

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОЛОГИИ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ЗЕРНА НА НАЛИЧИЕ АФЛАТОКСИНА В₁

Мерчина С.В., кандидат биологических наук, доцент,
sv2309@yandex.ru

Молофеева Н.И., кандидат биологических наук, доцент,
nadezhda.molofeeva.67@mail.ru
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

Ключевые слова: микотоксины, афлатоксин В₁, безопасность, корма, зерно.

В статье описаны методы выделения афлатоксина В₁, его опасность обнаружения в зерновых кормах. Результаты одновременного определения зеараленона и афлатоксина В₁ методом мембранных иммуноанализа в образцах искусственно загрязненной пробы, свидетельствуют о том, чувствительность методики составляет 95,6 %, специфичность – 95 % по ЗЕА и 97,5 % по AFB₁, правильность по ЗЕА – 95,3 %, по AFB₁ – 96,5 %, процент ложноположительных результатов по ЗЕА – 5 %, по AFB₁ – 2,5%.

Введение. Качество зерна играет важную роль в обеспечении продовольственной безопасности, и его оценка на наличие вредных примесей, особенно, таких как микотоксины, становится крайне необходимой. Одной из главных угроз пищевой безопасности является афлатоксин В₁, который представляет серьёзную опасность для здоровья человека и животных.

Загрязнение сельскохозяйственных культур афлатоксином представляет собой глобальную проблему, которая ставит под угрозу безопасность продуктов питания и кормов, а также влияет на сельскохозяйственную экономику и хозяйственную деятельность мелких предприятий, в связи с потерями качественной растительной продукции.

В связи с этим изучение и создание новых и широко применимых в производственных условиях методик, позволяющих анализировать

качество и безопасность зерна и продуктов его переработки, является в настоящее время одним из ключевых направлений ветеринарно-санитарной экспертизы и биотехнологии[1,2].

Афлатоксин В₁ является самым опасным афлатоксином для людей и животных, так как он канцерогенен из-за своей связи с гепатоцеллюлярной карциномой, которая приводит к раку печени. Для внелабораторного скрининга афлатоксина В₁ в зерне разработаны иммунохроматографические и иммунофильтрационные тесты с антителами, иммобилизованными на мембранах и сефарозном геле. Методики одновременного тест-определения афлатоксина В₁ в пшенице отсутствуют. [3,4].

В связи с этим целью настоящей работы явилась разработка методики одновременного определения афлатоксина В₁ в экстракте пшеницы в формате мембранныго иммуноферментного анализа на уровне 5 мкг/кг соответственно.

Материалы: образцы зерна, жидкостный хроматограф с флуориметрическим(спектрофлуориметрическим) детектором, который обеспечивает возбуждение флуоресценции в диапазоне длин волн (270 + 20) нм и регистрацию интенсивности флуоресценции в диапазоне длин волн от 450 до 470 нм или с фотометрическим (спектрофотометрическим) детектором, позволяющим проводить измерения оптической плотности в диапазоне длин волн (270 + 20) нм; хроматографическая колонка с обращенно-фазовым сорбентом; предколонка, заполненная обращенно-фазовым сорбентом; весы лабораторные общего назначения; пипетки градуированные; колбы и цилиндры мерные; стандартные образцы раствора зеараленона в ацетонитриле номинального значения массовой концентрации 100 мкг/см³; испаритель роторный; насос лабораторный вакуумный; устройство для перемешивания проб, измельчитель проб; шкаф сушильный; холодильник бытовой; сито (d=1 мм); pH-метр; воронки делительные и химические; колбы плоскодонные и остродонные; фильтры бумажные «красная лента»; вода дистиллированная; натрий сернокислый, ацетонитрил для жидкостной хроматографии, хлороформ; натрия гидроксид; ортофосфорная кислота; кислота серная; азот газообразный [5].

Результаты исследований и их обсуждение. Анализируя результаты исследований, было установлено, что в 580 изученных образцах (312 проб пшеницы, 115 проб – ячменя, 53 пробы гороха, 44 пробы сои, 56 проб зерна кормового (овес и ячмень на кормовые цели: 2 пробы ячменя, 2 пробы овса и 1 проба пшеницы) концентрация афлатоксина B1 была выявлена в количестве менее 0,005 мг/кг, что соответствует требованиям к качеству зерна. Нормативное значение показателя составляет не более 0,005 мг/кг.

Результаты одновременного определения зеараленона и афлатоксина B1 методом мембранныго иммуноанализа в образцах искусственно загрязненной пробы, свидетельствуют о том, чувствительность методики составляет 95,6 %, специфичность – 95 % по ЗЕА и 97,5 % по AFB₁, правильность по ЗЕА – 95,3 %, по AFB₁ – 96,5 %, процент ложноположительных результатов по ЗЕА – 5 %, по AFB₁ – 2,5%.

Заключение. По результатам проведенных исследований можно сделать вывод, что в ходе испытаний, проведённых в сертификационном центре, проанализированы 1560 проб сельскохозяйственных культур, из которых 612 проб пшеницы, 106 проб горох, 266 проб ячменя, 22 пробы ржи, 26 проб овса, 21 проба гречихи, 4 пробы жмых подсолнечника, 17 проб льна, 379 проб подсолнечника, 44 пробы сои, 14 проб проса, 21 проба рапса, 19 проб кукурузы, 9 проб чечевицы. Всего было произведено 22084 исследования, из которых 580 исследований приходилось на определение наличия афлатоксина B1. Исследования методом высокоэффективной жидкостной хроматографии показали, что в 580 изученных образцах (312 проб пшеницы, 115 проб – ячменя, 53 пробы гороха, 44 пробы сои, 56 проб зерна кормового (овес и ячмень на кормовые цели: 2 пробы ячменя, 2 пробы овса и 1 проба пшеницы) концентрация афлатоксина B1 составила менее 0,005 мг/кг, что соответствует установленным нормам. Допустимый уровень содержания афлатоксина B1 в зерне установлен на уровне не более 0,005 мг/кг. Разработан способ одновременного определения зеараленона (ЗЕА) и афлатоксина B1 (AFB₁) посредством мембранныго иммуноанализа. Чувствительность данного метода составила 95,6% для ЗЕА и 97,5% для AFB₁, специфичность — 95% для ЗЕА и 97,5% для

AFB₁, точность — 95,3% для ЗЕА и 96,5% для AFB₁. Доля ложноположительных результатов составила 5% для ЗЕА и 2,5% для AFB₁.

Практические предложения. Предлагаем с целью оптимизации исследования проб зерна на наличие афлатоксина B1— методику одновременного определения зеараленона (ЗЕА) и афлатоксина B1 (AFB₁) методом мембранныго иммуноанализа. Данная тест-система позволяет обнаружить присутствие аналита выше заданного уровня концентрации (контрольного уровня). Помимо визуальной оценки результатов, которая может содержать большую субъективную погрешность, необходимо проводить цифровую обработку сканированного изображения мембран. В качестве оптимальной цветовой характеристики выбран параметр G (насыщенность зеленого), проявивший наибольший отклик на продукт ферментативной реакции по отношению к фоновому сигналу мембранны при пропускании экстракта.

Библиографический список:

1. Мерчина С.В. Обоснование необходимости в разработке технологических параметров, исключающих контаминацию пищевых продуктов *Bacillus cereus*/ С.В. Мерчина //автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова. Саратов, 2003.
2. Мерчина С.В. Влияние микотоксинов на токсичность кормового зерна/С.В. Мерчина Н.И. Молофеева //В сборнике: Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. Материалы XIV Международной научно-практической конференции. Ульяновск- 2024. - С. 171-175.
3. Феоктистова Н.А., Диагностическая эффективность новых препаратов для ускоренной идентификации *Bacillus cereus* методом фаготипирования/Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, М.А. Лыдина др,// В книге: Материалы VII Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием. 2015. С. 344.
4. Васильев Д.А. Изучение основных биологических свойств бактериофагов *Aeromonas hydrophila* /Д.А. Васильев, А.В., Алёшкин,

С.Н Золотухин С.Н., др./// Естественные и технические науки.- 2017.
№ 12 (114). - С. 48-53.

5. Васильев Д.А. Молекулярно-генетические методы исследования осетровых рыб на наличие герпесвируса и ветеринарно-санитарная оценка полученного пищевого сырья / Д.А. Васильев, С.В. Мерчина, И.М. Калабеков, А.Р. Кавеева // В сборнике: Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. Материалы V Международной научно-практической конференции. Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия. – Ульяновск. -2013. - С. 112-115.

IMPROVING THE METHODOLOGY FOR ASSESSING GRAIN QUALITY FOR AFLATOXIN B1

Merchina S.V., Molofeeva N.I.

Keywords: mycotoxins, aflatoxin B1, safety, feed, grain

The article describes the methods of isolation of aflatoxin B1, its danger of detection in grain feed. The results of the simultaneous determination of zearalenone and aflatoxin B1 by the membrane immunoassay method in artificially contaminated samples indicate that the sensitivity of the method is 95.6%, specificity is 95% for ZEA and 97.5% for AFB1, accuracy for ZEA is 95.3%, for AFB1 – 96.5%, the percentage of false positive results for ZAE is 5%, for AFB1 – 2.5%.