

Михаил Владимирович Беляков^{1✉}, Игорь Юрьевич Ефременков²

^{1,2}Федеральный научный агроинженерный центр ВИМ, Москва, Россия

¹bmw20100@mail.ru

²efremenkovigor55@mail.ru

ЛЮМИНЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА АМОКСИЦИЛЛИНА В МОЛОКЕ ПО СТАТИСТИЧЕСКИМ ПАРАМЕТРАМ СПЕКТРОВ МЕТОДОМ ДИСКРИМИНАНТНОГО АНАЛИЗА

Цель исследования – изучить возможность диагностики антибиотика пенициллиновой группы на примере амоксициллина в коровьем молоке с помощью люминесценции при длине волны возбуждения 445 нм методом дискриминантного анализа. Задачи: определение длины волны наибольшего возбуждения молока оптическим излучением ультрафиолетового и видимого диапазона для измерения спектральных характеристик фотолюминесценции; расчет статистических параметров спектров люминесценции молока с различной концентрацией амоксициллина; получение дискриминантных функций и определение наиболее информативных статистических параметров для контроля наличия амоксициллина в молоке. Остаточное количество антибиотиков в молоке представляет серьезную проблему не только для перерабатывающих предприятий, но и для потребителей такой продукции. Была получена зависимость спектрального коэффициента эффективного поглощения от длины волны молока, при этом пики поглощения молока находятся на длинах волн 290; 324; 360; 445 нм. Максимальное поглощение излучения приходится на длину волны 445 нм. Пик при 445 нм составляет 5,41 о.е., что в 2,3 раза больше, чем при 290; 324; 360 нм. При добавлении антибиотика в молоко дисперсия σ^2 , асимметрия A_s , энергия люминесценции E , эВ спектров молока уменьшаются, а математическое ожидание M_λ , эксцесс E_x – увеличивается. Точность модели дискриминантного анализа при использовании математического ожидания M_λ спектра составляет 89 % при дисперсии σ^2 100 %, асимметрии A_s 86 %, эксцессе E_x 76 %, энергии люминесценции E 96 %. Полученные результаты могут дать начало разработке люминесцентных сигнализаторов молока с чувствительностью к антибиотикам пенициллиновой группы в 0,001 мг/см³.

Ключевые слова: молоко, безопасность пищевой продукции, люминесценция, дискриминантный анализ, антибиотики

Для цитирования: Беляков М.В., Ефременков И.Ю. Люминесцентная диагностика амоксициллина в молоке по статистическим параметрам спектров методом дискриминантного анализа // Вестник КрасГАУ. 2025. № 6. С. 245–256. DOI: 10.36718/1819-4036-2025-6-245-256.

Mikhail Vladimirovich Belyakov^{1✉}, Igor Yuryevich Efremenkov²

^{1,2}Federal Scientific Agroengineering Center VIM, Moscow, Russia

¹bmw20100@mail.ru

²efremenkovigor55@mail.ru

LUMINESCENT DIAGNOSTICS OF AMOXICILLIN IN MILK BY SPECTRA STATISTICAL PARAMETERS BY THE DISCRIMINANT ANALYSIS METHOD

The aim of the study is to investigate the possibility of diagnosing penicillin antibiotics using amoxicillin in cow's milk as an example using luminescence at an excitation wavelength of 445 nm using discriminant analysis. Objectives: determining the wavelength of the greatest excitation of milk by ultraviolet and visible optical radiation to measure the spectral characteristics of photoluminescence; calculating statistical parameters

ters of the luminescence spectra of milk with different amoxicillin concentrations; obtaining discriminant functions and determining the most informative statistical parameters to monitor the presence of amoxicillin in milk. Residual antibiotics in milk are a serious problem not only for processing plants but also for consumers of such products. The dependence of the spectral coefficient of effective absorption on the wavelength of milk was obtained, with the absorption peaks of milk at wavelengths of 290; 324; 360; 445 nm. The maximum absorption of radiation occurs at a wavelength of 445 nm. The peak at 445 nm is 5.41 p.u., which is 2.3 times greater than that at 290; 324; 360 nm. When adding an antibiotic to milk, the dispersion σ^2 , asymmetry A_s , luminescence energy E , eV of the milk spectra decrease, and the mathematical expectation M_λ , excess E_x increase. The accuracy of the discriminant analysis model using the mathematical expectation M_λ of the spectrum is 89 %, with a dispersion σ^2 of 100 %, with asymmetry A_s of 86 %, with excess E_x of 76 %, with luminescence energy E of 96 %. The obtained results can initiate the development of luminescent milk alarms with a sensitivity to penicillin antibiotics of $0.001 \mu\text{g}/\text{cm}^3$.

Keywords: milk, food safety, luminescence, discriminant analysis, antibiotics

For citation: Belyakov MV, Efremkov IYu. Luminescent diagnostics of amoxicillin in milk by spectra statistical parameters by the discriminant analysis method. *Bulletin of KSAU*. 2025;(6):245-256. (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2025-6-245-256.

Введение. Остаточное количество антибиотиков в пищевых продуктах является серьезной и глобальной проблемой [1]. Они не только существенно ухудшают качество продуктов питания, например значительно замедляют процессы сквашивания на молочных предприятиях, но и могут вызвать серьезные аллергические реакции у человека, такие как замедление роста костей, сыпь и т. д. [2]. Поэтому одной из важнейших задач пищевой промышленности АПК является постоянная работа по внедрению новых приборов и методик для улучшения качества выпускаемой продукции [3].

Молоко, из-за богатого содержания витаминов и минералов имеет огромную пищевую ценность в рационе человека [4]. Производителям, а также организациям, занимающимся переработкой молока, необходимо осуществлять постоянный контроль остаточных лекарственных средств в своей продукции [5]. Одним из таких способов является запрос информации об остаточных количествах антибиотиков у поставщиков, данная процедура является обязательной в соответствии с ТР ТС 021/2011 «О безопасности продукции» [6]. Однако данная процедура требует времени, также всегда есть риск фальсификации результатов недобросовестными поставщиками. Поэтому при приемке пищевого сырья важно осуществлять экспресс-тестирование на месте. В данном направлении проводятся активные исследования.

Разработан массив датчиков на основе полевого транзистора с расширенным затвором для сверхчувствительного и многоцелевого обнаружения антибиотиков, разработанный массив датчиков может одновременно определять три типа антибиотиков, включая ампициллин, амоксицил-

лин и канамицин [7]. В данном исследовании предлагается гибридный датчик с аптамерами, который позволяет с высокой чувствительностью обнаруживать несколько молекул-мишеней. В качестве молекул-мишеней для концептуальной проверки используются три антибиотика: ампициллин, амоксициллин и канамицин. Для создания массива датчиков на расширенном электроде затвора наночастицы металлоорганического каркаса (MOF), содержащие наночастицы золота (AuNPs/Cu-TCPP(Fe)), модифицируются, а аптамеры иммобилизуются посредством координации Au—S-связей. Затем с помощью электрополимеризации осуществляется контролируемый ориентированный поверхностный импринт. Массив датчиков демонстрирует чувствительность к антибиотикам на уровне фемтограммов, что позволяет одновременно определять несколько антибиотиков в одной капле раствора (100 мкл) с минимальными помехами. Обнаружение антибиотиков, таким образом, возможно в различных образцах, включая водопроводную воду, речную воду, молоко, мед. Данный массив датчиков, основанный на стратегии двойного распознавания, не ограничивается тремя антибиотиками и может быть расширен до более сложного массива датчиков в соответствии с фактическими требованиями. Однако недостатком данного метода является одноразовость, поскольку во время измерений необходимо чувствительный диагностический элемент помещать в молоко, после пяти циклов элюирования чувствительность датчика снижается до 45–48 %. Также для работы устройства необходимы тонкие проводящие пленки с низкой резистивностью, что увеличивает стоимость и изготовление прибора. Другим недостат-

ком является сложная пробоподготовка, которая включает в себя синтез AuNPs/Cu-TCPP(Fe), на втором этапе необходимо получение наносферы Cu-TCPP(Fe) методом координации «снизу вверх», на третьем этапе синтезировали AuNPs на наносферах методом нуклеации.

Проводились исследования с применением экстракции по точке помутнения для определения остатков хлорамфеникола и амоксициллина в образцах молока методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодным матричным детектированием [8]. В данном исследовании использовались химические вещества аналитической чистоты. Исходные растворы готовили путем растворения в сверхчистой воде, pH растворов контролировали с помощью буфера Бриттона-Робинсона. Образцы молока брали у местных производителей. Разработанный метод был применен к образцам коровьего молока. Остатки хлорамфеникола и амоксициллина были определены в различных образцах молока. Все образцы молока были разбавлены стандартными растворами для проверки точности метода по значениям восстановления при двух уровнях концентрации – 100 и 300 нг/мл⁻¹. Однако для измерений необходимо, чтобы растворители имели высокую степень очистки, иначе возрастает риск засорения трубок, а наличие даже небольшого количества твердых веществ может существенно повлиять на точность результатов.

С помощью электрохимического анализа на основе белков, связывающих пенициллин, и нанокompозита графена/хитозана осуществляли обнаружение нескольких бета-лактамных антибиотиков в молоке [9]. В данном исследовании модифицировали стеклоглеродистый электрод путем последовательного нанесения нанокompозита графена, пенициллина G для обнаружения электрохимического сигнала. Используя изготовленный в лаборатории электрод, разработали электрохимический рецепторный сенсор, основанный на механизме прямого конкурентного ингибирования связывания PENG с PBPs свободными BLAs. Для изучения электрохимического поведения модифицированного электрода были использованы циклическая вольтамперометрия и дифференциально-импульсная вольтамперометрия. Воспроизводимость электрохимических датчиков оценивалась как в течение одного дня, так и в разные дни. Результаты пяти различных датчиков, полученные в один и тот же день, показали относительную

разницу в 6,9 %, основанную на трехкратных измерениях для каждого датчика. Воспроизводимость также была оценена для датчиков, изготовленных в течение трех разных дней, и составила 11,1 %. Эти результаты подтверждают, что процесс изготовления датчика и соответствующие электрохимические измерения являются воспроизводимыми и надежными. Хотя и электрохимический анализ показал высокую эффективность и точность, но общее время измерений составляет 35 мин, что значительно снижает эффективность внедрения в существующие пищевые системы.

Имеются исследования с применением вольтамперометрического определения левофлоксацина в мясе и молоке с помощью сенсора на основе электровосстановленного оксида графена и функционализированного фуллерена [10]. В данном исследовании дифференциальные импульсные вольтамперограммы (ДИВ) регистрировались в диапазоне потенциалов от 0,6 до 1,5 В с амплитудой 0,075 В, временем модуляции 0,075 с и скоростью сканирования 30 мВ/с. Затем ДИВ обрабатывались с помощью базовой коррекции. Все электрохимические измерения проводились пять раз при температуре (25 ± 1) °С. Растворы коммерчески доступных препаратов в форме таблеток с одинаковым составом вспомогательных веществ (левофлоксацин, энрофлоксацин, ломефлоксацин и ципрофлоксацин) были приготовлены путем растворения образца измельченных таблеток в 100 мл, затем была взята аликвотная часть в 10 мл и разбавлена необходимым объемом HBS до концентрации 0,5 мМ. Образец мяса был получен из 10-граммового образца говяжьего фарша, смешанного с 10 мл, сначала выдержанного при температуре (37 ± 1) °С в течение 90 мин, а затем при температуре (65 ± 1) °С в течение 30 мин, а затем отцентрифугированного в течение 20 мин при 3000 об/мин. Для приготовления всех растворов использовалась деионизированная вода с удельной электропроводностью 0,1 мкСм/см. Однако в данном методе сложная пробоподготовка, которая включает в себя изготовление чувствительного слоя активации датчика и требует высококвалифицированного персонала с высшим образованием в области химии.

Проводились исследования с помощью мультиплексного анализа с использованием поверхностно-усиленной рамановской спектроскопии для одноэтапного одновременного обнаружения неомицина и линкомицина в молоке

[11]. Т. е. разработан метод для одновременно обнаружения неомицина и линкомицина в молоке. Неомицин и линкомицин нарушают синтез белка в бактериях, также неомицин нейротоксичен, линкомицин токсичен для пищеварительной, нервной и иммунной систем. Чрезмерное использование антибиотиков приводит к устойчивости бактерий и остаткам лекарств в пищевых продуктах. Спектры УФ-видимого диапазона были измерены с помощью УФ-видимого спектрофотометра. Спектры комбинационного рассеяния измерялись с помощью конфокального микроскопа HR 800, оснащенного лазером на парах гелия-неодима, фильтром с прорезями и ПЗС-детектором. Используются неомицин, линкомицин, бычий сывороточный альбумин, антигены и моноклональные антитела. Спектры показывают, что интенсивность окраски и сигнала обратно пропорциональна концентрации анализируемого вещества антибиотиков. Методы рамановской спектроскопии являются эффективными в обнаружении веществ, однако из-за физики процесса комбинированного рассеяния являются дорогостоящими.

Осуществлялось обнаружение антибиотиков в молоке по его энергетическим параметрам фотолюминесценции [12]. Преимущество фотолюминесцентных методов заключается в их относительно дешевой реализации, легкой внедряемости в существующие технологии пищевой промышленности, а также экспрессности.

Однако кроме энергетических параметров возбуждения и излучения люминесценции возможно использование для диагностики наличия антибиотиков статистических параметров спектра. При этом может быть применен дискриминантный анализ данных.

Цель исследования – изучить возможность диагностики антибиотика пенициллиновой группы на примере амоксициллина в коровьем молоке с помощью люминесценции при длине волны возбуждения 445 нм методом дискриминантного анализа.

Задачи: определение длины волны наибольшего возбуждения молока оптическим излучением

ультрафиолетового и видимого диапазона для измерения спектральных характеристик фотолюминесценции; расчет статистических параметров спектров люминесценции молока с различной концентрацией амоксициллина; получение дискриминантных функций и определение наиболее информативных статистических параметров для контроля наличия амоксициллина в молоке.

Материалы и методы. В данной работе применялась суспензия амоксициллина для инъекций сельскохозяйственным животным. Нормирование по амоксициллину в соответствии с ТР ТС 033/2013 «О безопасности молока и молочной продукции» составляет менее 0,010 мкг/см³ (не допускается). Для загрязнения молока в него вносили необходимый объем раствора амоксициллина концентрацией 0,1 мкг/см³, доводя общую массу образца до 100 г. Загрязняемой средой являлось магазинное молоко с массовой долей жира 4,0 % («Мичурино», Россия, Тамбовская обл.). Процедура загрязнения молока амоксициллином состояла из трех этапов. На первом этапе готовили стандартные растворы из препарата «Амоксициллин» (ООО «Нита-Фарм») концентрацией 150 мкг/см³. В мерную колбу объемом 1000 см³ помещали 1 см³ препарата «Амоксициллин, 150 мг/мл» (перед использованием тщательно взболтать), заполняли на 2/3 дистиллированной водой и перемешивали. Доводили до метки дистиллированной водой и снова перемешивали. На втором этапе готовили раствор амоксициллина концентрацией 0,1 мкг/см³. В мерную колбу объемом 1000 см³ вносили 0,667 см³ раствора амоксициллина концентрацией 150 мкг/см³, заполняли на 2/3 дистиллированной водой и тщательно перемешивали. Доводили до метки дистиллированной водой и снова перемешивали. На третьем этапе получали стандартные молочные растворы. Пластиковый стаканчик устанавливали на весы, вносили в него требуемый объем раствора амоксициллина концентрацией 0,1 мкг/см³ (в соответствии с табл. 1) и доводили молоком до суммарной массы 100 г. После чего тщательно перемешивали.

Таблица 1

Объем добавки раствора амоксициллина концентрацией 0,1 мкг/см³
The volume of the amoxicillin solution additive with a concentration of 0.1 micrograms/cm³

Показатель	Значение				
Содержание амоксициллина в молоке, мг/кг	0,001	0,003	0,004	0,005	0,010
Объем вносимого раствора амоксициллина, см ³	1	3	4	5	10

Результаты процедуры определения содержания амоксициллина в молоке с помощью тест-системы «BIOEASY 4 in 1 BSCT» свидетельствуют о соответствии концентраций рабочих молочных растворов. Таким образом, концентрации данных растворов являются валидированными, а сами растворы могут быть использованы в качестве экспериментальных образцов.

Пробоподготовку осуществляли в соответствии с ГОСТ 32254-2013 «Молоко. Инструментальный экспресс-метод определения антибиотиков». Контрольное определение содержания в молоке антибиотиков осуществляли с помощью тест-наборов «BIOEASY 4 in 1 BSCT» (производитель: «Shenzhen Bioeasy Biotechnology Co.» Ltd., США/Бельгия/Китай, дистрибьютор: ООО «Милкфор», Россия, Воронеж).

Для спектральных измерений был использован дифракционный спектрофлуориметр CM 2203, серийно изготавливаемый ЗАО «SOLAR» (Беларусь). Измерения спектров возбуждения $\eta(\lambda)$ и фотолюминесценции $\varphi(\lambda)$ проходят в несколько этапов. Вначале получают спектр возбуждения при синхронном сканировании через интервал $\Delta\lambda$. Затем, настроив монохроматор возбуждения на длины волн максимума спектра $\eta(\lambda)$, измеряют спектры фотолюминесценции [12]. Все спектральные измерения проводили в десятикратной повторности.

Спектры возбуждения были измерены в диапазоне 230–600 нм, а затем при возбуждении на их максимуме были получены спектры люминесценции.

Для анализа использовали следующие, хорошо известные из математической статистики числовые параметры:

- параметр, характеризующий положение центра тяжести спектра, – математическое ожидание M_λ , измеряемое в нанометрах;
- параметр, характеризующий степень разбросанности длин волн люминесценции относительно центра тяжести, – дисперсия σ^2 ;
- параметр, характеризующий степень асимметрии спектра, – асимметрия As ;
- параметр, дающий представление о степени крутизны (островершинности) или пологости (плосковершинности), – эксцесс Ex ;
- параметр, характеризующий энергию люминесценции в диапазоне длин волн E , измеряемую в электронвольтах.

Для обработки спектров и расчета параметров использовали программу MicrocalOrigin7.

Полагаем, что спектр фотолюминесценции сплошной и в диапазоне измеряемых длин волн имеет непрерывный характер. Математическое ожидание определяется интегралом

$$M_\lambda = \int_{\lambda_{\min}}^{\lambda_{\max}} \lambda \varphi(\lambda) d\lambda, \quad (1)$$

где $\varphi(\lambda)$ – дифференциальная функция распределения (распределение плотности вероятности);

λ – длина волны, нм; λ_{\min} , λ_{\max} – минимальное и максимальное значение длин волн диапазона измерений фотолюминесценции, нм.

Дисперсия σ^2 находится по формуле

$$\sigma^2 = \int_{\lambda_{\min}}^{\lambda_{\max}} (\lambda - M_\lambda)^2 \varphi(\lambda) d\lambda. \quad (2)$$

Числовой характеристикой асимметричности (скошенности) является центральный статический момент 3-го порядка μ_3 :

$$\mu_3 = \int_{\lambda_{\min}}^{\lambda_{\max}} (\lambda - M_\lambda)^3 \varphi(\lambda) d\lambda. \quad (3)$$

На практике для оценки асимметричности используют коэффициент асимметрии As :

$$As = \frac{\mu_3}{\sigma^3}. \quad (4)$$

При правосторонней асимметрии («хвост» кривой спектра вытянут вправо) $As > 0$. При левосторонней симметрии («хвост» кривой спектра вытянут влево) $As < 0$. Числовой характеристикой крутости спектра служит оценка центрального статического момента 4-го порядка μ_4 :

$$\mu_4 = \int_{\lambda_{\min}}^{\lambda_{\max}} (\lambda - M_\lambda)^4 \varphi(\lambda) d\lambda. \quad (5)$$

На практике за оценку коэффициента крутости принимают искусственно созданную величину, которую назвали эксцессом Ex :

$$Ex = \frac{\mu_4}{\sigma^4} - 3. \quad (6)$$

Для кривых, более крутых (более островершинных), чем кривая нормального распределе-

ния (колоколообразная кривая) эксцесс положителен, а для более плоских – эксцесс отрицателен. Наибольшая абсолютная величина отрицательного эксцесса составляет -2 . При таком значении вершина кривой опускается до оси абсцисс и кривая делится на два самостоятельных пика, их анализ следует рассматривать отдельно. Положительное значение эксцесса может быть любым.

Для получения уравнения числовой характеристики энергии фотолюминесценции следует учитывать то, что каждый фотон фотолюминесценции обладает энергией, связанной с длиной волны излучения соотношением

$$E_{\phi} = \frac{1240}{\lambda}, \quad (7)$$

где E_{ϕ} измеряется в эВ, а λ – в нм. Если известна дифференциальная функция распределения $\varphi(\lambda)$,

то полная энергия спектра в диапазоне длин волн находится как

$$E = 1240 \int_{\lambda_{\min}}^{\lambda_{\max}} \frac{1}{\lambda} \varphi(\lambda) d\lambda. \quad (8)$$

Результаты и их обсуждение. На первом этапе были получены спектральные характеристики возбуждения (поглощения) для выявления максимальной реакции молока на оптическое излучение в видимом диапазоне спектра. Было установлено, что молоко активно поглощает излучение в диапазоне 230–306 нм, 307–346, 347–400 и 400–520 нм. При этом пики поглощения молока находятся на длинах волн: 290 нм, 324, 360, 445 нм. Спектр поглощения молока представлен на рисунке 1.

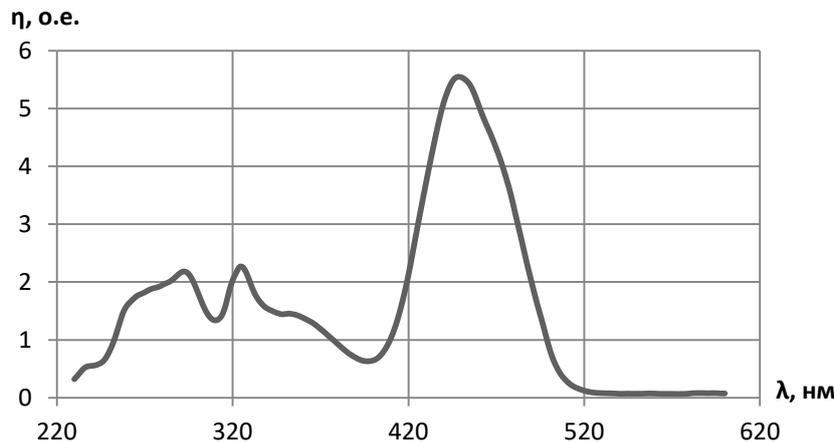


Рис. 1. Спектральная характеристика поглощения молока в видимом диапазоне спектра 230–600 нм
Spectral characteristic of milk absorption in the visible range of 230–600 nm

Спектральная поглощательная способность η , являющаяся интенсивностью возбуждения, при 290 нм составляет 2,14 о.е., при 324 нм – 2,15 о.е., при 360 нм – 1,35 о.е., при 445 нм относительно длины волны 324 нм интенсивность поглощения максимальна и составляет 5,41 о.е. На основании полученных пиков поглощения были построены спектры люминесценции молока с добавлением амоксициллина. Спектральные люминесцентные характеристики при длине волны возбуждения 445 нм представлены на рисунке 2.

Из рисунка 2 следует, что интенсивность люминесценции φ , о.е., молока возрастает в диапазоне 480–540 нм, далее происходит ее снижение, начиная с 542 нм и заканчивая 660 нм. Спектры люминесценции имеют колоколообразную, од-

номодальную форму. При этом спектры молока с антибиотиками и без них несколько различаются между собой качественно. Так, например, спектр молока без антибиотиков в диапазоне 480–520 нм имеет более резкое возрастание интенсивности люминесценции φ , о.е., в отличие от молока с добавлением антибиотика. Также можно наблюдать, что спектральная характеристика люминесценции при добавлении амоксициллина $0,010 \text{ мкг/см}^3$ расположена заметно ниже остальных спектров. Далее для оценки качественных изменений в спектрах молока при добавлении антибиотика пенициллиновой группы, а именно амоксициллина при $\lambda_{\text{в}} = 445 \text{ нм}$, были рассчитаны их статистические параметры, которые представлены в таблице 2.

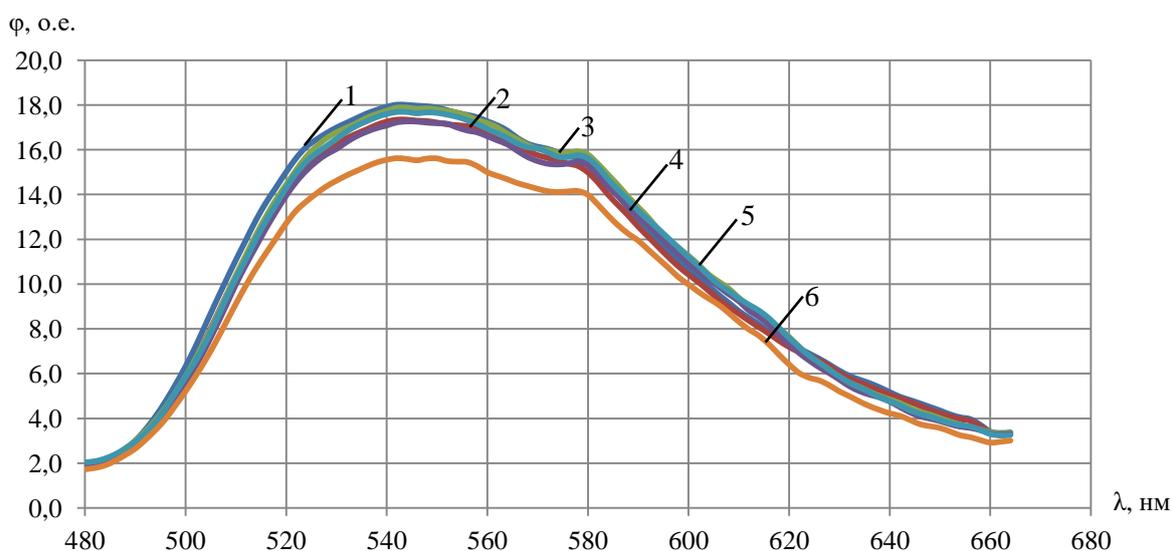


Рис. 2. Спектральные характеристики люминесценции молока при $\lambda_b = 445$ нм с добавлением амоксициллина: 1 – 0 мкг/см³; 2 – 0,001; 3 – 0,003; 4 – 0,004; 5 – 0,005; 6 – 0,010 мкг/см³

Spectral characteristics of milk luminescence at $\lambda_e = 445$ nm with the addition of amoxicillin:

1 – 0 mcg/cm³; 2 – 0,001 mcg/cm³; 3 – 0,003 mcg/cm³; 4 – 0,004 mcg/cm³; 5 – 0,005 mcg/cm³; 6 – 0,010 mcg/cm³

Таблица 2

Статистические параметры спектров люминесценции молока при $\lambda_b = 445$ нм
Statistical parameters of milk luminescence spectra at $\lambda_b = 445$ nm

Концентрация, мкг/см ³	M_λ , нм	σ^2	A_s	E_x	E , эВ
0	$564,0 \pm 0,2$	1684 ± 5	$0,355 \pm 0,003$	$-0,583 \pm 0,002$	$2,209 \pm 0,001$
0,001	$565,0 \pm 0,1$	1676 ± 3	$0,346 \pm 0,008$	$-0,586 \pm 0,007$	$2,206 \pm 0,001$
0,003	$565,0 \pm 0,2$	1648 ± 4	$0,322 \pm 0,012$	$-0,578 \pm 0,008$	$2,207 \pm 0,001$
0,004	$565,0 \pm 0,4$	1648 ± 5	$0,318 \pm 0,024$	$-0,581 \pm 0,016$	$2,206 \pm 0,001$
0,005	$565,0 \pm 0,1$	1648 ± 5	$0,317 \pm 0,003$	$-0,583 \pm 0,004$	$2,206 \pm 0,001$
0,010	$565,0 \pm 0,1$	1645 ± 6	$0,319 \pm 0,009$	$-0,575 \pm 0,009$	$2,206 \pm 0,001$

Математическое ожидание M_λ , нм для молока, не загрязненного антибиотиком, составляет 564 нм, для молока с концентрациями 0,001–0,010 мкг/см³ – 565 нм, аппроксимировать линейно данные результаты нецелесообразно, с другой стороны, можно осуществить разделение на 2 группы, т. е. на молоко без антибиотиков и молоко с антибиотиками. Дисперсия σ^2 спектров молока при добавлении амоксициллина уменьшается, однако для 3 концентраций антибиотиков, а именно: 0,003 мкг/см³; 0,004; 0,005 мкг/см³ дисперсия равняется 1648, в связи с этим аппроксимировать линейно – не эффективно, более того, доверительные интервалы для данных концентраций антибиотиков накладываются друг на друга, что может снизить точность модели, которая могла бы быть основана

на линейной аппроксимации. Асимметрия спектров молока с добавлением антибиотика становится более левосторонней, но при превышении концентрации амоксициллина 0,010 мкг/см³ становится несколько правосторонней, т. е. общая тенденция идет на снижение численных значений асимметрии с загрязнением молока антибиотиками, при этом при концентрациях 0,003–0,010 мкг/см³ доверительные интервалы накладываются друг на друга, следовательно, целесообразно в данном случае разделение полученных результатов на 2 группы. Эксцесс E_x спектральных характеристик люминесценций молока без антибиотиков и с антибиотиками отрицательный, но при добавлении амоксициллина спектры молока становятся более островершинными в сравнении с молоком без анти-

биотиков. Однако доверительные интервалы абсолютной погрешности эксцесса для концентраций амоксициллина 0,001 мкг/см³; 0,003; 0,004; 0,005 и 0,010 мкг/см³ пересекаются с молоком, не загрязненным антибиотиком пенициллиновой группы, что может вызвать ошибки при определении наличия амоксициллина в молоке. Энергия люминесценции спектров молока без антибиотиков находится в пределах 2,209 эВ, для

молока с антибиотиками в пределах 2,206–2,207 эВ, что на 0,002–0,003 эВ меньше, чем для молока без добавления антибиотика.

Для проведения дискриминантного анализа полученные по формулам (1–8) величины математического ожидания, дисперсии, асимметрии, эксцесса и энергии спектра нанесли на области, которые представлены на рисунке 3.

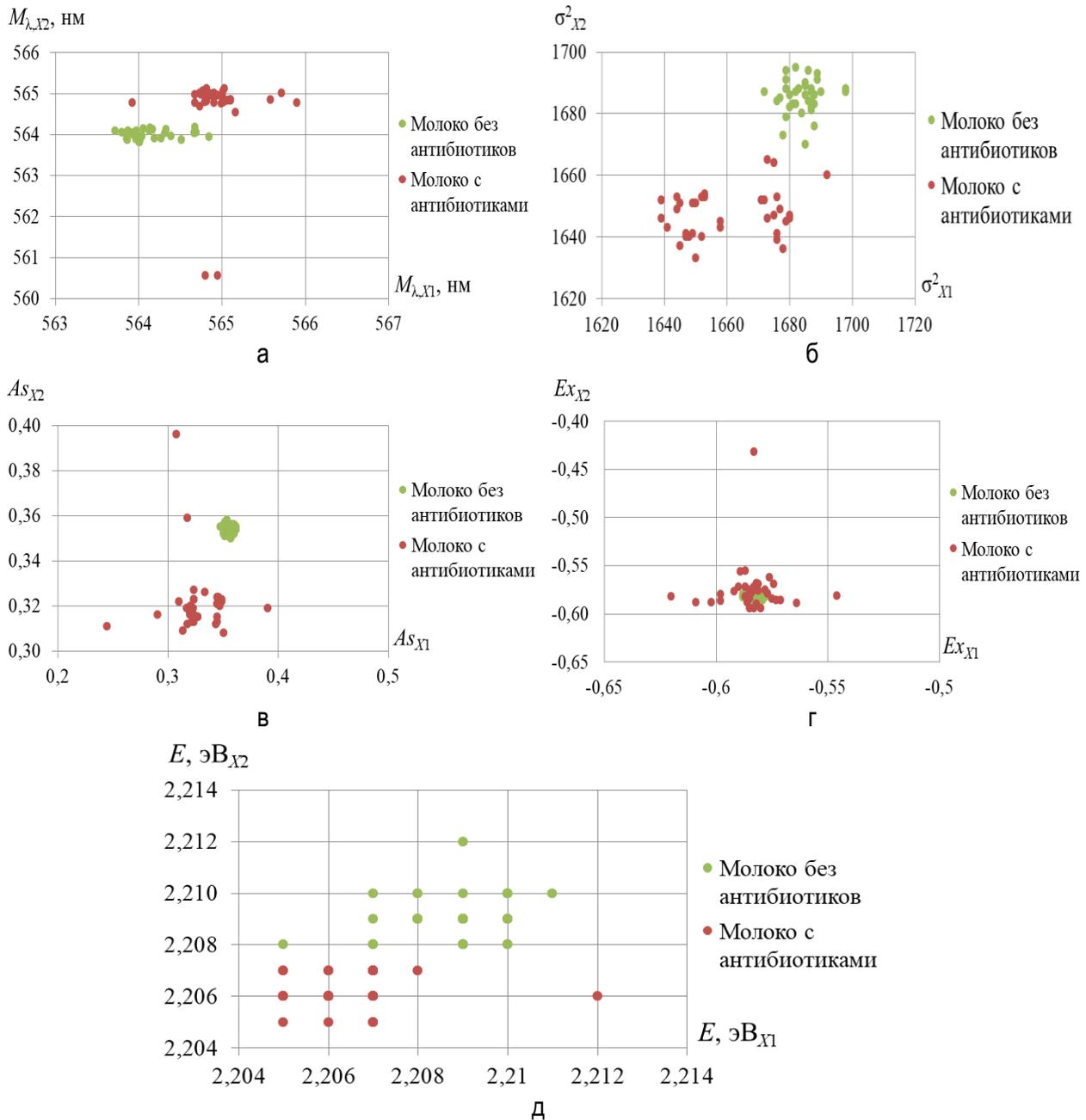


Рис. 3. Области рассчитанных статистических параметров спектров люминесценции молока без антибиотиков и загрязненного амоксициллином при длинах волн возбуждения 445 нм
Areas of calculated statistical parameters of luminescence spectra of milk without antibiotics and contaminated with amoxicillin at excitation wavelengths of 445 nm

Математическое ожидание M_λ для спектров молока без антибиотиков находится по оси X_1 в области от 563,7 до 564,8 нм, для молока с антибиотиками основное количество измерений находится в диапазоне от 564,6 до 565,9 нм, однако некоторые точки имеют пересекающиеся координаты, что в дальнейшем может снизить точность модели. По оси X_2 молоко без антибиотиков находится в диапазоне от 563,7 до 564,2 нм, с амоксициллином от 564,5 до 565,4 нм, две точки находятся на 560,5 нм, что также повлияет на точность модели.

Дисперсия σ^2 для молока с антибиотиками находится по оси X_1 в диапазоне 1639–1692, для молока без антибиотиков 1672–1698, по оси X_2 для молока с антибиотиками 1633–1664, без антибиотиков 1667 – 1699, диапазоны между собой не пересекаются, следовательно, точность модели будет высокой.

Асимметрия спектра A_s молока, не загрязненного антибиотиками, находится на сравнительно небольших интервалах, а именно по оси X_1 0,348–0,362, по оси X_2 0,350–0,358, т. е. ширина интервала составляет по оси X_1 = 0,014, по оси X_2 = 0,008. Для молока, загрязненного амоксициллином, асимметрия по оси находится в диапазоне X_1 0,245–0,391, по оси X_2 0,309–0,358, однако две точки с координатами [0,318; 0,359] и [0,308; 0,396] будут ухудшать точность модели.

Эксцесс E_x спектра для молока без амоксициллина находится в диапазоне для оси X_1 от –0,587 до –0,575, для оси X_2 от –0,588 до –0,577, также основное количество точек для молока загрязненного амоксициллином находятся в этих же диапазонах, что может существенно повлиять на точность модели.

Энергия люминесценции E для молока с амоксициллином по оси X_1 находится в диапазоне от 2,205–2,212 эВ, по оси X_2 2,205–2,207 эВ, у молока без амоксициллина по X_1 2,205–2,210 эВ, по оси X_2 2,208–2,212 эВ.

Обработку полученных статистических параметров осуществляли с помощью метода дискриминантного анализа. Дискриминантная функция

$$G = a_0 + a_1 \cdot d_{X_1} + a_2 \cdot d_{X_2}, \quad (9)$$

где a_0, a_1, a_2 – коэффициенты дискриминантной функции, d_{X_1}, d_{X_2} – рассматриваемые статистические параметры люминесценции.

Для разделения молока на две группы, т. е. до добавления амоксициллина и после, рассчитали константу дискриминации c по формуле

$$c = \frac{n_{б.а.} \cdot G_{б.а.} + n_{с.а.} \cdot G_{с.а.}}{n_{б.а.} + n_{с.а.}}, \quad (10)$$

где $n_{б.а.}$ – количество измерений статистических параметров люминесценций молока в группе без антибиотиков; $n_{с.а.}$ – количество измерений статистических параметров люминесценций молока в группе с добавлением амоксициллина; $G_{б.а.}$ – среднее значение дискриминантной функции статистических параметров люминесценции молока в группе без антибиотиков; $G_{с.а.}$ – среднее значение дискриминантной функции статистических параметров люминесценции молока в группе с добавлением амоксициллина.

Полученные результаты отражены в таблице 3.

Таблица 3

Результаты дискриминантного анализа статистических параметров для длины волны возбуждения 445 нм

Results of discriminant analysis of statistical parameters for the excitation wavelength of 445 nm

Параметр	M_λ , нм	σ^2	A_s	E_x	E , эВ
$G_{б.а.}$	0,1703	0,0505	0,2900	0,4741	0,1306
$G_{с.а.}$	0,8297	0,9494	0,7100	0,5259	0,8694
a_0	-465,4353	41,2127	5,9761	2,9844	613,6794
a_1	0,7330	-0,0022	-14,1332	-1,5949	-57,1364
a_2	0,0925	-0,0222	-1,8799	5,8993	-220,6270
c_d	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
$n_{б.а.}$	35	35	35	35	35
$n_{с.а.}$	35	35	35	35	35
Точность модели, %	89	100	86	76	96

Константа дискриминации для всех статистических параметров составляет $c_D = 0,5$, следовательно, для качественного разделения данных на 2 группы должно выполняться неравенство

$$G_{б.а.} < c < G_{с.а.} \quad (11)$$

Для эксцесса среднее значение дискриминантной функции $G_{б.а.} = 0,4741$, для $G_{с.а.} = 0,5259$, т. е. формула (3) выполняется, однако данные значения находятся близко относительно константы дискриминации c , а именно на расстоянии $0,0259$, данное значение свидетельствует о том, что значения эксцесса для спектров возбуждения молока при $\lambda_b = 445$ нм с добавлением амоксициллина и без него – схожи, но тем не менее точность модели составляет 76 %. Для A_s $G_{б.а.} = 0,2900$, $G_{с.а.} = 0,7100$, в отличие от эксцесса средние значения дискриминантной функции находятся сравнительно дальше от константы дискриминации $c = 0,5$, что и отразилось на точности модели, которая составляет 86 %. Для математического ожидания M_λ $G_{б.а.} = 0,1703$, $G_{с.а.} = 0,8297$, т. е. с добавлением амоксициллина в молоко спектр люминесценции меняется качественно, происходит смещение центра тяжести спектра в длинноволновую область, точность модели 89 %. Такой статистический параметр, как энергия люминесценции, также изменяется с добавлением антибиотиков в молоко, $G_{б.а.} = 0,1306$, $G_{с.а.} = 0,8694$, расстояние средних значений дискриминантных функций от положения константы дискриминации составляет $0,3694$, происходит некоторое уменьшение E , эВ. Такой статистический параметр спектра люминесценции при длине волны возбуждения 445 нм, как σ^2 , имеет $G_{б.а.} = 0,0505$,

$G_{с.а.} = 0,9494$, точность модели составила 100 %.

Заключение. Длина волны наибольшего максимума в спектре возбуждения (поглощения) молока составляет 445 нм.

При добавлении антибиотиков в молоко, дисперсия σ^2 , асимметрия A_s , энергия люминесценции E , эВ спектров молока уменьшаются, а математическое ожидание M_λ , эксцесс E_x – увеличиваются.

Наибольшая точность модели с использованием дисперсии σ^2 , дискриминантной функции G составляет 100 %. Наименьшая точность достигается с использованием эксцесса E_x и составляет 76 %, данная точность модели обусловлена тем, что спектры молока с содержанием антибиотиков по форме несколько схожи со спектрами молока без антибиотиков. При использовании математического ожидания M_λ , асимметрии A_s точность модели составляет 89 и 86 %, связано это с тем, что при некоторых концентрациях антибиотиков форма спектров совпадает с молоком незагрязненным.

Полученные результаты можно использовать как при разработке дополнительного программного обеспечения для спектрофлуориметров для определения наличия амоксициллина в молоке, так и для отдельных датчиков или приборов, основанных на фотолюминесцентных методах. Также полученные результаты возможно использовать при разработке нейросетей, таких как линейные нейронные сети, многослойные перцептроны, сверточные нейронные сети, рекуррентные нейронные сети, основанных на классификации данных, анализе межгрупповых различий между молоком, не загрязненным амоксициллином, и загрязненным.

Список источников

1. Малофеева Н.А., Бузмакова Н.А., Савина И.П. Контроль за содержанием остаточных количеств антибиотиков в животноводческой продукции в странах-членах таможенного союза и европейского союза // Международный научно-исследовательский журнал. 2023. № 1. С. 1–5. DOI: 10.23670/IRJ.2023.127.106. EDN: HKYDGM.
2. Morandi S., Silvetti T., Guerci M., et al. Legally admissible amounts of antibiotics in milk affect the growth of lactic acid bacteria // International Journal Dairy Technology. 2024. Vol. 77, № 5. P. 1072–1082. DOI: 10.1111/1471-0307.13132. EDN: HXAWDB.
3. Лобачевский Я.П., Дорохов А.С. Цифровые технологии и роботизированные технические средства для сельского хозяйства // Сельскохозяйственные машины и технологии. 2021. Т. 15, № 4. С. 6–10. DOI: 10.22314/2073-7599-2021-15-4-6-10. EDN: YFRZDV.

4. Кудрина М.А., Кожевникова И.С., Худякова Н.А. Пищевая ценность коровьего молока // Вестник КрасГАУ. 2022. № 12. С. 229–236. DOI: 10.36718/1819-4036-2022-12-229-236. EDN: TSNXFJ.
5. Криницына А.А., Петров А.Н., Кручинин А.Г. Оценка распределения остаточных количеств лекарственного препарата пенициллина-г в молоке и молочных продуктах // Вестник КрасГАУ. 2024. № 3. С. 198–205. DOI: 10.36718/1819-4036-2024-3-198-205. EDN: GJBMSA.
6. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 23 июня 2023 г. № 70 «О внесении изменений в некоторые решения Комиссии Таможенного союза и Совета Евразийской экономической комиссии». Доступно по: <https://alta.ru/tamdoc/23sr0070>. Ссылка активна на 11.02.2025.
7. Tao T., Wei X., Ye Z., et al. Dual Recognition Strategy-Based Transistor Sensor Array for Ultrasensitive and Multi-Target Detection of Antibiotics // *Advanced functional materials*. 2024. Vol. 35, № 3. DOI: 10.1002/adfm.202413485. EDN: KNMPNX.
8. Surucu B., Ulusoy H.I., Ulusoy S., et al. Application of cloud point extraction for residues of chloramphenicol and amoxicillin in milk samples by HPLC–DAD // *European food research and Technology*. 2022. Vol. 248. P. 437–445. DOI: 10.1007/s00217-021-03889-6. EDN: LAJPZU.
9. Jiang S., Lan H., Pan D., et al. Penicillin-Binding Proteins and Graphene/Chitosan Nanocomposite-Based Electrochemical Assay for Multiple Beta-Lactam Antibiotics Detection in Milk // *International Journal of Electrochemistry*. 2024. Vol. 10. P. 1–14. DOI: 10.1155/2024/1463794.
10. Abramov I.A., Gainanova S.I., Zagitova L.R., et al. Voltammetric Determination of Levofloxacin in Meat and Milk Using a Sensor Based on Electroreduced Graphene Oxide and Functionalized Fullerene // *Journal of Analytical Chemistry*. 2024. Vol. 79. P. 690–696. DOI: 10.1134/s1061934824700060. EDN: WTUJMT.
11. Shi Q., Tao C., Kong D. Multiplex SERS-based lateral flow assay for one-step simultaneous detection of neomycin and lincomycin in milk // *European food research and technology*. 2022. Vol. 248. P. 2157–2165. DOI: 10.1007/s00217-022-04038-3. EDN: DBCGZG.
12. Самарин Г.Н., Беляков М.В., Ефременков И.Ю., и др. Обнаружение антибиотиков в молоке по его фотолюминесцентным свойствам // *Электротехнологии и электрооборудование в АПК*. 2024. Т. 71, № 1. С. 10–16. DOI: 10.22314/2658-4859-2024-71-1-10-16. EDN: RIAJBB.

References

1. Malofeeva NA, Buzmakova NA, Savina IP. Control of Antibiotic Residues in Animal Products in the Member States of the Customs Union and the European Union. *International Scientific Research Journal*. 2023;(1):1-5. (In Russ.). DOI: 10.23670/IRJ.2023.127.106. EDN: HKYDGM.
2. Morandi S, Silvetti T, Guerci M, et al. Legally admissible amounts of antibiotics in milk affect the growth of lactic acid bacteria. *International journal Dairy Technology*. 2024;77(5):1072-1082. DOI: 10.1111/1471-0307.13132. EDN: HXAWDB.
3. Lobachevsky YaP, Dorokhov AS. Digital technologies and robotic equipment for agriculture. *Sel'skohozyajstvennyye mashiny i tekhnologii*. 2021;15(4):6-10. (In Russ.). DOI: 10.22314/2073-7599-2021-15-4-6-10. EDN: YFRZDV.
4. Kudrina MA, Kozhevnikova IS, Khudyakova NA. Nutritional value of cow's milk. *Bulletin of KSAU*. 2022;(12):229-236. (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2022-12-229-236. EDN: TSNXFJ.
5. Krinitsyna AA, Petrov AN, Kruchinin AG. Assessment of the drug penicillin-g residual quantities distribution in milk and dairy products. *Bulletin of KSAU*. 2024;(3):198-205. (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2024-3-198-205. EDN: GJBMSA.
6. Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission of June 23, 2023 № 70 "On Amendments to Certain Decisions of the Commission of the Customs Union and the Council of the Eurasian Economic Commission" Available at: <https://alta.ru/tamdoc/23sr0070>. Accessed: 23.11.2023. (In Russ.).
7. Tao T, Wei X, Ye Z, et al. Dual Recognition Strategy-Based Transistor Sensor Array for Ultrasensitive and Multi-Target Detection of Antibiotics. *Advanced functional materials*. 2024;35(3). DOI: 10.1002/adfm.202413485. EDN: KNMPNX.

8. Surucu B, Ulusoy HI, Ulusoy S, et al. Application of cloud point extraction for residues of chloramphenicol and amoxicillin in milk samples by HPLC–DAD. *European food research and Technology*. 2022;248:437-445. DOI: 10.1007/s00217-021-03889-6. EDN: LAJPZU.
9. Jiang S, Lan H, Pan D, et al. Penicillin-Binding Proteins and Graphene/Chitosan Nanocomposite-Based Electrochemical Assay for Multiple Beta-Lactam Antibiotics Detection in Milk. *International Journal of Electrochemistry*. 2024;10:1-14. DOI: 10.1155/2024/1463794.
10. Abramov IA, Gainanova SI, Zagitova LR, et al. Voltammetric Determination of Levofloxacin in Meat and Milk Using a Sensor Based on Electroreduced Graphene Oxide and Functionalized Fullerene. *Journal of Analytical Chemistry*. 2024;79:690-696. DOI: 10.1134/s1061934824700060. EDN: WTUJMT.
11. Shi Q, Tao C, Kong D. Multiplex SERS-based lateral flow assay for one-step simultaneous detection of neomycin and lincomycin in milk. *European food research and technology*. 2022;248:2157-2165. DOI: 10.1007/s00217-022-04038-3. EDN: DBCGZG.
12. Samarin GN, Beljakov MV, Efremenkov IYu, et al. Detection of antibiotics in milk by its photoluminescent properties. *Jeletrotehnologii i jeletrooborudovanie v APK*. 2024;71(1):10-16. (In Russ.). DOI: 10.22314/2658-4859-2024-71-1-10-16. EDN: RIAJBB.

Статья принята к публикации 14.04.2025 / The article accepted for publication 14.04.2025.

Информация об авторах:

Михаил Владимирович Беяков¹, главный научный сотрудник лаборатории инновационных технологий и технических средств кормления в животноводстве, доктор технических наук, доцент
Игорь Юрьевич Ефременков², младший научный сотрудник лаборатории инновационных технологий и технических средств кормления в животноводстве

Information about the authors:

Mikhail Vladimirovich Belyakov¹, Chief Researcher at the Laboratory of Innovative Technologies and Technical Means of Feeding in Animal Husbandry, Doctor of Technical Sciences, Associate Professor
Igor Yuryevich Efremenkov², Junior Researcher, Laboratory of Innovative Technologies and Technical Means of Feeding in Animal Husbandry

