

ФЛУОРИМЕТРИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ АФЛАТОКСИНОВ В ЗЕРНЕ

А. ГАЛКИН, канд. хим. наук, **Е. ТРЕПАЛИНА**, компания «СТАЙЛАБ»

Одной из основных проблем животноводства была и остается контаминация кормов плесневыми грибами, которые особенно активно растут в тепле и при достаточно высокой влажности. Такие условия возникают как в ходе выращивания зерна, так и при его хранении. Помимо собственно порчи зерна плесневые грибы вырабатывают ядовитые вещества — микотоксины. Наиболее опасны из них афлатоксины — метаболиты плесневых грибов рода *Aspergillus*. Эти плесени встречаются повсеместно и поражают продукты с высоким содержанием глюкозы, крахмала и других сахаров, в том числе зерно и орехи.

Афлатоксины генотоксичны и проявляют канцерогенные, тератогенные и иммуносупрессивные свойства. Эти яды воздействуют практически на все системы организма. Афлатоксины вызывают нарушения проницаемости плазматических мембран клетки и митохондрий, ингибируют репликацию ДНК, транскрипцию и синтез белка, влияют на электронный транспорт, а также регуляцию синтеза липидов. Они опасны как для человека, так и для свиней, коров, овец, кроликов, птицы и рыбы.

Отравления афлатоксинами называют афлатоксикозами. Острое отравление ими зачастую приводит к быстрой гибели животных из-за некроза печени. Однако намного чаще встречается хроническое отравление афлатоксинами. Обычно его результатом становятся онкологические заболевания печени: к примеру, их частота у крыс достигает 100% в течение 68–80 недель при кормлении пищей, содержащей 15 мкг/кг афлатоксина В1 [1]. Известно, что у форели рак печени возникает при питании кормом, содержащим 1 мкг/кг афлатоксина В1, на протяжении 20 месяцев [2]. В таблице 1 приведен средний уровень летальной дозы афлатоксина В1 для разных видов животных и птицы [3].

Для хронических афлатоксикозов характерны такие симптомы, как по-

Таблица 1. ЛД50* афлатоксина В1 для разных видов животных

Вид животного/птицы	ЛД50, мг/кг
Индейка	0,5
Курица	2,0–6,3
Кролик	0,3
Овца	5,0
Свинья	0,6
Корова (теленки)	0,5–1,5

* ЛД50 — 50%-ная летальная доза.

теря веса и аппетита, диарея, анемия, внутреннее кровоизлияние, неврологические нарушения, поражения внутренних органов, в особенности печени. Кожные покровы могут быть бледными. У животных и птицы ослабевает устойчивость к бактериям и вирусам, что приводит к возникновению заболеваний. У кур снижается яйценоскость, у коров — надои. Кроме того, молоко, полученное от коров, потреблявших зараженные афлатоксинами корма, содержит афлатоксин М1 — метаболит афлатоксина В1, образующийся в организме животного.

В настоящее время выделено 17 видов афлатоксинов. Наиболее хорошо изучены афлатоксины В1, В2, G1, G2, а также афлатоксин М1 (в таблице 2 представлен средний уровень летальной дозы этих токсинов для однодневных утят [3]). Все они устойчивы к нагреванию (остаются активными после

Таблица 2. ЛД50 афлатоксинов для однодневных утят

Виды афлатоксинов	ЛД50, мг/кг живой массы
В1	0,37
В2	1,69
G1	0,79
G2	2,5
М1	0,8

термической обработки продукции) и воздействию кислот. Существует несколько методов снижения токсичности афлатоксинов с использованием аммиака или перекиси водорода, однако такая обработка значительно снижает и питательную ценность кормов. В большинстве стран принято контролировать уровень афлатоксинов в пищевом сырье, кормах для животных и продуктах питания и не допускать к продаже продукцию, в которой содержание этих веществ превышает допустимый уровень. В России максимально допустимый уровень афлатоксина В1 в продовольственном зерне составляет 5 мкг/кг, в кормовом — 20 мкг/кг (ТР ТС 015/2011 «О безопасности зерна»).

Необходимость определять афлатоксины в малых концентрациях обуславливает требования к методам их анализа. Наибольшей чувствительно-

стью и точностью обладают хроматографические методы, особенно если перед их проведением была осуществлена пробоподготовка с использованием иммуноаффинных колонок. Для скрининга проб применяют метод иммуноферментного анализа. Определить токсичность проб можно также с помощью лампы Вуда (лампа черного света) [4]. Этот метод, называемый также BGYF (Bright Greenish-Yellow Fluorescence), имеет статус официального метода AOAC (Association of Official Agricultural Chemists) [5]. Он основан на том, что при облучении ультрафиолетом зерен, пораженных плесневыми грибами *Aspergillus flavus* и *A. Parasiticus*, они флуоресцируют ярким зелено-желтым светом (рис. 1).

На оценке флуоресценции основан метод анализа афлатоксинов в зерне с использованием прибора Aflaflesh-2 (рис. 2). Прибор предназначен для быстрого скрининга зерна и пригоден для установки в хранилищах или на производстве. Данный метод анализа неdestructивен, после него зерно можно использовать или проанализировать иным способом. Анализ пробы зерна массой 1 кг занимает около 10 мин. При этом для скрининга не требуются реактивы, расходные материалы и специальная пробоподготовка. Автоматизация процесса исключает влияние человеческого фактора. Концентрация афлатоксина В1 также определяется автоматически посредством

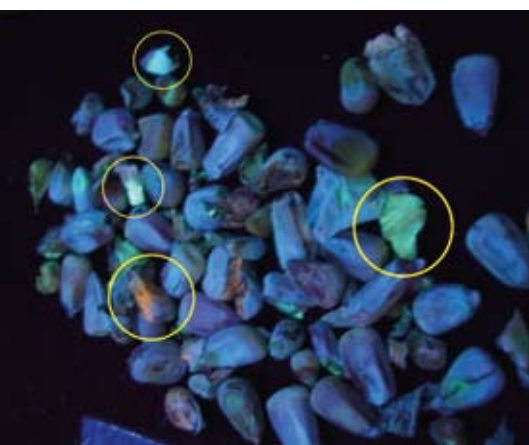


Рис. 1. Флуоресценция контаминированных зерен

Рис. 2. Прибор Aflaflesh-2



встроенной калибровочной кривой. Для ее построения были использованы результаты более 150 анализов, проведенных на Aflaflesh-2 и затем подтвержденных с помощью метода ВЭЖХ. Позднее данные для калибровочной кривой уточнялись в ходе семи дополнительных серий анализа, каждая из которых включала 10 проб по 1 кг. По итогам анализа на экран прибора выводится отчет, содержащий данные о концентрации афлатоксина В1 (в мкг/кг) в пробе, пиксельную разметку контаминированной зоны и при необходимости оценку зерна по степени пригодности для производства кормов. Кроме того, запись процесса анализа сохраняется на диске в формате AVI, и ее можно просмотреть в любой момент.

Регулярный скрининг афлатоксинов в кормовом зерне необходим для своевременного получения данных о его пригодности к переработке. Такие меры предотвращают финансовые потери, в том числе вызванные снижением продуктивности животных или их гибелью. Прослеживаемость результатов

анализа и минимизация человеческого фактора позволяют легко разрешать споры с поставщиками или потребителями при их возникновении. В Российской Федерации Aflaflesh-2 можно приобрести, обратившись в компанию «СТАЙЛАБ».

Литература

1. Newberne, P.M., Wogan, G.N. Sequential morphologic changes in aflatoxin B₁ carcinogenesis in the rat, *Cancer Res.*, 1968.
2. Horn, C.W., Boleman, L.L., Coffman, C.G., Deton, J.H., Lawhorn, D.B. Mycotoxins in feed and food producing crops college state Texas. *Texas Vet. Med. Diagnostic*, 1989.
3. Aflatoxins — *Biochemistry and Molecular Biology*, Edited by Ramon Gerardo Guevara-Gonzalez, InTech, October 05, 2011.
4. Иллюстрированный атлас болезней птиц. — Издательский дом «Медол», 2006.
5. AACC International Approved Methods. Mycotoxins. AACCI Method 45-15.01. Aflatoxin — Presumptive Test. ■