

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИКОТОКСИНОВ
В ЛЕКАРСТВЕННОМ РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ
DETERMINATION OF MYCOTOXINS
IN MEDICINAL PLANT RAW MATERIALS AND FOOD PRODUCTS**

**И. В. Шарамков¹, В. О. Лемешевский^{1,2,3},
Е. В. Андриевская⁴, Л. Л. Бelyшева⁴, Е. И. Полянских⁴
I. U. Sharamkou¹, V. A. Lemiasheuski^{1,2,3}, E. V. Andrievskaya⁴,
L. L. Belysheva⁴, A. I. Palianskikh⁴**

¹*Химический факультет Белорусского государственного университета,
ул. Ленинградская, 14, 22005 Минск, Республика Беларусь*

²*Учреждение образования «Международный государственный экологический институт
имени А. Д. Сахарова» Белорусского государственного университета, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь,
lemeshonak@mail.ru*

³*Всероссийский НИИ физиологии, биохимии и питания животных – филиал ФИЦ животноводства –
ВИЖ им. ак. Л. К. Эрнста, пос. Институт, 249013, Боровск, Российская Федерация*

⁴*Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены»,
ул. Академическая, 8, 220012, Минск, Республика Беларусь
sharami007@gmail.com*

¹*Faculty of Chemistry Belarusian State University, 22005 Minsk, Republic of Belarus*

²*International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University, ISEI BSU,
Minsk, Republic of Belarus*

³*All-Russian research Institute of Physiology, Biochemistry and Nutrition of animals –
branch of the Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L. K. Ernst,
249013 Borovsk, Russian Federation*

⁴*Republican unitary enterprise “Scientific and Practical Hygiene Centre”,
220012 Minsk, Republic of Belarus*

Микотоксины относятся к токсическим химическим продуктам, вырабатываемым некоторыми видами плесневых грибов, паразитирующих на многих видах растительного сырья, используемого для производства пищевой продукции и биологически активных добавок. Рассмотрены основные требования, установленные в нормативных правовых актах к содержанию микотоксинов в пищевых продуктах, лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах. Проанализированы и сопоставлены характеристики существующих методов определения микотоксинов во всех видах пищевой продукции. Требуется валидация имеющихся методик определения микотоксинов для возможности применения в качестве методов контроля содержания микотоксинов в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах.

Mycotoxins are toxic chemical products produced by certain types of moulds that parasitize many types of plant raw materials used for the production of food products and dietary supplements. The basic requirements established in regulatory legal acts for the content of mycotoxins in food products, medicinal plant raw materials and medicines are considered. The characteristics of existing methods for determining mycotoxins in all types of food products are and compared. Validation of existing methods of determination of mycotoxins is required for the possibility of using them as methods for monitoring the content of mycotoxins in medicinal plant raw materials and medicines.

Ключевые слова: микотоксины, контроль безопасности, методы анализа, продукты питания, лекарственное растительное сырье.

Keywords: mycotoxins, safety control, analytical methods, food products, medicinal plant raw material.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2024-1-342-346>

Микотоксины – соединения природного происхождения, обладающие токсичным действием, являющихся вторичными метаболитами микроскопических плесневых грибов, в основном представителей рода *Fusarium*, *Aspergillus* и *Penicillium*. Плесневые грибы, вырабатывающие микотоксины, паразитируют на многих видах растительного сырья, используемого для производства пищевой продукции и биологически активных добавок [1].

В настоящее время известно около 250 видов различных микроскопических грибов, продуцирующих более 100 токсичных метаболитов. Наиболее приоритетными для обнаружения в лекарственном растительном сырье, биологически активных добавках и пищевых продуктах микотоксинами являются: *афлатоксины*, *охратоксины*, *зеараленон*, *деоксиваленон*, *T-2 токсин* и *фумонизин*.

Употребление продуктов питания и пищевых биологически активных добавок, загрязненных некоторыми микотоксинами, вызывают острую интоксикацию, симптомы которой развиваются вскоре после приема. Другие микотоксины – могут оказывать хроническое воздействие на здоровье, в частности, провоцируя онкологические заболевания и иммунодефицит [1].

Загрязнение продуктов питания и пищевых биологически активных добавок *охратоксинами* приводит к повреждению почек, подагре, *зеараленоном* – к эстрогенным расстройствам и нарушению функций воспроизводительной системы. Попадание в организм человека *фумонизинов* приводит к неврологическим расстройствам, оказывают негативное влияние на печень. *T-2 токсин* вызывает поражения ротовой полости, потерю аппетита, раздражение кожи и желудочно-кишечного тракта. *Патулин* оказывает разрушающее действие на нервную систему и пищеварительный тракт. *Деоксиниваленон* обладает иммунодепрессивным эффектом, вызывает сильнейшее отравление, сопровождаемое рвотой и расстройствами функций желудочно-кишечного тракта, а также приводит к микотоксикозу – алиментарно-токсической алейкии («септическая ангина»).

Афлатоксины вызывают повреждения печени, иммунодепрессию. Клиническая картина острого отравления афлатоксинами характеризуется вялостью, отсутствием аппетита, нарушением функций желудочно-кишечного тракта и потерей массы тела. Основным органом-мишенью для *афлатоксина* является печень. Биохимическими индикаторами повреждения печени под действием микотоксинов служат, во-первых, повышенные активности в сыворотке крови орнано- и органеллоспецифических ферментов и, во-вторых, снижение содержания в сыворотке крови общего белка [2].

В рейтинге канцерогенного риска, связанного с загрязнителями пищи, микотоксины (особенно *афлатоксины* и *охратоксины*) занимают 1-е место, в десятки раз превосходят риск, связанный с такими антропогенными загрязнителями как диоксины, полихлорированные бифенилы, пестициды [3].

Вопросу изучения загрязнения продовольственной продукции микотоксинами уделяется большое внимание со стороны Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) и мирового научного сообщества. Однако, на сегодняшний момент крайне мало публикаций, уделяющих должное внимание проблеме загрязнения микотоксинами лекарственного растительного сырья, применяемого для производства лекарственных препаратов.

С учетом анализа источников происхождения опасных загрязнителей микотоксинов, в дальнейшем, в нашем исследовании, лекарственное растительное сырье, лекарственные средства и биологически активные добавки, в состав которых входит растительное сырье, будут отнесены к продукции с риском загрязнения микотоксинами.

Цель исследования. Изучить требования, установленные в нормативных правовых актах к содержанию микотоксинов в пищевых продуктах, сырье и лекарственных средствах; проанализировать существующие методы детектирования микотоксинов и подходы к оценке их количественного содержания.

Нормирование. Оценка риска в связи с присутствием микотоксинов в продуктах питания выполняется Комитетом экспертов ФАО/ВОЗ по пищевым добавкам (JECFA, Joint Expert Committee on Food Additives) и используется правительствами стран и Комиссией Кодекс Алиментариус (нормативным межправительственным органом по пищевым стандартам) для определения предельных допустимых значений концентрации различных примесей в продуктах питания или выработки других рекомендаций по управлению рисками в интересах предотвращения или снижения загрязнения. Стандарты Кодекса являются международным ориентиром для национальных производителей продовольствия и торговли продовольствием и призваны гарантировать потребителям во всем мире, что приобретаемые ими продукты питания соответствуют установленным стандартам безопасности и качества, где бы они ни были произведены [1].

Рекомендованные значения допустимого суточного потребления используются правительствами стран и международными органами по управлению рисками. Например, Комиссией Кодекс Алиментариус, для определения предельной допустимой концентрации микотоксинов в продуктах питания. Предельные допустимые значения концентрации микотоксинов в продуктах питания крайне низки ввиду их высокой токсичности. Например, установленная Кодексом предельная допустимая концентрация *афлатоксинов* в различных орехах, злаках, сушеном инжире и молоке колеблется в диапазоне от 0,5 до 15 мкг/кг. Установленная Кодексом предельная допустимая концентрация *патулина* в яблочном соке – 50 мкг/л [1].

В Республике Беларусь и странах Евразийского экономического союза (ЕАЭС) установлены предельно допустимые уровни содержания микотоксинов в пищевой продукции, сырье, кормах эквивалентные нормативам, установленным Комиссией Кодекс Алиментариус, Европейским союзом.

Содержание микотоксинов в различной продукции и сырье нормируются в Беларуси на наднациональном уровне техническими регламентами ЕАЭС, едиными санитарно-эпидемиологическими и гигиеническими требованиями, едиными ветеринарными требованиями, на национальном уровне – санитарными правилами и гигиеническими нормативами, ветеринарно-санитарными правилами. Анализ установленных нормативов приведен в таблице 1.

Как видно из таблицы 1, содержание микотоксинов – *афлатоксина В1*, *дезоксиниваленола* (*вомитоксина*), *зеараленона*, *фумонизина*, *T-2 токсина*, *патулина* – контролируется в продовольственном сырье и пищевых продуктах растительного происхождения, *афлатоксина М1* – в молоке и молочных продуктах.

Приоритетными загрязнителями являются: для зерновых продуктов – *дезоксиниваленон*; для орехов и семян масличных – *афлатоксин В1*; для продуктов переработки фруктов и овощей – *патулин*. Содержание *охратоксина*

А контролируется в продовольственном зерне и мукомольно-крупяных изделиях, *фумонизинов* – в кукурузе и продуктах ее переработки. Не допускается присутствие микотоксинов в продуктах детского и диетического питания. Ферментные препараты грибного происхождения не должны содержать микотоксины (*афлатоксин В1*, *Т-2 токсин*, *зеараленон*, *охратоксин А*, *стеригматоцистин*).

Таблица 1

Анализ нормативно-правовых актов Беларуси, устанавливающих требования к содержанию микотоксинов в продукции и сырье

Обозначение	Микотоксин	Зерно. Пищевые цепи (мг/кг)	Зерно. Кормовые цепи (мг/кг)	Сахар и кондитерские изделия (мг/кг)	Мучные изделия (мг/кг)	Отруби пищевые (мг/кг)	Продукты переработки злаковых культур (мг/кг)	Молоко и молочные изделия (мг/кг)	Продукты для питания детей раннего возраста (мг/кг)	БАД на основе пищевых волокон (мг/кг)	БАД на основе молочного сырья (мг/кг)
AF B1	Афлатоксин В1	0,005	0,02	0,005	0,005	-	-	0,0005	0,00015	0,005	-
AF M1	Афлатоксин М1	0,005	-	-	-	-	-	-	0,00002	0,0005	0,0005
DON	Дезоксиниваленол	0,7	1	-	0,7	-	-	-	0,05	0,7	-
T 2	Т-2 токсин	0,1	0,1	-	-	-	-	-	0,05	-	-
ZEN	Зеараленон	1	1	-	-	1	0,2	-	0,005	1	-
OT A	Охратоксин А	0,005	0,05	-	-	-	-	-	0,0005	-	-
Fum	Фумонизин	4	5	-	-	-	-	-	0,2	-	-
Summ B1, B2, G1, G2 (AFT)	Сумма афлатоксинов В1, В2, G1, G2	-	0,02	-	-	-	-	-	-	-	-

Европейской фармакопеей, фармакопеями Китая, США, Украины, Британии установлены предельные уровни содержания микотоксинов (*афлатоксины*, *охратоксин А*) в лекарственном растительном сырье. В Фармакопеех Беларуси и Российской Федерации такие уровни не определены.

Коллегией Евразийской экономической комиссии приняты Рекомендации от 6 августа 2019 г. № 24 содержащие руководство по контролю рисков микробной контаминации лекарственного растительного сырья, растительных фармацевтических субстанций (препаратов на основе лекарственного растительного сырья) и лекарственных растительных препаратов [4]. Согласно Рекомендаций, рутинный анализ микотоксинов не проводится для всех морфологических групп лекарственного растительного сырья, поскольку риску контаминации подвержены только такие морфологические группы лекарственного растительного сырья, растительной фармацевтической субстанции (препарата на основе лекарственного растительного сырья), как корневища, корни, плоды, семена. Вывод о целесообразности выполнения такого анализа может быть сделан на основании проведенного анализа рисков.

Актуальные методы анализа микотоксинов. Особый интерес вызывает изучение наличия и разработки подходов и методов (методик) определения микотоксинов в продукции с риском загрязнения микотоксинами с высокой чувствительностью, учитывая достаточно низкие предельно допустимые уровни их содержания. Обзор методов определения микотоксинов представлен в таблице 2.

Таблица 2

Характеристики методов анализа микотоксинов с различными методами пробоподготовки и детектирования микотоксинов в продукции и сырье

Обозначение	Микотоксин	ИХА (кол. золото), диапазон, мг/кг	ИХА (флуоресц.), диапазон, мг/кг	ТСХ, диапазон, мг/кг	ВЭЖХ ФД, диапазон, мг/кг	ВЭЖХ МС/МС, диапазон, мг/кг	ВЭЖХ ИАК ФД, диапазон, мг/кг	ИФА, диапазон, мг/кг
AF B1	Афлатоксин В1	0,002-0,07	0,001-0,05	0,003-0,02	0,0002-0,02	0,001-0,2	-	0,002-0,05
AF M1	Афлатоксин М1	-	-	0,0005-0,005	0,0005-0,005	-	-	-
DON	Дезоксиниваленол	0,02-8	0,05-5	-	-	0,1-10	-	-
T 2	Т-2 токсин	-	0,01-1	-	-	0,01-2	-	0,02-0,5
ZEN	Зеараленон	0,006-1	0,01-1,0	-	-	0,02-4	0,005-0,15	0,02-0,5
OT A	Охратоксин А	0,03-0,4/ 0,002-0,005	0,0025-0,05	-	-	0,001-0,2	-	0,004-0,1
Fum	Фумонизин	-	0,1-10	-	-	0,1-20	-	0,05-5
Summ B1, B2, G1, G2 (AFT)	Сумма афлатоксинов В1, В2, G1, G2	-	0,001-0,05	-	-	-	-	-

Примечание: для ИХА представлены характеристики коммерческих тест-систем «BIOEASY».

Установлено, что для исследований содержания микотоксинов (таблица 2) с использованием тест-систем для ИХА минимальный предел обнаружения составляет 0,001 мг/кг для *афлотоксина В1* и суммы *афлотоксинов*, 0,02 мг/кг для *дезоксиниваленола*, 0,01 мг/кг для *Т-2 токсина*, 0,006 мг/кг для *зеараленона*, 0,0025 мг/кг для *охратоксина А*, 0,05 мг/кг для *фумонизина*.

Метод ТСХ используется только для определения *афлотоксина В1* и *афлотоксина М1*. Нижние пределы обнаружения микотоксинов данным методом составляют 0,003 мг/кг для *афлотоксина В1* и 0,0005 мг/кг для *афлотоксина М1*.

При исследовании содержания микотоксинов с использованием тест-систем для ИФА минимальный предел обнаружения составляет 0,002 мг/кг для *афлотоксина В1*, 0,02 мг/кг для *Т-2 токсина*, 0,02 мг/кг для *зеараленона*, 0,004 мг/кг для *охратоксина А*, 0,05 мг/кг для *фумонизина*.

При определении содержания микотоксинов с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии минимальный предел обнаружения составляет 0,0002 мг/кг для *афлотоксина В1* и суммы *афлотоксинов*, 0,0005 для *афлотоксина М1*, 0,1 мг/кг для *дезоксиниваленола*, 0,01 мг/кг для *Т-2 токсина*, 0,005 мг/кг для *зеараленона*, 0,001 мг/кг для *охратоксина А*, 0,1 мг/кг для *фумонизина*.

Таким образом, методики определения микотоксинов с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии в основном характеризуются большей чувствительностью, по сравнению с методами ИХА и ТСХ. Методы ИХА и ИФА позволяют проводить экспресс-анализ на содержание микотоксинов. Поэтому, хоть данные методы и характеризуются меньшей чувствительностью, они также используются в лабораторной практике.

В соответствии с Реестром Национальной системы аккредитации Республики Беларусь на содержание микотоксинов в различной пищевой продукции, сырье, кормах аккредитовано более 50 лабораторий различной ведомственной принадлежности (лаборатории Министерства здравоохранения, Минсельхозпрода, Госстандарта, Национальной академии наук, производственные лаборатории). Отсутствуют лаборатории, аккредитованные на определение микотоксинов в лекарственных средствах и лекарственном растительном сырье.

В области аккредитации лабораторий Беларуси включены хроматографические методы измерений (ВЭЖХ МС/МС, ВЭЖХ с флуориметрическим, спектрофотометрическим детектированием, ТСХ, ГХ с ДЭЗ), методы иммуноферментного анализа.

Мало представлены в Беларуси качественные и количественные методы иммунохроматографического анализа (ИХА), пробоподготовка с использованием иммуноаффинных колонок, колонки для очистки с дальнейшим анализом методами ИФА, ВЭЖХ, ЖХ-МС/МС. Возможно, это связано с недостаточной нормативной (методической) базой в Беларуси. Анализ производителей и нормативной базы Европейского союза, Китая показал достаточно широкое их применение для скрининговых исследований и организации входного и производственного контроля. По нашему мнению, данным методам следует уделить должное внимание и продолжить разработку методологии их применения с учетом достаточно хороших метрологических характеристик, высокой специфичности и чувствительности. Результатом такого изучения и валидации может быть методический документ устанавливающий алгоритм применения методов анализа от скрининговых методов до референтных, который может применяться не только производственными лабораториями, но и лабораториями, осуществляющими оценку соответствия и надзор за обрабатываемой на рынке продукцией.

Наиболее широкий спектр определяемых микотоксинов с использованием различных методов анализа и детектирования представлен сотрудниками лаборатории химии пищевых продуктов Научно-практического центра гигиены. Учеными валидированы и внедрены в практическую и научную деятельность межгосударственные, европейские стандарты, методики измерений аттестованные в соответствии с законодательством об обеспечении единства измерений.

Научно-практический центр гигиены принимал участие в двух программах проверки квалификации и межлабораторных сличительных испытаниях по определению микотоксинов: *охратоксина А*, *зеараленона*, *дезоксиниваленола* в пищевой продукции, сельскохозяйственном сырье и кормах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. В ходе сличительных испытаний установлена хорошая воспроизводимость результатов исследований подготовленного образца среди участвующих лабораторий. Таким образом, используемые на данный момент межгосударственные стандарты анализа методом высокоэффективной жидкостной хроматографии позволяют с высокой точностью контролировать содержание микотоксинов в данной продукции.

Заключение. Микотоксины – крайне токсичные природные соединения. Вследствие чего важно не допускать попадание микотоксинов в организм человека с продуктами питания и лекарственными средствами. Исследование количественного содержания микотоксинов позволит обеспечить контроль безопасности выпускаемой в обращение продукции.

Практика показывает, что требуется валидация имеющихся методов определения микотоксинов для возможности применения в качестве методик контроля содержания микотоксинов в лекарственных средствах.

Полученные результаты валидации могут быть положены в основу методического документа, устанавливающего алгоритм применения методов анализа от скрининговых методов до референтных, что позволит существенно снизить затраты и время на испытания в лабораториях, осуществляющих производственный контроль, оценку соответствия и надзор за обрабатываемой на рынке продукцией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Микотоксины [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/mycotoxins>. – Дата доступа: 19.02.2024.
2. Тутельян В.А., Кравченко Л.В. Микотоксины (медицинские и биологические аспекты). – М. : Медицина, 1985. – 320 с.
3. Бирюк, Е.Н. Микотоксины. контроль качества продуктов питания / Е.Н. Бирюк // Сб. науч. тр. РУП «Институт мясо-молочной промышленности». – Мн. : РУП «Институт мясо-молочной промышленности», 2011. – Вып. 5: Актуальные вопросы переработки мясного и молочного сырья. – С. 239-247
4. Рекомендация коллегии евразийской экономической комиссии [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://pravo.by/document/?guid=3871&p0=F01900281>. – Дата доступа: 19.02.2024.

АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА КЫСТ-АЛЬ-ХИНДИ ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF *SAUSSUREA COSTUS*

С. А. Барута, Н. В. Богданова
S. A. Baruta, N. V. Bogdanova

Учреждение образования «Международный государственный экологический институт
имени А. Д. Сахарова» Белорусского государственного университета, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ
г. Минск, Республика Беларусь
sveta.image-dragons22@yandex.ru

*International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University, ISEI BSU
Minsk, Republic of Belarus*

В работе представлены выводы о биологической активности кыст-аль-хинди с уклоном на антибактериальные свойства и действие основных активных химических соединений, таких как сесквитерпеновые лактоны, флавоноиды, фенолы и терпеноиды на определенные виды бактерий. Для определения состава и оценки активности в исследованиях используются различные методики и экстракты *S. Costus*. Наиболее употребляемыми для определения состава являются водные, спиртовые и гексан-хлороформные экстракты, каждый из которых обладает индивидуальным методом к ингибированию роста и размножения бактерий, а для оценки антибактериального действия используется метод дисковой диффузии с различными концентрациями экстрактов. Самыми эффективными оказались экстракты с концентрациями 200 и 500 мг/мл. Глубокое изучение *S. Costus* позволит использовать его в разработке новых фармакологических препаратов.

This work includes conclusions about the biological activity of *Saussurea costus* with a focus on antibacterial properties and the effect of the main active chemical compounds such as sesquiterpene lactones, flavonoids, phenols and terpenoids on certain types of bacteria. Various methods and extracts of *S.* are used to determine the composition and to evaluate the activity of *S. Costus* in the study. The most commonly used for determining the composition are aqueous, alcoholic and hexane-chloroform extracts, each of which has an individual method to inhibit bacterial growth and reproduction, and the disk diffusion method with different concentrations of extracts is used to assess antibacterial activity. Extracts with concentrations of 200 and 500 mg/ml were the most effective.

Ключевые слова: кыст-аль-хинди, биологическая активность, сесквитерпеновые лактоны, флавоноиды, фенольные соединения, антибактериальная активность, экстракты

Keywords: *Saussurea costus*, biological activity, sesquiterpene lactones, flavonoids, phenolic compounds, antibacterial activity, extracts

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2024-1-346-349>

Кыст-аль-хинди (*Saussurea costus*) - это прямостоячее, опушенное многолетнее растение, корневище темно-коричневое, длиной до 40 см. Относится к лекарственным растениям. Основными активными химическими соединениями, содержащиеся в кыст-аль-хинди являются алкалоиды, фенолы/полифенолы, терпеноиды, хинины, флавоноиды, сесквитерпеновые лактоны, к которым относятся костунолид, дегидрокостус лактон, хеленин, цинаропикрин, лаппадилактон, а также лауриновая, пальмитиновая, линолевая кислоты. Данные биологические соединения обладают гиполипидемическим, гипогликемическим, иммуномодулирующим, противовоспалительным и противопаразитарным лечебным действием [1].

К основным соединениям, содержащимся в экстрактах относятся галловая, элагическая, кофеиновая, гентизиновая, коричная кислоты, катехины, кверцетин, гесперидин, дигидродегидрокостус лактон, гумулен, рейнозин,