega_{f(\min)}$, $\omega_{s(\min)}$ – нижние границы оптимальных интервалов массовых долей белка, жира и сухих веществ в образце, соответственно, %; $pH_{\max}$ – верхняя граница оптимального интервала рН в образце, ед.; pH_w – рН дистиллированной воды, ед.

Формула расчета k_{pH}^u получена на основе принципов аддитивного формирования рН системы при разбавлении водой, учитывая кратность разбавления:

$$10^{-pH_{\min}} = \frac{10^{-pH_a} + 10^{-pH_w} \times (k_{pH}^u - 1)}{k_{pH}^u} \quad (5)$$

По аналогии установлены минимальные значения степени разбавления, необходимые для достижения верхних границ соответствующих интервалов:

$$\begin{cases} k_p^d = \frac{\omega_{p(a)}}{\omega_{p(\max)}} \\ k_f^d = \frac{\omega_{f(a)}}{\omega_{f(\max)}} \\ k_s^d = \frac{\omega_{s(a)}}{\omega_{s(\max)}} \\ k_{pH}^d = -\lg \left[\frac{10^{-pH_a} + 10^{-pH_w}}{10^{-pH_{\min}} + 10^{-pH_w}} \right] \end{cases} \quad (6)$$

где k_p^d , k_f^d , k_s^d – степени разбавления, необходимые для достижения верхних границ интервалов массовых долей белка, жира и сухих веществ в образце, соответственно, раз; k_{pH}^d – степень разбавления, необходимая для достижения нижней границы интервала рН в образце (ей соответствует максимум концентрации катионов H^+), раз; $\omega_{p(\max)}$, $\omega_{f(\max)}$, $\omega_{s(\max)}$ – верхние границы оптимальных интервалов массовых долей белка, жира и сухих веществ в образце, соответственно, %; $pH_{\min}$ – нижняя граница оптимального интервала рН в образце, ед.

Поскольку результатом пробоподготовки должен стать образец, значения ключевых показателей которого должны находиться внутри соответствующих

интервалов, следовательно, верхняя допустимая граница разбавления для каждой массовой доли сливок в смеси «сливки – СЦМ» k_2^u будет соответствовать интегральному минимуму из соответствующих ей значений предельных степеней разбавления:

$$k_2^u = \{k_p^u; k_f^u; k_s^u; k_{pH}^u\}_{\min} = f_{k_2^u}(\omega_c) \quad (7)$$

По аналогии, минимальная допустимая граница разбавления для каждой массовой доли сливок в смеси «сливки – СЦМ» k_2^d будет соответствовать интегральному максимуму из соответствующих ей значений минимальных степеней разбавления:

$$k_2^d = \{k_p^d; k_f^d; k_s^d; k_{pH}^d\}_{\max} = f_{k_2^d}(\omega_c) \quad (8)$$

Как показали результаты исследований с образцами на основе сливок, эти две границы имеют некоторую точку пересечения k_2 при определенном значении ω_c , где

$$f_{k_2^u}(\omega_c) = f_{k_2^d}(\omega_c)$$

Значение k_2 в этом случае представляет собой фундаментальный предел разбавления системы «сливки – СЦМ» дистиллированной водой.

Известна степень разбавления на каждом из двух этапов. Это позволяет определить допустимый максимум (K^u) и минимум (K^d) интегральных степеней разбавления. Кроме того, для каждого значения ω_c можем вычислить значение фундаментального интегрального предела разбавления K :

$$\begin{cases} K^u = k_1 \times k_2^u \\ K^d = k_1 \times k_2^d \\ K = k_1 \big|_{f_{k_2^u}(\omega_c) = f_{k_2^d}(\omega_c)} \times k_2 \end{cases} \quad (9)$$

Таблица 2. Концентрация антибиотиков в исследуемых образцах

Table 2. Concentration of antibiotics in the samples

Антибиотик	Массовая доля, мкг/кг
Беталактамы	20
Хлорамфеникол	0,2
Цефалексин	10
Колистин	35
Эритромицин	35
Гентамицин	50
Линкозамиды	25
Неомицин	1000
Спирамицин	100
Стрептомицин	100
Сульфонамиды	25
Тетрациклины	10
Триметоприм	5
Тилозин	40
Канамицин	5

На основании данных о границах разбавлений можно определить границы массовой доли дистиллированной воды в системе «смесь – вода» для завершения пробоподготовки:

$$\begin{cases} \omega_w^u = 100 \times \frac{k_2^u - 1}{k_2^u} = f_{\omega_w^u}(\omega_c) \\ \omega_w^d = 100 \times \frac{k_2^d - 1}{k_2^d} = f_{\omega_w^d}(\omega_c) \\ O = 100 \times \frac{k_2 - 1}{k_2} \end{cases} \quad (10)$$

где ω_w^u и ω_w^d – верхняя и нижняя границы интервала допустимых массовых долей дистиллированной воды в системе «смесь – вода», соответственно, %; O – фундаментальный интегральный предел массовой доли дистиллированной воды в системе «смесь – вода», %.

Состав и дозировка антибиотиков в контаминированных образцах представлен в таблице 2. В контрольные варианты антибиотики не добавляли.

Исследования по установлению присутствия антибиотиков проводили на иммунохимическом биоанализаторе EXTENSO с флуоресцентной детекцией, укомплектованном тест-набором для проведения анализа по протоколу, предоставленному компанией разработчиком.

Все результаты, полученные в ходе исследования, обработаны с использованием программного обеспечения Unisensor S. A., Wolfram Mathematica и табличного процессора Microsoft Excel с установленными надстройками «Поиск решения» и «Анализ данных». Все анализы проводили в пятикратной повторности.

Результаты и их обсуждение

Для определения ориентиров поиска допустимых интервалов варьирования ключевых факторов анализируемых сред исследован приборный отклик иммунофлуоресцентной методики выявления присутствия антибиотиков в контаминированных парах образцов молока сырого цельного и обезжиренного, пермеата и ретентата молочных, а также пахты, имеющие различные значения pH, массовой доли сухих веществ, белка и жира (табл. 3).

Анализ влияния физико-химических характеристик объектов на инструментальное определение антибиотиков показал положительные результаты для пахты и обезжиренного молока, но ложноотрицательные – для пермеата и ретентата молочных. Вариации состава сырого цельного молока выявили двойственность результатов: при минимальных значениях показателей антибиотики обнаружены, при максимальных – ложноотрицательный результат.

Допустимый интервал массовой доли сухих веществ – 6–12 %. Для белка оптимальный интервал – 2–4 %, но выявлен образец с ложноотрицательным результатом (3,6 %). Результаты анализа pH и массовой

Таблица 3. Влияние физико-химических характеристик объектов исследования на эффективность инструментального определения антибиотиков

Table 3. Effect of physicochemical profile of dairy products on the efficiency of instrumental determination of antibiotics

Модельный объект	Сухие вещества, %	Белки, %	Жиры, %	pH, ед.	Результат приборного определения антибиотиков
Молоко цельное нормализованное	12	2,8	2,5	6,7	обнаружено
	18	3,6	9,9	6,5	не обнаружено
Молоко сырое обезжиренное	8	2,8	0,05	6,7	обнаружено
	9	3,6	0,05	6,5	обнаружено
Пермеат молочный	5	0,2	0,01	6,9	не обнаружено
	6	0,4	0,01	6,4	не обнаружено
Ретентат молочный	16	9,0	0,2	6,7	не обнаружено
	17	10,0	0,5	6,6	не обнаружено
Пахта	6	2,0	0,5	6,6	обнаружено
	10	4,0	2,0	6,5	обнаружено

Таблица 4. Приборный отклик на наличие антибиотиков в контаминированном пермеате молочном с сухим цельным молоком

Table 4. Instrumental response to antibiotics in contaminated milk permeate with whole milk powder

Соотношение, %		Массовая доля, %			pH, ед.
Пермеат молочный	СЦМ	Белки	Жиры	Сумма сухих веществ	
100	0	0,22	0,01	5,50	6,80
96	4	1,62	1,51	10,95	6,60
93	7	1,85	1,73	12,49	6,60
92*	8	2,05	2,10	13,00	6,50
91	9	2,26	2,14	13,64	6,46

Примечание: * – вариант с положительным приборным откликом.

Note: * – positive instrumental response.

доли жира оказались противоречивыми. Изначально наблюдались разные значения для обоих образцов ретентата молочного, а также для других образцов. Однако, дальнейший анализ показал, что если рассматривать определенные диапазоны, то оба образца ретентата молочного попадают в один диапазон как по массовой доле жира (0,05–2,5 %), так и по pH (6,5–6,7). В этом же диапазоне pH находятся также один образец пермеата молочного и образец сырого цельного молока с ложноотрицательным результатом.

Предполагается, что на точность прибора влияет совокупность факторов. Для проверки изучались образцы контаминированного пермеата молочного, разбавленного сухим цельным молоком (СЦМ). Массовая доля пермеата молочного 91–100 % (табл. 4).

Предварительно СЦМ протестировано на отсутствие остаточных количеств антибиотиков в соответствии с требованиями ГОСТ Р 59507-2021.

Результаты оценки массовой доли сухих веществ в исследованных системах с содержанием пермеата молочного 93 и 96 % показали соответствие установ-

ленным ранее интервалам. Однако, методика продемонстрировала положительную реакцию только тогда, когда массовые доли белка и жира, а также pH находились в соответствующих интервалах. Данный факт подтверждает изначальное предположение о комплексном воздействии четырех ключевых показателей. Также установлено расширение верхнего предела оптимального диапазона массовой доли сухих веществ до 13,00–13,64 %. Значения массовых долей белка и жира, а также pH в системе «пермеат молочный – СЦМ» при содержании пермеата молочного 92 % находятся вблизи нижних границ интервалов. Это обосновывает возможность модификации пермеата молочного путем пробоподготовки, чтобы сделать иммунофлуоресцентный метод определения остатков ветеринарных препаратов пригодным и для анализа пермеата молочного. Корректировка состава молочного сырья позволит добиться соответствия параметрам, обеспечивающим корректную работу метода.

Для доказательства, либо опровержения данного предположения проведено исследование влияния статистической вариативности значений ключевых показателей на применимость нормализации образцов для достижения оптимальных условий применимости иммунофлуоресцентного метода. Для этого были приготовлены пять пар систем «пермеат молочный – СЦМ» с идентичными соотношениями ингредиентов 92:8. Каждый образец исследовали в двух вариантах – исходном (холостая проба) и контаминированном антибиотиками (контаминированная проба) (табл. 5).

В каждом образце, контаминированном антибиотиком, методика иммунофлуоресцентного анализа позволила обнаружить его наличие, несмотря на вариативность ключевых факторов. Анализ холостых проб показал отсутствие ложноположительного отклика. То есть, в образцах с пермеатом молочным удалось однозначно определить присутствие остаточных количеств ветеринарных препаратов.

Таблица 5. Оценка влияния метода пробоподготовки на чувствительность детектирования пермеата молочного

Table 5. Effect of sample preparation on detection efficiency in milk permeate

Проба	Массовая доля, %			pH, ед.	Результат приборного анализа антибиотиков
	Белки	Жиры	Сумма сухих веществ		
Холостая	2,05	2,10	13,01	6,46	не обнаружено
Контаминированная					обнаружено
Холостая	2,10	2,00	12,80	6,50	не обнаружено
Контаминированная					обнаружено
Холостая	2,07	2,12	13,00	6,40	не обнаружено
Контаминированная					обнаружено
Холостая	2,00	2,06	12,00	6,52	не обнаружено
Контаминированная					обнаружено
Холостая	2,12	2,10	13,00	6,46	не обнаружено
Контаминированная					обнаружено

Введение СЦМ в пермеат молочный привело к изменению баланса показателей. На основе результатов, полученных с системой «пермеат молочный – СЦМ» и с учетом влияния ключевых факторов пермеата молочного, исследовали приборный отклик методики. Для этого использовались образцы молока, восстановленного из сухого обезжиренного (СОМ) и СЦМ, с массовой долей сухого молока от 4 до 15 % с шагом 0,5 % (табл. 6).

Иммунофлуоресцентный метод продемонстрировал удовлетворительную работу на восстановленном молоке из СОМ в диапазоне массовых долей от 6,5 до 14,0 %, а из СЦМ – в диапазоне от 9,0 до 13,0 %. Более узкий интервал для СЦМ, вероятно, объясняется двумя причинами. Во-первых, недостаточным количеством белка при массовой доле сухого молока ниже нижней допустимой границы. Во-вторых, избытком сухих веществ, когда массовая доля сухого молока превышает верхнюю допустимую границу. Интегральный анализ данных, представленных в таблице 6, позволил сдвинуть верхние границы всех ключевых показателей в большую сторону: массовые доли белка, жира и сухих веществ – до 4,62; 3,42 и 13,46 % соответственно, а pH – до 6,8. С большой долей вероятности, pH 6,81 является предельным верхним значением. В образце с 7,0 % СОМ все факторы, кроме pH, соответствуют допустимым интервалам. При этом pH 6,81, вероятно, выходит за пределы нормы.

Возможно, что при сочетании ретената молочного и сливок, которые индивидуально не поддаются иммунофлуоресцентному анализу, могут формироваться композиции, способные обеспечить точный аналитический сигнал.

Анализ состава и pH ретената молочного показал, что для попадания в предполагаемые диапазоны допустимых значений ключевых показателей его достаточно приблизительно вдвое разбавить дистиллированной водой. В соответствии с этим были приготовлены пять образцов. По аналогии с пермеатом молочным, каждый

образец исследовали в двух вариантах – исходном (холостая проба) и контаминированном антибиотиками (контаминированная проба). Результаты исследования представлены в таблице 7.

Результат с использованием пробоподготовки показал отсутствие ложноотрицательных результатов, что указывает на условия расширения области применения иммунофлуоресцентного метода и на ретенат молочный.

В отношении сливок результаты предварительных исследований показали невозможность получения систем с адекватно выявляемыми антибиотиками простым разбавлением дистиллированной водой, либо комбинированием с СЦМ. Расчеты показали, что существует вероятность получения положительного отклика в системе, содержащей дистиллированную воду и смесь сливок с СЦМ. Это возможно при массовой доле дистиллированной воды от 35,0 до 90,0 %, а также при содержании сливок в смеси с СЦМ не менее 50,0 %.

Для экспериментальной верификации гипотезы подготовлены серии смесей сливок и СЦМ в диапазоне концентраций от 50,0 до 95,0 % с шагом 5,0 %. В качестве контроля взяты сливки без СЦМ (массовая доля сливок в смеси 100 %). При этом из каждого варианта, включая контроль, были приготовлены системы «смесь – вода» с массовой долей дистиллированной воды от 35,0 до 90,0 % с шагом 5,0 %. В силу многообразия вырабатываемых вариантов сливок, для исследований взяты сливки с массовой долей жира 10 и 35 %. Полученные результаты при использовании сливок с массовой долей жира 10 % приведены в таблицах 8–11.

Результаты исследований показали справедливость выдвинутых предположений как минимум для сливок с массовой долей жира 10 %. Положительный приборный отклик выявлен только в 17 из 132 исследованных вариантов. При этом среди данных вариантов большей массовой доле дистиллированной воды в системе «10 % сливки – СЦМ – вода» нелинейно соответствовала

большая массовая доля СЦМ. При большем разбавлении водой для положительного отклика требовалось большее присутствие СЦМ. Отметим, что остаточные количества антибиотиков в 10 % сливках были обнаружены при минимальном разбавлении смеси «10 % сливки – СЦМ» дистиллированной водой и минималь-

ном содержании СЦМ в этой смеси. Для данного вида сливок предельная массовая доля дистиллированной воды составляет не более 40,0 %, тогда как массовая доля СЦМ в смеси может быть менее 10,0 %. Результаты исследования 10 % сливок позволили увеличить верхнюю границу допустимого интервала массовой

Таблица 6. Отклик биоанализатора на наличие антибиотиков в контаминированных системах «СОМ – вода» и «СЦМ – вода»

Table 6. Response to antibiotics in contaminated systems: skim milk powder – water and whole milk powder – water

Компоненты системы, %		Система «СОМ – вода»				Система «СЦМ – вода»			
СОМ / СЦМ	Вода	Белки, %	Жиры, %	Сумма сухих веществ, %	рН, ед.	Белки, %	Жиры, %	Сумма сухих веществ, %	рН, ед.
15,0	85,0	5,00	0,14	14,41	6,53	3,51	3,79	14,95	6,49
14,5	85,5	4,82	0,12	13,91	6,55	3,39	3,63	14,47	6,53
14,0	86,0	4,62	0,18	13,45	6,56	3,29	3,53	13,92	6,53
13,5	86,5	4,45	0,17	12,95	6,58	3,13	3,42	13,46	6,57
13,0	87,0	4,30	0,18	12,43	6,56	3,05	3,25	12,98	6,55
12,5	87,5	4,13	0,15	11,96	6,60	2,90	3,16	12,44	6,57
12,0	88,0	3,99	0,14	11,53	6,62	2,83	2,99	11,94	6,59
11,5	88,5	3,82	0,14	11,02	6,61	2,69	2,91	11,44	6,59
11,0	89,0	3,68	0,15	10,59	6,65	2,56	2,78	11,00	6,61
10,5	89,5	3,46	0,11	10,06	6,66	2,48	2,61	10,47	6,64
10,0	90,0	3,32	0,10	9,58	6,67	2,38	2,47	9,96	6,67
9,5	90,5	3,16	0,13	9,09	6,70	2,23	2,38	9,49	6,69
9,0	91,0	2,96	0,13	8,61	6,71	2,11	2,27	8,94	6,69
8,5	91,5	2,80	0,11	8,19	6,72	1,95	2,15	8,49	6,70
8,0	92,0	2,65	0,05	7,64	6,75	1,89	1,98	7,98	6,73
7,5	92,5	2,46	0,11	7,18	6,76	1,73	1,92	7,45	6,75
7,0	93,0	2,28	0,05	6,68	6,81	1,66	1,75	7,00	6,79
6,5	93,5	2,15	0,05	6,20	6,80	1,52	1,65	6,47	6,81
6,0	94,0	2,02	0,04	5,72	6,83	1,42	1,50	6,02	6,85
5,5	94,5	1,86	0,06	5,31	6,86	1,26	1,36	5,50	6,87
5,0	95,0	1,63	0,04	4,82	6,90	1,17	1,27	4,99	6,91
4,5	95,5	1,47	0,04	4,30	6,94	1,02	1,12	4,47	6,92
4,0	96,0	1,31	0,03	3,85	6,97	0,90	0,99	3,97	6,94

Примечание: Жирным шрифтом отмечены варианты с положительным приборным откликом.

Note: Positive instrument responses are in bold.

Таблица 7. Отклик биоанализатора на отсутствие / наличие антибиотика в ретенате молочном (с учетом пробоподготовки) и приборного отклика

Table 7. Effect of sample preparation on response to antibiotic in milk retentate

Проба	Массовая доля, %			рН, ед.	Результат приборного анализа антибиотиков
	Белки	Жиры	Сумма сухих веществ		
Холостая	4,88	0,32	8,46	6,77	не обнаружено
Контаминированная					обнаружено
Холостая	4,82	0,21	8,36	6,78	не обнаружено
Контаминированная					обнаружено
Холостая	4,72	0,20	8,62	6,79	не обнаружено
Контаминированная					обнаружено
Холостая	5,28	0,19	9,78	6,78	не обнаружено
Контаминированная					обнаружено
Холостая	5,42	0,22	9,72	6,77	не обнаружено
Контаминированная					обнаружено

Таблица 8. Массовая доля белка в системе «10 % сливки – СЦМ – вода»

Table 8. Mass fraction of protein in 10% cream – whole milk powder – water

Смесь		Дистиллированная вода, % (м/м)											
Сливки, % (м/м)	СЦМ, % (м/м)	35,0	40,0	45,0	50,0	55,0	60,0	65,0	70,0	75,0	80,0	85,0	90,0
50,0	50,0	8,50	7,88	7,23	6,58	5,90	5,22	4,55	3,96	3,26	2,62	2,00	1,33
55,0	45,0	7,87	7,26	6,67	6,06	5,41	4,80	4,19	3,64	3,02	2,42	1,81	1,19
60,0	40,0	7,17	6,60	6,04	5,53	4,96	4,45	3,83	3,28	2,76	2,23	1,65	1,13
65,0	35,0	6,48	6,02	5,53	5,00	4,54	4,02	3,50	3,03	2,46	1,96	1,49	1,04
70,0	30,0	5,86	5,42	4,96	4,52	4,00	3,58	3,16	2,69	2,27	1,78	1,38	0,89
75,0	25,0	5,13	4,76	4,36	3,97	3,56	3,18	2,77	2,40	1,95	1,61	1,18	0,83
80,0	20,0	4,48	4,12	3,78	3,47	3,12	2,77	2,38	2,08	1,76	1,35	1,05	0,69
85,0	15,0	3,80	3,56	3,24	2,94	2,69	2,38	2,08	1,78	1,46	1,19	0,91	0,60
90,0	10,0	3,16	2,89	2,64	2,43	2,20	1,95	1,71	1,44	1,24	0,96	0,72	0,53
95,0	5,0	2,48	2,33	2,11	1,91	1,75	1,56	1,35	1,17	0,92	0,78	0,54	0,40
100,0	0	1,80	1,65	1,54	1,43	1,28	1,12	1,01	0,87	0,73	0,54	0,44	0,25

Примечание: Жирным шрифтом отмечены варианты с положительным приборным откликом.

Note: Positive instrument responses are in bold.

Таблица 9. Массовая доля жира в системе «10 % сливки – СЦМ – вода»

Table 9. Mass fraction of fat in 10% cream – whole milk powder – water

Смесь		Дистиллированная вода, % (м/м)											
Сливки, % (м/м)	СЦМ, % (м/м)	35,0	40,0	45,0	50,0	55,0	60,0	65,0	70,0	75,0	80,0	85,0	90,0
50,0	50,0	11,40	10,50	9,63	8,80	7,94	7,02	6,14	5,28	4,37	3,51	2,62	1,75
55,0	45,0	11,00	10,10	9,23	8,41	7,57	6,74	5,85	5,01	4,20	3,33	2,49	1,68
60,0	40,0	10,40	9,59	8,80	8,00	7,21	6,40	5,58	4,81	3,99	3,22	2,40	1,63
65,0	35,0	9,91	9,21	8,41	7,68	6,89	6,13	5,34	4,55	3,81	3,04	2,33	1,56
70,0	30,0	9,46	8,73	7,99	7,28	6,50	5,85	5,07	4,40	3,61	2,90	2,18	1,46
75,0	25,0	8,92	8,24	7,60	6,88	6,17	5,48	4,84	4,11	3,47	2,79	2,03	1,37
80,0	20,0	8,43	7,77	7,13	6,51	5,88	5,18	4,54	3,91	3,24	2,63	1,96	1,30
85,0	15,0	8,00	7,32	6,72	6,12	5,49	4,90	4,31	3,66	3,06	2,46	1,82	1,21
90,0	10,0	7,50	6,89	6,33	5,74	5,17	4,59	3,99	3,43	2,90	2,30	1,71	1,16
95,0	5,0	7,00	6,44	5,94	5,39	4,85	4,31	3,76	3,24	2,68	2,12	1,61	1,09
100,0	0	6,53	6,00	5,54	4,98	4,50	3,98	3,47	3,01	2,48	1,98	1,54	0,99

Примечание: Жирным шрифтом отмечены варианты с положительным приборным откликом.

Note: Positive instrument responses are in bold.

Таблица 10. Массовая доля сухих веществ в системе «10 % сливки – СЦМ – вода»

Table 10. Mass fraction of solids in 10% cream – whole milk powder – water

Смесь		Дистиллированная вода, % (м/м)											
Сливки, % (м/м)	СЦМ, % (м/м)	35,0	40,0	45,0	50,0	55,0	60,0	65,0	70,0	75,0	80,0	85,0	90,0
50,0	50,0	38,31	35,32	32,44	29,43	26,54	23,61	20,77	17,75	14,83	11,78	8,84	5,86
55,0	45,0	35,65	32,93	30,20	27,48	24,63	21,98	19,20	16,41	13,75	10,93	8,19	5,48
60,0	40,0	33,00	30,49	27,95	25,45	22,92	20,37	17,74	15,29	12,79	10,11	7,62	5,05
65,0	35,0	30,42	28,08	25,77	23,37	21,01	18,71	16,36	14,04	11,71	9,29	6,96	4,67
70,0	30,0	27,71	25,69	23,42	21,32	19,29	17,05	14,79	12,82	10,74	8,51	6,36	4,25
75,0	25,0	25,09	23,16	21,22	19,31	17,34	15,40	13,56	11,64	9,62	7,74	5,74	3,83
80,0	20,0	22,42	20,74	18,98	17,34	15,58	13,84	12,13	10,31	8,60	6,92	5,17	3,43
85,0	15,0	19,85	18,21	16,71	15,22	13,78	12,11	10,63	9,12	7,62	6,03	4,55	3,03
90,0	10,0	17,14	15,72	14,40	13,20	11,80	10,52	9,18	7,91	6,53	5,28	3,95	2,64
95,0	5,0	14,51	13,42	12,20	11,14	9,94	8,83	7,75	6,62	5,53	4,42	3,30	2,22
100,0	0	11,83	10,91	9,94	9,09	8,15	7,26	6,34	5,44	4,53	3,65	2,69	1,78

Примечание: Жирным шрифтом отмечены варианты с положительным приборным откликом.

Note: Positive instrument responses are in bold.

Таблица 11. pH в системе «10 % сливки – СЦМ – вода»

Table 11. pH in 10% cream – whole milk powder – water

Смесь		Дистиллированная вода, % (м/м)											
Сливки, % (м/м)	СЦМ, % (м/м)	35,0	40,0	45,0	50,0	55,0	60,0	65,0	70,0	75,0	80,0	85,0	90,0
50,0	50,0	6,19	6,2	6,24	6,27	6,32	6,35	6,43	6,47	6,54	6,62	6,73	6,88
55,0	45,0	6,23	6,26	6,28	6,31	6,36	6,39	6,46	6,54	6,58	6,68	6,78	6,90
60,0	40,0	6,24	6,28	6,31	6,36	6,39	6,43	6,48	6,56	6,62	6,70	6,81	6,93
65,0	35,0	6,29	6,32	6,39	6,39	6,46	6,49	6,53	6,61	6,66	6,73	6,86	6,96
70,0	30,0	6,36	6,38	6,44	6,46	6,49	6,54	6,61	6,66	6,71	6,80	6,89	7,01
75,0	25,0	6,41	6,46	6,48	6,52	6,55	6,58	6,65	6,70	6,75	6,83	6,93	7,05
80,0	20,0	6,46	6,50	6,52	6,56	6,60	6,65	6,71	6,76	6,83	6,89	6,97	7,05
85,0	15,0	6,55	6,56	6,60	6,62	6,67	6,73	6,77	6,80	6,88	6,93	7,03	7,11
90,0	10,0	6,64	6,67	6,69	6,74	6,77	6,82	6,86	6,89	6,93	6,99	7,09	7,14
95,0	5,0	6,73	6,76	6,82	6,82	6,86	6,89	6,93	6,97	7,05	7,10	7,15	7,20
100,0	0	6,92	6,95	6,94	6,99	7,02	7,06	7,07	7,09	7,13	7,17	7,24	7,29

Примечание: Жирным шрифтом отмечены варианты с положительным приборным откликом.

Note: Positive instrument responses are in bold.

доли жира до 6,44 %, чего не было получено только на молоке, пермеате и ретентате молочных.

В таблицах 12–15 представлены результаты аналогичного исследования системы с 35 % сливками.

Трехкомпонентные системы на основе 35 % сливок с высокими исходными значениями жирности характеризуются узким диапазоном допустимых значений массовых долей дистиллированной воды и СЦМ, при которых возможно применение иммунофлуоресцентного анализа для обнаружения остаточных количеств антибиотиков. В то же время на данном этапе исследования установлена возможность увеличения верхней границы допустимого интервала массовой доли сухих веществ до 13,51 %.

Поскольку значения pH и массовой доли белка не выходили за пределы установленных ранее диапазонов, незначительно увеличивалась только верхняя гра-

ница массовой доли сухих веществ, тогда как верхняя граница массовой доли жира значительно возрастала. С целью сокращения объемов исследования следующее выявление детализированных условий формирования трехкомпонентных систем на основе сливок проведено только в отношении массовой доли жира. Для 10 % сливок массовую долю дистиллированной воды в системе «смесь – вода» варьировали в диапазоне от 35,0 до 40,0 % с шагом 0,5 %, а массовую долю СЦМ в смеси – от 2 до 7 % с шагом 0,5 %. В случае с 35 % сливками массовую долю дистиллированной воды варьировали в пределах от 78,0 до 80,0 % с шагом 0,2 %, а массовую долю СЦМ в смеси – от 33,0 до 40,0 % с шагом 0,5 %. Результаты исследования представлены в таблицах 16 и 17.

Анализ данных показал, что даже в узком диапазоне изменений массовых долей дистиллированной воды

Таблица 12. Массовая доля белка в системе «35 % сливки – СЦМ – вода»

Table 12. Mass fraction of protein in 35% cream – whole milk powder – water

Смесь		Дистиллированная вода, % (м/м)											
Сливки, % (м/м)	СЦМ, % (м/м)	35,0	40,0	45,0	50,0	55,0	60,0	65,0	70,0	75,0	80,0	85,0	90,0
50,0	50,0	8,25	7,63	7,00	6,33	5,72	5,11	4,48	3,81	3,17	2,52	1,93	1,30
55,0	45,0	7,56	6,99	6,39	5,80	5,23	4,68	4,03	3,48	2,93	2,34	1,78	1,12
60,0	40,0	6,86	6,37	5,82	5,28	4,75	4,19	3,70	3,15	2,62	2,09	1,59	1,08
65,0	35,0	6,13	5,73	5,23	4,76	4,24	3,78	3,29	2,87	2,38	1,93	1,44	0,91
70,0	30,0	5,43	5,02	4,63	4,20	3,76	3,34	2,98	2,50	2,11	1,71	1,22	0,81
75,0	25,0	4,80	4,37	4,03	3,68	3,35	2,92	2,61	2,17	1,81	1,49	1,07	0,77
80,0	20,0	4,10	3,78	3,45	3,11	2,79	2,48	2,18	1,84	1,60	1,24	0,96	0,60
85,0	15,0	3,39	3,16	2,90	2,58	2,37	2,09	1,84	1,52	1,34	1,02	0,82	0,55
90,0	10,0	2,66	2,49	2,26	2,04	1,87	1,62	1,41	1,21	1,01	0,80	0,62	0,39
95,0	5,0	2,02	1,81	1,70	1,52	1,39	1,21	1,07	0,92	0,79	0,62	0,47	0,29
100,0	0	1,28	1,19	1,07	0,97	0,88	0,76	0,72	0,59	0,51	0,41	0,33	0,24

Примечание: Жирным шрифтом отмечены варианты с положительным приборным откликом.

Note: Positive instrument responses are in bold.

Таблица 13. Массовая доля жира в системе «35 % сливки – СЦМ – вода»

Table 13. Mass fraction of fat in 35% cream – whole milk powder – water

Смесь		Дистиллированная вода, % (м/м)											
Сливки, % (м/м)	СЦМ, % (м/м)	35,0	40,0	45,0	50,0	55,0	60,0	65,0	70,0	75,0	80,0	85,0	90,0
50,0	50,0	19,50	18,06	16,52	15,03	13,49	11,98	10,52	9,03	7,54	6,05	4,48	3,03
55,0	45,0	19,84	18,32	16,81	15,26	13,78	12,19	10,70	9,19	7,62	6,10	4,61	3,04
60,0	40,0	20,19	18,63	17,09	15,52	13,98	12,43	10,90	9,33	7,80	6,21	4,67	3,11
65,0	35,0	20,52	18,96	17,35	15,73	14,21	12,59	11,05	9,44	7,87	6,31	4,76	3,19
70,0	30,0	20,78	19,22	17,63	16,05	14,41	12,85	11,20	9,57	8,00	6,43	4,81	3,20
75,0	25,0	21,15	19,52	17,86	16,28	14,65	13,04	11,36	9,73	8,15	6,49	4,89	3,26
80,0	20,0	21,46	19,79	18,19	16,48	14,87	13,22	11,56	9,90	8,27	6,60	4,97	3,29
85,0	15,0	21,81	20,10	18,42	16,79	15,09	13,38	11,74	10,08	8,38	6,67	5,03	3,32
90,0	10,0	22,07	20,44	18,72	16,98	15,32	13,61	11,94	10,23	8,48	6,82	5,09	3,40
95,0	5,0	22,44	20,68	18,95	17,29	15,51	13,80	12,07	10,38	8,66	6,88	5,18	3,42
100,0	0	22,71	21,03	19,25	17,52	15,75	14,00	12,25	10,49	8,71	6,97	5,25	3,51

Примечание: Жирным шрифтом отмечены варианты с положительным приборным откликом.

Note: Positive instrument responses are in bold.

Таблица 14. Массовая доля сухих веществ в системе «35 % сливки – СЦМ – вода»

Table 14. Mass fraction of solids in 35% cream – whole milk powder – water

Смесь		Дистиллированная вода, % (м/м)											
Сливки, % (м/м)	СЦМ, % (м/м)	35,0	40,0	45,0	50,0	55,0	60,0	65,0	70,0	75,0	80,0	85,0	90,0
50,0	50,0	45,79	42,26	38,72	35,17	31,70	28,16	24,65	21,16	17,59	14,05	10,57	7,06
55,0	45,0	43,83	40,51	37,12	33,71	30,38	26,98	23,60	20,27	16,87	13,51	10,09	6,73
60,0	40,0	41,97	38,74	35,52	32,30	29,03	25,82	22,63	19,40	16,17	12,90	9,72	6,42
65,0	35,0	40,03	36,95	33,87	30,78	27,74	24,66	21,59	18,52	15,43	12,33	9,27	6,15
70,0	30,0	38,13	35,24	32,25	29,32	26,40	23,51	20,52	17,60	14,65	11,77	8,80	5,84
75,0	25,0	36,23	33,44	30,69	27,87	25,07	22,33	19,51	16,72	13,95	11,14	8,40	5,60
80,0	20,0	34,39	31,72	29,05	26,44	23,75	21,17	18,49	15,86	13,22	10,55	7,94	5,30
85,0	15,0	32,48	29,99	27,45	24,99	22,49	19,93	17,50	14,95	12,46	9,96	7,45	5,00
90,0	10,0	30,53	28,23	25,82	23,46	21,15	18,81	16,47	14,08	11,79	9,42	7,03	4,71
95,0	5,0	28,66	26,45	24,25	22,05	19,87	17,66	15,44	13,25	11,00	8,84	6,62	4,44
100,0	0	26,78	24,72	22,65	20,56	18,49	16,46	14,41	12,35	10,30	8,23	6,17	4,14

Примечание: Жирным шрифтом отмечены варианты с положительным приборным откликом.

Note: Positive instrument responses are in bold.

Таблица 15. Значение pH в системе «35 % сливки – СЦМ – вода»

Table 15. pH in 35% cream – whole milk powder – water

Смесь		Дистиллированная вода, % (м/м)											
Сливки, % (м/м)	СЦМ, % (м/м)	35,0	40,0	45,0	50,0	55,0	60,0	65,0	70,0	75,0	80,0	85,0	90,0
50,0	50,0	6,14	6,21	6,22	6,25	6,30	6,34	6,41	6,47	6,54	6,63	6,71	6,87
55,0	45,0	6,19	6,25	6,26	6,29	6,33	6,39	6,46	6,49	6,58	6,64	6,74	6,87
60,0	40,0	6,24	6,27	6,31	6,34	6,37	6,43	6,47	6,53	6,61	6,69	6,80	6,93
65,0	35,0	6,28	6,32	6,36	6,39	6,43	6,48	6,51	6,59	6,62	6,72	6,82	6,96
70,0	30,0	6,30	6,34	6,37	6,42	6,45	6,52	6,53	6,61	6,67	6,75	6,84	6,96
75,0	25,0	6,36	6,38	6,43	6,46	6,49	6,55	6,60	6,64	6,72	6,79	6,88	7,00
80,0	20,0	6,41	6,44	6,49	6,54	6,55	6,59	6,64	6,69	6,77	6,83	6,93	7,04
85,0	15,0	6,48	6,52	6,54	6,56	6,60	6,68	6,70	6,75	6,84	6,89	6,95	7,09
90,0	10,0	6,55	6,60	6,62	6,65	6,67	6,72	6,78	6,81	6,89	6,97	7,03	7,11
95,0	5,0	6,64	6,65	6,69	6,71	6,75	6,79	6,85	6,88	6,94	6,99	7,06	7,15
100,0	0	6,76	6,79	6,79	6,83	6,86	6,91	6,93	6,99	7,05	7,10	7,14	7,23

Примечание: Жирным шрифтом отмечены варианты с положительным приборным откликом.

Note: Positive instrument responses are in bold.

Таблица 16. Детализированная массовая доля жира в системе «10 % сливки – СЦМ – вода»

Table 16. Specified mass fraction of protein in 10% cream – whole milk powder – water

Смесь		Дистиллированная вода, % (м/м)										
Сливки, % (м/м)	СЦМ, % (м/м)	35,0	35,5	36,0	36,5	37,0	37,5	38,0	38,5	39,0	39,5	40,0
93,0	7,0	7,16	7,11	7,05	7,06	6,96	6,88	6,87	6,79	6,71	6,69	6,67
93,5	6,5	7,12	7,05	7,04	7,00	6,94	6,84	6,84	6,79	6,72	6,64	6,55
94,0	6,0	7,09	7,04	6,98	6,93	6,87	6,82	6,79	6,71	6,64	6,58	6,56
94,5	5,5	7,03	6,98	6,90	6,84	6,84	6,75	6,71	6,70	6,65	6,53	6,50
95,0	5,0	7,02	6,97	6,85	6,85	6,75	6,69	6,64	6,60	6,58	6,48	6,46
95,5	4,5	6,93	6,89	6,80	6,75	6,74	6,68	6,64	6,60	6,52	6,48	6,38
96,0	4,0	6,93	6,88	6,82	6,70	6,66	6,66	6,58	6,48	6,45	6,45	6,36
96,5	3,5	6,82	6,78	6,73	6,72	6,66	6,56	6,56	6,48	6,40	6,40	6,31
97,0	3,0	6,78	6,71	6,69	6,67	6,56	6,54	6,47	6,39	6,41	6,29	6,23
97,5	2,5	6,73	6,70	6,67	6,55	6,57	6,50	6,42	6,41	6,36	6,31	6,20
98,0	2,0	6,69	6,63	6,60	6,51	6,48	6,45	6,38	6,32	6,29	6,24	6,17

Примечание: Жирным шрифтом отмечены варианты с положительным приборным откликом.

Note: Positive instrument responses are in bold.

Таблица 17. Детализированная массовая доля жира в системе «35 % сливки – СЦМ – вода»

Table 17. Specified mass fraction of fat in 10% cream – whole milk powder – water

Смесь		Дистиллированная вода, % (м/м)										
Сливки, % (м/м)	СЦМ, % (м/м)	78,0	78,2	78,4	78,6	78,8	79,0	79,2	79,4	79,6	79,8	80,0
60,0	40,00	6,81	6,76	6,69	6,62	6,62	6,52	6,42	6,41	6,35	6,30	6,19
60,5	39,5	6,81	6,81	6,75	6,68	6,58	6,50	6,43	6,43	6,35	6,28	6,23
61,0	39,0	6,85	6,81	6,69	6,70	6,61	6,52	6,49	6,42	6,32	6,26	6,22
61,5	38,5	6,87	6,80	6,71	6,66	6,64	6,52	6,47	6,43	6,35	6,30	6,22
62,0	38,0	6,87	6,81	6,73	6,68	6,62	6,58	6,50	6,41	6,39	6,32	6,24
62,5	37,5	6,90	6,82	6,75	6,69	6,63	6,60	6,52	6,47	6,35	6,31	6,26
63,0	37,0	6,87	6,84	6,80	6,70	6,63	6,56	6,52	6,48	6,38	6,32	6,27
63,5	36,5	6,91	6,81	6,77	6,70	6,68	6,56	6,50	6,49	6,42	6,38	6,30
64,0	36,0	6,92	6,86	6,80	6,73	6,70	6,56	6,51	6,47	6,37	6,34	6,25
64,5	35,5	6,95	6,85	6,80	6,77	6,68	6,63	6,55	6,51	6,42	6,38	6,31
65,0	35,0	6,95	6,84	6,82	6,74	6,68	6,62	6,53	6,50	6,43	6,35	6,34
65,5	34,5	6,92	6,92	6,79	6,74	6,71	6,61	6,58	6,52	6,46	6,36	6,33
66,0	34,0	6,92	6,91	6,80	6,73	6,70	6,63	6,56	6,50	6,43	6,39	6,33
66,5	33,5	6,98	6,88	6,88	6,75	6,69	6,62	6,59	6,53	6,43	6,44	6,31
67,0	33,0	6,99	6,92	6,83	6,82	6,70	6,67	6,60	6,53	6,44	6,39	6,32

Примечание: Жирным шрифтом отмечены варианты с положительным приборным откликом.

Note: Positive instrument responses are in bold.

и СЦМ в трехкомпонентной системе на основе сливок, при уменьшении шага дискретизации, существует фундаментальная область соотношения компонентов. В этой области границы диапазонов, в которых достигается адекватный отклик, пересекаются. Предположительно, для получения адекватного приборного отклика иммунофлуоресцентного метода на наличие остаточных антибиотиков в трехкомпонентной смеси необходимо, чтобы степень разбавления исходных сливок дистиллированной водой и СЦМ превышала

определенный минимум. Также результаты исследования показали, что верхняя граница допустимого интервала массовых долей жира может быть увеличена до 6,80 %.

Для определения обобщенных границ допустимых интервалов варьирования ключевых факторов использованы результаты исследования статистической вариативности состава и рН пермеата и ретентата молочных, а также условие отсутствия ложноотрицательного приборного отклика (табл. 5, 7), поскольку в каждом

случае существовала вероятность отклонения экспериментальных значений от теоретических. Поэтому в качестве меры оценки в данном случае применяли плотность нормального распределения, а границы интервалов предварительно оценивались как значения массовой доли ключевого показателя, для которых вероятность попадания в эти границы составляла 95 %, охватывая все статистически возможные значения (рис. 1–4).

В результате проведенной оценки установлено, что предложенный подход являлся исчерпывающим для определения интервалов допустимого варьирования рН и массовой доли белка в образцах после пробоподготовки. В этом случае весь диапазон значений данных ключевых факторов разбивался строго на три области: 1 и 3 – ложноотрицательного отклика и 2 – адекватного отклика. Наложение интервалов, определенных для пахты и восстановленного молока, тре-

бует уменьшения нижней границы интервала. Это приводило к разделению диапазона как минимум на четыре области, причем адекватный отклик наблюдался как минимум в двух смежных областях – 2 и 3 (рис. 2, 3). Исследование молока, восстановленного из СЦМ, а также трехкомпонентных образцов на основе сливок позволили установить существование допустимого участка интервала выше верхней границы, определенной на основании статистического анализа пермеата и ретентата молочных (рис. 2, область 4). Такое усложнение общей картины указывало на степень комплексности влияния массовой доли сухих веществ на протекание реакции взаимодействия антитела с антигеном при иммунофлуоресцентном анализе. Проведенный анализ совокупности полученных результатов показал справедливость начального предположения об интегральном характере влияния ключевых показателей на приборный отклик.

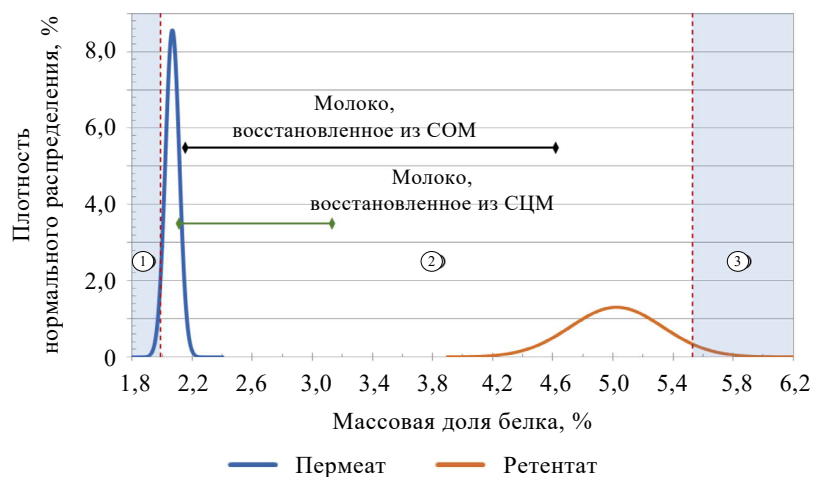


Рисунок 1. Плотность нормального распределения массовой доли белка в исследованных образцах

Figure 1. Density of normal distribution of protein mass fraction

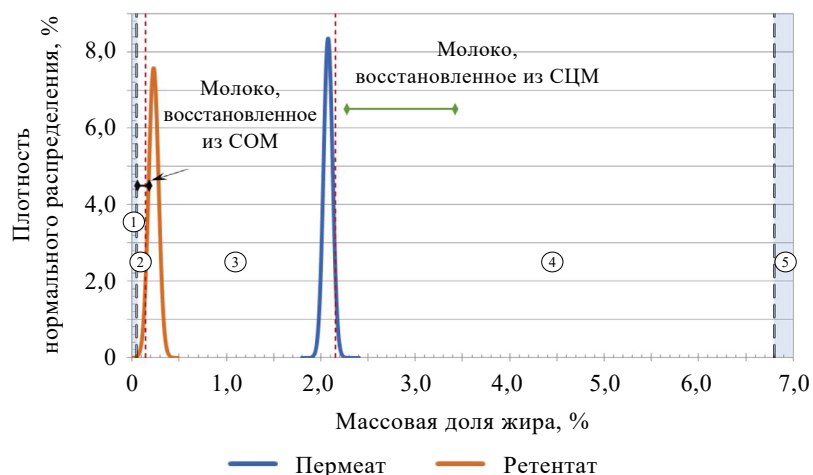


Рисунок 2. Плотность нормального распределения массовой доли жира в исследованных образцах

Figure 2. Density of normal distribution of fat mass fraction

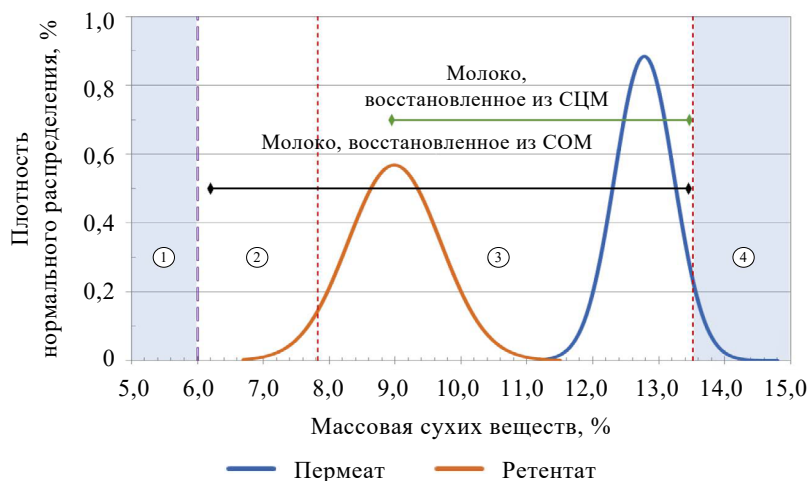


Рисунок 3. Плотность нормального распределения массовой доли сухих веществ в исследованных образцах

Figure 3. Density of normal distribution of solids mass fraction

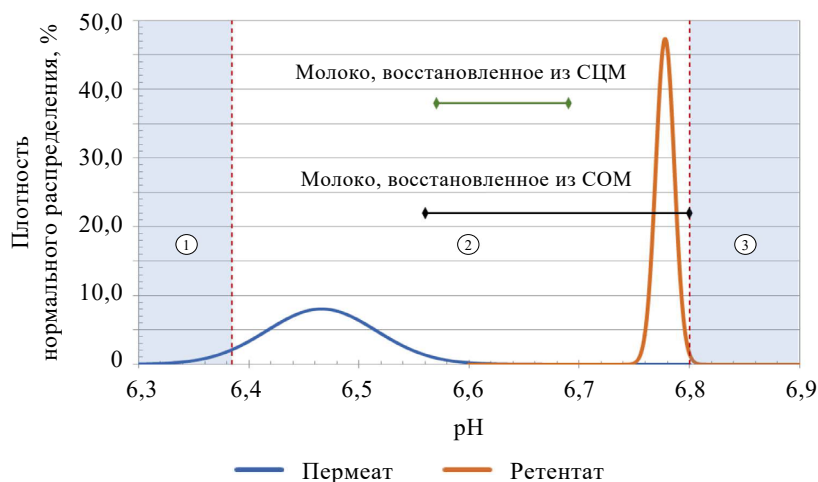


Рисунок 4. Плотность нормального распределения pH в исследованных образцах

Figure 4. Density of normal distribution of pH

Итоговые интервалы значений ключевых показателей, полученные в результате проведенного исследования: белок – 2,00–5,53 %, жир – 0,05–6,80 %, сухие вещества – 6,00–13,00 %, pH – 6,38–6,80. Выход за пределы интервала хотя бы одного из показателей были приняты как ложноотрицательный отклик.

Таким образом, допустимое множество всех возможных сочетаний значений ключевых показателей формируют собой область, ограниченную гиперкубом А в четырехмерном гиперпространстве Б с размерностями из значений показателей. Искрывающая проекция области гиперпространства Б, содержащей область гиперкуба А, на трехмерное пространство представлена на рисунке 5. Условием гарантии адекватного приборного отклика на наличие антибиотиков в исследуемых образцах являлось обеспечение попадания геометрического места точки, определяемого значениями ключевых факторов образца, в область занимаемую

гиперкубом А. Анализ соответствия этому условию выполнен по алгоритму, представленному на рисунке 6.

Несмотря на полную однозначность алгоритма и экспериментально подтвержденную применимость иммунофлуоресцентного метода для выявления остаточных антибиотиков в различных молочных продуктах (сырое и восстановленное цельное и обезжиренное молоко, пахта, пермеат и ретентат молочные, а также сливки), необходимо формализовать подход к пробоподготовке и получению образцов для анализа. В соответствии с полученными результатами можно утверждать, что в пермеате и ретентате молочных, а также СЦМ и СОМ в процессе пробоподготовки целесообразно готовить двухкомпонентные образцы, где пермеат молочный корректируется СЦМ, а остальные продукты – дистиллированной водой. Для анализа сливок процесс пробоподготовки должен быть двухэтапным: на первом этапе происходит введение

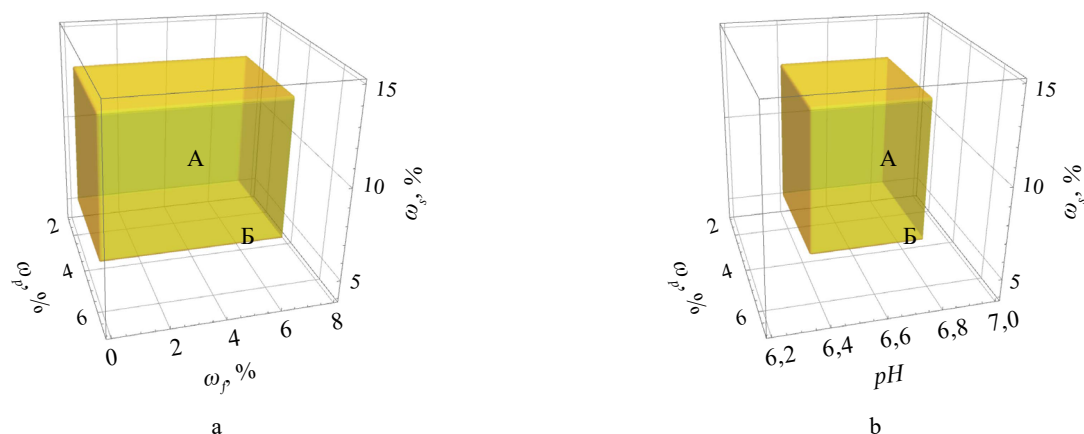


Рисунок 5. Область факторного пространства положительного отклика биоанализатора на присутствие антибиотиков (проекция а и б исчерпывающе дополняют друг друга)

Figure 5. Factor space of positive response to antibiotics: projections a and b complement each other

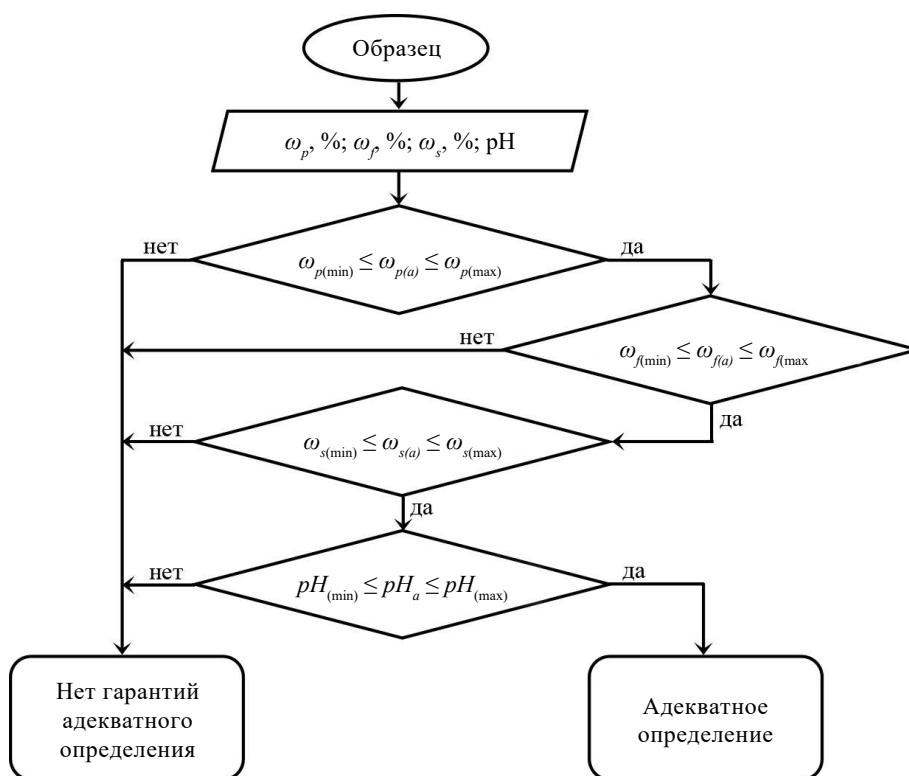


Рисунок 6. Алгоритм применимости образцов для выявления остаточных количеств антибиотиков иммунофлуоресцентным методом

Figure 6. Algorithm for detecting residual antibiotics by immunofluorescence

в сливки СЦМ, а на втором – разбавление полученной смеси дистиллированной водой.

Разработан алгоритм для анализа эффективности применения метода в объектах исследования, в рамках которого определены ключевые параметры и методики расчета, что позволило точно оценить целостность образцов. Вычислены фундаментальные интегральные пределы, характеризующие распределение компонен-

тов в системе, что предоставляло объективную оценку воздействия различных веществ на конечный результат анализа. Установлены верхняя и нижняя границы интервалов для распределения показателей, что обеспечивало корректность выделения и анализа смеси, например, водной фазы. Результаты демонстрируют высокую точность и надежность метода при определении количественных параметров в экспериментальных образцах,

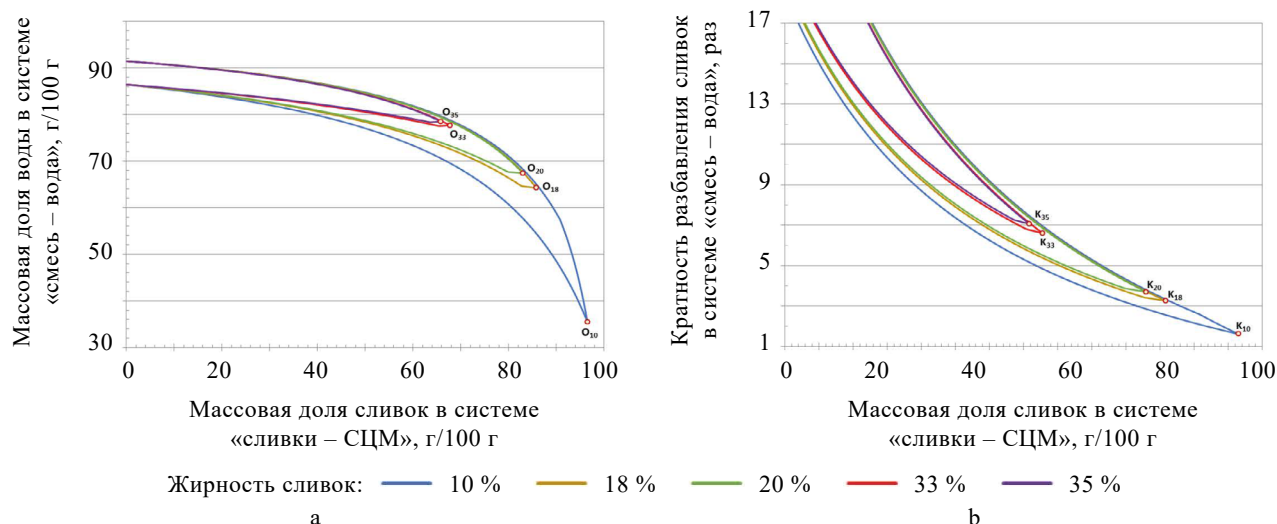


Рисунок 7. Области определения допустимых массовой доли дистиллированной воды (а) и степени разбавления (б) при пробоподготовке образцов сливок для выявления остаточных количеств антибиотиков иммунофлуоресцентным методом

Figure 7. Permissible mass fraction for distilled water (a) and dilution degree (b) in cream: ranges for detecting residual antibiotics by immunofluorescence

что подтверждалось сопоставлением с теоретическими значениями, подчеркивая его успешную адаптацию для практического использования в исследованиях, требующих высокой точности анализа сложных систем.

Рассчитанные границы и фундаментальные интегральные пределы разбавления и массовой доли дистиллированной воды для сливок жирностью 10, 18, 20, 33 и 35 % представлены на рисунке 7.

Анализ результатов расчетов показал, что следствием увеличения массовой доли жира в сливках являлось уменьшение допустимой области варьирования массовой доли дистиллированной воды для пробоподготовки образцов. При этом области, соответствующие более жирным сливкам, находились внутри областей, соответствующих сливкам с меньшим процентом жирности. Следствием этого являлась формальная возможность определения массовой доли, добавляемой к системе «сливки – СЦМ» дистиллированной воды, универсальной для сливок любой жирности. Необходимо учитывать, что увеличение добавляемой воды неизбежно приводило к увеличению степени разбавления, область допустимых значений которой также уменьшается с увеличением жирности сливок, демонстрируя аналогичный с массовой долей воды характер вложенности. В этой связи для нахождения оптимального соотношения компонентов для пробоподготовки образца на основе сливок необходимо в пределах области допустимых значений массовой доли дистиллированной воды (ω_w) для сливок с заданной жирностью выбрать значение массовой доли сливок в смеси «сливки – СЦМ» таким образом, чтобы ему соответствовал некоторый интервал в области значений ω_w , после чего на этом интервале следует выбрать прием-

лемое значение ω_w . При этом релевантная ему степень разбавления должна быть по возможности минимальной. Далее на основании выбранных значений ω_c и ω_w следовало, что для формирования смеси «сливки – СЦМ» к ω_c частям сливок необходимо прибавить $100 - \omega_c$ частей СЦМ, после чего к $100 - \omega_w$ частям смеси прибавить ω_w частей дистиллированной воды.

Рассмотренный подход автоматически обеспечит соответствие значений в образцах сливок после пробоподготовки рабочим интервалам ключевых показателей для корректной работы иммунофлуоресцентного метода.

Выводы

На основе проведенного комплексного исследования были получены значимые научные и практические результаты в области адаптации иммунофлуоресцентного метода определения антибиотиков для широкого спектра молочных продуктов. Исследование позволило оценить возможности мониторинга содержания антибиотиков в различных объектах с применением иммунохимического биоанализатора в пределах диапазона его характеристик. Ключевым достижением работы являлась разработка способа расчетного определения величины рН в образцах сухого цельного и сухого обезжиренного молока, что позволило прогнозировать оптимальные условия пробоподготовки. Данный подход существенно повышает эффективность и точность анализа. Экспериментальные данные продемонстрировали снижение концентрации целевых аналитов в образцах ретентата молочного, пермеата молочного и сливок при их разбавлении дополнительными компонентами. Это важное наблюдение указывало на то, что фактическая аналитическая чувствительность измерительного

оборудования может быть ниже заявленных метрологических характеристик, что необходимо учитывать при проведении анализов и интерпретации результатов.

Одно из главных достижений исследования – разработка многоэтапного эмпирического подхода к определению адекватных интервалов значений основных факторов (рН, массовые доли белка, жира и сухих веществ в образцах), позволяющих гарантировать отсутствие ложноотрицательных или ложноположительных откликов на наличие или отсутствие остаточных количеств ветеринарных препаратов. Данный подход предполагает одновременный учет значений факторов, что повышает точность и достоверность результатов.

В ходе исследования создан и экспериментально подтвержден универсальный алгоритм применимости иммунофлуоресцентного анализа для разных видов молочных продуктов, который может быть успешно адаптирован для определения остаточных количеств антибиотиков в различных молочных продуктах и продуктах их переработки, включая молоко, пахту, пермеат молочный, ретентат молочный и сливки.

Полученные результаты имеют важное практическое значение для молочной промышленности. Внедре-

ние предложенных методик и подходов позволит повысить стандарты безопасности молочных продуктов, что критически важно для здоровья потребителей и укрепления доверия к отрасли. Представленные научные достижения создают надежную методологическую основу для дальнейших исследований в области аналитического контроля качества молочной продукции.

Критерии авторства

Все авторы внесли эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

The authors contributed equally to this research and bear equal responsibility for any potential cases of plagiarism.

Conflict of interest

The authors state that there is no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Blasco C, Picó Y, Torres CM. Progress in analysis of residual antibacterials in food. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2007;26(9):895–913. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2007.08.001>
2. Durso LM, Cook KL. Impacts of antibiotic use in agriculture: What are the benefits and risks? *Current Opinion in Microbiology*. 2014;19:37–44. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2014.05.019>
3. Beyene T. Veterinary drug residues in food-animal products: Its risk factors and potential effects on public health. *Journal of Veterinary Science & Technology*. 2016;7(1):7. <https://doi.org/10.4172/2157-7579.1000285>
4. Liang G, Song L, Gao Y, Wu K, Guo R, *et al.* Aptamer sensors for the detection of antibiotic residues – A mini-review. *Toxics*. 2023;11(6):513. <https://doi.org/10.3390/toxics11060513>
5. Liu Y, Luo Y, Li W, Xu X, Wang B, *et al.* Current analytical strategies for the determination of quinolone residues in milk. *Food Chemistry*. 2024;430:137072. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137072>
6. Mottier P, Parisod V, Gremaud E, Guy PA, Stadler RH. Determination of the antibiotic chloramphenicol in meat and seafood products by liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2003;994(1–2):75–84. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(03\)00484-9](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(03)00484-9)
7. Lavrukina OI, Amelin VG, Kish LK, Tretyakov AV, Pen'kov TD. Determination of residual amounts of antibiotics in environmental samples and food products. *Journal of Analytical Chemistry*. 2022;77(11):1349–1385. <https://elibrary.ru/WAEUOR>
8. Tao X, Zhou S, Yuan X, Li H. Determination of chloramphenicol in milk by ten chemiluminescent immunoassays: Influence of assay format applied. *Analytical Methods*. 2016;8:4445–4451. <https://doi.org/10.1039/C6AY00792A>
9. Xu F, Ren K, Yang YZ, Guo JP, Ma GP, *et al.* Immunoassay of chemical contaminants in milk: A review. *Journal of Integrative Agriculture*. 2015;14(11):2282–2295. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(15\)61121-2](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(15)61121-2)
10. Свириденко Г. М. Проблемы организации системного контроля антибиотиков в молоке и молочных продуктах. *Молочная промышленность*. 2020. № 8. С. 8–12. [Sviridenko GM. Problems of organizing systemic control of antibiotics in milk and dairy products. *Dairy Industry*. 2020;(8):8–12. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/JWUGYE>
11. Coons AH, Creech HJ, Jones RN, Berliner E. The demonstration of pneumococcal antigen in tissues by the use of fluorescent antibody. *The Journal of Immunology*. 1942;45(3):159–170. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.45.3.159>
12. Coons AH, Kaplan MH. Localization of antigen in tissue cells. II. Improvements in a method for the detection of antigen by means of fluorescent antibody. *Journal of Experimental Medicine*. 1950;91(1):1–13. <https://doi.org/10.1084/jem.91.1.1>
13. Morgan CL, Newman DJ, Price CP. Immunosensors: Technology and opportunities in laboratory medicine. *Clinical Chemistry*. 1996;42(2):193–209. <https://doi.org/10.1093/clinchem/42.2.193>
14. Yin X, Liu S, Kukkar D, Wang J, *et al.* Performance enhancement of the lateral flow immunoassay by use of composite nanoparticles as signal labels. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2024;170:117441. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117441>