

|                     |  |
|---------------------|--|
| <b>Zeitschrift:</b> | Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchungen und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène |
| <b>Herausgeber:</b> | Bundesamt für Gesundheit   |
| <b>Band:</b>        | 90 (1999)  |
| <b>Heft:</b>        | 3  |
| <b>Artikel:</b>     | Dosage simultané de résidus de sept pénicillines dans le lait cru par HPLC                           |
| <b>Autor:</b>       | Edder, Patrick / Cominoli, André / Corvi, Claude   |
| <b>DOI:</b>         | <a href="https://doi.org/10.5169/seals-981786">https://doi.org/10.5169/seals-981786</a>              |

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

**Download PDF:** 06.02.2026

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

# Dosage simultané de résidus de sept pénicillines dans le lait cru par HPLC

Patrick Edder, André Cominoli et Claude Corvi, Service du chimiste cantonal, Genève

Présenté le 18 mars 1999, accepté le 27 avril 1999

## Introduction

Les pénicillines sont des antibiotiques appartenant à la famille des  $\beta$ -lactames qui comprend les pénicillines naturelles, semi-synthétiques ou synthétiques, ainsi que les céphalosporines. Elles sont principalement actives contre les bactéries gram positives. En médecine vétérinaire, les pénicillines sont utilisées à des fins thérapeutiques, principalement pour traiter les maladies et prévenir les infections des systèmes urinaire, gastro-intestinal ou respiratoire, ainsi que pour les infections mammaires. Cependant, elles sont parfois également utilisées pour améliorer la croissance du bétail afin d'assurer un niveau de productivité optimal. Cette pratique est interdite en Suisse.

Comme les pénicillines sont très largement utilisées en médecine humaine, il faut considérer avec attention tout risque potentiel dû à la consommation de denrées animales pouvant contenir des résidus de celles-ci. D'une manière générale, les risques majeurs provenant de l'ingestion de résidus d'antibiotiques dans l'alimentation résident dans la possibilité d'entraîner des réactions allergiques ou le développement de résistances microbiennes. Les réactions allergiques aux pénicillines chez l'homme sont de loin plus fréquentes que celles dues aux autres types d'antibiotique (~3–10 % de la population est estimée allergique). De plus, l'ingestion de très faibles quantités de pénicillines peut être responsable de chocs allergiques. Par exemple, une prise orale de 24  $\mu\text{g}$  de benzylpénicilline (pénicilline G) peut engendrer des réactions fatales (1). En outre, des dermatites d'origine allergique ont également été signalées à la suite d'une consommation de lait contenant des pénicillines (1, 2). La teneur en résidus de pénicillines dans le lait est réglementée en Suisse par l'Ordonnance sur les substances étrangères et les composants dans les denrées alimentaires du 26 juin

1995 (OSEC) et dans la Communauté européenne (règlement CEE 2377/90), avec des valeurs limites de 4 µg/kg pour les pénicillines G et V, l'ampicilline et l'amoxicilline, et de 30 µg/kg pour la cloxacilline, l'oxacilline et la dicloxacilline.

S'il est toujours difficile de démontrer la corrélation entre l'apparition d'une résistance microbienne et un traitement aux antibiotiques, l'ampicilline et l'amoxicilline se sont révélées clairement capables de participer au transfert de résistances dans des bactéries portant des facteurs R. C'est pourquoi, leur usage non-médical doit être considéré avec beaucoup de précautions (1, 2).

La méthode présentée a pour objet le dépistage et le dosage simultané dans le lait cru de 7 pénicillines: les pénicillines G et V, l'oxacilline, la cloxacilline, la dicloxacilline et deux pénicillines dibasiques, l'amoxicilline et l'ampicilline.

S'il existe de nombreuses méthodes de routine pour le dosage individuel de pénicillines (3, 4), notamment pour la pénicilline G, il n'y a que très peu de procédures permettant l'analyse simultanée des autres  $\beta$ -lactames, incluant l'ampicilline et l'amoxicilline (3-7).

La technique est basée sur une dérivatisation des pénicillines dibasiques (amoxicilline et ampicilline) avec de l'anhydride benzoïque, puis de toutes les pénicillines avec du 1, 2, 4 triazole et le chlorure mercurique. Le schéma réactionnel de dérivatisation est donné par la figure 1. Le dosage est effectué par HPLC en phase inverse (C18) et avec une détection dans l'ultraviolet à 325 nm.

Ce travail présente, après optimisation des conditions de dérivatisation (température, durée de réaction, stabilité des dérivés), l'application de cette méthode à l'analyse de laits crus, les résultats issus de la validation de la procédure ainsi que les résultats d'analyse d'une dizaine de cas réels de laits crus positifs au Delvotest, qui est le test de dépistage le plus couramment utilisé pour le contrôle des laits.

## Partie expérimentale

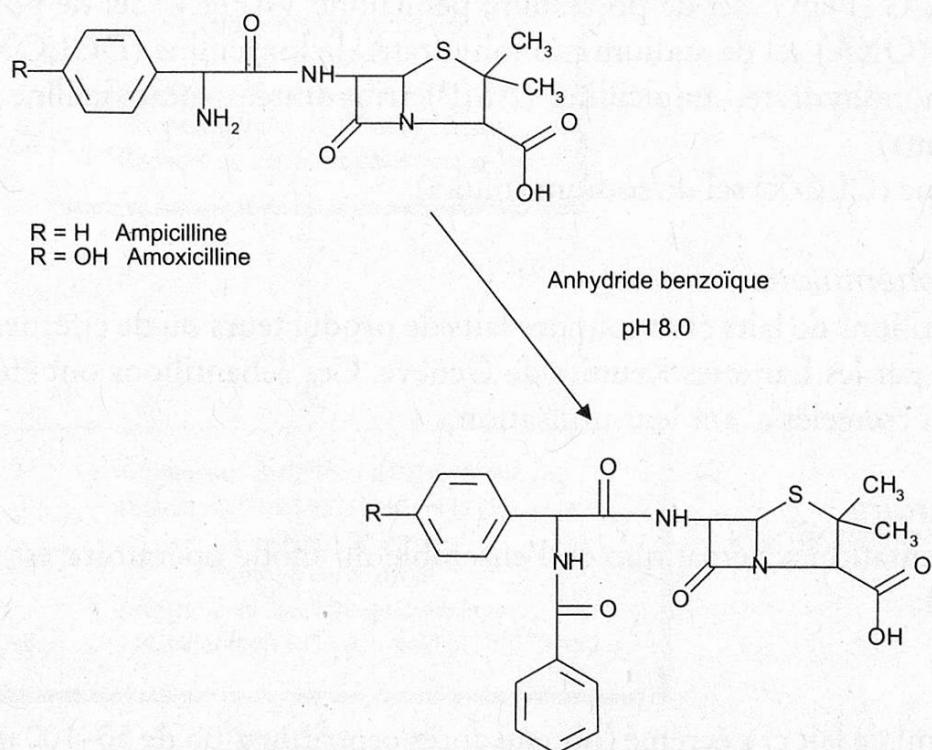
### Appareillage

- Mixer; Tubes à centrifuger de 250 ml en polypropylène; Secoueuse mécanique; Centrifugeuses Heraeus Labofuge A et Kontron Centrikon T-124; Etuve; Vortex; pH-mètre; Système d'extraction sur phase solide; Cartouches SPE C18, 500 mg (Baker, 7020-3); Flacons à pas de vis, 7 ml, ambrés; HPLC SSI avec détecteur UV-Visible TSP.

### Réactifs

- Méthanol (MeOH), acétonitrile (ACN) pour HPLC
- Hexane, dichlorométhane pro analysi (Merck)
- Hydrogénophosphate disodiques dihydraté ( $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ ), dihydrogénophosphate monosodique dihydraté ( $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ ) pro analysi, thiosulfate de sodium pentahydraté ( $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ ), chlorure de sodium (NaCl), hydroxyde de sodium (NaOH), tétrabutylammonium hydrogénosulfate (TBA), an-

## 1. Dérivatisation des pénicillines dibasiques



## 2. Dérivatisation des pénicillines

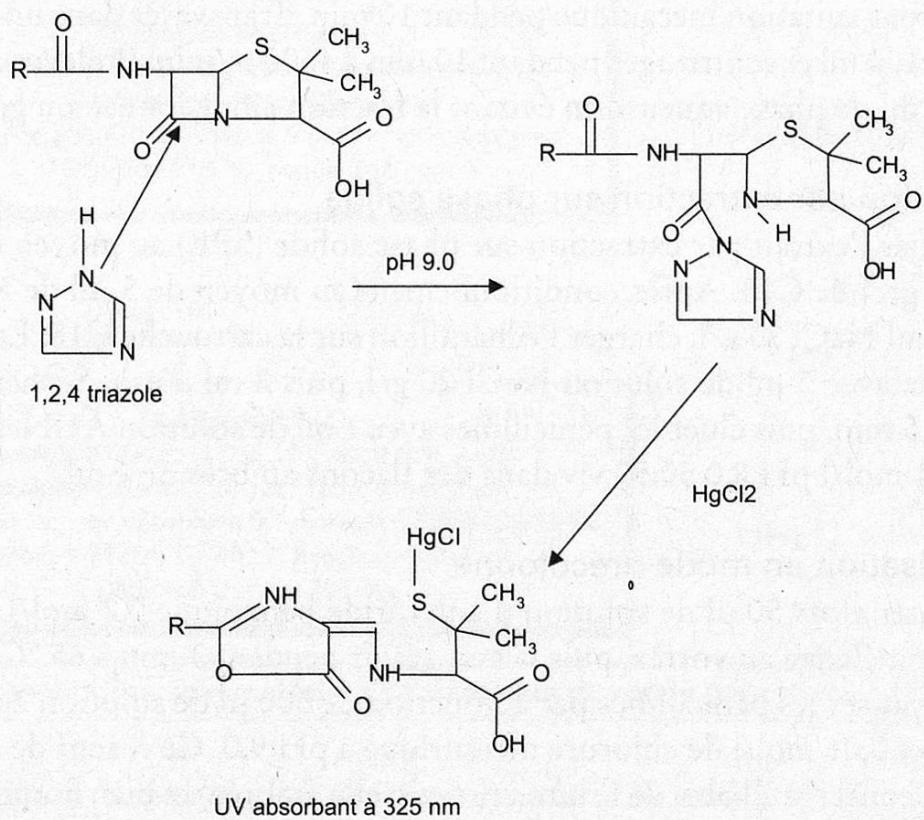


Figure 1 Schéma réactionnel de la dérivatisation en mode pré-colonne

- hydride benzoïque (ANB), 1,2,4 triazole, chlorure mercurique ( $HgCl_2$ ) (Merck).
- Pénicilline G (PenG) sel de potassium, pénicilline V (PenV) sel de potassium, oxacilline (OXA) sel de sodium monohydraté, dicloxacilline (DCLOX) sel de sodium monohydraté, ampicilline (AMP) trihydrate et amoxicilline (AMX) 99 % (Sigma).
  - Cloxacilline (CLOX) sel de sodium (Fluka)

### **Choix des échantillons**

Les échantillons de laits crus sont des laits de producteurs ou de citernes de collecte prélevés par les Laiteries Réunies de Genève. Ces échantillons ont été parfois préalablement congelés avant leur utilisation.

### **Mode opératoire**

La représentation schématique de l'ensemble du mode opératoire est illustrée par la figure 2.

### **Extraction**

Placer 20 ml de lait cru écrémé (obtenu après centrifugation de 50–100 ml de lait cru pendant 30 min à 10 000 t/min à 5 °C) dans un flacon à vis de 250 ml. Après addition de 20 ml de solution d'extraction (tampon phosphate pH 9,0), agiter le mélange mécaniquement pendant 1 min. Ajouter ensuite 20 ml d'hexane et homogénéiser le mélange par agitation mécanique pendant 10 min. Transvaser dans un tube à centrifuger de 100 ml et centrifuger pendant 10 min à 4500 tr/min. Prélever alors délicatement 20 ml de phase aqueuse en évitant la fraction émulsionnée ou graisseuse.

### **Purification par extraction sur phase solide**

Purifier l'extrait par extraction sur phase solide (SPE) au moyen de cartouches de silice greffée C18. Après conditionnement au moyen de 5 ml de MeOH, 10 ml d'eau, 5 ml NaCl 20 g/l, charger l'échantillon sur la cartouche C18. Laver ensuite la cartouche avec 2 ml de solution NaCl 20 g/l, puis 2 ml d'eau. Sécher la cartouche pendant 5 min, puis éluer les pénicillines avec 1 ml de solution ACN/tampon phosphate 0,1 mol/l pH 8,0 50:50 v:v dans des flacons ambrés de 7 ml.

### **Dérivatisation en mode précolonne**

Ajouter alors 50 µl de solution d'anhydride benzoïque 0,2 mol/l à l'éluat SPE. Agiter le mélange au vortex, puis laisser réagir pendant 3 min à 65 °C.

Dérivatiser les pénicillines par adjonction de 500 µl de solution 2 mol/l en 1,2,4 triazole et 0,01 mol/l de chlorure mercurique à pH 9,0. Ce réactif de dérivation doit être conservé à l'abri de la lumière (vaisselle ambrée) et bien homogénéisé avant emploi.

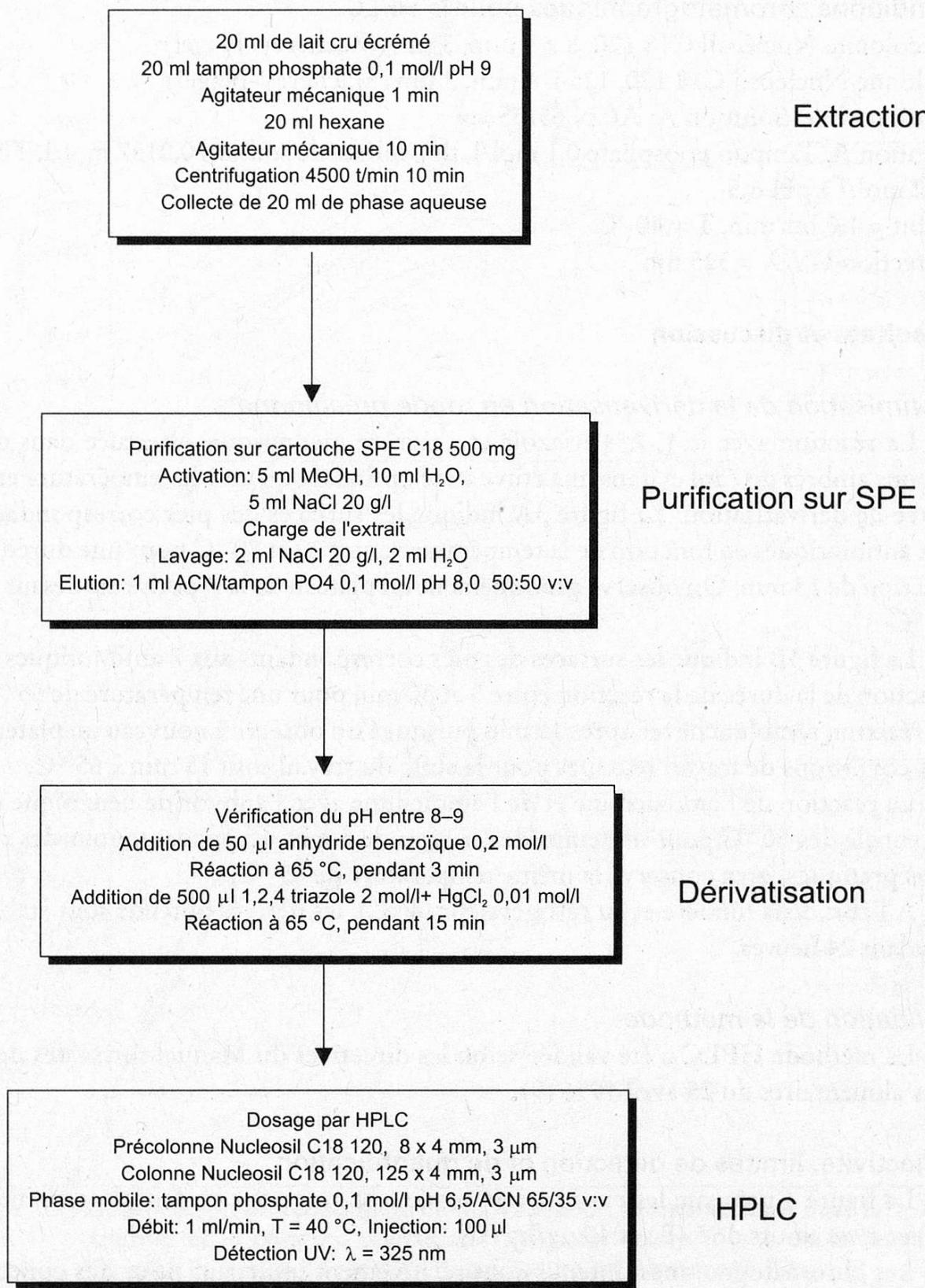


Figure 2 Représentation schématique de l'ensemble du mode opératoire

Après agitation au vortex, laisser réagir pendant 15 min à 65 °C. Refroidir l'extrait à température ambiante, puis si nécessaire centrifuger l'échantillon dérivé pendant 5 min à 4500 tr/min.

## Conditions chromatographiques pour la HPLC

Précolonnes Nucléosil C18 120, 8 x 4 mm, 3 µm (Macherey-Nagel)

Colonne Nucléosil C18 120, 125 x 4 mm, 3 µm (Macherey-Nagel)

Phase mobile: Solution A: ACN 65/35 v:v

Solution A: Tampon phosphate 0,1 mol/l, thiosulfate de sodium 0,0157 mol/l, TBA 0,02 mol/l à pH 6,5

Débit = 1,0 ml/min, T = 40 °C

Détection UV:  $\lambda$  = 325 nm

## Résultats et discussion

### *Optimisation de la dérivatisation en mode précolonne*

La réaction avec le 1, 2, 4 triazole et chlorure mercurique, effectuée dans des flacons ambrés de 7 ml et dans une étuve a été optimisée quant à la température et la durée de dérivatisation. La figure 3A indique les surfaces des pics correspondants aux antibiotiques en fonction de la température entre 20 et 80 °C pour une durée de réaction de 15 min. On observe pratiquement un plateau de la réponse au-dessus de 60 °C.

La figure 3B indique les surfaces des pics correspondants aux 7 antibiotiques en fonction de la durée de la réaction entre 5 et 30 min pour une température de 65 °C. La réaction semble achevée après 15 min puisque l'on observe à nouveau un plateau. Les conditions de travail retenues pour la suite du travail sont 15 min à 65 °C.

La réaction de l'amoxicilline et de l'ampicilline avec l'anhydride benzoïque est maximale dès 50 °C pour un temps de réaction de 5 min. Cependant, pour des raisons pratiques, on a conservé la même température de 65 °C.

A l'abri de la lumière et au réfrigérateur (4 °C), les dérivés obtenus sont stables pendant 24 heures.

### *Validation de la méthode*

La méthode HPLC a été validée selon les directives du Manuel suisse des denrées alimentaires du 25 avril 1996 (9).

### **Sélectivité, limites de détection et de quantification**

La figure 4 présente les chromatogrammes obtenus pour un lait cru sans ajout (A) et avec ajouts de 5 (B) et 40 µg/kg (C).

Les chromatogrammes obtenus sont relativement incertains pour des concentrations en pénicillines égales ou inférieures à 5 µg/kg (figure B). En effet, la matrice présente plusieurs pics pouvant gêner le dosage de l'amoxicilline (pic no 1) et de l'oxacilline (pic no 5). Cependant la valeur limite autorisée pour cette dernière est nettement plus élevée (30 µg/kg pour le lait). Les limites de détection et surtout de quantification ont été principalement définies sous l'angle de la sélectivité de la méthode. Le tableau 1 présente les valeurs limites admises pour les pénicillines dans le

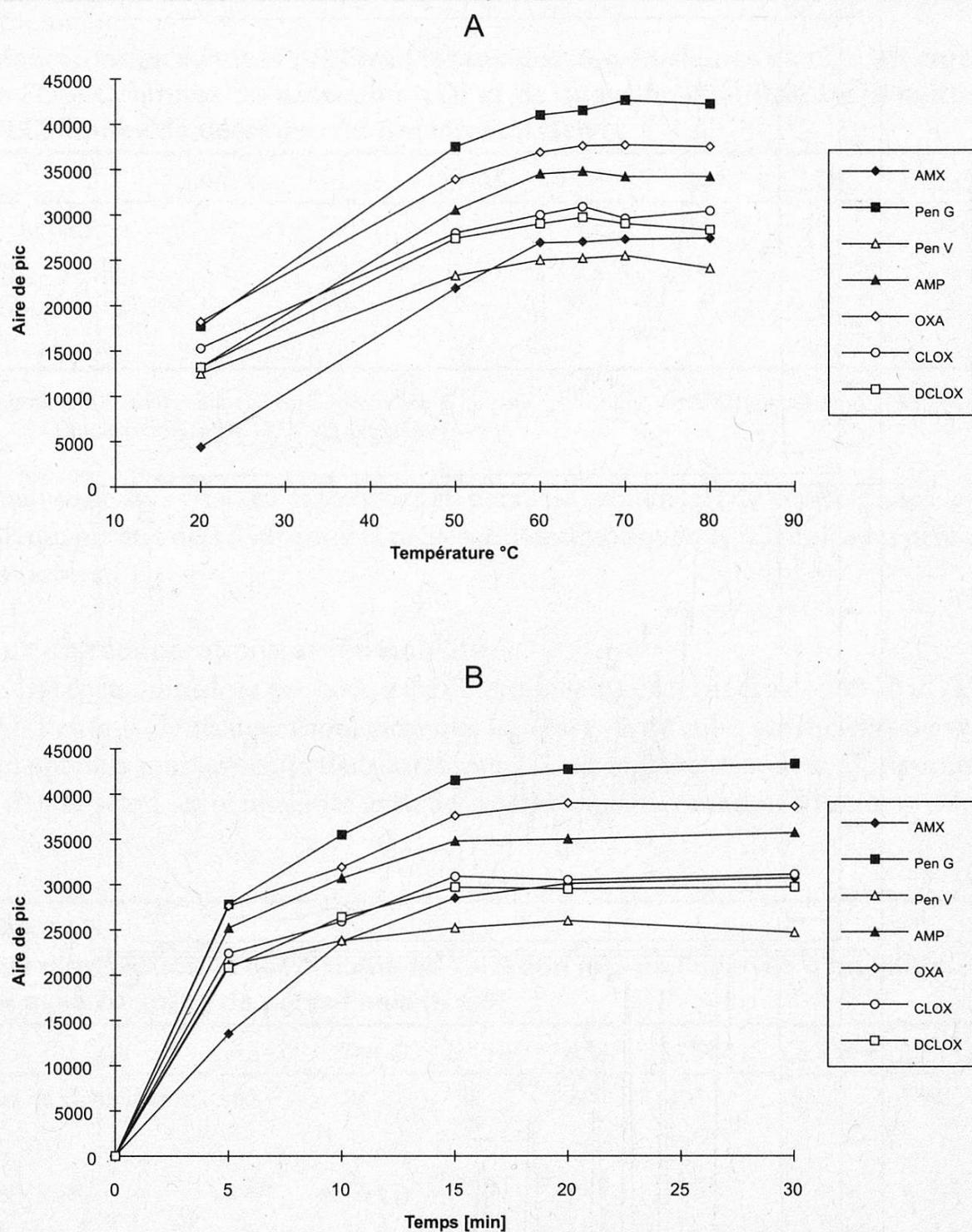
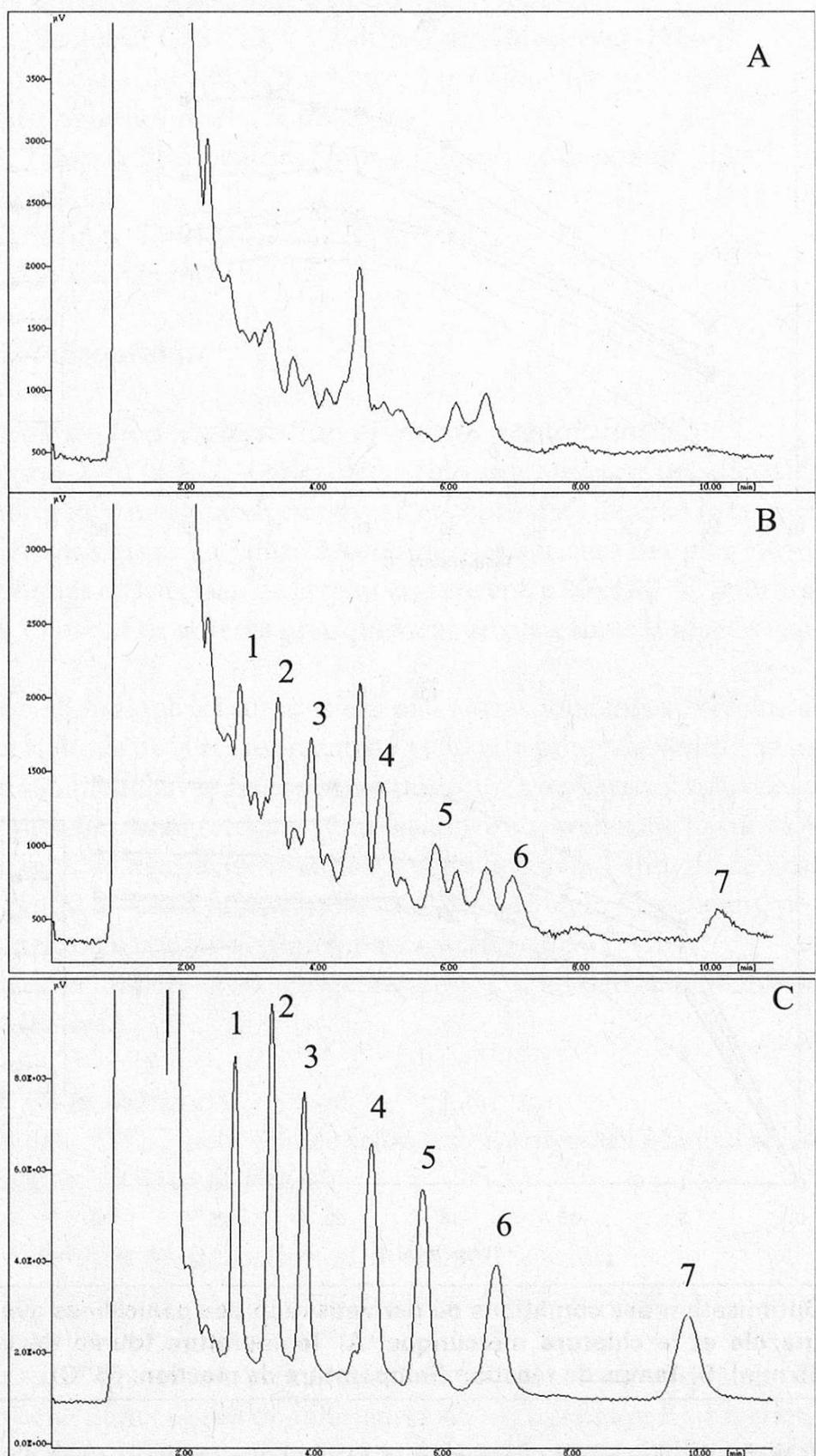


Figure 3 Optimisation des conditions de dérivation des pénicillines avec le 1, 2, 4 triazole et le chlorure mercurique. A) Température (durée de la réaction: 15 min); B) Temps de réaction (température de réaction: 65 °C)

lait selon l'OSEC, les limites de détection (LD) et de quantification (LQ) de la méthode.

La limite de quantification définie pour l'amoxicilline et l'ampicilline, soit 4 µg/kg, sont très proches des valeurs limites de l'OSEC, mais permettent toutefois d'effectuer un contrôle avec suffisamment de précision (environ 10 %). De plus,



**Figure 4** Chromatogrammes provenant de l'analyse de lait cru sans ajout A), avec ajouts de 5 µg/kg B) et 40 µg/kg de pénicillines C). Légende: 1 = Amoxicilline, 2 = Pénicilline G, 3 = Pénicilline V, 4 = Ampicilline, 5 = Oxacilline, 6 = Cloxacilline, 7 = Dicloxacilline

Tableau 1

**Valeurs limites admises (VL) pour les résidus de pénicillines dans le lait crus selon l’OSEC, limites de détection (LD) et de quantification (LQ) de la méthode HPLC, limites de détection du Delvotest (LDelvo)**

|                            | AMX | Pen-G | Pen-V | AMP | OXA | CLOX | DCLOX |
|----------------------------|-----|-------|-------|-----|-----|------|-------|
| VL (µg/kg)                 | 4   | 4     | 4     | 4   | 30  | 30   | 30    |
| LD <sub>HPLC</sub> (µg/kg) | 4   | 2,5   | 2,5   | 2,5 | 4   | 4    | 4     |
| LQ <sub>HPLC</sub> (µg/kg) | 5   | 5     | 5     | 5   | 5   | 5    | 5     |
| Ldelvo (µg/kg)             | 4   | 2     | 4     | 3   | 20  | 30   | 20    |

Légende: AMX (amoxicilline), Pen-G (pénicilline G), Pen-V (pénicilline V), AMP (ampicilline), OXA (oxacilline), CLOX (cloxacilline), DCLOX (dicloxacilline)

l’analyse de laits crus se fait toujours en parallèle avec un test de dépistage, le Delvotest, qui permet déjà d’affirmer la présence d’antibiotiques de la famille des pénicillines (tableau 1).

### Taux de récupérations et répétabilité

La répétabilité de la méthode a été déterminée avec un lait cru dopé à 20 µg/kg ( $n = 6$ ). Les taux de récupération, ainsi que les écarts-type et les coefficients de variation obtenus sont présentés dans le tableau 2. Les rendements sont compris entre 71 et 103 % selon les pénicillines avec des coefficients de variation situés entre 4,0 et 9,0 %.

Tableau 2

**Taux d’extraction et coefficients de variation lors de l’analyse d’un lait cru dopé avec 20 µg/kg de pénicillines ( $n = 6$ )**

|                      | AMX | Pen-G | Pen-V | AMP | OXA | CLOX | DCLOX |
|----------------------|-----|-------|-------|-----|-----|------|-------|
| Taux de récupération | 83  | 94    | 88    | 80  | 103 | 95   | 93    |
| moyen %              |     |       |       |     |     |      |       |
| Ecart-type %         | 7,5 | 5,1   | 3,5   | 4,8 | 5,5 | 4,9  | 4,2   |
| C.V. %               | 9,1 | 5,4   | 4,0   | 6,0 | 5,3 | 5,2  | 4,5   |

Légende: cf. celle du tableau 1

### Linéarité et exactitude

Des portions de 100 ml d’un même lait cru ont été analysées après dopage par des quantités croissantes de pénicillines comprises entre 2,5, 5, 10, 20, 40, 75 et 100 µg/kg (tableau 3).

Tableau 3

**Exactitude: récupérations (%) pour des portions de lait cru dopés entre 2,5 et 100 µg/kg de pénicillines**

| Conc. (µg/kg)             | AMX    | Pen-G  | Pen-V  | AMP    | OXA    | CLOX   | DCLOX  |
|---------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 2,5                       | 28     | 97     | 103    | 78     | 60     | 54     | 92     |
| 5                         | 67     | 87     | 90     | 78     | 78     | 81     | 93     |
| 10                        | 81     | 94     | 92     | 78     | 103    | 93     | 95     |
| 20                        | 83     | 94     | 88     | 80     | 103    | 95     | 93     |
| 40                        | 75     | 93     | 91     | 89     | 93     | 94     | 103    |
| 75                        | 86     | 91     | 86     | 79     | 96     | 89     | 93     |
| 100                       | 83     | 94     | 86     | 84     | 101    | 90     | 98     |
| <i>Moyenne</i>            | 79     | 92     | 89     | 82     | 96     | 90     | 96     |
| <i>CV %</i>               | 9,0    | 3,7    | 6,7    | 5,3    | 9,9    | 5,4    | 4,2    |
| <i>Coeff. corrélation</i> | 0,9989 | 0,9997 | 0,9998 | 0,9990 | 0,9995 | 0,9998 | 0,9994 |

Légende: cf. celle du tableau 1

La linéarité est estimée par le coefficient de corrélation calculé entre les surfaces des pics mesurés et la concentration en pénicillines.

L'estimation de l'exactitude est déterminée par le calcul des taux de récupération (concentration mesurée avec une droite d'étalonnage externe par rapport à la concentration théorique) (tableau 3).

La méthode est linéaire pour toute la gamme de concentration considérée, excepté pour l'amoxicilline pour laquelle la méthode proposée n'est linéaire qu'au-dessus de 5 µg/kg, cette pénicilline étant mal séparée des pics résultant de la matrice. Les coefficients de corrélation obtenus sont très voisins de 1 pour tous les antibiotiques analysés (tableau 3). Les points à 2,5 µg/kg n'ont été retenus que pour les pénicillines G et V, les taux de récupération étant trop faibles pour les autres pénicillines.

Les taux de récupération sont satisfaisants sur toute la gamme de concentration, variant entre 67 et 103 %. Les coefficients de variation des taux de récupération correspondants sont compris entre 3,7 et 9,9 %, soit très proches de ceux mesurés lors de l'étude de répétabilité (tableau 2).

***Application de la méthode à des laits crus positifs au Delvotest***

Nous avons comparé la technique HPLC avec les résultats obtenus au moyen du Delvotest, un test couramment utilisé pour le dépistage de la présence d'antibiotiques dans les laits.

Le tableau 1 présente encore les limites de détection du Delvotest, obtenues par dopage du lait cru par des concentrations connues en différentes pénicillines. On

observe que ces limites de détection correspondent très bien aux limites de quantification de la méthode HPLC. En cas de Delvotest positif, un témoin avec adjonction de pénicillinase permet en outre de déterminer si l'on est en présence ou non d'un antibiotique de la famille des pénicillines. Le Delvotest constitue par conséquent un excellent moyen de dépistage, qui doit précéder une identification et une quantification par HPLC de la pénicilline contaminant le lait.

Le tableau 4 présente les résultats obtenus par HPLC de laits crus positifs au Delvotest.

Les résultats du Delvotest sont exprimés en Unités Internationales (UI) de pénicilline G par ml (0,005 UI/ml de pénicilline G = 3 µg/kg) selon les critères suivants: une couleur jaune de la gélose indique l'absence d'antibiotique dans les limites de la sensibilité du test. Une couleur bleu-lilas indique la présence d'antibiotique à une concentration supérieure à 0,005 UI de pénicilline G/ml. Une couleur bleu-pâle à jaune indique des concentrations en antibiotique correspondant aux limites de détection (0,004 UI de pénicilline G/ml). Si l'échantillon de lait a été dilué, la concentration correspondant à la limite de détection pour la pénicilline G (0,004 UI/ml) est multipliée par le facteur de dilution.

Le Delvotest est un test semi-quantitatif propre à la pénicilline G, dont les résultats n'ont qu'une valeur indicative, d'où l'intérêt d'une méthode HPLC permettant d'identifier et de quantifier précisément les pénicillines. Une comparaison plus approfondie des performances quantitatives des deux méthodes est difficile et n'a en fait que peu d'intérêt, le Delvotest ne constituant qu'un moyen de dépistage.

Dans tous les cas, le test à la pénicillinase donnait un Delvotest négatif (couleur jaune de la gélose) et indiquait donc la présence de pénicilline. L'identification de la

**Tableau 4**  
**Identification et quantification HPLC des pénicillines présentes dans des échantillons de laits crus positifs au Delvotest**

| Echantillon | Résultats Delvotest       |  | Résultats HPLC |               |
|-------------|---------------------------|--|----------------|---------------|
|             | Unités Internationales/ml |  | Pénicilline    | Conc. (µg/kg) |
| 1           | 0,02                      |  | Pen-G          | 14            |
| 2           | 0,005                     |  | AMX            | 5,3           |
| 3           | 0,008                     |  | AMP            | 3,4           |
| 4           | 0,032                     |  | Pen-G          | 18            |
| 5           | 0,005                     |  | Pen-G          | < 2,5         |
| 6           | 0,01                      |  | Pen-G          | 5,7           |
| 7           | 0,064                     |  | AMX            | 15,6          |
| 8           | 0,005                     |  | AMX            | 5,9           |
| 9           | 0,005                     |  | Pen-G          | < 2,5         |
| 10          | 9,0                       |  | Pen-G          | 500           |
| 11          | 0,128                     |  | Pen-G          | 86            |

Légende: cf. celle du tableau 1

pénicilline incriminée a pu être réalisée. La figure 5 présente deux exemples de chromatogrammes obtenus.

Parmi les 11 laits crus contaminés, trois pénicillines ont été mises en évidence: l'amoxicilline, l'ampicilline et la pénicilline G dans des concentrations comprises entre 2 et 500 µg/kg. Dans 8 cas sur 11, les teneurs en pénicillines dépassaient les valeurs limites fixées dans l'OSEC. On constate donc que le Delvotest satisfait aux va-

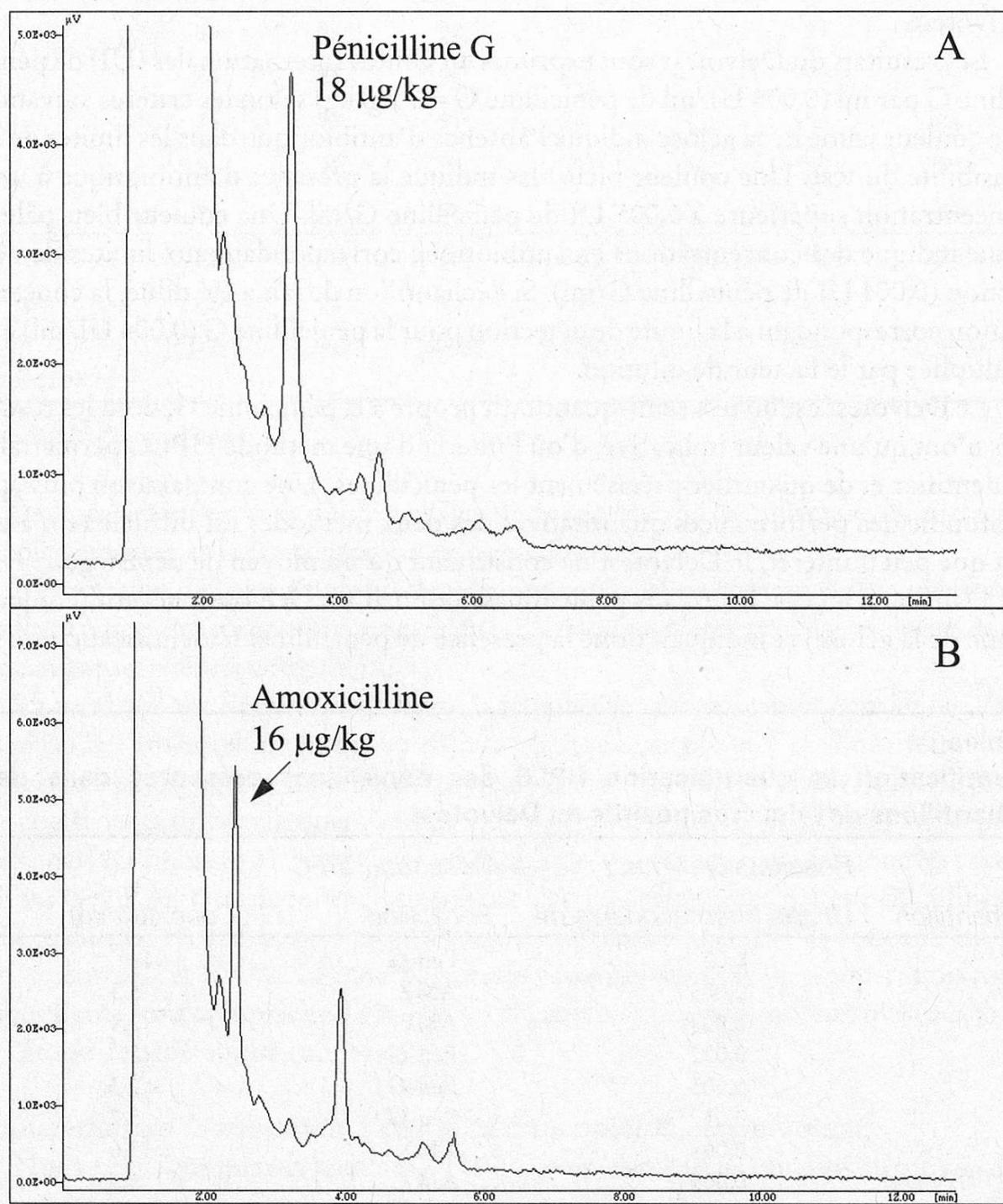


Figure 5 Chromatogrammes provenant de l'analyse d'échantillons de lait cru positif au Delvotest. A) lait cru contenant 18 µg/kg de pénicilline G; B) lait cru contenant 16 µg/kg d'amoxicilline

leurs limites de la législation et qu'il constitue un excellent moyen de dépistage pour la présence de pénicilline dans le lait.

Les cas 10 et 11 sont particulièrement intéressants. Le lait n° 10 provient d'un lait de producteur massivement contaminé en pénicilline G avec une concentration de 500 µg/kg, soit dépassant d'un facteur 100 fois la valeur limite admise. Le lait n° 11 provient de la citerne de collecte des producteurs de la région, où le lait no 10 a été livré. La teneur en pénicilline G reste encore très élevée (86 µg/kg) et le lait de cette citerne est susceptible de contaminer lors de son acheminement et de son mélange à la centrale laitière un volume de lait 20 fois supérieur.

## Conclusion

La technique de dérivation proposée est donc facile à mettre en œuvre, rapide et permet surtout le dosage sélectif, sensible et simultané de 7 pénicillines intéressant la médecine vétérinaire, y compris l'amoxicilline et l'ampicilline dans le lait cru. Il s'agit en l'occurrence de cinq pénicillines neutres et deux pénicillines amphotères. Les taux de récupération moyens sur l'ensemble de la procédure sont compris entre 79 et 96 %. La répétabilité, la linéarité, les limites de détection et de quantification de la technique satisfont les exigences légales et pour des concentrations comprises entre 4 et 100 µg/kg d'antibiotiques dans le lait.

La sensibilité de la méthode HPLC est comparable à celle du Delvotest qui est un excellent test de dépistage. La méthode HPLC constitue un excellent moyen de confirmation, qui permet en outre l'identification de la pénicilline présente dans le lait.

## Résumé

Le présent travail décrit une nouvelle méthode HPLC permettant l'analyse simultanée dans le lait cru de sept pénicillines, dont deux de type dibasique (amoxicilline et ampicilline), avec une dérivation en mode précolonne et une détection dans l'ultraviolet à 325 nm. La méthode a été validée quant à sa sélectivité, sa répétabilité, ses taux de récupération, sa linéarité, son exactitude et ses limites de détection et de quantification. Cette méthode a ensuite été appliquée à 11 échantillons de lait cru positifs selon le Delvotest puis comparée aux résultats obtenus avec ce dernier et discutée selon les valeurs limites fixées dans l'OSEC.

## Zusammenfassung

Es wird ein Verfahren für die gleichzeitige Bestimmung von sieben Penicillinen in Rohmilch beschrieben. Das Verfahren beruht auf einer Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC) mit Vorsäulenderivatisierung und UV-Detektion bei 325 nm. Die Selektivität, die Wiederfindungsraten, die Nachweis- und Detektionsgrenzen und die relative Wiederholbarkeit wurden bestimmt. Elf Rohmilchproben, die mit Delvotest positiv waren, wurden dann mit Hilfe der vorgeschlagenen HPLC-Methode analysiert. Die Empfindlichkeit des Delvotests wurde mit derjenigen der

HPLC-Methode verglichen und den Werten der schweizerischen Gesetzgebung gegenübergestellt.

## **Summary «Simultaneous Analysis of seven Penicillin Residues in raw Milk by Liquid Chromatography»**

A procedure is presented for the simultaneous analysis of seven penicillins in raw milk. The method is based on a separation by liquid chromatography with a precolumn derivatization and UV detection at 325 nm. The procedure is quantitatively characterised and repeatability, linearity, detection and quantification limits are determined.

The results of the HPLC method for about ten raw milk, which were positive with the Delvotest, are presented. The Delvotest sensitivity is compared with the HPLC method and the maximum residue limits of the swiss regulation.

### **Key words**

Penicillin, Milk, HPLC, Precolumn derivatization, UV Detection, Delvotest

### **Bibliographie**

- 1 World Health Organization: Twelfth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Technical report series N° 430, 16–18, WHO, Geneva 1969.
- 2 *Wilson, R.C.*: Antibiotic residues and the public health. In: *Crawford, L.M., Franco, D. A.* Animal drugs and human health. 63–74, Lancaster 1994.
- 3 *Salisbury, C.*: Chemical analysis for antibiotics used in agriculture. In: *AOAC Int., Oka, H., Nakazawa, H., Harada, K., McNeil, J.D.*, 307–332, Arlington 1995.
- 4 *Boison, J.O.*: Chromatographic methods of analysis for penicillins in food-animal tissues and their significance in regulatory programs for residues reduction and avoidance. *J. Chromatogr.* **624**, 171–194 (1992).
- 5 *Kirchmann, E. and Welch, L.E.*: High-performance liquid chromatographic separation and electrochemical detection of penicillins. *J. Chromatogr.* **633**, 111–118 (1993).
- 6 *Sorensen, L.K., Rasmussen, B.M., Boison, J.O. and Keng, L.*: Simultaneous determination of six penicillins in cows' raw milk by a multiresidue high performance liquid chromatographic method. *J. Chromatogr. B*, **694**, 383–391 (1997).
- 7 *Verdon, E. and Couèdor, P.*: Determination of amphoteric and neutral penicillin antibiotic in porcine muscle with pre-column derivatization. Poster presented at the third international symposium on hormone and veterinary drug residue analysis, Bruges, 2–5 June 1998.
- 8 *Boison, J.O. and Keng, L.J.Y.*: Multiresidue liquid chromatographic method for determining residues of mono- and dibasic penicillins in bovine muscle tissues. *J. Ass. Off. Anal. Chem.* **81**, 1113–1120 (1998).
- 9 *Buxtorf, U.P., Camenzind, R., Gerber, R., Meier, P., Walter, E., Zürcher, K.*: Validierung von Methoden für das Schweizerische Lebensmittelbuch. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* **88**, 202–208 (1997).

Adresse du correspondant: Dr Patrick Edder, Service du chimiste cantonal, 22, Quai Ernest-Ansermet, CH-1211 Genève 4, Edder-P@ge-dass.etat-ge.ch