



**Научная сессия БГМУ,  
25 января 2024 г., г. Минск  
«Медико-биологические науки №3  
(биология, химия)»**

**Республиканское унитарное предприятие  
«Научно-практический центр гигиены»  
г. Минск, Республика Беларусь**

# **Применение иммуноаффинных колонок для очистки проб молочной продукции при определении афлатоксина М1 методом ВЭЖХ**

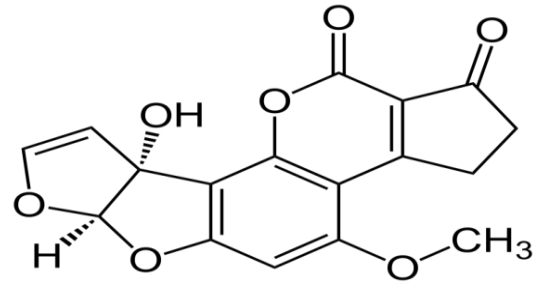
**Авторы: Филатченкова Екатерина Владимировна  
Полянских Елена Ильинична  
Фёдорова Татьяна Аркадьевна**

**Минск 2024**

# Афлатоксин М1

**Афлатоксины** — продукты жизнедеятельности грибов рода *Aspergillus* (Афлатоксины В1, В2, G1 и G2).

Эти смертельно опасные микотоксины устойчивы к тепловой обработке и не чувствительны к органическим растворителям.



Афлатоксин М1

Самым опасным и распространенным афлатоксином является **афлатоксин В1**. При попадании его с кормом дойным коровам в молоке может образовываться его метаболит — **афлатоксин М1 (АФТ М1)**.

Он обнаруживается не только в цельном молоке, но и в восстановленном, в твороге, сырах и йогуртах. Загрязненная им молочная продукция экологически опасна для человека. Афлатоксины вызывают рак печени и легких, отек легких, снижение веса, снижают защитные функции организма.

# Нормирование

В Республике Беларусь в соответствии с СанПин и ТР ТС 021/2011 и ТР ТС 033/2013 содержание АФТ М1 не должно превышать:

- Молоко и продукты переработки молока - **0,5 мкг/кг**;
- Молочная продукция для детского питания - **не допускается (менее 0,02 мкг/кг)**

## Перечень ТНПА на методы контроля

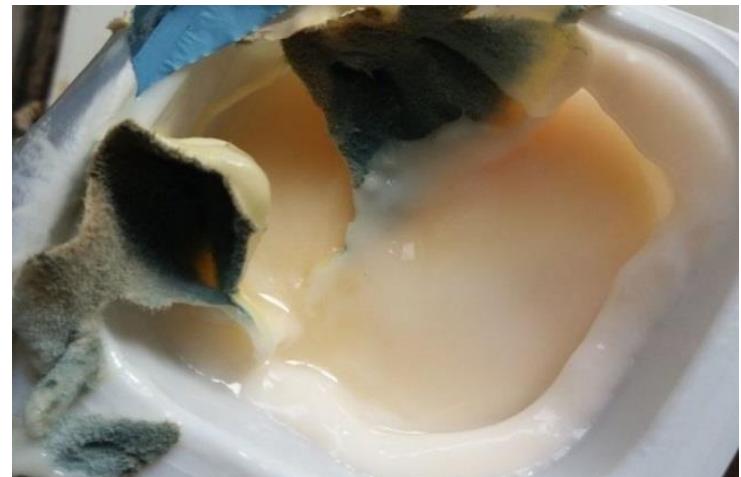
ГОСТ 30711-2001 Продукты пищевые. Методы выявления и определения содержания афлатоксинов В1 и М1

ГОСТ 31709-2012 (ISO 14674:2005) Молоко и сухое молоко. Определение содержания афлатоксина М1. Очистка с помощью иммуноаффинной хроматографии и определение с помощью тонкослойной хроматографии

ГОСТ ISO 14501-2016 Молоко и молоко сухое. Определение содержания афлатоксина М1. Очистка с помощью иммуноаффинной хроматографии и определение с помощью ВЭЖХ

# Цели работы

- Расширить область применения методики на другие молочные продукты;
- Рассчитать метрологические характеристики для всех видов пищевой молочной продукции.



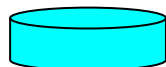
# Пробоподготовка молока



Объем пробы  
 $50\text{см}^3$



Проведение очистки с  
помощью ТФЭ на  
иммуноаффинной колонке



Подготовка пробы,  
нагревание до  $35-37$   
 $^{\circ}\text{C}$

**ВЭЖХ**

## Условия хроматографирования:

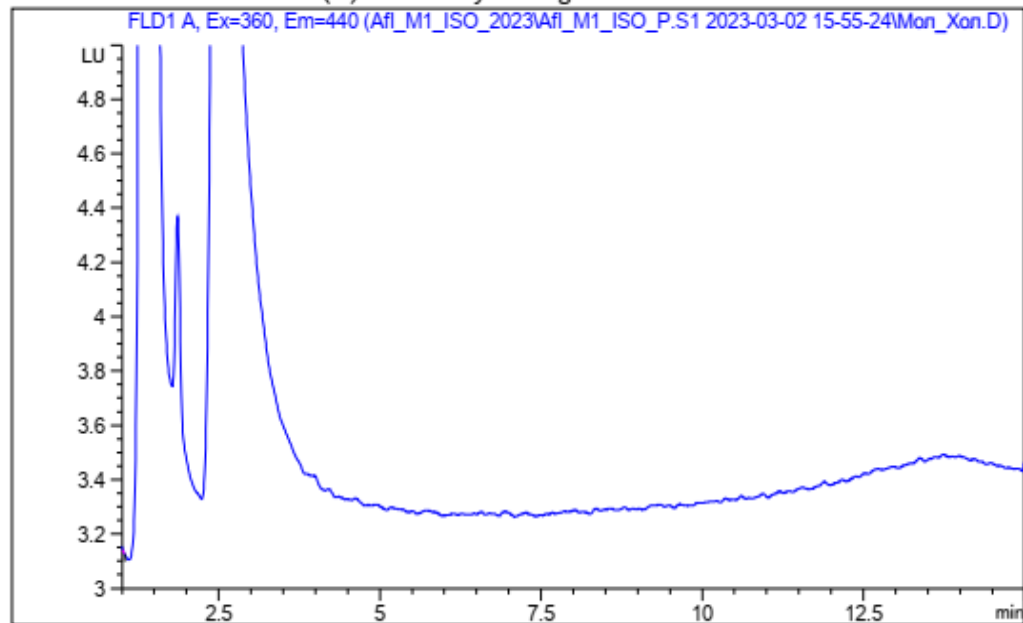
- жидкостной хроматограф **Agilent 1260 Infinity II** с флуориметрическим детектором;
- колонка **Zorbax SB-Aq** (4,6x250 мм, 5мкм);
- температура термостата 40<sup>0</sup>С;
- объем вводимой пробы 50 мкл;
- изократическое элюирование АСН: Н<sub>2</sub>О (25:75);
- скорость подачи элюента 1 мл/мин;
- длина волны возбуждения: 360 нм;
- длина волны испускания: 440 нм



## Количественное определение АФТ М1 осуществляли методом абсолютной калибровки

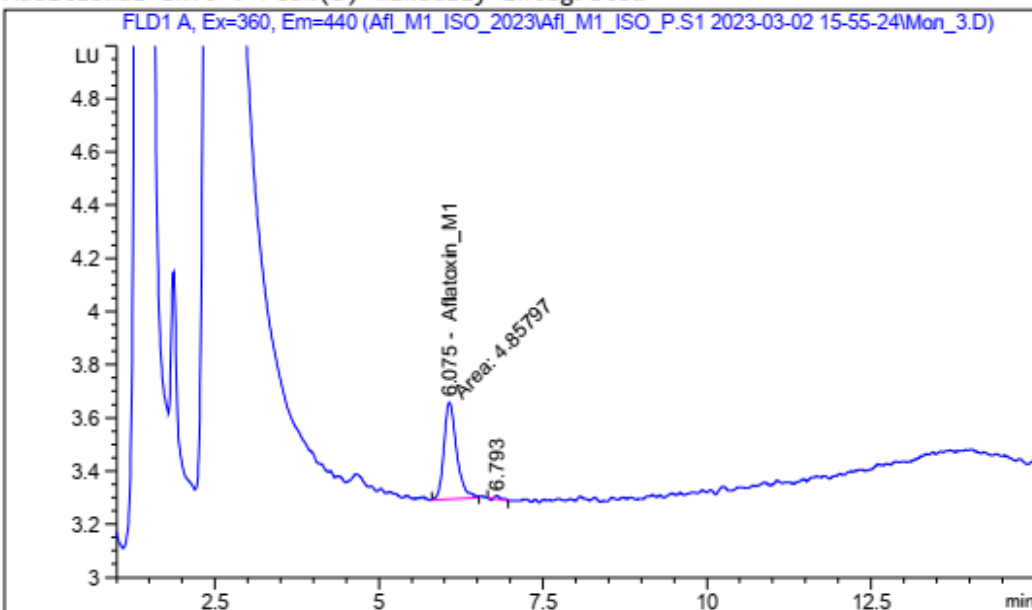
- диапазон концентраций градуировочных растворов (0,4 – 5,0) нг/см<sup>3</sup>
- диапазон определяемых концентраций (0,02-2,5) мкг/кг

Additional Info : Peak(s) manually integrated



**Рисунок 1 - Хроматограмма пробы молока без внесения афлатоксина М1**

Additional Info : Peak(s) manually integrated

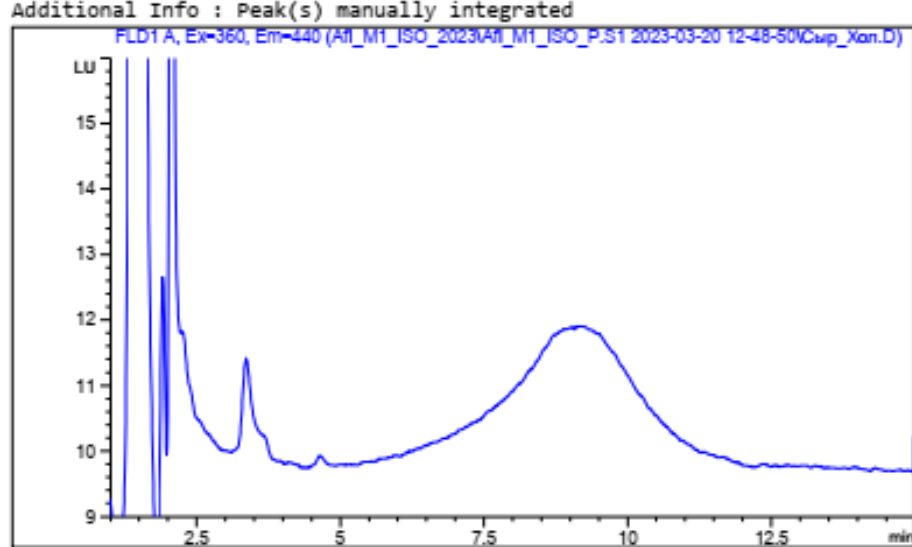


**Рисунок 2 - Хроматограмма пробы молока с внесения афлатоксина М1 в количестве 0,04 мкг/кг**

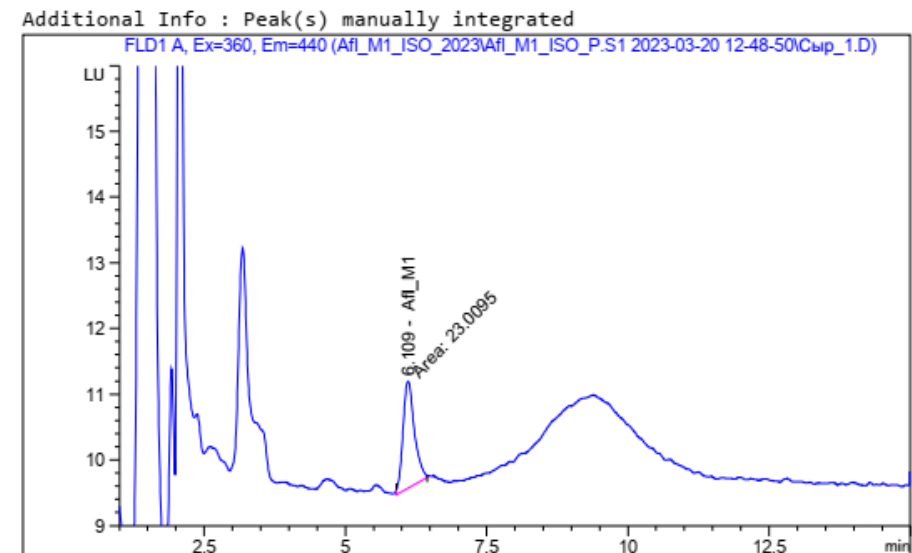
# Пробоподготовка сыра, масла, кисломолочных продуктов







**Рисунок 3 – Хроматограмма пробы сыра без внесения афлатоксина М1**



**Рисунок 4 – Хроматограмма пробы сыра с внесением афлатоксина М1 в количестве 0,0005 мг/кг**

## **Метрологические характеристики**

- **Норматив стабильности градуировочного графика** — 9,1%
- **Предел повторяемости** — 20,2%
- **Предел промежуточной прецизионности** — 28,6%
- **Расширенная неопределенность** — 25,4%

# Заключение

- Разработаны условия проведения анализа для других молочных матриц ;
- Рассчитаны метрологические параметры методики;
- Данная методика позволяет с высокой точностью и чувствительностью осуществлять контроль содержания афлатоксина М1 в молочной продукции на регламентируемом уровне.