

**АНАЛИТИЧНАЯ ХИМИЯ**  
**ANALYTICAL CHEMISTRY**

УДК 577.182.22:542.61:543.544.5.068.7:543.51  
<https://doi.org/10.29235/1561-8331-2021-57-3-286>

Поступила в редакцию 07.04.2021  
Received 07.04.2021

**А. Г. Полоневич<sup>1</sup>, С. М. Лещев<sup>2</sup>, Е. И. Полянских<sup>1</sup>, Л. Л. Бельшева<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Научно-практический центр гигиены, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

**ЭКСТРАКЦИОННАЯ ПРОБОПОДГОТОВКА ПРИ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОМ  
ОПРЕДЕЛЕНИИ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ПЕНИЦИЛЛИНОВ  
КИСЛОТНОЙ ПРИРОДЫ В МОЛОКЕ**

**Аннотация.** Изучено распределение шести пенициллинов кислотного типа (пенициллина G, пенициллина V, оксациллина, клоксациллина, нафциллина, диклоксациллина) в экстракционных системах хлороформ–водные растворы сульфата аммония. Полученные значения коэффициентов распределения пенициллинов продемонстрировали эффективность применения сульфата аммония в качестве высаливателя. На основании полученных данных разработан способ пробоподготовки молока для количественного определения остаточного содержания шести пенициллинов кислотного типа.

**Ключевые слова:** экстракция, высаливание, коэффициенты распределения, пенициллины кислотного типа, высокоэффективная жидкостная хроматография, масс-спектрометрия

**Для цитирования.** Экстракционная пробоподготовка при хроматографическом определении остаточных количеств пенициллинов кислотной природы в молоке / А. Г. Полоневич [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. хим. наук. – 2021. – Т. 57, № 3. – С. 286–000. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2021-57-3-286>

**A. G. Polonevich<sup>1</sup>, S. M. Leshev<sup>2</sup>, A. I. Palianskikh<sup>1</sup>, L. L. Belyshava<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Scientific Practical Center of Hygiene, Minsk, Belarus

<sup>2</sup>Belarusian State University, Minsk, Belarus

**EXTRACTION SAMPLE PREPARATION FOR CHROMATOGRAPHIC DETERMINATION  
OF RESIDUAL QUANTITIES OF ACIDIC PENICILLINS IN MILK**

**Abstract.** The distribution of six acid-type penicillins (penicillin G, penicillin V, oxacillin, cloxacillin, nafcillin, dicloxacillin) in the extraction systems of chloroform–aqueous solutions of ammonium sulfate was studied. The reported distribution coefficients values of penicillins demonstrated the effectiveness of using ammonium sulfate as a salting-out agent. Based on the data obtained, a procedure for milk sample preparation was developed for the quantification of the residual content of six acid-type penicillins.

**Keywords:** extraction, salting-out, distribution coefficients, acid type penicillins, high-performance liquid chromatography, mass spectrometry

**For citation.** Polonevich A. G., Leshev S. M., Palianskikh A. I., Belyshava L. L. Extraction sample preparation for chromatographic determination of residual quantities of acidic penicillins in milk. *Vesti Natsyunal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical Series*, 2021, vol. 57, no. 3, pp. 286–000 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2021-57-3-286>

**Введение.** Для антибиотиков пенициллиновой группы, применяемых в ветеринарии, установлены максимально допустимые уровни остаточного содержания в молоке и продуктах его переработки: для пенициллина G – 4 мкг/кг, для оксациллина, клоксациллина, нафциллина и диклоксациллина – 30 мкг/кг [1, 2]. Определение содержания микроколичеств данных антибиотиков в пищевой продукции осуществляют, как правило, методом тандемной масс-спектрометрии, которому предшествует извлечение аналитов ацетонитрилом либо смесями ацетонитрила и воды (различных водных буферных растворов) и очистка с помощью твердофазной экстракции (ТФЭ) [3–7]. Альтернативу ТФЭ составляет жидкостная экстракция. Очевидными преимущ-

ществами жидкостной экстракции являются доступность, простота исполнения, экспрессность и эффективность.

В связи с этим ранее были оценены константы распределения шести пенициллинов кислотного типа (пенициллина G, пенициллина V, оксациллина, клоксациллина, нафциллина и диклосациллина) для экстракционных систем вода–различные органические растворители (*n*-гексан, толуол, хлороформ, изоамиловый спирт) [8]. Полученные результаты показали принципиальную возможность разработки эффективного, быстрого и недорогого способа извлечения микроколичеств пенициллинов кислотного типа из проб пищевой продукции экстракцией хлороформом. Константы распределения в системе вода–хлороформ показали, что при равных исходных объемах фаз ( $r = 1$ ) при pH 2,7 можно извлечь от 97 до 100 % аналитов однократной экстракцией хлороформом. Исключение составил пенициллин G: увеличение его извлечения может быть достигнуто либо уменьшением  $r$ , либо двукратной экстракцией [8]. Однако более интересной альтернативой является использование высаливания [9, 10]. Известно, что введение в водный раствор высаливателей способствует увеличению перехода веществ в органическую фазу за счет уменьшения гидратации растворенных веществ и структурирования водных растворов. Поскольку пенициллины представляют собой кислоты, то из эффективных высаливателей наиболее подходящим вариантом для извлечения является сульфат аммония, водный раствор которого имеет слабокислую среду. Эффективность сульфата аммония многократно продемонстрирована в отношении различных соединений [11–13].

Цель работы – изучить распределение шести пенициллинов кислотной природы в системах хлороформ–водные растворы сульфата аммония и разработать способ пробоподготовки молока для количественного определения пенициллинов методом ВЭЖХ-МС/МС, включающий очистку с помощью высаливательной экстракции взамен ТФЭ.

**Материалы и методы исследования.** В качестве стандартных образцов использовали пенициллина G калиевую соль, пенициллина V калиевую соль, оксациллина натриевой соли моногидрат, клоксациллина натриевой соли моногидрат, нафциллина натриевую соль и диклосациллина натриевой соли гидрат производства фирмы Sigma-Aldrich с содержанием основных веществ не менее 95 %. Структурные формулы пенициллинов представлены на рис. 1.

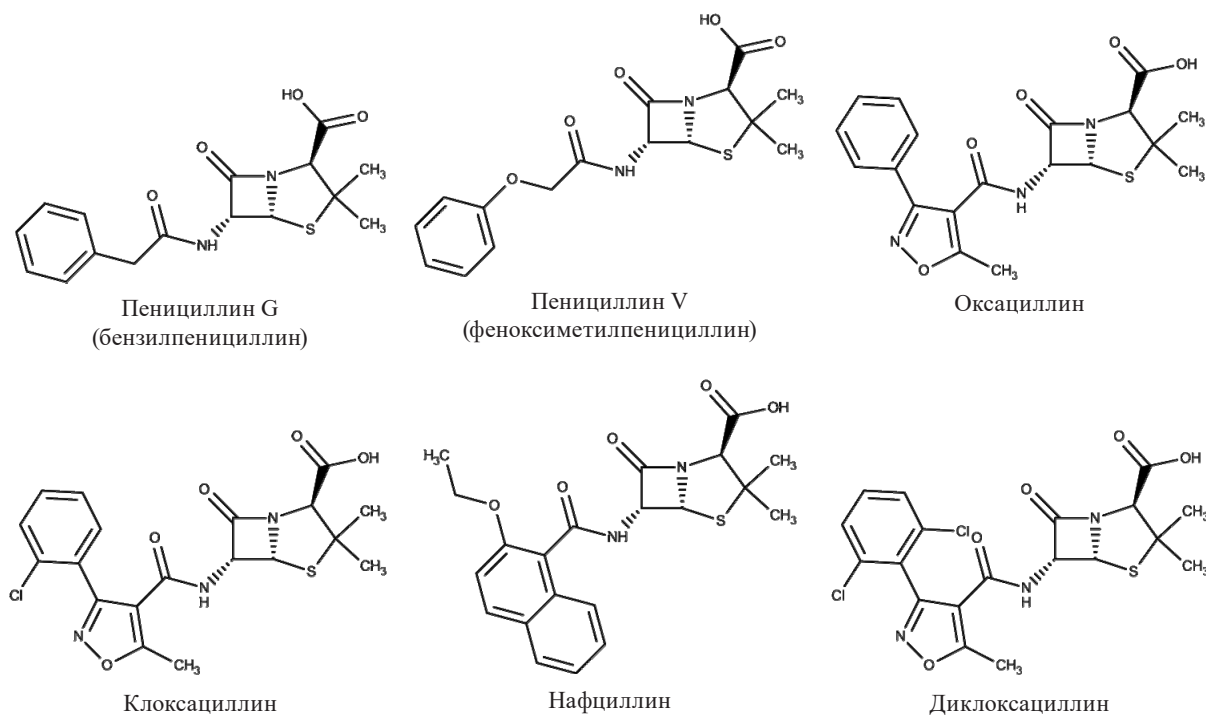


Рис. 1. Структурные формулы изученных пенициллинов кислотной природы

Fig. 1. Structural formulas of the studied acidic penicillins

Объектами исследования являлись водные растворы пенициллинов концентрацией каждого антибиотика 10 мкг/см<sup>3</sup>.

Количественное определение пенициллинов проводили методом ВЭЖХ-МС/МС [6, 7] с помощью жидкостного хроматографа Agilent 1200 с масс-спектрометрическим детектором Agilent 6410 (Agilent Technologies, Германия). Для хроматографического разделения использовали обращенно-фазную колонку Zorbax SB C18 длиной 150 мм, внутренним диаметром 2,1 мм, с зернением сорбента 3,5 мкм (Agilent Technologies, США).

Применяли хлороформ х.ч. (База № 1 Химреактивов, Россия); сульфат аммония (99,0 %, База №1 Химреактивов, Россия); ацетат аммония ( $\geq 97$  %, Carl Roth, Германия); муравьиную кислоту (98 %, Acros Organics, Бельгия), ацетонитрил для ВЭЖХ ( $\geq 99,9$  %, Sigma-Aldrich, Германия). Деионизованную воду получали с помощью системы очистки воды Easy pure II RF/UV (Thermo Scientific, США). Использовали центрифугу охлаждаемую Sigma 3-18K, электровстряхиватели Multi Reax и Reax Control (Heidolph, Германия), шприцевые фильтры из регенерированной целлюлозы диаметром 13–15 мм с размером пор 0,2 мкм (Agilent Technologies, Германия).

Значения коэффициентов распределения пенициллинов  $D$  определяли при температуре  $20 \pm 1$  °С. Молярную концентрацию высаливателя сульфата аммония в водных растворах пенициллинов варьировали в диапазоне от 0,5 до 3,2 М. Исходное соотношение объемов водной и органической фаз (хлороформа) составляло 10 : 2 либо 10 : 1. Извлечение проводили интенсивным встряхиванием экстракционной системы в пробирках в течение 5 мин. Для скорейшего достижения межфазного равновесия содержимое пробирок центрифугировали (20 °С; 7000 об/мин; 2 мин). Равновесную водную фазу отбрасывали, из аликвоты равновесной органической фазы (1 см<sup>3</sup>) пенициллины дважды реэкстрагировали 2,5 см<sup>3</sup> 0,05 %-ного раствора ацетата аммония. Полученный таким образом объединенный водный экстракт пенициллинов объемом 5 см<sup>3</sup> представлял равновесную органическую фазу изучаемой экстракционной системы. Полученный экстракт анализировали методом ВЭЖХ-МС/МС. Исходные концентрации пенициллинов оценивали по площадям хроматографических пиков, полученных в результате ВЭЖХ-МС/МС анализа водного раствора смеси солей пенициллинов, в котором высаливатель отсутствовал, концентрациями каждой соли в пересчете на соответствующую недиссоциированную кислоту 10 мкг/см<sup>3</sup>. Пример хроматограммы, полученной для указанного раствора, приведен на рис. 2. Концентрации веществ в равновесной водной фазе определяли по разности их концентраций в исходном растворе и в равновесной органической фазе.

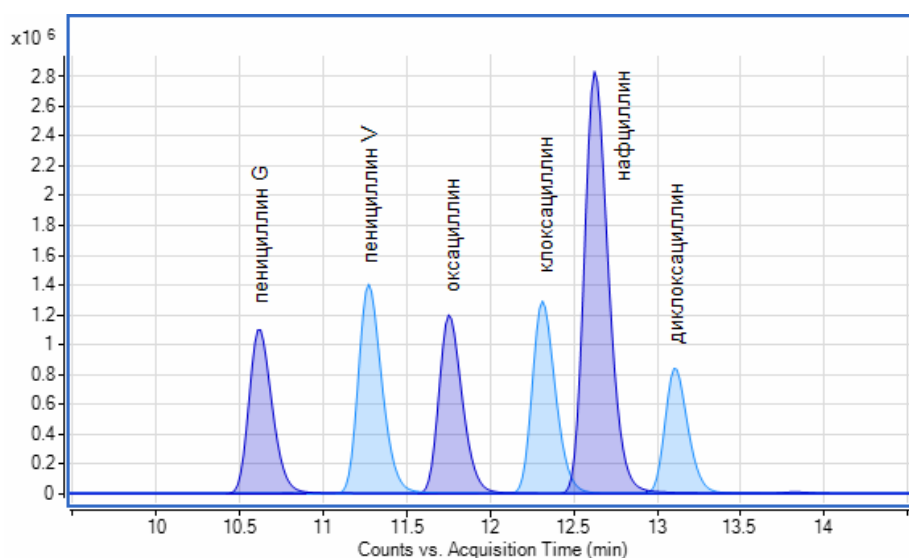


Рис. 2. Хроматограмма раствора солей пенициллинов

Fig. 2. Chromatogram of penicillins salts solution

Расчет значений коэффициентов распределения пенициллинов  $D$  проводили по уравнению

$$D = \frac{C_{\text{орг}}}{C_{\text{вод}}} = \frac{C_{\text{орг}}}{C_{\text{исх}} - \frac{V_{\text{орг}}}{V_{\text{вод}}} \times C_{\text{орг}}} = \frac{\frac{V_{\text{реэктр}}}{V_{\text{аликв}}} \times S_{\text{реэктр}}}{S_{\text{исх}} - \frac{V_{\text{орг}}}{V_{\text{вод}}} \left( \frac{V_{\text{реэктр}}}{V_{\text{аликв}}} \times S_{\text{реэктр}} \right)}, \quad (1)$$

где  $C_{\text{орг}}$  и  $C_{\text{вод}}$  – концентрации пенициллина в равновесных органической и водной фазах соответственно;  $C_{\text{исх}}$  – концентрация пенициллина в исходном водном растворе;  $V_{\text{орг}}$ ,  $V_{\text{вод}}$  – объемы равновесных органической и водной фаз соответственно;  $V_{\text{реэктр}}$  – объем объединенного экстракта пенициллинов, полученный реэкстракцией в раствор ацетата аммония из аликвоты равновесной органической фазы;  $V_{\text{аликв}}$  – объем аликвоты равновесной органической фазы, использованной для реэкстракции пенициллинов в раствор ацетата аммония;  $S_{\text{реэктр}}$  – площадь пика аналита на хроматограмме, полученной для объединенного реэкстракта пенициллинов;  $S_{\text{исх}}$  – площадь пика аналита на хроматограмме, полученной для водного раствора смеси солей пенициллинов.

**Результаты и их обсуждение.** Оцененные значения логарифмов коэффициентов распределения пенициллинов для экстракционных систем хлороформ–водные растворы сульфата аммония представлены в табл. 1 ( $n = 3$ , относительное стандартное отклонение не превышало 20 %).

Т а б л и ц а 1. Логарифмы констант распределения пенициллинов для экстракционных систем хлороформ–водные растворы сульфата аммония

Table 1. Logarithms of the penicillins distribution coefficients for the extraction systems of chloroform - aqueous solutions of ammonium sulfate

	lgD						
	Хлороформ–вода, рН 5,1*	0,5 М	1,0 М	1,5 М	2,0 М	2,4М	3,2 М
Пенициллин G	-1,39	-1,61	-1,07	-0,56	-0,03	0,46	1,39
Пенициллин V	-0,65	-0,71	-0,24	0,27	0,75	1,19	2,00
Оксациллин	-0,14	-0,16	0,35	0,91	1,45	1,83	–
Клоксациллин	0,23	0,20	0,71	1,29	1,74	–	–
Нафциллин	0,38	0,36	0,87	1,46	–	–	–
Диклоксациллин	0,73	0,69	1,19	1,70	–	–	–

П р и м е ч а н и е. \*Расчитано из констант распределения пенициллинов в экстракционной системе вода–хлороформ, представленных в работе [8].

Из табл. 1 видно, что усиление структуры водных растворов благодаря использованию сульфата аммония, как и ожидали, привело к значительному росту значений коэффициентов распределения пенициллинов. Наибольший интерес представляло изменение коэффициентов для наиболее гидрофильного пенициллина G, поскольку достижение количественного извлечения данного вещества однозначно предполагает полное извлечение остальных, более гидрофобных пенициллинов.

Использование 3,2 М раствора сульфата аммония повысило коэффициент распределения пенициллина G на три порядка (lgD составил 1,39). Таким образом, применение далекого от насыщенного 3,2 М раствора сульфата аммония при однократной экстракции и соотношении фаз  $r = 1$  позволит достичь 95 % извлечения.

Наиболее удачным вариантом реализации данного подхода явилось использование сульфата аммония меньшей концентрации (около 2,5 М) при одновременном подкислении водной фазы до значения рН от 3,0 до 3,6 и соблюдении соотношения объемов водной и органической фаз не более 4,0 (от 3,0 до 3,5). Применение меньшей концентрации сульфата аммония снижает риск нежелательного загрязнения измерительного оборудования солью. Слабокислая среда обеспечивает увеличение мольной доли молекулярной формы пенициллинов, при этом не успевает произойти

характерного для кислых растворов заметного разрушения аналитов. Соблюдение соотношения фаз от 3,0 до 3,5 позволяет извлекать пенициллины из водного солевого раствора небольшим количеством хлороформа (1 см<sup>3</sup>), которое возможно быстро упарить досуха без нагревания.

Таким образом, на основании представленных в настоящей работе и ранее опубликованных данных [6–8] был разработан способ пробоподготовки молока для определения шести пенициллинов кислотного типа с использованием для доочистки водных экстрактов высаливательной экстракции взамен дорогостоящей и относительно времязатратной ТФЭ.

Предлагаемый способ включает извлечение аналитов водно-ацетонитрильной смесью, при котором происходит осаждение белков и, возможно, сахаридов, упаривание полученного экстракта до удаления органического растворителя, очистку *n*-гексаном полученного водного раствора от триглицеридов и селективное извлечение пенициллинов в хлороформ путем высаливания сульфатом аммония из обезжиренного экстракта, при котором потенциально мешающие компоненты пищевой матрицы остаются в водной фазе. Для очистки и концентрирования высаливательной экстракцией соблюдают следующие условия: концентрация сульфата аммония в водной фазе – от 2,2 до 2,7 М; соотношение водной фазы к органической – от 3,0 до 3,5; подкисление до значений рН водной фазы от 3,0 до 3,6 только после добавления хлороформа, непосредственно перед началом проведения экстракции.

*Способ пробоподготовки образцов молока.* К навеске молока массой 1,0 г, взвешенной в полипропиленовой пробирке вместимостью 15 см<sup>3</sup>, вносят аликвоту раствора внутреннего стандарта, пенициллина G-D<sub>7</sub>. К отобранной навеске молока приливают 2 см<sup>3</sup> деионизованной воды, перемешивают до однородности, добавляют 8 см<sup>3</sup> ацетонитрила и интенсивно встряхивают в течение 10 мин с помощью электровстряхивателя. Далее пробу центрифугируют в течение 10 мин при 10000 об/мин и 5 °С. После центрифугирования надосадочную жидкость переносят в новую полипропиленовую пробирку. Пробирку помещают на нагревательный модуль и упаривают экстракт в токе азота при 40 °С до удаления органического растворителя (до объема 1,0–1,5 см<sup>3</sup>). К упаренному водному экстракту приливают 2 см<sup>3</sup> *n*-гексана и встряхивают 3 мин. Далее пробирку с содержимым центрифугируют в течение 2 мин при 10000 об/мин и 5 °С. Гексановую фракцию отбрасывают, к полученному экстракту приливают 2 см<sup>3</sup> водного раствора сульфата аммония концентрацией 4 М, 1 см<sup>3</sup> хлороформа и 100 мм<sup>3</sup> 10 об.% раствора муравьиной кислоты в воде. Пробирку с экстракционной смесью интенсивно перемешивают 2 мин, затем центрифугируют в течение 2 мин при 10000 об/мин и 5 °С. Далее водную фракцию отбрасывают, хлороформенный экстракт количественно переносят в стеклянную пробирку и упаривают досуха в токе азота без нагревания. Сухой остаток растворяют в 1 см<sup>3</sup> деионизованной воды. Полученный раствор фильтруют через мембранный шприцевой фильтр из регенерированной целлюлозы в вials для исследования методом ВЭЖХ-МС/МС.

*Количественное определение* проводят методом внутреннего стандарта с использованием матричной градуировки. Для получения матричных градуировочных растворов к навескам «чистого» образца молока вносят аликвоты водных растворов стандартных образцов пенициллинов из расчета массовой доли каждого определяемого соединения 2,0; 4,0; 10,0 и 20,0 мкг/кг, а также аликвоты раствора внутреннего стандарта, пенициллина G-D<sub>7</sub> из расчета массовой доли 50 мкг/кг. Затем проводят через все описанные выше стадии пробоподготовки.

Для методики с представленным способом пробоподготовки провели метрологическую оценку ряда параметров на уровне внесения 3 мкг/кг ( $n = 9$ ;  $P = 0,95$ ). Изучили повторяемость (стандартное отклонение повторяемости  $s_p$ ) и правильность (степень извлечения  $Rec$ ). Оценили значения относительной стандартной неопределенности  $u_{ГХ}$ , обусловленной неопределенностью приписанных градуировочным растворам концентраций, а также построением и использованием градуировочных графиков, относительной стандартной неопределенности  $u_{Rep}$ , обусловленной случайными факторами, и относительной стандартной неопределенности  $u_{Rec}$ , обусловленной смещением метода. На основании полученных оценок перечисленных стандартных отклонений рассчитали суммарную стандартную  $u_c$  и расширенную неопределенность получаемых результатов ( $P = 0,95$ ;  $k = 2$ ) (табл. 2).

Таблица 2. Метрологические характеристики методики определения пенициллинов в молоке ( $P = 0,95$ )Table 2. Metrological characteristics of the procedure for penicillins determination in milk ( $P = 0,95$ )

Аналит	$s_r, \%$	$u_{Rep}, \%$	$Rec, \%$	$u_{Rec}, \%$	$u_{GX}, \%$	$u_c, \%$	$U, \%$
Пенициллин G	5,1	3,6	101	4,9	12,9	14,3	29
Пенициллин V	2,8	2,0	95	5,0	12,7	13,8	28
Оксациллин	2,9	2,1	102	5,0	12,3	13,5	27
Клоксациллин	2,2	1,6	97	5,0	12,0	13,1	26
Нафциллин	2,3	1,6	103	5,0	12,1	13,2	26
Диклоксациллин	3,5	2,4	99	5,1	11,3	12,6	25

Повторяемость оценивали в соответствии с работой [14], смещение – согласно [15, 17]. При расчете характеристик градуировочных графиков, оценивании составляющих неопределенности измерений, суммарной и расширенной неопределенности руководствовались рекомендациями [15–17].

При внесении определяемых соединений на уровне 3 мкг/кг степень извлечения изменялась в диапазоне от 95 до 103 %. Значения стандартной неопределенности, характеризующие полученные величины степени извлечения, составляли от 4,9 до 5,1 %: данные значения рассчитаны на основании повторяемости результатов, неопределенности концентраций растворов внесения аналитов, неопределенности объемов аликвот растворов аналитов и объема аликвоты внутреннего стандарта. Было показано, что отличие значений степени извлечения от 100 % статистически не значимо.

Значения относительного стандартного отклонения повторяемости варьировались от 2,2 до 5,1 %, относительной стандартной неопределенности  $u_{Rep}$  – от 1,6 до 3,6 % (соответствует стандартному отклонению среднего арифметического двух единичных результатов). Значения относительной стандартной неопределенности  $u_{GX}$  на уровне нижнего диапазона измерения методики (2 мкг/кг) составляли от 11,3 до 12,9 %.

Значения расширенной неопределенности  $U$  получаемых результатов составили в зависимости от аналита от 25 до 29 %. Полученные оценки расширенной неопределенности находятся в соответствии со значениями, установленными [7] для молока при использовании очистки методом ТФЭ.

Оценили значения пределов обнаружения LOD как 3,3 стандартных отклонений повторяемости, поделенные на коэффициент регрессии  $b$ . Значения LOD составили менее 0,3 мкг/кг, что значительно ниже установленных максимально допустимых уровней содержания остаточных количеств пенициллинов и говорит об абсолютной пригодности предложенного способа контроля содержания данных ветеринарных препаратов в молоке.

**Заключение.** Изучено распределение пенициллинов кислотного типа в системах хлороформ–водные растворы сульфата аммония (0,5–3,2 М). Проанализированы оцененные значения коэффициентов распределения. На основании полученных данных предложен способ пробоподготовки молока для количественного определения шести пенициллинов с использованием высаливательной экстракции аналитов в хлороформ в присутствии сульфата аммония для очистки предварительно подготовленных водных экстрактов от компонентов матрицы и концентрирования аналитов. Благодаря использованию высаливательной экстракции взамен ТФЭ удалось упростить подготовку проб, повысить экспрессность анализа (минимальная экономия времени составила 2 ч), удешевить анализ.

#### Список использованных источников

1. О безопасности молока и молочной продукции : ТР ТС 033/2013 : принят 09.10.2013 : вступ. в силу 01.05.2014 / Совет Евраз. экон. комис. – Минск : Энергопресс, 2014. – 191 с.
2. О максимально допустимых уровнях остатков ветеринарных лекарственных средств (фармакологически активных веществ), которые могут содержаться в переработанной пищевой продукции животного происхождения, в том числе в сырье, и методиках их определения [Электронный ресурс]: решение Коллегии Евраз. экон. комис.

13.02.2018 № 28 // КонсултантПлюс. Беларусь / ООО «Юрспектр», Нац. центр правовой информ. Респ. Беларусь. – Минск, 2020.

3. Becker, M. Residue analysis of 15 penicillins and cephalosporins in bovine muscle, kidney and milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry / M. Becker, E. Zittlau, M. Petz // *Analytica Chimica Acta*. – 2004. – Vol. 520, N 1-2. – P. 19–31. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.04.022>

4. Determination of penicillins residues in livestock and marine products by LC/MS/MS / Song Ji-Young [et al.] // *World academy of science, engineering and technology*. – 2011. – Vol. 57. – P. 809–811.

5. Multi residue determination of the penicillins regulated by European Union, in bovine, porcine and chicken muscle, by LC–MS/MS / С. А. Macarov [et al.] // *Food Chemistry*. – 2012. – Vol. 135, N 4. – P. 2612–2621. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.126>

6. Полянских, Е. И. Методика контроля остаточного содержания антибиотиков пенициллиновой группы в продукции животного происхождения / Е. И. Полянских, А. Г. Полоневич, Л. Л. Бельшева // *Хим. безопасность*. – 2017. – Т. 1, № 1. – С. 200–215.

7. Методика выполнения измерений. Определение содержания остаточных количеств пенициллинов в сырье животного происхождения и пищевых продуктах методом ВЭЖХ-МС/МС : МВИ.МН 5200-2015. – Минск. – 2015. – 36 с.

8. Экстракция пенициллинов кислотного типа органическими растворителями / А. Г. Полоневич [и др.] // *Вестн. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. хим. наук*. – 2020. – Т. 56, № 3. – С. 284–292. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-3-284-292>

9. Лещев, С. М. Константы распределения низших спиртов, ацетона и этилацетата в системах н-гексан-водные растворы неорганических солей и природа эффекта высаливания / С. М. Лещев, М. Ф. Заяц // *Журн. физ. химии*. – 2012. – Т. 86, № 6. – С. 1072–1076.

10. General Principles and Strategies for Salting-Out Informed by the Hofmeister Series / A. M. Hyde [et al.] // *Org. Process Res. Dev.* – 2017, Vol. 21, N 9. – P. 1355–1370. <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.7b00197>

11. Разработка и применение экстракционной пробоподготовки при хромато-масс-спектрометрическом исследовании коньячной продукции / С. М. Лещев [и др.] // *Журн. аналит. химии*. – 2008. – Т. 63, № 8. – С. 690–697.

12. Рахманько, Е. М. Применение экстракции для определения витаминов группы В в пищевых продуктах / Е. М. Рахманько, Е. И. Полянских, О. В. Шуляковская // *Вестник БГУ. Сер. 2: Химия. Биология. География*. – 2012. – № 1. – С. 37–42.

13. Применение высаливания для извлечения гидрофильных физиологически активных веществ из водных растворов для их дальнейшего хроматографического определения / С. М. Лещев [и др.] // *Аналитика и контроль*. – 2019. – Т. 23, № 4. – С. 494–500. <https://doi.org/10.15826/analitika.2019.23.4.004>

14. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений : СТБ ИСО 5725-2-2002. – Введ. 01.07.2003. – Минск : Белорус. гос. ин-т стандартизации и сертификации, 2003. – 56 с.

15. Количественное описание неопределенности в аналитических измерениях: руководство ЕВРАХИМ/СИТАК / пер. с англ. Р. Л. Кадиса, Г. Р. Нежиховского, В. Б. Симины ; под ред. Л. А. Конопелько. – Изд. 2-е. – СПб : ВНИИМ им. Д. И. Менделеева, 2002. – 141 с.

16. Дерффель, К. Статистика в аналитической химии / К. Дерффель. – М. : Мир, 1994. – 268 с.

17. Ефремова, Н. Ю. Примеры оценивания неопределенностей из различных областей измерений и испытаний : прак. пособие / Н. Ю. Ефремова, С. А. Качур. – Минск, 2006. – 60 с.

## References

1. TR [*Customs Union Technical Regulation*] TS 033/2013. *On safety of milk and dairy products*. Minsk, Energopress Publ., 2014. 191 p. (in Russian).

2. Eurasian Economic Commission Decision no 28 on maximum residue levels of veterinary medicinal products (pharmacologically active substances) that may be contained in unprocessed food products of animal origin, including raw materials, and methods for their determination. *Konsul'tantPlyus. Belarus'*, ООО «Yurspektр», Nats. tsentr pravovoi inform, Resp. Belarus', Minsk, 2020 (in Russian).

3. Becker M., Zittlau E., Petz M. Residue analysis of 15 penicillins and cephalosporins in bovine muscle, kidney and milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 2004, vol. 520, no. 1-2, pp. 19–31. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.04.022>

4. Song Ji-Young, Hu Soo-Jung, Joo, Hyun-Jin, Kim Mi-Ok, Hwang Joung-Boon, Han Yoon-Jung, Kwon Yu-Jihn, Kang Shin-Jung, Cho Dae-Hyun. Determination of penicillins residues in livestock and marine products by LC/MS/MS. *World academy of science, engineering and technology*, 2011, vol. 57, pp. 809–811.

5. Macarov C. A., Tong L., Martínez-Huélamo M., Hermo M. P., Chirila E., Wang Y. X., Barrón D., Barbosa J. Multi residue determination of the penicillins regulated by European Union, in bovine, porcine and chicken muscle, by LC–MS/MS. *Food Chemistry*, 2012, vol. 135, no. 4, pp. 2612–2621. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.126>

6. Polyanskikh E. I., Polonevich A. G., Belysheva L. L. Procedure for monitoring residual content of penicillin group antibiotics in foodstuffs of animal origin. *Khimicheskaya bezopasnost' = Chemical Safety Science*, 2017, vol. 1, no. 1, pp. 200–215 (in Russian).

7. MVI.MN 5200-2015. *Measurement technique. Determination of the residual amounts content of penicillins in raw materials of animal origin and foodstuffs by HPLC-MS / MS*. Minsk, 2015. 36 p. (in Russian).

8. Polonevich A. G., Leschev S. M., Palianskikh A. I., Belyshava L. L. Extraction of acid type penicillins by organic solvents. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical series*, 2020, vol. 56, no. 3, pp. 284–292 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-3-284-292>
9. Leschev S. M., Zayats M. F. Distribution constants of lower alcohols, acetone, and ethyl acetate in n-hexane-aqueous solutions of inorganic salt systems and the nature of the salting-out effect. *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 2012, vol. 86, no. 6, pp. 965–968. <https://doi.org/10.1134/s0036024412060167>
10. Hyde A. M., Zultanski S. L., Waldman J. H., Zhong Yong-Li, Shevlin M., Peng F. General Principles and Strategies for Salting-Out Informed by the Hofmeister Series. *Organic Process Research & Development*, 2017, vol. 21, no. 9, pp. 1355–1370. <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.7b00197>
11. Leshchev S. M., Zayats M. F., Yurchenko R. A., Vinarskii V. A. Development and use of extraction sample preparation in the chromatographic-mass spectrometric studies of cognac products. *Journal of Analytical Chemistry*, 2008, vol. 63, no. 7, pp. 629–636. <https://doi.org/10.1134/s1061934808070058>
12. Rahman'ko E. M., Polyanski E. I., Shulyakovskaya O. V. The use of extraction for the determination of B vitamins in food. *Vestnik BGU. Ser. 2: Khimiya. Biologiya. Geografiya*, 2012, no 1, pp. 37–42 (in Russian).
13. Leshchev S. M., Mikhniuk O. N., Kryzhny K. D., Zayats M. F. The use of salting-out for the extraction of hydrophilic physiologically active substances from aqueous solutions for their further chromatographic determination. *Analitika i kontrol'*, 2019, vol. 23, no. 4, pp.494–500 (in Russian). <https://doi.org/10.15826/analitika.2019.23.4.004>
14. STB ISO 5725-2-2002. *Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method*. Minsk, Belarusian state Institute of Standardization and Certification, 2003. 56 p. (in Russian).
15. Konopel'ko L. A. (ed.) *Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement Eurachem/ CITAC*. 2nd ed. Saint Petersburg, The D. I. Mendeleev All-Russian Institute for Metrology, 2002. 141 p. (in Russian).
16. Derffel' K. *Analytical chemistry statistics*. Moscow, Mir Publ., 1994. 268 p. (in Russian).
17. Efremova N. Yu., Kachur S. A. *Examples of uncertainty estimation from various fields of measurement and testing*. Minsk, 2006. 60 p. (in Russian).

### Информация об авторах

*Полоневич Анна Геннадьевна* – ведущий химик. Научно-практический центр гигиены (ул. Академическая, 8, 220012, Минск, Республика Беларусь). Соискатель кафедры аналитической химии БГУ (ул. Ленинградская, 14, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: gannapalanevich@gmail.com

*Лещев Сергей Михайлович* – д-р хим. наук, профессор. Белорусский государственный университет (ул. Ленинградская, 14, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: leschev.sergey54@gmail.com

*Полянских Елена Ильинична* – канд. хим. наук, ст. науч. сотрудник. Научно-практический центр гигиены (ул. Академическая, 8, 220012, Минск, Республика Беларусь). E-mail: alena.ip@gmail.com

*Бельшева Людмила Леонидовна* – зав. лаб. Научно-практический центр гигиены (ул. Академическая, 8, 220012, Минск, Республика Беларусь). E-mail: llbelysheva@gmail.com

### Information about the authors

*Anna G. Polonevich* – Leading Chemist. Scientific Practical Center of Hygiene (8, Akademicheskaya Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). Doctoral student at the Department of analytical chemistry of Belarusian State University (14, Leningradskaya Str., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: gannapalanevich@gmail.com

*Sergey M. Leschev* – D. Sc. (Chemistry), Professor. Belarusian State University (14, Leningradskaya Str., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: leschev.sergey54@gmail.com

*Alena I. Palianskikh* – Ph. D. (Chemistry), Senior Researcher. Scientific Practical Center of Hygiene (8, Akademicheskaya Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: alena.ip@gmail.com

*Liudmila L. Belyshava* – Head of the Laboratory. Scientific Practical Center of Hygiene (8, Akademicheskaya Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: llbelysheva@gmail.com