

БІОСЕНСОРИ

BIOSENSORS

УДК 602.1: 53.082.9:615.099

**ЗАСТОСУВАННЯ СУЧАСНИХ БІОСЕНСОРНИХ ТЕХНОЛОГІЙ В
ЕКОТОКСИКОЛОГІЧНОМУ МОНІТОРИНГУ ДЕЯКИХ ТОКСИКАНТІВ
ПРИРОДНОГО (МІКОТОКСИНИ) ТА АНТРОПОГЕННОГО (ПЕСТИЦИДИ)
ПОХОДЖЕННЯ.
ЧАСТИНА І. МІКОТОКСИНИ.**

О. С. Гойстер¹, С. В. Дзядевич^{2,3}, О. Г. Мінченко¹

¹Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України
вул. Леонтовича 9, Київ, 04030;

²Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
вул. Акад. Заболотного, 150, Київ, 03680.

³Інститут високих технологій, Київський національний університет ім. Тараса Шевченка,
вул. Володимирська, 64, Київ, 01003
E-mail: gojsterO@ukr.net

**ЗАСТОСУВАННЯ СУЧАСНИХ БІОСЕНСОРНИХ ТЕХНОЛОГІЙ В
ЕКОТОКСИКОЛОГІЧНОМУ МОНІТОРИНГУ ДЕЯКИХ ТОКСИКАНТІВ
ПРИРОДНОГО (МІКОТОКСИНИ) ТА АНТРОПОГЕННОГО (ПЕСТИЦИДИ)
ПОХОДЖЕННЯ.
ЧАСТИНА І. МІКОТОКСИНИ.**

О. С. Гойстер, С. В. Дзядевич, О. Г. Мінченко

В огляді здійснено критичний аналіз використання сучасних біосенсорних методів для визначення токсичності сільськогосподарської продукції, ураженої шкідливими сполуками різного походження. Розглянуто деякі особливості впливу екоотоксикантів на якість та безпеку харчових продуктів і кормів з метою загострення уваги на необхідності підвищення системи контролю їх споживчої цінності для людей і тварин.

Ключові слова: мікотоксини, пестициди, токсичність, біосенсори, детектування

**APPLICATION OF MODERN BIOSENSORS METHODS IN ECOTOXICOLOGICAL
MONITORING OF SOME TOXINS OF NATURAL (MICOTOXINS) AND
ANTROPOGENIC (PESTICIDES) ORIGIN.
PART 1. MICOTOXINS.**

O. S. Gojster, S. V. Dzyadevych, O. H. Minchenko

Abstract. In the review the critical analysis of application of modern biosensors methods for detection of toxicity of agricultural production amazed with harmful substances of a different origin. Some features of influence ecotoxins on quality and safety of foodstuff and forages on purpose are

considered to focus attention to necessities of increase of the monitoring system of their consumer profitability for people and animals.

Keywords: mycotoxins, pesticides, toxicity, biosensors, detection

**ПРИМЕНЕНИЕ СОВРЕМЕННЫХ БИОСЕНСОРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В
ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМ МОНИТОРИНГЕ НЕКОТОРЫХ ТОКСИКАНТОВ
ПРИРОДНОГО (МИКОТОКСИНЫ) И АНТРОПОГЕННОГО (ПЕСТИЦИДЫ)
ПРОИСХОЖДЕНИЯ.
ЧАСТЬ 1. МИКОТОКСИНЫ.**

О. С. Гойстер, С. В. Дзядевич, А. Г. Минченко

Аннотация. В обзоре сделан критический анализ использования современных биосенсорных методов для определения токсичности сельскохозяйственной продукции, пораженной токсичными соединениями различного происхождения. Рассмотрены некоторые особенности воздействия экотоксикантов на качество и безопасность пищевых продуктов и кормов с целью акцентировать внимание на необходимости повышения системы контроля их потребительской рентабельности для людей и животных.

Ключевые слова: микотоксины, пестициды, токсичность, биосенсоры, детектирование

Вступ

Широкий спектр дослідницьких робіт, таких як оцінка токсичних ефектів природних і синтетичних сполук, контроль безпеки сільськогосподарської продукції та ефективність її знезараження, знаходяться в центрі уваги дослідників.

Коливання кліматичних факторів, що загострилися в останні десятиліття, і небажані зміни у складі плісневих грибів, а також загальна динаміка накопичення токсинів у зерні, посилює тенденцію поширення основних токсигенних видів. Зміна процентного співвідношення тих чи інших грибів у ґрунті суттєво залежить від рівня її агротехнічного забруднення. Посилення хімізації, зокрема, нераціональне застосування регуляторів росту, фунгіцидів, пестицидів, біологічних засобів захисту і коректорів імунного статусу рослин, призводять до серйозних порушень екологічної рівноваги та виникненню небезпечніших проявів ураженості рослин мікроскопічними грибами і наступному забрудненні їх микотоксинами.

Економічні збитки, отримані сільським господарством, визначаються вже не тільки прямими втратами продуктів харчування і кормів, різким зниженням їх харчової і кормової цінності, але й витратами, необхідними на

організацію системи контролю і проведення детоксикації забруднених продуктів і кормів. Реальну загрозу для здоров'я людини становлять також продукти тваринного походження, зокрема, м'ясо і молоко, отримані від хворих микотоксикозами тварин. Створюється небезпечна микотоксикологічна ситуація, яка вимагає підвищення фізико-хімічних показників рослинної сировини та ефективності тваринної продукції.

Сучасні аналітичні методи дозволяють проводити одночасне виявлення кількох токсичних речовин з високою чутливістю. Швидкість виявлення забезпечується також короткотривалою екскрецією токсинів та їх метаболітів з уражених продуктів харчування, кормів.

В останні роки серед дослідників найбільшу підтримку отримують методи скринінгового аналізу токсичних речовин. Ці методи забезпечують широкі діапазони вимірюваних кількостей і мають нескладну технологію аналізів. Скринінг, оснований на біосенсорних технологіях, має багато переваг. Цей швидкий метод виявлення без мітки створює кількісну та якісну інформацію проаналізованих зразків. Він забезпечує можливість повторного використання поверхні перетворювача сенсора для багатьох аналітичних циклів і дозволяє мультикомплексний показ десятків різних біовзаємодій.

Метою цього огляду було створити теоретичне підґрунтя для глибшого і різнобічного вивчення такої глобальної практичної проблеми сучасності як отримання безпечної агропродукції та створення дієвої системи моніторингу мікотоксинів та пестицидів, використовуючи досягнення сучасної біосенсорної технології.

Ситуаційний аналіз ураження об'єктів довкілля мікотоксинами

Мікотоксини належать до однієї з домінуючих в останні роки груп біогенних отрут, які забруднюють як корми, так і продукти харчування. Забруднення мікроскопічними грибами кормів є можливим на будь-якому етапі виробництва, тому мікотоксини вважають неминучими контамінантами продуктів харчування та кормів, що є загальносвітовою проблемою [1, 2]. Мікотоксини часто являються причиною низької продуктивності і підвищеної чутливості тварин до інфекційних та інших захворювань, що пов'язано з високою токсичністю, наявністю у більшості з них імунодепресивних та канцерогенних властивостей [3-5]. При відсутності ж специфічних засобів профілактики та лікування ці питання стають важливою проблемою для сільськогосподарських виробників.

За останні десятиліття наукою накопичений багатий досвід у вивченні токсинування у мікроскопічних грибів [6, 7]. Знання їхніх біосинтетичних можливостей необхідні не тільки для наступного розвитку фундаментальних молекулярно-генетичних, еволюційних уявлень, але також і для вирішення питання отримання безпечної сільськогосподарської продукції та експериментальних даних, що стають предметом правильних висновків.

На початку роботи необхідно провести вивчення компонентного складу мікробіоти одного або кількох досліджуваних об'єктів, об'єднаних загальним призначенням, систематичним положенням або походженням, виділення індивідуальних культур грибів, що представляють всю різноманітність вихідної мікробіоти, і встановлення їх таксономічної приналежності. Оцінку токсинування здатності культур доцільно проводити в уніфі-

кованих умовах, що дозволить використовувати результати з метою порівняння. Останнім часом серед дослідників велику підтримку отримують мікробіометоди, що складаються з нескладної технології короткотривалого культивування грибів на харчових субстратах і методів скринінгового аналізу мікотоксинів, які забезпечують широкі діапазони вимірювання їх кількостей [8].

Існуючі на сьогодні таксономічні системи грибів, зокрема найпоширенішого роду *Fusarium*, що базуються на даних морфологічних і фізіологічних аналізів, повні протиріччя і мають цілий ряд недоліків, які перешкоджають точній видовій ідентифікації досліджуваних штамів. Тому важливу роль у вивченні міжвидової різноманітності *Fusarium* відіграють молекулярні технології. Широко використовується метод маркування генетичного матеріалу шляхом ампліфікації ДНК з короткими праймерами довільної послідовності (random amplification of polymorphic DNA (RAPD)) [9]. На сьогодні отримані та проаналізовані RAPD-спектри багатьох видів роду *Fusarium*, наприклад *F.poaе* [10], *F.graminearum*, *F.culmorum* [11, 12].

Можливості іншого підходу, оснований на вивченні поліморфізму ДНК представників роду *Fusarium*, обмежені тим, що на сьогоднішній день є лише один локус ДНК, для якого розроблені SCAR-маркери (sequence characterized amplified region), які дозволяють з високою достовірністю визначати видову приналежність гриба — ген фактора елонгації трансляції 1α (TEF1 α) [13]. Інші, розшифровані сьогодні гени, зокрема гени рибосомних РНК, β — тубуліна, а також ферментів, які приймають участь в синтезі мікотоксинів, не дозволяють достовірно розрізняти види грибів [14]. З цих позицій актуальним є пошук нових поліморфних ділянок ДНК, придатних для використання в ролі маркерів для таксономічної характеристики та ідентифікації видів і штамів роду *Fusarium*, а також для аналізу спектру продукованих метаболітів.

Фітотоксична активність грибів роду *Fusarium*, зокрема таких видів як *F.graminearum*, *F.Poaе*, *F.Sporotrichioides*, при культивуванні в рідкому середовищі, як було показано в [15], проявляється в інгібуванні проростання насін-

ня пшениці, пригніченні розвитку кореневої системи та стебла проростків. Було показано, що найбільшою токсичністю володіє культуральний фільтрат *F.Sporotrichioides*. Це може бути пов'язано з тим, що Т-2 токсин, синтезований цим фітопатогеном, та його метаболіт НТ-2 токсин, найтоксичніші по відношенню до рослин пшениці, порівняно з токсинами, які продукуються іншими досліджуваними грибами. Отримані авторами дані узгоджуються з іншими дослідженнями.

Konigs et.al. [15] вивчали цитотоксичний ефект Т-2 токсину і кількох його метаболітів, зокрема НТ-2 токсину, неосоланіолу, Т-2 триолу та Т-2 тетраолу на двох клітинах людини в первинній культурі: ниркових епітеліальних клітинах трубочок (human renal proximal tubule epithelial cells (RPTEC)) і нормальних фібробластах легень (normal human lung fibroblasts (NHLF)). Т-2 токсин виявився найтоксичнішим, так як викликав апоптоз обох клітин в концентрації 100 нМ. Його метаболіти НТ-2 токсин і неосоланіол показали слабший цитотоксичний ефект, викликаючи апоптоз при вищих концентраціях (>1мМ). Інші метаболіти були мало токсичними і, навіть не активували каспазу-3. Wu Q et al. [17] показав високу цитотоксичність Т-2 для субклітинних фракцій печінки (мікросом і цитозолу) людини і тварин (гризунів, свиней, жуйних тварин, домашньої птиці) та ще раз підкреслив важливу роль ферментів цитохрому Р 450 і карбоксилестерази в метаболізмі Т-2 токсину. Отримані дані, без сумніву, забезпечують важливу інформацію для оцінки степені ризику мікотоксинів для безпеки харчових продуктів.

В рамках моніторингу забруднення продовольчої сировини та харчових продуктів в інституті харчування РАМН були досліджені зразки продовольчої пшениці, ячменю, овса та кукурудзи врожаїв 2006-2008. Половина проаналізованих зразків мала ту чи іншу степінь забруднення мікотоксинами Т-2 і НТ-2, дезоксиніваленолом (ДОН) та зеараленоном (ЗН). Найвищу контамінацію спостерігали в зерні овса (2/3 вибірки), найнижчу — ячменю (1/3 вибірки). В сукупній мікрофлорі, вивчених зразків зерна, переважала популяція грибів роду *Fusarium* [18]. В лабораторії мікотоксикології Інституту птахівництва НААН Укра-

їни протягом 2005-2010 рр. був проведений моніторинг контамінованості мікотоксинами зразків зерна та кормів, що надійшли з різних областей України та АР Крим. Т-2 токсин, НТ-2 токсин, зеараленон, ДОН та фумонізін були виявлені в 33, 5, 51, 72 і 74 % досліджених зразків у середніх концентраціях 44, 131, 25, 60 і 734 мкг/мл відповідно. Приблизно у 3 % випадків концентрації мікотоксинів перевищували максимально допустимі рівні, що вказує на значне поширення мікотоксинів як забруднювачів зерна і кормів в Україні [19].

Фузаріоз колосу поширений по всьому світу і є одним з найнебезпечніших захворювань злакових. Згідно оцінкам ФАО біля 25% світових зборів зерна контаміновано мікотоксинами. Для контролю рівнів контамінації багато країн ввели норми допустимого вмісту цих сполук у харчових та кормових продуктах [20]. Більшість мікотоксинів не розкладається в процесі звичайної обробки сировини, а зберігаються по технологічному ланцюгу до кінцевого продукту. Важливо відмітити, що при закладанні зерна на зберігання мікотоксини можуть не виявлятися, але їх продукування може початися під впливом біотичних та абіотичних стресів. У зв'язку з цим необхідна точна ідентифікація патогена, яка зможе передбачити, накопичення яких токсинів є можливим у конкретній партії зерна.

Існують гранично допустимі норми заспорення зерна, муки та комбікормів грибами. Комбікорм або зерно, в 1 грамі яких виявлено 100 тисяч і вище спор грибів, вважають несприятливими по якості і досліджують для встановлення придатності їх для згодовування. Ступінь заспорення зернових культур визначають способи збирання, тривалість та умови збереження і якість зерна. При наявності 10-20 тис спор токсичних грибів в 1 г корму такий корм слід вважати небезпечним для молодняка птиці; 100-200 тис спор токсичних грибів небезпечні для молодняка свиней, а 500 тис і більше спор токсичних грибів можуть викликати отруєння дорослих свиней (рвоту, понос) і великої рогатої худоби. Були проведені дослідження [21] кормової продукції деяких сільськогосподарських підприємств на загальну токсичність (біопроба на найпростіших). Показник кількості спор грибів коливався від 3

до 81 тис в 1 г продукції. Переважали ізоляти грибів роду *Aspergillus* (до 70 %) і *Fusarium* (до 30%). Виділені ізоляти протестовані на токсичність, в результаті процентний вміст токсичних штамів *Aspergillus* складає 24 %, *Fusarium* — 35%.

Зернові культури є важливою складовою частиною раціонів сільськогосподарських тварин та птиці. Найважливішим показником санітарної якості кормів вважають ураженість (контамінацію) їх плісневими грибами. Розвиваючись на кормових і харчових субстратах, гриби роду *Fusarium*, здатні виробляти отруйні речовини, які можуть викликати важкопротікаючі захворювання - фузаріотоксикози [22]. При цьому у тварин спостерігається зменшення поїдання корму, низький середньодобовий приріст, зниження молочної продуктивності, збільшення кількості абортів та ембріональної смертності, зростання чутливості до інфекційних захворювань, і в цілому, порушення обміну речовин. Практика показує також, що молоді тварини чутливіші до мікотоксинів, ніж дорослі. З метою визначення мінімально небезпечного рівня мікотоксинів для поросят від'ємного віку (2 міс) дослідниками [23] були сформовані 4 групи тварин по принципу аналогів. Перша група тварин отримувала корм, який містив стеригматоцистин в кількості 20 мкг/кг корму. Друга група — Т-2 токсин — 30 мкг/кг корму. Третя група охратоксин А1— 30 мкг/кг корму. Четверта контрольна група отримувала основний раціон без мікотоксинів. Проведені біохімічні та гематологічні дослідження показали, що тривале (10 днів) надходження стеригматоцистину в кількості в 4 рази меншій ГДК викликає у поросят від'ємного віку важкі ураження печінки, які супроводжуються дегенеративно-дистрофічними змінами з утворенням в паренхімі численних ділянок некрозу (до 10 на 1 дм²). В наступних двох групах тварин виявили такі ж ділянки некрозу, але в меншій кількості (2-3 на 1 дм²). Про важке ураження печінки в поросят всіх дослідних груп свідчило також наростання в 3-4 рази кількості білірубину у сироватці крові.

Припускають, що жуйні тварини, на відміну від моношлункових тварин, є стійкими до негативного впливу мікотоксинів, що пов'язано із здатністю мікроорганізмів рубці

розкласти їх. Було показано можливість деградації трихотеценових мікотоксинів (Т-2 токсину, дезоксиніваленолу, діацетсцирпенолу), афлатоксинів, зеараленону, охратоксину А, фумонізінів мікробами/ферментами рубця корейської місцевої кози [24, 25].

Токсикомікологічні дослідження кормів у господарствах Жашківського району Черкаської області показали [26], що причиною зниження жирності молока у корів було поїдання кормів, контамінованих чотирма фузаріотоксинами у субтоксичних концентраціях. При цьому зерно пшениці та ячменю було інтенсивно уражене грибом *Fusarium moniliforme* var. *majus* і виявлена його здатність продукувати Т-2 токсин, зеараленон, ДОН та фумонізіні В₁. Цілком ймовірно, що у зерноsumіші, отриманої із зерносховища, був вищий рівень мікотоксинів. Це пов'язано з тим, що токсинування у зерні під час його зберігання відбувається нерівномірно і краще проходить у більш вологих ділянках та інтенсивніше уражених мікроміцетами.

Не слід ігнорувати також потенційну небезпеку контамінації плісневими грибами кормів, в які, в ролі обов'язкових компонентів вводять суміші різних мікроелементів (заліза, марганцю, міді, цинку, кобальту, йоду). В результаті досліджень, проведених в інституті мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України в м. Києві [27] було встановлено, що іони цинку, марганцю і бору в концентраціях 0,1; 0,2 і 0,5 мг/л забезпечували посилення біосинтезу макроциклічних трихотеценів на 36-150%. Іони молібдену, кобальту, міді і хрому в різній степені інгібували цей процес. Було показано, що концентрації цих елементів, які використовують в ролі преміксів у комбікормах для різних вікових груп свиней, значно перевищують оптимальні для біосинтезу макроциклічних трихотеценів. Це дозволяє припустити певну їх "захищеність" від контамінації токсичними метаболітами грибів. А також зробити висновок, що дієвий санітарно-токсикологічний контроль комбікормів на наявність в них мікроелементів, які відіграють активуючу або інгібуючу роль в біосинтезі мікотоксинів, є необхідним і має здійснюватися надійними експрес-методами.

Токсикологічний аналіз молока та інших молочних продуктів показує, що основним мікотоксином, який виявляється, є афлатоксин M_1 . Вказаний мікотоксин виділяється з молоком тварин, які отримують корм, контамінований афлатоксином B_1 . Афлатоксин M_1 належить до канцерогенних сполук з групи А, які є дуже небезпечними для здоров'я людини у відповідності з класифікацією міжнародної організації IARC (IARC, 2002). У відповідності з Європейським законодавством гранично допустима кількість афлатоксина M_1 в молочних продуктах, призначених для людини, складає 0,5 мкг/кг (FDA, 2004). Було показано [28], що в 38% сирого і 14% пастеризованого молока кількість афлатоксину M_1 перевищує ГДК (0,5 мкг/кг). В 35% кормів кількість афлатоксина B_1 перевищувала гранично допустимі концентрації (20 мкг/кг).

Особливої уваги заслуговує вивчення забруднення мікотоксинами продуктів дитячого харчування на основі зерна, включаючи продукти прикорму (сухі каші, мясо-, рибо-, рослинні і фруктово-зернові консерви), хлібобулочні вироби (хліб, печення), мукомольно-круп'яні вироби (в тому числі, кукурудзяні пластівці). Еллер і співав. дослідили продукти дитячого харчування на вміст охратоксина А(ОХА), дезоксініваленола (ДОН), зеараленону (ЗЛ), та фумонізіна B_1 (ФВ $_1$) [29]. Найбільша частота контамінації ОТА виявлена в мукомольно-круп'яних виробах (25%), найменша — в кашах (6%). Встановлена висока частота забруднення ФВ $_1$ кукурудзяних пластівців (41%) і продуктів прикорму (каши) на кукурудзяній основі у низьких концентраціях (47%). ДОН і ЗЛ в продуктах дитячого харчування не виявлені. Слід відмітити, що не зважаючи на виявлення порівняно невисоких рівнів забруднення мікотоксинами, результати проведених досліджень свідчать про те, що проблема контамінації мікотоксинами продовольчої сировини і, особливо, продуктів дитячого харчування є важливою, актуальною і потребує моніторингових досліджень на всій території України.

Заслуговує увагу дослідження взаємовідношень мікрофлори людини (тварин) і мікотоксинів як можливої причини багатьох патологій. Було показано [30], що низькі концентрації

Т-2 токсину (1-100 нг/мл) підвищують чутливість альвеолярних макрофагів та епітеліальних клітин кишківника свиней до *Salmonella Typhimurium*. Багатьма дослідженнями, на сьогоднішній день, встановлено, що включення Т-2 токсину в щоденний раціон свиней, зменшує опір організму проти вірусних та бактеріальних інфекцій [31]. Pinton et.al у своєму огляді [32] сумують сучасні уявлення про вплив невеликих кількостей трихотеценових мікотоксинів на кишківник людини і тварин. Boonen et.al. [33] у модельних дослідках з людською шкірою, показали, що найбільшу проникність виявляє Охратоксин А, нижчу — Афлатоксин B_1 і зеараленон і найнижчу — Т-2 токсин.

Одним з можливих патогенних факторів розвитку хвороби Кашіна-Бека (КВД) може бути мікотоксин Т-2, накопичений у зерні, що підлягало тривалому збереженню. Було показано, що Т-2 токсин у поєднанні з низькокалорійною дієтою може призвести до некрозу хондроцитів в епіфізіальній пластині і порушити наступне формування кісток у пацюків [34].

На сьогоднішній день недостатньо вивченими залишаються змішані мікотоксикози, що виникають при одночасному надходженні з кормом кількох мікотоксинів. В умовах виробництва, як правило, недооцінюють негативний ефект присутності одразу кількох мікотоксинів в малих концентраціях, тому не виключають дані корми з раціону тварин. Але відомо, що одночасна присутність кількох мікотоксинів навіть на рівні ГДК не гарантує відсутності токсичного ефекту [35]. Змішані мікотоксикози, як правило супроводжуються більш вираженими клінічними, гематологічними, біохімічними та патоморфологічними змінами. Це висуває на перший план необхідність вивчення токсикологічної взаємодії мікотоксинів [36].

Так з метою патоморфологічних досліджень змішаних мікотоксикозів були проведені дослідження на лабораторних білих пацюках та вівцях. Аналіз отриманих авторами [37] результатів електронно-мікроскопічних досліджень свідчив про глибокі ультраструктурні зміни в органідах і цитоплазмі клітин. Гістологічні, як і ультраструктурні, зміни органів і тканин

піддослідних тварин при гострій та хронічній інтоксикації одночасним надходженням Т-2 токсину і Афлатоксину В₁ в дозах 1/10 ЛД50 характеризувалися вираженим синергічним пошкоджуючим впливом цих мікотоксинів без прояву зовнішніх симптомів отруєння.

У різних частинах світу сьогодні активно досліджуються “мікотоксини в масці”. Загальновідомо, що рослини можуть зменшувати токсичність фітотоксинів хімічною модифікацією. Цей процес детоксикації рослин включає кон’югацію мікотоксинів з полярними речовинами, такими як цукор, амінокислоти і сульфати, та наступне їх зберігання у вакуолях клітини. Огляд Marthe De Boevre et. al., опублікований в журналі World Mycotoxin [38], забезпечує розуміння природного виникнення різних форм *Fusarium* “мікотоксинів у масці” у кормах і продуктах харчування.

Європейське відомство EFSA по безпеці харчових продуктів (CONTAM) за підтримки Європейської комісії (ЄС) у 2010 році дало оцінку ризику для здоров’я людини і тварин, у зв’язку з присутністю Т-2 і НТ-2 токсинів в їжі та кормах. Було проаналізовано близько 20 тис результатів, зібраних в 2005-2010 рр. З 22 європейських країн і показано, що Т-2 токсин контамінує велику кількість продуктів (особливо овсяне зерно); НТ-2 токсин — його головний метаболіт. Опубліковані дослідження демонструють, що найчутливішими до впливу Т-2 токсину є свині, так як концентрація 29 мкг/кг маси тіла вдень викликає імунотоксичність та гемотоксичність. 300 мкг/кг Т-2 токсину у молодих жуйних тварин може призвести до шлунково-кишкових пошкоджень. Це дозволяє припустити неповну детоксикацію мікотоксину в рубці. В домашньої птиці первинні ефекти (наприклад, пошкодження слизової оболонки в порожнині рота) відбуваються при концентрації Т-2 40 мкг/мл. Для кролів концентрації в межах 500-2000 мкг Т-2 токсину/кг м.т. вдень гальмують зростання ваги і пошкоджують слизову оболонку. Для риби найнижча терпима концентрація мікотоксинів становить 13 мкг/кг. Використовуючи ці дані встановлено терпиму щоденну концентрацію вживання (tolerable daily intake (TDI) для суми Т-2 і НТ-2 токсинів рівну 1 мкг/кг м.т. [39]. Всебічний аналіз забруднення кормів

у Європі мікотоксинами виявив також, що 75-100% зразків містять більше, ніж один мікотоксин, який може впливати на здоров’я тварин в низьких концентраціях [40].

Щоб забезпечити безпеку споживання, Європейською комісією визначені строгі правила і законодавчі обмеження присутності афлатоксинів, ОТА патуліну і токсинів *Fusarium* у продовольчій сировині (СЕ N 1126/2007).

Розвиток методів екологічної детоксикації/дезактивації мікотоксинів як дієвого контролю безпеки сільськогосподарської продукції

У профілактиці мікотоксикозів тварин важливим, на наш погляд, є виявлення ділянок поширення грибів-продуцентів мікотоксинів — мікотоксикологічний моніторинг, складання прогнозу виникнення мікотоксикозів тварин, створення умов, які знижують можливість розвитку токсичних грибів та утворення ними мікотоксинів.

Найбільш ефективним та екологічно безпечним способом боротьби з токсиноутворюючими грибами було б створення стійких до них сортів культурних рослин. Однак практика показує, що цього важко досягти за допомогою традиційних методів селекції рослин. Тому активно використовується можливість створення трансгенних рослин, здатних руйнувати токсини, головним чином, за рахунок ферментів, які впливають на активні групи мікотоксинів. Для створення стійких до токсину трансгенних рослин проводять ідентифікацію і клонування генів мікроорганізмів-продуцентів фітотоксинів, що відповідають за інактивацію власного токсичного продукту метаболізму. Ці гени вбудовуються в геном чутливих до токсину рослин і забезпечують їх експресію. Перспективним для цього є, наприклад, ген TRI12, який відповідає за стійкість гриба *Fusarium sporotrichioides* до трихотеценових токсинів, продуцентами яких він являється [41, 42].

При виявленні мікотоксинів у кормах передбачають раціональне їх використання. Корми, які містять мікотоксини, знезаражують високотемпературною обробкою (гранулювання, автоклавування, прокалювання, проварюван-

ня і т.д.), ультрафіолетовим випромінюванням. Використовуючи гамма-опромінення для детоксикації Т-2 токсину у м'ясі овець було показано [43] відсутність суттєвих відмінностей від контрольних тварин, що відповідає вимогам ГОСТів до доброякісного м'яса і має однакову біологічну повноцінність з м'ясом інтактних тварин. Стерилізація насіння гарбуза (ураженого ніваленолом) дозою іонізуючої радіації, рівної 25 кГр, забезпечувала їх тривале збереження і не викликала негативних змін [44].

Існуючі фізичні методи знезараження кормів у більшості випадків дорогі, потребують певних виробничих витрат і суттєво не знижують кількість токсикантів.

Запропоновані на сьогоднішній день хімічні методи для дезактивації мікотоксинів часто неефективні і потенційно небезпечні для масштабного використання. Токсикологічна безпека кінцевого продукту не завжди гарантується, так як можлива присутність хімічних залишків у кінцевому продукті. Так детоксикація афлатоксину за допомогою аміаку єдина, яка отримала ліцензію у США. Але деякі дослідження показали наявність отруйних продуктів його хімічного перетворення [45].

Важливою і далеко не вирішеною проблемою є результативне лікування мікотоксикозів тварин. Це, перш за все, пов'язане з відсутністю специфічних засобів профілактики і лікування отруєнь тварин отрутами мікроскопічних грибів, з другої сторони — із складністю розробки антидотів.

Перше пояснюється тим, що мікотоксини — низькомолекулярні сполуки і розробка специфічних засобів захисту від них — практично нездійсненна проблема, оскільки створення кон'югатів з білком та іншими високомолекулярними носіями складна, дорога і неефективна робота. Не дають необхідного ефекту використання сироваток і тканинних препаратів (антигенів), отриманих від тварин після впливу "малих" доз мікотоксинів і введених тваринам з наступною затравкою їх токсинами.

Друге пояснюється тим, що не зважаючи на переважну вибірковість в дії окремих мікотоксинів, в цілому природа їх впливу неспецифічна; особливо це помітно, коли в організм одночасно надходить кілька мікотоксинів — при змішаних мікотоксикозах.

У зв'язку з цим в дослідників при лікуванні мікотоксикозів інтерес викликають засоби симптоматичної терапії; використання сорбентів, речовин, які сприяють прискоренню деградації і виведенню токсинів; препаратів, що володіють антитоксичною активністю, підвищують стійкість організму до впливу мікотоксинів. Так, системі дій по профілактиці мікотоксикозів тварин і птахів присвячений огляд Антипова та Васілієва [46].

За кордоном профілактика токсикозів основана на експрес-діагностиці наявності мікотоксинів і використанні токсинобіндерів, або токсиноблокаторів, - речовин, які вносять у комбікорма з метою попередження отруєння мікотоксинами. Ці речовини - бентоніти, цеоліти, алюмосилікати та інші - представляють собою високоактивні мінеральні адсорбенти, які вводяться в корм і здатні адсорбувати бактеріальні або грибкові токсини з травного тракту та виділятися з організму з калом [47 – 49]. Їх вводять на протязі всього періоду вирощування тварин. Вітчизняні сорбенти та сировина для сорбентів не поступаються в профілактичній активності зарубіжним аналогам, тому переплачувати за імпорту марку немає необхідності [50, 51]. Недоліком цього методу дезактивації мікотоксинів є можливість адсорбента зв'язувати інші поживні речовини, що призводить до втрати харчової цінності продукту [52].

Альтернативна стратегія дозволяє застосувати ферменти або мікроорганізми, здатні до біотрансформації мікотоксинів у нетоксичні метаболіти. Так, ферменти рубця жуйних тварин можна використати для біологічної детоксикації мікотоксинів. Ізоляція і характеристика чистої культури мікроорганізмів рубця, отримання цільових генів зможуть покращити ефективність, з якою будуть отримані ферменти з цих організмів [25, 53]. Активно вивчається можливість виділення мікотоксинів із середовища шляхом зв'язування з клітинами живих бактеріальних культур. Одним із варіантів нейтралізації є зв'язування токсиканта на поверхні модифікованих наноалмазів (МНА), які можна використовувати як адсорбент і як каталізатор його дезактивації. Результати досліджень показують можливість каталітичного перетворення (окислення) мікотоксинів при

взаємодії з наночастинками. При цьому утворюються метаболіти, які вже не виявляють помітного впливу на ріст і біоломінесценцію світних бактерій [54].

Сприяють підвищенню стійкості організму до впливу мікотоксинів і пептидні біорегулятори. Тімалін, один з препаратів нового класу імуномодуляторів, отриманий з вилоккової залози телят, значно гальмує зниження гематологічних та імунологічних показників. Імуностимулюючі властивості виявляють також ліпополісахариди (левамізол, пірогенал, продігіозан та ін) вакцин, препаратів нуклеїнових кислот і синтетичних нуклеотидів, гормональних засобів, препаратів тимусу та ін. [55].

Одним з найбільш привабливих мікроорганізмів для створення пробіотичних препаратів є *Bacillus subtilis*. Бактеріям цього виду властива здатність продукувати такі біологічно активні речовини, як органічні кислоти, антибіотики, гідролітичні ферменти, поверхнево-активні речовини, вітаміни та незамінні амінокислоти [56]. На основі названих бактерій створено багато препаратів, які з успіхом застосовують для лікування та профілактики інфекційних захворювань сільськогосподарських тварин, підвищення приросту живої маси та поживної цінності кормів [57, 58]. Боротьба біологічними методами, як альтернатива поширеній сьогодні хімічній боротьбі із забрудненням мікотоксинами зерна, може бути шляхом майбутнього.

В кожній країні проблема якості зернофуражу вирішується по-своєму. Так, в США функціонує ряд лабораторій, які надають виробникам екологічно чистих продуктів послуги по визначенню в кормах і продуктах харчування 23 найпоширеніших мікотоксинів. Діюча система знижок-надбавок в залежності від санітарної якості фуражу стимулює фермерів до виробництва високоякісних кормів. Подібної системи контролю якості зерна на території України немає. Введення, в майбутньому, нових стандартів на кормове зерно, системи диференційованої оплати в залежності від його ветеринарно-санітарних показників також сприятиме покращенню якості сировини в Україні.

Застосування біосенсорів для моніторингу мікотоксинів

У зв'язку з великим поширенням мікотоксинів у сільськогосподарській продукції, дослідники витрачають багато зусиль на розробку методик їх детекції. Хоча газорідинна хроматографія або газова хроматографія в комбінації із маспектроскопією [59 - 61] широко використовуються при моніторингу мікотоксинів і дозволяють одночасний аналіз кількох токсичних речовин, вони потребують лабораторних засобів, кваліфікованого персоналу, об'ємної типової підготовки зразків. Інша група методів виявлення включає швидкий аналіз мікотоксинів, оснований на імунореакції між антитілами та антигенами. Так, Седова з співавт. [62] для моніторингу забруднення зернових трихотеценовими мікотоксинами групи А використали твердофазний імуноферментний метод (ІФА, ELISA). Три формати імуноферментного визначення Т-2 і НТ-2 токсину були застосовані Li Y. et al. [63] для їх визначення в молоці (ELISA, one-step ELISA, re-ELISA). Найбільшу чутливість показала re-ELISA, виявляючи Т-2 токсин і НТ-2 токсин з межею виявлення 3,04 і 2,79 нг/мл⁻¹, відповідно. Стандарти ІФА-набори розроблені сьогодні для визначення багатьох токсичних речовин. Метод ІФА володіє рядом суттєвих переваг, таких як висока відтворюваність (одночасно на одному планшеті проводиться кілька десятків аналізів), невисока вартість, малий об'єм тестованого зразка, простіша підготовка проб, ніж у ТШХ (TLC) або ВЕРХ (HPLC). Імуноафінні колонки також використовують для очищення і концентрування зразків мікотоксинів [64]. Але не дивлячись на високу специфічність антитіл, визначення мікотоксинів в складних матрицях потребує детальної оптимізації протоколу аналізу. Останнє стосується і нового підходу у визначенні охратоксину А, де пропонується використовувати пептиди (пептид NF04, отриманий з оксидоредуктази) замість антитіл. Специфічність його взаємодії з мікотоксином оцінювали використовуючи для ідентифікації газорідинну хроматографію високого тиску з флуоресцентною детекцією (HPLC-FLD) та конкурентний імуноферментний аналіз (peptide-based ELISA) [65].

Головною перешкодою розвитку іммунохімічних методів для виявлення “мікотоксинів у масці” є, головним чином, відсутність відповідних стандартів [66]. Дослідження зразків хлібних злаків, отриманих на основі злакових продуктів харчування та різних кормів, зібраних у 2008-2011 рр. у Китаї, Бельгії та Чеській республіці були проведені хроматографічними методами, зокрема LC-MS/MS [67]. На нашу думку, для виявлення замаскованих мікотоксинів слід застосувати біосенсиори, як альтернативу відомим аналітичним методам.

Популярним методом швидкої ідентифікації мікотоксинів і грубої оцінки їхньої концентрації є іммунологічне дослідження бокового потоку (Lateral-flow immunoassays, LFIA). Найвища чутливість виявлення мікотоксину цим методом була виявлена на рівні 5 нг/мл АФВ₂ у кормі свині, з попереднім використанням іммуноафінних колонок [68]. Огляд Anfossi et al. [69] фокусує увагу на нових аспектах розвитку та оптимізації приладів бокового потоку для виявлення мікотоксинів, включаючи стратегію застосування колоїдних частинок золота (GNPs) як сигнальних молекул. Така оптимізація дозволила авторам визначити афлатоксин М₁ у молоці з межею виявлення 20 нг/мл [70].

Швидкому виявленню мікотоксинів (особливо патуліну) в оброблених продуктах харчування, зокрема у фруктах і фруктових соках, присвячений огляд Sally et al. [71]. На їхню думку великий потенціал мають як уже комерціалізовані методи (наприклад, ELISA, HPLC, LC-MS), так і інноваційні (молекулярні, зокрема PCR, імуносенсиори). Автори огляду вважають, що хімічна різноманітність мікотоксинів, низька молекулярна вага і розчинність ускладнюють їх ідентифікацію і, як наслідок, стандартизацію методів визначення. І найважливішим є отримання однорідної, репрезентативної проби.

Здійснення відбору проб вважається найбільшим джерелом помилок у мікотоксикологічному аналізі [72]. Це стало однією з проблем уніфікації даних, отриманих такими аналітичними методами, як ELISA, TLC, GC і HPLC, при аналізі ситуації із виникненням та забрудненням кормів мікотоксинами у Європі [40].

Сьогодні для виявлення патуліну в яблуках пропонують використовувати “електронний ніс”. Повітря, яке накачується від контейнера із зразками, ідентифікується за допомогою сенсора. У кожного грибового забруднення є свій “аромат”. Так, у зразків з нормальним ароматом, середній вміст ОТА і ДОНА становить 26 нг/мл; у зразків з “ароматом” середній вміст ОТА - 76 нг/мл, ДОНА — 69 нг/мл [73, 74].

Вчені з університету Крафта намагаються експлуатувати “електронний язик” для детекції токсичних речовин за допомогою наносенсора, вкладеного у пакувальний матеріал, використовуючи нанотехнологію. Сенсори викликають зміну кольору у пакеті, коли молочні продукти і продукти харчування починають псуватися [75].

Розробка біосенсорних систем суттєво розширює області застосування імунодетекції, дозволяючи проводити аналіз швидко та автоматизовано; використовувати малий об’єм тестованого зразка та регенерувати чутливу поверхню для багаторазового використання. Складнощі, пов’язані з розробкою біосенсорів напряму пов’язані з видом аналіту (нуклеїнові кислоти, ферменти, антитіла, клітини, окремі організми та їх тканини; штучні полімери) та методами їх іммобілізації на поверхні трансдуктора (електродах, поверхнях оптичних, пьезоелектричних, магнітних та ін.). Ці проблеми знаходять відображення у зростаючому числі публікацій, присвячених біосенсорам [76, 77]. На думку дослідників, незалежно від методу розпізнавання або типу, використаної в аналізі речовини, існує загальна риса для біосенсорів усіх типів: біорозпізнаючий компонент іммобілізований на поверхню перетворювача, на якій детектується сигнал.

Головна вимога до біорозпізнаючого компонента полягає в тому, щоб впізнати тільки один субстрат серед багатьох інших. Так застосування світних бактерій в якості аналіту, таких як *Photobacterium phosphoreum* Sq3 і *Vibrio fischeri* F1, дозволяє по їх біоломінесценції визначати токсини [78, 79]. На основі люциферази — ключового ферменту метаболізму світних бактерій — розроблений люциферазний біотест для виявлення зерна, ураженого фузаріозом [80]. Хемілюмінесцентна ак-

тивність екзометаболітів дафній, яка залежить від їх контакту з певними сполуками, зокрема компонентами хімічної та біологічної зброї, (наприклад, Т-2 токсином), - ця властивість може бути реалізована для створення біорозпізнаючих поверхонь [81]. Для виявлення зеараленону в молоці використали біосенсор на основі біолоюмінесценції клітин генетично модифікованих дріжджів *S. cerevisiae*. Велика кількість спостережень показала, що відповідь біосенсора відрізняється залежно від вмісту естрогенів у молоці [82]. Але, незважаючи на автоматизацію, тривалість досліду (близько 3-х годин) робить метод не вигідним для скринінгу мікотоксинів у молоці. Слід відмітити, що використання цілих клітин сповільнює дифузію субстратів і продуктів метаболізму через клітинну стінку, що зумовлює довготривалість відповіді цих біосенсорів, порівняно з ферментними біосенсорами. Використання біолоюмінесценції та хемілюмінесценції для прямого та непрямого визначення мікотоксинів, як інноваційну альтернативу відомим методам, широко обговорюється в огляді Сертера [83].

Ферменти, завдяки каталітичній дії, найчастіше використовуються в біосенсорних дослідженнях, зокрема електрохімічних. Так, кондуктометричний сенсор на основі ацетилхолінестерази, розроблений в Інституті молекулярної біології і генетики, дозволяє визначати афлатоксини [84]. Амперометричні біосенсори на основі планарних платинових електродів та імобілізованої хілінестерази використовували для визначення мікотоксинів — охратоксину А, зеараленону, афлатоксину В₁. Холінестеразний біосенсор, модифікований вуглеводневими нанотрубками, дозволяє змістити інтервал визначуваних концентрацій мікотоксинів в сторону низьких концентрацій, спостерігати більш виражений ефект інгібування. Також показана можливість визначення мікотоксинів у продуктах харчування на прикладі зразків арахісу та гречаної крупи при концентраціях на рівні та нижче ГДК [85].

Крім того, застосування електродних сенсорів включають визначення АФМ₁ в молоці [86, 87], АФВ₁ в ячмені [88], АФВ₁ в зубчастому рисі [89], ОТА в пшениці [90] та Т-2 токсину в ячмені [91]. Перевагою електрохімічних

випробувань є дешеве виробництво електродів; недоліками — дрейф сигналу і складність регенерації антитіл. Усувають ці проблеми шляхом застосування наночастинок золота, магнітних частинок для модифікації електрода або друкованих електродів, внесених у лунки багатоканального планшета і використанням моноклональних антитіл, аптамерів, синтетичних рецепторів [92, 93].

У методі молекулярного друкування (Molecular Imprinting) маленькі молекули (мономери) оточують молекулу, наприклад мікотоксину, зв'язану на твердій основі. Після полімеризації оточуючих молекул і видалення шаблону (молекули мікотоксину), формується молекулярний відбиток — порожнина, комплементарна молекулі-шаблону по розміру, формі і розташуванню функціональних груп. Селективне закріплення інших молекул того ж мікотоксину до віддрукованого полімеру є вищим, порівняно із закріпленням з невіддрукованим полімером. На сьогодні, синтетичні молекулярно імпринтовані полімери (СМІП) використані для детектування охратоксину А [94], зеараленону [95, 96], афлатоксинів [97], Т-2 токсину [98], патуліну [99] та фумонізіну В₁ [100]. Перевагами СМІПів є можливість їх створення практично для будь-якої низькомолекулярної структури з використанням відомих методик, стабільність в органічних розчинниках, широких діапазонах рН і температур, низька вартість. Недоліками, які обмежують їх застосування і поширення є можливість деформації і втрати селективності при зміні складу розчинника, відносно невисока афінність.

Простий, швидкий і дуже чутливий п'єзоелектричний імуносенсор з використанням наночастинок золота та конкурентного імуноаналізу був запропонований і застосований для виявлення афлатоксину В₁ [101]. Розроблений п'єзокварцевий сенсор (QCM) для визначення Т-2 токсину в модельних речовинах [102].

Дуже поширений сьогодні поляризаційний флуоресцентний імуноаналіз (ПФІА; FPIA) дозволяє проводити визначення вмісту мікотоксинів в продуктах харчування з високою чутливістю та селективністю. Так Белоглазова і співавт. [103] використали ПФІА для роз-

робки методології визначення афлатоксину В₁ у зразках пива. В процесі розробки методики здійснений синтез флуоресцеїн-мічених трейсерів та вибрана оптимальна пара імунореагентів (антитіл-трейсерів). Нескладна пробопідготовка (з використанням органічних розчинників) методом твердофазної екстракції дозволила нівелювати вплив домішок і визначити мікотоксин з межею виявлення 10 нг/мл. В своєму огляді [104] Chris Maragos, який запропонував принцип ПФІА для визначення мікотоксинів, сумує дослідження, проведені в цій області стосовно мікотоксинів. Діапазон концентрацій, виявлених ним афлатоксинів, фумонізінів групи В, диоксиніваленола, охратоксину А, зеараленону складає від 5 до 500 нг/мл. Відсутність поперечної реактивності з іншими мікотоксинами, швидка процедура екстракції (з 90%-ним метанолом) з ураженої пшениці були показані під час визначення Т-2 і НТ-2 токсинів Lippolis et al. [105]. Комерційно доступні сьогодні набори для швидкого виявлення мікотоксинів використовують таку техніку, як адсорбційні колонки з флуоресцентним детектуванням, мікроплати ELISAs [106].

Для діагностики патогенів широко використовується також метод кількісної ПЦР-РВ “ПЦР в реальному часі”. Метод володіє високою чутливістю, специфічністю аналізу та швидкістю отримання аналізів [107]. В роботі Стахеева А.А. [108] на основі ПЦР-РЧ були розроблені тест-системи, які дозволяють детектувати токсигенні гриби роду відповідно спектру продукованих ними мікотоксинів. На основі відомих даних згідно цієї ознаки було виділено 4 групи видів: продуценти трихотеценів типу А (*F. sporotrichioides*, *F. langsethiae*); продуценти трихотеценів типу В (*F. graminearum*, *F. culmorum*); змішаний хемотип А-В (*F. poae*); трихотецен-непродукуючі види (*F. avenaceum*, *F. tricinctum*). До кожної з груп була підібрана група праймерів, і зонд типу TagMan, специфічність яких протестована на 26 моноспорових ізолятах грибів роду *Fusarium*. Тести, проведені на великій кількості польових зразків ураженого зерна, стали основою створення стандартних ПЦР-наборів для рутинної діагностики потенційних проду-

центів небезпечних токсинів в закладеному на зберігання зерні та продуктах його переробки. Огляд Nissen et al. дає детальний аналіз застосування методу ПЦР (в тому числі, оберненої транскрипції - ОТ-ПЦР) для виявлення грибів, які виробляють афлатоксини, Т-2 токсин, ДОН, фумонізіни і патулін [109].

Сучасні біосенсиори з ефектом повного внутрішнього відбиття (ППР, SPR) забезпечують великий об’єм інформації стосовно специфіки, близькості та кінетики біомолекулярних взаємодій і/або рівнів концентрації аналітів складного зразка. Огляд Jona Mitchela [110] досліджує технологію застосування ППР для імунологічного обстеження молекул антигенів з низькою молекулярною вагою, зокрема, мікотоксинів. Розглядаються матричні ефекти, викликані вимірюваннями в хімічно складних зразках, побудова стійкої поверхні сенсора та розвиток мультикомплексних випробувань, здатних до виявлення кількох токсинів одразу.

В роботі [111] досліджено можливість використання оптичного імуного біосенсора Плазмон-SPR-4М, розробленого та виготовленого в Інституті фізики напівпровідників НАН України. Запропоновано два варіанти визначення Т-2 токсину за допомогою імуносенсора. “Прямий” аналіз забезпечив межу визначення сенсора на рівні 20 нг/мл, “конкурентний” – 1 нг/мл. Оскільки безпосередня адсорбція біологічних молекул на поверхню золотої плівки може супроводжуватись зміною їх фізико-хімічних властивостей були використані поліелектроліти або тіоли з попередньою іммобілізацією на поверхні сенсора білку А з *Staphylococcus aureus*. Цей білок має сайт зв’язування розташований на другому домені F_c-фрагменту IgG і забезпечує орієнтоване включення біологічних молекул. Застосування модифікації поверхні додекантіолом забезпечувало межу визначення сенсора на рівні 5 нг/мл, поліелектролітом – 2 нг/мл, як у випадку використання полі- так і моноклональних антитіл [112]. Імуносенсор на основі еліпсометрії повного внутрішнього відбиття (ЕПВВ)(TIRE) дозволяє з високою чутливістю виявляти Т-2 токсин (0,15 нг/мл) [112].

“Пряме” визначення Т-2 токсину і патуліну з межею виявлення 10 нг/мл здійснено шляхом використання структурованого нанопористого кремнію в якості перетворювача імуносенсора ППР [113].

Показана можливість для одночасного визначення Т-2 и НТ-2 токсинів з використанням ППР-сенсора і простою процедурою екстрації мікотоксинів (40%-ним метанолом) з продуктів дитячого харчування, пластівців і пшениці. Межа виявлення із застосуванням моноклональних антитіл становила 25–26 мкг/мл [114].

Отримання антитіл є складним та вартісним процесом, а біологічні молекули не є стабільними за умов їх зберігання, як у вільному, так і в іммобілізованому стані. Одним із варіантів вирішення проблеми є використання штучних рецепторів, здатних до селективного утворення супрамолекулярних комплексів з різноманітними органічними молекулами та біомолекулами в розчинах [115]. В якості таких рецепторів слугували тетраалкілкіалікс[4]резорциноларени – макроциклічні сполуки чащоподібної будови, здатні включати в молекулярну порожнину і міцно утримувати за рахунок різноманітних не ковалентних взаємодій комплементарні за розміром та архітектурою молекули-гості [116]. Було показано можливість детектування патуліну, зеараленону та Т-2 токсину з межею виявлення 0,1 нг/мл; 0,2 нг/мл і 1,2 нг/мл, відповідно. Процедура тестування становила 10–15 хв, що є вигідно для проведення окремих аналізів [117].

Надчутливе визначення Т-2 токсину з використанням π -спряжених СМППів з наночастинками (nanopatterns) мікотоксину здійснили на поверхні ППР-сенсора із сайтами 3-аміноphenylboronic acid (3-APBA) з Т-2 токсином Gupta et al. [118]. Поєднання ефекту плазмонного резонансу з електрохімією дозволило визначити Т-2 токсин з межею виявлення 0,1 пкг/мл (pg/mL). Отримані константи рівноваги (12.7 fM) показали високу афінність Т-2 з Т-2 СМПП. Розроблена методика рекомендована американською військовою комісією для визначення Т-2 токсину у питній воді для військово-польових умов.

Використовуючи прилад Віасоге, домінуючий на сьогоднішній день засіб реєстрації поверхневого плазмонного резонансу (ППР) за кордоном, Урусов з співавт. [119] за допомогою декстранового чіпу, показав можливість визначення охратоксину А з межею виявлення 0,4 нг/мл і тривалістю виявлення аналізу 15 хв.

Для одночасного виявлення деоксиніваленолу та зеараленону Dorokhin et al. [120] розвивали конкурентний метод мультикомплексного мікроіммунологічного обстеження виконуючи ППР у форматі відображення (imaging) (iSPR). Мікрівипробування, проведені на карбоксильованій поверхні чіпа сенсора (Viasog 3000) та вимірювання, забезпечені IBIS iSPR, показали межу виявлення 21 і 17 нг/мл для ДОН і 16 і 10 нг/мл для ЗЕН, в екстрактах, які відповідають 84 і 68 мкг/кг для ДОН і 64 і 40 мкг/кг для ЗЕН в кукурудзі і зразках пшениці, відповідно. Автори досліджень вважають, що платформа чіпа мікроматриці iSPR є перспективною для розвитку швидкого мультикомплексного методу перевірки для 40 різних мікотоксинів.

Наступні дослідження, проведені Ying Wang et al. [121] дозволяють проводити одночасне виявлення 6 різних мікотоксинів, а саме, афлатоксину В1, афлатоксину М1, деоксиніваленолу, охратоксину А, Т-2 токсину і зеараленону за допомогою агарозного 12 канального імуночипу. Межа виявлення становила 0,04; 0,45; 20,20; 35,70; 0,11; 0,08 нг/мл, відповідно.

Нові тенденції у розвитку ППР-аналізу висвітлює один з його основоположників Джі Номола, пропонуючи використовувати досягнення сучасної молекулярної біології, а саме нуклеїнові кислоти (Nucleic acids, NAs), як чутливий елемент біосенсора [122].

Надсучасна, багатообіцяюча технологія мікроматриць (microarray) є привабливою альтернативою раніше розробленим методам визначення мікотоксинів. В літературному огляді Zhang et al. [123] обговорюється коло питань, яке включає стратегії отримання, методи детекції і застосування технології мікроматриць до чотирьох класів хімічних забруднювачів їжі, а саме, мікотоксинів, біотоксинів, залишків пестицидів та фармацевтичних залишків. На їхню думку, висока пропускна здатність, висока густина і чутливість, збільшена відтворюваність та малий об'єм проби зменшують аналітичний час та складність автоматизації. Однак, на сьогоднішній день практично здійснена невелика кількість досліджень з використанням мікроматриць для ідентифікації хімічних забруднювачів. Хоча біочіп мікроматриці повністю комерціалізований, система, в

цілому, потребує мініатюризації, а методика визначення — спрощення.

В перспективі, об'єднання технології мікро-матриць з просунутими аналітичними технологіями може посилити контроль і стати важливим кроком у створенні дієвої системи контролю безпеки кормів і харчових продуктів.

Висновки

До цього часу ми достовірно не знаємо, якими способами детоксифікувати зернові культури та отримані з них продукти, забруднені мікотоксинами, щоб зберегти їхні їстівні властивості. Тому наша безпека полягає у нашій здатності виявити, визначити та уникнути їх.

Для впровадження в практику, обговорених в огляді швидких методів визначення мікотоксинів, необхідно вирішити кілька важливих проблем. Одна з них — отримання однорідної проби, друга пов'язана з складним комплексом протеїнів, полісахаридів і ліпідів, третя — сукупністю мікотоксинів. Присутність широкого діапазону органічних сполук з низькою молекулярною вагою вимагає специфічної екстракції та концентрації зразків. Унікальні проблеми постають, коли використовують молекулярні методи, які охоплюють екстракцію та ампліфікацію ДНК, гібридизацію та секвенування ДНК. У світлі розвитку доказів сукупної або синергічної взаємодії мікотоксинів, токсичності “мікотоксинів у масці” зростає потреба в розробці методів тестування на “множину” мікотоксинів, що дозволить ефективніше оцінити якість кормів та продуктів споживання, їх потенційний ризик.

Ще одна проблема полягає в тому, що і нині продовжують використовувати рутинні методи детекції мікотоксинів. Не зважаючи на модифікацію ці методи лишаються “повільними”. Зростаючий інтерес дослідників до молекулярних методів та біосенсорів, їх автоматизація та мініатюризація дають поштовх у розвитку швидких, чутливих, легких в користуванні, дешевих скринінгових тестів для рентабельного контролю забруднення харчової і кормової продукції.

Література

1. А. В. Иванов, М. Я. Трemasов, К. Х. Папуниди. О причинах массовых микотоксикозов животных // Иммунопат., аллергол., инфектол., 1, сс. 192-193 (2010).
2. M. Rai, A. Varma. Mycotoxins in Food, Feed and Bioweapons. Springer-Verland Berlin Heidelberg, 406 s. (2010).
3. Y. Li, Z. Wang, R. C. Beier et al. T-2 toxin, a trichothecene mycotoxin: review of toxicity, metabolism, and analytical methods // J. Agric. Food Chem., 59(8), pp. 3441-3453 (2011).
4. E. Tirziu, I. Nichita, D. Mot et al. Anatomopathological changes induced by mycotoxins // Animal Science and Biotechnol., 44(2), pp. 183-187 (2011).
5. W. L. Bryden. Mycotoxin contamination of the feed supply chain: implication for animal productivity and feed security // Anim. Feed Sci. Technol., 173, pp. 134-158 (2012).
6. Q. Wu, V. Dohnal, L. Huang et al. Metabolic pathways of trichothecenes // Drug Metab. Rev., 42, pp. 250-267 (2010).
7. Г. Д. Соколова. Молекулярная генетика биосинтеза трихотеценовых микотоксинов // Миколог. и фитопатолог., 45(2), сс. 105-118 (2011).
8. Г. П. Кононенко, А. А. Буркин Совершенствование методологии оценки токсинообразования у микроскопических грибов // Иммунопатол., аллергол., инфектол., 1., сс. 195-196 (2010).
9. А. А. Стахеев, Д. Ю. Рязанцев, С. К. Завриев. Выявление новых генетических маркеров для таксономической характеристики и идентификации грибов рода *Fusarium* // Биоорган. Хим., 37(5), сс. 662-671 (2011).
10. M. I. Dinolfo, S. A. Stenglein, M. V. Moreno et al. ISSR markers detect high genetic variation among *Fusarium poae* isolates from Argentina and England // European J. of Plant Pathol., 127, pp. 483-491(2010).
11. S. E. Arici. Screening of wheat varieties for their susceptibility against *Fusarium*

- crown rot // *J. of Food, Agriculture, Environment.*, 10(3-4), pp. 404-408 (2012).
12. M. S. Saharan, A. Naef, J. Kumar, R. Tiwari. Characterization of variability among isolates of *F. graminearum* associated with head scab of wheat using DNA markers // *Current Science.*, 92, pp. 230-235 (2007).
 13. A. A. Stakheev, D. Yu. Rysantsev, T. Yu. Gagkaeva, S. K. Zavriev. PCR detection of *Fusarium* fungi with similar profiles of the produced mycotoxin // *Food Control.*, 22, pp. 462-468 (2011).
 14. K. Kulik. Detection of *Fusarium* from cereal grain using PCR assay // *Applied Genetics.*, 49(3), pp. 305-311 (2008).
 15. Д. Р. Кутлубердина, Р. М. Хайруллин. Токсическое влияние фильтрата культуральной жидкости грибов рода *Fusarium* на семена пшеницы // *Иммунопат., аллергол., инфектол.*, 1, сс. 198-199 (2010).
 16. M. Königs, D. Mulac, G. Schwerdt et al. Metabolism and cytotoxic effects of T-2 toxin and its metabolites on human cells in primary culture. // *Toxicol.*, 258, pp. 106-115 (2009).
 17. Q. Wu, L. Huang, Z. Liu et al. A comparison of hepatic in vitro metabolism of T-2 toxin in rats, pigs, chickens, and carp // *Xenobiot.*, 41(10), pp. 863-73 (2011).
 18. Л. П. Минаева, А. М. Григорьев, С. А. Шевелева. Исследование зараженности различных видов зерна плесневыми грибами // *Иммунопат., аллергол., инфектол.*, 1, сс. 202-207 (2010).
 19. О. В. Труфанов. Мониторинг загрязненности микотоксинами зерна и кормов в Украине в 2005-2010 гг. // *Соврем. пробл. токсикол.*, 1-2, сс. 35-39 (2011).
 20. M. Zaki, S. A. El-Midany, H. M. Shaheen et al. Mycotoxins in animals: occurrence, effects, prevention and management // *J. of Toxicol. and Environment. Health. Sciences*, 4(1), pp. 13-28 (2012).
 21. Ю. П. Байбакова, И. Т. Хусаинов. Санитарное значение заспоренности кормов грибами // *Иммунопат., аллергол. Инфектол.*, 1, с. 183 (2010).
 22. А. М. Зайченко, Е. В. Андриенко, У. С. Цыганенко. Макроциклические трихотеценовые микотоксины: токсичность для теплокровных // *Соврем. пробл. токсикол.*, 4, сс. 32-37 (2008).
 23. Л. Н. Фетисов, Н. Н. Солдатенко, В. А. Русанов и др. Определение минимальнодопустимого уровня стеригматоцистина в кормах для поросят // *Каталог инновационных разработок ГНУ СКЗ НИВИ Россельхозакадемии*, г. Новочеркасск., сс. 23-24 (2011).
 24. Yang Liu. Effects of feed types on OTA disappearance in goat rumen fluid // *Australian J. of Animal Sciences.*, 24(2), pp. 1150-1158 (2011).
 25. S. D. Upadhaya, M. A. Park, K. Jong. На Mycotoxins and their biotransformation in the rumen (review) // *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 23(9), pp. 1250-1260 (2010).
 26. В. В. Рухляда, В. І. Головаха, А. В. Андрійчук та ін. Вплив фузаріотоксинів на гематологічний статус корів зі зниженим вмістом жиру в молоці // *Ветеринарна медицина України.*, 12(190), сс. 31-33 (2011).
 27. А. М. Зайченко, Е. В. Андриенко, У. С. Цыганенко. Влияние элементов минерального питания на биосинтез макроциклических трихотеценов у *Dendrodochium toxicum* // *Иммунопат., аллергол., инфектол.*, 1., С. 214 (2010).
 28. А. Ерсали, К. М. Григорян. Контаминированность кормов и молока Афлатоксином М1, в районе Шираз, республики Иран // *Иммунопат., аллергол., инфектол.*, 1, с. 215 (2010).
 29. К. И. Эллер, И. Б. Седова, Л. П. Захарова, И. В. Аксенов. Оценка загрязнения микотоксинами зерна урожая 2006-2008 годов // *Иммунопат., аллергол., инфектол.*, 1., сс. 213-214 (2010).
 30. E. Verbrugghe, V. Vandenbroucke, Dhaenens M. T-2 toxin induced *Salmonella Typhimurium* intoxication

- results in decreased *Salmonella* numbers in the cecum contents of pigs, despite marked effects on *Salmonella*-host cell interactions // *Vet. Res.*, 43(1), pp. 22-32 (2012).
31. J. Seeboth, R. Solinhac, I. P. Oswald et al. The fungal T-2 toxin alters the activation of primary macrophages induced by TLR-agonists resulting in a decrease of the inflammatory response in the pig // *Veterinary Research.*, 43., pp. 35-45 (2012).
32. P. Pinton, G. P. Laurence, K. C. Martine et al. The Effect on the Intestine of Some Fungal Toxins: The Trichothecenes // *Current Immunology Review.*, 8(3), pp. 193-208 (2012).
33. J. Boonen, S. V. Malysheva, L. Taivernier et al. Human skin penetration of selected model mycotoxins // *Toxicol.*, 301(1-3), pp. 21-32 (2012).
34. Yun-fen Yao, Peng-de Kang, Xingbo Li et al. Study on the effect of T-2 toxin combined with low nutrition diet on rat epiphyseal plate growth and development // *Int. Orthop.*, 34(8), pp. 1351-1356 (2010).
35. J. He, T. Zhou, J. C. Young et al. Chemical and biological transformations for detoxification of trichothecene mycotoxins in human and animal food chains: A review // *Trends in Food Sci. Technol.*, 21, pp. 67-76 (2010).
36. F. Forget-Richard, I. Oswald. Mycotoxines: quelles avancees scientifiques pour une meilleure maitrise des risques ? // *Innovations Agronomiques*, 24, pp. 17-33 (2012).
37. Е .Л. Матвеева, В. И. Степанов. Органотропная оценка сочетанного воздействия Т-2 и афлатоксина В1 // *Иммунопат., алергол., инфектол.*, 1, с. 201 (2010).
38. M. De Boevre, J. D. Di Mavungu, S. Landschoot et.al. Natural occurrence of mycotoxins and their masked forms in food and feed products // *World Mycotoxin J.*, 5(3), pp. 207-219 (2012).
39. Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of T-2 and HT-2 toxin in food and feed // *EFSA Journal.*, 9(12), p. 2481 (2011).
40. E. Streit, G. Schatzmayr, P. Tassis et.al. Current situation of contamination and Co-occurrence in animal feed-focus on Europe // *Toxins.*, 2, pp. 788-809 (2012).
41. А. О. Берестецкий. Фитотоксины грибов: от фундаментальных исследований — к практическому использованию (Обзор) // *Приклад. биохим. и микробиол.*, 44(5), сс. 501-514 (2008).
42. В. В. Мосолов, Т. А. Валуева. Участие протеолитических ферментов во взаимодействии растений с фитопатогенными микроорганизмами (Обзор) // *Биохимия.*, 71(8), сс. 1034-1042 (2006).
43. Е. Г. Конюхов. Ветеринарно-санитарная и биологическая оценка мяса овец, леченных иммуноглобулином и бентонитом при комбинированном поражении Т-2 токсином и радиацией // *Иммунопат., алергол., инфектол.*, 1, с. 197 (2010).
44. Х. Ф. Мамедов. Радиолитическое разложение ниваленола в семенах тыквы // *Уч. Зап. Таврич. Национ. Ун-та. Серия «Биология, химия».*, 25(4), сс. 289-293 (2012).
45. В. Kabak, A. Dobson, I. Var. Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: a review // *Food Sci.*, 46(8), pp. 593-619 (2006).
46. В. Антипов, В. Васильев. Система мероприятий по профилактике микотоксикозов животных и птиц // *Ветеринария с/х. Животных*, 9, с. 1821 (2009).
47. R. J. Wang, S. X. Fui, C. H. Miao et al. Effects of different mycotoxin adsorbents on performance, meat characteristics and blood profiles of avian broilers-fed mold contaminated corn. // *Asian-Aust. J. Anim.Sci.*, 19, pp. 72-79 (2006).
48. I. S. Nam, P. S. Garnsworthy, J. H. Ahn. Effects of freeze dried citrus peel on feed preservation, aflatoxin contamination and in vitro ruminal fermentation. // *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 22, pp. 674-680 (2009).

49. M. Devreese, A. Osselaere, J. Goossens et al. Interaction between tylosin and bentonite clay from a pharmacokinetic perspective // *Vet J.*, 194(3), pp. 437-439 (2012).
50. М. Є. Григоренко. Сорбувальна активність препаратів та кормових добавок, що використовуються для профілактики мікотоксикозів // *Ветеринарна медицина України.*, 3, сс. 30-33 (2011).
51. М. В. Богач, О. П. Решетніченко, Л. П. Орлов та ін. Інактивація токсичності кормів при вирощуванні курчат // *Ветерин. медиц. Укр.*, 4(194), сс.18-20 (2012).
52. F. Glavno, A. Piva, A. Ritieni et al. Dietary strategies to counteract the effects of mycotoxin (review) // *J. Food Prot.*, 64, pp.120-131 (2001).
53. H. Stefan, D. Hartingerb, M. Thamhesl et al. Degradation of fumonisin B1 by the consecutive action of two bacterial enzymes // *Biotechnol.*, 145, pp.12-129 (2010).
54. О. А. Могильная, А. П. Пузырь, В. С. Бондарь. Рост и биолюминесценция светящихся бактерий под воздействием афлатоксина В1 до и после его обработки наноалмазами // *Приклад. биохим. и микробиол.*, 46(1), сс. 40-44 (2010).
55. А. Р. Валиев, Э. И. Семенов, М. Я. Тремасов. Влияние тималина на показатели иммунитета при Т-2 токсикозе // *Иммунопат., аллергол., инфектол.*, 1, pp. 187-188 (2010).
56. T. Stein. Bacillus subtilis antibiotics: structures, synthesis and specific functions // *Molecul. Microbiol.*, 56(4), pp. 845-857 (2005).
57. О. В. Труфанов. Профілактична дія Bacillus subtilis при Т-2 та НТ-2 токсикозах курчат // *Соврем. пробл. токсикол.*, 4, сс. 31-34 (2007).
58. Е. Н. Иванов, Л. Е. Матросова, И. М. Еремеев и др. Использование биопрепаратов для обезвреживания кормов от микотоксинов // *Иммунопат., аллергол., инфектол.*, 1, с. 193 (2010).
59. M. Busman, S. M. Poling, C. M. Maragos. Observation of T-2 Toxin and HT-2 Toxin Glucosides from Fusarium sporotrichioides by Liquid Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) // *Toxins (Basel)*, 3(12), pp. 1554–1568 (2011).
60. Y. Li, Z. Wang, W. Shi et al. Determination of deoxynivalenol in cereals by immunoaffinity clean-up and ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry // *Methods Chromat.*, 56(2), pp. 192-197 (2012).
61. N. E. Ediage, D. J. Di Mavungu, S. Song et al. An LC-MS/MS method for multi-detection of mycotoxin biomarkers in human urine // *Analyt. Chim. Act.*, 741, pp. 58-69 (2012).
62. И. Б. Седова, Л. П. Захарова, В. В. Пименова и др. Применение иммунохимических и хроматографических методов для мониторинга загрязнения зерновых трихотеценовыми микотоксинами группы А // *Вопр. пит.*, 78(6), сс.21-25 (2009).
63. Y. Li, Y. Zhang, W. Shi et al. Determination of T-2 toxin in milk: a comparison of three formats of immunoassays // *Analytical. Letters.*, 45, pp. 2425-2435 (2012).
64. P. Li, Q. Zhang, W. Zhang. Immunoassays for aflatoxins // *Analyt. Chem.*, 28(9), pp. 1115-1126 (2009).
65. I. Basin, N. Andreotti, A. Hassine et al. Peptide binding to ochratoxin A mycotoxin: a new approach in conception of biosensors // *Biosens. and Bioelectron.*, 40(1), pp. 240–246 (2013).
66. I. Goryacheva, S. De Saeger. Immunochemical detection of masked mycotoxins (a short review) // *J. World Mycotox.*, 5(3), pp. 281-287 (2012).
67. Saeger De Sarah, Hans P. van Edmond Special issue: masked mycotoxins // *J. World Mycotox.*, 5(3), pp. 203-206 (2012).
68. Y. M. Kim, S. W. Oh, S. Y. Jeong et al. Development of an ultrarapid one-step fluorescence immunochromatographic assay system for the quantification of

- microcystins // *Environ. Sci. Technol.*, 37, pp.2899-2904 (2003).
69. L. Anfossi, C. Baggiani, C. Giovannoli et al. Lateral-flow immunoassays for mycotoxins and phycotoxins: a review // *Anal. Bioanal. Chem.*, 405(2-3), pp. 468-480 (2013).
70. L. Anfossi, C. Baggiani, C. Giovannoli et al. Optimization of a lateral flow immunoassay for the ultrasensitive detection of aflatoxin M1 in milk // *Analyt. Chim. Act.*, 763, pp. 75-81 (2013).
71. C. F. Sally, C. Purnendu, N. Vasavada et al. Rapid detection of Mycotoxigenic molds and mycotoxins in fruit juice // *ARI The Bulletin of the Technical Univ-er.*, 54(4), pp. 29-38 (2010).
72. T. B. Whitaker. Standartisation of mycotoxin sampling procedures: an urgent necessity // *Food control.*, 14, pp. 233-237 (2003).
73. K. Karlshoj, P. V. Nielsen, T. O. Larsen. Differentiation of closely related fungi by electronic nose analysis // *J. Food Sci.*, 72, pp. 287-292 (2007a).
74. K. Karlshoj, P. V. Nielsen, T. O. Larsen. Prediction of *Penicillium expansum* spoilage and patulin concentration in apples used for apple juice production by electronic nose analysis // *J. Agric. Food Chem.*, 55, pp. 4289-4298 (2007b).
75. Q. M. Afroz, K. Swaminathan, P. Karthikeyan et al. Application on nanotechnology in food and dairy processing: an overview // *Pak. J. Food Sci.*, 22(1), pp. 23-31 (2012).
76. B. Eggins. *Himicheskie i biologicheskie sensory. Tehnosfera*, М. 336 s. (2005).
77. И. А. Белых, А. М. Грек, А. В. Сакур и др. Аналиты в биосенсорах // *Біофізич. Вісн.*, 25(2), сс. 144-158 (2010).
78. А. М. Кацев, О. А. Гойстер, Н. Ф. Стародуб. Изучение влияния микотоксина Т-2 на интенсивность биолюминесценции светящихся бактерий // *Укр.біохім.журн.*, 75(3), сс. 99-103 (2003).
79. И. Е. Цыбульский, М. А. Сазыкина. Новые биосенсоры для мониторинга токсичности среды на основе морских люминесцентных бактерий // *Приклад. биохим. и микробиол.*, 46(5), сс. 552-557 (2010).
80. В. А. Кратасюк, О. И. Егорова, Е. Н. Есимбекова и др. Люциферазный биотест для определения степени поражения фузариозом зерна пшеницы // *Там же.*, 34(6), сс. 688-691 (1998).
81. О. С. Гойстер, Н. Ф. Стародуб, Г. О. Хмельницкий. Оценка токсичности Т-2 микотоксина для *Daphnia magna* Straus методом возбужденной хемилюминесценции // *Гидробиол.журн.*, 5, сс. 85-91 (2003).
82. A. L. Valimaa, T. Kivistö, I. Piia, et al. A novel biosensor for the detection of zearalenone family mycotoxins in milk // *J. Microbiolog. Methods.*, 80(1), pp. 44-48 (2010).
83. S. Sarter, N. Zakhia. Chemiluminescent and bioluminescent assays as innovative prospects for mycotoxin determination in food and feed // *Luminesc.*, 19(6), pp. 345-51(2004).
84. О. О. Солдаткін, О. С. Бурдак та ін. Розробка кондуктометричного біосенсора на основі ацетилхолінестерази для визначення афлатоксинів // *Міжнар. Конф. СЕМСТ-5, Україна, Одеса, 4-8 червня*, pp. 203 (2012).
85. Э. П. Медянцева, Х. Май Тхи Тхань, Р. М. Варламова. Определение некоторых микотоксинов амперометрическими холинэстеразными биосенсорами // *Учен.зап. Казан. Ун-та Сер. Естеств. Науки.*, 154(1), pp. 101-111 (2012).
86. N. Paniel, A. Radoi, J. L. Marty. Development of an electrochemical biosensor for the detection of aflatoxin M1 in milk // *Sensor*, 10, pp. 9439-9448 (2010).
87. E. Dinckaya, O. Kinik, M. K. Sezginurk et al. Development of an impedimetric aflatoxin M1 biosensor based on a DNA probe and gold nanoparticles // *Biosens. Bioelectron.*, 26, pp. 3806-3811 (2011).
88. N. H. S. Ammida, L. Micheli, S. Piermarini et al. Detection of aflatoxin B1 in barley: comparative study of immu-

- nosensor and HPLC // *Analyt. Lett.*, 39, pp. 1559-1572 (2006).
89. Y. Tan, X. Chu, G. L. Chen et al. A signal-amplified electrochemical immunosensor for aflatoxin B1 determination in rice // *Analyt. Biochem.*, 397, pp. 82-86 (2009).
90. A. E. Radi, X. Munos-Berbel, M. Cortina-Puing et al. An electrochemical immunosensor for ochratoxin A based on immobilisation of antibodies on diazonium-functionalised gold electrode // *Electrochim. Acta.*, 54, pp. 2180-2184 (2009).
91. S. Piermarini, G. Volve, F. Ricci et al. Electrochemical methods for aflatoxin B1 and type A trichothecenes: a preliminary study. // *Anal. Lett.*, 40(7), pp. 1333-1346 (2007).
92. A. C. Mak, S. J. Osterfeld, H. Yu et al. Sensitive giant magnetoresistive-based immunoassay for multiple mycotoxin detection // *Biosens. Bioelectron.*, 25, pp. 1635-1639 (2010).
93. J. C. Vidal, L. Bonel, P. Duato et al. An electrochemical competitive biosensor for ochratoxin A based on a DNA biotinylated aptamer // *Biosens. Bioelectron.*, 26(7), pp. 3254-3259 (2011).
94. J. C. Yu, A. Hrdina, C. Mancini et al. Molecularly imprinted polypyrrole encapsulated carbon nanotubes in stainless steel frit for micro solid phase extraction of estrogenic compounds // *J. Nanotechnol.*, 7, pp. 3095-3203 (2007).
95. R. Gaazala-Kopciuch, K. Cendrowski, A. Cesarz et al. Determination of zearalenone and its metabolites in edometrial cancer by coupled separation techniques // *Anal. Bioanal. Chem.*, 401(7), pp. 2069-2078 (2011).
96. T. Mausia, D. De Smet, G. Qu et al. Molecularly imprinted polymers as specific adsorbents for zearalenone produced by precipitation polymerization and applied to mycotoxin production // *Analytical Letters*, 44(16), pp. 2633-2643 (2011).
97. Т. А. Сергеева, О. В. Пілецька, Л. А. Гончарова та ін. Сенсорна система на основі молекулярно-імпринтованих мембран для селективного визначення Афлатоксину В1 // *Укр. Біохім. Журн.*, 80(3), сс. 84-93 (2008).
98. D. De Smet, S. Monbaliu, P. Dubruel, et al. Synthesis and application of a T-2 toxin imprinted polymer // *J. Chromatography A*, 1217, pp. 2879-2886 (2010).
99. D. De Smet, P. Dubruel, C. Van Peteghem et al. Development of a molecularly imprinted polymer for patulin in apple juice // *World Mycotoxin J.*, 4(4), pp. 375-383 (2011).
100. D. De Smet, P. Dubruel, C. Van Peteghem et al. Molecularly imprinted solid-phase extraction of fumonisin B analogues in bell pepper, rice and corn flakes. *Food Additives and Contaminants Part a-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment // World Mycotoxin J.*, 26(6), pp. 874-884 (2009).
101. X. Jin, L. Chen, J. Jiang et al. Piezoelectric immunosensor with gold nanoparticles enhanced competitive immunoreaction technique for quantification of aflatoxin B1 // *Biosens. Bioelectron.*, 24(8), pp. 2580-2585 (2009).
102. A. V. Nabok, A. Tsargorodskaya, A. Holloway et al. Registration of T-2 mycotoxin with total internal reflection ellipsometry and QCM impedance method // *Biosens. Bioelectron.*, 22(6), pp. 885-890 (2007).
103. Н. В. Белоглазова, С. А. Еремін. Определение Афлатоксина В1 в пиве методом поляризационного флуоресцентного иммуноанализа // *Иммунопат., алергол., инфектол.*, 1, 183-184 (2010).
104. Chris Maragos. Fluorescence polarization immunoassay of mycotoxins: (review) // *Toxins (Basel)*, 1(2), pp. 196-207 (2009).
105. V. Lippolis, M. Pascale, S. Valenzano et al. A rapid fluorescence polarization immunoassay for the determination of T-2 and HT-2 toxins in wheat //

- Bioanal. Chem., 401(8), pp. 2561-71 (2011).
106. P. Nicholson, N. Magan, M. Olsen. Mycotoxins in food-detection and control // Woodhead Publishing Limited, England., pp. 111-136 (2004).
107. M. V. Selma, P. Martinez-Culebras, R. Aznar. Real-time PCR based procedures for detection and quantification of *Aspergillus carbonarius* in wine grapes // J. Food Microbiol., 222, pp. 226-234 (2008).
108. А. А. Стахеев, С. К. Завриев, Д. Ю. Рязанцев. Эффективные методы детекции и идентификации токсигенных грибов рода *Fusarium*, основанные на ПЦР в реальном времени // Семинар по проекту ЕС MucRed "Пути снижения контаминации микотоксинами сельскохозяйственной продукции в России и ЕС: современные исследования и практические разработки», Москва. - 9-10 июня 2011г.
109. L. Nissen. PCR-based diagnosis and quantification of mycotoxin producing fungi // J. Food Microbiol., 229, pp. 38-46 (2007).
110. J. Mitchell. Small molecule immunosensing using surface plasmon resonance. A review // Sensors., 10(8), pp. 7323-7346 (2010).
111. Н. Ф. Стародуб, В. М. Стародуб. Ориентированная иммобилизация узнающих элементов биосенсорных датчиков // Укр. Биохим. Журн., 75(2), pp. 14-24 (2003).
112. О. С. Гойстер, Г. О. Хмельницький, С. В. Дзядевич та ін. Дослідження впливу модифікації чутливої поверхні імуносенсора з ефектом ППР на визначення Т-2 мікотоксину з використанням полі- та моноклональних антитіл // Біотехнол, 2(2), pp. 111-117 (2009).
113. N. F. Starodub, N. F. Slishek, I. V. Pylypenko et al. Novel Immune Biosensors Based on the Structured Nano-Porous Silicon for Control of Mycotoxins in Environmental Objects // Nanotech., 3, pp. 311-314 (2012).
114. J. P. Meneely, M. Sulyok, S. Baumgartner et al. A rapid optical immunoassay for the screening of T-2 and HT-2 toxin in cereals and maize-based baby food // Talanta., 81(1-2), pp. 630-636 (2010).
115. S. B. Nimse, T. Kim. Biological applications of functionalized calixarenes // Chem. Soc. Rev., 42, pp. 366-386 (2013).
116. О. М. Шиванюк. Функціональні калікс[4]арени та калікс[4]резорциноларени в самоорганізації та молекулярному розпізнаванні. Дисетація д-ра хім.наук., 6 20.10.05., К., 312с. (2005).
117. О. С. Гойстер, Р. В. Родік, В. І. Кальченко та ін. Вивчення взаємодії мікотоксинів з тетраалкіл-калікс[4]резорциноларени методом поверхневого плазмонного резонансу // Соврем. пробл. токсикол., 1, сс. 61-67 (2009).
118. G. Gupta, A. S. Bhaskar, B. K. Tripathi et al. Supersensitive detection of T-2 toxin by the in situ synthesized π -conjugated molecularly imprinted nanopatterns // Biosens. and Bioelectron., 26(5), pp. 2534-2540 (2011).
119. А. Е. Урусов, С. Н. Костенко, А. В. Жердев, Б. Б. Дзантиев. Экспресс-метод определения Охратоксина А с использованием оптического сенсора Biacore // Иммунопат., аллергол., инфектол., 1, сс. 211-212 (2010).
120. D. Dorokhin, W. Haasnoot, M. C. R. Franssen et al. Imaging surface plasmon resonance for multiplex microassay sensing of mycotoxins // Anal. Bioanal. Chem., 400(9), pp. 3005-3011 (2011).
121. Ying Wang, Nan Liu, Baoan Ning et al. Simultaneous and rapid detection of six different mycotoxins using an immunochip // Biosens Bioelectron., 34(1), pp. 44-50 (2012).
122. Hana Šířpová, Jiří Homola Surface plasmon resonance sensing of nucleis

- acids (review) // *Analytica Chimica Acta*, 761, P. 214-220 (2013).
123. Z. Zhang, P. Li, X. Hu et al. Microarray technology for major chemical contaminants analysis in food: current status and prospects. A review // *Sensors*, 12, pp. 9234-9252 (2012).