

Третьяков Алексей Викторович

**РАЗВИТИЕ МЕТОДОЛОГИИ ОБЕСПЕЧЕНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ И
ИДЕНТИФИКАЦИИ ПРОДУКЦИИ ЖИВОТНОГО
ПРОИСХОЖДЕНИЯ**

4.3.3 – Пищевые системы

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора технических наук

Москва – 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»)

Научный консультант: доктор технических наук
Семипятный Владислав Константинович

**Официальные
оппоненты:** **Топникова Елена Васильевна** – доктор технических наук, заместитель директора по научной работе, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН

Абрамова Любовь Сергеевна – доктор технических наук, профессор, заместитель директора Департамента по вопросам качества пищевой рыбной продукции Департамента технического регулирования, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии»

Абдуллаева Асият Мухтаровна – доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры биологии, ветеринарно-санитарной экспертизы и биобезопасности, ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)»

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева», г. Москва

Защита состоится «24» декабря 2026 г. в 10 часов 00 минут на заседании совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук 24.1.515.01 при ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» по адресу: 115093, г. Москва, ул. Люсиновская, д. 35, , конференц-зал.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности». Полный текст диссертации размещен в сети Интернет на официальном сайте ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» <http://www.vnimi.org>.

Автореферат разослан «__» _____ 2026 года.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат технических наук,
доцент

Т.С. Бычкова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Доктрина продовольственной безопасности Российской Федерации относит совершенствование мер контроля безопасности продукции животноводства к условиям гарантированного снабжения населения качественной и безопасной пищевой продукцией, а Федеральный закон «О качестве и безопасности пищевых продуктов» от 02.01.2000 № 29-ФЗ закрепляет приоритет задачи обеспечения качества пищевых продуктов и их безопасности для здоровья человека и будущих поколений. Решение этой задачи для продукции животного происхождения предполагает выявление остаточных количеств запрещенных и вредных веществ, оценку качества и безопасности сырья и готовой продукции и установление их фальсификации. В соответствии со Стратегией повышения качества пищевой продукции, утвержденной распоряжением правительства РФ №1364-р от 29.06.2016 г., обеспечение качества пищевой продукции является основой укрепления здоровья и увеличения продолжительности жизни населения.

Наибольшую опасность для потребителя представляют лекарственные средства ветеринарного применения, стимуляторы роста, пестициды с канцерогенными, генотоксическими и тератогенными эффектами, токсичные элементы и элементарноорганические соединения; перечень нормируемых загрязнителей расширяется по мере регистрации новых препаратов и агрохимикатов и выявления новых путей контаминации, в том числе из компонентов полимерных материалов. По данным государственной информационной системы «Веста» за 2020–2024 гг. в продукции животного происхождения зарегистрировано 6611 случаев превышения максимально допустимых уровней (МДУ) остаточных содержаний ветеринарных лекарственных средств по 14 фармакологическим группам и 7 видам продукции; 28,3 % выявлений приходится на фторхинолоны и 25,7 % на тетрациклины, наибольшее число выявлений относится к молоку и молочной продукции (2896) и продукции птицеводства (2177). Лабораторный контроль по схеме «скрининг – подтверждение» опирается на этапе скрининга на иммуноферментный анализ, для которого характерны недостаточная чувствительность на уровне следовых количеств, высокая стоимость импортных тест-систем и невозможность одновременной оценки содержаний соединений разной химической природы; подтверждающие методики по ГОСТ рассчитаны на одну группу аналитов и требуют построения матричных градуировочных зависимостей. Сочетание жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией и масс-спектрометрией высокого разрешения позволяет определять десятки и сотни аналитов из одной навески при минимальной пробоподготовке, а стандартизованные способы пробоподготовки в сочетании с доступными хроматографическими и спектральными методами дают возможность приблизить чувствительность рутинного контроля к чувствительности гибридных методов. Фальсификация продукции животного происхождения (имитированная икра, добавление

немолочных жиров в сливочное масло, занижение массовой доли молочного жира) создает дополнительную угрозу здоровью потребителя и требует методов установления происхождения сырья по элементному и изотопному профилю с хемометрической обработкой данных.

В связи с вышеизложенным развитие методологии обеспечения безопасности и идентификации происхождения продукции животного происхождения, объединяющей риск-ориентированный выбор аналитического метода по данным мониторинга и типовому суточному рациону питания человека, многокомпонентный скрининг образцов продукции с арбитражным подтверждением и выявление фальсификации сырья и готовой продукции, является актуальным направлением исследований в области пищевых систем.

Степень разработанности темы. Значительный вклад в развитие методологии химического анализа пищевой продукции и продовольственного сырья, многокомпонентного хромато-масс-спектрометрического определения загрязнителей и установления подлинности пищевых продуктов и обеспечение их безопасности внесли отечественные и зарубежные ученые: Амелин В.Г., Комаров А.А., Смирнов А.М., Соколова О.В., Толмачёва В.В., Юрова Е.А., Anastassiades M., Bai M., Campo J., Constantinou M., Gómez-Pérez M.L., Jia Q., Ibáñez M., Imamoglu H., Izzo L., Frenich A.G., Lehotay S.J., Manav Ö.G., Mazarakioti E.C., Pérez-Ortega P., Romero-González R., Xu X., Zhao L., Zhang Z. и др. Вместе с тем методы выбора аналитического метода контроля по данным государственного мониторинга и составу суточного рациона, а также унифицированные многокомпонентные методики без построения матричных градуировочных зависимостей для продукции животного происхождения систематизировано не разработаны.

Цель и задачи исследования. Целью работы являлось развитие методологии обеспечения безопасности и идентификации пищевой продукции животного происхождения на основе риск-ориентированного выбора аналитических методов, многокомпонентных хромато-масс-спектрометрических методик и хемометрических подходов к выявлению фальсификации сырья. Для достижения поставленной цели было необходимо решить следующие задачи:

1. Провести ретроспективный анализ данных государственного мониторинга об обнаружении загрязнителей в продукции животного происхождения, установить структуру выявлений ветеринарных лекарственных средств выше МДУ и сформировать справочник аналитов с медианными концентрациями и методами определения.

2. Разработать математическую модель выбора аналитического метода контроля загрязнителей продукции животного происхождения на основе типового суточного рациона и детерминированное решающее правило распределения аналитов между методами рабочего набора.

3. Усовершенствовать методологию определения хинолонов, сульфаниламидов, амфениколов, бисфенола А, диэтилстильбэстрола и общего мышьяка в продукции животного происхождения доступными

хроматографическими (ВЭЖХ-ДМД, ГХ-ЭЗД) и спектральными (ААС-ЭТА) методами.

4. Разработать новые подходы многокомпонентного скрининга и определения лекарственных средств ветеринарного применения, пестицидов, полициклических ароматических углеводородов и бисфенола А гибридными методами (ВЭЖХ-МС/МС и УВЭЖХ-МС-ВР с изотопным разбавлением, ГХ-МС-ВП, ГХ-МС/МС).

5. Разработать методические подходы к идентификации происхождения и выявлению фальсификации продукции животного происхождения по элементному профилю (МС-ИСП), изотопному составу углерода жирных кислот и данным цифровой цветометрии с хемометрической обработкой результатов.

6. Разработать алгоритм контроля нормируемых и ненормируемых на территории Российской Федерации загрязнителей продукции животного происхождения, включающий ретроспективный анализ данных мониторинга, скрининг, подтверждающий анализ и оценку риска контаминации.

7. Провести моделирование риска контаминации типового суточного рациона питания человека в условиях неопределенности и ранжировать продукты по контаминантной нагрузке.

8. Реализовать разработанные подходы в методических указаниях и национальных стандартах, внедрить их в практику государственного ветеринарного мониторинга и оценить результаты применения.

Научная новизна.

Разработана научная концепция, базирующаяся на методологии совершенствования контроля безопасности и идентификации продукции животного происхождения.

Проведены и формализованы данные государственного мониторинга обнаружения загрязнителей в продукции животного происхождения с использованием системного структурно-иерархического анализа.

Разработана математическая модель выбора аналитического метода контроля загрязнителей продукции животного происхождения, учитывающая детерминанты категорий опасности потенциальных загрязнителей и необходимость использования гибридных методов, в которой типовой суточный рацион рассматривается как пищевая система.

Развиты методологические подходы к одновременному определению ряда контаминантов, в частности, антибиотиков различных групп с единой пробоподготовкой в различных пищевых системах; бисфенола А и стильбенов в консервированной продукции; общего мышьяка в рыбе и морепродуктах с устранением занижения результатов стандартной схемы, обусловленного неполным разложением арсенобетаина.

Выявлены основные закономерности в элементном профиле для дифференциации натуральной и имитированной икры лососевых, осетровых и частиковых рыб; изотопного состава углерода $\delta^{13}\text{C}$ метиловых эфиров жирных кислот с трехзонной шкалой идентификации для выявления примеси говяжьего жира в сливочном масле; цветометрических характеристик

молочного жира для дифференциации продуктов с его различной концентрацией в рамках одномерной и многомерной схем хемометрической обработки данных и экспресс-контроля его массовой доли.

Предложен алгоритм контроля нормируемых и ненормируемых на территории Российской Федерации загрязнителей продукции животного происхождения, включающий ретроспективный анализ данных мониторинга с ранжированием аналитов программной моделью, многокомпонентный скрининг, подтверждающий анализ арбитражными методами и оценку риска контаминации с идентификацией новых потенциальных загрязнителей и выявлением фальсификации сырья.

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретическая значимость состоит в обосновании концепции выбора аналитического метода контроля по контаминантной нагрузке суточного рациона, объединяющей данные государственного мониторинга, категорию опасности загрязнителя, жесткость его нормирования и характеристики методов в детерминированное решающее правило; в формулировании принципов построения многокомпонентных методик (унифицированная пробоподготовка без твердофазной экстракции, изотопное разбавление с одним изотопно-меченым стандартом на класс соединений, количественный учет матричного эффекта) и критериев подлинности продукции животного происхождения по элементному и изотопному профилю.

Практическая значимость подтверждается внедрением риск-ориентированного подхода к планированию и проведению мониторинговых исследований в ФГБУ «ВГНКИ», охватывающих биоматериал, мясную, молочную, яичную продукцию, продукцию водного промысла и пчеловодства. Сформирован справочник обнаружений загрязнителей (819 аналитов 45 групп показателей с медианными концентрациями и методами определения), пригодный для актуализации программ мониторинга; программная модель сократила продолжительность ретроспективного анализа данных мониторинга с более чем 8 ч до 10 мин.

Разработанные подходы положены в основу 18 методических указаний и рекомендаций ФГБУ «ВГНКИ» 2022–2026 гг. (МУ А-1/073, МУ А-1/089, МУ А-1/090, МУ А-1/111, МУ А-1/113, МУ А-1/121, МУ А-1/145, МУ А-1/146, МУ А-1/147, МУ А-1/148, МУ А-1/149, МУ А-1/153, МУ А-1/164, МУ А-1/165, МУ А-1/170, МУ А-1/172, МР 111, МР 112), 6 методических указаний и рекомендаций ФГБУ «ВНИИЗЖ» 2010–2013 гг. (МР 76-09, МУ 77-09, МУ 80-09, МР 34-12, МР 35-12, МУ 20-13) и патента РФ № 2514828 С2, а также использованы при подготовке ГОСТ 31694, ГОСТ 32797, ГОСТ 32798, ГОСТ 32014 и ГОСТ 34533. С применением методик по этим стандартам за 2024 г. – I квартал 2026 г. в ходе мониторинга ФГБУ «ВГНКИ» выявлено 428 случаев превышения МДУ по антибиотикам тетрациклиновой группы, 367 по хинолонам, 297 по сульфаниламидам, нитроимидазолам, пенициллинам и амфениколам, 68 по метаболитам нитрофуранов и 17 по аминокликозидам. Методики внесены в область аккредитации испытательного центра ФГБУ «ВГНКИ» и лабораторий Федеральной службы по ветеринарному и

фитосанитарному надзору (Испытательный центр Донского филиала ФГБУ «ЦОК АПК», Филиал ФГБУ «ЦОК АПК» в Кабардино-Балкарской Республике, Испытательная лаборатория Волгоградского пункта Волгоградского филиала ФГБУ «ЦОК АПК», Тверской филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ», ФГБУ «НЦБРСП», Калининградский филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ», Новосибирский филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ», Кемеровский филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ», Саратовский филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ», Самарский филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ», Приморский филиал ФГБУ «НЦБРСП», ФГБУ «ВНИИЗЖ», Сахалинский филиал ФГБУ «НЦБРСП», ФГБУ «ЦОК АПК», Астраханский филиал ФГБУ «ЦОК АПК», филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ», Татарский филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ», Алтайский филиал ФГБУ «ЦОК АПК», Филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым, Башкирский филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ», Северо-Кавказский филиал ФГБУ «ЦОК АПК», Омский филиал ФГБУ «ЦОК АПК», Нижегородский филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ», Камчатский филиал ФГБУ «НЦБРСП», Забайкальский филиал ФГБУ «ЦОК АПК», Амурский филиал ФГБУ «НЦБРСП», Красноярский филиал ФГБУ «ЦОК АПК», Магаданский филиал ФГБУ «НЦБРП», Алтайский филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ», Челябинский филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ», Иркутский филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ», Краснодарская испытательная лаборатория ФГБУ «ВНИИЗЖ», Брянский филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ», Тульский филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ», Северо-западный филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ», Белгородский филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ», Оренбургский филиал ФГБУ «ЦОК АПК», ИЦНМВЛ ФГБУ «ВНИИЗЖ», Орловский филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ»).

Методология и методы исследования. Основные этапы работы выполнены в 2010–2026 гг. в лабораториях ФГБУ «Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ВГНКИ); часть исследований проведена на базе ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ВНИИЗЖ). Методология работы построена на последовательном выполнении пяти этапов: аналитический обзор научных публикаций и официальных данных о загрязнителях продукции животного происхождения; формулирование научной концепции, включающей идентификацию риска загрязнения, нулевую толерантность при отсутствии нормативных значений МДУ и обоснование разработки чувствительных и селективных методик; моделирование контаминации продукции и разработка модели выбора метода контроля; разработка аналитических методик; интегрирование полученных результатов в систему обеспечения безопасности продукции животного происхождения.

В работе использованы методы пробоподготовки (ускоренная экстракция растворителем, QuEChERS, дисперсионная и онлайн-твёрдофазная экстракция, дериватизация), хроматографические (ВЭЖХ-ДМД, ГХ-ЭЗД) и атомно-спектральные (ААС-ЭТА, МС-ИСП) методы, гибридные хромато-масс-спектрометрические методы (ВЭЖХ-МС/МС, УВЭЖХ-МС-ВР, ГХ-МС, ГХ-МС/МС), изотопная масс-спектрометрия, цифровая цветометрия, хемометрические методы (РСА, НСА, PLS) и математическое моделирование.

Результаты обрабатывали методами математической статистики при доверительной вероятности не ниже 0,95 с расчетом метрологических характеристик методик по ГОСТ Р ИСО 5725.

Положения, выносимые на защиту:

1. Математическая модель выбора аналитического метода контроля загрязнителей продукции животного происхождения на основе типового суточного рациона с детерминированным решающим правилом распределения аналитов между методами рабочего набора.

2. Методология определения загрязнителей продукции животного происхождения доступными хроматографическими и спектральными методами: ВЭЖХ-ДМД, ГХ-ЭЗД с дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракцией, ААС-ЭТА с модифицированной пробоподготовкой.

3. Методология многокомпонентного определения загрязнителей гибридными методами с изотопным разбавлением: ВЭЖХ-МС/МС (80 лекарственных средств), УВЭЖХ-МС-ВР (214), ГХ-МС-ВП (46 пестицидов и ПАУ), ГХ-МС/МС (бисфенол А).

4. Методические подходы к идентификации происхождения и выявлению фальсификации продукции животного происхождения по элементному, изотопному и цветометрическому профилю.

5. Алгоритм контроля нормируемых и ненормируемых загрязнителей продукции животного происхождения, включающий ретроспективный анализ данных мониторинга, скрининг, подтверждающий анализ и оценку риска контаминации.

Степень достоверности результатов. Достоверность результатов обеспечена применением поверенного и сертифицированного аналитического оборудования, сертифицированных стандартных образцов для контроля правильности определений, подтверждением правильности методик сопоставлением с независимым методом и стандартизованными методиками по ГОСТ и методическим указаниям, валидацией методик по международным требованиям и статистической обработкой результатов при доверительной вероятности 0,95 по ГОСТ Р ИСО 5725, а также проверкой устойчивости решающего правила модели к присвоенным категориям опасности и полным совпадением результатов программного расчета с ручным.

Апробация результатов исследования. Основные результаты диссертационной работы докладывались и получили одобрение на международных и всероссийских конференциях, съездах и семинарах: 5th International Symposium on Recent Advances in Food Analysis (Прага, 2011); IV и X Всероссийские конференции с международным участием «Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы» (Москва, 2011, 2023); XIX Менделеевский съезд по общей и прикладной химии (Волгоград, 2011); XVIII Международная научно-практическая конференция «Агропромышленный комплекс: состояние, проблемы, перспективы» (Пенза, 2023); XXVI Всероссийская конференция молодых ученых-химиков (Нижний Новгород, 2023); V Всероссийская конференция по аналитической спектроскопии (Краснодар, 2023); семинары «Контроль пищевых продуктов на содержание

вредных веществ антропогенного происхождения» в рамках выставки «Аналитика Экспо» (Москва, 2023, 2026); III Международная научно-практическая конференция «Социально значимые инфекции сельскохозяйственных животных: меры профилактики и борьбы» (Москва, 2024); Московский семинар по аналитической химии в Институте геохимии и аналитической химии им. В. И. Вернадского РАН (Москва, 2024); Международная научно-практическая конференция «Химия и АПК: актуальные вопросы и научные достижения» (Москва, 2024); XII съезд ВМСО и XI Всероссийская конференция «Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы» (Москва, 2025) и др.

Личный вклад соискателя. Диссертационная работа выполнена автором самостоятельно и является результатом многолетних научных исследований. Автором лично определены актуальность, цель и задачи, сформулирована концепция, обоснованы объекты и методы исследований; получены и обобщены теоретические и экспериментальные данные, разработана модель выбора аналитического метода, сформулированы основные результаты и выводы. Автор принимал непосредственное участие в разработке методических указаний и национальных стандартов и во внедрении результатов в практику лабораторного контроля.

Соответствие паспорту научной специальности. Диссертационная работа соответствует пунктам 15, 16, 17, 19 паспорта научной специальности 4.3.3 «Пищевые системы» (технические науки).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 40 печатных работ, в том числе 1 статья в научных журналах, индексируемых в международных базах данных Web of Science и Scopus; 13 статей в научных журналах, рекомендованных ВАК; 9 статьи в материалах научных конференций и научных журналах, индексируемых в Российском индексе научного цитирования (РИНЦ), 14 статей в изданиях из Единого государственного перечня научных изданий, 1 учебное пособие, 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ и 1 патент на изобретение.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, 7 глав, основных результатов и выводов, списка использованных источников (248 наименований) и приложений. Основной текст изложен на 243 страницах, содержит 40 таблиц и 43 рисунка.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность диссертационной работы, сформулированы цель и задачи, представлены научная новизна и практическая значимость, изложены основные положения, выносимые на защиту.

В первой главе представлен аналитический обзор научных сведений и данных контрольно-надзорных ведомств о загрязнителях продукции животного происхождения и тенденциях развития методов определения их остаточных содержаний. Проанализированы структура нормируемых

загрязнителей (лекарственные средства ветеринарного применения, пестициды, токсичные элементы, гормоны, полихлорированные бифенилы, диоксины, природные токсины) и пути контаминации продукции, в том числе из компонентов упаковочных материалов. Показано, что действующая схема лабораторного контроля «скрининг – подтверждение» ограничена возможностями иммуноферментного анализа и групповых подтверждающих методик, а данные многолетнего государственного мониторинга не используются для приоритизации загрязнителей и выбора аналитических методов. Выявлено, что основными направлениями развития научно-методической базы контроля являются методики многокомпонентного анализа гибридными хромато-масс-спектрометрическими методами и стандартизованные процедуры выявления фальсификации с хемометрической обработкой данных. По итогам главы сформулированы концепция, цель и задачи исследований.

Во второй главе представлены методология, объекты и методы исследований. Общая схема исследований приведена на Рисунке 1.

При разработке научной концепции за основу принят постулат о приоритетности задачи обеспечения качества пищевых продуктов и их безопасности для здоровья человека и будущих поколений в соответствии с Федеральным законом «О качестве и безопасности пищевых продуктов» от 02.01.2000 № 29-ФЗ. Обеспечение качества и безопасности пищевой продукции предполагает решение трех задач: выявление остаточных количеств запрещенных и вредных веществ; оценку качества и безопасности продукции и сырья; установление их фальсификации. Наибольшую опасность для здоровья потребителя представляют лекарственные средства ветеринарного применения, стимуляторы роста, отдельные пестициды с канцерогенными, генотоксическими и тератогенными эффектами, токсичные элементы и токсичные элементоорганические соединения. При отсутствии нормативных значений максимально допустимого уровня ксенобиотиков нижняя граница определяемых содержаний загрязнителя задается чувствительностью методики.

Объектами исследований являлась продукция животного происхождения: мясо птицы по ГОСТ 31962–2013; говядина по ГОСТ 31799–2012; свинина по ГОСТ 31778–2012; молоко и молочные продукты по ГОСТ 31450–2013; яйца по ГОСТ 31654–2012; мед по ГОСТ 19792–2017; рыба по ГОСТ 32366–2013; а также другие молочные и мясные продукты, полуфабрикаты, нерыбные объекты промысла и икра по техническим условиям и СТО производителей. Отбор образцов проводили по ГОСТ 7269–2015, ГОСТ 26809.1–2014 и ГОСТ 26809.2–2014.

Пробоподготовка включала удаление белков и обезжиривание; применяли ускоренную экстракцию растворителем (ASE), метод QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe) и онлайн-твердофазную экстракцию, для очистки экстрактов использовали дисперсионную твердофазную экстракцию (ДТФЭ). При определении антибиотиков методом ВЭЖХ-ДМД пробоподготовку QuEChERS проводили с ацетонитрилом

(Merck, Германия) и муравьиной кислотой (Carl Roth, Германия), экстракты очищали сорбентами Bondesil-PSA и C18 (Varian, США; Supelco, США); при определении бисфенола А и диэтилстильбэстрола экстракцию дополняли дериватизацией трифторуксусным ангидридом и триэтанол амином (Merck, Германия). Пробоподготовку рыбы и морепродуктов для определения токсичных элементов проводили минерализацией в системах Milestone Ultraclave и Milestone EthosUp (Milestone, Италия).

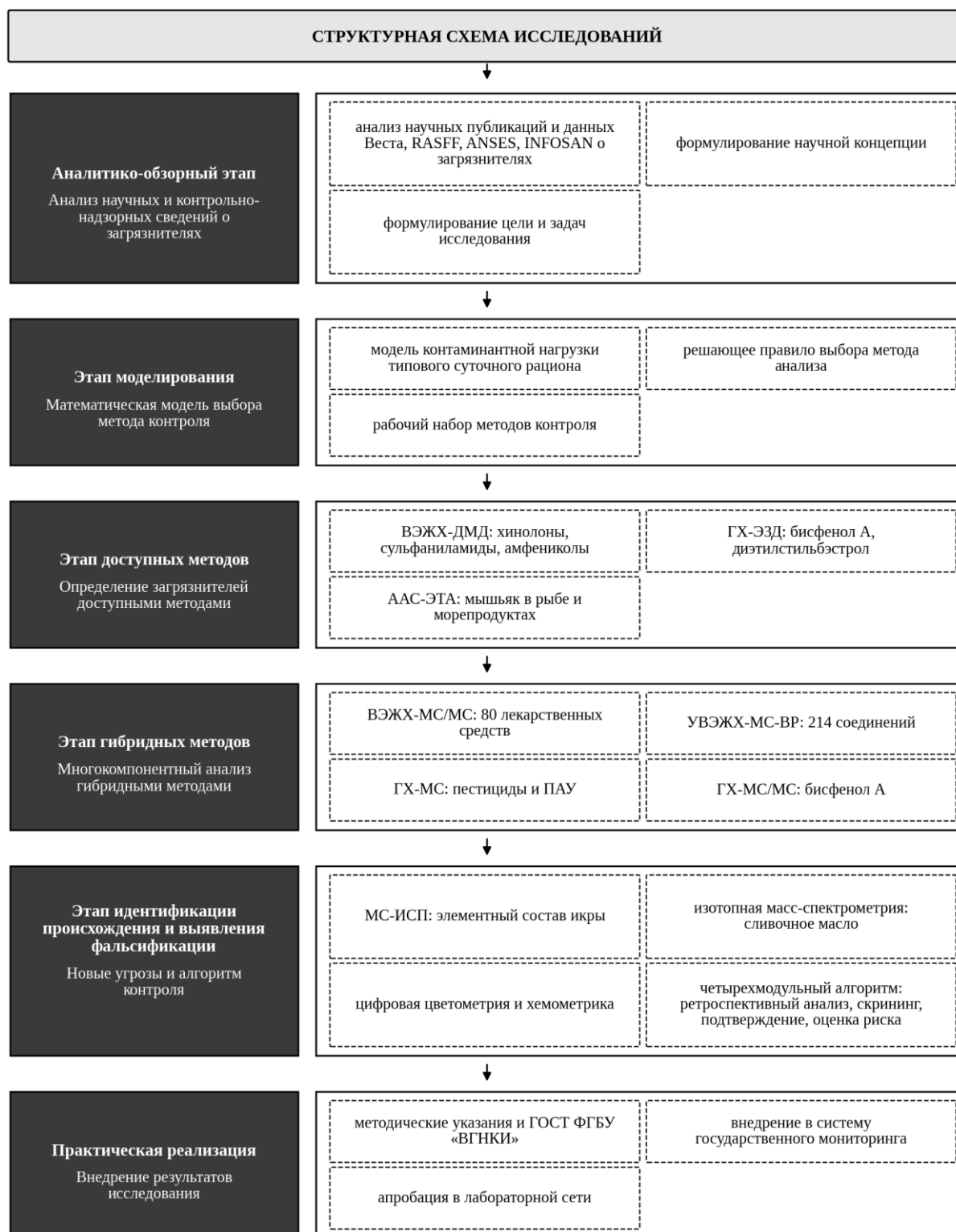


Рисунок 1 – Структурная схема исследований

Остаточные количества антибиотиков (хинолонов, сульфаниламидов, амфениколов) определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектированием (ВЭЖХ-ДМД) на хроматографе Flexar DAD (PerkinElmer, США) с колонкой SUPELCOSIL LC-18 ($250 \times 4,6$ мм, 5 мкм; Sigma-Aldrich, США) при длине волны 280 нм для хинолонов, сульфаниламидов и хлорамфеникола и 228 нм для тиамфеникола и флорфеникола; использовали стандартные образцы сульфаниламида и оксолиновой кислоты (Dr. Ehrenstorfer GmbH, Германия).

Бисфенол А и диэтилстильбэстрол определяли методом газовой хроматографии с электрозахватным детектированием (ГХ-ЭЗД) на хроматографе Clarus-600 (PerkinElmer, США) с кварцевой капиллярной колонкой Rtx-CLPesticides ($30 \text{ м} \times 0,32$ мм; Merck, Германия) при температуре колонки 120–310 °С и температуре детектора 300 °С; использовали стандартные образцы бисфенола А (Aldrich, США) и диэтилстильбэстрола (Dr. Ehrenstorfer GmbH, Германия).

Токсичные элементы определяли методами атомно-абсорбционной спектроскопии с электротермической атомизацией (ААС-ЭТА) на спектрометре AA280Z (Varian, Австралия) и масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (МС-ИСП) на приборе Agilent 7900 (Agilent, США); правильность контролировали по стандартным образцам SRM 1566b (NIST, США) и DOLT-2 (NRCC, Канада).

Многокомпонентное определение остаточных содержаний лекарственных средств ветеринарного применения проводили гибридными хромато-масс-спектрометрическими методами. Антибиотики (тетрациклины, макролиды, линкозамиды, плевомутилины, сульфаниламиды, пенициллины, нитроимидазолы, амфениколы, хинолоны) и β -агонисты определяли методом ВЭЖХ-МС/МС на хроматографе 1290 Infinity II LC System (Agilent, США) с трехквадрупольным масс-спектрометром QTrap 5500 (Sciex, Канада) в режиме мониторинга множественных реакций; концентрацию рассчитывали методом изотопного разбавления с дейтерированными внутренними стандартами. Расширенный перечень лекарственных средств определяли методом УВЭЖХ-МС-ВР на хроматографе UltiMate 3000 (Thermo Scientific, США) с масс-спектрометрами maXis Impact и maXis 4G (Bruker Daltonics, Германия). Пестициды определяли методом газовой хроматографии с времяпролетным масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС-ВП) на хроматографе Agilent 6890N с детектором Micromass GCT Premier ToF MS (Waters, Великобритания). Бисфенол А определяли методом ГХ-МС/МС на хроматографе Shimadzu GCMS-QP2020 (Shimadzu, Япония).

Идентификацию происхождения продукции и выявление фальсификации молочных продуктов проводили методом изотопной масс-спектрометрии на приборе Delta V (Thermo Fisher Scientific, США) с приставкой GC Isolink II в программе Isodat 3.0, используя стандартный образец BCR 656 ($\delta^{13}\text{C} = -26,91$ ‰), а также методом МС-ИСП на приборе Agilent 7900 со стандартным образцом SRM 3280 (NIST, США). Массовую долю молочного жира для выявления фальсификации определяли методом

цифровой цветометрии: пробы фотографировали в боксах с УФ-светодиодной матрицей SHL0020UV (390 нм) в лунках планшетов для иммуноферментного анализа (SPL, Корея) смартфоном Samsung SM-A715F с приложением PhotoMetrix PRO; данные обрабатывали хемометрическими методами главных компонент (PCA), наименьших квадратов (LSA), регрессии на основе частичных наименьших квадратов (PLS) и иерархического кластерного анализа (HCA).

Результаты обрабатывали методами математической статистики при доверительной вероятности не ниже 0,95. Пределы обнаружения и количественного определения устанавливали при валидации методик по требованиям IUPAC. Пределы повторяемости, воспроизводимости и границы абсолютной погрешности рассчитывали по ГОСТ Р ИСО 5725–2002 (части 1–6). Статистическую обработку и визуализацию данных проводили методами матричной алгебры в программе Microsoft Excel.

В третьей главе представлена математическая модель выбора аналитического метода контроля загрязнителей продукции животного происхождения, связывающая состав суточного рациона питания, фактические данные об обнаружении загрязнителей в продукции и характеристики аналитических методов в единую расчетную схему.

В основу модели положен принцип риск-ориентированного контроля, применяемый в международной практике обеспечения пищевой безопасности, в том числе в рекомендациях Codex Alimentarius: ресурсы лабораторной сети сосредотачиваются на приоритетных загрязнителях с учетом опасности групп показателей и фактического уровня их обнаружения. Приоритетность метода задана сочетанием трех факторов: токсикологической опасностью группы показателей, жесткостью ее нормирования и фактическим уровнем обнаружения аналита в продуктах суточного рациона. Рацион рассматривается моделью как пищевая система, состав которой определяет подмножество аналитов, подлежащих расчету; отнесение аналита к методу от рациона не зависит и определяется группой показателей, категорией ее опасности и жесткостью норматива. Рабочий набор методов задан до расчета и образован методами, техническими возможностями которых располагает лабораторная сеть; модель распределяет между ними аналиты справочника и определяет ожидаемую нагрузку на каждый метод.

Модель реализована в виде интерактивной программы, позволяющей задавать произвольный рацион и получать оценку контаминантной нагрузки и рекомендуемый набор методов ее контроля в режиме реального времени.

Информационной основой модели послужили данные об обнаружении загрязнителей в продовольственном сырье и продукции животного происхождения, аккумулированные в государственной информационной системе «Веста» за 2020–2025 гг. в объеме 54 597 записей по лекарственным средствам для животных и пестицидам. На основе выгрузок сформирован справочник из 819 аналитов, объединенных в 45 групп показателей безопасности; для каждого зафиксированы группа, метод определения по

данным лабораторной практики и медианная концентрация обнаружения, приведенная к единым единицам измерения (мкг/кг).

Типовой суточный рацион представлен четырнадцатью продуктами животного и растительного происхождения по трем приемам пищи: завтраку, обеду и ужину; наряду с продукцией животного происхождения включены хлеб и злаки, виноград, яблоки, томаты, картофель и чай, формирующие часть нагрузки по пестицидам. Для каждого продукта заданы размер порции и набор анализов, по которому ведется расчет (Таблица 1).

Таблица 1 – Продукты рациона, размеры порций и число учитываемых анализов

Продукт	Порция, г	Анализ
Молоко	200	248
Куриное мясо	150	168
Хлеб / злаки	100	141
Колбаса / сосиски	100	85
Говядина	150	82
Виноград	100	81
Прочие продукты (яйца, мед, рыба, свинина, чай, томаты, яблоки, картофель)	3–200	42–79

Расчет выполняется как последовательность операций, применяемая к каждому анализу каждого продукта рациона: формирование перечня анализов по справочнику, извлечение исходной медианной концентрации, ее последовательная коррекция, расчет поступления с суммированием по блюдам трех приемов пищи, сопоставление с нормативом и выбор оптимального метода по решающему правилу. Исходная медианная концентрация аналита $C_{i(0)}$ последовательно корректируется тремя мультипликативными коэффициентами по формуле (1):

$$C_{i \text{ корр}} = C_{i(0)} \cdot k_{\text{ф}} \cdot k_{\text{л}} \cdot k_{\text{т}} \quad (1)$$

где $C_{i \text{ корр}}$ – скорректированная концентрация аналита i , мкг/кг; $C_{i(0)}$ – исходная медианная концентрация аналита по данным справочника, мкг/кг; $k_{\text{ф}}$ – коэффициент фальсификации сырья; $k_{\text{л}}$ – коэффициент технологической лабильности; $k_{\text{т}}$ – коэффициент аналитической точности метода определения.

Поступление аналита с одной порцией продукта определяется по формуле (2):

$$m_i = C_{i \text{ корр}} \cdot M_{\text{порц}} / 1000 \quad (2)$$

где m_i – поступление аналита i с порцией продукта, мкг; $M_{\text{порц}}$ – масса порции продукта, г. Суммарное суточное поступление аналита складывается из поступлений со всеми блюдами рациона по формуле (3):

$$M_{i \text{ сут}} = \sum_j m_{i,j} \quad (3)$$

где суммирование ведется по всем блюдам j рациона, содержащим аналит i . Относительная контаминантная нагрузка аналита выражена долей от максимально допустимого уровня (МДУ) по формуле (4):

$$D_i = C_{i \text{ корр}} / \text{МДУ}_i \cdot 100 \% \quad (4)$$

где D_i – доля скорректированной концентрации анализита i от МДУ_i , %. Показатель D_i представляет собой отношение скорректированной концентрации к максимально допустимому уровню и не является оценкой суточной экспозиции: размер порции входит и в числитель, и в знаменатель этого отношения и сокращается, поэтому D_i служит признаком приоритетности анализита и метода его определения; мерой суточной дозы этот показатель не является.

Категория опасности группы показателей по канцерогенным и генотоксическим свойствам задана по методике категорирования ветеринарных препаратов: к высшей отнесены группы с обоими свойствами, к средней – только с канцерогенными, к базовой – группы без них. Из 819 анализитов справочника 137 отнесены к высшей категории (амфениколы, нитрофураны, нитроимидазолы и другие), 60 – к средней (стильбены, кортикостероиды, токсичные элементы), 613 – к базовой (тетрациклины, хинолоны, пестициды и другие), 9 – не классифицированы. Устойчивость результата к присвоенным категориям проверена перебором: исход решающего правила зависит от категории лишь двух групп показателей из 45 (хинолонов и сульфаниламидов); для остальных групп изменение категории не меняет выбор метода, поскольку они распределяются по признаку физико-химической природы, проверяемому решающим правилом раньше.

Норматив МДУ задан для каждого анализита на основе требований технических регламентов Таможенного союза и рекомендаций Codex Alimentarius; для веществ, запрещенных к применению в продуктивном животноводстве, норматив устанавливается на уровне предела обнаружения метода, принятого в модели равным 0,3 мкг/кг; при отсутствии индивидуального норматива используется обобщенное значение по группе показателей. Корректирующие коэффициенты приведены в Таблице 2.

Выбор оптимального метода определения для каждого анализита выполняется детерминированным решающим правилом, построенным как последовательность приоритетных условий (Рисунок 2). Токсичные элементы, мышьякорганические соединения и радионуклиды отнесены к атомно-абсорбционной спектроскопии или масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ААС / МС-ИСП); газохроматографируемые классы (пестициды, фосфорорганические и хлорорганические соединения, карбаматы, пиретроиды, полициклические ароматические углеводороды, диоксины, полихлорированные бифенилы, бенз[а]пирен, нитрозамины и производные бензоилмочевины) отнесены к газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС); анализиты высшей категории опасности, вещества с МДУ не более 1 мкг/кг и группы нитрофуранов, нитроимидазолов и красителей отнесены к жидкостной хроматографии с tandemным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС); разрешенные к применению хинолоны и сульфаниламиды с высоким нормативом отнесены к высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ); все остальные группы отнесены к ВЭЖХ-МС/МС завершающим условием правила.

Таблица 2 – Диапазоны корректирующих коэффициентов модели

Коэффициент	Диапазон значений	Группы показателей / условия
k_d , технологической лабильности	0,10–0,80 (для сырого продукта – 1,00)	минимален для нитрофуранов при жарке (0,10), максимален для хинолонов и антигельминтиков при варке (0,80)
k_f , фальсификации сырья	1,5–10,0 (для прочих групп – 2,0)	минимален для нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) и пиретроидов (1,5), максимален для хинолонов (10,0)
k_t , аналитической точности метода	1,0–1,3	1,0 для хромато-масс-спектрометрических и атомно-спектральных методов; 1,1 для тонкослойной хроматографии и спектрометрии; 1,3 для иммуноферментного анализа

Работу расчетной схемы иллюстрируют два примера с противоположными исходами решающего правила. Метронидазол (нитроимидазолы), обнаруженный в курином мясе (150 г, жарка) с медианной концентрацией 14,9 мкг/кг, относится к высшей категории опасности и запрещен к применению; его норматив принят на уровне сценарного значения 0,3 мкг/кг. Скорректированная концентрация без учета фальсификации составляет 2,98 мкг/кг, доля от норматива – 993 %, то есть норматив превышен почти в десять раз; аналит отнесен к методу ВЭЖХ-МС/МС. С учетом фальсификации сырья доля от норматива возрастает до 7947 %, что усиливает приоритетность аналита, не меняя выбора метода.

Сульфаметазин (сульфаниламиды), обнаруженный в свинине (150 г, жарка) с медианной концентрацией 130,2 мкг/кг, относится к базовой категории опасности и разрешен к применению; его норматив составляет 100 мкг/кг. Скорректированная концентрация без учета фальсификации составляет 78,12 мкг/кг, доля от норматива – 78,1 %, то есть норматив не превышен; аналит отнесен к методу ВЭЖХ. С учетом фальсификации сырья доля от норматива достигает 195,3 %, что переводит аналит в число приоритетных. Метронидазол при концентрации 14,9 мкг/кг отнесен к гибриднему методу, тогда как сульфаметазин при концентрации почти на порядок более высокой (130,2 мкг/кг) остается в компетенции простого метода: решающее правило разделяет аналиты по категории опасности и жесткости нормирования, а величина обнаруженной концентрации на выбор метода не влияет.

Применение решающего правила ко всем 819 аналитам справочника распределило их между четырьмя методами рабочего набора (Таблица 3).

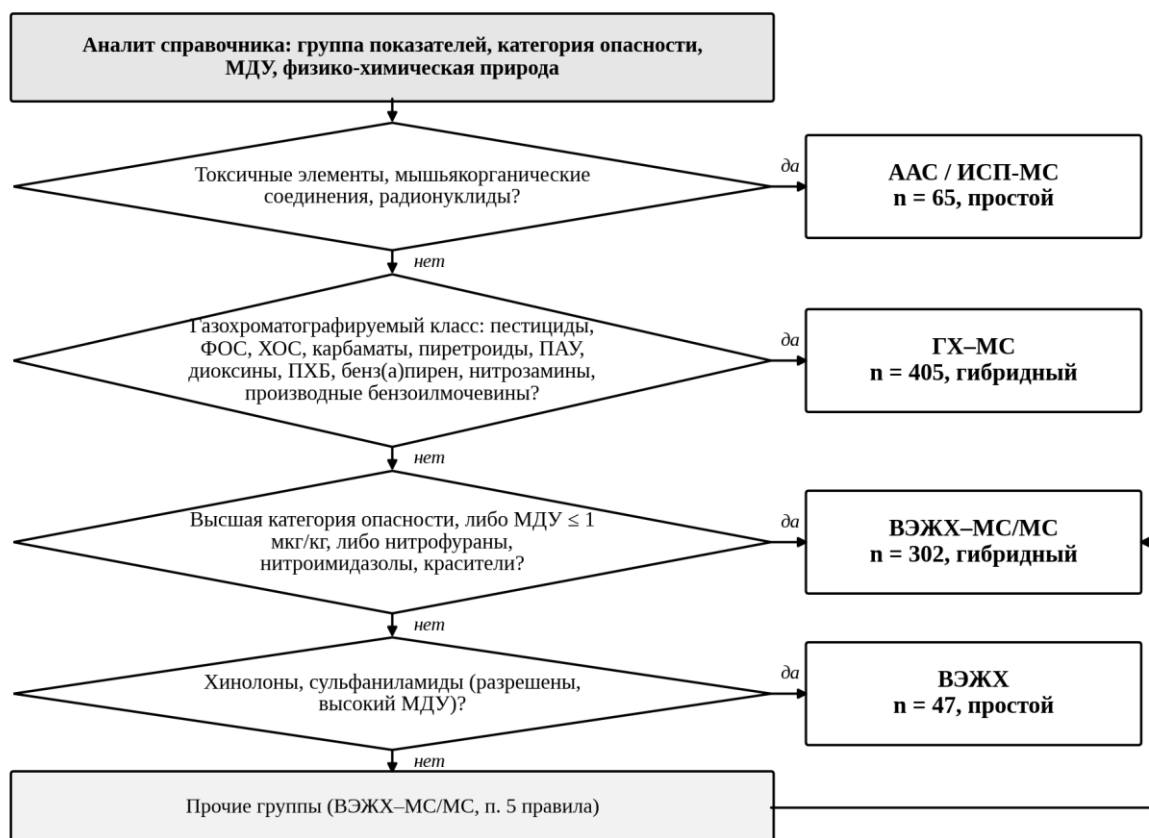


Рисунок 2 – Решающее правило выбора метода определения аналита

На гибридные хромото-масс-спектрометрические методы приходится 86,3 % аналитов справочника, на простые хроматографические и спектральные методы – 13,7 %. Четырнадцать методов, фактически применяемых лабораторной сетью, включая иммуноферментный анализ, тонкослойную хроматографию, капиллярный электрофорез и оптико-эмиссионную спектрометрию, замещаются четырьмя количественными методами рабочего набора.

Таблица 3 – Распределение аналитов справочника по методам рабочего набора

Оптимальный метод	Число аналитов	Доля, %	Тип метода
ГХ-МС	405	49,5	гибридный
ВЭЖХ-МС/МС	302	36,9	гибридный
ААС / МС-ИСП	65	7,9	простой
ВЭЖХ	47	5,7	простой
Итого	819	100,0	—

Рабочий набор четырех методов решающего правила соответствует двум более широким направлениям экспериментальной разработки: простым методам, к которым относятся ВЭЖХ, газожидкостная хроматография (ГЖХ) и атомно-абсорбционная спектрометрия, и гибридным методам (ВЭЖХ-МС/МС, масс-спектрометрия высокого разрешения, ГХ-МС, ГХ-МС/МС); соответствие разработанных методик этим направлениям приведено в Таблице 4.

Таблица 4 – Соответствие рабочего набора методов разработанным методикам

Метод	Тип	Назначение разработанной методики
ВЭЖХ	простой	определение хинолонов, сульфаниламидов и амфениколов с дисперсионной твердофазной экстракцией
ГЖХ	простой	определение бисфенола А и диэтилстильбэстрола с дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракцией
ААС / МС-ИСП	простой	определение токсичных элементов (мышьяка) в рыбе и морепродуктах
ВЭЖХ-МС/МС	гибридный	скрининг остаточных количеств лекарственных средств (80 аналитов)
УВЭЖХ-МС-ВР	гибридный	скрининг остаточных количеств лекарственных средств (214 аналитов)
ГХ-МС	гибридный	определение пестицидов различных классов и полициклических ароматических углеводородов
ГХ-МС/МС	гибридный	определение бисфенола А в продукции животного происхождения

Наибольшая нагрузка приходится на газовую хромато-масс-спектрометрию (405 аналитов) и на жидкостную хроматографию с tandemным масс-спектрометрическим детектированием (302 аналита), что определяет приоритетность разработки соответствующих методик; развитие методологии их применения составляет содержание последующих глав.

Таким образом, разработана математическая модель выбора аналитического метода контроля загрязнителей продукции животного происхождения, связывающая состав суточного рациона, данные об обнаружении загрязнителей в системе «Веста» за 2020–2025 гг. (819 аналитов, 45 групп показателей, 14 продуктов) и характеристики аналитических методов; сформулировано детерминированное решающее правило, распределяющее аналиты справочника между четырьмя методами рабочего набора (ГХ-МС – 49,5 %, ВЭЖХ-МС/МС – 36,9 %, ААС / МС-ИСП – 7,9 %, ВЭЖХ – 5,7 %) и относящее каждый метод к простым или гибридным.

В четвертой главе представлены результаты разработки методик определения загрязнителей пищевой продукции доступными хроматографическими и спектральными методами, для которых потребовалась специальная пробоподготовка, включающая дисперсионную экстракцию, глубокую очистку экстрактов и, при необходимости,

derivatизацию аналитов до их аналитически активных форм. Разработаны методики ВЭЖХ-ДМД, ГХ-ЭЗД и ААС-ЭТА для определения хинолонов, сульфаниламидов, амфениколов, бисфенола А, диэтилстильбэстрола и общего мышьяка в продукции животного происхождения и морепродуктах.

Определение хинолонов, сульфаниламидов и амфениколов методом ВЭЖХ-ДМД. Контроль остаточных содержаний антибактериальных препаратов обусловлен их широким применением в ветеринарии и переходом в продукцию животного происхождения при несоблюдении дозировки и сроков выведения. Для группового определения хинолонов, сульфаниламидов и амфениколов из единой навески применена дисперсионная твердофазная экстракция по методу QuEChERS с очисткой экстракта насыпными сорбентами; выбор сорбентов и количества сульфата магния проводили по максимальным значениям степени извлечения (R) аналитов. Установлено, что для навески пробы 5 г оптимальным является добавление 0,9 г сульфата магния и по 0,15 г сорбентов C18 и Bondesil-PSA, при этом степень извлечения хинолонов и хлорамфеникола составляет от 62 до 100 %, сульфаниламидов и амфениколов – от 54 до 120 %, а необходимая степень концентрирования при указанной навеске равна 10. Компоненты матриц продукции животного происхождения при такой схеме очистки определению антибиотиков не мешают.

Разделение хинолонов и хлорамфеникола проведено при рН подвижной фазы 2,2 с детектированием при 280 нм; хроматограмма модельной смеси представлена на Рисунке 3.

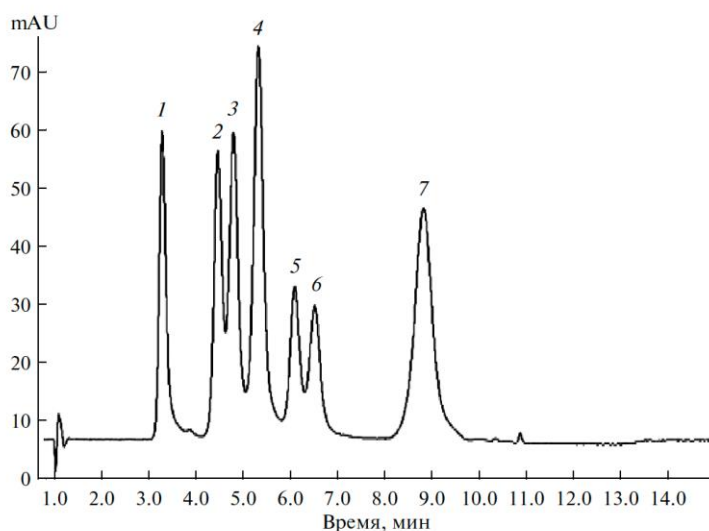


Рисунок 3 – Хроматограмма модельной смеси растворов антибиотиков (10 мкг/мл):

1 – энноксацин, 2 – данофлоксацин, 3 – ломефлоксацин, 4 – энрофлоксацин, 5 – оксолиновая кислота, 6 – хлорамфеникол, 7 – дифлоксацин

Установлено, что при выбранных условиях данофлоксацин и ломефлоксацин, а также оксолиновая кислота и хлорамфеникол разделяются не полностью, время удерживания аналитов составляет от 3,38 до 8,86 мин. Для сульфаниламидов и амфениколов в качестве подвижной фазы выбраны

ацетонитрил и ацетатный буфер с pH 5, детектирование проведено при двух длинах волн (Рисунок 4).

Сульфаниламиды и хлорамфеникол детектировали при 280 нм, тиамфеникол и флорфеникол – при 228 нм; время удерживания аналитов этой группы составляет от 4,12 до 21,36 мин. Градуировочные зависимости линейны в диапазоне 0,05–10 мкг/мл при одновременном определении хинолонов и хлорамфеникола и 0,01–5 мкг/мл при одновременном определении сульфаниламидов и амфениколов ($R^2 \geq 0,99$). Правильность методики подтверждена сопоставлением введенных и найденных количеств аналитов; метрологические характеристики обобщены в Таблице 5.

Таблица 5 – Метрологические характеристики ВЭЖХ-ДМД-определения хинолонов, сульфаниламидов и амфениколов

Группа аналитов	ПО, мг/кг	ПКО, мг/кг	Диапазон определяемых содержаний, мг/кг	R, %	ОСО
Хинолоны и хлорамфеникол (7 аналитов)	0,002–0,04	0,008–0,12	0,01–2	62–100	0,01–0,12
Сульфаниламиды и амфениколы (10 аналитов)	0,007–0,1	0,02–0,4	0,002–1	54–120	0,02–0,09

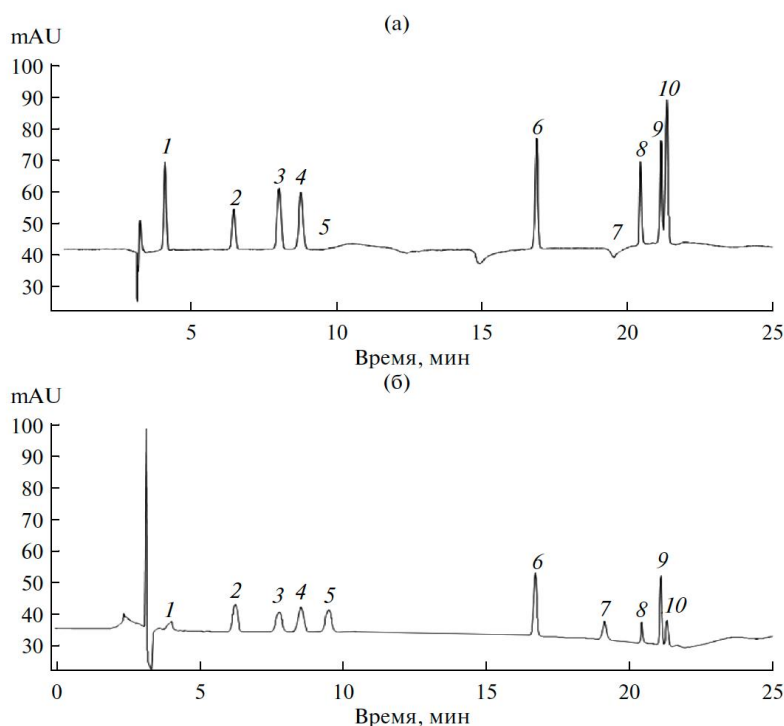


Рисунок 4 – Хроматограмма модельной смеси растворов сульфаниламидов и амфениколов (5 мкг/мл): 1 – сульфаниламид, 2 – сульфадиазин, 3 – сульфапиридин, 4 – сульфамеразин, 5 – тиамфеникол, 6 – сульфаклорпиридазин, 7 – флорфеникол, 8 – хлорамфеникол, 9 – сульфадиметоксин, 10 – сульфаквиноксалин; длина волны детектирования: а – 228 нм, б – 280 нм

Установлено, что пределы обнаружения аналитов обеих групп составляют 0,002–0,1 мг/кг; методика апробирована на реальных образцах пищевой продукции с относительным стандартным отклонением не более 0,09: в мясе курицы содержание энрофлоксацина составило $0,018 \pm 0,005$ мг/кг, в молоке содержание данофлоксацина – $0,044 \pm 0,003$ мг/кг, в пельменях – энрофлоксацин $0,51 \pm 0,04$ и данофлоксацин $0,22 \pm 0,03$ мг/кг; в свинине антибиотики не обнаружены.

Определение бисфенола А и диэтилстильбэстрола методом ГХ-ЭЗД. Загрязнение продукции животного происхождения бисфенолом А (БФА), нарушающим работу эндокринной системы, и производными стильбена, в том числе диэтилстильбэстролом (ДЭС), сохраняет актуальность при использовании консервной тары. Поскольку БФА и ДЭС не содержат сильных электронно-акцепторных атомов, для получения достаточной чувствительности детектора электронного захвата (ЭЗД) в их структуру введены атомы галогена путем дериватизации по гидроксильным группам с образованием летучих сложных эфиров. При выборе условий дериватизации использованы трифторуксусный ангидрид (ТФА) в объемах 25, 50 и 100 мкл и триэтаноламин (ТЭА) в качестве катализатора при соотношении реагентов 70:10:1, варьировались температура (20, 40, 60 °C) и продолжительность реакции (5, 10, 15, 20 мин); установлено, что ключевым параметром, определяющим интенсивность аналитического сигнала, является количество вносимого ТЭА, а оптимальная продолжительность выдержки реакционной смеси при 60 °C составила 15 мин.

Оптимизированный протокол получения производных предполагает растворение высушенного остатка в 350 мкл бензола, добавление 50 мкл ТФА и 5 мкл 1 %-ного бензольного раствора ТЭА с выдерживанием реакционной смеси 15 мин при 60 °C; производные разделяются на капиллярной колонке Rtx-CLPesticides. Для извлечения аналитов и очистки экстрактов применен метод QuEChERS с дополнительной очисткой дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракцией (ДЖЖМЭ); оптимальными установлены экстрагент тетрахлорметан объемом 200 мкл, соотношение диспергатора (ацетонитрил) и воды 2:5 и обработка пробы ультразвуком в течение 4 мин.

Показано, что степень извлечения БФА и ДЭС при внесении добавок превышает 90 %, а диапазоны определяемых содержаний с учетом 40-кратного концентрирования составили 1–250 мкг/кг для БФА и 0,5–125 мкг/кг для ДЭС; продолжительность анализа не превышает 1 ч, относительное стандартное отклонение результатов не более 0,12. При апробации методики на консервированных мясных продуктах в детском мясном пюре (срок хранения 7 мес., степень извлечения 99 %) БФА не обнаружен, в тушеной свинине (срок хранения 3 года, степень извлечения 91 %) содержание БФА составило $0,012 \pm 0,002$ мг/кг; в образцах мидий и говядины содержание ДЭС во всех случаях оказалось ниже предела обнаружения. Установлено, что пики посторонних примесей, образующихся при взаимодействии ТФА с сопутствующими компонентами матрицы, определению БФА и ДЭС не

мешают, поскольку ДЖЖМЭ обеспечивает дополнительную очистку экстракта.

Определение общего мышьяка в рыбе и морепродуктах методом ААС-ЭТА. Наиболее токсичны неорганические формы мышьяка (As), тогда как в морепродуктах преобладают его многочисленные органические формы, в том числе арсенобетаин. Классическим методом определения общего содержания As в пищевой продукции является атомно-абсорбционная спектроскопия с электротермической атомизацией (ААС-ЭТА), однако стандартизованный способ пробоподготовки с микроволновым разложением в смеси азотной кислоты и пероксида водорода не обеспечивает полного разложения арсенобетаина. Установлено, что разница содержаний мышьяка, определенных стандартизованными методиками ААС-ЭТА (способ I) и МС-ИСП, достигает 65 %, что обусловлено неполным разложением органических форм As при пробоподготовке способом I и их улетучиванием из графитовой кюветы электротермического атомизатора при озолении. Для устранения этого источника погрешности предложен способ II, включающий введение концентрированной серной кислоты для полного разложения арсенобетаина до неорганических форм мышьяка; для удаления остаточных количеств H_2SO_4 , без которого происходит ухудшение метрологических характеристик определения и постепенное разрушение графитовой кюветы, в температурную программу атомизатора после первой стадии сушки при 110 °C введен дополнительный этап с плавным нагревом от 200 до 250 °C.

Результаты сопоставления содержаний мышьяка, найденных способами I и II, с данными МС-ИСП и с аттестованными значениями стандартных образцов представлены в Таблице 6.

Таблица 6 – Сопоставление содержаний мышьяка (мг/кг), определенных методами МС-ИСП и ААС-ЭТА, с аттестованными значениями стандартных образцов

Образец	МС-ИСП / аттестовано	ААС-ЭТА, способ I (Δ, %)	ААС-ЭТА, способ II (Δ, %)
Палтус (обр. 1/2/3)	3,60/112/229	1,2/51/84 (–65,2/–54,5/–63,3)	3,6/108/219 (+1,4/–3,8/–4,8)
Зубатка (обр. 1/2/3)	4,5/8,9/46	3,5/7,1/36 (–21,8/–20,6/–22,2)	4,7/9,3/46 (+5,3/+4,3/+0,4)
Краб	11,6	10,1 (–12,7)	12,0 (+3,7)
Креветки	138	89 (–35,7)	139 (+0,6)
CO DOLT-2	16±1	–	15,9±0,8
CO ERM-BB422	12,7±0,7	–	13,3±0,6
CO SRM 1566b	7,7±0,7 / 7,8±0,1	5±1	7,9±0,3

Показано, что результаты, полученные способом II, во всех матрицах лучше согласуются с данными МС-ИСП, чем результаты способа I: отклонение по способу II не превышает 5,3 % против 65,2 % по способу I, а по стандартным образцам DOLT-2, ERM-BB422 и SRM 1566b найденные способом II содержания мышьяка (15,9±0,8; 13,3±0,6 и 7,9±0,3 мг/кг) хорошо

согласуются с аттестованными значениями (16 ± 1 ; $12,7 \pm 0,7$ и $7,7 \pm 0,7$ мг/кг соответственно). По критерию Стьюдента ($t_{\text{табл}} = 4,5$) экспериментальное значение критерия для всех сопоставленных образцов не превысило 2,37, что подтвердило отсутствие значимых расхождений между результатами МС-ИСП и оптимизированного способа ААС-ЭТА. Метрологические характеристики разработанной методики: предел обнаружения – 1,3 мкг/л, предел количественного определения – 3,9 мкг/л, диапазон измерений – от 0,4 мг/кг, предел повторяемости – 20 %, предел воспроизводимости – 25 %, границы абсолютной погрешности – 30 %. Таким образом, модификация пробоподготовки серной кислотой в сочетании с дополнительным этапом сушки при 200–250 °С обеспечивает полное разложение органических форм мышьяка и правильность определения его общего содержания в рыбе и морепродуктах методом ААС-ЭТА.

В пятой главе представлены результаты разработки и апробации гибридных хромато-масс-спектрометрических методик определения загрязнителей продукции животного происхождения: одновременного определения остаточных количеств лекарственных средств ветеринарного применения методами ВЭЖХ-МС/МС и УВЭЖХ-МС-ВР, идентификации и определения пестицидов различных классов и полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) методом ГХ-МС-ВП, а также определения бисфенола А методом ГХ-МС/МС. Совмещение хроматографического разделения с тандемным либо высокоразрешающим масс-спектрометрическим детектированием обеспечивает многокомпонентный анализ загрязнителей при минимальной пробоподготовке и без построения матричных градуировочных зависимостей, что сокращает продолжительность и стоимость лабораторного контроля безопасности мяса, молока, яиц и субпродуктов. Апробация разработанных методик выполнена на образцах молока, говядины, мяса птицы, рыбы, куриного яйца, колбасных изделий и субпродуктов в сопоставлении со стандартизованными ГОСТ-методиками и стандартными образцами.

Одновременное определение 80 лекарственных средств ветеринарного применения методом ВЭЖХ-МС/МС. Пробоподготовку проводили без применения твердофазной экстракции согласно принципам «зеленой химии»: к ацетонитрильному экстракту добавляли ЭДТА, экстракт центрифугировали, разбавляли деионизированной водой и фильтровали.

При оптимизированных условиях пробоподготовки матричный эффект оказался максимальным для экстрактов печени и меда и минимальным для экстрактов молока и мяса различных видов животных в области времени удерживания аналитов от 7 до 17 мин (Рисунок 5).

Для всех четырех исследованных экстрактов матрица оказывает существенное влияние на аналитический сигнал, поэтому для нивелирования матричного эффекта применяли способ изотопного разбавления с одним изотопно-меченым стандартом на класс соединений. Поправочный коэффициент k принимает близкие значения для водных растворов и матричных экстрактов из молока, мяса, субпродуктов и меда, что позволило

исключить построение матричных градуировочных зависимостей, предусмотренных ГОСТ 34533–2019, ГОСТ 31694–2012, ГОСТ 34136–2017, ГОСТ 33486–2015 и ГОСТ 32797–2014, и ограничиться одним изотопно-меченым стандартом для каждого класса соединений (Таблица 7).

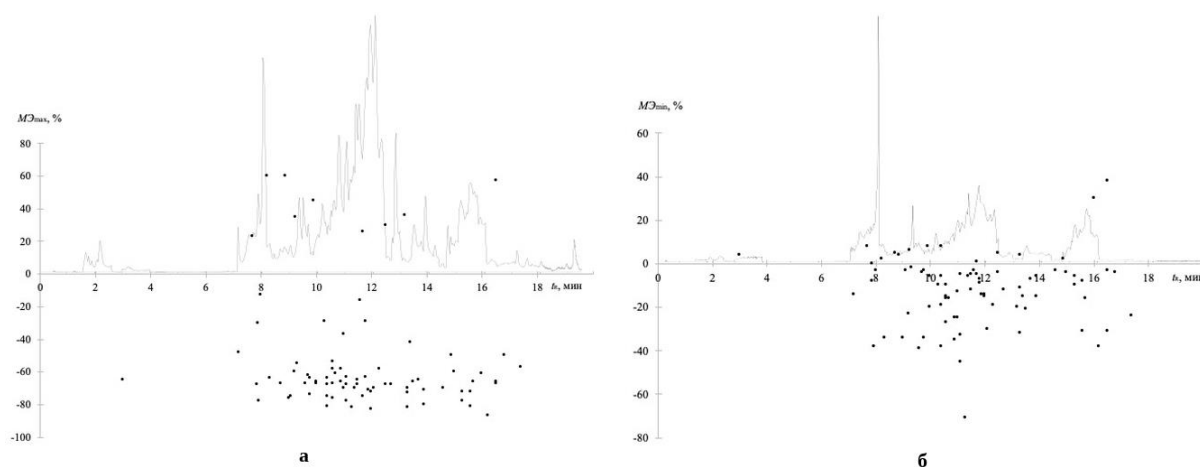


Рисунок 5 – Хроматограммы экстрактов с максимальным и минимальным матричным эффектом при определении лекарственных средств ветеринарного применения: а – печень; б – молоко

Таблица 7 – Классы ветеринарных лекарственных средств, определяемых методом ВЭЖХ-МС/МС

Класс соединений	Число соединений	ПО, мкг/кг
Сульфаниламиды и диаминопиримидины	17	0,5–5,0
β-агонисты	17	0,5–5,0
Хинолоны	13	0,1–1,0
Нитроимидазолы	9	0,5–1,0
Пенициллины	7	1,0–10,0
Макролиды	7	0,5
Тетрациклины	5	1,0
Линкозамиды	3	0,5
Плевомутилины	2	0,5
Амфениколы	2	0,2–1,0

Пределы обнаружения по классам аналитов составили от 0,1 до 10 мкг/кг: наибольшая чувствительность определения отмечена для хинолонов (0,1–1 мкг/кг), наименьшая – для пенициллинов (1–10 мкг/кг). Коэффициент k_1 , рассчитанный для каждого аналита относительно единого изотопно-меченого стандарта своего класса, находится в диапазоне 0,14–3,82, что подтверждает применимость одного стандарта для количественного определения всех представителей класса без индивидуальной калибровки по каждому аналиту.

Апробация методики при скрининге продукции животного происхождения в сопоставлении со стандартизованными ГОСТ-методиками подтвердила согласованность результатов: содержание ципрофлоксацина в мясе птицы составило 43 ± 5 мкг/кг против 49 ± 3 мкг/кг по ГОСТ, хлорамфеникола в говядине – 20 ± 6 против 17 ± 4 мкг/кг, энрофлоксацина в рыбе – 84 ± 7 против 90 ± 6 мкг/кг, окситетрациклина и доксициклина в колбасе – 18 ± 4 и $8,0 \pm 0,3$ мкг/кг против 12 ± 6 и $8,0 \pm 0,9$ мкг/кг по ГОСТ соответственно.

Разработана методика одновременного определения 80 лекарственных средств ветеринарного применения без стадии твердофазной экстракции и построения матричных градуировочных зависимостей; пределы обнаружения аналитов составили от 0,1 до 10 мкг/кг, результаты анализа продукции животного происхождения подтверждены стандартизованными методами.

Скрининг и одновременное определение 214 лекарственных средств ветеринарного применения методом УВЭЖХ-МС-ВР. Оптимальной стратегией рутинных исследований при реализации программ мониторинга безопасности продукции животного происхождения является последовательное сочетание первичного скрининга проб и последующего подтверждающего количественного анализа образцов, содержащих значимые концентрации потенциально опасных веществ. Для многокомпонентного анализа остаточных количеств лекарственных средств ветеринарного применения и их метаболитов применена ультравысокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрией высокого разрешения (УВЭЖХ-МС-ВР), обеспечивающая одновременное детектирование широкого спектра соединений при минимальной пробоподготовке.

При оптимизации условий разделения 214 аналитов среди колонок ACQUITY UPLC® BEH C18, ACQUITY UPLC® Shield RP18, ACQUITY UPLC® Phenyl (Waters, США) и Acclaim™ 120 C18 (Thermo Scientific, США) наибольшая эффективность разделения установлена для колонки ACQUITY UPLC® BEH C18 ($30 \times 2,1$ мм, 1,7 мкм): число теоретических тарелок для энрофлоксацина составило $N = 8759$ против 5346–7863 для остальных колонок. В качестве подвижных фаз выбраны 0,1 %-ный водный раствор муравьиной кислоты (А) и 0,1 %-ный ацетонитрильный раствор муравьиной кислоты (Б) при скорости потока 0,4 мл/мин; добавки формиата аммония и метанола в подвижную фазу не улучшили характеристики разделения аналитов. Оптимальная температура термостата колонки составила 50 °С, оптимальный объем вводимой пробы – 50 мкл. Использование ультравысокоэффективной хроматографии позволило сократить время хроматографического разделения до 8 мин (полный цикл 12 мин с учетом кондиционирования колонки и калибровки детектора) и снизить общую продолжительность анализа до 50 мин.

Экстракцию аналитов проводили ацетонитрилом с добавлением янтарной кислоты в нейтральной и кислой средах; ЭДТА добавляли для подавления комплексообразования аналитов с ионами металлов. Большинство аналитов образует протонированные аддукты $[M+H]^+$, цефалоспорины и часть кокцидиостатиков – аддукты с натрием $[M+Na]^+$ (Таблица 8).

Таблица 8 – Классы лекарственных средств ветеринарного применения, определяемых методом УВЭЖХ-МС-ВР

Класс соединений	Число соединений	ПО, мкг/кг
Антигельминтики	37	0,1–5,0
Сульфаниламиды и диаминопиримидины	22	0,5–5,0
Цефалоспорины	20	0,5–10,0
НПВС	19	0,5–10,0
β-агонисты	18	0,5–5,0
Хинолоны	17	0,1–1,0
Кокцидиостатики	16	0,5–3,0
Тетрациклины	13	1,0–2,0
Макролиды	12	0,5–1,0
Пенициллины	11	1,0–10,0
Нитроимидазолы	10	0,5–1,0
Красители	7	0,1–1,0
Амфениколы	4	0,2–1,0
Метаболиты нитрофуранов	4	0,5–1,0
Линкозамиды	2	0,5
Плевромутилины	2	0,5

Идентификация аналитов основана на точной массе иона, времени удерживания и типе образуемого аддукта с использованием программного обеспечения Target-Analysis-1.3. Пределы обнаружения составили от 0,1 до 10,0 мкг/кг: наибольшая чувствительность определения отмечена для красителей и хинолонов (0,1–1 мкг/кг), наименьшая – для пенициллинов, цефалоспоринов и нестероидных противовоспалительных средств (до 10 мкг/кг). Поправочный коэффициент k практически не различается для водных растворов аналитов и экстрактов из продукции животного происхождения, что позволяет обходиться без матричных градуировочных зависимостей. Максимальный матричный эффект отмечен для печени и меда (более 80 %), минимальный – для молока и мяса (более 40 %); в области времени удерживания аналитов 0,5–2 и 3–6 мин влияние матрицы удалось снизить максимально, однако для повышения точности и надежности результатов использован прием изотопного разбавления с одним изотопно-меченым стандартом на класс соединений.

Скрининг образцов продукции животного происхождения в сопоставлении со стандартизованными ГОСТ-методиками подтвердил согласованность результатов; сопоставление выполнено на шести видах продукции: молоке, говядине, мясе птицы, курином яйце, рыбе и колбасных изделиях (Таблица 9).

Таблица 9 – Результаты сопоставления разработанных методик со стандартизованными ГОСТ-методиками

Матрица	Аналит	Найдено по методике, мкг/кг	Найдено по ГОСТ, мкг/кг	s _r
Молоко	Цефтиофур	5,4±0,1	4,9±0,2	0,08
Говядина	Хлорамфеникол	20±6	17±4	0,01
Мясо птицы	Ципрофлоксацин	43±5	49±3	0,02
Яйцо куриное	Ципрофлоксацин	18±2	16±5	0,02
Яйцо куриное	Пиперацillin	7,6±0,1	7,3±0,1	0,08
Рыба	Энрофлоксацин	84±7	90±6	0,03
Колбаса	Доксициклин	8,0±0,3	8,0±0,9	0,02

Для семи сопоставленных пар «матрица – аналит» относительное стандартное отклонение результатов по разработанной методике не превышает 0,08, а расхождение с содержаниями, установленными по ГОСТ, не выходит за пределы суммарной случайной погрешности обоих методов; наибольшее относительное отклонение (около 18 %) отмечено для хлорамфеникола в говядине, для доксициклина в колбасе найденные содержания по обеим методикам совпали (8,0 мкг/кг). Полученные результаты согласуются с данными по ГОСТ 34533, 31694, 34136, 33486, 32797, 32014, 34137, 34535, 32834, 32881 и МУ А-1/080.

Таким образом, предложена УВЭЖХ-МС-ВР-методика скрининга и одновременного определения остаточных содержаний 214 лекарственных средств ветеринарного применения из 16 химических классов; пределы обнаружения аналитов составили от 0,1 до 10,0 мкг/кг, общая продолжительность анализа сокращена до 50 мин, результаты анализа согласуются с результатами по стандартизованным методикам.

Хромато-масс-спектрометрическое определение пестицидов и полициклических ароматических углеводов. Рассмотрена возможность одновременной идентификации и определения методом газовой хроматографии с времяпролетным масс-спектрометрическим детектором (ГХ-МС-ВП) 46 соединений: 30 пестицидов различных классов и 16 полициклических ароматических углеводов (Таблица 10).

Таблица 10 – Группы пестицидов и ПАУ, определяемых методом ГХ-МС-ВП

Группа соединений	Число соединений	ПО, мг/л
Хлорорганические пестициды	21	0,01–0,10
Полициклические ароматические углеводороды	16	0,10–0,50
Прочие гербициды	3	0,10
Триазины	2	0,20
Карбаматы	2	0,03–0,30
Фосфорорганические пестициды	2	0,10

Характеристики для идентификации каждого аналита (характеристические ионы по масс-спектрам индивидуальных веществ и библиотечным данным, время удерживания) установлены для всех 46 соединений. Атразин, β -ГХЦГ, линурон, малатион, пирен, α -хлордан, α -эндосульфат и транс-нонахлор не разделяются в выбранных хроматографических условиях и при регистрации по полному ионному току дают один пик; для их идентификации использован режим селективной ионной регистрации. Для изомеров с одинаковыми массами фрагментированных ионов идентификация проведена по времени удерживания (Рисунок 6).

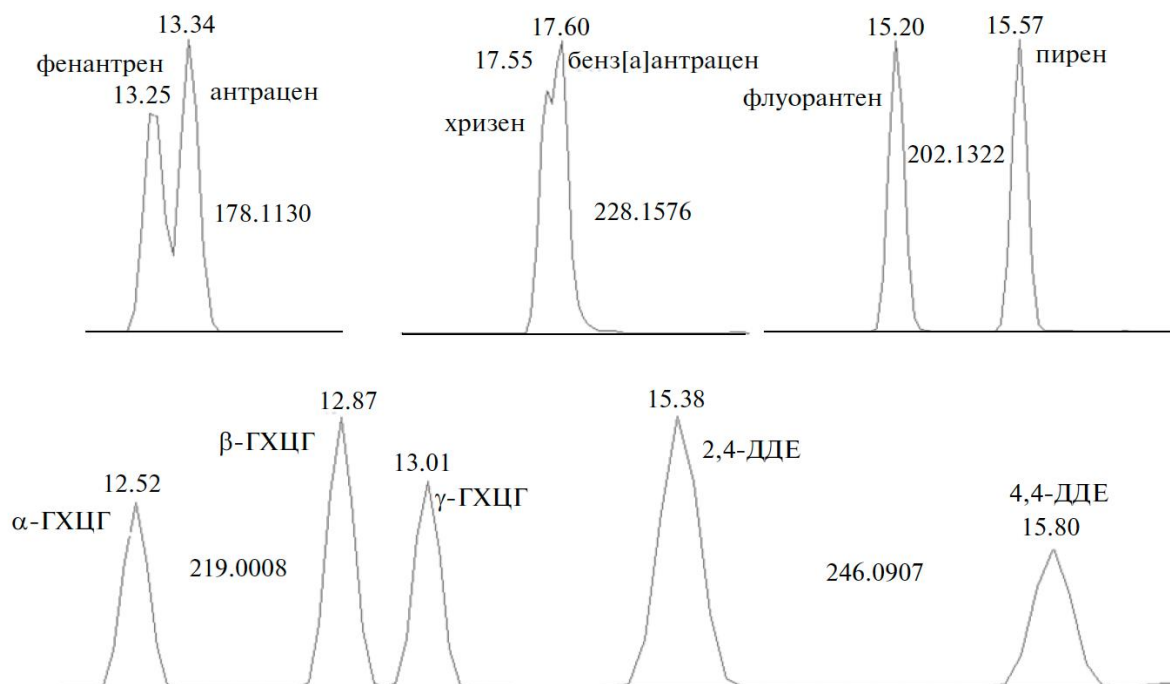


Рисунок 6 – Масс-хроматограммы аналитов с одинаковыми массами фрагментированных ионов: фенантрен и антрацен (178,1130); хризен и бенз[а]антрацен (228,1578); флуорантен и пирен (202,1322); α -, β - и γ -ГХЦГ (219,0008); 2,4-ДДЕ и 4,4-ДДЕ (246,0907)

Разделение изобарных пар аналитов достигнуто во всех случаях: фенантрен ($t_R = 13,26$ мин) и антрацен ($t_R = 13,33$ мин) с одинаковой массой фрагмента 178,1130 разрешены по времени удерживания (разница 0,07 мин), флуорантен ($t_R = 15,20$ мин) и пирен ($t_R = 15,57$ мин) с одинаковой массой 202,1322 разрешены с разницей 0,37 мин.

Для концентрирования аналитов применяли жидкостно-жидкостную и твердофазную экстракцию с упариванием экстракта до объема 0,5–1 мл. Пределы обнаружения составили от 0,01 до 0,5 мг/л в растворе и от 0,2 до 10 мкг/кг после концентрирования экстрактов из продуктов питания. Продолжительность анализа не превышает 1,5 ч. Правильность методики оценена на стандартном образце кормов для животных (Certified Reference Material BCR®-115) и образце сухого молока (Таблица 11).

Таблица 11 – Результаты идентификации и определения пестицидов и ПАУ в стандартном и реальном образцах

Загрязнитель	По паспорту BCR®-115, мг/кг	Найдено, BCR®-115, мг/кг	Найдено, молоко сухое, мг/кг
Гексахлорбензол	0,0194	0,021	–
γ-ГХЦГ	0,0218	0,018	–
Гептахлор	0,0190	0,018	0,03
Дильдрин	0,0181	0,017	–
4,4-ДДЕ	0,047	0,045	0,04
4,4-ДДД	–	0,003	0,1
Карбарил	–	–	0,02

Найденные содержания гексахлорбензола, γ-ГХЦГ, гептахлора, дильдрина и 4,4-ДДЕ в стандартном образце BCR®-115 согласуются с паспортными значениями; относительное стандартное отклонение результатов анализа не превышает 0,05. В образце сухого молока идентифицированы гептахлор (0,03 мг/кг), 4,4-ДДЕ (0,04 мг/кг), 4,4-ДДД (0,1 мг/кг) и карбарил (0,02 мг/кг).

Таким образом, разработана ГХ-МС-ВП-методика идентификации и определения 46 соединений (30 пестицидов различных классов и 16 ПАУ) в продукции животного происхождения с разделением изобарных пар по времени удерживания; пределы обнаружения составили от 0,01 до 0,5 мг/л в растворе и от 0,2 до 10 мкг/кг после концентрирования экстрактов, относительное стандартное отклонение результатов не превышает 0,05.

Определение бисфенола А в продукции животного происхождения методом ГХ-МС/МС. Для выбора экстрагента БФА из мяса птицы, субпродуктов и свинины исследованы ацетонитрил, метанол, этанол, вода, диэтиловый эфир, метил-трет-бутиловый эфир и гексан. Гексан и вода не извлекают БФА из продукции животного происхождения: хроматограммы полученных экстрактов не содержали сигналов БФА и дейтерированного внутреннего стандарта БФА-D16. В качестве экстрагента выбран ацетонитрил, который эффективно извлекает БФА, слабо экстрагирует макрокомпоненты матриц и удобен при концентрировании; на масс-хроматограмме неочищенного ацетонитрильного экстракта из свинины (1 мг/кг) сигналы БФА и БФА-D16 регистрируются на фоне высокой матричной нагрузки, создаваемой соэкстрактивными веществами.

Температуру упаривания водно-ацетонитрильных растворов (вода : ацетонитрил = 4 : 1), содержащих 0,2 мкг/мл БФА, варьировали (40, 50 и 60 °С); при увеличении температуры упаривания аналитический сигнал БФА снижается вследствие его улетучивания, скорость упаривания при этом возрастает незначительно, поэтому оптимальной выбрана температура 40 °С.

Для очистки ацетонитрильных экстрактов из матриц с высоким содержанием жира методом дисперсионной твердофазной экстракции использовали сорбенты Bondesil-PSA и Bondesil-C18 в количестве от 25 до 200 мг на 1,5 мл экстракта. Bondesil-C18 снижает влияние матрицы незначительно;

добавление Bondesil-PSA эффективно снижает матричный эффект по мере увеличения его количества, однако снижает и интенсивность сигнала аналита.

Для твердофазной очистки испытаны сорбенты различной природы: анионообменные и катионообменные смолы, полярные сорбенты (силикагель, флорисил, диатомит, оксид алюминия), неполярный сорбент C18 и гидрофильно-липофильный сорбент HLB (Таблица 12).

Таблица 12 – Степень удерживания и выход БФА при твердофазной очистке

Сорбент	Степень удерживания, %	Выход из раствора, %	Выход из экстракта мяса птицы, %
C18	99,7	131,0	107,5
SCX	99,4	83,0	163,7
WAX	99,2	70,2	35,9
Силикагель	96,9	54,0	105,6
HLB	94,6	44,8	33,6
MAX	99,3	12,8	5,7

Степень удерживания более 90 % характерна для сорбентов с гидрофобными структурными элементами: для C18 она составила 99,7 % при выходе БФА 131,0 % после элюирования ацетонитрилом, для немодифицированного силикагеля – 96,9 %, для сорбента HLB – 94,6 %. При апробации на экстрактах из мяса птицы с добавкой БФА наилучшее соотношение показателей очистки и выхода аналита (107,5 %) достигнуто для сорбента C18. Для матриц с высоким содержанием жира очистка на C18 оказалась неэффективной при десятикратном концентрировании экстрактов; для матриц с низким содержанием жира оптимальным решением стало сочетание очистки экстракта гексаном с последующей твердофазной очисткой на сорбенте C18: оптимальный объем элюирования ацетонитрилом составил 2 мл, оптимальный промывочный раствор – смесь ацетонитрила с водой (40 % / 10 мл).

На основе полученных данных разработана схема подготовки проб мяса, комбикорма и навоза для определения БФА, включающая экстракцию ацетонитрилом, очистку гексаном, твердофазную экстракцию на сорбенте C18 и десятикратное концентрирование экстракта (Рисунок 7).

В соответствии с разработанной схемой проведено определение содержания БФА в образцах субпродуктов; продолжительность анализа серии из 20 образцов составила 6 ч. Методика оценена по схеме «введено – найдено» в диапазоне концентраций от 5,0 до 100,0 мкг/кг (Таблица 13).

Таблица 13 – Результаты определения БФА в образцах субпродуктов

Введено, мкг/кг	Найдено, мкг/кг	s_r
5,0	5,3±1,5	0,11
10,0	9,6±2,5	0,11
50,0	51,9±12,1	0,09
100,0	99,1±6,4	0,03

Относительное стандартное отклонение результатов определения не превышает 0,11 во всем исследованном диапазоне концентраций.

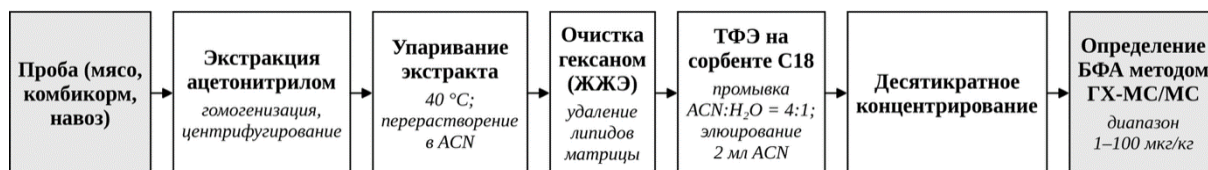


Рисунок 7 – Схема подготовки проб мяса, комбикорма и навоза для определения БФА методом ГХ-МС/МС

Таким образом, разработана методика определения БФА методом ГХ-МС/МС, включающая экстракцию ацетонитрилом, очистку гексаном, твердофазную экстракцию на сорбенте C18 и десятикратное концентрирование экстракта; методика позволяет детектировать БФА на уровне 0,01 мкг/мл и определять его содержание в мясе в диапазоне от 1 до 100 мкг/кг, относительное стандартное отклонение результатов не превышает 0,11.

В шестой главе представлены результаты разработки методических подходов к идентификации происхождения и выявлению фальсификации продукции животного происхождения, а также алгоритма контроля нормируемых и ненормируемых на территории Российской Федерации загрязнителей.

Дифференциация икры лососевых, осетровых и частиковых рыб методом МС-ИСП. Для дифференциации натуральной и имитированной икры лососевых, осетровых и частиковых рыб применен метод МС-ИСП в сочетании с хемометрической обработкой данных. В каждой пробе определено содержание восьми элементов (Na, Mg, P, K, Ca, Fe, Cu, Zn), обработка результатов выполнена методом главных компонент (РСА) и иерархическим кластерным анализом (НСА).

Для 20 проб икры лососевых рыб (натуральная и имитированная продукция) первая главная компонента (PC1) объяснила 44 % общей дисперсии данных и обеспечила разделение проб на две группы: имитированная икра (пробы 1–5 и 17) локализована в левой части графика счетов, натуральная (6–16, 18–20) – преимущественно в правой (Рисунок 8, а). Согласно графику нагрузок, максимальный вклад в PC1 вносят элементы Mg, P, Zn, K и Fe, содержание которых выше в натуральной икре и ниже в имитированной. Результаты НСА (Рисунок 9) подтвердили обособление кластера проб имитированной икры (1–5, 17) от кластера натуральной икры (6–16, 18–20) без пересечения ветвей дендрограммы.

Для 6 проб икры осетровых рыб (Рисунок 8, б) PC1 объяснила 66 % дисперсии данных и разделила образцы на три группы: натуральная черная икра (проба 35) локализована обособленно, окрашенная в черный цвет икра палтуса (30, 31) сформировала компактную группу, имитированная черная икра (32–34) заняла отдельную зону пространства главных компонент. Наибольший вклад в PC1 внесли элементы Mg, K, P, Fe, Zn, а также медь (Cu),

дополнительно значимая для дифференциации черной икры. Для 2 проб икры частиковых рыб (натуральная и имитированная икра щуки, пробы 25 и 26) PC1 объяснила 52 % дисперсии данных (Рисунок 8, в), а ключевыми элементами-дискриминаторами выступили Mg, Zn, Cu, P и Fe (Таблица 14).

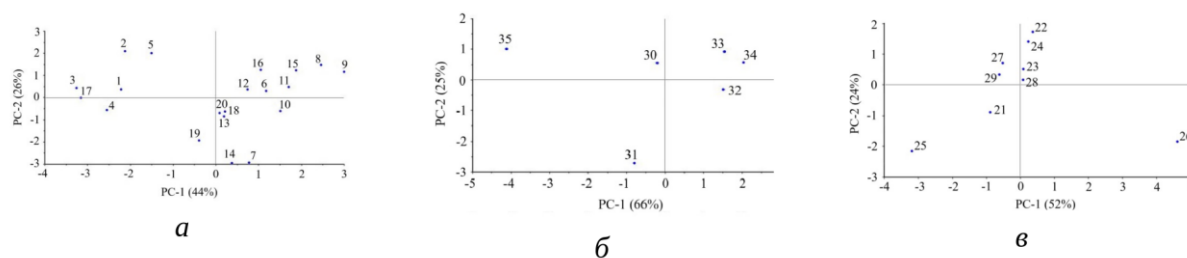


Рисунок 8 – Графики счетов PCA для дифференциации проб икры по подлинности: а – лососевые рыбы (пробы 1–20; PC1 = 44 %); б – осетровые рыбы (пробы 30–35; PC1 = 66 %); в – частиковые рыбы (пробы 25, 26; PC1 = 52 %)

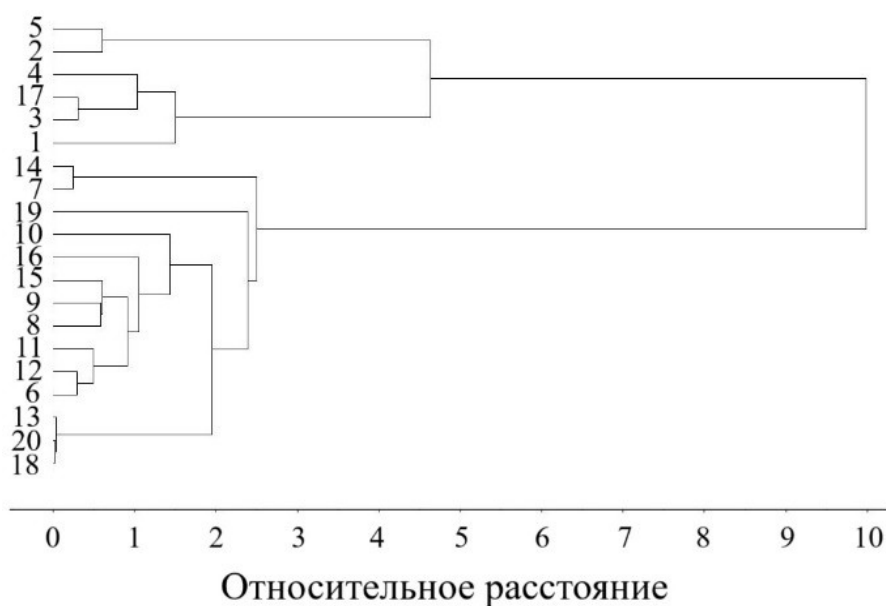


Рисунок 9 – Дендрограмма иерархического кластерного анализа (НСА) для дифференциации проб икры лососевых рыб по подлинности: верхний кластер – имитированная икра (1–5, 17), нижний – натуральная (6–16, 18–20)

Таблица 14 – Доля объясненной дисперсии первой главной компоненты (PC1) и элементы-дискриминаторы при дифференциации икры по видам рыб методом МС-ИСП с PCA

Группа икры	Число проб	Доля дисперсии PC1, %	Элементы с максимальным вкладом в PC1
Лососевые (натуральная/имитированная)	20	44	Mg, P, Zn, K, Fe
Осетровые (натуральная/окрашенный палтус/имитированная)	6	66	Mg, K, P, Fe, Zn, Cu
Частиковые (натуральная/имитированная икра щуки)	2	52	Mg, Zn, Cu, P, Fe

Выявление примеси говяжьего жира в сливочном масле по изотопным характеристикам углерода. Для идентификации происхождения жировой фазы молочной продукции применен метод изотопной масс-спектрометрии, включающий получение метиловых эфиров жирных кислот (МЭЖК) щелочным катализом, хроматографическое разделение на газовом хроматографе с приставкой GC Isolink II и определение изотопного состава углерода ($\delta^{13}\text{C}$) в сравнении со стандартом МАГАТЭ NBS22. Расхождение значений $\delta^{13}\text{C}$, определенных на элементном анализаторе, для миристиновой, пальмитиновой и стеариновой кислот до и после пробоподготовки не превысило 0,3 ‰, диапазон значений составил от $-29,11 \pm 0,25$ ‰ до $-30,22 \pm 0,22$ ‰, что подтвердило отсутствие значимого влияния пробоподготовки на изотопные характеристики углерода; значения, полученные для тех же МЭЖК на газовом хроматографе, совпали с ними в пределах погрешности измерений.

Для оценки влияния добавления говяжьего жира приготовлены модельные смеси «летнего» и «зимнего» масла с добавлением жира в концентрациях 15, 25, 35 и 45 % от объема образца. В качестве диагностических показателей использована разница значений $\delta^{13}\text{C}$ метиловых эфиров стеариновой и миристиновой кислот ($\delta^{13}\text{C}_{\text{C18:0}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{C14:0}}$), а также стеариновой и пальмитиновой кислот ($\delta^{13}\text{C}_{\text{C18:0}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{C16:0}}$) (Рисунок 10). Установлено, что добавление 15 % говяжьего жира приводит к статистически значимому различию значений $\delta^{13}\text{C}$ на уровне 1–2 ‰; при доле жира менее 15 % надежная дифференциация образцов не достигается.

Для повышения чувствительности метода по каждому исследованному образцу масла и жира рассчитана сумма разностных показателей $\delta^{13}\text{C}_{\text{C18:0}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{C14:0}}$ и $\delta^{13}\text{C}_{\text{C18:0}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{C16:0}}$; погрешность измерений для $n = 3$ не превысила 0,3 ‰. На основании полученных значений установлена трехзонная шкала идентификации: сумма менее -8 ‰ – масло натуральное; от -8 до -2 ‰ – масло с содержанием говяжьего жира более 15 %; более -2 ‰ – говяжий жир.

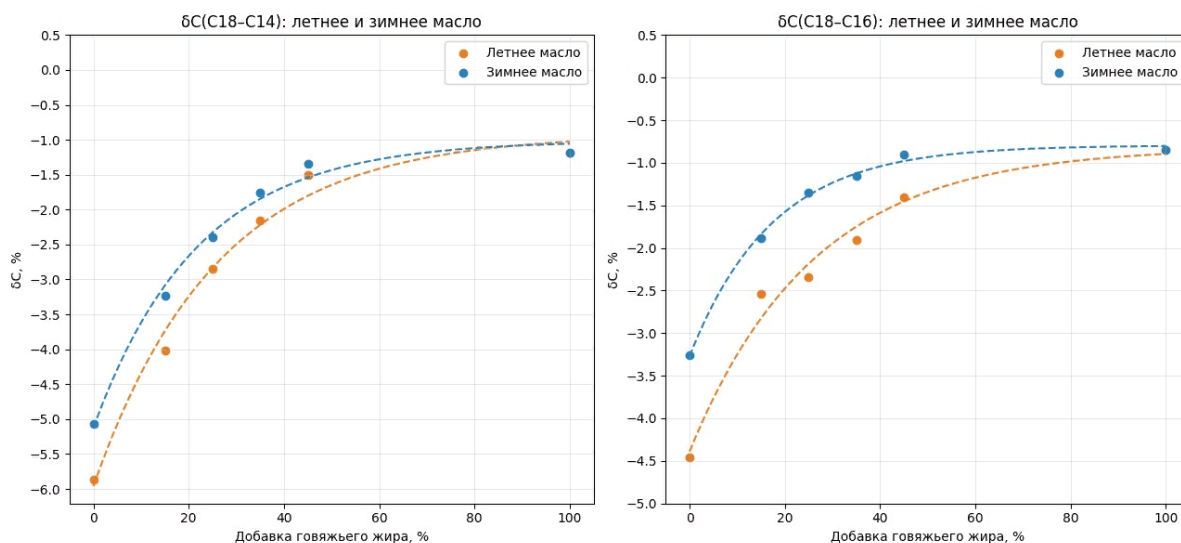


Рисунок 10 – Зависимость разностных показателей $\delta^{13}\text{C}$ метиловых эфиров жирных кислот ($\delta^{13}\text{C}_{\text{C18:0}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{C14:0}}$ и $\delta^{13}\text{C}_{\text{C18:0}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{C16:0}}$) от доли добавленного говяжьего жира для летнего и зимнего сливочного масла

Экспресс-контроль молочной продукции методом цифровой цветометрии. Метод основан на различии флуоресценции жировой фазы при облучении ультрафиолетовым светом с длиной волны 390 нм: молочный жир дает характерную розовую флуоресценцию, растительные и животные жиры флуоресцируют преимущественно в синей, голубой или фиолетовой области спектра. При концентрации молочного жира менее 30 % визуальная оценка цвета затруднена или невозможна, что относится к молоку, сметане, творогу и кефиру. Для реализации метода с помощью 3D-печати изготовлено УФ-устройство, интегрированное со смартфоном и мобильным приложением PhotoMetrix PRO® (Android), реализующим одномерный и многомерный цветометрический анализ по цветовым каналам R, G, B, H, S, V, L, I с применением алгоритмов PCA, HCA и PLS-регрессии.

В качестве эталонных материалов использовано сладко-сливочное несоленое масло с массовой долей жира 61,5 % (ГОСТ Р 52253–2004), 72,5 и 82,5 % (ГОСТ 32261–2013), а также топленое масло с массовой долей жира 99 % (ГОСТ 32262–2013). По результатам PCA и HCA образцы сливочного масла и маргаринов образовали обособленные кластеры, что подтвердило способность цветометрических характеристик разделять продукты по природе жировой основы; градуировочная зависимость, полученная методом PLS, характеризуется коэффициентом детерминации $R^2 = 0,995$.

Определение массовой доли жира в молочной продукции с применением многомерного (сливочное масло) и одномерного (молоко, кефир, творог, сметана) цветометрического анализа выполнено при $n = 3$, $P = 0,95$ (Таблица 15); относительное стандартное отклонение (s_r) результатов не превысило 0,16.

Таблица 15 – Результаты цветометрического определения массовой доли жира в молочной продукции с применением приложения PhotoMetrix PRO® ($n = 3$, $P = 0,95$)

Продукт	Диапазон массовой доли жира, %	Уравнение градуировочной зависимости	R^2	s_r
Молоко	1,5–3,7	$y = 13,30x + 144,7$	0,994	0,04–0,12
Кефир	1,0–3,2	$y = 8,047x + 163,6$	0,994	0,09–0,14
Творог	2–9	$y = 5,716x + 148,5$	1,00	0,05–0,16
Сметана	10–25	$y = 3,32x + 120,9$	0,997	0,03–0,09
Сливочное масло	61,5–99,0	$y = 0,995x + 0,401$	0,995	0,02–0,04

Таким образом, разработаны методические подходы к идентификации происхождения и выявлению фальсификации продукции животного происхождения: дифференциация икры лососевых (20 проб), осетровых (6 проб) и частиковых (2 пробы) рыб методом МС-ИСП с PCA и HCA по элементам Mg, P, Zn, K и Fe ($PC1 = 44, 66$ и 52 % соответственно); выявление примеси говяжьего жира в сливочном масле по сумме разностных изотопных показателей $\delta^{13}C$ с погрешностью не более 0,3 ‰ и порогом обнаружения 15 % (шкала: менее -8 ‰ – масло натуральное, от -8 до -2 ‰ – с примесью

говяжьего жира, более -2% – говяжий жир); экспресс-контроль молочной продукции цветометрией (390 нм, УФ-устройство 3D-печати, приложение PhotoMetrix PRO®) с $R^2 = 0,994-1,00$ и относительным стандартным отклонением не более 0,16.

Алгоритм контроля нормируемых и ненормируемых загрязнителей. Ежегодный рост номенклатуры регистрируемых ветеринарных лекарственных средств и пестицидов обуславливает необходимость контроля их остаточных содержаний в продукции животного происхождения. Предложен алгоритм исследования образцов продовольственного сырья животного происхождения, включающий последовательное выполнение четырех модулей: ретроспективного анализа данных мониторинга с ранжированием аналитов программной моделью, скринингового исследования, подтверждающего анализа и оценки риска контаминации продукции, в том числе с идентификацией новых потенциальных загрязнителей.

Модуль 1. Ретроспективный анализ данных мониторинга. Источниками сведений об обнаружениях загрязнителей являются компонент «Веста» ФГИС «ВетИС» (Россельхознадзор), открытые данные Роспотребнадзора и зарубежные системы (RASFF, ANSES, INFOSAN). Для загрязнителей с установленным законодательством Российской Федерации значениями МДУ достаточным признан период выборки данных не более 5 календарных лет. Разработанная программная модель ранжирует загрязнители с учетом категории опасности соединения, норматива МДУ, коэффициентов технологической лабильности, фальсификации сырья и аналитической точности метода определения его содержания; ее применение сократило время проведения ретроспективного анализа с более чем 8 ч до 10 мин при полном совпадении результатов с ручным расчетом и приоритизацией.

По данным ГИС «Веста» за 2020–2024 гг. зафиксировано 6611 случаев превышения МДУ остаточных содержаний ветеринарных лекарственных средств в продукции животного происхождения по 14 фармакологическим группам и 7 видам продукции. Наибольшее число выявлений приходится на фторхинолоны (28,3 %; 1874 случая) и тетрациклины (25,7 %; 1699 случаев), далее следуют пенициллины (10,5 %; 692 случая), амфениколы (10,2 %; 674 случая) и сульфаниламиды (7,0 %; 463 случая); по видам продукции больше всего выявлений в молоке и молочной продукции (2896) и продукции птицеводства (2177) (Таблица 16). В продукции птицеводства и яйце максимальная доля выявлений приходится на фторхинолоны (49,7 и 66,8 % соответственно), в том числе на энрофлоксацин (51,7 % внутри группы); в мясе и мясной продукции (кроме птицы) – также на фторхинолоны (33,8 %) и тетрациклины (29,0 %); в молоке и молочной продукции – на тетрациклины и пенициллины (29,4 и 22,3 % соответственно).

Таблица 16 – Структура выявлений превышений МДУ ветеринарных лекарственных средств в продукции животного происхождения в 2020–2024 гг. по данным ГИС «Веста»

Группа препаратов	Число выявлений, шт.	Доля от общего числа, %	Вид продукции с максимальной долей выявлений, %
Фторхинолоны	1874	28,3	Яйца – 66,8
Тетрациклины	1699	25,7	Свинина и субпродукты – 65,0
Пенициллины	692	10,5	Молоко и молочная продукция – 22,3
Амфениколы	674	10,2	Молоко и молочная продукция – 15,8
Сульфаниламиды	463	7,0	Мясные полуфабрикаты и консервы – 14,0
Всего (14 групп)	6611	100,0	Молоко и молочная продукция – 2896 шт.

Модуль 2. Скрининг проб. Разработаны методики скрининга, позволяющие при минимальной пробоподготовке проводить рутинный анализ проб за время до 50 мин на образец. Методика ВЭЖХ-МС/МС обеспечивает одновременное определение остаточных содержаний 80 ветеринарных лекарственных средств. Методика УВЭЖХ-МС-ВР позволяет проводить многокомпонентный полуколичественный анализ более 200 веществ методом изотопного разбавления без построения матричных градуировочных зависимостей.

Модуль 3. Подтверждающий анализ. Подтверждающий анализ арбитражными стандартизованными методами (ГОСТ/МУ) выполняется по всем показателям безопасности, предусмотренным программой ведомственного мониторинга: ветеринарным лекарственным средствам и пестицидам, токсичным элементам, ПАУ, природным токсинам, в том числе микотоксинам для молочной и зерновой продукции и фикотоксинам – для рыбной, а также соединениям, ограниченным Стокгольмской конвенцией о стойких органических загрязнителях (диоксины, полихлорированные бифенилы). Разработана хроматографическая методика одновременного определения антибиотиков разных групп из одной навески с пробоподготовкой QuEChERS, а также хромато-масс-спектрометрическая методика идентификации и определения 46 пестицидов и ПАУ в продукции животного и растительного происхождения. Для веществ группы А и некоторых веществ группы В (стильбены, антитиреоидные средства, стероиды, лактоны резорциловой кислоты, β -агонисты, запрещенные антибиотики) применены методы, сочетающие хроматографическое разделение с tandemным масс-спектрометрическим детектированием и обеспечивающие четыре критерия идентификации: время удерживания, m/z иона-предшественника и m/z двух дочерних ионов.

На основании предложенных подходов в ФГБУ «ВГНКИ» разработано 18 методических указаний и рекомендаций, а в ФГБУ «ВНИИЗЖ» – методические указания и рекомендации, включенные в 2014 г. в сборник, допущенный Россельхознадзором в качестве пособия для работников лабораторий контроля качества и безопасности продовольственного сырья и продуктов животного происхождения; получен патент на изобретение № 2514828 С2.

Модуль 4. Оценка риска контаминации продукции животного происхождения. Модуль предусматривает контроль законодательно нормируемых загрязнителей (ветеринарных лекарственных средств, пестицидов, токсичных элементов) и идентификацию новых угроз, включающую оценку фоновых содержаний ненормируемых загрязнителей (бисфенола А, диэтилстильбэстрола) и установление происхождения и фальсификации продукции. Перечень ненормируемых потенциально опасных загрязнителей формируется по данным научной литературы (протокол отбора публикаций PRISMA-ScR), сведениям официальных источников контрольных ведомств, данным о технологической лабильности соединений, законодательном регулировании, токсичности и чувствительности методов контроля (пределах обнаружения и количественного определения).

Одним из идентифицированных потенциальных загрязнителей является меламина, содержащий 66,6 % азота по массе и способный использоваться для фальсификации содержания белка в молочной продукции, детском питании и кормах для домашних животных. В организме меламина гидролизуется до циануровой кислоты; кроме того, меламина является метаболитом пестицида циромазина. Установленные в ряде стран МДУ меламина составляют 1 мг/кг в детском питании (0,15 мг/кг – в жидких детских смесях) и 2,5 мг/кг в остальной продукции; допустимое суточное потребление меламина – 0,2 мг/кг массы тела, циануровой кислоты – 1,5 мг/кг массы тела.

Последовательное выполнение модулей 1–4 обобщено в виде схемы алгоритма контроля нормируемых и ненормируемых загрязнителей продукции животного происхождения (Рисунок 11).

Таким образом, разработан алгоритм контроля нормируемых и ненормируемых загрязнителей продукции животного происхождения, реализуемый последовательным выполнением ретроспективного анализа с ранжированием аналитов программной моделью, скринингового исследования (80 аналитов методом ВЭЖХ-МС/МС и свыше 200 – методом УВЭЖХ-МС-ВР), подтверждающего анализа арбитражными методами и оценки риска контаминации продукции с идентификацией новых потенциальных загрязнителей, включая меламина, циромазин и циануровую кислоту, а также с расчетом контаминантной нагрузки типового суточного рациона.

В седьмой главе представлены практические аспекты реализации результатов исследования в системе государственного ветеринарного мониторинга безопасности продукции животного происхождения.

Риск-ориентированный подход к планированию и проведению мониторинговых исследований внедрен в ФГБУ «ВГНКИ». Контролю подлежат биоматериал, отбираемый прижизненно у животных в местах их выращивания и содержания и получаемый от животных в пунктах убоя; мясная продукция, включая мясо, субпродукты и жир; молочная продукция; яичная продукция; продукция водного промысла, в том числе икра; продукция пчеловодства, включая мед. План мониторинга основан на систематическом анализе данных о химических и микробиологических рисках, ассоциированных с пищевой и кормовой продукцией; учитываются результаты мониторинговых исследований за предшествующий период, данные международных и национальных систем раннего оповещения о рисках и сведения научной литературы.

Нормативно-методическая документация. Для контроля продукции животного происхождения использованы нормативные документы, приведенные в приложении А диссертации. Для определения остаточных содержаний ветеринарных лекарственных средств подготовлены методические указания (МУ) и стандарты, при разработке которых использованы подходы, предложенные в настоящей работе; часть перечня приведена в Таблице 17.

Кроме вошедших в Таблицу 17 документов, по результатам работы подготовлены еще 14 методических указаний и рекомендаций ФГБУ «ВГНКИ» и ФГБУ «ВНИИЗЖ» (всего 24 документа), а также получен патент № 2514828 С2 на способ определения микотоксинов в продуктах животного и растительного происхождения (ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2014 г.). Предложенные подходы использованы также при подготовке пяти стандартов: ГОСТ 31694, ГОСТ 32797, ГОСТ 32798, ГОСТ 32014 и ГОСТ 34533.

Результаты применения. С применением методик по указанным стандартам за 2024 г. – I квартал 2026 г. выявлено 428 случаев превышения МДУ по антибиотикам тетрациклиновой группы (ГОСТ 31694), 367 – по хинолонам (ГОСТ 32797), 297 – по сульфаниламидам, нитроимидазолам, пенициллинам и амфениколам (ГОСТ 34533), 68 – по метаболитам нитрофуранов (ГОСТ 32014) и 17 – по аминокликозидам (ГОСТ 32798). ГОСТ 31694, ГОСТ 32798 и ГОСТ 34533 предусматривают очистку экстрактов твердофазной экстракцией (ТФЭ), ГОСТ 32797 и ГОСТ 32014 позволяют проводить подготовку образцов к анализу без дополнительной ТФЭ.

Разработанная программная модель обеспечивает приоритизацию загрязнителей с учетом суточного рациона и сокращает продолжительность ретроспективного анализа обнаружений с более чем 8 ч до 10 мин, упрощая при этом регулярную актуализацию сведений для ранжирования загрязнителей.

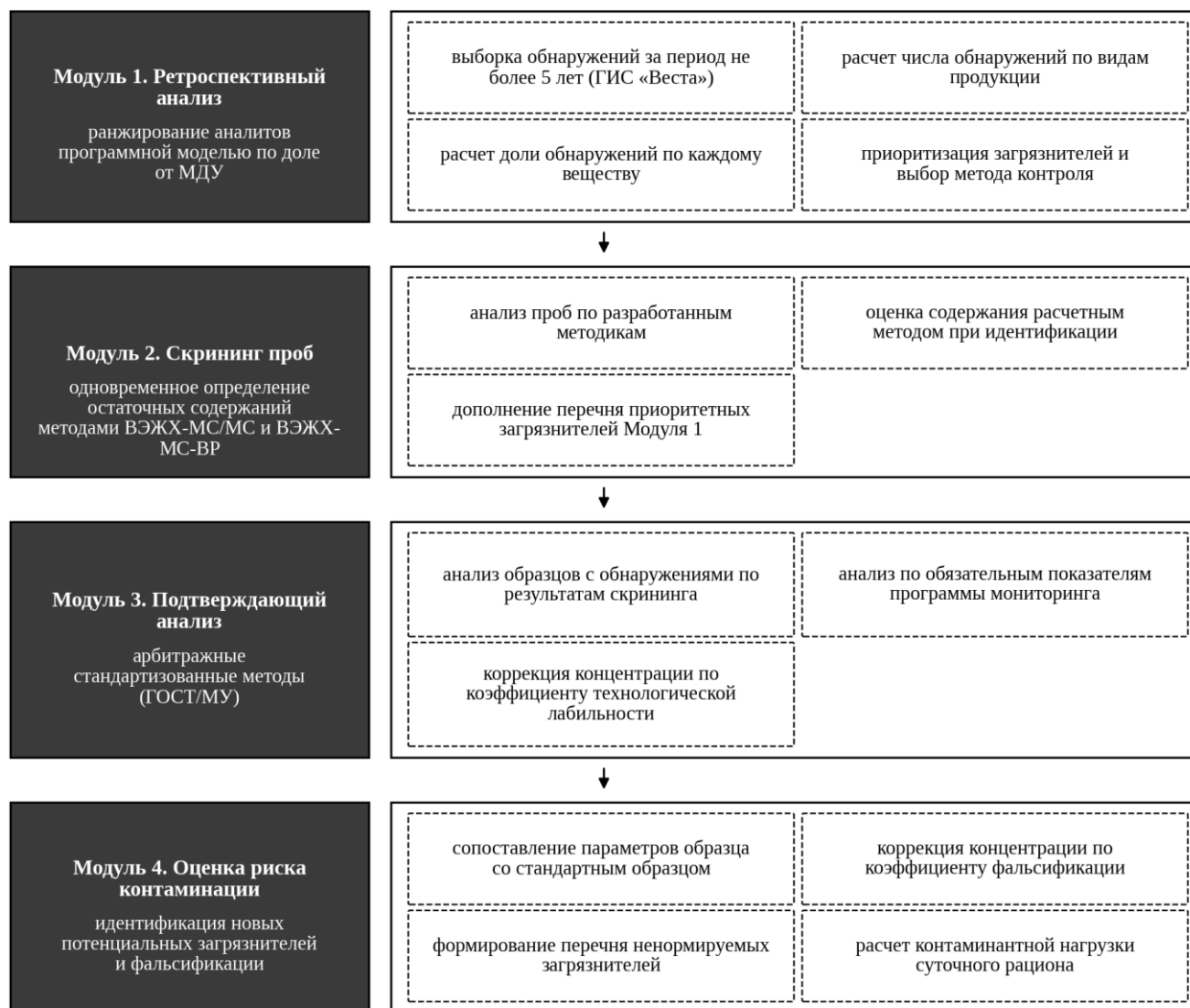


Рисунок 11 – Схема алгоритма контроля нормируемых и ненормируемых загрязнителей продукции животного происхождения

Экономический эффект рассчитан как снижение себестоимости исследований в рамках государственного мониторинга ФГБУ «ВГНКИ» при переходе от базовой схемы лабораторного контроля к схеме, реализующей модуль 2 алгоритма. В базовой схеме каждую пробу исследуют k групповыми ВЭЖХ-МС/МС-методами по ГОСТ. В новой схеме проба проходит один цикл УВЭЖХ-МС-ВР-скрининга на 214 соединений, а групповую подтверждающую методику применяют только к доле проб p , в которых скрининг выявил остаточные содержания.

Таблица 17 – Методические указания и рекомендации, разработанные с использованием результатов работы

Документ	Год	Метод	Объект
МР 76-09	2010	ВЭЖХ	углеводы в меде
МУ 80-09	2010	ВЭЖХ	меламин в молоке и молочных продуктах
МР 35-12	2012	ГЖХ	пестициды в продуктах растительного происхождения
МР 34-12	2012	ГЖХ	бисфенол А и диэтилстильбэстрол в мясе, морепродуктах, консервах, воде
МР 20-13	2013	ВЭЖХ-ДМД	стрептомицин и дигидрострептомицин в меде и молочной продукции
МУ А-1/089	2022	ВЭЖХ-МС/МС	тетрациклины в продукции животноводства
МУ А-1/090	2022	ВЭЖХ-МС/МС	хинолоны в продукции животноводства
МУ А-1/111	2024	ААС-ЭТА	мышьяк в рыбе, морепродуктах и кормовой рыбной муке
МУ А-1/148	2024	ВЭЖХ-МС/МС	аминогликозиды в продукции животноводства
МР 111	2025	изотопная МС	изотопы углерода и водорода метиловых эфиров жирных кислот в молоке

Годовой экономический эффект рассчитывали по формуле (5):

$$\mathcal{E} = N \cdot [k \cdot C_{\text{гр}} - (C_{\text{скр}} + p \cdot C_{\text{гр}})] \quad (5)$$

где N – число проб в год; k – число групп показателей, назначаемых на пробу планом мониторинга; $C_{\text{гр}}$ – стоимость исследования по одной групповой методике, тыс. руб.; $C_{\text{скр}}$ – себестоимость скринингового цикла, тыс. руб., складывающаяся из стоимости расходных материалов и изотопно-меченых стандартов, амортизации масс-спектрометра высокого разрешения и трудозатрат; p – доля проб с обнаружениями на этапе скрининга.

При $N = 4\,000$ проб в год, $k = 3$, $C_{\text{гр}} = 15$ тыс. руб., $C_{\text{скр}} = 4,5$ тыс. руб. и $p = 0,10$ рассчитанный экономический эффект составил 156 млн руб. в год.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. Проведен ретроспективный анализ данных государственной информационной системы «Веста» об обнаружении загрязнителей в продукции животного происхождения (54 597 записей за 2020–2025 гг.) и сформирован справочник 819 аналитов 45 групп показателей безопасности с медианными концентрациями обнаружения и методами определения. Установлено, что за 2020–2024 гг. зарегистрировано 6611 случаев превышения МДУ остаточных содержаний ветеринарных лекарственных средств по 14 фармакологическим группам и 7 видам продукции; чаще всего выше МДУ обнаруживались фторхинолоны (28,3 %; 1874 случая), тетрациклины (25,7 %; 1699), пенициллины (10,5 %; 692), амфениколы (10,2 %; 674) и сульфаниламиды (7,0 %; 463); наибольшее число выявлений приходится на молоко и молочную продукцию (2896) и продукцию птицеводства (2177).

2. Разработана математическая модель выбора аналитического метода контроля загрязнителей продукции животного происхождения, в которой типовой суточный рацион из 14 продуктов рассматривается как пищевая система, определяющая подмножество контролируемых аналитов; медианная концентрация аналита корректируется коэффициентами фальсификации сырья (1,5–10,0), технологической лабильности (0,10–0,80) и аналитической точности метода (1,0–1,3), скорректированная концентрация сопоставляется с МДУ, а детерминированное решающее правило по категории опасности группы показателей, жесткости нормирования и физико-химической природе аналита распределяет аналиты между методами рабочего набора. Применение правила распределило 819 аналитов справочника между четырьмя методами, замещающими 14 методов лабораторной практики: ГХ-МС (405 аналитов; 49,5 %), ВЭЖХ-МС/МС (302; 36,9 %), ААС / МС-ИСП (65; 7,9 %) и ВЭЖХ (47; 5,7 %); на гибридные методы приходится 86,3 % аналитов. Исход правила зависит от категории опасности только двух групп показателей из 45; модель реализована в виде программы, сократившей продолжительность ретроспективного анализа данных мониторинга с более чем 8 ч до 10 мин при полном совпадении с ручным расчетом.

3. Усовершенствована методология определения загрязнителей доступными хроматографическими и спектральными методами. ВЭЖХ-ДМД-методика обеспечивает одновременное определение из единой пробоподготовки QuEChERS хинолонов и хлорамфеникола в диапазоне 0,01–2 мг/кг и сульфаниламидов и амфениколов в диапазоне 0,002–1 мг/кг с пределами обнаружения 0,002–0,1 мг/кг, степенью извлечения 54–120 % и относительным стандартным отклонением не более 0,09 при апробации. ГХ-ЭЗД-методика с дериватизацией трифторуксусным ангидридом и дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракцией определяет бисфенол А (1–250 мкг/кг) и диэтилстильбэстрол (0,5–125 мкг/кг) в консервированных продуктах за время не более 1 ч при степени извлечения более 90 % и относительном стандартном отклонении не более 0,12. ААС-ЭТА-методика определения общего мышьяка в рыбе и морепродуктах с

введением серной кислоты при минерализации и стадией сушки при 200–250 °С устраняет занижение результатов стандартной схемы, достигающее 65 %: расхождение с МС-ИСП не превышает 5,3 %, результаты для стандартных образцов DOLT-2, ERM-BB422 и SRM 1566b ($15,9 \pm 0,8$; $13,3 \pm 0,6$ и $7,9 \pm 0,3$ мг/кг) совпадают с аттестованными значениями; предел обнаружения составляет 1,3 мкг/л, предел количественного определения 3,9 мкг/л, диапазон измерений от 0,4 мг/кг, пределы повторяемости и воспроизводимости 20 и 25 %, границы абсолютной погрешности 30 %.

4. Разработаны методики многокомпонентного анализа гибридными методами с изотопным разбавлением, исключаяющим построение матричных градуировочных зависимостей. ВЭЖХ-МС/МС-методика одновременного определения 80 лекарственных средств ветеринарного применения 10 химических классов с пробоподготовкой без твердофазной экстракции и УВЭЖХ-МС-ВР-методика скрининга и определения 214 лекарственных средств 16 химических классов (продолжительность анализа 50 мин) имеют пределы обнаружения 0,1–10 мкг/кг; результаты анализа молока, говядины, мяса птицы, яиц, рыбы и колбасных изделий согласуются с данными стандартизованных методик по ГОСТ при относительном стандартном отклонении не более 0,08. Матричный эффект максимален для печени и меда (более 80 %) и минимален для молока и мяса (более 40 %). ГХ-МС-ВП-методика идентифицирует и определяет содержания 46 соединений (30 пестицидов различных классов и 16 полициклических ароматических углеводородов) с разделением изобарных пар по времени удерживания, пределами обнаружения 0,01–0,5 мг/л в растворе и 0,2–10 мкг/кг после концентрирования экстрактов при относительном стандартном отклонении не более 0,05. ГХ-МС/МС-методика определения бисфенола А с экстракцией ацетонитрилом, очисткой гексаном, твердофазной экстракцией на сорбенте С18 и десятикратным концентрированием охватывает диапазон 1–100 мкг/кг при относительном стандартном отклонении не более 0,11.

5. Разработаны методические подходы к идентификации происхождения и выявлению фальсификации продукции животного происхождения. Элементный профиль (Na, Mg, P, K, Ca, Fe, Cu, Zn), определенный методом МС-ИСП, в сочетании с методом главных компонент и иерархическим кластерным анализом позволил разделить натуральную и имитированную икру лососевых (20 проб), осетровых (6 проб) и частиковых (2 пробы) рыб; первая главная компонента объясняет 44, 66 и 52 % дисперсии соответственно, наибольший вклад в дифференциацию вносят Mg, P, Zn, K и Fe. Примесь говяжьего жира в сливочном масле выявляется по сумме разностей $\delta^{13}\text{C}$ метиловых эфиров стеариновой, миристиновой и пальмитиновой кислот с погрешностью не более 0,3 % по трехзонной шкале: менее –8 % соответствует натуральному маслу, от –8 до –2 % маслу с добавлением более 15 % говяжьего жира, более –2 % говяжьему жиру; порог обнаружения фальсификации составляет 15 %. Для экспресс-контроля молочной продукции разработано УФ-устройство (390 нм), изготовленное методом 3D-печати и интегрированное со смартфоном и приложением PhotoMetrix PRO®; массовая

доля молочного жира определяется по одномерным и PLS-градуировкам ($R^2 = 0,994-1,00$) при относительном стандартном отклонении не более 0,16.

6. Разработан алгоритм контроля нормируемых и ненормируемых на территории Российской Федерации загрязнителей продукции животного происхождения, включающий четыре последовательных модуля: ретроспективный анализ данных мониторинга с ранжированием аналитов программной моделью и формированием перечня методов контроля; скрининг проб методами ВЭЖХ-МС/МС (80 аналитов) и УВЭЖХ-МС-ВР (свыше 200 аналитов) продолжительностью до 50 мин; подтверждающий анализ обнаруженных соединений и обязательных показателей безопасности стандартизованными методиками по четырем критериям идентификации; оценку риска контаминации, включающую выявление фальсификации сырья и идентификацию новых потенциальных загрязнителей (меламин, циромазин, циануровая кислота) с использованием сведений о технологической лабильности, нормировании и чувствительности методов определения.

7. Выполнена оценка риска контаминации типового суточного рациона по 14 продуктам и 45 группам показателей. Наибольшая контаминантная нагрузка установлена для рыбы по группе ПАУ, наименьшая для чая; суммарное суточное поступление пестицидов ориентировочно в 50 раз превышает количество, отвечающее содержанию аналитов этой группы. К приоритетным для включения в программы мониторинга отнесены 235 аналитов 22 групп показателей; ранжирование устойчиво к вариации коэффициентов модели в пределах $\pm 20\%$.

8. Разработанные подходы положены в основу 18 методических указаний и рекомендаций ФГБУ «ВГНКИ», 6 методических указаний и рекомендаций ФГБУ «ВНИИЗЖ» и патента РФ № 2514828 С2 и использованы при подготовке ГОСТ 31694, ГОСТ 32797, ГОСТ 32798, ГОСТ 32014 и ГОСТ 34533. Риск-ориентированный подход внедрен при планировании и проведении мониторинговых исследований ФГБУ «ВГНКИ»; с применением методик по указанным стандартам за 2024 – 2026 гг. выявлено 428 случаев превышения МДУ по антибиотикам тетрациклиновой группы, 367 по хинолонам, 297 по сульфаниламидам, нитроимидазолам, пенициллинам и амфениколам, 68 по метаболитам нитрофуранов и 17 по аминогликозидам. Оценка экономического эффекта от внедрения многокомпонентного скрининга и программной модели составила 156 млн руб. в год.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Монографии и учебные пособия

1. Лаврухина О.И., Амелин В.Г., Киш Л.К., Третьяков А.В., Пирожков М.К., Моторыгин А.В., Борунова С.М. Химия лекарственных средств и биологически активных веществ: учебное пособие. – Москва: Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов, 2024. – 128 с. – ISBN 978-5-605-31865-1. – DOI 10.18720/SPBPU/2/z24-26.

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК

2. Некрасов Д.Ю., Лаврухина О.И., Батов И.В., Третьяков А.В. Одновременное определение остаточных количеств наиболее значимых лекарственных средств для

животных в объектах окружающей среды методом хромато-масс-спектрометрии // Журнал аналитической химии. – 2026. – Т. 81. – № 4. – С. 509–521.

3. Амелин В.Г., Емельянов О.Э., Хрущев А.Ю., Третьяков А.В. Идентификация видовой принадлежности и установление фактов фальсификации икры рыб методами колебательной спектроскопии и цифровой цветометрии // Журнал аналитической химии. – 2025. – Т. 80. – № 7. – С. 656–671.

4. Амелин В.Г., Емельянов О.Э., Третьяков А.В., Гергель М.А., Зайцева Е.В. Идентификация и установление фальсификации икры лососевых рыб методами ПЦР, ИК-спектроскопии и цифровой цветометрии // Журнал аналитической химии. – 2025. – Т. 80. – № 5. – С. 459–472.

5. Третьяков А.В., Лаврухина О.И., Киш Л.К., Некрасов Д.Ю., Батов И.В., Испирян А.З., Лебедев А.М., Макаров Д.А., Козеичева Е.С., Гергель М.А. Масс-спектрометрия как инструмент обеспечения пищевой безопасности: практические аспекты применения на примере работ ФГБУ «ВГНКИ» // Журнал аналитической химии. – 2025. – Т. 80. – № 2. – С. 125–139.

6. Амелин В.Г., Лаврухина О.И., Третьяков А.В., Батов И.В., Киш Л.К. Скрининг проб и оценка остаточных содержаний 214 лекарственных средств для животных в пищевых продуктах методом хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения // Журнал аналитической химии. – 2024. – Т. 79. – № 3. – С. 244–262.

7. Амелин В.Г., Шаока З.А.Ч., Третьяков А.В. Анализ молочной продукции: определение массовой доли молочного жира и выявление фальсификации смартфоном с приложением PhotoMetrix PRO® // Журнал аналитической химии. – 2024. – Т. 79. – № 2. – С. 181–188.

8. Хишов А.С., Балагула Т.В., Лаврухина О.И., Третьяков А.В., Иванова О.Е., Козеичева Е.С. Микробиологическая контаминация продовольственного сырья и готовой пищевой продукции (аналитический обзор) // Техника и технология пищевых производств. – 2023. – Т. 53. – № 3. – С. 486–503.

9. Амелин В.Г., Шаока З.А.Ч., Большаков Д.С., Третьяков А.В. Установление фальсификации сливочного масла цветометрическим методом с использованием смартфона и хеометрического анализа // Известия высших учебных заведений. Серия Химия и химическая технология. – 2023. – Т. 66. – № 2. – С. 53–61.

10. Амелин В.Г., Шаока З.А.Ч., Большаков Д.С., Третьяков А.В. Идентификация и аутентификация молока с использованием цифровой цветометрии индикаторных тест-систем, смартфона и хеометрического анализа // Журнал аналитической химии. – 2023. – Т. 78. – № 1. – С. 24–33.

11. Амелин В.Г., Волкова Н.М., Тимофеев А.А., Третьяков А.В. Пробоподготовка QuEChERS при одновременном определении остаточных количеств хинолонов, сульфаниламидов и амфениколов в пищевых продуктах методом ВЭЖХ с детектированием с помощью диодной матрицы // Журнал аналитической химии. – 2015. – Т. 70. – № 9. – С. 948–956.

12. Амелин В.Г., Королёв Д.С., Третьяков А.В. Пробоподготовка QuEChERS при одновременном определении диэтилстильбэстрола и рактопамина в пищевых продуктах методом газожидкостной хроматографии // Журнал аналитической химии. – 2015. – Т. 70. – № 4. – С. 359–364.

13. Королёв Д.С., Амелин В.Г., Третьяков А.В. Сочетание пробоподготовки QuEChERS и дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции при определении в пищевых продуктах загрязнителей эстрогенного характера методом газожидкостной хроматографии // Вестник Московского университета. Серия 2: Химия. – 2013. – Т. 54. – № 5. – С. 267–277.

14. Амелин В.Г., Никешина Т.Б., Третьяков А.В. Идентификация и определение пестицидов и полициклических ароматических углеводов в воде и пищевых продуктах методом хромато-масс-спектрометрии // Журнал аналитической химии. – 2011. – Т. 66. – № 10. – С. 1036–1041.

Статьи в изданиях из Единого государственного перечня научных изданий

15. Лебедев А.М., Козеичева Е.С., Лаврухина О.И., Николенко Д.В., Третьяков А.В. Оптимизация пробоподготовки при определении бисфенола А в кормах, продукции животного происхождения и побочных продуктах животноводства методом ГХ-МС // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2026. – Т. 92. – № 9. – С. 90–103.

16. Шарапова Е.К., Макаров Д.А., Третьяков А.В., Ганин М.Ю. Выявление фальсификации сливочного масла говяжьим жиром методом изотопной масс-спектрометрии // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2026. – Т. 92. – № 5. – С. 20–27.

17. Шарапова Е.К., Амелин В.Г., Третьяков А.В., Емельянов О.Э. Выявление фальсификации икры рыб методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. – 2025. – Т. 25. – № 4. – С. 393–405.

18. Лаврухина О.И., Макаров Д.А., Козеичева Е.С., Балагула Т.В., Третьяков А.В., Гергель М.А., Лозовая Е.А. Химические загрязнители готовой продукции: контроль и снижение уровней контаминации // Пищевая метаинженерия. – 2025. – Т. 3. – № 2. – С. 27–78.

19. Амелин В.Г., Шаока З.А.Ч., Большаков Д.С., Третьяков А.В., Нестеренко И.С., Киш Л.К. Установление порчи морепродуктов методом цифровой цветометрии индикаторных тест-систем // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2023. – Т. 89. – № 9. – С. 25–33.

20. Амелин В.Г., Батов И.В., Лаврухина О.И., Третьяков А.В., Киш Л.К. Скрининг проб и одновременное определение остаточных содержаний 80 лекарственных средств в пищевых продуктах методом ВЭЖХ-МС/МС // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2023. – Т. 89. – № 8. – С. 12–22.

21. Грачев С.А., Третьяков А.В., Амелин В.Г. Оптимизация условий пробоподготовки при определении общего содержания мышьяка в рыбе и морепродуктах методом атомно-абсорбционной спектрометрии с электротермической атомизацией // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2023. – Т. 89. – № 1. – С. 5–10.

22. Макаров Д.А., Балагула Т.В., Третьяков А.В. Целевые исследования как инструмент повышения эффективности государственного мониторинга химических загрязнителей пищевой продукции // Journal of Agriculture and Environment. – 2022. – № 6(26). – DOI 10.23649/jae.2022.6.26.04.

23. Балагула Т.В., Лаврухина О.И., Батов И.В., Макаров Д.А., Третьяков А.В. Антибиотики в ветеринарии: загрязнение продукции животноводства // Международный вестник ветеринарии. – 2022. – № 4. – С. 174–179.

24. Амелин В.Г., Волкова Н.М., Третьяков А.В., Абраменкова О.И., Тимофеев А.А. Одновременное определение остаточных количеств антибиотиков хинолонового ряда в пищевых продуктах хроматографическим методом с использованием пробоподготовки QuEChERS // Токсикологический вестник. – 2014. – № 1(124). – С. 31–35.

25. Волкова Н.М., Амелин В.Г., Тимофеев А.А., Третьяков А.В. Одновременное определение остаточных количеств сульфаниламидов и амфениколов в пищевых продуктах методом ВЭЖХ-ДМД // Ветеринария сегодня. – 2014. – № 1(8). – С. 49–58.

26. Волкова Н.М., Амелин В.Г., Третьяков А.В., Абраменкова О.И., Тимофеев А.А. Пробоподготовка QuEChERS при одновременном определении остаточных количеств антибиотиков хинолонового ряда и хлорамфеникола в пищевых продуктах методом ВЭЖХ-ДМД // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. – 2013. – Т. 13. – № 2. – С. 30–35.

27. Амелин В.Г., Королёв Д.С., Третьяков А.В. Сочетание метода QuEChERS с дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракцией и получением производных при определении диэтилстильбэстрола и бисфенола А в продуктах питания методом газожидкостной хроматографии // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. – 2012. – Т. 12. – № 4. – С. 17–22.

28. Третьяков А.В., Абраменкова О.И., Подколзин И.В., Соловьев А.И. Идентификация географической принадлежности мяса и икры методом химического фингерпринтинга // Ветеринария сегодня. – 2012. – № 2(2). – С. 39–46.

Статьи в изданиях, индексируемых в Web of Science и Scopus

29. Khrushchev A.Yu., Lavrukina O.I., Lebedev A.M., Nikolenko D.V., Tretyakov A.V. Determination of Bisphenol A in Beverages by SERS Using Solid-Phase Extraction and In Situ Synthesis of Silver Nanoparticles // Applied Spectroscopy. – 2026. – DOI 10.1177/00037028261477144.

Патенты и свидетельства о регистрации программ для ЭВМ

30. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2026687478 Российская Федерация. Модель выбора аналитического метода контроля загрязнителей продукции животноводства на основе суточного рациона питания : № 2026686798 : заявл. 01.09.2026 : опубл. 09.09.2026 / А. В. Третьяков, В. К. Семипятный, А. В. Косарева [и др.].

31. Патент № 2514828 С2 Российская Федерация, МПК G01N 33/02, G01N 30/02. Способ определения микотоксинов в продуктах животного и растительного происхождения : № 2012129389/04 : заявл. 11.07.2012 : опубл. 10.05.2014 / В. Г. Амелин, А. В. Третьяков, Н. М. Карасева [и др.].

Публикации в других изданиях и материалах конференций

32. Третьяков А.В., Амелин В.Г., Лаврухина О.И., Балагула Т.В. Идентификация происхождения масел методом цифровой цветометрии и хеометрического анализа // В сборнике: Развитие естественных наук и образования в России. Химия, биология, география, экология, образование. Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции памяти учёного-энциклопедиста Д. И. Менделеева. – Москва, 2024. – С. 56–61.

33. Третьяков А.В., Лаврухина О.И., Киш Л.К. Масс-спектрометрия как инструмент обеспечения пищевой безопасности на примере работы Россельхознадзора // В книге: Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы. – Москва, 2023. – С. 33.

34. Белов С.В., Батов И.В., Жиякова Т.М., Мамедова Е.И., Лаврухина О.И., Амелин В.Г., Третьяков А.В., Киш Л.К. Одновременное определение остаточных количеств 80 лекарственных средств в пищевых продуктах методом ВЭЖХ-МС/МС // В книге: Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы. – Москва, 2023. – С. 65.

35. Грачев С.А., Сарханова А.А., Филиппова Ю.Н., Третьяков А.В., Амелин В.Г. Оптимизация условий пробоподготовки и анализа при определении общего мышьяка в рыбе, морепродуктах и кормах методом атомно-абсорбционной спектрометрии с электротермической атомизацией // В сборнике: Агропромышленный комплекс: состояние, проблемы, перспективы. Сборник статей XVIII Международной научно-практической конференции. – Пенза, 2023. – С. 873–877.

36. Грачев С.А., Филиппова Ю.Н., Сарханова А.А., Третьяков А.В., Амелин В.Г. Оптимизация условий пробоподготовки при определении общего мышьяка в рыбе,

морепродуктах и кормах методом атомно-абсорбционной спектроскопии с электротермической атомизацией // В сборнике: Международная научная конференция молодых учёных и специалистов, посвящённая 180-летию со дня рождения К.А. Тимирязева. Сборник статей. – Москва, 2023. – С. 393–398.

37. Грачев С.А., Филиппова Ю.Н., Сарханова А.А., Третьяков А.В., Амелин В.Г. Определение общего мышьяка в рыбе, морепродуктах и кормах методом атомно-абсорбционной спектроскопии с электротермической атомизацией. Модификация и оптимизация условий пробоподготовки и анализа // В сборнике: IV Всероссийская конференция по аналитической спектроскопии с международным участием. Материалы конференции. – Краснодар, 2023. – С. 112.

38. Грачев С.А., Сарханова А.А., Пеньков Т.Д., Третьяков А.В. Определение общего мышьяка в рыбе и морепродуктах методом атомно-абсорбционной спектроскопии с электротермической атомизацией. Модификация и оптимизация условий пробоподготовки и анализа // В книге: XXVI Всероссийская конференция молодых учёных-химиков (с международным участием). Тезисы докладов. – Нижний Новгород, 2023. – С. 265.

39. Макаров Д.А., Нестеренко И.С., Белов С.В., Третьяков А.В., Небера Е.А. Животный жир в молочной продукции: проблема фальсификации и методы контроля // Контроль качества продукции. – 2022. – № 12. – С. 42–47.

40. Королёв Д.С., Амелин В.Г., Третьяков А.В. Сочетание метода QuEChERS с дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракцией и получением производных при определении диэтилстильбэстрола и бисфенола А в воде, мясе и кормах методом газожидкостной хроматографии // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. – 2012. – Т. 10. – С. 192–204.

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- ААС – атомно-абсорбционная спектроскопия
- ААС-ЭТА – атомно-абсорбционная спектроскопия с электротермической атомизацией
- БФА – бисфенол А
- ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография
- ВЭЖХ-ДМД – высокоэффективная жидкостная хроматография с диодно-матричным детектированием
- ВЭЖХ-МС/МС – высокоэффективная жидкостная хроматография с tandemным масс-спектрометрическим детектированием
- ГЖХ – газожидкостная хроматография
- ГХ-МС – газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектированием
- ГХ-МС/МС – газовая хроматография с tandemным масс-спектрометрическим детектированием
- ГХ-МС-ВП – газовая хроматография с времяпролетным масс-спектрометрическим детектированием
- ГХ-ЭЗД – газовая хроматография с детектором электронного захвата
- ГХЦГ – гексахлорциклогексан
- ДДД – дихлордифенилдихлорэтан
- ДДЕ – дихлордифенилдихлорэтилен
- ДЖЖМЭ – дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция
- ДТФЭ – дисперсионная твердофазная экстракция
- ДЭС – диэтилстильбэстрол
- МДУ – максимально допустимый уровень
- МР – методические рекомендации
- МС-ИСП – масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой
- МУ – методические указания

МЭЖК – метиловые эфиры жирных кислот
 НПВС – нестероидные противовоспалительные средства
 ОСО – относительное стандартное отклонение
 ПАУ – полициклические ароматические углеводороды
 ПКО – предел количественного определения
 ПО – предел обнаружения
 СО – стандартный образец
 ТФА – трифторуксусный ангидрид
 ТФЭ – твердофазная экстракция
 ТЭА – триэтанолламин
 УВЭЖХ-МС-ВР – ультравысокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрией высокого разрешения
 УФ – ультрафиолетовый
 ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота
 HCA (Hierarchical Clustering Analysis) – иерархический кластерный анализ
 LSA (Least Squares Approximation) – метод наименьших квадратов
 PC1 – первая главная компонента
 PCA (Principal Component Analysis) – метод главных компонент
 PLS (Partial Least Squares) – метод частичной регрессии наименьших квадратов
 QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe) – метод пробоподготовки, основанный на экстракции ацетонитрилом с высаливанием и очистке экстракта дисперсионной твердофазной экстракцией

СПИСОК ТЕРМИНОВ

Аналит – химическое вещество (в том числе его метаболит или продукт трансформации) или химический элемент, содержание которого определяют в пробе при химическом анализе.

Контаминантная нагрузка – доля поступления аналита с продуктом суточного рациона от норматива: отношение концентрации аналита, скорректированной с учетом фальсификации сырья, технологической лабильности и аналитической точности метода, к МДУ, выраженное в процентах.

Матричный эффект – изменение аналитического сигнала аналита под влиянием сопутствующих компонентов пробы; оценивается по отношению наклонов градуировочных зависимостей, построенных в матричном экстракте и в деионизированной воде.

Суточный рацион (типовой) – совокупность блюд, распределенных по трем приемам пищи (завтрак, обед, ужин), для каждого из которых заданы продукт, размер порции и способ кулинарной обработки