

УДК 543.544.5.068.7:543.05

## РОЗРОБКА ТА ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ Т-2 ТА НТ-2 ТОКСИНІВ У ТКАНИНАХ

*О. Федякова*, аспірант  
olesja\_ver@ukr.net

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок

Відомо, що понад 25 % всіх продовольчих ресурсів забруднені мікотоксинами, або містять плісеневі гриби. Різні види мікроміцетів здатні продукувати понад 400 токсинів, які відрізняються між собою за хімічною будовою, токсичністю і механізмом дії. Використання забруднених кормів і продуктів харчування може супроводжуватись хронічними захворюваннями людини та тварин, і навіть приводити до їх загибелі.

Спільною ознакою всіх мікотоксинів є токсичність відносно еукаріотичних організмів Мікотоксини проявляють канцерогенну, тератогенну, мутагенну, дерматонекротичну та ембріотоксичну дію. Наявність їх в кормах, як правило, приводить до зменшення продуктивності і погіршення імунного стану тварин, спричиняє серйозні економічні втрати в сільському господарстві. В результаті проведених досліджень Інститутом птахівництва НААН встановлено, що корми з різних областей України були забруднені мікроміцетами родів: *Fusarium* (26 %), *Aspergillus* (21,5 %), *Penicillium* (18 %), *Alternaria* (12 %) та ін.

Серед трихотеценів найбільш поширеним та вивченим вважається Т-2 токсин. Відомі його структура, властивості, біотрансформація, механізми впливу. Розробка методів виявлення і кількісного визначення трихотеценів як у культурах грибів, так і в сировині, продуктах харчування є актуальною з точки зору їх потенційної небезпеки для здоров'я людини і тварин. Однак, досі залишається невиясненим питанням наявності залишкових кількостей токсину Т-2 та його метаболіту НТ-2 в органах тварин.

Найбільш поширеними методами визначення трихотеценів в даний час є методики з використанням тонкошарової хроматографії (ТШХ), газової хроматографії (ГХ), мас-спектрометрії (МС), методи імунохімічного аналізу та їх поєднань, однак наявні методики стосуються головним чином кормів.

Тому метою нашої роботи було розробити та валідувати методику придатну для визначення залишкових кількостей Т-2 та НТ-2 в тканинах.

Валідація — експериментальне підтвердження придатності методики для отримання результатів з достатньою точністю та прецизійністю. Окрім цього, валідація дає змогу знизити кількість помилок у майбутньому при використанні методики, оскільки забезпечує розуміння її суті та дотримання головних параметрів; виявити та усунути недоліки методики ще на ранніх стадіях; оптимізувати та виділити робочі параметри; опрацювати або підтвердити рівняння, що використовується для визначення результату, залучати інші випробувальні лабораторії, що посилює впевненість у методиці.

Для валідації хроматографічних методик використовують різні ключові робочі параметри серед них: ідентичність та селективність, рівень чуливості, границя кількісного виявлення, робочий та лінійний діапазон, лінійність, робастність, точність, прецизійність, повторюваність та придатність.

Для характеристики специфічності методики нами було обчислено коефіцієнт розділення, коефіцієнт асиметрії піків та ефективність хроматографічної колонки. За даними показниками методика, є специфічною, оскільки матричні піки не впливають на результати аналізу.

Прецизійність методики оцінюється статистичними показниками. Згідно отриманих результатів відносно стандартне відхилення становить від 1,14 до 28,83 % для Т-2 токсину та від 1,02 до 20,2 % для НТ-2 токсину.

Важливим показником методики є її здатність в діапазоні застосування давати величину сигналу пропорційну концентрації аналізу. Наші дослідження показали лінійність методики у діапазоні 2,5–300 нг/г та 1–100 нг/г відповідно для Т-2 та НТ-2 токсину. Вивчали також точність, придатність та робастність методики.

Розроблена нами методика дозволяє виявляти Т-2 та НТ-2 токсин в крові та органах тварин у концентраціях вище 2,5 і 1 нг/г відповідно. Основними перевагами методики стала чутливість методу, можливість детектування без застосування дериватизації зразків, можливість визначення концентрації Т-2 та НТ-2 токсинів у продуктах тваринного походження.

Проведена валідація підтверджує, що дана методика відповідає вимогам директиви ЄС №657 від 2002 р та вимогам ДФУ за параметрами специфічності, прецизійності, повторюваності, лінійності, точності придатності та робастності.