

9. Levchenko, V.I., Novozhytska, Yu.M., Sakhniuk, V.V., et al. (2004). *Biokhimichni metody doslidzhen krovi tvaryn: metodychni rekomendatsii [Biochemical methods of animal blood testing]*. Kyiv: DNDILDVSE [in Ukrainian].

10. Kotsiumbas, I.Ia., Kotsiumbas, H.I., & Holubii, Ye.M. (2006). *Doklinichni doslidzhennia veterynarnykh likarskykh zasobiv: metodychni rekomendatsii [Preclinical studies of veterinary medicinal products: guidelines]*. Lviv: Triada plus [in Ukrainian].

УДК 636.09:614.31:616.992:633.368

DOI: 10.31073/vet_biotech36-07

КАМІНСЬКА О.В., e-mail: mikology@ukr.net,

МАРЧЕНКО Т.В., e-mail: taya.marchenko@ukr.net,

ПІЛЬКЕВИЧ Н.Я., e-mail: nata0811@ukr.net,

КУПРИЧ О.М., e-mail: mikologi2018@ukr.net,

ШЕВЧЕНКО Л.В., д-р вет. наук, проф., e-mail: shevchenko_laris@ukr.net

Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи

КОНТАМІНАЦІЯ АФЛАТОКСИНАМИ АРАХІСУ ТА ПРОДУКТІВ ЙОГО ПЕРЕРОБКИ

Методом високоефективної рідинної хроматографії встановлено, що у 2018 році вміст афлатоксину В1 у 96,2% проб бобів арахісу і 25% проб продуктів переробки арахісу не перевищував МДР. Сума кількості афлатоксинів В1, В2, G1 та G2 у бобах арахісу знаходилась у межах МДР у 96,2% проб, у продуктах переробки арахісу – половина всіх-проб була не придатна до вживання. У 2019 році під час дослідження проб бобів арахісу встановлено, що афлатоксин В1 не перевищував МДР у всіх зразках, а у продуктах його переробки – лише в 44,4%. За сумою афлатоксинів В1, В2, G1 та G2 були придатні для вживання всі партії бобів арахісу і лише 33,3% проб продуктів переробки досліджені протягом 2019 року.

***Ключові слова:** афлатоксини, арахіс, високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), максимально допустимий рівень (МДР).*

Вступ. Забруднення харчових продуктів різного роду токсикантами є причиною порушення обміну речовин у тканинах, зниження резистентності організму та виникнення захворювань у людей, які важко піддаються діагностиці та лікуванню. Однією з таких патологій є онкологічні хвороби, які можуть викликатися мікотоксинами, у тому числі афлатоксинами, що накопичуються у продуктах харчування і потрапляють в організм людини.

Афлатоксини – це токсичні метаболіти грибів роду *Aspergillus*, який включає декілька видів, у тому числі *A. flavus*, *A. parasiticus* та *A. nomius* [1]. До афлатоксинів, які являють найбільшу небезпеку для здоров'я людини, відносяться: афлатоксин В1, афлатоксин В2, афлатоксин G1, афлатоксин G2, афлатоксин М1 та афлатоксин М2 [2, 3]. Міжнародне агентство з досліджень раку (IARC) класифікувало афлатоксин В1 як канцероген людини 1 групи [4].

Афлатоксини досить стійкі до термічної обробки та переробки [5, 6], тому видалення, зменшення вмісту чи їх інактивація у продуктах харчування є головною світовою проблемою. Цю групу мікотоксинів виявляють у продуктах харчування, вироблених у багатьох тропічних та субтропічних країнах, де температурно-вологісний режим та кліматичні умови є оптимальними як для росту цвілевих грибів, так і для утворення цих токсинів [7]. До таких харчових продуктів належить арахіс та продукти його переробки, споживачами яких є населення України на ринок якої надходить імпортований арахіс, арахісова паста, арахісова олія та халва. Вживання продуктів, які містять афлатоксини, спричиняє їх всмоктування в кров із кишечника, накопичення в паренхіматозних органах, особливо в печінці і нирках та виникнення пухлин.

Тому одним з ефективних засобів попередження надходження в організм людини афлатоксинів з імпортованими бобами арахісу та продуктами його переробки є контроль сировини на вміст афлатоксинів та їх джерел – колоній пліснявих грибів. Враховуючи значну небезпеку потрапляння афлатоксинів в організм людини Міністерством аграрної політики та продовольства України затверджено «Методи відбору зразків для визначення максимально допустимих рівнів мікотоксинів у харчових продуктах для цілей державного контролю» (наказ № 264 від 12 червня 2019 року) [8].

Таким чином, моніторинг афлатоксинів у арахісі та продуктах його переробки є важливою проблемою не лише в Україні, але й в усьому світі.

Метою роботи було проаналізувати рівні контамінації афлатоксинами бобів арахісу та продуктів його переробки досліджених протягом 2018–2019 років, призначених для безпосереднього вживання людиною.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проведено на базі Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (ДНДІЛДВСЕ) протягом 2018–2019 років.

Максимально допустимі рівні (МДР) афлатоксинів у харчових продуктах, встановлені відповідно ДСПіН «Регламент максимальних рівнів окремих забруднюючих речовин у харчових продуктах», наступні: МДР афлатоксину В1 для бобів арахісу та продуктів їх переробки безпосередньо призначених для

вживання людиною становить 2 мкг/кг, МДР суми афлатоксинів В1, В2, G1 та G2 – 4 мкг/кг [9].

Вміст афлатоксинів В1, В2, G1, G2 в арахісі та продуктах його переробки (арахісове масло, арахісова паста та халва) визначали за використання методу ВЕРХ. Він включає попереднє розділення вихідної складної суміші на відносно прості компоненти. Використовували імуноафінну хроматографію для очистки зразків (імуноафінні колонки виробництва R-Biopharm), що ґрунтується на утворенні комплексу антиген-антитіло. Для хроматографії використовували високоточне обладнання – рідинний хроматограф Varian Pro Star з оберненофазною колонкою С18.

Визначення масової концентрації афлатоксинів у горіхах арахісу здійснювали після екстрагування 70% розчином метанолу з подальшим розведенням екстракту бідистильованою водою і очистки розведеного екстракту на імуноафінних колонках Aflaprep (виробництва R-Biopharm). Визначення вмісту афлатоксинів у арахісі та продуктах його переробки проводили при використанні оберненофазної колонки С18, флуоресцентного детектора та дериватизатора Cobra Cell. Ідентифікацію афлатоксинів В1, В2, G1, G2 проводили за часом утримання еталонних зразків, його кількісне визначення – методом зовнішніх стандартів за площею піків.

Вміст афлатоксинів В1, В2, G1, G2 у пробах розраховували за допомогою градувальної залежності площі хроматографічного піку від концентрації мікотоксину в пробі. Обрахунок масових часток афлатоксинів В1, В2, G1 та G2 проводили за допомогою програми Galaxy.

Результати досліджень та їх обговорення. Протягом 2018–2019 років в лабораторію інституту надійшло 102 проби бобів арахісу та продуктів їх переробки. Всі ці проби було досліджено на вміст афлатоксинів В1, В2, G1 та G2.

Аналіз одержаних результатів показав, що протягом 2018 року з 26 проб бобів арахісу та 4 проб продуктів його переробки були виявлені проби, контаміновані афлатоксинами В1 та В2, тоді як афлатоксинів G1 та G2 не виявляли (табл. 1).

Протягом 2019 року було досліджено 63 проби бобів арахісу та 9 проб продуктів його переробки, в результаті цього також було встановлено контамінацію зразків в різному ступені афлатоксинами В1 та В2 та в поодиноких випадках афлатоксинами G1 та G2 (табл. 1).

**Контамінація афлатоксинами арахісу та продуктів його переробки,
що досліджувалися протягом 2018–2019 років**

Період досліджень, рік	Афлатоксин	Кількість зразків, шт	Концентрація, мкг/кг
2018	арахіс		
	B1	26	0,02–3,68
	B2	26	0,01–0,60
	G1	26	–
	G2	26	–
	продукти переробки арахісу		
	B1	4	0,14–45,90
	B2	4	0,02–6,21
	G1	4	–
	G2	4	–
2019	арахіс		
	B1	63	0,03–0,36
	B2	63	0,006–0,06
	G1	63	0,04–0,17
	G2	63	0,02–0,09
	продукти переробки арахісу		
	B1	9	0,70–9,14
	B2	9	0,21–1,45
	G1	9	2,16
	G2	9	0,35

Проведений аналіз вмісту афлатоксинів у бобах арахісу та продуктах його переробки показав, що протягом 2018 року 96,2% бобів арахісу, містили афлатоксин В1 в кількостях, які не перевищували МДР, і лише 3,8% не відповідали вимогам нормативних документів щодо вмісту даного мікотоксину (рис. 1).

Однак продукти переробки арахісу, які були представлені в основному халвою та арахісовою пастою, лише у 25% випадків відповідали вимогам безпечності за вмістом афлатоксину В1, тоді як у 75% проб вміст цього мікотоксину перевищував МДР (рис. 1), що свідчить про їх непридатність для вживання.

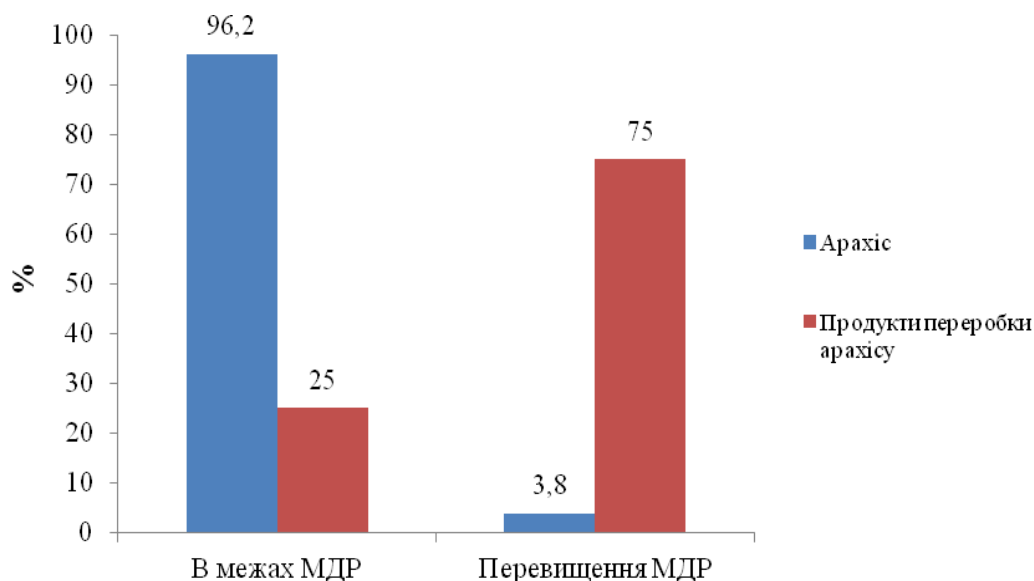


Рис. 1. Співвідношення проб арахісу та продуктів його переробки за вмістом афлатоксину В1 за 2018 рік.

Загальний вміст афлатоксинів В1, В2, G1 та G2 у горіхах арахісу за 2018 рік знаходився в межах МДР у 96,2% проб і лише 3,8% за цим показником були не придатні до вживання (рис. 2).

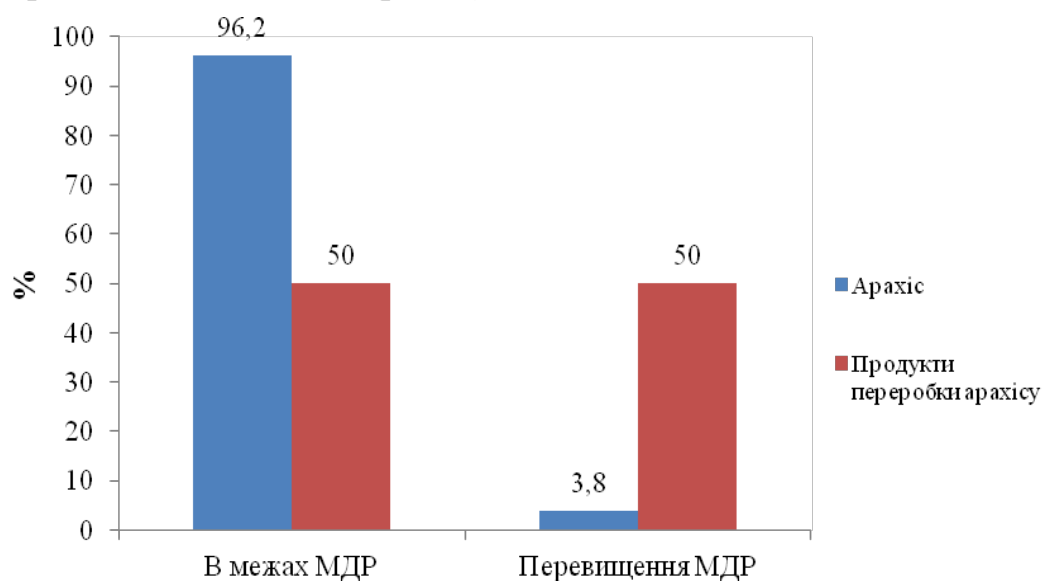


Рис. 2. Співвідношення проб арахісу та продуктів його переробки за вмістом суми афлатоксинів В1, В2, G1 та G2 за 2018 рік.

У 2018 році, сума вміст афлатоксинів В1, В2, G1 та G2 у 50% усіх досліджених проб продуктів переробки арахісу перевищував МДР (рис. 2).

Проби бобів арахісу, які надійшли на дослідження протягом 2019 року, були придатні до вживання за вмістом афлатоксину В1 всі без винятку (рис. 3).

У 44,4% випадків продукти переробки арахісу були безпечні для організму людини за вмістом афлатоксину В1. Однак результати досліджень свідчать про те, що 55,6% продуктів переробки арахісу були не придатні до вживання.

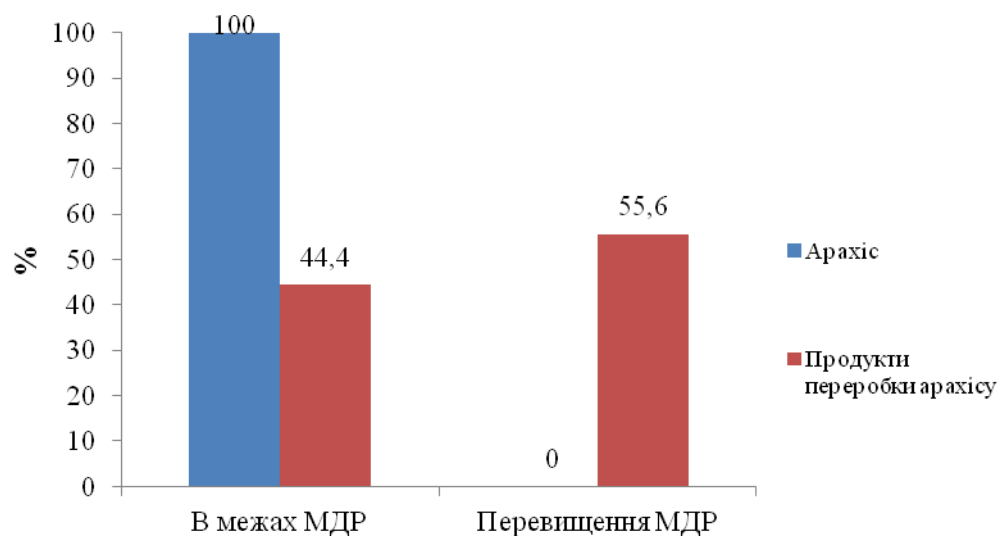


Рис. 3. Співвідношення проб арахісу та продуктів його переробки за вмістом афлатоксину В1 за 2019 рік.

За загальним вмістом мікотоксинів (афлатоксинів В1, В2, G1 та G2) всі партії бобів арахісу, проби яких надійшли на дослідження, були придатні для вживання (рис. 4). При цьому лише 33,3% проб продуктів переробки арахісу за загальним вмістом афлатоксинів були безпечні за сумою афлатоксинів, тоді як 66,7% повинні були бути піддані утилізації.

Такий високий вміст афлатоксинів у продуктах переробки арахісу пов'язаний з подрібненням бобів, змішуванням та доступом кисню до сировини – необхідної умови росту грибів-продуцентів афлатоксинів.

Згідно регулювання комісії з реалізації (ЄС) 2019/1793 від 22 жовтня 2019 року про своєчасне посилення контролю та надзвичайних заходів відповідно до Регламенту (ЄС) 2017/625, деякі товари з певних третіх країн повинні піддаватися посиленому офіційному контролю. Продукти харчування та корми нетваринного походження, на які поширюються надзвичайні заходи, викладені в Регламенті Комісії (ЄС) № 884/2014, (ЄС) 2015/175, (ЄС) 2017/186 і (ЄС) 2018/1660, як і раніше представляють серйозний ризик для громадської охорони здоров'я, який не може бути в достатній мірі усунутий за допомогою заходів, прийнятих державами-членами. З метою забезпечення належного контролю за ризиками для здоров'я населення, складений Додаток II цього регламенту [10].

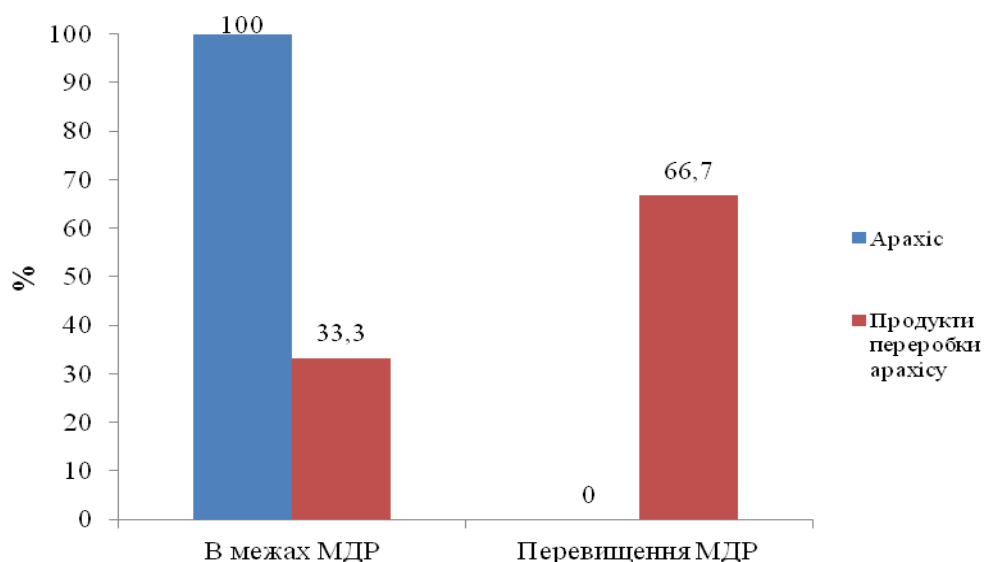


Рис. 4. Співвідношення проб арахісу та продуктів його переробки за вмістом суми афлатоксинів В1, В2, G1 та G2 за 2019 рік.

До переліку харчових продуктів і кормів нетваринного походження, які підлягають надзвичайним заходам і складаються з оновлених списків харчових продуктів та кормів нетваринного походження, викладених в Правилах здійснення Комісії, відносяться горіхи у зв'язку з ризиком забруднення афлатоксинами.

У розвинених країнах середній рівень споживання людиною афлатоксинів з продуктами харчування становить, як правило, менше 1 нг/кг маси тіла на добу, тоді як оціночні значення в деяких країнах Африки на південь від Сахари перевищують 100 нг/кг маси тіла на добу.

Відомо, що афлатоксикоз розвивається в результаті споживання афлатоксинів людиною в кількостях, що перевищують 1 мг/кг. Отруєння людини афлатоксинами арахісу у людини зі смертельними наслідками спостерігається в результаті споживання протягом декількох тижнів контамінованого афлатоксином арахісу в кількості 20–120 мкг/кг маси тіла на добу.

Значна кількість проб бобів, які надходили на дослідження в ДНДІЛДВСЕ, все таки містили афлатоксин В1, тому такі зразки представляють небезпеку для здоров'я людей якщо їх вживати систематично.

Висновки та перспективи подальших досліджень. Враховуючи одержані дані, можна стверджувати, що боби арахісу, які надходять на продовольчий ринок України, безпечні за вмістом афлатоксинів і лише в поодиноких випадках їх вміст перевищує МДР. Найбільшу небезпеку за вмістом афлатоксинів для організму споживачів являють продукти переробки бобів арахісу такі як арахісове масло, халва та паста, які потребують суворого контролю як за афлатоксином В1, так і за афлатоксинами В2, G1 та G2.

Перспективним є розширення спектру досліджень продуктів переробки бобів арахісу за вмістом афлатоксинів та інших мікотоксинів, що продукуються грибами та розробка і використання високочутливих методів досліджень.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Moss M.O. Recent studies of mycotoxins // J. Appl. Microbiol. – 1998. – № 84. – P. 62.
2. Worldwide occurrence of mycotoxins in commodities, feeds and feed ingredients / E.M. Binder, L.M. Tan, L.J. Chin, et al. // Anim. Feed Sci. Tech. – 2007. – Vol.137. – P. 265–282.
3. Groopman J.D. Aflatoxin, a human carcinogen: Determination in foods and biological samples by monoclonal antibody affinity chromatography / J.D. Groopman, K.F. Donahue // J. Assoc. Off. Ana. Chem. – 1988. – № 71. – P.861–867.
4. Some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins : Monographs. – International Agency for Research on Cancer. Switzerland: WHO. – 1993. – Vol. 56. – 599 p.
5. Deshpande S.S. Handbook of Food Toxicology / S.S. Deshpande. – New York: CRC Press. – 2002. – 920 p.
6. Deoxynivalenol and other Fusarium mycotoxins in bread, cake, and biscuits produced from UK-grown wheat under commercial and pilot scale conditions / K.A. Scudamore, C.M. Hazel, S. Patel, F. Scriven // Food Addit. Contam. – 2009. – № 26. – P. 1191–1198.
7. Rustom I.Y. Aflatoxin in food and feed: Occurrence, legislation and inactivation by physical methods / I.Y. Rustom // Food Chem. – 1997. – № 59. – P. 57–67.
8. Методи відбору зразків для визначення максимально допустимих рівнів мікотоксинів у харчових продуктах для цілей державного контролю: Наказ Міністерства аграрної політики та продовольства України від 22.05.2019, № 264. – 2019. – Київ: Верховна рада України. Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0608-19>.
9. Державні санітарні правила і норми. Регламент максимальних рівнів окремих забруднюючих речовин у харчових продуктах: Наказ МОЗ України від 13.05.2013, № 368. – 2013. – Київ: Верховна рада України. Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0774-13>.
10. Commission Implementing Regulation (EU) 2019/1793 of 22 October 2019 on the temporary increase of official controls and emergency measures governing the entry into the Union of certain goods from certain third countries implementing. Regulations (EU) 2017/625 and (EC) No 178/2002 of the European Parliament and of the Council and repealing Commission Regulations (EC) No 669/2009, (EU) No 884/2014, (EU) 2015/175, (EU) 2017/186 and (EU) 2018/1660 // Official Journal of the European Communities. – L. 277. – 2019. – P. 89–129. Retrieved from: http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2019/1793/oj.

КОНТАМИНАЦІЯ АФЛАТОКСИНАМИ АРАХІСА І ПРОДУКТОВ ЕГО ПЕРЕРАБОТКИ / Каминская Е.В., Марченко Т.В., Пилькевич Н.Я., Куприч О.Н., Шевченко Л.В.

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии установлено, что содержание афлатоксина В1 в 96,2% проб бобов арахиса и 25% проб продуктов переработки арахиса в течении 2018 года были пригодными к потреблению по ПДК. Сумма афлатоксинов В1, В2, G1 и G2 в бобах арахиса находилась в пределах ПДК в 96,2% проб, в продуктах переработки арахиса - половина всех партий была не пригодна к употреблению.

Пробы бобов арахиса, исследованные в течение 2019 года, были безопасны по содержанию афлатоксина B1 все без исключения, а продукты переработки арахиса только в 44,4% случаев. По сумме афлатоксинов B1, B2, G1 и G2 были пригодны для употребления все партии бобов арахиса за 2019 и только 33,3% проб продуктов переработки.

Ключевые слова: афлатоксины, арахис, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), предельно допустимые концентрации (ПДК).

AFLATOXIN CONTAMINATION OF PEANUTS AND THEIR PRODUCTS /

Kaminska O.V., Marchenko T.V., Pilkevich N.Y., Kuprich O.N., Shevchenko L.V.

Introduction. Contamination of food with various toxicants is the cause of metabolic disorders in people. Aflatoxins are toxic metabolites, which pose the greatest danger to human health. Aflatoxins B1, B2, G1, G2 are quite resistant to heat treatment and processing, so they are found in foods produced in many tropical and subtropical countries, where temperature and climatic conditions are optimal for both the growth of molds and the these toxins production. Such foods include peanuts and their processed products. Therefore, one of the effective means of preventing the entry of aflatoxins into the human body is the control of raw materials for the aflatoxins content.

The goal of the work. To analyze the accumulation of aflatoxins in peanuts and products of its processing intended for direct consumption.

Materials and methods. The research was conducted during 2018-2019. The content of aflatoxins in peanuts and their products was determined by liquid chromatography (HPLC) using a fluorescent detector, column C18, Cobra Cell derivative, immunoaffinity column.

Identification of aflatoxins were performed by retention time, quantification – by the method of external standards by peak area.

Results of research and discussion. During 2018-2019, the laboratory of the institute received 102 samples of peanuts and processed products. All samples were tested for aflatoxins B1, B2, G1, G2. During 2018, 26 samples of peanut beans and 4 samples of peanut products were contaminated with aflatoxins B1 and B2, aflatoxins G1 and G2 were not detected. 96.2% of peanut beans samples contained aflatoxin B1 within the maximum permissible level (MPL), and only 3.8% did not meet the mycotoxin content requirements. During 2019, 63 samples of peanut beans and 9 samples of peanut products were studied. All samples of peanuts as well as 44.4% of peanut products were safe for human consumption regarding aflatoxin B1. However, 55.6% of peanut products (peanut butter and halva) were forbidden for consumption.

Conclusions and prospects for further research. Studies during 2018-2019 have shown that the most dangerous regarding aflatoxins for consumers were peanut bean products such as peanut butter, halva, which need strict control. A significant number of samples contained aflatoxin B1, therefore there is a risk to human health if consumed systematically. It is promising to expand the range of studies of peanut bean products for aflatoxins and other mycotoxins.

Keywords: aflatoxins, peanuts, high performance liquid chromatography (HPLC), maximum required level (MRL).

REFERENCES

1. Moss, M.O. (1998). Recent studies of mycotoxins. *J. Appl. Microbiol*, 84, 62. DOI: 10.1046/j.1365-2672.1998.0840s162S.x.
2. Binder, E.M., Tan, L.M., Chin, L.J., Handl, J., & Richard, J. (2007). Worldwide occurrence of mycotoxins in commodities, feeds and feed ingredients. *Anim. Feed Sci. Tech*, 137, 265-282. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2007.06.005.
3. Groopman, J.D., & Donahue, K.F. (1998). Aflatoxin, a human carcinogen: Determination in foods and biological samples by monoclonal antibody affinity chromatography. *J. Assoc. Off. Ana. Chem.*, 71, 861-867.
4. *Some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins*. (1993). Vol. 56. Switzerland: World Health Organization.
5. Deshpande, S.S. (2002). *Handbook of Food Toxicology*. CRC Press; New York.
6. Scudamore, K.A., Hazel, C.M., Patel, S., & Scriven, F. (2009). Deoxynivalenol and other Fusarium mycotoxins in bread, cake, and biscuits produced from UK-grown wheat under commercial and pilot scale conditions. *Food Addit. Contam*, 26, 1191-1198. DOI: 10.1080/02652030902919426.
7. Rustom, I.Y. (1997). Aflatoxin in food and feed: Occurrence, legislation and inactivation by physical methods. *Food Chem*, 59, 57-67. DOI: 10.1016/S0308-8146(96)00096-9.
8. Metodi vidboru zrazkiv dlia viznachennja maksimalno dopustimih rivniv mikotoksiniv u harchovih produktah dlja cilej derzhavnogo kontrolju [Methods of sampling to determine the maximum permissible levels of mycotoxins in food for state control]. (2019). *Order of the Ministry of Agrarian Policy and Food of Ukraine No. 264 from 22.05.2019*. Kyiv: Verkhovna Rada of Ukraine. Retrieved from: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0608-19> [in Ukrainian].
9. Derzhavni sanitarni pravila i normi. Reglament maksimal'nih rivniv okremih zabrudnjuhuchih rechovin u harchovih produktah [State sanitary rules and regulations. Regulation of maximum levels of certain contaminants in food]. *Order of the Ministry of Health Ukraine No. 368 from 13.05.2013*. (2013). Kyiv: Verkhovna Rada of Ukraine. Retrieved from: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0774-13> [in Ukrainian].
10. Commission Implementing Regulation (EU) 2019/1793 of 22 October 2019 on the temporary increase of official controls and emergency measures governing the entry into the Union of certain goods from certain third countries implementing Regulations (EU) 2017/625 and (EC) No 178/2002 of the European Parliament and of the Council and repealing Commission Regulations (EC) No 669/2009, (EU) No 884/2014, (EU) 2015/175, (EU). (2019). *Official Journal of the European Communities*, L. 277, 89-129. Retrieved from : http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2019/1793/oj.