

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Седова И.Б., Киселева М.Г., Захарова Л.П., Тутельян В.А.

ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКОТОКСИНА СТЕРИГМАТОЦИСТИНА И МЕТОДЫ ЕГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», 109240, Москва

В обзоре, основанном на анализе литературы и данных собственных исследований, дана токсиколого-гигиеническая характеристика стеригматоцистина (СТЦ). Этот микотоксин продуцируют микроскопические грибы видов *Aspergillus*, *Bipolaris*, *Chaetomium*, *Emiricella*, и является природным загрязнителем продовольственного зерна, пищевых продуктов (хлеба, сыров, специй, кофе, БАД к пище) и кормов. СТЦ являясь биогенным предшественником афлатоксина В1, имеет подобную химическую структуру, но его токсичность в десятки раз ниже. Однако совместное накопление этих токсинов является редким явлением. *A. versicolor* и *A. nidulans* не способны синтезировать ферменты, необходимые для трансформации СТЦ в афлатоксины, в то время как *A. flavus* и *A. parasiticus* обладают такой способностью. СТЦ отнесен Международным агентством по изучению рака (МАИР) к классу 2В (возможный канцероген для человека). Органом мишенью для СТЦ и афлатоксинов является печень. СТЦ обладает мутагенными, токсическими и тератогенными свойствами. Обобщены последние собственные и международные данные по распространенности СТЦ и аналитических методах его определения. Дана гигиеническая оценка значимости СТЦ как приоритетного загрязнителя. Также представлена информация об оценке поступления СТЦ с различными видами пищевых продуктов в некоторых странах мира, обсуждаются имеющиеся данные об установленных гигиенических регламентах его содержания в пищевых продуктах и кормах. Тем не менее, объем накопленных данных о частоте и уровнях загрязнения СТЦ пищевой продукции не достаточен и для установления гигиенических регламентов в приоритетных видах продукции требуются дополнительные систематические исследования. Поиск проведен по базам данных Web of Science, PubMed, E-library, CyberLeninka.

Ключевые слова: стеригматоцистин; микотоксины; распространенность; токсичность; пищевые продукты; корма; аналитические методы; безопасность пищевых продуктов; *Aspergillus spp.*

Для цитирования: Седова И.Б., Киселева М.Г., Захарова Л.П., Тутельян В.А. Токсиколого-гигиеническая характеристика микотоксина стеригматоцистина и методы его определения в пищевых продуктах. *Гигиена и санитария*. 2019; 98(1): 105-117.

Для корреспонденции: Седова Ирина Борисовна, канд. биол. наук, старший науч. сотр. лаб. энзимологии питания ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», 109240, Москва. E-mail: isedova1977@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.
Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 11.01.2018
Принята к печати 18.10.2018

© COLLECTIVE OF AUTHORS, 2019

Sedova I.B., Kiseleva M.G., Zakharova L.P., Tutelyan V.A.

TOXICOLOGICAL AND HYGIENIC CHARACTERISTICS OF MYCOTOXIN STERIGMATOCYSTIN AND METHODS FOR ITS DETERMINATION IN FOOD PRODUCTS

Federal Research Centre of Nutrition and Biotechnology, Moscow, 109240, Russian Federation

The present issue reviews literature and own research data and gives toxicological and hygienic characteristic of sterigmatocystin. This mycotoxin is produced by fungi of *Aspergillus*, *Bipolaris*, *Chaetomium*, *Emiricella* species, and is found in cereals, food products (bread, cheese, spices, coffee, dietary supplements) and feed. Sterigmatocystin being a biogenic precursor of aflatoxin B1, has similar chemical structure and exhibits the same toxicological properties, but its toxicity is ten times lower. However, these toxins are rarely detected together. *A. versicolor* and *A. nidulans* do not have enzymes necessary for the conversion of sterigmatocystin into aflatoxins, on the contrary, *A. flavus* and *A. parasiticus* transform almost all STC into aflatoxins. Sterigmatocystin has been recognized by International Agency for Research on Cancer (IARC) as a 2B carcinogen (possibly carcinogenic to humans). The primary target organ for both mycotoxins is liver. Sterigmatocystin shows mutagenic, toxic and teratogenic effects in animals. Up to date national and international data on sterigmatocystin occurrence in different products is summarized, analytical methods of the determination are reviewed, hygienic assessment of the STC as a priority pollutant is given in the present paper. Also information on STC exposure assessment with regard to different kinds of foodstuff in different countries is being reported, available data on maximum levels of STC in food and feed is discussed. However, data on toxin's occurrence in food is insufficient for elaboration of hygienic regulations on allowable mycotoxin's concentration in priority products. Databases Web of Science, PubMed, E-library, CyberLeninka were used when searching the literature.

Key words: sterigmatocystin; mycotoxins; occurrence; toxicity; food; feed; analytical methods; food safety; *Aspergillus spp.*

For citation: Sedova I.B., Kiseleva M.G., Zakharova L.P., Tutelyan V.A. Toxicological and hygienic characteristics of mycotoxin sterigmatocystin and methods for its determination in food products. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal)* 2019; 98(1): 105-117. (In Russ.).

For correspondence: Irina B. Sedova, MD, Ph.D., senior researcher of the laboratory of enzymology of nutrition of Federal Research Centre of Nutrition and Biotechnology, Moscow, 109240, Russian Federation. E-mail: isedova1977@mail.ru

Information about authors:

Sedova I.B., <https://orcid.org/0000-0002-6011-4515>; Kiseleva M.G., <https://orcid.org/0000-0003-1057-0886>; Zakharova L.P., <https://orcid.org/0000-0001-7355-5259>; Tutelyan V.A., <https://orcid.org/0000-0002-4164-8992>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgements. The study had no sponsorship.

Received: 11 January 2018
Accepted: 18 October 2018

Введение

Стеригматоцистин (СТЦ, (3aR,12cS)-3a,12c-дигидро-8-гидрокси-6-метокси-7H-фууро[3',2':4,5]фууро[2,3-c]ксантен-7-он, $C_{18}H_{12}O_6$, CAS No 10048-13-2, Mr 324,288) относится к поликетидным микотоксинам; впервые был выделен в 1954 году из мицелия *A. versicolor*. Кристаллизуется в виде бледно-желтых игл и легко растворяется в метаноле, этаноле, ацетонитриле, бензоле, хлороформе (~7г/100мл), диметилсульфоксиде, пиридине, малорастворим в воде (1,44 мг/л при 25°C), растворах гидроксида и карбоната натрия, фосфатном буфере, при различных значениях pH [1].

Спектр поглощения этанольного раствора в УФ-области составляет максимум 235 нм (коэффициент экстинкции, $\epsilon = 24500$), 249 нм ($\epsilon = 27500$), 329 нм ($\epsilon = 13100$) [2]. Токсин характеризуется слабой флуоресценцией в красной области [3].

Способность продуцировать токсин отмечена у более чем 50 видов микроскопических грибов. Продуцентами являются грибы рода *Aspergillus* (*A. versicolor*, *A. nidulans*, *A. flavus* и *A. parasiticus* – основные, а также *A. chevalieri*, *A. ruber*, *A. amstelodami*, *A. aureolatus*, *A. quadrilineatus* и *A. sydowi* [1, 4], *A. amoenus*, *A. creber*, *A. cvjetkovicii*, *A. fructus*, *A. jensenii*, *A. puulaauensis*, *A. subversicolor*, *A. tennesseensis*, *A. venenatus* [5], *A. asperescens* [6]), а также *Penicillium*, *Chaetomium*, *Emiricella* [7–9]. Основной гриб-продуцент СТЦ, *A. versicolor* – ксерофильный, растёт при максимальном значении активности воды $a_w = 0,75$ (оптимальное 0,95), в температурном интервале от 4 до 40 °C (оптимально 30 °C). Благоприятными условиями для синтеза СТЦ грибами *A. versicolor* и *Bipolaris sorokiniana* являются: температура от 23 до 29 °C, начальная активность воды – 0,76 и влажность более 15% [10, 11]. СТЦ является биогенным предшественником афлатоксинов B₁ и G₁. Основные продуценты токсина – *A. versicolor* и *A. nidulans* – не способны синтезировать ферменты, необходимые для трансформации СТЦ в афлатоксины [12], в то время как *A. flavus* и *A. parasiticus* обладают такой способностью, поэтому совместное накопление этих токсинов является редким явлением [13]. Контаминация пищевых продуктов растительного происхождения СТЦ преимущественно происходит вследствие несоблюдения условий хранения.

Методы определения СТЦ

В табл. 1 представлена ретроспектива развития аналитических методов определения СТЦ в пищевых продуктах. Классическим методом анализа является тонкослойная хроматография (ТСХ) – простой и доступный, не требующий сложного оборудования метод, широко применявшийся на протяжении более 20 лет для определения микотоксинов. Поскольку селективное детектирование аналита в рамках этого метода возможно путём измерения флуоресценции или видимого окрашивания пятна, и так как СТЦ не окрашен и флуоресцирует слабо, то необходимым этапом анализа является «проявление», например, раствором хлорида алюминия в этаноле с последующим нагреванием. При этом образуются комплексы алюминия с кето- и гидроксильными группами.

Introduction

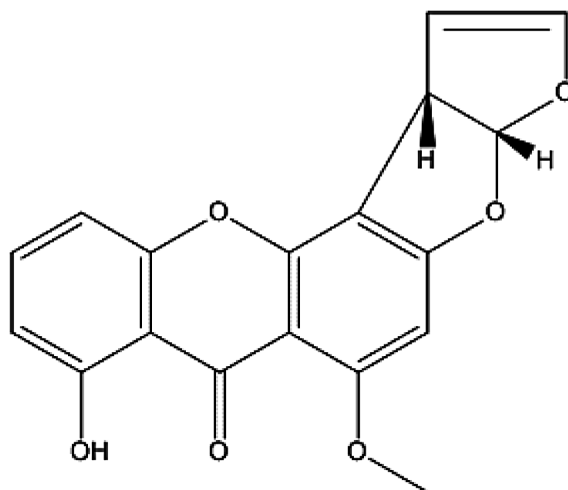
Sterigmatocystin (STC, (3aR,12cS)-3a,12c-dihydro-8-hydroxy-6-methoxy-7H-furo[3',2':4,5]furo[2,3-c]xanthen-7-one; $C_{18}H_{12}O_6$, CAS No 10048-13-2, Mr 324,288 g/mol) is a polyketide mycotoxins. It was first isolated from *A.versicolor* mycelium in 1954. STC crystallizes as pale-yellow needles, it is readily soluble in methanol, ethanol, acetonitrile, benzene, chloroform (~7g/100ml), dimethylsulfoxide, pyridine, poorly soluble in water (1,44 mg/l, 25°C), aqueous solutions (sodium hydroxide, carbonate, phosphate buffer at different pH values)[1].

Ultraviolet spectrum (in EtOH): max 235 nm (extinction coefficient, $\epsilon = 24500$), 249 nm ($\epsilon = 27500$), 329 nm ($\epsilon = 13100$) [2]. STC fluorescence is weak [3].

The ability to produce toxin was founded out for more than 50 fungal species belonging to the *Aspergillus* genus: mainly *A. versicolor*, *A. nidulans*, *A. flavus* and *A. parasiticus*, also *A. chevalieri*, *A. ruber*, *A. amstelodami*, *A. aureolatus*, *A. quadrilineatus*, *A. sydowi* [1, 4], *A. amoenus*, *A. creber*, *A. cvjetkovicii*, *A. fructus*, *A. jensenii*, *A. puulaauensis*, *A. subversicolor*, *A. tennesseensis*, *A. venenatus* [5], *A. asperescens* [6], as well as by other species of the *Penicillium*, *Bipolaris*, *Chaetomium* and *Emiricella* genera [7, 8,9]. *A. versicolor* is xerophilic, maximum water activity $a_w=0,75$ (optimum 0,95), growth temperature interval 4 - 40°C (optimum 30°C). Optimal conditions for STC production by *A. versicolor* and *B. sorokiniana* are 23 - 29°C, low water activity (≥ 0.76) and moisture content above 15% [10,11]. STC is a biogenic precursor of aflatoxins B₁ and G₁. *A. versicolor* and *A. nidulans* do not have enzymes necessary for the conversion of STC into aflatoxins [12], on the contrary, *A. flavus* and *A. parasiticus* transform almost all STC into aflatoxins. Thus only a few examples of STC co-occurrence with aflatoxins have been reported [13]. Major of food commodities contamination takes place during inadequate storage.

Methods of STC determination

Table 1 presents a retrospective of the development of analytical methods to monitor STC in foodstuffs. Thin-layer chromatography (TLC) is a classical method of analysis - a simple and accessible - which does not require sophisticated equipment and is widely used for mycotoxins determination for more than 20 years. TLC provides selective detection of the analyte in case of its good fluorescence under UV light or visible staining of the spot. As noted above, STC is not colored and fluoresces poorly, so derivatization step becomes a necessary stage of the analysis, for example, with a solution of aluminum chloride in ethanol followed by heating. Aluminum ions form complexes with STC keto- and hydroxyl groups.



Схематическая структурная формула молекулы стеригматоцистина

Sterigmatocystin

Таблица 1

Методы определения стеригматоцистина

Метод определения	Объект анализа	Год	Краткое описание		Чувствительность метода, ПО*	Мульти-метод	Источник
			пробоподготовка	условия определения			
ТСХ	Зерно	1981	Экстракция АСН* – 0,1М ортофосфорная кислота (90:10 % об.)	Пластинки: силикагель Детектирование: флуориметрич. после обработки раствором АІСІ3 и нагревания, λвозб.=360 нм	10-20 мкг/кг	–	[14]
ТСХ	Сыры	1998	Экстракция АСН – гексан (80:20 % об.)	Детектирование: флуориметрич. после обработки раствором АІСІ3 и нагревания, λвозб./эм.=360/400 нм	20 мкг/кг	–	
НФ и ОФ ВЭЖХ-УФ				Колонка: силикагель или октадецил-силикагель (ОДС) λ(УФ)=325 нм	3 мкг/кг	–	[15]
ВЭ-ТСХ	Зерно	2004	Экстракция АСН – 4% КСІ (95:5 % об.) ТФЭ: фенил-силикагель	Пластинки: силикагель-NH2 Детектирование: флуориметрич. проявление нагреванием, λвозб./эм.=366/400 нм	2 мкг/кг	–	[16]
ВЭЖХ-УФ	Пиво	2008	ТФЭ: коммерчески доступная полимерная фаза	Колонка: ОДС λ(УФ)=325 нм	0,26 мкг/л	–	[17]
ВЭЖХ-УФ и МС/МС	Зерно, корма, пиво, сыры	2015	Экстракция АСН – вода, (80:20 % об.) ИАК: коммерчески доступная специфичная к СТЦ	Колонка: ОДС λ(УФ)=325 нм МС/МС m/z 325-281, m/z 325-310 (колич)	~1,5 мкг/л ≤ 0,6 мкг/л	–	[18]
ВЭЖХ-МС	Зерно	2014	Экстракция АСН – вода, (84:16 % об.) ИАК: коммерчески доступная специфичная к афлатоксинам	Колонка: ОДС МС, химическая ионизация при атмосферном давлении (APCI), m/z 325	1 мкг/кг	возможно афлатоксины	[19]
ВЭЖХ-МС/МС	Зерно	2016	Экстракция АСН – 0,1% мурав. к-та (50:50 % об.) ТФЭ: коммерчески доступный полимерный материал	Колонка: ОДС МС/МС m/z 325-281, m/z 325-310 (колич.) стандарты приготовлены на основе экстракта «чистой» матрицы	0,52 мкг/кг	афлатоксины В1, В2, G1, G2	[20]
ВЭЖХ-МС/МС	Зерно	2013	Экстракция АСН – вода – уксус. к-та (79:20:1 % об.)	Колонка: ОДС МС/МС разбавление в 2 раза (dilute and shoot) АСН – вода – уксус. к-та (20:79:1 % об.)	–	еще 29 МТ	[21]
ВЭЖХ-МС/МС	Специи	2013	QuEChERS	Колонка: ОДС МС/МС стандарты приготовлены на основе экстракта «чистой» матрицы	8 мкг/кг	еще 16 МТ	[22]
ВЭЖХ-МС	Зерно, орехи	2014	Экстракция АСН – вода (84:16 % об.) ИАК: колонка, разработанная авторами	Колонка: ОДС МС/МС	0,06–0,1 мкг/кг	нет	[23]
УВЭЖХ-МС/МС	Зерно	2016	QuEChERS	Колонка: ОДС МС/МС	0,1 мкг/кг	еще 24 МТ	[24]
ВЭЖХ и УВЭЖХ-МС/МС	Зерно, продукты его переработки, пиво, орехи	2016	Экстракция АСН – вода (80:20 % об.) ТФЭ, специфичная ИАК	Колонка: ОДС МС/МС внутренний стандарт: изотопно-меченный СТЦ	0,05–0,15 мкг/кг	–	[25]
ВЭЖХ-МС/МС	Зерно	2017	Модифицированная процедура QuEChERS	Колонка: ОДС МС/МС стандарты приготовлены на основе экстракта «чистой» матрицы	0,02 мкг/кг	афлатоксин В1	[26]
УВЭЖХ-МС/МС	Корма	2016	Экстракция АСН – вода – уксус. к-та (80:18:2 % об.) ИАК: мульти колонка, разработанная авторами	Колонка: ОДС МС/МС стандарты приготовлены на основе экстракта «чистой» матрицы	0,1 мкг/кг	афлатоксины, зеараленон, охратоксин, Т-2	[27]
ГХ-МС		2015	Экстракция АСН – вода (80:20 % об.) ИАК: мульти колонка, разработанная авторами	Капиллярная колонка Без дериватизации	2,4 мкг/л	–	[28]
ИФА	Корма	2012	Экстракция АСН – вода (84:16 % об.)	Фотометрическое	МОК** = 4 мкг/кг	нет	[29]
ДАРТ Прямой анализ, ионизация в режиме реального времени	Зерно	2010	Модифицированная процедура QuEChERS	МС m/z 325,07	МОК = 80 мкг/кг	Еще 10 микотоксинов	[30]
Амперометрический ферментный электрод		2006 2010	Экстракция	Амперометрическое	0,04 мкг/л ~3 мкг/л	–	[31] [32]
Сенсор	Зерно	2016	Экстракция	• сенсор на основе молекулярно импринтированного полимера (molecularly imprinted polymer) • флуориметрическое детектирование	19 мкг/л	–	[33]
Иммунохроматографический анализ с использованием тест-полосок	Зерно	2017	Экстракция Метанол – вода (60:40 % об.)	Визуальное определение	~3 мкг/кг	–	[34]

Примечание. АСН – ацетонитрил, МТ – микотоксин, ИАК – иммуноаффинная колонка; *ПО – предел обнаружения метода, **МОК – минимальная определяемая концентрация

Table 1

Methods of determination of STC

Method	Matrix	Year	Short description		Sensitivity, (LOD) µg/kg	Multi-detection	References
			sample preparation	determination			
TLC	Grain	1981	Extraction ACN – 0,1M H3PO4 (90:10, v/v)	silica gel plate detection: fluorometric, after AlCl3 treatment and heating, λEm=360 nm	10-20	–	[14]
TLC	Cheese	1998	extraction ACN – hexane (80:20, v/v)	silica gel plate detection: fluorometric, after AlCl3 treatment and heating, λEx/Em=360/400 nm	20		
Normal- or reversed-phase HPLC-UV				silica or ODS HPLC column λ. (UV)=325 nm	3	–	[15]
HPTLC	Grain	2004	extraction ACN – 4% KCl (95:5, v/v) SPE: phenyl-silica gel	silica gel-NH2 HP-plate Detection: fluorometric after heating, λEx/Em=366/400 nm	2	–	[16]
HPLC-UV	Beer	2008	SPE: commercially available polymeric phase	RP column λ(UV)=325 nm	0,26 µg/l	–	[17]
HPLC-UV and MS/MS	Grain, feed, beer, cheese	2015	extraction ACN – water (80:20, v/v) IAC: commercially available for STC	RP column λ (UV)=325 nm MS/MS m/z 325-281 m/z 325-310 (quantitative)	~1,5 µg/l ≤ 0,6 µg/l	–	[18]
HPLC-MS	Grain	2014	extraction ACN – water (84:16, v/v) IAC: commercially available for aflatoxins	RP column MS, APCI, m/z 325	1	+ aflatoxins (potentially)	[19]
HPLC-MS/MS	Grain	2016	extraction ACN – 0,1% formic acid (50:50, v/v) SPE: commercial available polymeric material	RP column MC/MC m/z 325-281 m/z 325-310 (quantitative) standards prepared in the «blank» matrix	0,52	+ aflatoxins B1, B2, G1, G2	[20]
HPLC-MS/MS	Grain	2013	extraction ACN – water – acetic acid (79:20:1, v/v)	RP column MS/MS 2 times dilution (dilute and shoot) with ACN – water – acetic acid (20:79:1, v/v)	–	+ 29 MT*	[21]
HPLC-MS/MS	Spices	2013	QuEChERS	RP column MS/MS standards prepared in the «blank» matrix	8	+ 16 MT	[22]
HPLC-MS	Grain, nuts	2014	extraction ACN – water (84:16, v/v) IAC: column done by the authors	capillary column without derivatization	0,06–0,1	–	[23]
UHPLC-MS/MS	Grain	2016	extraction QuEChERS	RP column MS/MS	0,1	+ 24 MT	[24]
HPLC and UHPLC-MS/MS	Grain, grain products, beer, nuts	2016	extraction ACN – water (80:20, v/v) SPE: specific columns	RP column MS/MS internal standard: isotope labeled STC	0,05–0,15	–	[25]
HPLC-MS/MS	Grain	2017	extraction modified QuEChERS	RP column MS/MS standards prepared in the «blank» matrix	0,02	+ aflatoxin B1	[26]
UHPLC-MS/MS	Feed	2016	extraction ACN – water – acetic acid (80:18:2, v/v) IAC: multi columns, developed by the authors	RP column, UHPLC MS/MS standards prepared in the «blank» matrix	0,1	+ aflatoxins, zearalenone, ochratoxin A, T-2 toxin	[27]
GC-MC		2015	extraction ACN – water (80:20, v/v) IAC: multi columns, developed by authors	capillary column without derivatization	2,4 µg/l	–	[28]
ELIZA	Feed	2012	extraction ACN – water (84:16, v/v)	photometric	LOQ 4 µg/kg	–	[29]
DART	Grain	2010	extraction modified QuEChERS	MS m/z 325,07	LOQ 80 µg/kg	+10 MT	[30]
Amperometric enzyme electrode	2006-2010	–	extraction	амперометрическое	0,04 µg/l ~3 µg/l	–	[31] [32]
Sensor	Grain	2016	extraction	• sensor on the base of molecularly imprinted polymer • fluorometric detection	19 µg/l	–	[33]
Immunochromatographic analysis using test strips	Grain	2017	extraction methanol – water (60:40, v/v)	visual test	~3	–	[34]

Note. MT – mycotoxins.

сильными группами СТС, спектр эмиссии сдвигается в жёлтую область, а её интенсивность увеличивается на 2 порядка.

Невысокие чувствительность и селективность ТСХ – существенные недостатки, преодолеть которые позволил переход к высокоэффективной ТСХ (ВЭТСХ) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Тем не менее, ТСХ может служить простым и надёжным методом скрининга и полуколичественного определения СТС в различных объектах.

ВЭЖХ – безусловный лидер в области определения микотоксинов в пищевых продуктах. Разнообразие неподвижных фаз, элюентов и способов детектирования, а также возможность градиентного элюирования делает метод ВЭЖХ универсальным для определения аналитов различной природы в сложных матрицах. В условиях нормально-фазовой (НФ) и обращенно-фазовой (ОФ) ВЭЖХ фотометрическое детектирование при 325 нм (один из максимумов спектра поглощения СТС в УФ-области) позволяет селективно определять СТС на фоне матрицы. При этом минимальная определяемая концентрация методик приближается к рекомендованной EFSA (1,5 мкг/кг). Развитие масс-спектрометрических методов детектирования обусловило появление большого количества ВЭЖХ-МС/МС (ВЭЖХ с tandemным масс-спектрометрическим детектированием) методик одновременного определения десятков микотоксинов с высокой чувствительностью и селективностью. Применение хроматографических колонок, заполненных сорбентами с размером частиц порядка 2 мкм (УльтраВЭЖХ (УВЭЖХ, UHPLC)) позволяет значительно увеличить эффективность хроматографического разделения, сократить время анализа и объёмы используемых растворителей [35].

Однако существует неопределённость в интерпретации результатов ВЭЖХ-МС-определения, связанная с влиянием матрицы образца, которое может приводить к значительному усилению или ослаблению сигнала аналита [23, 36]. Механизмы и способы учёта влияния матрицы подробно описаны в [37, 38]. Исключить эффект матрицы можно путём предварительного селективного выделения аналита на иммуноаффинных колонках (ИАК) [18, 19], что делает невозможным одновременное определение нескольких микотоксинов. Другим подходом к учёту влияния матрицы является использование для построения градуировочных графиков экстрактов «чистой» (не содержащей искомого аналита) матрицы с добавками известных количеств стандартного образца [20, 22, 26]. Это позволяет оптимизировать определение токсинов в образцах со схожими матрицами, например, при мониторинге загрязнения зерна и т. п., однако сильно усложняет анализ разнообразных продуктов. Другой способ учесть влияние матрицы является использование внутренних стандартов, и в первую очередь, C13-меченых микотоксинов [39]. Высокая стоимость изотопно-меченых стандартов сильно удорожает анализ.

В настоящее время наиболее популярным способом уменьшения (но не исключения) влияния матрицы является простое разбавление экстракта в 2–4 раза (*dilute and shoot*).

Перспективным направлением развития методологии определения микотоксинов в пищевых продуктах является создание экспрессных и простых в исполнении методик, например, с использованием сенсоров или тест-полосок.

Отдельно стоит остановиться на подготовке образцов к анализу, что особенно актуально для таких сложных проб, как пищевые продукты. В большинстве случаев для экстракции СТС используют смеси ацетонитрил – вода с содержанием органической фазы не менее 80%; для увеличения селективности и чувствительности определения – жидкость-жидкостную и твердофазную экстракцию (на ИАК, импринтированных сорбентах). Применение высокочувствительного и селективного МС/МС детектирования позволяет исключить дополнительные этапы пробоподготовки, а следовательно, и уменьшить потери аналита и упростить анализ. В настоящее время большая часть ВЭЖХ-МС/МС методик определения широкого спектра микотоксинов базируется на пробоподготовке методом QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe – Быстрый, Простой, Дешёвый, Эффективный, Точный и Надёжный), который был исходно разработан, для определения остаточных количеств пестицидов [40] и в настоящее время широко применяется как метод экстракции широкого спектра микотоксинов [41].

groups, the fluorescence emission spectrum shifts to the yellow region, its intensity increases by two orders of magnitude. High-performance TLC (HPTLC) and high-performance liquid chromatography (HPLC) allowed overcoming insufficient sensitivity and selectivity of TLC. However, TLC can be used as a simple and reliable method of screening and semiquantitative determination of STC.

HPLC is a method of choice for the detection of mycotoxins in foodstuff. The variety of stationary phases, eluents and detection methods, as well as the possibility of gradient elution, makes HPLC method applicable for the determination of different analytes in complex matrices. Photometric detection at 325 nm (one of the maxima of the absorption spectrum of the STC in the UV region) under normal-phase (NP) and reversed-phase (RP) HPLC conditions, makes possible selective STC determination. Limit of quantification approaches one recommended by EFSA for surveillance (1.5 µg/kg). The development of mass spectrometric methods of detection caused the appearance of an abundance of HPLC-MS/MS (HPLC with tandem mass spectrometric detection) techniques for the simultaneous detection of dozens of mycotoxins with high sensitivity and selectivity. Utilization of chromatographic columns filled with ~2 µm particle size sorbents (Ultra HPLC (UHPLC)) can significantly increase the efficiency of chromatographic separation; reduce the analysis time and the volumes of used solvents [35].

However, there is uncertainty in the interpretation of the HPLC-MS data associated with the influence of the sample matrix, which can lead to a signal suppression or enhancement effect (SSEE) [23, 36]. SSEE mechanisms and possible ways of its compensation are described in details in [37, 38]. Separation of the analyte on immunoaffinity columns (IAK) before HPLC-MS allows to escape SSEE [18, 19], but it makes a simultaneous determination of several mycotoxins impossible. Another approach to take matrix effect into account is the use of “pure” matrix for matrix-assisted calibration [20, 22, 26]. It helps to optimize the detection of toxins in samples with similar matrices, for example, while grain contamination monitoring, etc., but greatly complicates the analysis of a variety of products. Another way to take into account the influence of the matrix is the use of internal standards, primarily C13-labeled mycotoxins [39]. The high cost of isotope-labeled standards greatly raises the cost of analysis.

Currently, the most popular way to reduce (but not eliminate) the effect of the matrix is a simple dilution of the extract in 2-4 times (*dilute and shoot* approach).

A promising trend in the methodology of mycotoxins determination in foodstuffs is creation and utilization of rapid and easy-to-implement techniques, for example, sensors or test strips.

Sample preparation is a cornerstone of foodstuff analysis. In most cases, acetonitrile-water mixtures are used to extract STC from the matrix. Further separation from co-extracted matrix components is carried out by liquid-liquid or solid-phase extraction (using IAK, imprinted sorbents). Application of sensitive and selective MS/MS detection makes it possible to avoid additional stages of sample preparation, and hence to reduce losses of the analyte and simplify the analysis. At present, most of HPLC-MS/MS methods of mycotoxins determination are based on QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) technique [40], which was initially developed for the determination of residual amounts of pesticides [41].

STC occurrence

STC in food grain and feed: STC was first detected in one of 29 samples of self-heated grain in 1972 [42]. However, real occurrence data accumulation started in the 1990s [43]. The reason is that until then analytical techniques couldn't provide a real picture of contamination level due to low method sensitivity (~20 µg/kg) [44]. Table

Таблица 2

Частота обнаружения и уровни загрязнения зерна стеригматоцистином в различных регионах мира

Продукт	Страна	Год урожая	Частота обнаружения	Содержание, мкг/кг	Ссылка
Зерно	Латвия	2006	13,7% (из 95 проб)	< 0,7 до 83	[45]
		2007	35% (из 120 проб)	< 1 до 47	
Пшеница	Европа	2014	5% (из 221 пробы)	0,5–1,5	[25]
	Норвегия	2011	7% (из 28 проб)	~1	[21]
	Россия	2016	5% (из 60 проб)	4–5	[46]
	Китай	2004	98%	среднее 69	[47]
	Китай	2017	53% (из 32 проб)	среднее 0,07	[48]
Рожь	Европа	2014	6% (из 35 проб)	0,5–1,5	[25]
Ячмень	Европа	2014	2% (из 59 проб)	0,5–1,5	[25]
	Латвия	2006	2% (из 10 проб)	0,5–25	
	Норвегия	2011	15% (из 20 проб)	< 1,2	[49]
Овес	Европа	2014	22% (из 51 проб)	0,5–5	[25]
	Норвегия	2011	57% (из 28 проб)	средн. 2,1 макс. 20,1	[21]
	Россия	2016	1 проба из 5	120	[46]
Спельга (полба)	Европа	2014	н/о		[25]
Кукуруза	Европа	2014	6% (из 33 проб)	0,5–1,5	[25]
	Китай	2011	89%	среднее 32	[47]
	Япония	2010/15	14% (из 246 проб)	среднее 1,2 макс 6,4	[50]
	Южная Африка	2015	н/о (42 пробы)	–	[51]
Рис	Европа	2014	96% (из 28 проб)	0,5–5	[25]
	Италия	2014/15	сырец 100 % (49 проб)	0,3–15,9	[52]
			коричн. 100 % (24 пробы)	0,1–1,1	
			пропарен. 86% (22 пробы)	< 0,05–1,1	
			белый 76% (37 проб)	< 0,05–1,0	
Китай	2014	72%	среднее 14	[47]	
Сорго	Корея	2016	10% (из 20 проб)	0,1–1,0	[53]
	Тунис	2013	33% (из 60 проб)	среднее 20,5	[54]
	Африка	2012–14	16% (из 1533 проб)	2,5–57 макс. 1189	[55]

Table 2

STC contamination in grain of different origin

Product	Country	Harvest year	Incidence	Content, µg/kg	References
Grain	Latvia	2006	13,7% (of 95 samples)	< 0,7 до 83	[45]
		2007	35% (of 120)	< 1–47	
Wheat	Europe	2014	5% (of 221)	0,5–1,5	[25]
	Norway	2011	7% (of 28)	~1	[21]
	Russian Federation	2016	5% (of 60)	4–5	[46]
	China	2004	98%	mean 69	[47]
	China	2017	53% (of 32)	mean 0,07	[48]
Rye	Europe	2014	6% (of 35)	0,5–1,5	[25]
Barley	Europe	2014	2% (of 59)	0,5–1,5	[25]
	Latvia	2006	2% (of 10)	0,5–25	
	Norway	2011	15% (of 20)	< 1,2	[49]
Oat	Europe	2014	22% (of 51)	0,5–5	[25]
	Norway	2011	57% (of 28)	mean 2,1 max 20,1	[21]
	Russian Federation	2016	1 sample of 5	120	[46]
Spelt	Europe	2014	n.d.		[25]
Maize	Europe	2014	6% (of 33)	0,5–1,5	[25]
	China	2011	89%	mean 32	[47]
	Japan	2010/15	14% (of 246)	mean 1,2 max 6,4	[50]
	South Africa	2015	n.d. (of 42)	–	[51]
Rice	Europe	2014	96% (of 28)	0,5–5	[25]
	Italy	2014/15	paddy 100 % (49 samples)	0,3–15,9	[52]
			brown 100 % (of 24)	0,1–1,1	
			parboiled 86% (of 22)	< 0,05–1,1	
			white 76% (of 37)	< 0,05–1,0	
China	2014	72%	mean 14	[47]	
Sorghum	Korea	2016	10% (of 20)	0,1–1,0	[53]
	Tunis	2013	33% (of 60)	mean 20,5	[54]
	Africa	2012–14	16% (of 1533)	2,5–57 max 1189	[55]

Распространённость

СТЦ в продовольственном и кормовом зерне. Одно из первых упоминаний об обнаружении СТЦ в зерне относится к 1972 году: токсин был обнаружен в одном из 29 образцов зерна, подвергнутого самосогреванию в результате нарушения условий хранения [42]. Систематические данные о загрязнённости начали появляться с 1990-х годов [43], так как исследования загрязнённости зерна и различных продуктов питания СТЦ, проведённые с использованием классических аналитических методов (например, тонкослойной хроматография (ТСХ)), не отражают реальную картину уровней контаминации вследствие низкой чувствительности методик (порядка 20 мкг/кг) [44]. Обобщённые сведения представлены в табл. 2.

В странах с умеренным климатом, на севере, северо-западе, северо-востоке и на средней территории Европы загрязнение зерновых грибами рода *Aspergillus* происходит, главным образом, в послеуборочный период, на этапе хранения, причём, по данным EFSA, чаще всего и на более высоких уровнях СТЦ выявляли в рисе и овсе, реже – в пшенице, кукурузе, ячмене, рапсе [1]. В Китае высокие уровни контаминации характерны также для риса.

2 provides summarized information on STC occurrence in grains. *Aspergillus* fungi invade grain harvested in temperate countries (in the North, North-west, North-east and the middle of Europe) mainly in the postharvest period and during the storage. According to EFSA preferable substrates are rice and oat; wheat, maize, barley, and rape are less contaminated [1]. High contamination levels of STC are typical for rice in China also.

Our study of food grain harvested in the Russian Federation in 2013–2016 revealed STC in 4% of samples in the range of 0,5 - 150,0 µg/kg (Table 3).

High incidence of contamination was noted for wheat: 5% of 173 samples were contaminated at the level from 0,5 to 6,0 µg/kg. The highest STC levels were found in oat and barley samples: 120 and 150 µg/kg respectively.

Feed grain is usually more contaminated than one intended for human consumption. Monitoring of feed grain harvested in the south of the Russian Federation in 2004–2014 indicated STC in 6–60% samples, depending on kind of grain and crop year. The heaviest STC

Таблица 3

Загрязненность СТП продовольственного зерна урожая 2013–2016 гг. и пищевых продуктов в Российской Федерации (собственные данные)

Продукт	Частота обнаружения	Содержание в контаминированных пробах, мкг/кг		
		диапазон	среднее	медиана
Обобщенные данные:				
все виды зерна	4% (из 282 проб)	0,5–150,0	24,5	2,5
зернопродукты	8% (из 67 проб)	0,8–7,0	4,0	5,0
Пшеница:				
зерно	5% (из 173 проб)	0,5–6,0	2,6	1,0
мука	14% (из 28 проб)	2,0–7,0	5,0	5,0
отруби, крупа	н/о (4 пробы)	< 0,4	–	–
Ячмень:				
зерно	6% (из 33 проб)	0,8; 150	75	5
отруби, крупа	н/о (2 пробы)	< 0,4	–	–
Кукуруза:				
зерно	н/о (38 проб)	< 0,4	–	–
хлопья	8% (из 12 проб)	0,8	0,8	0,8
Овес:				
зерно	8% (12 проб)	120	120	120
мука, хлопья	н/о (2 пробы)	< 0,4	–	–
Рожь:				
зерно	н/о (26 проб)	< 0,4	–	–
мука, отруби	н/о (7 проб)	< 0,4	–	–
Продукты переработки:				
хлебцы	н/о (9 проб)	< 0,4	–	–
продукты детского питания	н/о (5 проб)	< 0,4	–	–

Примечание. Здесь и в табл. 4: н/о – не обнаружен (< ПО метода).

В наших исследованиях СТП в продовольственном зерне урожая 2013–2016 г. был обнаружен в 4% случаев в диапазоне загрязнения от 0,5 до 150,0 мкг/кг (табл. 3). Чаще токсин выявляли в зерне пшеницы на уровне от 0,5 до 6 мкг/кг. Следует отметить, что самые высокие уровни СТП были в пробах овса и ячменя – 120 и 150 мкг/кг соответственно.

Высоким содержанием микотоксинов отличается фуражное зерно. Исследование контаминации фуражного зерна юга России урожая 2004–2014 г. показало наличие СТП в 6–60 % проб в зависимости от вида зерна и года. Пики контаминации СТП отмечены в 2004 г. для кукурузы (40% проб с содержанием СТП выше 100 мкг/кг) и в 2007 г. для ячменя (20,7% проб с содержанием СТП выше 100 мкг/кг). Количество проб пшеницы, содержащих более 100 мкг/кг СТП, не превышало 12,5% проб за весь период мониторинга [56].

В 2015 г в кормовых бобовых травах (812 проб) загрязненность СТП составляла от 32 до 92%, уровень загрязнения – от 6 до 1320 мкг/кг [57]. В 29 из 34 образцов сена из хозяйств европейской части России был обнаружен СТП в количестве от 7 до 790 мкг/кг [58], в сенаже и силосе – во всех проанализированных пробах в количестве от 20 до 1000 мкг/кг [59]. По данным исследования загрязненности кормов, проведенного ГНУ СКЗНИВИ, СТП был обнаружен в большинстве из 866 изученных проб, часто в количествах, превышающих 100 мкг/кг корма [60]. Сходные результаты получены для трав в Аргентине [61]: анализ 106 проб травы в 2011 г. показал наличие СТП в 90% проб, среднее содержание – 4 мкг/кг, максимальное – 733 мкг/кг, а в 2014 г. загрязненными оказались 60% проб (из 69), средний уровень составил порядка 7 мкг/кг, максимальный – 147 мкг/кг.

Table 3

STC contamination in food grain of 2013–2016 years harvests and food products in Russian Federation (our data)

Product	Incidence	Content in contaminated samples, µg/kg		
		concentration range	mean	median
Integrated data:				
All grain kinds	4% (of 282 samples)	0,5– 150,0	24,5	2,5
Grain products	8% (of 67)	0,8 – 7,0	4,0	5,0
Wheat:				
Grain	5% (of 173)	0,5 – 6,0	2,6	1,0
Flour, flakes	14% (of 28)	2,0 – 7,0	5,0	5,0
Bran, grits	n.d.* (4 samples)	< 0,4	–	–
Barley:				
Grain	6% (of 33 samples)	0,8; 150	75	5
Bran, grits	n.d. (2 samples)	< 0,4	–	–
Maize:				
Grain	n.d. (38 samples)	< 0,4	–	–
Cornflakes	1 of 12	0,8	–	–
Oat:				
Grain	8% (of 12)	120	120	120
Flour, flakes	n.d. (2 samples)	< 0,4	–	–
Rye:				
Grain	n.d. (26 samples)	< 0,4	–	–
Flour, bran	n.d. (7 samples)	< 0,4	–	–
Other grain products:				
Crisp bread	n.d. (9 samples)	< 0,4	–	–
Baby foods	n.d. (5 samples)	< 0,4	–	–

Note. Here and in table 4: n.d.- not detectable (below LOD).

contamination was revealed for maize harvested in 2004 (40% of samples contained over 100 µg/kg STC) and for barley in 2007 (20,7% of samples contained over 100 µg/kg STC). Meanwhile, amount of wheat samples with STC concentration over 100 µg/kg of STC didn't exceed 12,5% [56].

812 samples of different grass feed were tested for mycotoxins in 2015, and STC was detected in 32-92% in the range from 6 to 1320 µg/kg [57]. Hey analysis revealed contamination of 29 of 34 samples from the European part of the Russian Federation at the level from 7 to 790 µg/kg [58], all haylage and silage samples contained STC from 20 to 1000 µg/kg [59]. The majority of 866 feed samples studied by the North Caucasus Zonal Scientific Research Veterinary Institute contained over 100 µg/kg STC [60]. Similar results were obtained in Argentina [61]: 90% of 106 samples of the 2011 year harvest grasses were contaminated (mean STC level - 4 µg/kg, maximum - 733 µg/kg), in 2014 contamination level decreased: 60% of 69 samples (mean level ~7 µg/kg, maximum - 147 µg/kg).

STC in food: Occurrence of STC in foodstuffs is summarized in Table 4, the most contaminated are species, coffee, whole grain bread, and herbs. Nuts are seldom contaminated by STC.

Our survey revealed STC in 8% of 67 of grain-based products in the range from 0,8 to 7,0 µg/kg (Table 3). Contamination is more common for wheat-based products: so 16% of 25 samples contained STC at the level from 4 to 7 µg/kg. Also, 1 of 12 studied cornflakes samples was contaminated with STC at the level of 0.8 µg/kg.

Частота обнаружения и уровни загрязнения пищевых продуктов СТЦ в различных регионах мира

Продукт	Страна	Год урожая	Частота обнаружения	Содержание, мкг/кг	Ссылка
Продукты переработки зерна	Европа	2014	10% (из 713 проб)	0,5–1,5	[24]
	Россия	2016	10% (из 31 проб)	2–7	[46]
Продукты переработки пшеницы	Китай	2017	крекер 59%, белый хлеб 21%, цельнозерн. хлеб 16% (всего проб 146)	средн. 0,79 средн. 0,12 средн. 0,12	[48]
Хлеб (цельнозерновой)	Латвия	2012	17% (из 29 проб)	2–7	[62]
Соевая мука	Япония	2010-2015	14% (из 126 проб)	средн. 0,63 макс. 1,1	[50]
Саговый крахмал	Новая Гвинея	2002-2003	н/о (51 проба)		[63]
Кофе	Филиппины	2014	29% (42 проб)	до 194	[64]
Арахис	Египет	2008	15% (20 проб)	12,2–16,8	[65]
	Китай	2014	н/о (28 проб)	н/о	[25]
Фундук	Турция	2014	н/о (36 проб)		[25]
Пиво	Латвия	2008	8% (из 26 проб)	4–7,8 мкг/л	[66]
	Европа		н/о (53 пробы)		[25]
	Китай	2016	н/о (101 проба)		[67]
Сыр	Нидерланды	1980	23 % (из 39 проб)	5–600*	[68]
	Чехословакия	1982	4 % (из 66 проб)	7,5–17,5	[69]
	Египет (сыр Рас)	1996	35% (из 100 проб)	10–63	[70]
	Латвия, Бельгия	2008	38% (из 21 пробы)	0,04–1,23	[71]
Молоко	Испания	2016	н/о (10 проб)	–	[72]
Черный перец	Шри-Ланка	2013	50% (из 10 проб)	<8	[22]
Белый перец			80% (из 10 проб)	<16–~24	
Чили			40% (из 10 проб)	<11	
Красный перец	Саудовская Аравия	2007	–	11–25	[73]
Кумин				15–20	
Лекарственные травы	Китай	2014	15% (из 244 проб)	0,1–28,4	[74]

Пр и м е ч а н и е. * – содержание в поверхностном слое сыра.

СТЦ в пищевых продуктах. СТЦ был выявлен в продуктах переработки зерна, сыре, пиве, кофе, лекарственных травах и специях (табл. 4). Согласно представленным данным, наиболее загрязненными продуктами являлись специи, кофе, лекарственные травы и цельнозерновой хлеб. В орехах СТЦ обнаруживали редко.

Согласно результатам наших исследований, в 8% из 67 изученных образцов продуктов переработки зерна СТЦ был выявлен в количествах от 0,8 до 7,0 мкг/кг (см. табл. 3). При этом наиболее часто СТЦ были загрязнены продукты переработки пшеницы: 4 из 25 проб пшеничной муки содержали токсин в диапазоне от 2 до 7 мкг/кг. Наряду с этим СТЦ был обнаружен в одном из 12 исследованных образцов кукурузных хлопьев на уровне 0,8 мкг/кг.

Отдельно стоит остановиться на проблеме контаминации СТЦ сыров. Накопление в них СТЦ может происходить за счёт продуцирования токсина грибами стартовой культуры или в результате плесневения во время созревания и/или хранения. Среди микромицетов, обычно населяющих сыры, основными продуцентами микотоксинов являются *Penicillium commune*, *P. verrucosum*, *P. crustosum* и *Aspergillus versicolor* (продуцент СТЦ) [75]. В Европе первые данные о выявлении СТЦ в сыре были получены во Франции в 1979 году. Токсин был обнаружен в наружном 2-сантиметровом слое в трёх из 235 проб твердого сыра в количестве 45, 125 и 330 мкг/кг, при этом в более глубоких слоях сыра токсин выявлен не был [76]. Показано, что при хранении сыров в морозильных (-18°C), холодильных (+4°C) камерах и на складе (+16°C) содержание СТЦ не уменьшалось в течение трех–шести месяцев при различных температурах [9]. В настоящее время СТЦ также обнаруживают в сырах, но значительно реже и в меньших количествах.

STC contamination of cheese is noteworthy. Toxin accumulation can occur owing to fungi of starting culture or as a result of molding during the ripening and/or the storage. Main mycotoxin producers usually inhabiting cheeses are *Penicillium commune*, *P. verrucosum*, *P. crustosum* and *Aspergillus versicolor* [75]. STC was detected in cheese for the first time in France in 1979. It was found in 2 cm outer layer in 3 of 235 solid cheese samples; its content was 45, 125 and 330 µg/kg, deeper layers were not contaminated [76]. Storage of cheese in a freezer (-18 °C) or refrigerator (+ 4 °C) or in a storage room (+ 16 °C) doesn't affect STC content for at least three months [9]. At present, STC is discovered in cheeses also, though not as often and in smaller quantities.

One report is devoted to the study of mycotoxins in dietary supplements [77]. According to the data presented, none of 62 samples containing poppy (*Lepidium meyenii*), soy isoflavones (*Glycine max*), St. John's wort (*Hypericum perforatum*), garlic (*Allium sativum*), ginkgo biloba (*Ginkgo biloba*) and black radish (*Raphanus niger*) was found positive for STC.

Product processing (grinding, baking, roasting, fermentation, etc.) decreases STC contamination [4]. Nevertheless, whole-grain bread still contains high toxin concentration [62].

Toxicological and hygienic characteristics of STC

STC biotransformation takes places in liver and lung by phases I and II xenobiotic's metabolism enzymes. Phase I enzymes transform STC into epoxide (exo-STC-1,2-oxid) that forms DNA adduct

Table 4

Частота обнаружения и уровни загрязнения пищевых продуктов СТЦ в различных регионах мира

Product	Country	Year	Incidence	Content, µg/kg	References
Grain products	Europe	2014	10% (из 713 проб)	0,5–1,5	[24]
	Russian Federation	2016	10% (из 31 проб)	2–7	[46]
Wheat products	China	2017	cracker 59%, white bread 21%, whole grain bread 16% (all samples - 146)	mean 0,79 mean 0,12 mean 0,12	[48]
Bread (whole grain)	Latvia	2012	17% (из 29 samples)	2–7	[62]
Soybean meal	Japan	2010-2015	14% (of 126)	mean 0,63 max. 1,1	[50]
Sago starch	Papua New Guinea	2002-2003	n.d. (of 51)		[63]
Coffee	Phillippines	2014	29% (of 42)	до 194	[64]
Peanut	Egypt	2008	15% (of 20)	12,2–16,8	[65]
	China	2014	n.d. (of 28)	н/о	[25]
Hazelnut	Turkey	2014	n.d. (of 36)		[25]
Beer	Latvia	2008	8% (of 26)	4–7,8 мкг/л	[66]
	Europe		n.d. (of 53)		[25]
	China	2016	n.d. (of 101)		[67]
Cheese	The Netherlands	1980	23 % (of 39)	5–600*	[68]
	Czech Republic and Slovakia	1982	4 % (of 66)	7,5–17,5	[69]
	Egypt (Ras Cheese)	1996	35% (of 100)	10–63	[70]
	Latvia, Belgium	2008	38% (of 21)	0,04–1,23	[71]
Milk	Spain	2016	n.d. (of 10)	–	[72]
Black pepper	Sri-Lanka	2013	50% (of 10)	<8	[22]
White pepper	Sri-Lanka		80% (of 10)	<16–~24	
Chili	Sri-Lanka		40% (of 10)	<11	
Red pepper	Saudi Arabia	2007	–	11–25	[73]
Cumin	Saudi Arabia			15–20	
Medicinal plants	China	2014	15% (of 244)	0,1–28,4	[74]

Примечание. * – content in the outer layer of cheese.

Только в одном сообщении было исследовано загрязнение микотоксинами, в том числе СТЦ, биологически-активных добавок к пище [77]. Согласно представленным данным, ни в одном из 62 образцов на основе мака (*Lepidium meyenii*), изофлавонов сои (*Glycine max*), зверобоя (*Hypericum perforatum*), чеснока (*Allium sativum*), гинкго билоба (*Ginkgo biloba*) и черной редьки (*Raphanus niger*) СТЦ не был обнаружен.

Обработка продукта (помол, выпечка, обжарка, ферментация и др.) приводила к уменьшению содержания СТЦ [4], однако в цельнозерновом хлебе токсин все равно обнаруживали на достаточно высоких уровнях [62].

Токсиколого-гигиеническая характеристика СТЦ

Биотрансформация токсина осуществляется в печени и лёгких при участии ферментов I и II фаз метаболизма ксенобиотиков. Так, в ходе I фазы метаболизма СТЦ с участием цитохрома P450 превращается в эпоксид (экзо-СТЦ-1,2-оксид), который образует аддукт (1,2-дигидро-2-(N⁷-гуанил)-1-гидрокси-СТЦ) с молекулой ДНК, обуславливая канцерогенные свойства токсина. С помощью ферментов II фазы метаболизма ксенобиотиков СТЦ конъюгирует с глюкуроновой (с образованием глюкуронид-СТЦ и глюкуронид монометокси-СТЦ) и серной (с образованием сульфатного конъюгата моногидрокси-СТЦ) кислотами. При инкубации СТЦ с культуральными клетками эпителия трахеи свиней обнаруживали СТЦ-8-О-глюкуронид.

В экспериментах на животных установлено, что биодоступность СТЦ при пероральном введении составляет до 100% у крыс и 85% у обезьян. У крыс наиболее высокое содержание СТЦ обнаруживали через 3–12 часов после перорального введения. При этом период полувыведения из плазмы крови состав-

(1,2-dihydro-2-(N⁷-guanyl)-1-hydroxy-STC) responsible for genotoxic properties of the toxin. II phase enzymes conjugate STC with glucuronic and sulfuric acids yielding glucuronide-STC, glucuronide monomethoxy-STC and a sulfuric conjugate of monomethoxy-STC. STC-8-O-glucuronide was the only conjugated metabolite detected after STC incubation with cultured primary epithelial cells from the trachea of pigs.

Animal studies showed, that STC bioavailability, when administered orally is up to 100% in rats and 85% in monkeys. In rats, the highest STC content was detected 3 to 12 hours after oral administration, the half-life in blood plasma is 61-130 hours. About 10% of the administered dose of STC is excreted with urine, 64-92% - with feces [78, 1]. Concerning STC transfer into milk, it doesn't exceed 0.4% via 5-10 mg of toxin consumption at per day for two weeks [1]. There is no data on STC or its metabolites transfer into animal tissues.

STC as a biogenic precursor of aflatoxin B₁ exhibits the same toxicological properties, but its toxicity is ten times lower. The primary target organ for both mycotoxins is liver [1]. IARC classifies STC as a possible human carcinogen (2B group) [79]. According to the European Food Safety Authority (EFSA), the toxicity of STC in oral administration is not very high: LD₅₀ for different animals varies from 120 to 160 mg/kg body weight. Oral, intraperitoneal, subcutaneous administration of STC results in hepatocellular carcinoma, hemangiosarcoma in the liver and lung adenoma in mice, rats, monkeys experiments. Dose-dependent induction of hepatic cancer in rats' male revealed BMD₁₀ equal 0.36 and BMDL₁₀ - 0.16 mg/kg

лял 61–130 часов. Около 10% введенной дозы СТЦ выделялось с мочой, 64–92% – с фекалиями [78, 1].

Показано, что перенос СТЦ в молоко составляет не более 0,4% при его поступлении от 5 до 10 мг в сутки в течение двух недель [1], сведений об обнаружении СТЦ и/или его метаболитов в других продуктах животного происхождения нет.

СТЦ как биогенный предшественник афлатоксина B₁, характеризуется схожим токсическим действием, но при этом его выраженность как минимум в 10 раз ниже. Основным органом-мишенью для обоих токсинов является печень [1]. МАИР относит СТЦ к группе 2В: соединение, возможно, канцерогенное для человека [79]. По данным Европейского агентства по безопасности продуктов питания (European Food Safety Authority, EFSA), токсичность СТЦ при оральном поступлении невысока: LD₅₀ для различных видов животных составляет от 120 до 166 мг/кг массы тела. В экспериментах на мышах, крысах и обезьянах показано, что пероральное, подкожное, внутривенное введение СТЦ приводит к образованию гепатоцеллюлярных карцином, гемангиосарком печени и аденомы лёгких. На основании экспериментальных данных о дозозависимой индукции рака печени у самцов крыс были рассчитаны BMD₁₀ (benchmark dose – стандартная концентрация, вызывающая риск развития рака в 10% случаев) и BMDL₁₀ (benchmark dose confidence limit – 95% доверительный интервал проявления действия BMD), составившие, соответственно, 0,36 и 0,16 мг/кг массы тела в сутки. Сравнение BMD₁₀ СТЦ и афлатоксина B₁ показало, что канцерогенный потенциал СТЦ примерно на три порядка ниже [1]. Тем не менее, клинические исследования, проведённые в Китае, показали наличие корреляции между поступлением СТЦ и частотой рака желудка и печени. СТЦ был выявлен в крови 4 из 13 больных (в диапазоне от 65 до 113 мкг/кг) и у 1 из 14 здоровых людей (68 мкг/кг), содержание СТЦ в моче было ниже предела обнаружения метода. ДНК-аддукты СТЦ были обнаружены в 50% отобранных тканей опухолей [1, 4].

С учётом коэффициента запаса экспозиции (margin of exposure, MOE), равного 10 000 (низкий риск для здоровья населения для канцерогенных и генотоксичных соединений), безопасная концентрация СТЦ в зерне и зернопродуктах составила от 1,5 до 8 мкг/кг в зависимости от величины потребления. На основании этого EFSA рекомендовало применять для анализа СТЦ в пищевых продуктах методы, позволяющие количественно определять СТЦ на уровне менее 1,5 мкг/кг.

Как было показано выше, наиболее высокие уровни загрязнения СТЦ характерны для фуражного зерна и других видов кормов. Употребление таких кормов приводит к жировому перерождению печени, циррозу и раку печени. В США был зарегистрирован случай отравления молочного скота кормом, зараженным *A. versicolor* и *A. candidus*. Концентрация СТЦ этого корма составила 7,75 мг/кг. У животных наблюдалась кровавая диарея, потеря молока и, в ряде случаев, смерть [80]. В сублетальных концентрациях этот токсин оказывает тератогенное действие, проявляющееся в деформации конечностей и замедлении роста эмбрионов птиц [81]. Согласно данным, полученным в Северо-Кавказском зональном научно-исследовательском ветеринарном институте (ГНУ СКЗНИВИ), содержание СТЦ в корме на уровне 30 мкг/кг приводит к тяжёлым поражениям печени, сопровождающимся дегенеративно-дистрофическими изменениями, и развитию общей токсической реакции у поросят [60].

Таким образом, можно считать доказанным наличие у СТЦ гепатоканцерогенного, нефротоксического, тератогенного и мутагенного действия.

Оценка поступления СТЦ с пищей

В Испании расчётное поступление СТЦ с кофе в среднем составило для взрослых 0,049 нг/кг массы тела в сутки, а для подростков – 0,011 нг/кг массы тела в сутки [82], в Сирийской Арабской Республике нагрузка токсином с рационом на основе пшеницы варьировала от 0,7 до 10 нг/кг массы тела в сутки [83], в Шри-Ланке связанное с потреблением специй поступление СТЦ в среднем составляло 0,04–0,15 нг/кг массы тела в день [84].

В 2017 году на основании собранных данных по распространённости СТЦ (база данных GEMS/Food contaminants) и информации о структуре питания населения в разных странах (база данных GEMS/Food cluster diets) Объединённый комитет

body weight per day. A comparison of BMDL₁₀ of STC and aflatoxin B₁ showed the carcinogenic potency of STC is approximately three orders of magnitude lower than that of aflatoxin B₁ [1]. Also, Chinese clinical studies demonstrated a correlation between STC exposure and cancer rates of stomach and liver. STC was detected in 4 (of 13 patients) blood samples in the range from 65 to 113 µg/kg and in 1 (of 14 healthy persons) blood sample at the level of 68 µg/kg, the STC content in urine was below detection limit. STC adducts with DNA were found in 50% of studied tumor tissues [1, 4].

Considering the margin of exposure (MOE) of 10000 or more (as for genotoxic and carcinogenic substances is of low concern for the public health), the STC concentration in grains and grain-based products leading to an exposure of low health concern would range from 1.5 to 8 µg/kg depending on the consumption level. Thus EFSA recommends to apply for STC determination in food-stuff analytical methods with the limit of quantification (LOQ) 1.5 µg/kg or less.

As stated above, feed grain and other kinds feed frequently contain much STC. Consumption of such feed leads to fatty liver, hepatic cirrhosis, and liver cancer. A case of dairy cattle poisoning related to feed contamination by *A. versicolor* and *A. candidus* has been reported in the USA. STC concentration in feed was 7.75 mg/kg. Animals suffered bloody diarrhea, low milk production and death in some cases [80]. In sublethal doses, STC shows teratogenic effects, such as limbs deformation and low growth rate of bird embryos [81]. According to the data from North-Caucasian Zonal Scientific Research Veterinary Institute, STC content at the level of 30 µg/kg leads to serious injuries of the liver, accompanied by degenerative-dystrophic changes and the development of a general toxic reaction in piglets [60].

Dietary exposure

Only scant information on STC exposure assessment with regard to different kinds of foodstuff in different countries is being reported. For example, coffee associated dietary exposure was estimated in Spain: average STC intake for adults and adolescents were 0,049 and 0,011 ng/kg body weight per day respectively [82]; wheat associated dietary exposure ranges between 0.7 and 10 ng/kg body weight per day in the Syrian Arab Republic [83]; spices contribute 0.04–0.15 ng/kg body weight per day STC for adults in Sri Lanka [84].

In 2017, the Joint FAO/WHO Committee of Experts on Food Additives (JECFA) conducted an exposure assessment of STC for five regions of the world using available data on its occurrence in food (from the GEMS/Food contaminants database) and information on national dietary habits (from the GEMS/Food cluster diets). Also, JECFA took into account a high degree of “not detected” analytical results (about 78% for Africa and near 100% for Europe and the Western Pacific). The LB-UB approach (low boundary - upper boundary) was used by the Committee to calculate estimates. LB-UB mean/high exposure estimates for adults were: 16–17/32–34 ng/kg-body weight per day for Africa due to sorghum; 0.3–6.3/0.6–13 ng/kg-body weight per day for America due to cereals, infant food, legumes, pulses, nuts, oilseeds and starchy roots; 0.3–3.5/0.6–7 ng/kg-body weight per day for the Eastern Mediterranean due to sorghum; 0–22/0–44 ng/kg-body weight per day for Europe due to cereals, snacks and desserts; 0–0.5/0–1 ng/kg body weight per day for the Western Pacific due to cereals, snacks and desserts [4].

STC regulation in food and feed

Customs Union Technical regulations (CUTR) № 029/2012 doesn't allow STC in fungal origin enzyme preparations [85]. CUTR draft “Feed and feed additives safety” proposes maximum levels of

экспертов ФАО/ВОЗ по пищевым добавкам (JECFA) провел оценку поступления токсина для пяти регионов мира с учетом высокой доли проб, в которых токсин не был обнаружен (от 78,5% для Африки до 100% для Европы). В расчетах был использован подход LB-UB (low boundary – upper boundary, нижняя и верхняя границы). Для взрослых средняя/наибольшая нагрузка составила: для Африки (за счёт потребления сорго) – 16–17/32–34 нг/кг массы тела в день, для Северной и Южной Америки (за счёт потребления зерновых, детского питания, бобовых и зернобобовых, орехов и масличных семян и корней – источников крахмала) – 0,3–6,3/0,6–13 нг/кг массы тела в сутки, для Восточного Средиземноморья (за счёт потребления сорго) – 0,3–3,5/0,6–7 нг/кг массы тела в сутки, для Европы (за счёт потребления зерновых, закусок и десертов) – 0–22/0–44 нг/кг массы тела в сутки, для западной части Тихого океана (за счёт потребления зерновых) – 0–0,5/0–1 нг/кг массы тела в сутки [4].

Регламентированное содержание СТЦ в пищевых продуктах и кормах

Техническим регламентом Таможенного союза 029/2012 не допускается содержание СТЦ в ферментных препаратах грибного происхождения [85]. В проекте ТР ТС «О безопасности кормов и кормовых добавок» заложены нормативы содержания СТЦ в кормовых добавках на уровне 0,1 мг/кг для продуктивной птицы, свиней, крупного рогатого скота, овец и коз; 0,05 мг/кг – для молодняка, дойных коров и лошадей; 0,05 мг/кг в солоде, жоме, мезге и других видах кормовой продукции пивоваренной, сахарной, крахмалопаточной промышленности.

В Чешской республике и Словакии были установлены нормативы на содержание СТЦ в рисе, овощах, картофеле, муке, птице, мясе и молоке на уровне 5 мкг/кг, для других пищевых продуктов – на уровне 20 мкг/кг [25]. Однако при вступлении в Европейский Союз эти нормативы были отменены. В США (штат Калифорния) установлен уровень СТЦ, «не представляющий значительного риска» для здоровья человека – 8 мкг/кг массы тела в сутки для взрослых [9]. В Китае максимально допустимый уровень СТЦ в пищевых продуктах растительного происхождения составляет 25 мкг/кг [23].

Таким образом, можно сделать вывод о доказанном наличии у СТЦ выраженных токсических свойств и возможного канцерогенного действия. В то же время недостаточность накопленных данных о частоте и уровнях загрязнения этим микотоксином пищевой продукции требует расширения исследований по его распространённости в пище и на основании полученных фактов разработки гигиенических регламентов в приоритетных видах продукции.

Литература

(пп. 1–28, 30–45, 47–55, 61–84 см. References)

- ГОСТ 31653-2012. Корма. Метод иммуноферментного определения микотоксинов. Москва: «Стандартинформ». 16 с.
- Чалый З.А., Малинкин А.Д., Седова И.Б. ВЭЖХ-МС/МС метод определения стеригматоцистина в продовольственном зерне и его использование в целях мониторинга. В сборнике: Актуальные вопросы нутрициологии, биотехнологии и безопасности пищи. Материалы Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием. 2017. С. 294-297.
- Дробин Ю.Д., Солдатенко Е.А., Сухих Е.А., Коваленко А.В. Итоги мониторинга контаминации фуражного зерна пшеницы, ячменя и кукурузы на юге России. *Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии*. 2015; 4(16). 27-30.
- Буркин А.А., Кононенко Г.П., Гаврилова О.П., Гагкаева Т.Ю. Микотоксины в бобовых травах естественных кормовых угодий европейской России. *Сельскохозяйственная биология*. 2017; 52(2): 409-417.
- Кононенко Г.П., Буркин А.А. О контаминации микотоксинами партий сена в животноводческих хозяйствах. *Сельскохозяйственная биология*. 2014; 4: 120-126.
- Кононенко Г.П., Буркин А.А. О контаминации микотоксинами сенажа и силоса в животноводческих хозяйствах. *Сельскохозяйственная биология*. 2014; 6: 116-122.
- Фетисов Л.Н., Солдатенко Н.Н., Русанов В.А. и др. Определение минимально допустимого уровня стеригматоцистина в кормах для поросят. Каталог инновационных разработок ГНУ СКЗНИВИ Россельхозакадемии, г. Новочеркасск. 2011. с. 23-24.
- Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 029/2012 «Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств», 2012. 308 с.

STC to be set for feed additives for productive birds, pigs, cattle, sheep and goats at the level of 0,1 mg/kg; for young animals, milking cows and horses - 0,05 mg/kg; in malt, pulp, pulp and other types of forage products of brewing, sugar, starch industry - 0,05 mg/kg.

The Czech Republic and Slovakia have set regulations on STC at a level of 5 mg/kg for rice, vegetables, potatoes, flour, poultry, meat, milk, and 20 mg/kg for other foods [25]. However, after they became the member of the EU, this regulatory level was canceled. California (the USA) set STC intake as 'no significant risk' for humans at the level of 8 µg/kg of body weight per day for adults [9]. The regulatory STC level in foodstuff below 25 µg/kg acts in China [23].

So, STC possesses evident toxic properties and is a possible carcinogen to humans. On the other hand, available data on toxin's occurrence in food is insufficient. Expansion of research on the frequency and contamination levels of STC in food is a basis for elaboration of hygienic regulations on allowable mycotoxin's concentration in priority products.

References

- EFSA Scientific Opinion on the risk for public and animal health related to the presence of sterigmatocystin in food and feed. *EFSA Journal*. 2013;11(6): 3254. 81 p.
- National Center for Biotechnology Information. *PubChem Compound Database*; CID=5280389, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280389> (accessed Nov. 30, 2017).
- Maness D.D., Schneider L.W., Sullivan G. Fluorescence behavior of sterigmatocystin. *J. Agricultural and Food Chemistry*. 1976; 24 (5): 961-963.
- FAO/WHO. Evaluation of certain contaminants in food: eighty-third report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Geneva: World Health Organization: (WHO technical report series; № 1002) 2017; P. 106-121.
- Jurjević Z., Peterson S.W., Solfrizzo M., Peraica M. Sterigmatocystin production by nine newly described *Aspergillus* species in section *Versicolores* grown in two different media. *Mycotoxin Res.* 2013; 29(3): 141–145. doi: 10.1007/s12550-013-0160-4.
- Rank C., Nielsen K.F, Larsen T.O., Varga J., Samson R.A. and Frisvad J.C. Distribution of sterigmatocystin in filamentous fungi. *Fungal Biology*. 2011;115: 406–420.
- Rabie C.J., Steyn M., van Schalkwyk G.C. New Species of *Aspergillus* producing sterigmatocystin. *Applied and Environmental Microbiology*, 1977; 5: 1023-1025.
- Frisvad J.C., Samson R. *Americella venezuelensis*, a new species with stellate ascospores producing sterigmatocystin and aflatoxin B₁. 2004. *Syst. Appl. Microbiol.* 27. P. 672–680.
- Versilovskis A., De Saeger S. Sterigmatocystin: Occurrence in foodstuffs and analytical methods - An overview. *Molecular nutr. & Food research*. 2010; 54(1): 136–147. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200900345>.
- Rabie C.J., Lubben A., Steyn M. Production of STC by *A. versicolor* and *Bipolaris sorokiniana* on semisynthetic liquid and solid media. *Appl. Environ. Microbiol.* 1976; 32: 206–208.
- Abramson D., Hulasareb R., Whitea N.D.G., Jayasb D.S., Marquardt R.R. Mycotoxin formation in hullless barley during granary storage at 15 and 19% moisture content. *J. St. Prod. Res.* 1999; 35: 297–305.
- Yabe K., Nakajima H. Enzyme reactions and genes in aflatoxin biosynthesis. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2004; 64(6): 745-755.
- Yu J., Chang P.-K., Erlich K.C., Cary J.W., Bhatnagar D., Cleveland T.E., Payne G.A., Linz J.E., Woloshuk Ch.P., Bennet J.W. Clustered pathway genes in aflatoxin biosynthesis. *Applied Environmental Microbiology*. 2004; 70(3): 1253-1262.
- Stein P.S. Mycotoxin analysis. *Pure Appl. Chem.* 1981; 53: 891-902. <https://doi.org/10.1007/BF00432997>.
- Food Quality and Safety Methods of Analysis Guide, Ed. Skurikhina I.M., Tutelyan V.A. - M.: Brandes, Medicine, 1998. P. 226-230.
- Stroka J., Dasko L., Spangenberg B., Anklam E. Determination of the mycotoxin, sterigmatocystin, by thin layer chromatography and reagent-free derivatization. *J Liquid Chromatogr Relat Technologies*. 2004; 27: 2101–2111.

17. Versilovskis A., De Saeger S. & Mikelsone V. Determination of sterigmatocystin in beer by high performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *World mycotoxin journal*. 2008; 1(2): 161–166. <https://doi.org/10.3920/WMJ2008.x012>.
18. Marley E., Brown P., Mackie J., Donnelly C., Wilcox J., Pietri A., Macdonald S. Analysis of sterigmatocystin in cereals, animal feed, seeds, beer and cheese by immunoaffinity column clean-up and HPLC and LC-MS/MS quantification. *Food Additives and Contaminants Part A-Chemistry*. 2015; 32: 2131–2137.
19. Sasaki R., Hossain M.Z., Abe N., Uchigashima M. & Goto T. Development of an analytical method for the determination of sterigmatocystin in grains using LCMS after immunoaffinity column purification. *Mycotoxin research*. 2014; 30(2): 123–129. <https://doi.org/10.1007/s12550-014-0196-0>.
20. Ok H.E., Tian F., Hong E. Y., Paek O., Kim S.-H., Kim D. & Chun H.S. Harmonized Collaborative Validation of Aflatoxins and Sterigmatocystin in White Rice and Sorghum by Liquid Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry. *Toxins*. 2016; 8(12) <https://doi.org/10.3390/toxins8120371>.
21. Uhlig S., Eriksen G.S., Hofgaard I.S., Krska R., Beltran E., Sulyok M. Faces of a Changing Climate: Semi-Quantitative Multi-Mycotoxin Analysis of Grain Grown in Exceptional Climatic Conditions in Norway. *Toxins*, 2013; 5(10). 1682–1697. <https://doi.org/10.3390/toxins5101682>.
22. Yogendrarajah P., Van Poucke C., De Meulenaer B., De Saeger S. Development and validation of a QuEChERS based liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the determination of multiple mycotoxins in spices. *J. of Chromatogr. A*, 2013; 1297: 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.04.075>.
23. Li M., Li P., Wu H., Zhang Q., Ma F., Zhang Z.W., Ding X., Wang H. An Ultra-sensitive monoclonal antibody-based competitive enzyme immunoassay for sterigmatocystin in cereal and oil products. *PLoS One*, 2014; 9, e106415. doi:10.1371/journal.pone.0106415.
24. Sun J., Li W., Zhang Ya., Hu X., Wu L., Wang B. QuEChERS Purification Combined with Ultrahigh-Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry for Simultaneous Quantification of 25 Mycotoxins in Cereals. *Toxins*. 2016; 8: 375. doi:10.3390/toxins8120375.
25. Mol H.G.J., Mac Donald S.J., Anagnostopoulos C., Spanjer M., Bertuzzi T., Pietri A. European survey on sterigmatocystin in cereals, cereals-based products, beer and nuts. *World Mycotoxin Journal*, 2016; 9(4): 633–642. <https://doi.org/10.3920/WMJ2016.2062>.
26. Zhao Y., Huang J., Ma L., Wang F. Development and validation of a simple and fast method for simultaneous determination of aflatoxin B-1 and sterigmatocystin in grains. *Food chemistry*. 2017; 221: 11–17. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.036>.
27. Hu X., Hu R., Zhang Z., Li P., Zhang Q., Wang M. Development of a multiple immunoaffinity column for simultaneous determination of multiple mycotoxins in feeds using UPLC-MS/MS. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 2016; 408(22): 6027–6036. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9626-5>.
28. Hossain M. Z., Goto T. Determination of sterigmatocystin in grain using gas chromatography-mass spectrometry with an on-column injector. *Mycotoxin Research*. 2015; 31: 17–22.
29. Custom Union Official standard (national standard) 31653-2012. Feed. The method of enzyme immunoassay to determine mycotoxins. Moscow: Standartinform. 16 p.
30. Vaclavik L., Zachariasova M., Hrbek V., Hajslova J. Analysis of multiple mycotoxins in cereals under ambient conditions using direct analysis in real time (DART) ionization coupled to high resolution mass spectrometry. *Talanta*. 2010; 82(5): 1950–1957. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.08.029>.
31. Yao D.-S., Cao H., Wen S., Liu D.-L., Bai Y., Zheng W.-J. A novel biosensor for sterigmatocystin constructed by multi-walled carbon nanotubes (MWNT) modified with aflatoxin-detoxifying enzyme (ADTZ). *Bioelectrochemistry*. 2006; 68(2): 126–133. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2005.05.003>.
32. Chen J., Liu D., Li S., Yao D. Development of an amperometric enzyme electrode biosensor for sterigmatocystin detection. *Enzyme and microbial technology*. 2010; 47(4): 119–126. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2010.06.008>.
33. Xu L., Fang G., Pan M., Wang X., Wang S. One-pot synthesis of carbon dots-embedded molecularly imprinted polymer for specific recognition of sterigmatocystin in grains. *Biosensors & Bioelectronics*. 2016; 77: 950–956. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.10.072>.
34. Kong D., Xie Z., Liu L., Song S., Kuang H., Cui G. Development of indirect competitive ELISA and lateral-flow immunochromatographic assay strip for the detection of sterigmatocystin in cereal products. *Food and Agricultural Immunology*. 2017; 28(2): 260-273. <http://dx.doi.org/10.1080/09540105.2016.1263985>.
35. Turner N.W., Bramhmbhatt H., Szabo-Vezse M., Poma A., Coker R., Piletsky S.A. Analytical methods for determination of mycotoxins: An update (2009–2014). *Anal Chim Acta*. 2015; 901:12-33. doi: 10.1016/j.aca.2015.10.013.
36. De Santis B., Debegnach F., Gregori E., Russo S., Marchegiani F., Moracci G., Brera C. Development of a LC-MS/MS Method for the Multi-Mycotoxin Determination in Composite Cereal-Based Samples. *Toxins (Basel)*. 2017; 9(5): 169. doi:10.3390/toxins9050169.
37. Gosetti F., Mazzucco E., Zampieri D., Gennaro M.C. Signal suppression/enhancement in high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*. 2010; 1217: 3929-3937.
38. Sulyok M., Krska R., Schuhmacher R. Application of a liquid chromatography-tandem mass spectrometric multi mycotoxin method to multi-mycotoxin determination in raw cereals and evaluation of matrix effects. *Food Additives and contaminations*. 2007; 24(10): 1184-1195.
39. Bertuzzi T., Romani M., Rastelli S., Mulazzi A., Pietri A. Sterigmatocystin Occurrence in Paddy and Processed Rice Produced in Italy in the Years 2014–2015 and Distribution in Milled Rice Fractions. *Toxins*. 2017; 9(3). <https://doi.org/10.3390/toxins9030086>.
40. Adisorn J., Thumnoon N. Determination of Mycotoxins in Brown Rice Using QuEChERS Sample Preparation and UHPLC–MS–MS. *J Chromatogr Sci*. 2016; 54(5): 720–729. doi:10.1093/chromsci/bmv244.
41. Anastassiades M., Lehoutay S.J., Stajnbaher D., Schenck F.J. Fast and easy multi residue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. *JAOAC Int*. 2003; 86(2): 412-431.
42. Scott P.M., van Walbeek W., Kennedy B., Anyeti D. Mycotoxins (ochratoxin A, citrinin and sterigmatocystin) and toxigenic fungi in grains and other agricultural products. *J. Agric. Food Chem.*, 1972; 20(6): 1103–1109. DOI: 10.1021/jf60184a010.
43. Scudamore K.A., Hetmanski M.T., Clarke P.A., Barnes K.A., Startin J.R. Analytical methods for the determination of sterigmatocystin in cheese, bread and corn products using HPLC with atmospheric pressure ionization mass spectrometric detection. *Food Addit Contam.* 1996; 13(3): 343-58.
44. Versilovskis A., De Saeger S. Sterigmatocystin: Occurrence in food-stuffs and analytical methods - An overview. *Molecular nutrition & food research*. 2010; 54(1): 136–147. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200900345>.
45. Versilovskis A., Bartkevics V., Mikelsone V. Sterigmatocystin presence in typical Latvian grains. *FoodChemistry*. 2008; 109(1): 243-248.
46. Chaly Z.A., Malinkin A.D., Sedova I.B. HPLC-MS/MS method of sterigmatocystin determination in food grain and its application to monitoring purposes. 2017. Materials of the Russian Conference of Young Scientists with International Participation: Actual issues of nutrition, biotechnology and food safety. P. 294-297.
47. Tian H., Liu X. Survey and analysis of sterigmatocystin contamination in grains in China. *Journal Hygiene Research*. 2004; 33 (5): 606-608.
48. Zhao Y., Wang Q., Huang J., Ma L., Chen Z., Wang F. Aflatoxin B₁ and sterigmatocystin in wheat and wheat products from supermarkets in China. *Food Addit. and Contam. Part B. Surveill.* 2017; 8: 1-6. doi: 10.1080/19393210.2017.1388295. (E-pub ahead of print).
49. Weidenborner M. 2017. Mycotoxins in Plants and Plant Products. Cereal and Cereal Products. ISBN 978-3-319-46715-3.
50. Nomura M., Aoyama K., Ishibashi T. Sterigmatocystin and aflatoxin B₁ contamination of corn, soybean meal, and formula feed in Japan. *Mycotoxin Research*. 2017; 1-7. <https://doi.org/10.1007/s12550-017-0295-9>.
51. Hickert S., Gerding J., Ncube E., Hübner F., Flett B., Cramer B., Humpf H-U. A new approach using micro HPLC-MS/MS for multi-mycotoxin analysis in maize samples. *Mycotoxin Res*. 2015; 31(2): 109-115.

52. Bertuzzi T., Romani M., Rastelli S., Mulazzi A., Pietri A. Sterigmatocystin Occurrence in Paddy and Processed Rice Produced in Italy in the Years 2014-2015 and Distribution in Milled Rice Fractions. *Toxins*. 2017; 9(3). <https://doi.org/10.3390/toxins9030086>.
53. Ok H.E., Tian F., Hong E.Y., Paek O., Kim S.-H., Kim D., Chun H.S. Harmonized Collaborative Validation of Aflatoxins and Sterigmatocystin in White Rice and Sorghum by Liquid Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry. *Toxins*. 2016; 8(12). <https://doi.org/10.3390/toxins8120371>.
54. Oueslati S., Blesa J., Moltó J.C., Ghorbel A., Mañes J. Presence of mycotoxins in sorghum and intake estimation in Tunisia. *Food Addit Contam. Part A*. 2014; 31(2): 307-318.
55. Joint FAO/WHO food standards programme codex committee on contaminants in foods. 2016. Further analysis of data provided by the FAO/WHO project on mycotoxins in sorghum. CX/CF 16/10/3-Add.1. 13 p.
56. Drobin Yu.D., Soldatenko N.A., Suhyh E.A., Kovalenko A.V. Results of monitoring of contamination of wheat, barley and corn fodder grain on the South of Russia. *Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology*. 2015; 4(16). 27-30. (In Russian).
57. Burkin A.A., Kononenko G.P., Gavrilo O.P., Gagkaeva Y.Yu. Mycotoxins in the legumes of natural fodder of the European Russia. *Agricultural biology*. 2017; 52(2): 409-417. (In Russian).
58. Kononenko G.P., Burkin A.A. Mycotoxin contaminations in the commercially used hay. *Agricultural biology*. 2014; 4: 120-126. (In Russian).
59. Kononenko G.P., Burkin A.A. Mycotoxin contaminations in commercially used haylage and silage. *Agricultural biology*. 2014; 6: 116-122. (In Russian).
60. Fetisov L.N., Soldatenko N.A., Rusanov V.A., et al. Determination of the minimum permissible level of sterigmatocystin in feed for piglets. Catalog of innovative developments of North Caucasian Zonal Scientific-Research Veterinary Institute, Novocherkassk. 2011. P. 23-24. (In Russian).
61. Nichea M.J., Palacios S.A., Chiacchiera S.M., Sulyok M., Krska R., Chulze S.N., Ramirez M.L. Presence of Multiple Mycotoxins and Other Fungal Metabolites in Native Grasses from a Wetland Ecosystem in Argentina Intended for Grazing Cattle. *Toxins*. 2015; 7(8): 3309-3329. <https://doi.org/10.3390/toxins7083309>.
62. Versilovskis A., Bartkevics V. Stability of sterigmatocystin during the bread making process and its occurrence in bread from the Latvian market. *Mycotoxin Research*. 2012; 28(2): 123-129. DOI: 10.1007/s12550-012-0124-0.
63. Greenhill A.R., Blaney B.J., Shipton W.A., Frisvad J.C., Pue A., Warner J.M. Mycotoxins and toxigenic fungi in sago starch from Papua New Guinea. *Letters in applied microbiology*. 2008; 47(4): 342-347. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02439.x>.
64. Culliao A.G.L., Barcelo J.M. Fungal and mycotoxin contamination of coffee beans in Benguet province, Philippines. *Food additives and contaminants part A*. 2015; 32(2): 250-260. <https://doi.org/10.1080/19440049.2014.1001796>.
65. Youssef M.S., El-Maghraby O.M.O., Ibrahim Y.M. Mycobiota and Mycotoxins of Egyptian Peanut (*Arachis hypogaea L.*) Seeds. *International Journal of Botany*. 2008; 4 (4): 349-360. 10.3923/ijb.2008.349-360.
66. Versilovskis A., De Saeger S., Mikelsone V. Determination of sterigmatocystin in beer by high performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *World mycotoxin journal*. 2008; 1(2): 161-166. <https://doi.org/10.3920/WMJ2008.x012>.
67. Zhao Y., Huang J., Ma L., Liu S., Wang F. Aflatoxin B₁ and sterigmatocystin survey in beer sold in China. *Food Addit Contam Part B*. 2017; 10(1):64-68. doi: 10.1080/19393210.2016.1247919.
68. Northolt M.D., van Egmond H.P., Soentoro P., Deijl E. Fungal growth and the presence of sterigmatocystin in hard cheese. *J Assoc Off Anal Chem*. 1980; 63(1): 115-119.
69. Bartos J., Matyás Z.I. Study of cheeses for the presence of sterigmatocystin. *Veterenarni Medicina (Praha)*. 1982; 28: 189-192.
70. Abd Alla E.A., Metwally M.M., Mehriz A.M., Abu Sree Y.H. Sterigmatocystin: Incidence, fate and production by *Aspergillus versicolor* in Ras cheese. *Nahrung*. 1996; 40(6): 310-313. DOI:10.1002/food.19960400604.
71. Versilovskis A., Van Peteghem C., De Saeger S. Determination of sterigmatocystin in cheese by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food addit and contam. part A*. 2009; 26(1): 127-133. doi.org/10.1080/02652030802342497.
72. Flores-Flores M.E.; Gonzalez-Penas E. An LC-MS/MS method for multi-mycotoxin quantification in cow milk. *Food chemistry*. 2017; 218: 378-385.
73. Bokhari F.M. Spices Mycobiota and Mycotoxins Available in Saudi Arabia and Their Abilities to Inhibit Growth of Some Toxigenic Fungi. *Mycobiology*. 2007; 35(2): 47-53.
74. Zheng R., Xu H., Wang W., Zhan R., Chen W. Simultaneous determination of aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂, ochratoxin A, and sterigmatocystin in traditional Chinese medicines by LC-MS-MS. *Anal. bioanal. chemistry*. 2014; 406(13): 3031-3039. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-7750-7>.
75. Lund F., Filtenborg O., Frisvad J.C. Associated mycoflora of cheese. 1995. *Food Microbiology*. 12. 173-180.
76. Lafont P., Siriwaranda M.G., Lafont J. Contamination de fromages par des metabolites forgiques. *Med.Nutr*. 1979; 15: 257-262.
77. Di Mavungu J.D., Monbaliu S., Scippo M-L., Maghuin-Rogister G., Schneider Y-J., Larondelle Y., Callebaut A., Robbins J., Van Peteghem C., De Saeger S. LC-MS/MS multi-analyte method for mycotoxins determination in food supplements. *Food Addit Contam*. 2009; 26(6): 885-895.
78. Walkow J., Sullivan G., Maness D., Yakatan G.J. Sex and age differences in the distribution of 14C-sterigmatocystin in immature and mature rats: a multiple dose study. *Journal of the American College of Toxicology*. 1985; 4: 45-51.
79. International Agency for Research on Cancer (IARC). Some naturally occurring substances. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Summaries and Evaluations, Sterigmatocystin, IARC, Lyon, France, Monographs 1987. 10. p. 72.
80. Vesper R.F., Horn B.W. Sterigmatocystin in dairy cattle feed contaminated with *Aspergillus versicolor*. *Appl Environ Microbiol*. 1985; 49: 234-35.
81. Sazhin A.A., Zhenikhova N.I. Features of the course aspergillosis large parrots. *Agrarian herald of the Urals*. 2012; 10-2 (105): 24-26.
82. Garcia-Moraleja A., Font G., Manes J., Ferrer E. Analysis of mycotoxins in coffee and risk assessment in Spanish adolescents and adults. *Food Chem Toxicol*. 2015; 86:225-33.
83. Alkadri D., Rubert J., Prodi A., Pisi A., Manes J., Soler C. Natural co-occurrence of mycotoxins in wheat grains from Italy and Syria. *Food Chem*. 2014; 157: 111-8.
84. Yogendrarajah P., Jacxsens L., Lachat C., Walpita C.N., Kolsteren P., De Saeger S., et al. Public health risk associated with the cooccurrence of mycotoxins in spices consumed in Sri Lanka. *Food Chem Toxicol*. 2014; 74: 240-248.
85. Technical Regulations of the Customs Union TR CU 029/2012 «Safety requirements for food additives, flavors and technological additives», 2012. 308 p. (In Russian).