KRYSTYNA LEMIESZEK-CHODOROWSKA, ANDRZEJ SNYCERSKI

BADANIE WIN GRONOWYCH NA OBECNOŚĆ AFLATOKSYNY B_1

Z Zakładu Badania Żywności i Przedmiotów Użytku
Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie

NOTATKA LABORATORYJNA

Kierownik: prof. dr *M. Nikonorow*

W badanych, metodą chromatografii cienkowarstwowej, próbach wina gronowego produkcji krajowej nie stwierdzono obecności aflatoksyny B_1.

Spotyka się w piśmiennictwie wzmianki [1] o możliwości porażenia owoców winnej latorośli *) grzybem, *Aspergillus flavus*, który w sprzyjających warunkach może wytwarzać toksyczne i rakotwórcze metabolity, aflatoksyny [3, 4, 5, 6].

Równocześnie wiadomo, że niekiedy do produkcji win gronowych w kraju stosuje się odpady importowanych winogron konsumpcyjnych. Uznano więc za celowe przebadanie win gronowych, produkowanych w kraju, na obecność aflatoksyny B_1. Wszystkie przebadane wina (9 prób) były winami gronowymi ziołowymi wyprodukowanymi przez Lubuską Wytwórnię Win w r. 1969.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Stosowano metodę chromatografii cienkowarstwowej, zmodyfikowaną przez *Schuliera* i in. [1] do wykrywania aflatoksyny B_1 w winach.

100 ml wina zagęszczano pod próżnią na łaźni wodnej o temperaturze 50°, do uzyskania około 15 ml pozostałości. Pozostałość w kolbie rozpuszczano w 60 ml wody i przenoszono do rozdzielacza poj. 250 ml. Kolbę popłukiwano kilkakrotnie metanolem (używając ogółem 50 ml). Popłuczyny dołączano do zawartości rozdzielacza, dodawano 10 ml nasyconego roztworu chlorku sodowego i ekstrahowano 3-krotnie, używając kolejno: 50; 25; 25 ml chloroformu. Połączone wyciągi chloroformowe suszono przesączając przez bezwodny siarczan sodowy i odparowywano w strumieniu azotu na łaźni wodnej o temp. 50°, do obj. 1 ml, z którego odpowiednie ilości µl nanoszono na płytkę do chromatografii.

Dla każdej próby wina wykonywano oznaczenia bez dodatku aflatoksyny oraz oznaczenia, w których dodawano wzorzec aflatoksyny B_1 w ilościach odpowiadających 1; 2; 5 i 10 µl/1000 ml wina. Na kolejne tory tej samej płytki do chroma-

*) *Frank* i *Eyrich* [2] powołując się na *Gspahna* sygnalizują obecność w soku winogronowym substancji fluoryzujących o R_f podobnym do aflatoksyny.

tografii nanoszono wzorzec aflatoksyny B_1 w roztworze chloroformowym (zawierający 0,1 μg w 1 ml), w ilości 25 μl oraz taką samą ilość badanego wyciągu a) bez dodatku aflatoksyny B_1; b) fortyfikowanego aflatoksyną na płytce; c) zawierającego aflatoksynę dodaną do próby wina przed zagęszczeniem go.

Wykaz stosowanych odczynników, aparatury i sposób rozwijania chromatogramów podano w jednej z poprzednich prac [8]. Ponieważ wyciągi wina wykazują obecność dużej ilości ciał balastowych, fluoryzujących w ultrafiolecie, wprowadzono za *Schullerem* i in. [1], stosowane również przy badaniach zbóż [9] wstępne rozwijanie chromatogramu w samym chloroformie do wys. 15 cm, a następnie we właściwym rozpuszczalniku (chloroform + metanol: 98 + 2) do wys. 10 cm od linii startu. Dzięki czemu uzyskuje się odsunięcie fluoryzujących balastów w górę chromatogramu, poza obserwowane pasma torów.

Przy wyciągach niektórych win konieczne było kilkakrotne powtarzanie rozwijania chromatogramu w samym chloroformie, przy czym obserwowano znaczne przesunięcie R_f aflatoksyny B_1 w wyciągu wina, w stosunku do R_f czystego roztworu wzorcowego. Dla upewnienia się, czy obserwowana plama, fluoryzująca w UV z zabarwieniem fioletowym jest aflatoksyną B_1, stosowano spryskiwanie równoległego toru (tego samego wyciągu) 20%-owym kwasem siarkowym [8, 9], pod działaniem którego fioletowa fluorescencja aflatoksyny B_1 zmienia się we fluorescencję zielonkawożółtą.

Fluoryzujące plamy substancji balastowych nie wykazują tej zmiany barwy.

W żadnej z badanych prób wina, nie stwierdzono obecności aflatoksyny B_1. W winach, do których dodawano wzorzec tej toksyny w ilościach odpowiadających 1; 2; 5 i 10 μg/1000 ml wykrywano tę substancję w stężeniach 5 i 10 μg/1000 ml. Przy stężeniach poniżej 5 μg/1000 ml nie udało się wykryć aflatoksyny B_1.

Schuller i in. [1] wykrywali ilości wynoszące 1 μg aflatoksyny B_1 w 1000 ml wina.

Mniejsza wykrywalność stosowanej przez nas metody może być powodowana inną grubością ziaren żelu krzemionkowego lub słabszą intensywnością źródła światła pobudzającego fluorescencję.

WNIOSKI

1. Wykrywalność stosowanej metody wynosi 5 μg aflatoksyny B_1 w 1000 ml wina.
2. W przebadanych próbach wina gronowego ziołowego, produkcji krajowej nie stwierdzono wykrywalnych ilości aflatoksyny B_1.

К. Лемешек-Ходоровска, А. Сныцерски

ИССЛЕДОВАНИЕ ВИНОГРАДНЫХ ВИН НА ПРИСУТСТВИЕ АФЛАТОКСИНА B_1

Содержание

В исследованных виноградных винах методом хроматографии в тонком споe не обнаружено предельно допустимых количеств афлатоксина B_1.

Добавляемый к пробам токсин обнаруживано в количествие от 5 г в 1000 мл вина.

Для устранения флуоресцирующих в ультрафиолетовых лучах балластных веществ применено вступительное распределение хроматограмма в самом хлороформе, после в свойственном растворителе (хлороформ + метанол : 98 + 2).

K. Lemieszek-Chodorowska, A. Snycerski

INVESTIGATION OF THE PRESENCE OF AFLATOXIN B_1 IN GRAPE WINES

Summary

No detectable amounts of aflatoxin B_1 were present in grape wines tested by thin layer chromatography. The toxin added to wine samples could be detected in the amounts not thes than 5 μg per 100 cm^3. To remove ballast materials which have UV fluorescence the plates were developed firs in chloroform and subsequently in the proper solvent (chloroform-methanol; 98 : 2).

PIŚMIENNICTWO

1. *Schuller P. L.* i wsp.: Arzneimittel-Forsch., 1967, 17, 888. — 2. *Frank H. K., Eyrich W.*: ZLUF, 1968, 138, 1. — 3. *Weisburger E. K.*: Public Health Rep., 1966, 81, 772. — 4. *Salmon W. D., Newberne P. M.*: Cancer Res., 1963, 23, 571. — 5. *Wogan G. N.*: Bact. Rev., 1966, 30, 460. — 6. *Wogan G. N.*: Fed. Proc., 1968, 27, 932. — 7. *Di Paolo J. R., Elis J., Erwin H.*: Nature, 1967, 215, 638. — 8. *Lemieszek-Chodorowska K.*: Roczniki PZH, 1967, 18, 563. — 9. *Lemieszek-Chodorowska K., Snycerski A.*: Roczniki PZH, 1969, 20, 173.

Dn. 20-V-1971 r.

Warszawa, ul. Chocimska 24.