

**ПРОБЛЕМА ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ
РАСТИТЕЛЬНЫМИ ЛЕКТИНАМИ**

Быкова К.А., Митева О.А., Дубровина И.А., Мясников В.А.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный
научно-исследовательский испытательный институт военной медицины»*

Министерства обороны Российской Федерации

195043, г. Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая, д. 4,

телефон/факс: 8(812)775-02-41,

e-mail: gniiivm_7@mil.ru

Резюме. В обзоре представлен анализ потенциально возможных загрязнений пищевых продуктов растительными лектинами. Определен и обоснован список продуктов, наиболее подверженных загрязнению растительными лектинами. Рассмотрены современные методы идентификации растительных лектинов в продуктах питания на примере ричина. Проведен анализ опыта управления общественного здравоохранения по готовности к чрезвычайным ситуациям США по реализации комплексного подхода к идентификации растительных лектинов в продуктах питания с использованием методов экспресс-диагностики.

Ключевые слова растительные лектины, ричин, методы детекции, контаминация продуктов питания

THE PROBLEM OF FOOD CONTAMINATION BY PLANT LECTINS

Bykova K.A., Miteva O.A., Dubrovina I.A., Myasnikov V.A.

State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine, Ministry of Defense of Russian Federation, 195043 Saint Petersburg, Lesoparkovaya Str., 4, 8(812)775-02-41,

gniiivm_7@mil.ru

Abstract. The review presents an analysis of the possible contaminations of food products by plant lectins. The list of products most susceptible to contamination by plant lectins was determined and substantiated. Modern methods for the identification of plant lectins in foodstuffs are discussed on the example of ricin. The analysis of the experience of Department of Public Health Services in emergency situations in the United States in the implementation of an integrated approach to the identification of plant lectins in food using the methods of rapid diagnosis has been carried out.

Keyword: plant lectins, ricin, methods of detection, food contamination by plant lectins

Растущая численность населения предъявляет требования к увеличению объемов производства в сельскохозяйственной и пищевой промышленности. Производство продуктов питания превратилось в глобальную индустрию. Эта глобализация делает более эффективными процесс производства и транспортировку, позволяет многим продуктам оставаться доступными круглый год.

Вместе с тем эти изменения приводят к пониманию того, что значение ошибки, допущенной во время производства, транспортировки или хранения увеличивается в масштабе и распределении. Широко известные случаи загрязнения пищевых продуктов связаны не только с традиционными пищевыми патогенами, такими как *Salmonella* или *Escherichia coli* O157 [1], но также и с ксенобиотиками, например, меламином и циануровой кислотой [2]. Эти инциденты подчеркивают внутреннюю уязвимость системы производства продуктов питания к загрязнению, а также демонстрируют, что данная отрасль представляется вероятной мишенью для проведения различного вида противоправных действий, в частности – биотеррористических актов.

К числу наиболее значимых загрязнителей продуктов питания относятся лектины растительного происхождения, в частности рицин, вискумин, волкензин и др. Опасность этих веществ обусловлена доступностью сырья для их получения, простыми технологиями производства, низкими концентрациями, оказывающие летальное воздействие, а также слабой разработанностью системы индикации и диагностики поражений.

Вышеизложенное позволило сформулировать цель настоящего исследования, как поиск и обоснование перечня продуктов, производство которых, в силу особенностей технологии, может стать уязвимым для преднамеренного заражения растительными лектинами, а также анализ степени разработанности современных методов экспресс-диагностики для их индикации и идентификации на примере рицина.

Рицин – растительный токсин, который принадлежит к большому семейству бинарных белков (так называемые А-В токсины), инактивирующих рибосомы. А-цепь представляет собой N-гликозидазу, которая обладает ферментативной активностью, В-цепь представляет собой лектин, который связывается с галактозильными остатками клеточных мембран, обеспечивая проникновение в клетки мишени [3]. Токсичность рицина проявляется лишь при условии наличия дисульфидной связи между субъединицами (А-S-S-B), при разрыве этой связи рицин перестает быть активным и оказывать свои биологические эффекты [4]. Рицин относится к чрезвычайно токсичным веществам (среднелетальная доза порядка 0,4 мкг/кг для мышей при внутрибрюшинном пути введения) [5]. Предполагается, что попадание одной молекулы токсина в клетку достаточно, чтобы остановить в ней синтез белка [6]. Токсический эффект рицина

вызывает множественные расстройства практически всех органов и систем организма, приводящие к отсроченной гибели.

Рицин содержится в семенах клещевины, которые являются источником уникального, высокоценного масла. С расширением использования касторового масла в промышленных областях (например, в производстве биотоплива) [7], увеличились и опасения по поводу богатой рицином касторовой муки (содержание лектина не менее 0,6 % по массе), получаемой в качестве побочного продукта при производстве касторового масла, и используемой в качестве корма для скота.

Имеются ограниченные данные о естественных путях контаминации рицином продуктов животного происхождения (молоко, мясо, яйца). Установлено, что домашний скот имеет очень низкую толерантность к воздействию рицина через корм до того, как проявятся клинические симптомы [8]. Поэтому маловероятно, что животные, подвергшиеся сильному воздействию, попадут в пищевую цепь, а, соответственно, риск переноса рицина в продукты животноводства естественным путем незначителен. Соответственно, отравление рицином человека возможно только в случае преднамеренной контаминации продуктов питания.

Так в исследовании Зартмана с соавт. был смоделирован эксперимент намеренного загрязнения фруктов и овощей (брокколи, салат, морковь, сельдерей, виноград) рицином, добавленным в раствор для опрыскивания. Опрыскивание овощей и фруктов, как правило, используется в супермаркетах, чтобы сохранить свежесть и придать им товарный вид. И хотя все фрукты и овощи сорбировали рицин, его концентрация была не значительной. По полученным данным, исходя из минимальной смертельной дозы 1 мг/кг рицина на массу тела для перорально введения, человеку весом 68 килограмм потребуется 68 мг токсина. Потребление примерно 1,13 кг брокколи или салата, обработанных рицином, оказалось эквивалентно летальной дозе при пероральном введении. Это предполагает, что весь сорбированный рицин биодоступен [9]. Следовательно смертельные случаи в следствие употребления в пищу овощей и фруктов, загрязненных рицином, возможны, но мало вероятны.

Наиболее вероятной мишенью для преднамеренной контаминации рицином являются пищевые продукты, подвергаемые пастеризации и помещенные в индивидуальную герметичную упаковку, такие как молоко и его производные, соки, питьевая вода и т.п. Так, молоко считается одним из наиболее вероятных пищевых продуктов, доступных для загрязнения, не только из-за его высокого потребления, но также из-за уязвимой системы переработки [10]. Результаты исследований Джексона и соавт. доказывают, что условия обработки, используемые для пастеризации цельного молока (63 °C – 30 мин; 72 °C – 15 с; 89 °C – 1 с) не обеспечивают полную инактивацию рицина [11].

Аналогичная проблема связана и с производством соков. Температуры и время, которые можно использовать для пастеризации соков (а, именно, 72 °С – 15с, 90 °С – 0,5 с) могут быть недостаточными для полной инактивации токсина. Также следует отметить, что рицин добавленный в апельсиновый сок после пастеризации, может оставаться активным достаточно длительный срок (10-13 дней) и вполне может достичь потребителя [12].

В настоящее время растительные лектины не рассматриваются в качестве поражающих агентов, но оценка вероятности использования веществ данной группы в качестве агентов для биотеррористических атак представляется достаточно высокой. Это определяет актуальность разработки способов их экспресс-диагностики в продуктах питания, которая рассмотрена нами на примере рицина.

Необходимым шагом в решении этой проблемы является способность различать (идентифицировать) активную и неактивную формы рицина. Во время первоначального реагирования на предполагаемое воздействие токсина, информация об уровне биологической активности вещества будет в значительной степени определять стратегию по предотвращению возможных последствий контаминации, особенно в случае загрязнения пищевых продуктов [13].

Разработано множество методов, которые обеспечивают качественные и количественные способы обнаружения рицина. Их можно разделить на два класса:

1) Методы, способные детектировать диссоциированные субъединицы рицина (иммуноферментный анализ (ИФА), хМАР иммуноанализ, иммуно-полимеразная цепная реакция (иммуно-ПЦР), коллоидный иммунохроматографический метод);

2) Методы, способные детектировать рицин в активном состоянии (масс-спектрометрия высокого разрешения, анализ цитотоксичности клеточного сопротивления, биологическая проба – «мышинный тест»).

Наши возможности по обнаружению атипичных агентов угрозы, таких как рицин, в реальности и пониманию их поведения в пищевых продуктах в настоящее время крайне ограничены [14]. А методы, которые могут обнаружить токсичность и активность А-цепи рицина, имеют ограничения в селективности и чаще всего не могут отличить рицин от других риботоксинов [15].

Управление общественного здравоохранения по готовности к чрезвычайным ситуациям Соединенных Штатов Америки (США) в случае загрязнения окружающей среды, продуктов питания и др. рицином используют следующие методы детекции в первые 24 часа после контаминации: «Сэндвич»-ИФА, вестерн-блот, а также ПЦР совместно с иммуноферментным анализом. Специалисты отмечают, что также целесообразно использовать масс-спектрометрию и оценку цитотоксичности на клеточных линиях в качестве методов детекции, однако данные способы нельзя

причислить к экспресс-методам [16]. На сегодняшний день разработаны коммерческие тест-системы на основе ИФА и ПЦР, которые доступны на территории США и являются составной частью единой системы реагирования на биоугрозы.

Таким образом, изложенные данные позволяют сделать вывод о том, что продуктами, наиболее подверженными потенциальной террористической атаке, являются молоко и его производные, а также соки в индивидуальной герметичной упаковке, в связи с особенностями технологического процесса обработки, включающего пастеризацию. Температурный режим, при котором проводится пастеризация, не позволяет инактивировать белок. Следовательно, возрастает необходимость надлежащих методов экспресс-диагностики лектинов в продуктах питания из указанного перечня. На данный момент существует ряд надежных и точных методов, способных выявлять диссоциированные субъединицы рицина, однако экспресс-метода, высоко специфично детектирующего активную форму рицина пока не существует.

В Российской Федерации, на сегодняшний день, имеются все необходимые предпосылки к созданию комплексного подхода идентификации рицина в продуктах питания и объектах окружающей среды, но отработанной системы и коммерческий наборов, обеспечивающих ее реализацию еще нет.

Литература

1. Leishman O. N. Concentration and extraction of *Bacillus anthracis* spores and ricin toxin from liquid foods: дис. – University of Minnesota, 2009.
2. Brown C.A. et al. Outbreaks of renal failure associated with melamine and cyanuric acid in dogs and cats in 2004 and 2007 // *Journal of veterinary diagnostic investigation*. – Т. 19. - №. 5. – С. 525-531.
3. Audi J. Ricin poisoning. A comprehensive review / J. Audi [et al.]. – *JAMA*. – 2005. – Vol. 294. – № 18. – P. 2343–2351.
4. Павловская Н.Е., Гагарина И.Н. Функциональная роль лектинов растений как предпосылка для их применения в биотехнологии // *Химия растительного сырья*. – 2017. - №1.
5. Whitfield S. Production, characterisation and testing of an ovine antitoxin against ricin; efficacy, potency and mechanisms of action. – S. Whitfield [et al.]. – *Toxins*. – 2017. – Vol. 9. – № 10. – P. 329–348.
6. Walsh M.J. Ribosome-inactivating proteins: Potent poisons and molecular tools / M.J. Walsh, J.E. Dodd, G.M. Hautbergue. – *Virulence*. – 2013. – Vol. 4. – № 8. – P. 774–784.
7. Brzezinski J. L., Craft D. L. Evaluation of an in vitro bioassay for the detection of purified ricin and castor bean in beverages and liquid food matrices // *Journal of food protection*. – 2007. – Т. 70. – №. 10. – С. 2377-2382.
8. European Food Safety Authority (EFSA). Ricin (from *Ricinus communis*) as undesirable substances in animal feed-Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain // *Efsa Journal*. – 2008. – Т. 6. – №. 9. – С. 726.
9. Zartman R. E., Jaynes W. F. Ricin: Sorption by Soils, Minerals, Textiles, and Food; Soil Infiltration and Dust Transport // *Ricin Toxin*. – 2014. – С. 86-97.
10. Zhang Z. et al. Thermal inactivation reaction rates for ricin are influenced by pH and carbohydrates // *Food and chemical toxicology*. – 2013. – Т. 58. – С. 116-123.
11. Jackson L. S., Tolleson W. H., Chirtel S. J. Thermal inactivation of ricin using infant formula as a food matrix // *Journal of agricultural and food chemistry*. – 2006. – Т. 54. – №. 19. – С. 7300-7304.
12. Jackson L. S., Zhang Z., Tolleson W. H. Thermal stability of ricin in orange and apple juices // *Journal of food science*. – 2010. – Т. 75. – №. 4. – С. T65-T71.
13. Bozza W. P. et al. Ricin detection: Tracking active toxin // *Biotechnology advances*. – 2015. – Т. 33. – №. 1. – С. 117-123.
14. Gaudio J., Salerno R. M. Biosecurity and research: minimizing adverse impacts. – 2004.
15. Kalb S.R., Barr J.R. Mass spectrometric detection of ricin and its activity in food and clinical samples // *Analytical chemistry*. – 2009. – Т. 81. - №. 6. – С. 2037-2042.
16. Holtermann K., Hughes C. A. Response to a Ricin Incident: Guidelines for Federal, State and Local Public Health and Medical Officials // *Office of Public Health Emergency Preparedness*. – 2006.