МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
МИКОЛАЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Факультет ТВППТСБ
Кафедра біотехнології та біоінженерії
Спеціальність 162 - «Біотехнології та біоінженерія»
Ступінь вищої освіти «Бакалавр»

«Допустити до захисту»
Декан_____Михайло ГИЛЬ
“____” _____2026 р.

«Рекомендувати до захисту»
В.о. зав. кафедри_____Олена КАРАТЄЄВА
“____” _____2026 р.

БІОТЕХНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ МОЛОЧНИХ ПРОДУКТІВ В УМОВАХ МИКОЛАЇВСЬКОЇ РЕГІОНАЛЬНОЇ ДЕРЖАВНОЇ ЛАБОРАТОРІЇ ДЕРЖПРОДСПОЖИВСЛУЖБИ, м. МИКОЛАЇВ

04.02. - КР. 76-О. 26 05 19. 003

Виконавець:
здобувачка вищої
освіти IV курсу _____Софія ДЗЮБА

Науковий керівник:
доцент _____Олександр КРАМАРЕНКО

Рецензент:
доцент _____Євген БАРКАРЬ

Миколаїв - 2026

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ 4
РЕФЕРАТ 6
ВСТУП 8
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ 11
1.1. Характеристика мікотоксинів (афлатоксину М1) та антибіотиків як основних контамінантів молочних продуктів 11
1.1.1. Афлатоксин М1 як пріоритетний мікотоксин молочної сировини 11
1.1.2. Антибіотики як основні контамінанти молочної продукції 12
1.2. Біотехнологічні та аналітичні методи контролю якості молочних продуктів 14
1.3. Нормативно-правова база України та міжнародні стандарти контролю якості молочної продукції 18
1.4. Обґрунтування вибору методів досліджень та технології високоефективної рідинної хроматографії 21
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ, УМОВИ І МЕТОДИКА ВИКОНАННЯ РОБОТИ 23
2.1. Місце та об’єкт дослідження 23
2.2. Методика виконання роботи 25
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ 29
3.1. Характеристика об’єктів дослідження та біохімічні основи визначення мікотоксинів і антибіотиків 29
3.2. Методи та результати пробопідготовки зразків молочних продуктів 31
3.2.1. Пробопідготовка зразків молочної продукції для визначення афлатоксину М1 32
3.2.2. Пробопідготовка зразків молочної продукції для визначення

залишкових кількостей антибіотиків 34
3.3. Результати визначення афлатоксину М1 у молочних продуктах методом ВЕРХ на хроматографі UV-1000 SS 34
3.4. Результати визначення залишкових кількостей антибіотиків (хлортетрациклін, окситетрациклін, доксициклін, тетрациклін, пеніцилін, стрептоміцин) методом ВЕРХ на хроматографі UltiMate 3000 40
3.5. Технологічна частина та розрахунок матеріалів для процесу оцінки якості молочних продуктів 46
3.5.1. Опис технологічного процесу визначення афлатоксину М1 у молочних продуктах методом високоефективної рідинної хроматографії на хроматографі UV-1000 SS 46
3.5.2. Розрахунок витрат реактивів, матеріалів та лабораторного посуду для проведення аналізу 49
РОЗДІЛ 4. ОХОРОНА ПРАЦІ 52
ВИСНОВКИ 55
ПРОПОЗИЦІЇ 57
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 58
ДОДАТКИ 62

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія – метод розділення, ідентифікації та кількісного визначення компонентів сумішей у рідкій фазі під високим тиском;

AFM1 – афлатоксин М1 – токсичний метаболіт афлатоксину В1, що може міститися в молоці та молочних продуктах;

AFB1 – афлатоксин В1 – мікотоксин, що продукується грибами роду *Aspergillus* і надходить в організм тварин через корм;

EFSA – European Food Safety Authority (Європейське агентство з безпечності харчових продуктів) – науковий орган Європейського Союзу з оцінки ризиків у сфері харчової безпечності;

IARC – International Agency for Research on Cancer – міжнародне агентство з вивчення раку;

ELISA – enzyme-linked immuno sorbent assay (імуноферментний аналіз) – метод визначення антигенів або антитіл із використанням ферментної мітки;

ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція – метод ампліфікації фрагментів ДНК *in vitro;*

HACCP – Hazard Analysis and Critical Control Points (система аналізу небезпечних факторів і контролю критичних точок) – система управління безпечністю харчових продуктів;

UV – Ultraviolet detector (ультрафіолетовий детектор) – детектор у ВЕРХ, що реєструє поглинання випромінювання в УФ-діапазоні;

МРДЛ – Миколаївська регіональна державна лабораторія ДПСС Держпродспоживслужби;

МВ – методичні вказівки – нормативний документ, що

регламентує порядок проведення лабораторних досліджень;

SPE – Solid-Phase Extraction (твердофазна екстракція) – метод очищення та концентрування аналітів із розчинів;

МДР – максимально допустимий рівень – гранично допустима концентрація забруднювача у харчовому продукті.

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота на тему «Біотехнологічні аспекти контролю якості молочних продуктів в умовах Миколаївської регіональної державної лабораторії Держпродспоживслужби м. Миколаїв» виконана на базі Миколаївської регіональної державної лабораторії Держпродспоживслужби в умовах хіміко-токсикологічного відділу сектору рідинної хроматографії.

Кваліфікаційна робота містить 63 сторінки друкованого тексту. Робота складається зі вступу, чотирьох основних розділів, висновків, пропозицій, списку використаних джерел та додатків. У роботі наведено 5 таблиць, 10 рисунків, 2 додатки та використано 36 літературних джерел.

Актуальність теми зумовлена необхідністю забезпечення високого рівня безпечності молочної продукції та впровадження сучасних аналітичних методів контролю контамінантів харчових продуктів. Особливу увагу приділено визначенню афлатоксину М1 та залишкових кількостей антибіотиків як найбільш небезпечних забруднювачів молочної сировини та готової продукції.

Метою кваліфікаційної роботи було дослідження біотехнологічних аспектів контролю якості молочних продуктів в умовах лабораторії Держпродспоживслужби м. Миколаїв та оцінка ефективності застосування методу високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) для визначення афлатоксину М1 і залишкових кількостей антибіотиків.

Завданнями дослідження були: аналіз наукової літератури щодо основних контамінантів молочної продукції; характеристика афлатоксину М1 та антибіотиків як показників безпечності; вивчення сучасних методів контролю якості молочної продукції; дослідження особливостей пробопідготовки зразків; визначення вмісту афлатоксину М1 та залишкових кількостей антибіотиків методом ВЕРХ; оцінка практичного значення використання хроматографічних методів у системі державного контролю безпечності харчових продуктів.

Об’єктом дослідження були зразки молочної продукції, що надходили для лабораторного контролю до Миколаївської регіональної державної лабораторії Держпродспоживслужби.

Предметом дослідження були біотехнологічні та аналітичні методи визначення афлатоксину М1 і залишкових кількостей антибіотиків у молочних продуктах методом високоефективної рідинної хроматографії.

Методика досліджень передбачала проведення пробопідготовки зразків (екстракцію, очищення, центрифугування, фільтрацію) та їх подальший аналіз методом високоефективної рідинної хроматографії відповідно до чинних нормативних документів і лабораторних методик. Для визначення афлатоксину М1 використовували хроматограф UV-1000 SS, для антибіотиків – систему UltiMate 3000.

У результаті проведених досліджень встановлено відповідність досліджених зразків молочної продукції вимогам чинного законодавства щодо безпечності харчових продуктів. Отримані дані підтвердили ефективність застосування методу ВЕРХ для виявлення контамінантів у складних харчових матрицях.

Практичне значення роботи полягає у підтвердженні доцільності використання високоефективної рідинної хроматографії в умовах державної лабораторії для здійснення моніторингу якості та безпечності молочної продукції. Результати можуть бути використані в діяльності лабораторій Держпродспоживслужби та інших випробувальних лабораторій.

ВСТУП

Молочні продукти є важливою складовою харчування населення та повинні відповідати встановленим вимогам безпечності й якості [5]. Разом із тим молочна продукція може містити небезпечні контамінанти, зокрема мікотоксини та залишкові кількості антибіотиків, що негативно впливають на здоров'я людини [20]. Особливу небезпеку становить афлатоксин М1, що утворюється в організмі тварин унаслідок метаболізму афлатоксину В1 та може зберігатися після технологічної обробки молока. Тривале надходження афлатоксину М1 до організму людини здатне спричиняти токсичний і канцерогенний вплив [21, 23, 25].

Проблемою також є наявність залишкових кількостей антибіотиків у молочній продукції. Їх поява пов'язана з порушенням правил застосування ветеринарних препаратів і термінів їх виведення з організму тварин [30]. Це може призводити до розвитку антибіотикорезистентності та викликати алергічні реакції у людини [15, 35].

У сучасних умовах важливе значення має застосування ефективних методів лабораторного контролю якості молочної продукції [3]. Для визначення мікотоксинів та залишкових кількостей антибіотиків широко використовується високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), що характеризується високою точністю та чутливістю [18, 32]. Контроль безпечності харчових продуктів здійснюється лабораторіями Держпродспоживслужби відповідно до державних програм моніторингу [1, 7, 11].

Актуальність теми дипломної роботи зумовлена необхідністю вдосконалення лабораторного контролю молочних продуктів та підвищення достовірності визначення афлатоксину М1 і залишкових кількостей антибіотиків у молочній продукції.

Дана робота виконувалась на базі лабораторії Держпродспоживслужби м. Миколаїв та пов’язана з практичним застосуванням біотехнологічних і аналітичних методів контролю якості молочних продуктів [11].

Метою роботи було дослідження біотехнологічних аспектів контролю якості молочних продуктів в умовах лабораторії Держпродспоживслужби м. Миколаїв та оцінка ефективності застосування методів ВЕРХ для визначення афлатоксину М1 і залишкових кількостей антибіотиків.

Для досягнення поставленої мети були визначені такі завдання дослідження:

- провести аналіз наукової літератури щодо основних контамінантів молочних продуктів;
- охарактеризувати афлатоксин М1 та залишкові кількості антибіотиків як показники безпечності молочної продукції;
- проаналізувати сучасні методи контролю якості молочних продуктів;
- дослідити особливості пробопідготовки зразків молочної продукції;
- визначити вміст афлатоксину М1 методом ВЕРХ;
- провести визначення залишкових кількостей антибіотиків методом ВЕРХ;
- оцінити практичне значення використання сучасних хроматографічних методів у системі державного контролю безпечності харчових продуктів.

Об’єктом дослідження були молочні продукти, що надходили для проведення лабораторного контролю до лабораторії Держпродспоживслужби м. Миколаїв.

Предметом дослідження були біотехнологічні та аналітичні методи визначення афлатоксину М1 і залишкових кількостей антибіотиків у молочних продуктах методом високоефективної рідинної хроматографії.

Практичне значення одержаних результатів полягає у підтвердженні ефективності використання методів ВЕРХ для контролю безпечності молочної продукції в умовах державної лабораторії та можливості їх подальшого застосування у системі державного контролю харчових продуктів.

РОЗДІЛ 1
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Характеристика мікотоксинів (афлатоксину М1) та антибіотиків як основних контамінантів молочних продуктів

Молоко та молочні продукти є однією з базових складових раціону людини завдяки високій біологічній цінності, збалансованому амінокислотному складу, наявності жирів, кальцію, фосфору та вітамінів. Водночас молочна сировина є чутливою до контамінації різноманітними ксенобіотиками, що надходять як із зовнішнього середовища, так і внаслідок ветеринарного лікування тварин. До найбільш значущих забруднювачів молока належать мікотоксини, зокрема афлатоксин М1, а також залишкові кількості антибактеріальних препаратів, передусім антибіотиків [20, 30].

1.1.1. Афлатоксин М1 як пріоритетний мікотоксин молочної сировини

Афлатоксини є групою низькомолекулярних токсичних сполук, що утворюються пліснявими грибами роду *Aspergillus*, переважно *Aspergillus flavus* та *Aspergillus parasiticus.* Найбільш токсичним серед них є афлатоксин В1 (AFB1), який характеризується високою гепатотоксичністю та канцерогенністю [22, 23].

Потрапляння афлатоксину В1 у молоко відбувається опосередковано через корм тварин. Після споживання контамінованих кормів у організмі великої рогатої худоби AFB1 метаболізується в печінці з утворенням гідроксильованого метаболіту – афлатоксину М1 (AFM1), що екскретується з молоком [20, 21]. Таким чином, AFM1 є біотрансформованою формою AFB1 і вважається прямим індикатором забруднення кормової бази.

За даними Європейського агентства з безпечності харчових продуктів (EFSA), афлатоксин М1 є стійкою сполукою, що зберігається у молоці навіть після термічної обробки, включаючи пастеризацію та ультрапастеризацію [20, 21]. Це зумовлює його особливу небезпеку для харчового ланцюга людини.

Міжнародне агентство з вивчення раку (IARC) відносить афлатоксини до 1 групи канцерогенів, тобто речовин із доведеною канцерогенною дією для людини [23]. Основним органом-мішенню є печінка, де відбувається утворення ДНК-аддуктів, що може призводити до мутацій та розвитку гепатоцелюлярної карциноми.

Рівень AFM1 у молоці залежить від багатьох факторів: якості кормів, умов їх зберігання, вологості, температури та сезону року. Найвищі концентрації зазвичай фіксуються у зимово-весняний період через використання концентрованих кормів і силосу [25].

Відповідно до нормативів Європейського Союзу та України, максимально допустимий рівень афлатоксину М1 у молочних продуктах, сирому та пастеризованому молоці становить 0,050 мкг/кг [17].

Таблиця 1

Нормативи вмісту афлатоксину М1 у молочних продуктах [17]

Контамінант	Продукт	Максимально допустимий рівень
Афлатоксин М1	Молочні продукти, сире та пастеризоване молоко	0,050 мкг/кг (ЄС, Україна)

1.1.2. Антибіотики як основні контамінанти молочної продукції

Окрему групу небезпечних забруднювачів молока становлять залишкові кількості антибіотиків, що потрапляють у продукцію внаслідок

лікування тварин або порушення правил застосування ветеринарних препаратів. Найчастіше в молоці виявляють антибіотики групи тетрациклінів, пеніцилінів та аміноглікозидів [15, 30].

Антибіотики у молоці становлять ризик з трьох основних причин:

- токсичний та алергенний вплив на людину;
- формування антибіотикорезистентності мікроорганізмів;
- порушення технологічних процесів виробництва кисломолочних продуктів [15, 30, 35].

Тетрациклінова група антибіотиків. До тетрациклінів належать тетрациклін, окситетрациклін, хлортетрациклін і доксициклін. Вони є антибіотиками широкого спектра дії та пригнічують синтез білка бактеріальної клітини шляхом зв'язування з 30S-субодиницею рибосом [15].

Ці препарати широко застосовуються у ветеринарній медицині для лікування респіраторних та шлунково-кишкових інфекцій великої рогатої худоби. Однак при недотриманні термінів каренції їх залишки можуть потрапляти у молоко.

Пеніциліни**.** Пеніцилінові антибіотики є одними з найпоширеніших у ветеринарії. Вони ефективні при лікуванні маститів у корів. Проте навіть мінімальні залишкові концентрації пеніциліну можуть викликати алергічні реакції у чутливих осіб і негативно впливати на молочнокислу мікрофлору.

Аміноглікозиди (стрептоміцин). Стрептоміцин належить до аміноглікозидів і діє шляхом порушення синтезу білка бактерій. Його залишки небажані в харчових продуктах через потенційну нефротоксичну та ототоксичну дію при тривалому надходженні в організм людини [27].

Таблиця 2

Допустимі рівні залишків антибіотиків у молочних продуктах [16]

Антибіотик	Група	Максимально допустимий рівень
Пеніцилін	β-лактами	< 4 мкг/кг
Стрептоміцин	аміноглікозиди	< 200 мкг/кг

Продовження табл. 2

Тетрациклін	тетрацикліни	< 100 мкг/кг
Окситетрациклін	тетрацикліни	< 100 мкг/кг
Хлортетрациклін	тетрацикліни	< 100 мкг/кг
Доксициклін	тетрацикліни	< 100 мкг/кг

Наявність афлатоксину М1 та антибіотиків у молочних продуктах не лише становить токсикологічну небезпеку, але й впливає на їх технологічні властивості. Зокрема, антибіотики пригнічують розвиток заквашувальної мікрофлори, що ускладнює виробництво йогуртів та сирів. Афлатоксин М1, у свою чергу, є стабільним і не руйнується під час технологічної обробки, що робить його особливо небезпечним для кінцевого споживача [21, 24, 30].

Таким чином, афлатоксин М1 та залишкові кількості антибіотиків є ключовими хімічними контамінантами молока. Їх поєднаний вплив формує суттєві ризики для здоров’я людини та зумовлює необхідність постійного лабораторного контролю. Сучасні підходи до аналізу молочної сировини базуються на високочутливих методах, зокрема високоефективній рідинній хроматографії (ВЕРХ), що дозволяє виявляти слідові концентрації забруднювачів і забезпечувати відповідність продукції нормативним вимогам.

1.2. Біотехнологічні та аналітичні методи контролю якості молочних продуктів

Система контролю якості молока та молочних продуктів ґрунтується на комплексному застосуванні біотехнологічних та аналітичних методів, що забезпечують виявлення мікробіологічних забруднювачів, мікотоксинів та залишкових кількостей ветеринарних препаратів. Сучасні підходи до оцінки безпечності харчових продуктів базуються на використанні високочутливих

методів аналізу, що дозволяють визначати контамінанти у слідових концентраціях та забезпечують високу відтворюваність результатів.

Біотехнологічні методи контролю якості молочної продукції включають мікробіологічні, імунологічні та молекулярно-біологічні підходи. До класичних методів належать посіви на поживні середовища та визначення загального мікробного числа, що дозволяє оцінити санітарно-гігієнічний стан молока. Однак такі методи є досить тривалими та не завжди забезпечують достатню чутливість для раннього виявлення патогенних мікроорганізмів.

Сучасні біотехнологічні підходи передбачають використання імуноферментного аналізу (ELISA), полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) та експрес-методів на основі імунохроматографії. Імуноферментні методи дозволяють здійснювати кількісне визначення специфічних токсинів, зокрема афлатоксину М1, завдяки високій специфічності антитіло-антигенної взаємодії. ПЛР-методи забезпечують ідентифікацію ДНК патогенних мікроорганізмів навіть при мінімальній їх кількості у зразку, що робить їх особливо ефективними для контролю безпечності молочної сировини [19, 21].

Аналітичні методи контролю якості молока базуються на фізико-хімічних принципах і включають класичні та інструментальні методи аналізу. Класичні методи застосовуються для визначення базових показників якості, таких як кислотність, масова частка жиру, білка та щільність молока. Водночас вони не дозволяють виявляти специфічні токсичні домішки у низьких концентраціях, що обумовлює необхідність використання сучасних інструментальних методів.

Найбільш ефективним інструментальним методом контролю безпечності молочної продукції є високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), принцип якої полягає у розподілі компонентів між рухомою та нерухомою фазами з подальшим їх детектуванням. У сучасній лабораторній практиці використовуються ультрафіолетові та флуоресцентні детектори, що

забезпечують високу чутливість і точність визначення аналітів у складних матрицях молока [18, 32].

У хіміко-токсикологічному відділі лабораторії Держпродспоживслужби застосовуються сучасні системи рідинної хроматографії, зокрема високоефективний рідинний хроматограф «UV-1000 SS» та система UltiMate 3000 [3, 11].

Високоефективний рідинний хроматограф «UV-1000 SS» з ультрафіолетовим детектором (рис. 1) використовується для визначення мікотоксинів у харчових продуктах, кормах та сировині тваринного походження. Принцип роботи приладу базується на методі ВЕРХ із детектуванням у ультрафіолетовому діапазоні, що дозволяє здійснювати точне кількісне визначення афлатоксину М1 навіть при низьких рівнях його вмісту.

До складу приладу входять насос для подачі рухомої фази, система введення проб, хроматографічна колонка, ультрафіолетовий детектор та комп'ютерна система обробки даних. Система характеризується високою стабільністю роботи, широким діапазоном довжин хвиль та високою чутливістю аналізу.

Рис. 1. **Високоефективний рідинний хроматограф «UV-1000 SS» з ультрафіолетовим детектором [оригінальне фото]**

Рідинний хроматограф UltiMate 3000 є більш універсальною аналітичною системою, що використовується для визначення залишкових кількостей антибіотиків у молоці та молочних продуктах. Принцип роботи системи також базується на високоефективній рідинній хроматографії з використанням розподілу компонентів між рухомою та нерухомою фазами.

Система UltiMate 3000 (рис. 2) оснащена ультрафіолетовим та флуоресцентним детекторами, що забезпечує підвищену чутливість та селективність аналізу. Ультрафіолетовий детектор дозволяє визначати антибіотики у надзвичайно низьких концентраціях, що є критично важливим для контролю безпечності молочної продукції.

До складу системи входять квартерний насос для подачі елюентів, автосамплер, термостатована колонкова камера, детектори, дегазатор рухомої фази та програмне забезпечення для обробки результатів аналізу *Chromeleon.* Автоматизація процесу аналізу дозволяє мінімізувати похибки та підвищити продуктивність лабораторних досліджень.

Рис. 2. **Рідинний хроматограф UltiMate 3000 [оригінальне фото]**

Важливим етапом аналітичного контролю є підготовка проб, що забезпечує видалення сторонніх домішок та стабілізацію матриці зразка. Якість пробопідготовки безпосередньо впливає на точність та відтворюваність результатів визначення контамінантів, особливо при роботі з багатокомпонентними харчовими системами, такими як молоко та молочні продукти [4].

Застосування ВЕРХ у контролі молочної продукції дозволяє ефективно розділяти та визначати цільові сполуки, забезпечуючи високу точність і надійність результатів аналізу. Використання різних типів детекторів у системах UV-1000 SS та UltiMate 3000 дає змогу диференційовано визначати афлатоксин М1 та залишкові кількості антибіотиків, що підвищує ефективність лабораторного моніторингу.

Отже, сучасні біотехнологічні та аналітичні методи контролю якості молока є взаємодоповнюючими підходами, що забезпечують комплексну оцінку безпечності молочної продукції. Їх поєднання дозволяє своєчасно виявляти небезпечні контамінанти та гарантувати відповідність продукції нормативним вимогам [18, 32].

1.3. Нормативно-правова база України та міжнародні стандарти контролю якості молочної продукції

Система контролю якості та безпечності молочної продукції в Україні формується на основі сукупності законодавчих актів, міжнародних нормативних документів та стандартів, що регламентують вимоги до виробництва, обігу, маркування, державного нагляду та лабораторного контролю харчових продуктів. Сучасна нормативно-правова база України поступово гармонізується з вимогами Європейського Союзу, що забезпечує впровадження ризик-орієнтованого підходу до безпечності харчових продуктів та підвищення рівня захисту здоров’я споживачів.

Базовим документом у сфері харчової безпечності є Закон України «Про основні принципи та вимоги до безпечності та якості харчових продуктів» від 23.12.1997 року, що визначає правові та організаційні засади забезпечення безпечності харчових продуктів на всіх етапах харчового ланцюга. Закон встановлює обов'язки операторів ринку щодо впровадження процедур, заснованих на принципах системи HACCP, забезпечення простежуваності продукції та виконання санітарних заходів [6]. Окрему увагу приділено попередженню ризиків, пов'язаних із контамінацією харчових продуктів, зокрема молока та молочної продукції, що є чутливими до мікробіологічного псування та може містити залишки ветеринарних препаратів або інші небезпечні речовини.

Важливе значення у системі державного контролю має Закон України «Про державний контроль за дотриманням законодавства про харчові продукти, корми, побічні продукти тваринного походження, здоров'я тварин та благополуччя тварин» від 18.05.2017 року**,** що регламентує порядок здійснення інспекцій, відбору зразків та проведення лабораторних досліджень харчової продукції [7]. Відповідно до цього закону, державний контроль здійснюється на основі ризик-орієнтованого підходу, що дозволяє зосереджувати ресурси на найбільш критичних ділянках харчового ланцюга. Лабораторні дослідження є ключовим інструментом підтвердження безпечності продукції та здійснюються уповноваженими акредитованими лабораторіями.

Суттєве значення для регулювання молочної галузі має також Закон України «Про молоко та молочні продукти» від 24.06.2004 року**,** що визначає правові та організаційні засади виробництва, переробки, зберігання, транспортування та реалізації молока і молочних продуктів. Закон встановлює вимоги до показників якості та безпечності молочної сировини, а також до маркування та ідентифікації продукції [5]. Це є особливо важливим у контексті забезпечення споживчої довіри та запобігання фальсифікації молочної продукції.

Важливе значення у формуванні системи безпечності харчових продуктів, у тому числі молочної продукції, має Закон України «Про систему громадського здоров'я» від 06.09.2022 року, що визначає організаційні та правові засади функціонування системи громадського здоров'я в Україні [9]. У межах регулювання харчової безпечності цей закон спрямований на профілактику захворювань, пов'язаних із впливом небезпечних факторів харчового походження, а також на організацію моніторингу ризиків для здоров'я населення. Особливу увагу приділено системі епідеміологічного нагляду та раннього виявлення загроз, що можуть виникати внаслідок споживання неякісних або небезпечних харчових продуктів, зокрема молока та молочної продукції. Закон також визначає принципи міжсекторальної взаємодії у сфері охорони здоров'я, що дозволяє інтегрувати заходи харчової безпечності у загальну систему захисту населення.

Окрім національного законодавства, важливу роль відіграють міжнародні стандарти та гармонізовані нормативні документи, зокрема серія ISO, впроваджена в Україні як ДСТУ ISO. Одним із ключових є стандарт ДСТУ EN ISO/IEC 17025:2019, що встановлює загальні вимоги до компетентності випробувальних та калібрувальних лабораторій. Він визначає вимоги до системи управління якістю, кваліфікації персоналу, метрологічного забезпечення та достовірності результатів випробувань, що є основою роботи сучасних лабораторій контролю харчових продуктів [3].

Також у практиці лабораторного контролю молочної продукції використовуються методичні підходи, гармонізовані з міжнародними стандартами серії ISO, зокрема щодо визначення контамінантів, мікотоксинів, антибіотиків та інших небезпечних речовин. Це забезпечує уніфікацію аналітичних процедур, відтворюваність результатів та їх визнання на міжнародному рівні.

Важливим елементом сучасної системи регулювання харчової безпечності є Регламент (ЄС) № 178/2002, який закладає загальні принципи та вимоги харчового законодавства Європейського Союзу [28]. Цей документ

визначає основні принципи простежуваності харчових продуктів, аналізу ризиків та функціонування системи безпечності харчового ланцюга. Його положення активно імплементуються в українське законодавство в межах гармонізації із законодавством ЄС, що сприяє підвищенню стандартів безпечності молочної продукції та розширенню можливостей її експорту.

Таким чином, нормативно-правова база контролю якості молочної продукції в Україні є багаторівневою системою, що включає національні закони, міжнародні стандарти ISO та гармонізовані європейські регламенти. Їх сукупність забезпечує ефективне функціонування системи державного контролю, лабораторного моніторингу та гарантує належний рівень безпечності молока і молочних продуктів на всіх етапах виробництва та обігу.

1.4. Обґрунтування вибору методів досліджень та технології високоефективної рідинної хроматографії

Проведений аналіз наукової літератури свідчить, що забезпечення безпечності молочних продуктів потребує застосування високочутливих та достовірних методів контролю. Особливу увагу при оцінці якості молочної продукції приділяють визначенню афлатоксину М1 та залишкових кількостей антибіотиків, оскільки навіть незначні концентрації цих речовин можуть негативно впливати на здоров’я людини.

Для контролю безпечності молока та молочних продуктів використовуються різні методи досліджень, зокрема мікробіологічні, імунологічні та фізико-хімічні. Експрес-методи та імуноферментний аналіз дозволяють швидко виявляти можливу наявність контамінантів, однак для отримання достовірних кількісних результатів перевага надається сучасним інструментальним методам аналізу.

Серед них особливе місце займає високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), що характеризується високою чутливістю,

селективністю та відтворюваністю результатів. Метод дозволяє визначати цільові речовини у складних харчових матрицях навіть у низьких концентраціях, що є важливим при контролі безпечності молочної продукції.

На підставі проведеного огляду літератури можна зробити висновок, що використання ВЕРХ є найбільш доцільним для визначення афлатоксину М1 та залишкових кількостей антибіотиків у молочних продуктах. Висока роздільна здатність методу забезпечує надійне відокремлення аналітів від супутніх компонентів зразка та дозволяє отримувати точні результати досліджень [18, 29, 32].

Важливою перевагою технології є можливість використання різних типів детекторів залежно від об’єкта аналізу. У роботі для визначення афлатоксину М1 застосовується високоефективний рідинний хроматограф UV-1000 SS, а для визначення залишкових кількостей антибіотиків – система UltiMate 3000, що забезпечує високу чутливість та надійність отриманих результатів.

З урахуванням мети дипломної роботи та специфіки діяльності лабораторії Держпродспоживслужби м. Миколаїв вибір високоефективної рідинної хроматографії є обґрунтованим і доцільним. На нашу думку, саме цей метод найбільш повно відповідає завданням дослідження, оскільки поєднує високу точність, чутливість та практичну придатність для контролю якості й безпечності молочної продукції. Таким чином, використання технології ВЕРХ дозволяє забезпечити достовірне визначення афлатоксину М1 та залишкових кількостей антибіотиків і є оптимальним інструментальним методом для виконання даної кваліфікаційної роботи.

РОЗДІЛ 2
МАТЕРІАЛИ, УМОВИ І МЕТОДИКА ВИКОНАННЯ РОБОТИ

2.1. Місце та об’єкт дослідження

Дослідження проводилися на базі Миколаївської регіональної державної лабораторії Держпродспоживслужби (МРДЛДПСС) у 2025-2026 роках. Лабораторія є структурним підрозділом Державної служби України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів та здійснює державний контроль якості й безпечності харчових продуктів, кормів і сировини тваринного та рослинного походження, а також проводить діагностичні, санітарно-гігієнічні та хіміко-токсикологічні дослідження [1, 11].

МРДЛДПСС є акредитованою установою, що виконує лабораторний контроль у сфері ветеринарної медицини та безпечності харчових продуктів. Лабораторія забезпечує проведення випробувань відповідно до вимог міжнародного стандарту ДСТУ ISO/IEC 17025:2019 та має атестат акредитації № 20029, що підтверджує її технічну компетентність і відповідність сучасним вимогам якості [3].

У лабораторії проводяться дослідження за основними показниками: органолептичними, фізико-хімічними, мікробіологічними, мікологічними, радіологічними, паразитологічними, вірусологічними та хіміко-токсикологічними. Об’єктами досліджень є харчова продукція, молоко та молочні продукти, м’ясо та м’ясопродукти, риба, яйця, зерно, корми, комбікорми, вода, ґрунт, а також біологічний і патологічний матеріал.

До складу лабораторії входять такі структурні підрозділи:

- відділ з відбору, реєстрації зразків продукції та оформлення документів;
- хіміко-токсикологічний відділ;
- мікробіологічний відділ;

- бактеріологічний відділ;
- вірусологічний відділ;
- паразитологічний відділ;
- патоморфологічний відділ;
- радіологічний відділ;
- відділ ветеринарно-санітарної експертизи;
- відділ діагностики хвороб риб;
- серологічний відділ;
- лейкозний відділ;
- епізоотологічний відділ [11].

Об’єктом дослідження є молочні продукти, що надходили для проведення лабораторного контролю до лабораторії Держпродспоживслужби. Дослідження виконувалися у секторі рідинної хроматографії хіміко-токсикологічного відділу лабораторії.

У процесі роботи визначалися афлатоксин М1 у молочній продукції та залишкові кількості антибіотиків методом ВЕРХ. Отримані результати використовувалися для оцінки безпечності молочної сировини відповідно до чинних нормативних вимог [16, 17].

Аналітичні дослідження виконувалися із застосуванням високоефективного рідинного хроматографа «UV-1000 SS» з ультрафіолетовим детектором та системи UltiMate 3000 з ультрафіолетовим і флуоресцентним детекторами. Дане обладнання забезпечує високу точність, чутливість і відтворюваність результатів аналізу навіть при визначенні мікрокількостей речовин [18, 29, 32].

Пробопідготовка та підготовчі етапи аналізу здійснювалися з використанням центрифуг, орбітальних шейкерів, ультразвукових ванн, аналітичних ваг та систем фільтрації. Використання допоміжного лабораторного обладнання забезпечує стабільність та достовірність результатів хроматографічного аналізу [4].

Лабораторія функціонує відповідно до міжнародних стандартів якості, а персонал регулярно проходить підвищення кваліфікації, стажування та професійні тренінги, що забезпечує впровадження сучасних методів лабораторного контролю та підвищення ефективності роботи установи.

Таким чином, Миколаївська регіональна державна лабораторія Держпродспоживслужби є сучасною акредитованою установою, що забезпечує проведення високоточних досліджень безпечності харчової продукції, у тому числі молочної, кормів, а також сировини тваринного та рослинного походження відповідно до чинних нормативних вимог.

2.2. Методика виконання роботи

Методика виконання роботи базується на застосуванні методу високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) для визначення афлатоксину М1 та залишкових кількостей антибіотиків у молочній продукції. Дослідження виконувались у відповідності до нормативної методики МВ № 4082-86 для визначення афлатоксину М1 та загальноприйнятих лабораторних підходів до хроматографічного визначення антибіотиків у харчових продуктах. Об’єктом дослідження були зразки молока та молочних продуктів, що надходили до лабораторії для проведення державного контролю якості та безпечності.

Усі дослідження проводилися за єдиною загальною схемою, що включає відбір репрезентативної проби, подальшу пробопідготовку з виділенням цільових аналітів та їх очищенням, а також хроматографічний аналіз із подальшою детекцією та обробкою отриманих результатів [4].

Принципова схема (рис. 3) виконання досліджень включає послідовні етапи від відбору проб молочної продукції до отримання аналітичного сигналу після ВЕРХ-аналізу. На першому етапі здійснюється відбір проб, після чого зразки піддаються гомогенізації та поділяються на два основні аналітичні напрями – визначення афлатоксину М1 та визначення

антибіотиків. Подальша пробопідготовка для кожного напрямку включає екстракцію цільових речовин, центрифугування та фільтрацію отриманих розчинів, а також їх додаткове очищення із застосуванням відповідних методів. Після цього проводиться підготовка рухомої фази та стандартних розчинів, а завершальним етапом є хроматографічне розділення компонентів, детекція аналітів та обробка отриманих хроматограм.

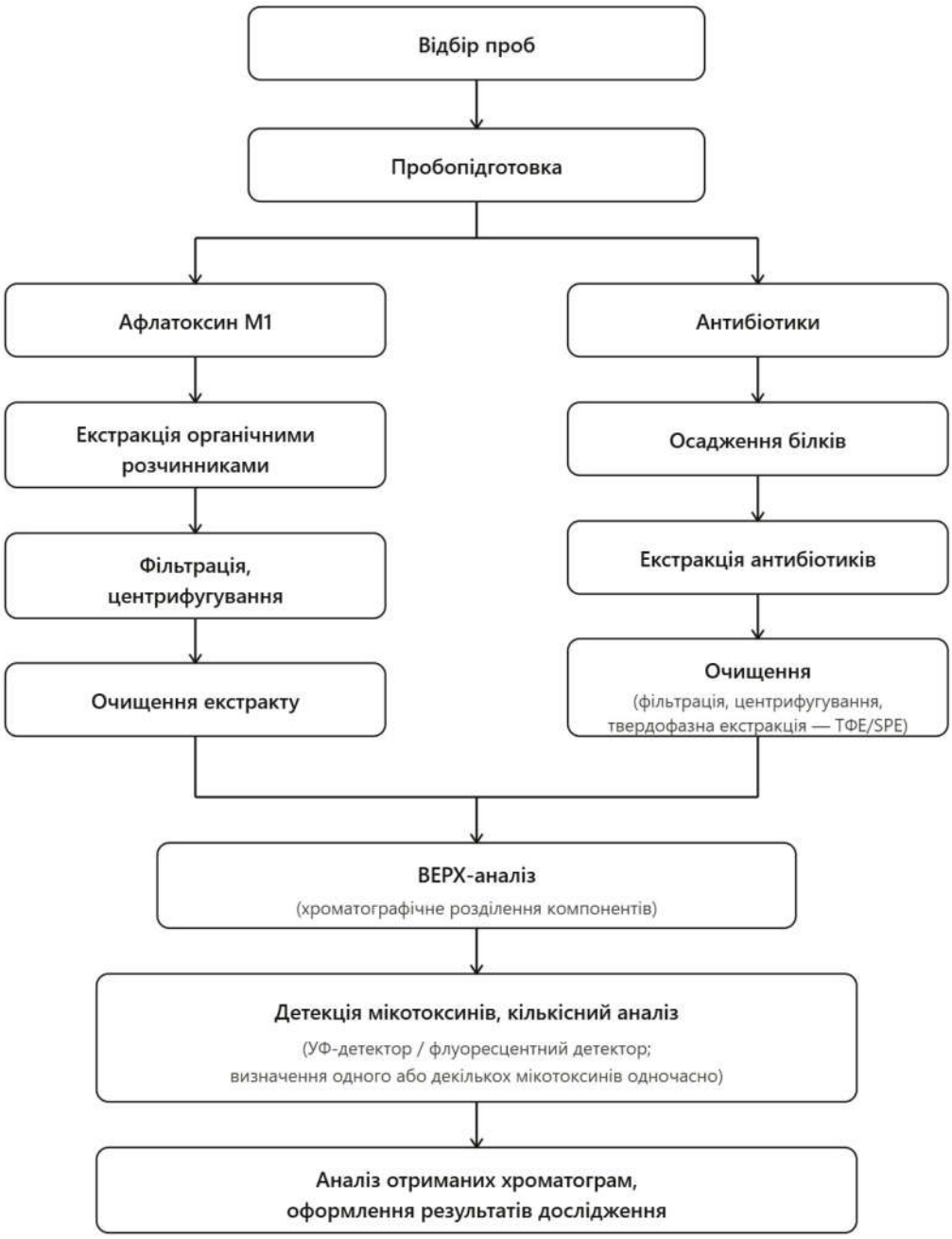


Рис. 3. **Принципова схема визначення афлатоксину M1 та залишкових кількостей антибіотиків у молочній продукції методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ)**

Пробопідготовка для визначення афлатоксину М1 у молочній продукції включає послідовну гомогенізацію зразків з метою забезпечення їх однорідності та стабільності аналітичного результату. Далі здійснюється екстракція афлатоксину М1 із матриці молока із застосуванням органічних розчинників, що забезпечують перехід цільової речовини у рідку фазу. Отриманий екстракт піддається центрифугуванню та фільтрації для видалення механічних домішок і супутніх компонентів. Наступним етапом є очищення екстракту, що дозволяє підвищити селективність визначення та зменшити вплив матричних ефектів, після чого підготовлена проба вводиться у систему ВЕРХ для подальшого аналізу.

Пробопідготовка для визначення залишкових кількостей антибіотиків у молочних продуктах має деякі відмінності та є більш багатостадійною. На початковому етапі проводиться гомогенізація та подрібнення зразків із забезпеченням рівномірного розподілу компонентів. Далі здійснюється осадження білкових фракцій, що дозволяє усунути інтерференційний вплив матриці молока. Після цього проводиться екстракція антибіотиків із використанням відповідних розчинників та ультразвукової обробки для підвищення ефективності вилучення. Отриманий екстракт фільтрують та піддають додатковому очищенню методом твердофазної екстракції (SPE), що забезпечує високу селективність та чистоту проби перед хроматографічним аналізом.

Хроматографічний аналіз виконували на системах високоефективної рідинної хроматографії UV-1000 SS та UltiMate 3000 з використанням ультрафіолетового детектора. Для визначення афлатоксину М1 застосовувались умови відповідно до МВ № 4082-86. Рухома фаза готувалась шляхом змішування 97,5 мл води, 3,5 мл льодяної оцтової кислоти та 150 мл ацетонітрилу. Швидкість потоку становила 0,5 мл/хв, довжина хвилі детекції – 365 нм, час утримування аналіту складав приблизно 5 ± 1 хвилину. Об’єм ін’єкції становив 20 мкл.

Визначення антибіотиків здійснювали на системі UltiMate 3000 в умовах УФ-детекції при довжині хвилі 280 нм, тривалість аналізу становила 25 хвилин. Рухома фаза для даного аналізу готувалась на основі суміші води або метанолу з додаванням мурашиної кислоти у співвідношенні 200 мл розчинника та 5 мл кислоти на 1000 мл розчину для фази А та В відповідно. Об'єм ін'єкції становив 20 мкл. Швидкість потоку рухомої фази встановлювали на рівні 0,1 мл/хв, а температура хроматографування становила 30 ± 1 °С.

Кількісний аналіз проводився шляхом реєстрації хроматограм, визначення часу утримування та площі піків досліджуваних речовин із подальшим порівнянням із калібрувальними стандартами. Обробка результатів здійснювалась із використанням програмного забезпечення хроматографічної системи та MS Excel, що дозволяло побудувати калібрувальні криві та розрахувати концентрації афлатоксину М1 та антибіотиків у досліджуваних зразках. Отримані результати інтерпретувалися відповідно до встановлених нормативних вимог щодо безпечності молочної продукції.

РОЗДІЛ 3
РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Характеристика об’єктів дослідження та біохімічні основи визначення мікотоксинів і антибіотиків

Об’єктами дослідження були зразки молока та молочних продуктів, що надходили до Миколаївської регіональної державної лабораторії Держпродспоживслужби для проведення державного контролю безпечності харчової продукції. Дослідження були виконані у секторі рідинної хроматографії хіміко-токсикологічного відділу лабораторії.

До переліку досліджуваної продукції входили питне молоко, масло солодковершкове, тверді сири, морозиво, сухі молочні продукти, згущене молоко з цукром, а також варене згущене молоко (іриска). Зазначені види продукції належать до найбільш поширених молочних товарів, що споживаються населенням та підлягають постійному державному моніторингу щодо наявності небезпечних контамінантів.

Молочні продукти характеризуються складною багатокомпонентною матрицею, до складу якої входять білки, жири, вуглеводи, мінеральні речовини та біологічно активні сполуки. Наявність великої кількості супутніх компонентів може впливати на результати аналітичного визначення токсичних речовин, тому для отримання достовірних результатів необхідним є проведення попередньої пробопідготовки та очищення екстрактів перед хроматографічним аналізом.

Одним із найважливіших показників безпечності молочної продукції є вміст афлатоксину М1. У межах даного дослідження проводилося визначення афлатоксину М1, що є основним мікотоксином молока та продуктів його переробки. Потрапляння афлатоксину М1 у молоко відбувається внаслідок метаболічного перетворення афлатоксину В1 в організмі дійних тварин після споживання контамінованих кормів. Через

високу стійкість до технологічної обробки афлатоксин М1 може зберігатися у готовій молочній продукції, що зумовлює необхідність його постійного лабораторного контролю.

Біохімічна основа визначення афлатоксину М1 методом високоефективної рідинної хроматографії полягає у здатності молекул токсину взаємодіяти з нерухомою та рухомою фазами хроматографічної системи. Після виділення з молочної матриці та очищення екстракту афлатоксин М1 вводиться в хроматографічну колонку, де відбувається його розділення від інших компонентів проби. Швидкість переміщення речовини через колонку залежить від фізико-хімічних властивостей молекули, зокрема її полярності та спорідненості до сорбенту колонки.

У процесі хроматографування афлатоксин М1 елююється з колонки у певний момент часу, що відповідає його часу утримування. Після виходу з колонки речовина надходить до ультрафіолетового детектора хроматографа UV-1000 SS. Принцип детектування ґрунтується на здатності молекул афлатоксину М1 поглинати ультрафіолетове випромінювання на відповідній довжині хвилі. Інтенсивність поглинання пропорційна концентрації речовини у пробі, що дає можливість здійснювати її кількісне визначення.

Другим напрямом досліджень було визначення залишкових кількостей антибіотиків у молочній продукції. У ході роботи контролювали вміст шести антибактеріальних препаратів: пеніциліну, тетрацикліну, окситетрацикліну, хлортетрацикліну, доксицикліну та стрептоміцину. Вибір зазначених сполук обумовлений їх широким використанням у ветеринарній практиці під час лікування та профілактики захворювань великої рогатої худоби.

Біохімічна основа визначення антибіотиків також базується на принципах високоефективної рідинної хроматографії. Після проведення пробопідготовки та очищення екстракту кожна із досліджуваних сполук характеризується індивідуальними фізико-хімічними властивостями, що забезпечує їх розділення у хроматографічній колонці. У результаті кожен

антибіотик формує окремий хроматографічний пік із характерним часом утримування.

Для визначення антибіотиків використовували систему високоефективної рідинної хроматографії UltiMate 3000 з ультрафіолетовим детектором. Принцип детектування ґрунтується на здатності молекул антибіотиків поглинати ультрафіолетове випромінювання у відповідному діапазоні довжин хвиль. Реєстрація інтенсивності поглинання дозволяє отримувати хроматограми, на яких кожному антибіотику відповідає окремий аналітичний сигнал.

Кількісне визначення афлатоксину М1 та антибіотиків здійснювалося шляхом порівняння площі отриманих хроматографічних піків із калібрувальними стандартами відомої концентрації. Такий підхід забезпечує високу точність і відтворюваність результатів аналізу та дозволяє визначати навіть незначні концентрації контамінантів у складних харчових матрицях.

У підсумку, досліджуваними об’єктами були різні види молочної продукції, що підлягають державному контролю безпечності. Біохімічною основою визначення афлатоксину М1 та залишкових кількостей антибіотиків є їх хроматографічне розділення у системі ВЕРХ з подальшим ультрафіолетовим детектуванням і кількісною оцінкою за допомогою калібрувальних залежностей. Такий підхід забезпечує високу селективність, чутливість та достовірність лабораторного контролю молочної продукції.

3.2. Методи та результати пробопідготовки зразків молочних продуктів

Пробопідготовка є ключовим етапом аналітичного контролю молочних продуктів, оскільки від її якості залежить точність, відтворюваність та достовірність результатів визначення контамінантів методом високоефективної рідинної хроматографії. У процесі виконання дослідження

було проведено підготовку зразків молочної продукції для подальшого визначення афлатоксину М1 та залишкових кількостей антибіотиків.

Обробка зразків здійснювалась з урахуванням їх фізико-хімічних властивостей та типу матриці. Молочні продукти є складними багатокомпонентними системами, що містять білки, жири, вуглеводи та мінеральні речовини, тому потребують багатостадійного очищення перед хроматографічним аналізом.

3.2.1. Пробопідготовка зразків молочної продукції для визначення афлатоксину М1

Для визначення афлатоксину М1 використовували метод рідинно-рідинної екстракції з подальшим очищенням екстракту та концентруванням аналіту.

На першому етапі 25 грамів зразка молочної продукції вносили у мірну колбу об’ємом 250 мл. До зразка додавали 25 мл 10% розчину хлориду натрію (NaCl) та 100 мл ацетону. Отриману суміш ретельно перемішували на лабораторному шейкері протягом 30 хвилин для забезпечення повної екстракції афлатоксину М1 із матриці продукту.

Після завершення екстракції суміш фільтрували через паперовий фільтр зі смугою «червона стрічка». Із отриманого фільтрату відбирали 50 мл, до яких додавали 20 мл 15% розчину ацетату свинцю ($Pb(CH_3COO)_2$) та 30 мл дистильованої води. Суміш витримували протягом 10 хвилин у темному місці для осадження супутніх домішок.

Далі проводили повторне фільтрування через фільтр зі смугою «синя стрічка». Із фільтрату відбирали 80 мл та переносили у ділильну лійку. На цьому етапі здійснювали очищення екстракту шляхом рідинно-рідинної екстракції гексаном (двічі), після чого проводили переекстракцію у хлороформ.

Отримані органічні фази об’єднували та додавали 5-7 г безводного сульфату натрію (Na_2SO_4) для видалення залишкової вологи. Отриману суміш витримували у темному місці протягом 30 хвилин.

Після цього екстракт фільтрували та випарювали на водяній бані до повного видалення розчинника та отримання сухого залишку. Сухий залишок розчиняли у 1 мл ацетонітрилу, після чого переносили у хроматографічну віалу для подальшого аналізу. Етапи пробопідготовки представлені на рис. 4.

Рис. 4. **Етапи пробопідготовки зразків молочної продукції для визначення афлатоксину М1 методом ВЕРХ (зважування, екстракція, фільтрація, очищення, концентрування та підготовка до аналізу) [оригінальні фото]**

3.2.2. Пробопідготовка зразків молочної продукції для визначення залишкових кількостей антибіотиків

Пробопідготовка для визначення антибіотиків у молочній продукції включала багатоступеневу систему гомогенізації, екстракції та очищення проб із урахуванням особливостей різних типів молочних продуктів.

Підготовка зразків до аналізу. Зразки молока та рідких молочних продуктів гомогенізували при температурі 20 ± 2 °C шляхом перемішування до отримання однорідної маси та негайно використовували для аналізу.

Зразки ароматизованих та однорідних молочних продуктів підігрівали до температури 32 ± 2 °C, після чого гомогенізували протягом 1-3 хвилин. Отриману масу охолоджували до температури 20 ± 2 °C та відбирали аналітичну пробу.

Сирні продукти попередньо витримували до температури 20 ± 2 °C, після чого подрібнювали до однорідної консистенції у фарфоровій ступці.

Сухі молочні продукти подрібнювали у ступці до порошкоподібного стану та ретельно перемішували.

Морозиво звільняли від глазурі та вафельних компонентів, доводили до м’якої консистенції, гомогенізували при температурі 32 ± 2 °C протягом 1-3 хвилин, після чого охолоджували до температури 20 ± 2 °C.

Тверді сири подрібнювали на тертці, після чого додатково розтирали у ступці до однорідної маси.

Масло та масляні пасти розплавляли на водяній бані при температурі 60 ± 2 °C, гомогенізували до отримання емульсії та швидко відбирали пробу для подальшого аналізу.

Підготовка проб до хроматографування. Для проб, крім молока та масла, у мірну колбу об’ємом 100 мл вносили 5,000 ± 0,001 грама молочних продуктів та додають 20 мл розчину рухомої фази А. Отриманий розчин кількісно переносили у мірну колбу 50 мл, доводили об’єм до мітки тим самим розчином та піддавали ультразвуковій обробці протягом 15 хвилин.

Після охолодження до температури 20 ± 2 °С проби фільтрували через паперовий фільтр, а за необхідності додатково центрифугували.

Для масляних зразків у мірну колбу 50 мл вносили 5,000 ± 0,001 грама продукту, додавали 35 мл рухомої фази А, проводили ультразвукову обробку протягом 15 хвилин, охолоджували та доводили до об'єму тим самим розчином. Отриману суміш центрифугували протягом 5 хвилин. Для подальшого аналізу використовували водну фазу.

Проведення твердофазної екстракції. Очищення екстрактів проводили методом твердофазної екстракції. Картридж послідовно промивали 6 мл 50% розчину метанолу та 6 мл дистильованої води. Після цього наносили підготовлену пробу.

Елюювання антибіотиків здійснювали 6 мл рухомої фази В. Отриманий елюат випарювали при температурі 40 ± 1 °С до концентрування. Після цього об'єм зменшували до 0,5 мл та використовували для хроматографічного аналізу.

Отже, пробопідготовка молочних продуктів для визначення афлатоксину М1 та залишкових кількостей антибіотиків є багатостадійним процесом, що включає гомогенізацію, екстракцію, очищення та концентрування аналітів. Використання різних підходів обумовлене відмінностями у фізико-хімічних властивостях досліджуваних речовин та складністю матриці молочних продуктів, що забезпечує високу точність подальшого хроматографічного аналізу.

3.3. Результати визначення афлатоксину М1 у молочних продуктах методом ВЕРХ на хроматографі UV-1000 SS

Визначення афлатоксину М1 у зразках молочної продукції проводили методом високоефективної рідинної хроматографії із застосуванням хроматографічної системи UV-1000 SS, оснащеної ультрафіолетовим детектором.

Після завершення пробопідготовки підготовлені екстракти переносили у хроматографічні віали та вводили до системи ВЕРХ. Перед початком аналізу проводили підготовку приладу до роботи, що включала промивання хроматографічної системи, дегазацію рухомої фази та встановлення робочих параметрів методу.

Хроматографування здійснювали відповідно до вимог методики МВ № 4082-86. Рухому фазу готували шляхом змішування води, льодяної оцтової кислоти та ацетонітрилу. Швидкість потоку рухомої фази встановлювали на рівні 0,5 мл/хв, довжину хвилі детектування – 365 нм, об’єм ін’єкції – 20 мкл. Орієнтовний час утримування афлатоксину М1 становив 5 ± 1 хвилину. Загальна тривалість одного хроматографічного аналізу складала 25 хвилин.

Після введення проби до системи відбувалося хроматографічне розділення компонентів екстракту. У процесі проходження через колонку афлатоксин М1 взаємодіяв із нерухомою фазою та елюювався у характерний для нього час утримування. Після виходу з колонки аналіт надходив до ультрафіолетового детектора, де реєструвався відповідний аналітичний сигнал у вигляді піка на хроматограмі.

Для кількісного визначення вмісту афлатоксину М1 використовували метод зовнішнього стандарту із побудовою калібрувальної кривої (рис. 5). Калібрування проводили за стандартними розчинами відомої концентрації, що дозволяло встановити залежність між площею хроматографічного піка та концентрацією досліджуваної речовини.

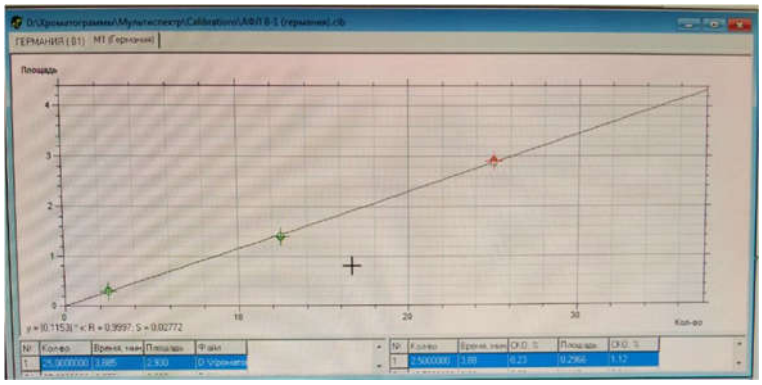
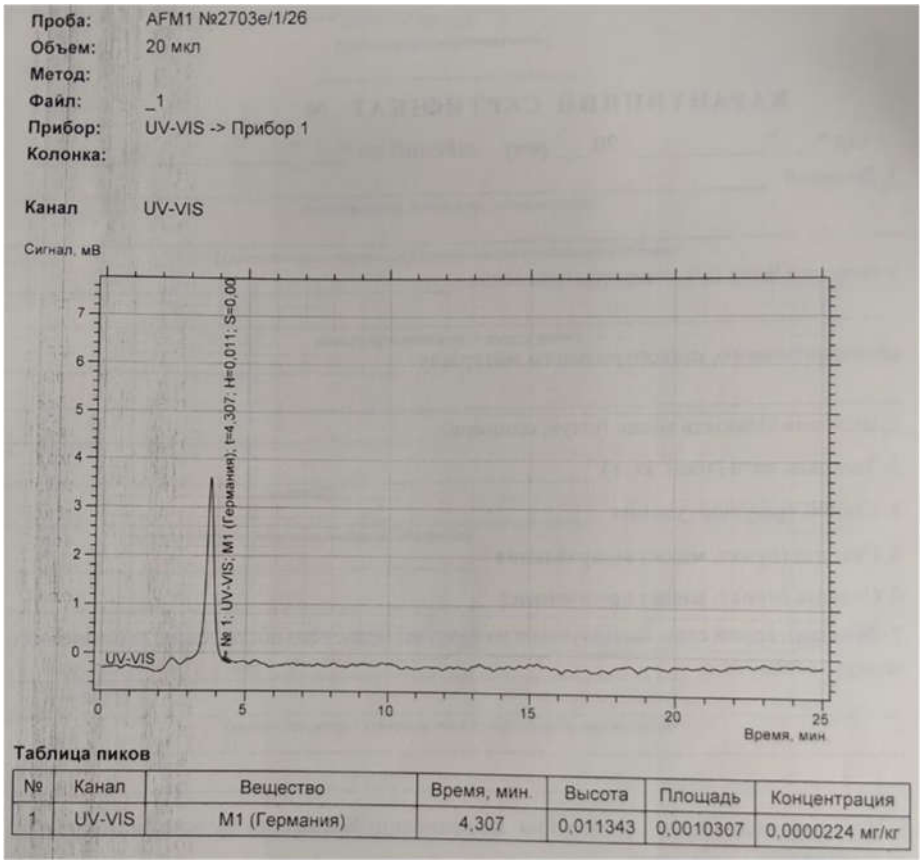


Рис. 5. **Калібрувальна крива для визначення АФМ1 методом ВЕРХ [оригінальне фото]**

Калібрувальна залежність використовувалася для автоматизованого розрахунку концентрації афлатоксину М1 у досліджуваних зразках. Після отримання хроматограми програмне забезпечення хроматографічної системи визначало площу піка афлатоксину М1 та шляхом порівняння із калібрувальною кривою розраховувало його кількісний вміст у пробі.

Приклад отриманої хроматограми наведено на рис. 6.



№	Канал	Вещество	Время, мин	Высота	Площадь	Концентрация
1	UV-VIS	M1 (Германия)	4,307	0,011343	0,0010307	0,0000224 мг/кг

Рис. 6. **Приклад хроматограми досліджуваного зразка при визначенні афлатоксину М1 [оригінальне фото]**

У ході виконання досліджень у секторі рідинної хроматографії хіміко-токсикологічного відділу Миколаївської регіональної державної лабораторії Держпродспоживслужби було проаналізовано 12 зразків молочної продукції, що надійшли для проведення державного контролю показників безпечності. На основі зареєстрованих хроматограм було визначено концентрацію афлатоксину М1 та оцінено відповідність продукції встановленим нормативним вимогам. Результати проведених досліджень наведено у таблиці 3.

Таблиця 3

Результати визначення АФМ1 у молочних продуктах методом ВЕРХ

№	№ проби	Вміст АФМ1, мг/кг	Вміст АФМ1, мкг/кг	Максимально допустимий рівень (МДР), мкг/кг	Відповідність МДР
1	№2703е/1/26	0,0000224	0,0224	0,050	Відповідає
2	№2703е/2/26	0,0000087	0,0087		Відповідає
3	№2703е/3/26	0,0000275	0,0275		Відповідає
4	№2703е/4/26	0,0000137	0,0137		Відповідає
5	№2703е/5/26	0,0000123	0,0123		Відповідає
6	№2703е/6/26	0,0000246	0,0246		Відповідає
7	№2703е/7/26	0,0000275	0,0275		Відповідає
8	№2703е/8/26	0,0000336	0,0336		Відповідає
9	№2703е/9/26	0,0000264	0,0264		Відповідає
10	№2830е/1/26	0,0000220	0,0220		Відповідає
11	№2831е/1/26	0,0000170	0,0170		Відповідає
12	№2832е/1/26	0,0000108	0,0108		Відповідає

Отримані результати свідчать про наявність афлатоксину М1 у всіх досліджених зразках, однак його концентрації знаходилися на рівнях, нижчих за максимально допустимий рівень, встановлений чинними нормативними документами.

Відповідно до нормативних вимог [16] максимально допустимий рівень афлатоксину М1 для молока та молочних продуктів становить 0,050 мкг/кг. Аналіз результатів показав, що концентрація токсину у досліджених пробах змінювалася в межах від 0,0087 до 0,0336 мкг/кг.

Найменший вміст афлатоксину М1 був встановлений у пробі №2703е/2/26 та становив 0,0087 мкг/кг, що майже у шість разів нижче

встановленого нормативного показника. Найвищий результат було зафіксовано у пробі №2703е/8/26 – 0,0336 мкг/кг, що також не перевищує максимально допустимого рівня. Середнє значення концентрації афлатоксину М1 за всіма дослідженими зразками становило близько 0,0205 ± 0,0023 мкг/кг, що більш ніж удвічі нижче нормативного значення. Отримані результати свідчать про задовільний санітарно-гігієнічний стан дослідженої молочної продукції та відсутність ризику перевищення допустимого рівня контамінації афлатоксином М1.

Для більш наочного представлення отриманих результатів було побудовано діаграму (рис. 7) розподілу концентрацій афлатоксину М1 у досліджених зразках відносно максимально допустимого рівня.

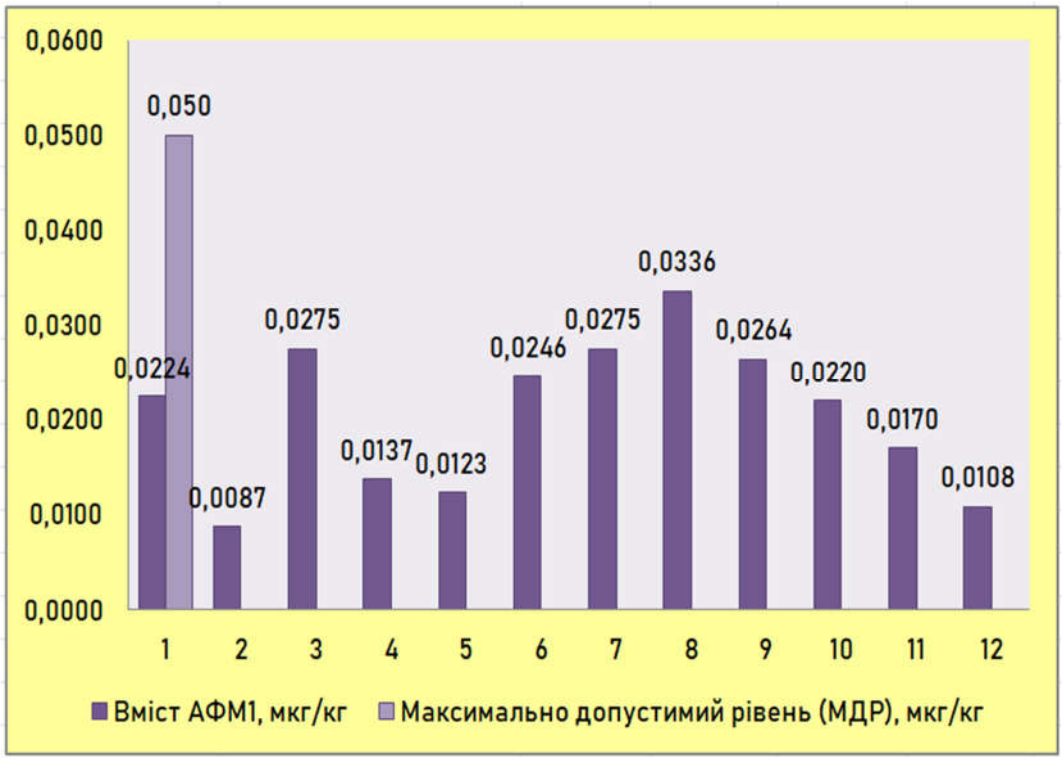


Рис. 7. **Вміст афлатоксину М1 у досліджених зразках молочної продукції відносно максимально допустимого рівня**

Як видно з рисунка 7, жоден із досліджених зразків не перевищував нормативне значення 0,050 мкг/кг. При цьому більшість отриманих результатів знаходилися в інтервалі від 0,010 до 0,030 мкг/кг, що свідчить про низький рівень забруднення продукції афлатоксином М1.

Отримані дані підтверджують ефективність проведеної пробопідготовки та придатність застосованого методу ВЕРХ для контролю вмісту афлатоксину М1 у молочних продуктах. Висока роздільна здатність хроматографічної системи UV-1000 SS забезпечила чітке відокремлення піка афлатоксину М1 від супутніх компонентів матриці та отримання відтворюваних результатів.

Практичне виконання досліджень на високоефективному рідинному хроматографі UV-1000 SS представлено у додатку А, де наведено фотографії роботи з хроматографічною системою під час проведення лабораторних досліджень.

Таким чином, за результатами проведених досліджень встановлено, що всі досліджені зразки молочної продукції відповідали вимогам безпечності щодо вмісту афлатоксину М1. Концентрації токсину перебували в межах від 0,0087 до 0,0336 мкг/кг та не перевищували максимально допустимого рівня 0,050 мкг/кг. Отримані результати підтверджують ефективність застосування методу високоефективної рідинної хроматографії для моніторингу мікотоксинів у молочній продукції та забезпечення державного контролю її безпечності.

3.4. Результати визначення залишкових кількостей антибіотиків (хлортетрациклін, окситетрациклін, доксициклін, тетрациклін, пеніцилін, стрептоміцин) методом ВЕРХ на хроматографі UltiMate 3000

Дослідження залишкових кількостей антибіотиків у зразках молочної продукції було виконано методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) із застосуванням системи UltiMate 3000 та ультрафіолетового детектування.

Перед початком аналітичного циклу хроматографічну систему готували до роботи шляхом промивання основних вузлів приладу. Окремо

здійснювали промивання інжекційної петлі буферним розчином, а також зовнішнє промивання інжекційної голки автосемплера. Даний етап забезпечував ефективне очищення елементів автосемплера, що безпосередньо контактують із пробою під час інжекції, та запобігав можливому перенесенню залишкових кількостей попередніх зразків у наступні аналітичні визначення.

Хроматографічне визначення антибіотиків здійснювали в умовах ультрафіолетового детектування при довжині хвилі 280 нм. Рухома фаза для проведення аналізу складалася з води з додаванням мурашиної кислоти (0,5%) та метанолу з додаванням мурашиної кислоти (0,5%), що забезпечувало необхідні умови розділення та стабільність сигналів досліджуваних антибіотиків у процесі хроматографування. Швидкість потоку рухомої фази становила 0,1 мл/хв, температура колонки підтримувалася на рівні 30 ± 1 °C. Тривалість хроматографічного аналізу одного зразка становила 25 хвилин.

Введення проб у систему здійснювали автоматично за допомогою автосемплера після попередньої підготовки зразків відповідно до методичних вимог. Кожен зразок ідентифікували у програмному забезпеченні хроматографа, після чого система автоматично встановлювала необхідні параметри аналізу, включаючи співвідношення рухомих фаз, градієнт елюювання та порядок вимірювання. Таким чином, процес аналізу характеризувався високим ступенем автоматизації, що мінімізувало вплив людського фактору.

Після завершення хроматографічного циклу система автоматично формувала хроматограми та проводила первинну обробку сигналів. Отримані результати відображалися у вигляді піків із характерним часом утримування для кожної досліджуваної сполуки. На основі отриманих даних виконувалося кількісне визначення залишкових кількостей антибіотиків.

Калібрувальні криві (рис. 8) будувалися шляхом аналізу стандартних розчинів відомої концентрації та подальшого співвіднесення площ піків із

концентраціями відповідних речовин. Отримані залежності характеризувалися лінійністю у робочому діапазоні концентрацій, що підтверджувало придатність методики для кількісного визначення залишкових кількостей антибіотиків у молочній продукції.

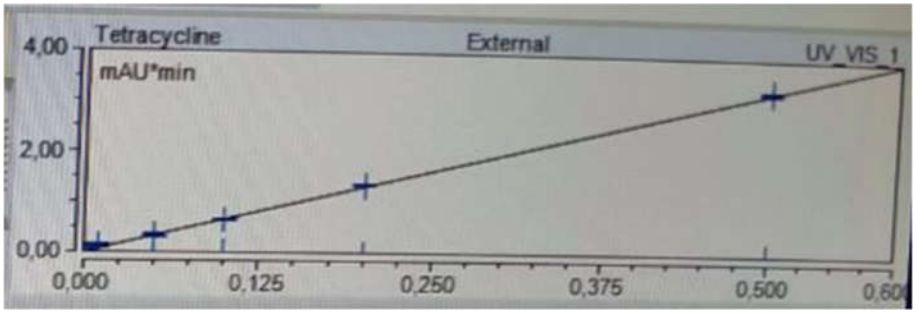


Рис. 8. **Калібрувальна крива для визначення антибіотиків (тетрациклін) методом ВЕРХ на системі UltiMate 3000 [оригінальне фото]**

Результати хроматографічного аналізу досліджуваних зразків у вигляді типових хроматограм, отриманих у режимі реального часу на комп’ютері, наведено на рисунку 9.

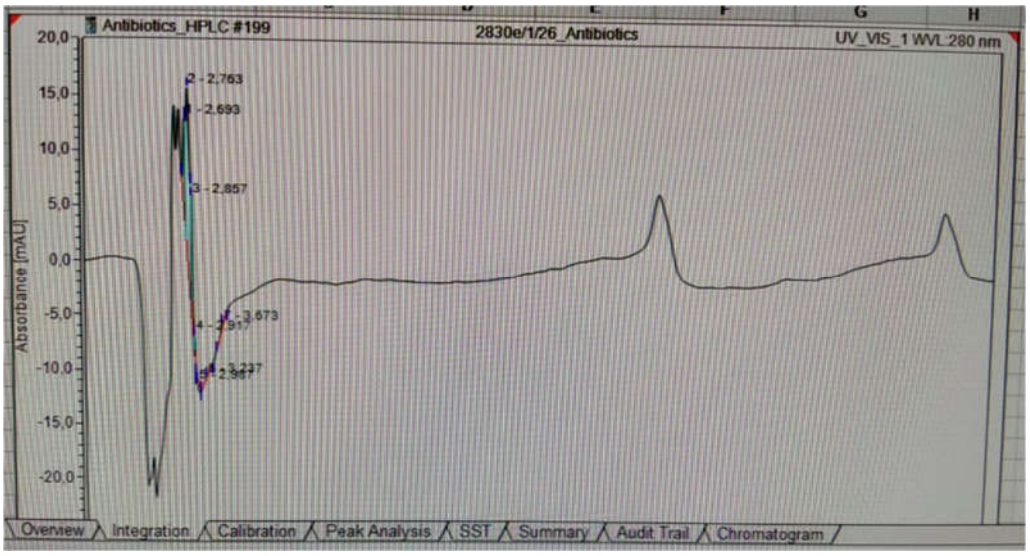
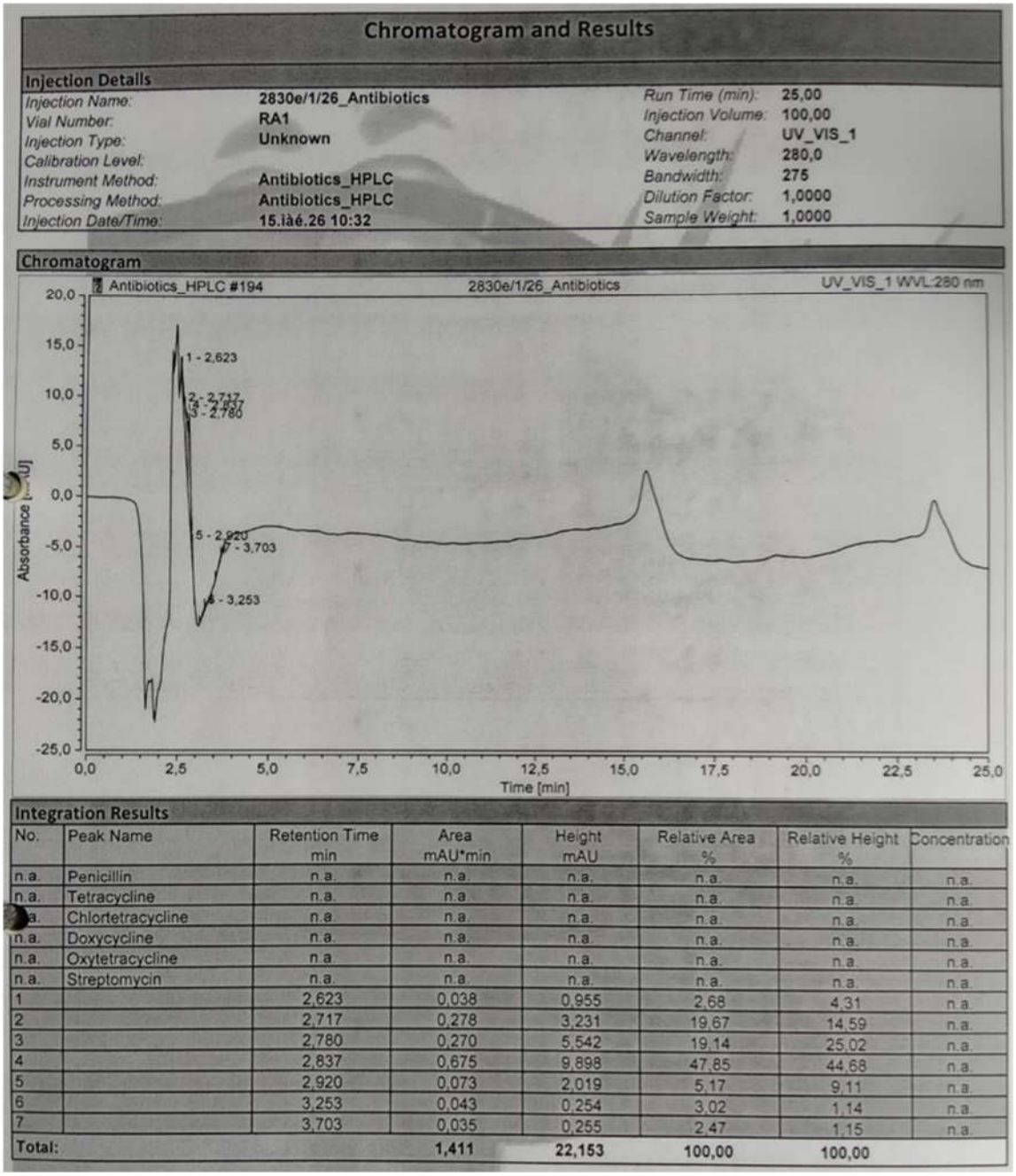


Рис. 9. **Приклад хроматограми результатів визначення антибіотиків у молочному зразку (екран комп’ютерної системи UltiMate 3000) [оригінальне фото]**

Отримані дані свідчать про повну автоматизацію процесу обробки результатів, оскільки система самостійно виконує ідентифікацію піків,

розрахунок площі сигналів та попереднє визначення концентрацій досліджуваних речовин. У подальшому результати можуть бути переглянуті у вигляді як електронних даних, так і друкованих хроматограм (рис. 10), що забезпечує їх документування та архівування.



Chromatogram and Results

Injection Details

Injection Name:	2830e/1/26_Antibiotics	Run Time (min):	25,00
Vial Number:	RA1	Injection Volume:	100,00
Injection Type:	Unknown	Channel:	UV_VIS_1
Calibration Level:		Wavelength:	280,0
Instrument Method:	Antibiotics_HPLC	Bandwidth:	275
Processing Method:	Antibiotics_HPLC	Dilution Factor:	1,0000
Injection Date/Time:	15.îàé.26 10:32	Sample Weight:	1,0000

Chromatogram

Integration Results

No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Concentration
n.a.	Penicillin	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
n.a.	Tetracycline	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
n.a.	Chlortetracycline	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
n.a.	Doxycycline	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
n.a.	Oxytetracycline	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
n.a.	Streptomycin	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
1		2,623	0,038	0,955	2,68	4,31	n.a.
2		2,717	0,278	3,231	19,67	14,59	n.a.
3		2,780	0,270	5,542	19,14	25,02	n.a.
4		2,837	0,675	9,898	47,85	44,68	n.a.
5		2,920	0,073	2,019	5,17	9,11	n.a.
6		3,253	0,043	0,254	3,02	1,14	n.a.
7		3,703	0,035	0,255	2,47	1,15	n.a.
Total:			1,411	22,153	100,00	100,00	

Рис. 10. **Приклад друкованої хроматограми результатів визначення залишкової кількості антибіотиків [оригінальне фото]**

Друковані результати аналізу використовуються для офіційного оформлення протоколів випробувань та подальшого підтвердження відсутності або наявності залишкових кількостей антибактеріальних речовин

у харчовій продукції. У ході дослідження було сформовано узагальнену таблицю результатів (табл. 4) визначення залишкових кількостей антибіотиків у всіх проаналізованих зразках молочної продукції.

Таблиця 4

Результати визначення залишкових кількостей антибіотиків у зразках молочної продукції методом ВЕРХ

Аналізовані антибіотики		Пеніцилін	Стрептоміцин	Хлортетрациклін	Окситетрациклін	Тетрациклін	Доксициклін	Відповідність МДР
Максимально допустимий рівень (МДР), мкг/кг		< 4	< 200	< 100				
	№ проби							
1	№2703е/1/26	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	Відповідає
2	№2703е/2/26	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	Відповідає
3	№2703е/3/26	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	Відповідає
4	№2703е/4/26	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	Відповідає
5	№2703е/5/26	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	Відповідає
6	№2703е/6/26	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	Відповідає
7	№2703е/7/26	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	Відповідає
8	№2703е/8/26	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	Відповідає
9	№2703е/9/26	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	Відповідає
10	№2830е/1/26	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	Відповідає
11	№2831е/1/26	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	Відповідає
12	№2832е/1/26	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	Відповідає

Примітка. н/в – не виявлено.

Загалом у межах роботи було проаналізовано 12 зразків молочної продукції різних видів. Всі дослідження виконувалися відповідно до нормативного документа МВ МРДЛДПСС 7.2-01-02-02-08.

Аналіз отриманих результатів показав, що у всіх досліджуваних зразках молочної продукції залишкові кількості антибіотиків (пеніцилін, стрептоміцин, тетрациклін та його похідні – окситетрациклін, хлортетрациклін, доксициклін) не виявлені. У всіх випадках зафіксовані значення відповідали показнику «н/в» (не виявлено), що свідчить про відсутність перевищень максимально допустимих рівнів відповідно до чинних нормативних вимог.

Порівняльний аналіз із гранично допустимими рівнями (МДР) підтвердив, що всі досліджені зразки відповідають вимогам безпечності харчових продуктів. Таким чином, порушень щодо використання антибактеріальних препаратів не встановлено.

Додатково слід відзначити, що відсутність антибіотиків у досліджених зразках свідчить про дотримання ветеринарно-санітарних вимог у господарствах-постачальниках молочної сировини, а також ефективність контролю термінів каренції після застосування антибактеріальних препаратів у тваринництві.

Практичне виконання досліджень на високоефективному рідинному хроматографі UltiMate 3000 представлено в додатку А, де наведено матеріали, що ілюструють проведення лабораторних аналізів на хроматографічній системі.

Узагальнюючи отримані результати, слід зазначити, що застосована методика ВЕРХ є високочутливою, відтворюваною та придатною для контролю залишкових кількостей антибіотиків у молочній продукції. Автоматизація процесу аналізу забезпечує мінімізацію похибок та підвищує надійність отриманих результатів.

У результаті проведених досліджень встановлено, що у всіх проаналізованих зразках молочної продукції залишкові кількості

антибіотиків не виявлені. Отримані дані свідчать про відповідність продукції вимогам чинних нормативних документів та її безпечність для споживача. Застосована методика ВЕРХ на системі UltiMate 3000 забезпечує високу точність і надійність контролю антибіотиків у складних харчових матрицях, що підтверджує її доцільність для використання у державному лабораторному моніторингу.

3.5. Технологічна частина та розрахунок матеріалів для процесу оцінки якості молочних продуктів

Контроль вмісту афлатоксину М1 у молочній продукції є важливим етапом забезпечення її безпечності та відповідності вимогам чинних нормативних документів. Афлатоксин М1 належить до найбільш небезпечних мікотоксинів, що можуть потрапляти в молоко та молочні продукти внаслідок споживання тваринами кормів, контамінованих афлатоксином В1. Тому своєчасне та достовірне визначення його вмісту є необхідною умовою здійснення державного контролю якості харчової продукції.

3.5.1. Опис технологічного процесу визначення афлатоксину М1 у молочних продуктах методом високоефективної рідинної хроматографії на хроматографі UV-1000 SS

Технологічний процес визначення афлатоксину М1 у молочних продуктах методом високоефективної рідинної хроматографії включає послідовні етапи відбору проб, пробопідготовки, підготовки хроматографічної системи, проведення хроматографічного аналізу та обробки отриманих результатів.

Першим етапом є відбір репрезентативної проби молочної продукції відповідно до вимог нормативної документації. Відібрана проба повинна

максимально відображати якісний склад досліджуваної партії продукції та забезпечувати достовірність отриманих результатів.

Після відбору проби здійснюють підготовку лабораторного посуду, допоміжного обладнання та реактивів, необхідних для проведення дослідження. На даному етапі готують мірні колби, ділильні лійки, фільтрувальні матеріали, віали для хроматографічного аналізу, а також перевіряють наявність та придатність реактивів, що використовуються під час пробопідготовки та виконання аналізу.

Наступним етапом є пробопідготовка зразка. Для цього 25 г досліджуваної молочної продукції поміщають у колбу об’ємом 250 мл, додають 25 мл 10 % розчину хлориду натрію та 100 мл ацетону. Отриману суміш перемішують на орбітальному шейкері протягом 30 хвилин. У процесі перемішування відбувається екстракція афлатоксину М1 із досліджуваної матриці та його перехід у рідку фазу.

Після завершення екстракції суміш фільтрують через паперовий фільтр типу «червона стрічка». Із отриманого фільтрату відбирають 50 мл та переносять у чисту лабораторну ємність. До відібраного об’єму додають 20 мл 15 % розчину ацетату свинцю та 30 мл дистильованої води. Отриману суміш витримують протягом 10 хвилин у темному місці для осадження супутніх компонентів досліджуваної матриці та подальшого очищення екстракту.

Після витримування розчин повторно фільтрують через паперовий фільтр типу «синя стрічка». Відфільтрований розчин у кількості 80 мл переносять у ділильну лійку для проведення подальшого очищення. На даному етапі здійснюють дворазове очищення екстракту гексаном (по 30 мл) для видалення жирових компонентів, які можуть впливати на точність хроматографічного визначення.

Після видалення жирової фракції проводять переекстракцію афлатоксину М1 хлороформом (30 мл). Додатково жировий шар екстрагують сумішшю хлороформу з ацетоном 3:1 (45 мл). Усі отримані хлороформні

екстракти об’єднують та додають 5-7 г безводного сульфату натрію для видалення залишкової вологи. Підготовлений екстракт витримують у темному місці протягом 30 хвилин.

Після завершення осушування екстракт фільтрують через фільтрувальний папір для видалення частинок сульфату натрію та інших механічних домішок. Очищений хлороформний екстракт випарюють на водяній бані до сухого залишку. Даний етап забезпечує концентрування аналіту та підвищення чутливості подальшого хроматографічного аналізу.

Отриманий сухий залишок розчиняють у 1 мл ацетонітрилу та переносять у хроматографічну віалу. Підготовлений розчин використовують для подальшого визначення афлатоксину М1 методом високоефективної рідинної хроматографії.

Перед проведенням аналізу здійснюють підготовку хроматографічної системи UV-1000 SS. Підготовка включає промивання системи ацетонітрилом протягом 30-35 хвилин для очищення магістралей, насоса, інжектора та хроматографічної колонки від залишків попередніх аналізів і забезпечення стабільної роботи обладнання.

Одночасно проводять приготування рухомої фази. Для цього змішують 97,5 мл води, 3,5 мл льодяної оцтової кислоти та 150 мл ацетонітрилу. Приготовану рухому фазу ретельно перемішують і використовують як елюент для хроматографічного розділення компонентів проби.

Після підготовки системи встановлюють робочі параметри аналізу. Швидкість потоку рухомої фази становить 0,5 мл/хв, довжина хвилі детектування – 365 нм, об’єм ін’єкції – 20 мкл. Орієнтовний час утримування афлатоксину М1 за зазначених умов становить 5 ± 1 хвилину. Загальна тривалість одного хроматографічного визначення складає 25 хвилин.

Підготовлену пробу вводять у систему через інжектор хроматографа. Після введення зразка його потік переноситься рухомою фазою через хроматографічну колонку, де відбувається розділення компонентів проби

відповідно до їх фізико-хімічних властивостей та взаємодії зі стаціонарною фазою колонки.

Після проходження через колонку компоненти надходять до ультрафіолетового детектора, де здійснюється детекція афлатоксину М1 на довжині хвилі 365 нм. Отримані сигнали реєструються програмним забезпеченням у вигляді хроматограми.

Завершальним етапом є обробка результатів аналізу. Після закінчення хроматографічного розділення проводять аналіз отриманої хроматограми, визначають пік афлатоксину М1 за характерним часом утримування та виконують його ідентифікацію. Для кількісного визначення на отриману хроматограму накладають калібрувальну криву, побудовану за стандартними розчинами афлатоксину М1.

На підставі калібрувальної залежності програмне забезпечення автоматично розраховує концентрацію афлатоксину М1 у досліджуваному зразку. Отримані результати оформлюють у вигляді протоколу випробувань та друкованої хроматограми із зазначенням концентрації мікотоксину в пробі.

Апаратна блок-схема процесу визначення афлатоксину М1 у молочних продуктах методом високоефективної рідинної хроматографії на хроматографі UV-1000 SS наведена у додатку Б.

3.5.2. Розрахунок витрат реактивів, матеріалів та лабораторного посуду для проведення аналізу

Важливою складовою технологічного процесу лабораторного контролю якості молочних продуктів є визначення потреби в реактивах, витратних матеріалах та лабораторному посуді. Розрахунок витрат дозволяє оцінити ресурсне забезпечення дослідження, оптимізувати використання матеріалів та забезпечити безперервність проведення лабораторних випробувань.

Розрахунок витрат реактивів, матеріалів та лабораторного посуду для визначення афлатоксину М1 методом високоефективної рідинної хроматографії наведено для однієї проби дослідження (табл. 5).

Таблиця 5

Витрати реактивів, матеріалів та лабораторного посуду для проведення аналізу однієї проби

Найменування реактиву, матеріалу або лабораторного посуду	Витрата на 1 пробу
Зразок молочної продукції	25 г
10 % розчин хлориду натрію	25 мл
Ацетон	100 мл
15 % розчин ацетату свинцю	20 мл
Дистильована вода	30 мл
Гексан	60 мл
Хлороформ	30 мл
Суміш хлороформу з ацетоном (3:1)	45 мл
Безводний сульфат натрію	5-7 г
Ацетонітрил для розчинення сухого залишку	1 мл
Паперовий фільтр «червона стрічка»	1 шт.
Паперовий фільтр «синя стрічка»	2 шт.
Хімічна склянка	2 шт.
Колба 250 мл	3 шт.
Мірний циліндр 100 мл	2 шт.
Лійка	3 шт.
Ділильна лійка	1 шт.
Випарювальна чашка	1 шт.
Хроматографічна віала	1 шт.
Рухома фаза (елюент)	12,5 мл

Витрата рухомої фази (елюенту) для проведення одного хроматографічного аналізу розраховується на основі встановленої швидкості потоку та тривалості аналізу і визначається за формулою:

$$0{,}5 \text{ мл/хв} \times 25 \text{ хв} = 12{,}5 \text{ мл}.$$

Таким чином, витрата рухомої фази на одну пробу становить 12,5 мл.

У даному підрозділі наведено технологічний підхід до проведення лабораторного контролю якості молочних продуктів на вміст афлатоксину М1 методом високоефективної рідинної хроматографії, а також виконано розрахунок витрат основних реактивів, матеріалів та лабораторного посуду, необхідних для проведення одного аналітичного визначення.

Запропонований технологічний процес охоплює всі основні етапи дослідження, включаючи відбір проб, багатоступеневу пробопідготовку, очищення екстракту, підготовку рухомої фази, проведення хроматографічного аналізу та обробку отриманих результатів із використанням ультрафіолетового детектування та калібрувальних залежностей.

Розрахунок витрат матеріалів дозволяє обґрунтувати ресурсне забезпечення аналітичного процесу, оптимізувати використання реактивів та забезпечити відтворюваність лабораторних досліджень. Отримані дані можуть бути використані для планування обсягів лабораторних робіт та оцінки потреб у витратних матеріалах при здійсненні контролю безпечності молочної продукції.

РОЗДІЛ 4
ОХОРОНА ПРАЦІ

Охорона праці в умовах лабораторії Держпродспоживслужби є невід'ємною складовою організації виробничого процесу та спрямована на збереження життя і здоров'я працівників під час виконання лабораторних досліджень. Вона регламентується чинним законодавством України, зокрема Законом України «Про охорону праці», а також низкою підзаконних нормативних актів, методичних рекомендацій і внутрішніх інструкцій лабораторії [8, 12, 13].

Організація системи охорони праці в лабораторії передбачає комплексний підхід, що включає правове, організаційне, технічне та санітарно-гігієнічне забезпечення безпеки. Працівники допускаються до виконання лабораторних робіт лише після проходження вступного та первинного інструктажу, а також регулярного повторного навчання з питань охорони праці. Уся документація щодо безпеки праці ведеться відповідно до встановлених вимог, а результати інструктажів фіксуються у спеціальних журналах [8, 13].

У процесі роботи в лабораторії працівники зазнають впливу різних шкідливих і небезпечних виробничих факторів. До фізичних факторів належать шум, що виникає під час роботи аналітичного обладнання, центрифуг та ультразвукових ванн, недостатнє або надмірне освітлення робочих зон, а також ризик ураження електричним струмом при експлуатації електрообладнання. Для зменшення їх впливу здійснюється регулярний контроль технічного стану обладнання, перевірка електромережі та забезпечення належного рівня освітлення робочих місць [12, 13].

Хімічні фактори є визначальними для лабораторій, у яких проводяться дослідження молочної продукції методом ВЕРХ. У процесі роботи використовуються органічні розчинники, зокрема ацетонітрил, метанол, гексан, ацетон, хлороформ та петролейний ефір, а також кислоти – оцтова та

сульфатна кислота (H_2SO_4). Дані речовини можуть чинити токсичний, подразнюючий або канцерогенний вплив при недотриманні правил безпеки. Саме тому всі операції з хімічними реагентами виконуються у витяжних шафах із дотриманням встановлених вимог безпеки [13].

Окрему роль відіграють психофізіологічні фактори, пов'язані з необхідністю високої точності вимірювань, тривалою роботою з лабораторним обладнанням, концентрацією уваги та виконанням монотонних операцій. Такі умови можуть призводити до підвищеної втоми, зниження працездатності та психоемоційного напруження, що враховується під час організації режиму праці та відпочинку персоналу.

Важливим елементом безпеки є правильна організація роботи при проведенні лабораторних досліджень. Робота з біологічними зразками та хімічними речовинами проводиться виключно у спеціально обладнаних приміщеннях або витяжних шафах. Забороняється виконання операцій поза встановленими робочими зонами. Особлива увага приділяється дотриманню правил роботи з легкозаймистими речовинами, що використовуються при пробопідготовці для ВЕРХ, з метою запобігання пожежонебезпечним ситуаціям.

У разі розливу органічних розчинників або кислот працівник повинен негайно повідомити відповідальну особу, обмежити доступ до небезпечної ділянки та провести локалізацію забруднення із застосуванням сорбуючих матеріалів або серветок. Після цього поверхню обробляють дезінфікуючими та нейтралізуючими засобами відповідно до інструкцій з охорони праці. При потраплянні хімічних речовин на шкіру або слизові оболонки необхідно негайно промити уражену ділянку великою кількістю проточної води та звернутися за медичною допомогою [12, 13].

Усі працівники зобов'язані використовувати засоби індивідуального захисту, а саме лабораторні халати, нітрилові рукавички, захисні окуляри, а за необхідності – респіратори. Дотримання правил особистої гігієни є обов'язковим, забороняється вживання їжі та напоїв у лабораторних

приміщеннях, а також необхідне ретельне миття рук після завершення роботи [12, 13].

Електробезпека забезпечується шляхом регулярного огляду обладнання, перевірки заземлення та контролю технічного стану електромережі. Особливу увагу приділено системам ВЕРХ, оскільки вони підключені до електромережі та потребують належного технічного обслуговування і контролю справності електронних компонентів. Працівникам забороняється самостійно виконувати ремонт обладнання без відповідної кваліфікації [12, 13].

Протипожежна безпека в лабораторії забезпечується шляхом оснащення приміщень первинними засобами пожежогасіння, включаючи вогнегасники та пожежні щити. Усі працівники проходять інструктажі з пожежної безпеки та ознайомлюються з планом евакуації. Особливу увагу приділено роботі з органічними розчинниками, що є легкозаймистими, тому їх використання регламентується суворими правилами безпеки [13, 14].

Санітарно-гігієнічні умови праці підтримуються шляхом регулярного прибирання приміщень, провітрювання та дезінфекції робочих поверхонь (5 % розчином хлораміну, етиловим спиртом 70 %, дезінфікуючими засобами на основі активного хлору). Температурний режим у лабораторних приміщеннях підтримується в межах 18-25 °С, а відносна вологість повітря - не вище 60 %. Такі умови є необхідними для стабільної роботи аналітичного обладнання та забезпечення безпечних умов праці персоналу [11, 12].

Контроль за дотриманням вимог охорони праці здійснюється відповідальними особами лабораторії. Працівники регулярно проходять навчання та перевірку знань, що дозволяє підвищити рівень безпеки та мінімізувати ризики виникнення аварійних ситуацій. Така система організації праці забезпечує безпечне виконання лабораторних досліджень і стабільне функціонування лабораторії в цілому [8, 11, 12].

ВИСНОВКИ

1. У результаті виконання кваліфікаційної роботи було проведено комплексне дослідження безпечності молочної продукції шляхом визначення вмісту афлатоксину М1 та залишкових кількостей антибіотиків методом високоефективної рідинної хроматографії. На підставі аналізу наукової літератури, нормативно-правової бази та сучасних підходів до контролю якості харчових продуктів встановлено, що афлатоксин М1 і антибіотики належать до найбільш небезпечних контамінантів молочної продукції, наявність яких може становити потенційну загрозу для здоров'я споживачів. У зв'язку з цим застосування високочутливих аналітичних методів контролю є необхідною складовою системи забезпечення безпечності харчових продуктів.

2. У ході виконання роботи було вивчено особливості використання методу високоефективної рідинної хроматографії для контролю якості молочної продукції та обґрунтовано доцільність його застосування для визначення афлатоксину М1 і залишкових кількостей антибіотиків. Встановлено, що метод ВЕРХ характеризується високою селективністю, чутливістю та відтворюваністю результатів, що забезпечує можливість достовірного визначення навіть незначних концентрацій контамінантів у складних харчових матрицях. Для проведення досліджень використовували високоефективний рідинний хроматограф UV-1000 SS для визначення афлатоксину М1 та систему UltiMate 3000 для визначення залишкових кількостей антибіотиків.

3. Під час виконання досліджень було проведено пробопідготовку зразків молочної продукції відповідно до чинних нормативних методик. Встановлено, що якісне проведення етапів екстракції, очищення, центрифугування та фільтрації є необхідною умовою отримання достовірних результатів хроматографічного аналізу. Застосовані методики

пробопідготовки забезпечили ефективне виділення цільових аналітів із молочної матриці та дозволили отримати чіткі й відтворювані хроматограми.

4. За результатами визначення афлатоксину М1 методом ВЕРХ на хроматографі UV-1000 SS було проаналізовано 12 зразків молочної продукції різних видів. Встановлено наявність афлатоксину М1 у всіх досліджених зразках у концентраціях від 0,0087 до 0,0336 мкг/кг. При цьому жоден із досліджених зразків не перевищував максимально допустимого рівня 0,050 мкг/кг. Отримані результати свідчать про низький рівень контамінації молочної продукції афлатоксином М1 та підтверджують її відповідність вимогам чинних нормативних документів щодо безпечності харчових продуктів.

5. Під час визначення залишкових кількостей антибіотиків методом ВЕРХ на системі UltiMate 3000 було проведено контроль вмісту пеніциліну, стрептоміцину, тетрацикліну, окситетрацикліну, хлортетрацикліну та доксицикліну. У всіх досліджених зразках молочної продукції зазначені антибактеріальні препарати не були виявлені. Отримані результати підтвердили відсутність перевищень максимально допустимих рівнів та засвідчили відповідність продукції ветеринарно-санітарним і гігієнічним вимогам.

6. У технологічній частині роботи було розроблено та охарактеризовано технологічну схему визначення афлатоксину М1 методом високоефективної рідинної хроматографії на хроматографі UV-1000 SS, а також виконано розрахунок необхідних реактивів, матеріалів і лабораторного посуду для проведення досліджень. Практичне значення роботи полягає у підтвердженні ефективності застосування методу ВЕРХ для здійснення лабораторного контролю безпечності молочної продукції. Отримані результати можуть бути використані в діяльності лабораторій Держпродспоживслужби та інших випробувальних лабораторій, що здійснюють моніторинг якості та безпечності харчових продуктів.

ПРОПОЗИЦІЇ

За результатами проведених досліджень та з урахуванням специфіки роботи сектору рідинної хроматографії Миколаївської регіональної державної лабораторії Держпродспоживслужби пропонується:

1. Розширити програму лабораторного моніторингу молочної продукції шляхом збільшення кількості досліджень на вміст афлатоксину М1 у продукції різних виробників та видів молочних продуктів. Це дозволить отримувати більш повну інформацію щодо рівня контамінації продукції мікотоксинами та своєчасно виявляти потенційні ризики для здоров'я споживачів.

2. Посилити контроль якості кормів для молочної худоби, оскільки саме контамінація кормів афлатоксином В1 є основним джерелом потрапляння афлатоксину М1 у молоко. Регулярний моніторинг кормової сировини сприятиме зниженню ризику забруднення молочної продукції на ранніх етапах виробничого ланцюга.

3. Продовжувати використання методу високоефективної рідинної хроматографії як одного з основних інструментальних методів контролю безпечності молочної продукції, оскільки проведені дослідження підтвердили його високу чутливість, точність та надійність під час визначення афлатоксину М1 і залишкових кількостей антибіотиків.

4. Рекомендувати виробникам молочної продукції здійснювати постійний внутрішній контроль щодо дотримання ветеринарно-санітарних вимог та термінів каренції після застосування антибактеріальних препаратів, що сприятиме недопущенню потрапляння залишкових кількостей антибіотиків у готову продукцію та забезпеченню її безпечності для споживачів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Державна служба України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів. URL: https://dpss.gov.ua

2. ДСТУ 3662:2018. Молоко-сировина коров'яча. Технічні умови.

3. ДСТУ EN ISO/IEC 17025:2019. Загальні вимоги до компетентності випробувальних та калібрувальних лабораторій. URL: https://zakon.isu.net.ua/sites/default/files/normdocs/dstu_en_iso_iec_17025_2019.pdf

4. ДСТУ ISO 707:2002. Молоко і молочні продукти. Настанови щодо відбирання проб.

5. Закон України «Про молоко та молочні продукти» № 1870-IV від 24.06.2004. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1870-15#Text

6. Закон України «Про основні принципи та вимоги до безпечності та якості харчових продуктів» № 771/97-ВР від 23.12.1997. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/771/97-вр#Text

7. Закон України «Про державний контроль за дотриманням законодавства про харчові продукти, корми, здоров'я та благополуччя тварин» № 2042-VIII від 18.05.2017. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2042-19#Text

8. Закон України «Про охорону праці» № 2694-XII від 14.10.1992. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2694-12#Text

9. Закон України «Про систему громадського здоров'я» № 2573-IX від 06.09.2022. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2573-20#Text

10. Зінченко І. В., Мельник Т. А. *Система управління охороною праці на підприємствах* : навч. посіб. Дніпро : Дніпровський державний технічний університет, 2021. 298 с.

11. Миколаївська регіональна державна лабораторія Держпродспоживслужби. URL: https://vetlab.gov.ua

12. Олійник О. М., Гордієнко С. В. *Основи охорони праці*: *теоретичні та практичні аспекти* : навч. посіб. Запоріжжя, 2022. 312 с.

13. Правила охорони праці під час роботи в хімічних лабораторіях : наказ МНС України № 1192 від 11.09.2012. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1648-12#Text

14. Прядко О. С. *Охорона праці* : підручник. Київ : Центр учбової літератури, 2020. 420 с.

15. Chopra I., Roberts M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology and epidemiology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2001. Vol. 65. No. 2. P. 232–260.

16. Commission Regulation (EU) No 37/2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. URL: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32010R0037

17. Commission Regulation (EU) 2023/915 of 25 April 2023 on maximum levels for certain contaminants in food and repealing Regulation (EC) No 1881/2006. URL: https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2023/915/oj

18. Dong M. W. *Modern HPLC for Practicing Scientists*. Hoboken : Wiley-Interscience, 2006. 288 p.

19. European Food Safety Authority (EFSA). Aflatoxins in food. URL: https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/aflatoxins-food

20. European Food Safety Authority (EFSA). Mycotoxins. URL: https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/mycotoxins

21. European Food Safety Authority (EFSA). Risk assessment of aflatoxins in food : Scientific Opinion. *EFSA Journal*. 2020. Vol. 18. Iss. 3. URL: https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2020.6040

22. FAO/WHO Codex Alimentarius. General Standard for Contaminants and Toxins in Food and Feed (CXS 193-1995). URL: https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-

proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXS%2B193-1995%252FCXS_193e.pdf

23. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins. Vol. 56. Aflatoxins. Lyon : IARC, 1993. URL: https://publications.iarc.fr/74

24. Kellnerová E., Navrátilová P., Borkovcová I. Effect of pasteurization on the residues of tetracyclines in milk. *Acta Veterinaria Brno*. 2014. Vol. 83. No. 10. P. S21–S26. URL: https://actavet.vfu.cz/83/10/0021/

25. Liu Y., Wu F. Global burden of aflatoxin-induced hepatocellular carcinoma : a risk assessment. *Environmental Health Perspectives.* 2010. Vol. 118. No. 6. P. 818–824. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20172840/

26. Magan N., Aldred D. Post-harvest control strategies: minimizing mycotoxins in the food chain. *International Journal of Food Microbiology*. 2007. Vol. 119. P. 131–139.

27. PubChem. Streptomycin. URL: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Streptomycin

28. Regulation (EC) No 178/2002 of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law... URL: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32002R0178

29. Samanidou V. F. HPLC analysis of food contaminants. *Journal of Chromatography B*. 2007. Vol. 856. P. 1–12.

30. Shaikh J. R., Patil M. K. Drug Residues in Milk and Milk Products: Sources, Public Health Impact, Prevention and Control. I*nternational Journal of Livestock Research*. 2020. Vol. 10, No. 6. P. 24–36. URL: https://www.researchgate.net/publication/341614417_Drug_Residues_in_Milk_and_Milk_Products_Sources_Public_Health_Impact_Prevention_and_Control

31. Smith J. E., Ross I. C. *Mycotoxins in Animal Feed*. Boca Raton : CRC Press, 1991. 384 p.

32. Snyder L. R., Kirkland J. J., Dolan J. W. *Introduction to Modern Liquid Chromatography*. 3rd ed. Hoboken : Wiley, 2010. 960 p.

33. Van Egmond H. P., Schothorst R. C., Jonker M. A. Regulations relating to mycotoxins in food: perspectives in a global and European context. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2007. Vol. 389. P. 147–157. DOI: https://doi.org/10.1007/s00216-007-1317-9

34. Walstra P., Wouters J. T. M., Geurts T. J. *Dairy Science and Technology.* 2nd ed. Boca Raton : CRC Press, 2006. 808 p.

35. World Health Organization (WHO). Antimicrobial Resistance. URL: https://www.who.int/health-topics/antimicrobial-resistance

36. WOAH (World Organisation for Animal Health). Antimicrobial Resistance. URL: https://www.woah.org/en/what-we-do/global-initiatives/antimicrobial-resistance/

ДОДАТОК А

Практичне виконання хроматографічних досліджень у секторі рідинної хроматографії: а) робота на високоефективному рідинному хроматографі UV-1000 SS; б) робота на високоефективному рідинному хроматографі UltiMate 3000