Поможет Mycosensor

Определение микотоксинов в зерне и кормах при помощи тест-полосок

Ноан НИВАРЛЕ
Седрик ПЕТИ ДЕ ТОЗЕ
Мадина АСПАНДИЯРОВА
Дмитрий ДЕМИДОВ
Бенуа ГРАНЬЕ
UNISENSOR s.a., Научный парк Льежа

Фумонизины (FUMs), афлатоксины (AFLs), зеараленон (ZEA), Т-2/НТ-2, дезоксиниваленол (DON) и охратоксины (OTA) — это микотоксины, продуцируемые грибами в период вегетации злаковых культур, а также при хранении зерна в условиях повышенных температуры и влажности. Эти вещества могут загрязнять различное сырье, включая кукурузу, пшеницу, овес, ячмень, а также продукты питания и корма для животных.

При попадании в организм микотоксины оказывают отрицательное воздействие на здоровье человека и животных. В странах Евросоюза содержание микотоксинов как в производимой, так и в импортируемой продукции контролируется на законодательном уровне (ЕС № 1881/2006). Для быстрого, недорогого экономичного и точного количественного определения микотоксинов в зерне и кормах компания Unisensor предлагает специальную линейку тестов Mycosensor **(табл. 1)**.

Таблица 1

Спецификация тестов

Код	Название	Аналиты	Диапазон	Расширенный диапазон**
KIT065	Donsensor Quanti	DON	200–3000 мкг/кг	200–15000 мкг/кг
KIT074	Fumosensor Quanti	FUMs	200–10000 мкг/кг	200–100000 мкг/кг
KIT062	Aflasensor Quanti	AFLs	2–60 мкг/кг	2–500 мкг/кг
Kit080	T-2Sensor Quanti	T-2/HT-2	20–400 мкг/кг	20–4000 мкг/кг
KIT071	2-Mycosensor Quanti	DON ZON	DON: 200–3000 мкг/кг ZON: 50–750 мкг/кг	DON: 200–15000 мкг/кг ZON: 50–7500 мкг/кг
KIT056	4-Mycosensor*	ZON T-2/HT-2 DON FUMs	ZON: 280/80 мкг/кг T-2/HT-2: 200 мкг/кг DON: 1400 мкг/кг FUMs: 3200 мкг/кг	—
KIT064	Ochrasensor Quanti	OTA	2–20 мкг/кг	20–200 мкг/кг

** Полуколичественное определение.*
*** Расширенный диапазон количественного определения при дополнительном разбавлении.*

Технология Quanti с использованием тест-полосок

Тест-полоски Mycosensor — это Lateral Flow-система на основе непрямой конкурентной реакции меченого антитела со свободным и иммобилизованным антигеном **(табл. 2)**.

Таблица 2

Тест-полоска Mycosensor

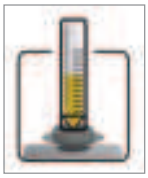
Зона абсорбции	При наличии микотоксинов в образце меченые золотом антитела связываются с ними в растворе и теряют способность распознавать иммобилизованный антиген на индикаторной линии. Таким образом, интенсивность окраски индикаторной линии снижается пропорционально уровню микотоксинов в образце.
Нитроцеллюлозная мембрана	Контрольная линия на каждой полоске нужна для валидации анализа и расчета соотношения интенсивности окраски индикаторной и контрольной линий.
Зона фильтрации	На основе данного соотношения прибор Readsensor строит калибровочную кривую и выдает точную концентрацию микотоксинов в образце (мкг/кг).

Протокол анализа

1. Загрузите в Readsensor программу (бар-код).

2. Взвесьте размолотый репрезентативный образец.

3. Добавьте растворитель-экстрагент.



4. Перемешайте на вортексе две минуты.

5. Разбавьте экстракт буфером Mycobuffer.

6. Смешайте разбавленный экстракт с реагентами.

7. Поместите лунку с тест-полоской в термостат Heatsensor.

8. Вставьте полоску в Readsensor и считайте информацию.

НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

unisensor
Техника анализа

Валидация тестов

А. Внутренняя валидация на стандартных образцах контаминированнных злаков с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматомасс-спектрометрии **(табл. 3, 4, 5, 6)**.

Таблица 3

Точность на образцах пшеницы, контаминированных DON (n = 34)

Donsensor Quanti	Образец 1	Образец 2	Образец 3
Стандартный образец	400 мкг/кг	500 мкг/кг	2100 мкг/кг
Среднее	359 мкг/кг	495 мкг/кг	2126 мкг/кг
Процент восстановления (recovery)	89	99	101
RSD, %	11,1	15,3	7,5

Таблица 4

Точность на образцах кукурузы, контаминированных DON (n = 34)

Donsensor Quanti	Образец 1	Образец 2	Образец 3
Стандартный образец	500 мкг/кг	1900 мкг/кг	2700 мкг/кг
Среднее	639 мкг/кг	1759 мкг/кг	2773 мкг/кг
Процент восстановления (recovery)	128	92	102
RSD, %	12	9,3	8,3

Таблица 5

Точность на образцах кукурузы, контаминированных FUMs (n = 34)

Fumosensor Quanti	Образец 1	Образец 2	Образец 3
Стандартный образец	700 мкг/кг	2200 мкг/кг	4000 мкг/кг
Среднее	699 мкг/кг	2332 мкг/кг	3935 мкг/кг
Процент восстановления (recovery)	100	106	98
RSD, %	14,6	5,6	6,2

Таблица 6

Точность на образцах кукурузы, контаминированных AFLs (n = 34)

Aflasensor Quanti	Образец 1	Образец 2	Образец 3
Стандартный образец	7,3 мкг/кг	14,3 мкг/кг	24,7 мкг/кг
Среднее	7,1 мкг/кг	13,6 мкг/кг	22,8 мкг/кг
Процент восстановления (recovery)	97	95	92
RSD, %	18,3	13,9	9,5

Примечание. Среднее — средний результат по всем измерениям тест-полосками; RSD — относительное стандартное отклонение; n — число повторений измерений.

В. Сравнительные исследования контаминированного зерна и кормов с использованием тест-системы ИФА AgraQuant (Romer Lab) и тест-полосок Unisensor* **(табл. 7, 8)**.

Таблица 7

Точность на контаминированных афлатоксинами кукурузном глютене и комбикорме для птицы (n = 20)

Aflasensor Quanti	Образец 1	Образец 2	Aflasensor Quanti	Образец 1	Образец 2
Кукурузный глютен (тест AgraQuant)	7 мкг/кг	25 мкг/кг	Комбикорм ПК-5	5,2 мкг/кг	14,7 мкг/кг
Среднее	7,2 мкг/кг	21,3 мкг/кг	Среднее	5,5 мкг/кг	14,7 мкг/кг
Процент восстановления (recovery)	102	86	Процент восстановления (recovery)	105	100
RSD, %	27	26	RSD, %	29,9	11,2

Таблица 8

Точность на контаминированных OTA образцах пшеницы и комбикормов для птицы (n = 20)

Ochrasensor Quanti	Образец 1	Образец 2	Ochrasensor Quanti	Образец 1	Образец 2
Пшеница (тест AgraQuant)	14 мкг/кг	37 мкг/кг	Комбикорм для птиц (тест AgraQuant)	5 мкг/кг	27 мкг/кг
Среднее	13,8 мкг/кг	34,8 мкг/кг	Среднее	4,5 мкг/кг	28,7 мкг/кг
Процент восстановления (recovery)	98	94	Процент восстановления (recovery)	90	105
RSD, %	11,9	8,3	RSD, %	17,8	12

**Результаты предоставлены кандидатом сельскохозяйственных наук В. Богомоловым и кандидатом биологических наук. Е. Головней (ФГБУ «Ленинградская МВЛ»).*

Таким образом, наряду с методами высокоэффективной жидкостной хроматомасс-спектрометрии и классическим ИФА тест-полоски Mycosensor Quanti продемонстрировали высокую точность на стандартных образцах и комбикормах. Результаты исследований подтвердили возможность применения тест-полосок в системе технохимического контроля агропромышленных предприятий. ЖР

ООО «АТЛ»
Тел./факс: (495) 981-60-69
Моб. тел.: +7 (967) 144-26-52
E-mail: atlmos.ru@gmail.com
www.atl-ltd.ru