ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗ МИКОТОКСИНОВ В ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ И ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ

А. ЕЛАГИНА, А. ГАЛКИН, канд. хим. наук, ООО «Компания Стайлаб»

Когда говорят о безопасности кормов и зернового сырья для их производства, то под этим подразумевают также один из важнейших рисков заражение зерна плесневыми грибами, продуцирующими вторичные метаболиты — микотоксины. Это низкомолекулярные соединения, оказывающие различное токсическое воздействие на организм животных и человека. Микотоксины, загрязняя зерно, по технологической цепочке попадают сначала в корм, затем в организм животных и, наконец, в готовый продукт, создавая опасность уже для здоровья потребителя.

Микроскопические плесневые грибы, которые приводят к порче зерна, делятся на две группы: так называемые полевые (например, грибы рода Fusarium) и грибы хранения или складские (грибы родов Aspergillus, Penicillum). Соответственно и микотоксины могут образовываться не только во время выращивания зерновых культур, но и при их хранении и/ или транспортировке. Таким образом, в изначально качественном зерне или корме при хранении в неблагоприятных условиях в течение 15-20 дней накапливаются микотоксины в количестве, достаточном для отравления животных.

Степень токсичности микотоксина для организма зависит от вида животного и состава рациона. Так, афлатоксины — это сильные гепатоксины. Наиболее опасен среди них афлатоксин В1. Он поражает печень и снижает секрецию пищеварительных ферментов, что приводит к уменьшению усвояемости питательных

веществ, задержке роста и снижению продуктивности. Афлатоксины являются также потенциальными канцерогенами для человека. Трихотецены (например, ДОН, Т-2 токсин) подавляют метаболизм белка в организме. В результате у несушек снижаются яйценоскость, масса яйца и выводимость, ухудшается качество скорлупы, наблюдаются повреждения зоба и мышечного желудка; у свиней поражаются печень и кожный покров, снижается продуктивность. При интоксикации дезоксиниваленолом животные отказываются от корма, уменьшается прирост живой массы, возникают диарея и рвота. Зеараленон чрезвычайно опасен для свиней. Он оказывает сильнейшее негативное влияние на половую систему: приводит к бесплодию женских особей и нарушает репродуктивную функцию у хряков. Эта проблема особенно актуальна для племенных хозяйств. Фумонизины, ассоциируемые в основном с кукурузой, снижают усвояемость корма, в результате животные или птица плохо растут, у них диагностируется отек легких, повышается риск респираторных заболеваний. Считается, что фумонизин является

канцерогеном для человека, провоцируя развитие рака пищевода.

В естественно загрязненных пробах чаще всего обнаруживают не один, а сразу несколько видов микотоксинов. Тут важно учесть присущее микотоксинам свойство синергизма: они усиливают токсическое действие друг друга.

Вопросы нормирования микотоксинов в сырье отражены в международном законодательстве, равно как и в законодательствах отдельных стран и объединений. Так, в главе 36 Единых ветеринарных (ветеринарносанитарных) требований, предъявляемых к товарам, подлежащим ветеринарному контролю (надзору), которые утверждены решением Таможенного союза №317 от 18 июня 2010 г., приведены предельно допустимые количества микотоксинов в различных видах кормового сырья (табл. 1).

Способы управления содержанием микотоксинов в рационах и снижения токсических эффектов разрабатываются уже в течение длительного времени и характеризуются чрезвычайным разнообразием. Это комплекс мер, начиная с создания условий, препятствующих появлению плесне-

Таблица 1. Предельно допустимые количества некоторых микотоксинов в зерновом сырье, мг/кг

D	Зерновое сырье			
Вид микотоксина	пшеница, овес, ячмень	кукуруза		
Афлатоксины в сумме	0,004	0,01		
Зеараленон	0,1	0,1		
Дезоксиниваленол	1,0	1,0		
Т-2 токсин	0,06	0,06		

КАЧЕСТВО и ЭФФЕКТИВНОСТЬ

вых грибов при выращивании зерновых культур и хранении зернового сырья, и заканчивая лекарственными и нейтрализующими добавками для животных. Однако, как и в случае со многими другими контаминантами, всегда лучше обнаружить проблему на ранних стадиях технологической цепочки, что позволяет оптимизировать капиталовложения в решение проблемы и устранение негативных последствий.

При производстве комбикормов следует, в первую очередь, позаботиться о качестве зернового сырья. В связи с этим необходим эффективный инструмент для контроля содержания микотоксинов в зерне, при этом желательно применять простую и быструю методику. Конечно, всегда можно (а в некоторых случаях - необходимо) воспользоваться услугами специализированных лабораторий, но тут происходит потеря в оперативности, ведь придется ждать, пока выдадут результаты, а прежде этого пока доставят пробы. И хорошо, если лаборатория находится в вашем городе. А если нет? И, в конце концов, что если перед нами стоит задача оснастить специалиста по закупкам зерна инструментом, который позволит быстро, просто и эффективно провести анализ при выезде?

Тест-полоски Rida®Quick в сочетании с портативным ридером Rida®Quick Scan предназначены именно для таких случаев.

Rida®Quick — это иммунохроматографические тест-полоски для качественного и количественного скрининга микотоксинов в зерновом сырье. Сейчас выпускается четыре вида тест-полосок: для определения афлатоксинов, фумонизинов, дезоксиниваленола (ДОН) и зеараленона. В первом квартале 2013 г. в продажу поступят тест-полоски для определения Т-2 токсина. Применение тест-полосок Rida®Quick утверждено Минсельхозом России (МУК 5-1-14/1001).

Каждая тест-полоска Rida®Quick заключена в аккуратный пластиковый футляр (рис. 1), что удобно для работы, не нужно опасаться уронить тоненькую полоску или случайно коснуться пальцами аналитической зоны. На полоске отмечена зона приемной мембраны для внесения пробы (окошко Sample), а зона результатов снабжена подписями-указателями Test line (тестовая черта) и Control line (контрольная черта). Следовательно, перепутать, куда вносить пробу и где расположена контрольная черта, практически невозможно.

Принцип действия тест-полосок Rida®Quick основан на иммунном взаимодействии, поэтому определение токсина характеризуется высокой специфичностью. Весь процесс анализа — от взятия навески до получения результата — занимает 15 мин.

Процедура анализа простая: измельчите пробу; возьмите навеску 1 г; прилейте к ней экстрагент в количестве, указанном в методике; встряхивайте пробирку 3 мин, проводя экстракцию; дайте пробирке отстояться около 2 мин, до осаждения пробы, или отфильтруйте; указанное количество прозрачного экстракта нанесите на приемную мембрану тест-полоски; выдержите тест-полоску в течение указанного времени (обычно 5 мин); считайте результат; нанесите стопраствор для остановки реакции.

Оценка результата. Прежде всего убедитесь, что проявилась контрольная черта. Образование этой черты не зависит от наличия микотоксина в пробе, поэтому она должна проявляться всегда. Ее присутствие свидетельствует о том, что анализ выполнен правильно и что тест-полоска работает исправно. Если контрольная черта

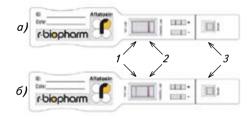
reliephorm 1 1 11 111

Рис. 1. Иммунохроматографическая тест-полоска Rida®Quick Aflatoxin

не проявилась, следует повторить анализ с применением другой тестполоски.

По тестовой черте судят о концентрации микотоксина в пробе. Проявление второй (тестовой) черты говорит о том, что проба содержит микотоксин в концентрации свыше предела обнаружения методики, например более 4 мкг/кг афлатоксина при использовании тест-полоски Rida®Quick Aflatoxin (рис. 2). Если же вторая черта не проявляется и на тест-полоске наблюдается только контрольная черта, то проба содержит микотоксин в концентрации меньшей, чем предел обнаружения и расценивается как отрицательная.

Помимо такого, качественного, результата тест-полоски Rida®Quick дают возможность количественно оценивать концентрацию микоток-



а) Отрицательный результат: В зерне содержится менее 4 мкг /кг афлатоксина

б) Положительный результат: В зерне содержится более 4 мкг / кг афлатоксина

1 — аналитическая черта; 2 — контрольная черта; 3 — окно для ввода экстракта

Рис. 2. Визуальная оценка результатов анализа с помощью тест-полосок Rida®Quick Aflatoxin



Рис. 3. Ридер-денсинометр Rida®Quick Scan

Таблица 2. Варианты методик с применением тест-полосок Rida®Quick для контроля микотоксинов различных концентраций

	14				Характеристика метода		
Метод	Количе- ство пробы, г	Количество приливаемого экстрагента, мл		Инкубация, мин	Предел обнаружения	Диапазон определяемых концентраций	
				Дезоксинивалено	ОЛ		
DON Quant	1	15			5	0,5 мг/кг	0,5−5,5 мг/кг
DON Sens	2	15			5	0,2 мг/кг	0,2-0,9 мг/кг
DON CutOff	1	15			5	0,5; 0,75; 1,00; 1,25; 1,75; 2,00 мг/кг	_
				Афлатоксины			
Afla Quant 10					4	20 мкг/кг	12-60 мкг/кг
	10	20			8	10 мкг/кг	8-30 мкг/кг
					16	4 мкг/кг	4-20 мкг/кг
A (1 E .	4		_		8	40 мкг/кг	16-60 мкг/кг
Afla Feed	1	5			16	20 мкг/кг	8-40 мкг/кг
				Фумонизин			
Fumo 0.8	5	Χ*	100 мкл + 900 мкл буфера		5	0,8 мг/кг	0,8-4 мг/кг
Fumo 4	5	Χ*	100 мкл + 900 мкл (разведение 1)	100 мкл разведе- ния 1 + 900 мкл буфера	5	4 мг/кг	4—10 мг/кг
				Зеараленон			
ZON	10	20	100 мкл +600	мкл буфера	5	75 мкг/кг	75-500 мкг/кг

 $[^]st$ Количество экстрагента указывается во вложении к каждому комплекту тест-полосок.

синов в пробе. Для этого необходим портативный ридер Rida®Quick Scan (рис. 3). Дополнительно к ридеру могут поставляться сканер для считывания QR-кода с упаковки тест-полоски и принтер для распечатки результатов. Весь комплект оборудования

1

1 — ридер Rida® Quick Scan,
2 — инструкция;
3 — сканер
для считывания штрих-кода;
4 — принтер

Рис. 4. Портативный ридер Rida®Quick Scan в кейсе

упакован в удобный кейс, который обеспечивает мобильность (рис. 4).

Перед тем, как провести измерение, необходимо ввести в ридер Rida®Quick Scan калибровку для выбранного вида тест-полосок и конкретного номера лота. Калибровка приводится в сертификате, прилагаемом к тест-полоскам (здесь потребуется ручной ввод), а также в виде QR-кода на сертификате и на индивидуальной упаковке каждой тест-полоски. Такая калибровка считывается в несколько секунд с помощью сканера. Процесс считывания ре-

зультатов с помощью Rida $^{\mathrm{@}}$ Quick Scan приведен на рисунке 5.

Ридер Rida®Quick Scan позволяет автоматизировать процесс анализа и протоколирование результатов. Ридер сохраняет до 20 профилей пользователей, то есть можно дифференцированно хранить и просматривать результаты 20 разных операторов. Питание обеспечивается от сети или аккумулятора. Ридер поддерживает USB-соединение с персональным компьютером для передачи данных, что позволяет оптимизировать



Считайте QR-код с калибровкой



Вставьте тест-полоску в сканер



Считайте результат и распечатайте на портативном принтере

КАЧЕСТВО и ЭФФЕКТИВНОСТЬ

хранение данных и их интеграцию в корпоративную систему управления информацией. Непосредственно в полевых условиях результаты распечатываются на портативном принтере в виде чека, на котором фиксируется время выполнения анализа, идентификация пользователя, выбранный метод, а также предусмотрено место для подписи. Данный чек подшивается в лабораторный журнал, либо прикладывается к документам на партию сырья.

Тест-полоски Rida®Quick представляют собой не только удобный, но и гибкий инструмент, который преобразовывается под ваши цели. Варьируя элементы подготовки пробы, такие как величина навески, количество

экстрагента, дополнительные разведения, можно с помощью одних и тех же тест-полосок проводить измерения на разных уровнях чувствительности. Это в свою очередь позволяет внедрить гибкую дифференцированную шкалу внутренних нормативов по разным видам микотоксинов, в зависимости от назначения зерна.

В процессе валидационных исследований, выполненных производителем, подтвердилось, что тест-полоски Rida®Quick в сочетании с ридером Rida®Quick Scan предоставляют возможность получить количественную оценку содержания микотоксинов в зерне, причем эта оценка согласуется с результатами высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Варианты методик с применением тест-полосок Rida®Quick для контроля микотоксинов различных концентраций представлены в таблице 2. Как видим, с портативным чемоданчиком, содержащим ридер Rida®Quick Scan, и минимумом дополнительных приспособлений можно организовать полевую лабораторию для скрининга микотоксинов в любых условиях.

С помощью тест-полосок Rida®Quick вы получаете надежную информацию о сырье для производства комбикормов. А оперативная и достоверная информация представляет собой наилучшую опору для принятия решений по приобретению зернового сырья и управлению рисками микотоксикозов. ■



КУРСЫ ПОВЫШЕНИЯ КВАЛИФИКАЦИИ ВО ВНИТИП В 2013 ГОДУ

11—16 февраля, 11—16 ноября	Актуальные проблемы и пути их решения в современной практике инкубации яиц сельскохозяйственной птицы (для зоотехников, ветеринарных врачей, заведующих и механиков цехов инкубации)	
11—16 марта, 25—30 ноября	Актуальные вопросы выращивания ремонтного молодняка, содержание промышленного, родительского и племенного стада яичных кур (для руководителей, технологов, зоотехников, ветеринарных врачей, инженеров, начальников цехов и бригадиров птицеводческих предприятий)	
18–23 марта, 21–26 октября	Новые технологии и пути повышения эффективности производства мяса бройлеров (для технологов и специалистов по производству и переработке мяса птицы)	
25–30 марта, 28 октября — 1 ноября	Племенная работа с высокопродуктивными кроссами сельскохозяйственной птицы (для руководителей и специалистов племенных хозяйств)	
1—6 апреля, 9—14 сентября	Современные подходы к кормлению высокопродуктивных кроссов птицы, контроль безопасности и качества комбикормов, биологически активных добавок, современные технологии в кормопроизводстве (для технологов птицеводческих и комбикормовых предприятий, ветеринарных врачей, заведующих зоо- и ветлабораториями, зоотехников по кормам)	
15–20 апреля, 8–23 ноября	Перспективные технические решения и оборудование при ресурсосберегающих технологиях производства и переработки птицеводческой продукции (для инженеров, энергетиков, технологов птицеводческих хозяйств)	
22—27 апреля	Экономические аспекты обеспечения результативности функционирования птицеводческих предприятий (для руководителей и специалистов финансово-экономической службы, технологов птицеводческих предприятий)	
23–28 сентября	Актуальные вопросы переработки, качества и стандартизации продукции птицеводства (для специалистов по производству и переработке яиц и мяса птицы)	

По окончании курсов выдается удостоверение о повышении квалификации государственного образца.

Во время проведения курсов будет продаваться новая научная литература по птицеводству.

Дополнительную информацию можно получить на сайте: www.vnitip.ru

Телефоны для справок: (496) 54-7-70-70, 551-71-51, факс (496) 551-21-38