

**O‘ZBEKISTON RESPUBLIKASI OLIY TA’LIM, FAN VA
INNOVATSIYALAR VAZIRLIGI GULISTON DAVLAT UNIVERSITETI
HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR BERUVCHI
DSc.03/05.06.2020.K/B.91.03 RAQAMLI ILMIY KENGASH**

GULISTON DAVLAT UNIVERSITETI

TOJIKULOV ABDUXALIL ABDUJALIL O‘G‘LI

**O‘ZBEKISTON SHAROITIDA YARATILGAN BIOMAHSULOTLAR
TARKIBIDA TOKSINLARNI YUQORI SAMARALI SUYUQLIK
XROMATOGRAFIYASI METODLARIDA ANIQLASH**

02.00.10 – Bioorganik kimyo (biologiya)

**BIOLOGIYA FANLARI BO‘YICHA FALSAFA DOKTORI (PhD) ILMIY DARAJASINI
OLISH UCHUN YOZILGAN DISSERTATSIYA
AVTOREFERATI**

Guliston-2024

**Biologiya fanlari bo'yicha falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi
avtoreferati mundarijasi**

**Оглавление автореферата диссертации доктора философии
(PhD) по биологическим наукам**

**Contents of dissertation abstract of Doctor of philosophy (PhD)
on biological sciences**

Tojikulov Abduxalil Abdujalil o'g'li

О'zbekiston sharoitida yaratilgan biomahsulotlar tarkibida toksinlarni
yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi metodlarida aniqlash.....3

Тожикулов Абдухалил Абдужалил угли

Определение токсинов в составе биопрепаратов, созданных в
условиях Узбекистана, методами высокоэффективной
жидкостной хроматографии.....21

Tojikulov Abdukhalil Abdujalil o'g'li

Determination of toxins in the composition of biological products
created in the conditions of Uzbekistan using high-performance liquid
chromatography methods.....41

E'lon qilingan ishlar ro'uxati

Список опубликованных работ
List of published works45

**O‘ZBEKISTON RESPUBLIKASI OLIY TA’LIM, FAN VA
INNOVATSIYALAR VAZIRLIGI GULISTON DAVLAT UNIVERSITETI
HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR BERUVCHI
DSc.03/05.06.2020.K/B.91.03 RAQAMLI ILMIY KENGASH**

GULISTON DAVLAT UNIVERSITETI

TOJIKULOV ABDUXALIL ABDUJALIL O‘G‘LI

**O‘ZBEKISTON SHAROITIDA YARATILGAN BIOMAHSULOTLAR
TARKIBIDA TOKSINLARNI YUQORI SAMARALI SUYUQLIK
XROMATOGRAFIYASI METODLARIDA ANIQLASH**

02.00.10 – Bioorganik kimyo (biologiya)

**BIOLOGIYA FANLARI BO‘YICHA FALSAFA DOKTORI (PhD) ILMIY DARAJASINI
OLISH UCHUN YOZILGAN DISSERTATSIYA
AVTOREFERATI**

Guliston-2024

Biologiya fanlari bo'yicha falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi mavzusi O'zbekiston Respublikasi Oliy ta'lim, fan va innovatsiyalar vazirligi huzuridagi Oliy attestatsiya komissiyasida B2024.2.PhD/B1149 raqam bilan ro'yxatga olingan.

Dissertatsiya Guliston davlat universitetida bajarilgan.

Dissertatsiya avtoreferati uch tilda (o'zbek, rus, ingliz (rezyume) Ilmiy kengash veb-sahifasi(www.siyes.uz) va «Ziyonet» Axborot ta'lim portali (www.ziyonet.uz) manzillarida joylashtirilgan.

Ilmiy rahbar:

Qo'shiyev Habibjon Hojiboboyevich

biologiya fanlari doktori, professor

Rasmiy opponentlar:

Xoshimova Nigora Rustamovna

biologiya fanlari doktori, katta ilmiy hodim

Qodirov Orifjon Sharipovich

farmaseftika fanlari nomzodi, dots

Yetakchi tashkilot:

Toshkent kimyo-texnologiya instituti

Dissertatsiya himoyasi Guliston davlat universiteti huzuridagi ilmiy darajalar beruvchi DSc.03/05.06.2020.K/B.91.03 raqamli ilmiy kengashning 2024 yil «_____» _____ kuni soat _____dagi majlisida bo'lib o'tadi. (Manzil: 140100, Guliston shahri, 4-mavze, universitet kampusi. Tel.: (99867) 225-24-90, e-mail: gdu_info@edu.uz).

Dissertatsiya bilan Guliston davlat universiteti Axborot resurs markazida tanishish mumkin (_____ raqam bilan ro'yxatga olingan). (Manzil: 120100, Guliston shahri, 4-mavze, universitet kampusi. Tel.: (99866) 233-38-73, e-mail: sies_info@edu.uz).

Dissertatsiya avtoreferati 2024 yil «_____» _____ kuni tarqatildi.
(2024 yil «_____» _____dagi _____ raqamli reestr bayonnomasi).

Tilyabaev Zaidjon

Ilmiy darajalar beruvchi ilmiy kengash raisi
o'rinbosari, biologiya fanlari doktori, professor

Djurayev Tulkin Arzikulovich

Ilmiy darajalar beruvchi ilmiy kengash ilmiy kotibi
biologiya fanlari falsafa doktori, PhD, dotsent

Xoshimova Nigora Rustamovna

Ilmiy darajalar beruvchi ilmiy kengash qoshidagi
ilmiy seminar raisi, biologiya fanlari doktori, katta
ilmiy xodim

KIRISH (falsafa doktori (PhD) dissertatsiya annotatsiyasi)

Dissertatsiya mavzusining dolzarbligi va zarurati. Jahonda global muammolardan biri turli patogen va fitopatogen mikroorganizmlarning oziq-ovqat mahsulotlari tarkibiga ajratayotgan toksinlardan zaharlanish yoki jiddiy kasalliklarning yuzaga kelayotganligidir¹. Oziq-ovqat mahsulotlari tarkibida besh yuzdan ortiq mikotoksinlar yuzdan oshiq zamburug‘lar ajratadigan oxratoksinlar, aflatoksinlar, zearalenon, fumonisinlar, patulin va sitrininlar kabi mikotoksinlar chorva mollari, parrandalar va aholi salomatligiga salbiy ta’sir etmoqda. BMTning oziq-ovqat mahsulotlari xavfsizligi bo‘yicha FAO va JSST tashkilotlari tomonidan qishloq xo‘jaligi mahsulotlarining 25 foizi mikotoksinlar ifloslanishi qayd etilib, hamkorlikdagi qarorida insoniyat salomatligi bilan bog‘liq holda oziq-ovqat mahsulotlaridagi mikotoksinlar tarkibini monitoring qilib borishning dolzarbligini ko‘rsatgan holda alohida vazifalar belgilangan². Shunga ko‘ra, har bir iqlim sharoitda yetishtirilayotgan oziq-ovqat mahsulotlaridagi toksinlarni aniqlash va miqdoriy ko‘rsatkichlarini boshqarish muhim ahamiyatga ega.

Dunyoda oziq-ovqat xavfsizligi yo‘nalishida patogen va fitopatogen mikroorganizmlarning migratsiyasini boshqarish hamda ularning mahsulotlarga zarar keltirishi bilan birga ajratadigan toksinlarini aniqlash asosida me‘yoriy ko‘rsatkichlarini belgilash bo‘yicha tadqiqotlar olib borilmoqda. Bu borada o‘simlik mahsulotlari xavfsizligini ta‘minlashda patogenlar ajratadigan toksinlarni aniqlashning optimal usullarini tanlash yoki yaratish va mahsulotlar tarkibida mikotoksinlarning miqdoriy ko‘rsatkich chegarasini belgilash, mahsulotlar tarkibida toksinlarni yuqori aniqlikda tahlil qilish imkoniyatiga ega bo‘lgan metodlarni tanlash va yaratish asosida mahsulotlar sifatini nazorat qilishga alohida e’tibor berilmoqda.

Mamlakatimizda bugungi kunda olib borilayotgan tadqiqotlar asosida oziq-ovqat mahsulotlari tarkibini aniqlash va ekologik xavfsiz mahsulotlar yaratish bo‘yicha nanotexnologik yondashuvlarga asoslangan innovatsion ishlanmalar amaliyotga tadbiiq etilib muayyan ilmiy natijalarga erishilmoqda. Yangi O‘zbekiston iqtisodiyotini yanada rivojlantirish bo‘yicha Taraqqiyot strategiyasida³ «ilmiy-tadqiqot va innovatsiya faoliyatini rag‘batlantirish, ilmiy va innovatsiya yutuqlarini amaliyotga joriy etishning samarali mexanizmlarini yaratish» bo‘yicha muhim vazifalar belgilangan. Shunga ko‘ra, mamlakatimizda oziq-ovqat yo‘nalishida muhim strategik ahamiyatga ega bo‘lgan o‘simlik mahsulotlarining ekologik xavfsizligini ta‘minlash maqsadida patogenlarga chidamli o‘simlik navlarini tanlash va yaratish, mahsulotlari tarkibidagi mikotoksinlarni aniqlashning samarali metodlarini tanlash yoki yaratish ilmiy va amaliy jihatdan alohida ahamiyatga ega hisoblanadi.

¹Lara H. H., Ayala-Nunez N. V., Ixtepan-Turrent L., Rodriguez-Padilla C. Mode of anti viral action of silver nanoparticles against HIV-1// *J. Nanobiotechnol.*-2010.-№ 8.-p. 31–39.

²Bulletin of the South Ural State University. Ser. Food and Biotechnology. 2020, vol. 8, no. 1, pp. 105–111

³ O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2022 yil 28yanvardagi PF-60-son “Yangi O‘zbekistonning taraqqiyot strategiyasi to‘g‘risida”gi Farmoni.

“O‘zbekiston Respublikasi qishloq xo‘jaligini rivojlantirishning 2020-2030 yillarga mo‘ljallangan strategiyasi”da Oziq-ovqat xavfsizligi keng qamrovli ijtimoiy-iqtisodiy, demografik va ekologik omillarga bog‘liq bo‘lib, mamlakat rivojlanishining asosiy tarkibiy qismlaridan biri hisoblanadi. 2022-yil 6-oktyabrdagi “Qishloq xo‘jaligi mahsulotlari yetishtirishni moliyaviy qo‘llab-quvvatlashning qo‘shimcha chora-tadbirlari to‘g‘risida”gi PQ-387-sonli qarorlari, 2020yil 10-noyabrdagi «Aholining sog‘lom ovqatlanishini ta‘minlash bo‘yicha qo‘shimcha chora-tadbirlar to‘g‘risida»gi PF-4887-son⁴, 2018 yil 16-yanvardagi «Mamlakatning oziq-ovqat xavfsizligini yanada ta‘minlash chora-tadbirlari to‘g‘risida»gi PF-5303-son hamda 2022yil 29 yanvardagi “2022-2026 yillarga mo‘ljallangan yangi O‘zbekistonning taraqqiyot strategiyasi to‘g‘risida”gi PF-60-son farmoni hamda mazkur faoliyatga tegishli boshqa huquqiy-me‘yoriy hujjatlarda oziq-ovqat xavfsizligi ta‘minlash to‘g‘risida belgilangan vazifalarni amalga oshirishda ushbu dissertatsiya tadqiqoti muayyan darajada xizmat qiladi.

Tadqiqotning Respublika fan va texnologiyalari rivojlanishining asosiy ustuvor yo‘nalishlariga mosligi. Mazkur tadqiqot respublika fan va texnologiyalar rivojlanishining V «Qishloq xo‘jaligi, biotexnologiya, ekologiya va atrof muhitni muxofaza qilish» ustuvor yo‘nalishiga muvofiq bajarilgan.

Muammoning o‘rganilganlik darajasi. Mikotoksinlarning paydo bo‘lishi haqida dastlabki ma‘lumotlar, 1977-yilda BMTning Atrof-muhit bo‘yicha dasturining mikotoksinlar bo‘yicha birinchi konferentsiyasida taqdim etilgan. O‘sha paytda turli ozuqalar va oziq-ovqat mahsulotlari tarkibida aflatoksinlar, zearalenon, oxratoksin A, sitrin, trikotsenlar, patulin, va ergot alkaloidlarining tabiiy paydo bo‘lishi ko‘rsatilgan. Oziq-ovqat xavfsizligi bo‘yicha don tarkibidai bo‘ladigan nivalenol, zearalenon toksinlarini birinchi marta Polshalik Jelinek CF, Pohland AE, Wood GE 1989 yilda o‘rganilgan. 1990 yilda Peraica, M., Radic, B., Lucic, A. and Pavlovic, M., 2003 yilda Bennett J. W. Klich M., 2008 yilda Surai P. F. Mezes M. Melnichuk S. D. Fotina T. I. Oziq-ovqat mahsulotlari tarkibida aniqlangan toksinlarning 30 ga yaqin turini yuqori toksik xususiyatlarga ega ekanligini aniqlashgan.

Don va don mahsulotlari mikotoksinlarning asosiy manbai bo‘lib kelgan. *Claviceps purpurea* dan javdarda 2000 yildan ortiq vaqtdan beri ma‘lum bo‘lgan va so‘nggi ming yillikda Yevropada minglab odamlarning o‘limiga sabab bo‘lgan. Yaponiyada 17-asrdan beri ma‘lum bo‘lgan *Penicillium citreonigrum* guruchda sitreoviridin toksinini ajratishi beri-beri kasalligi o‘rganilishi tufayli aniqlangan.

Mamlakatimizda o‘simliklarda *Fusarium* zamburug‘i ajratadigan mikotoksinlarning oqibatlarini Yuldoshev A. Va boshqa. (2000), Xasanov B.A. va boshqa (2002), Xasanov B.A. (2013, 2017), Xasanov B.A. (2013) tomonidan tadqiq qilingan. Bundan tashqari, Haytboyeva B.A. (2017); Turdiyeva D.T. va boshqa. (2019), Xasanov B.A. et al. (2019), Safarov B.A. va boshqa. (2020) tomonidan ham o‘simliklar turlarida *Fusarium*ning rivojlanishi va ulardan ajraladigan toksinlarni aniqlaganlar. Xakimov B.A. va boshqa., (2021), Xasanov

O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2020 yil 10 noyabrdagi PF-4887-son «Aholining sog‘lom ovqatlanishini ta‘minlash bo‘yicha qo‘shimcha chora-tadbirlar to‘g‘risida»

B.A. (2020, 2021, 2022) shirin va achchiq qalampirda ham zamburug'lardan ajraladigan mikotoksinlarning ta'siri oqibatlarini o'rganishgan. Ammo o'simlik va o'simlik mahsulotlardan zamburug'lar ajratadigan mikotoksinlarni YSSX yordamida aniqlash bo'yicha tadqiqotlar olib borilmagan.

Tadqiqotning oliy ta'lim muassasasida olib borilayotgan ilmiy tadqiqot ishlari rejalari bilan bog'liqligi. Dissertatsiya ishi, Guliston davlat universiteti "Agrobiotexnologiyalar va biokimyoy ilmiy tadqiqot instituti" ilmiy-tadqiqot ishlari rejasining "O'simliklarning o'sishi va rivojlanishiga biotik va abiotik omillar ta'sirini tadqiq qilish" tadqiqot mavzusi doirasida bajarilgan.

Tadqiqotning maqsadi oziq-ovqat mahsulotlari tarkibidagi toksinlarni yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi yordamida aniqlashning samarali metodlarini tanlash va yaratishdan iborat.

Tadqiqotning vazifalari:

mikotoksinlar bilan oziq-ovqat mahsulotlarini ifloslanish ko'rsatkichlari va ularni aniqlash tizimi ishlab chiqish;

oziq-ovqat mahsulotlari namunalaridan turli sinfdagi mikotoksinlarni olish uchun QuEChERS namunalarini tayyorlash usullari va dispersiv suyuqlik-suyuqlik mikroekstraksiya (DSSME) ni birlashtirish imkoniyatini yaratish;

xromatografik usullar bilan tahlil qilish uchun zarur bo'lgan turli matritsalaridan yuqori tozalikdagi ekstraktlarni olish uchun namuna tayyorlash sharoitlarini va UV, FLD bilan detektorlari bilan jihozlangan qurilmalar yordamida yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasida aniqlash metodlarini optimallashtirish;

quruq mevalar (bodom, o'rik mag'zi, yeryong'oq) tarkibidan aflatoksinlarni ajratish, qiyosiy tahlil qilish va ular tarkibidagi mavjud mikotoksinlar miqdori dinamikasini monitoring qilish.

mikotoksinlarni yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi metodlarida tahlil qilish davomida tashqi omillarning ta'siri ko'rsatkichlari aniqlash;

don yem va oziq-ovqat mahsulotlarida oxratoksin A va zearalenonlarni xromatografik ajratish va aniqlash usullarini takomillashtirish.

Tadqiqotning obyekti sifatida o'simlik mahsulotlari tarkibida patogenlardan ajraladigan mikotoksinlar (aflatoksin B1, B2, G1, G2; oxratoksin A, zearalenon, dezoksinivalenol), o'simliklarning quruq mevalari va donli ekinlar mahsulotlari tanlangan.

Tadqiqotning predmeti O'zbekiston sharoitida yetishtiriladigan o'simlik mahsulotlari tarkibida patogenlardan ajraladigan toksinlarni yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi yordamida aniqlashning samarali metodlarini tanlash va yaratishni tashkil etgan.

Tadqiqotning usullari. Olib borilgan tadqiqotlarda yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi, gaz xromatografiyasi usullari hamda axborot-kompyuter tahlili imkoniyatlaridan foydalanilgan va olingan natijalarni statistik qayta ishlash Excel 2003 (Microsoft Office; AQSh) va OriginPro v. 8.5 SR1 (EULA, Northampton, MA 01060-4401, AQSh) dasturlari yordamida amalga oshirilgan.

Dissertatsiya tadqiqotining ilmiy yangiligi quyidagilardan iborat:

aflatoksin B1, B2, G1, G2; oxratoksin A, zearalenon, dezoksinivalenol mikotoksinlarini aniqlash uchun mahsulotni bir vaqtning o'zida ekstraktsiya qilish tizimi ishlab chiqilgan;

turli sinfdagi mikotoksinlarni qo'shimcha tozalash va ajratib olish uchun dispersiv suyuqlik-suyuqlik mikroekstraksiyasi usuli taklif qilingan va metanoldan foydalanilmagan holda mikotoksinlarni yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasida tahlil qilish tizimi ishlab chiqilgan;

tarkibida kremniy, birlamchi va ikkilamchi amin PSA hamda limon kislotasi bo'lgan sorbentdan foydalangan holda o'simlik mahsulotlari tarkibidagi aflatoksinlar, zearalenon hama oxratoksin A turi mikotoksinlarini aniqlash va ajratishning samarali usuli yaratilgan;

mikotoksinlarni yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi metodlarida tahlil qilishda QuEChERS uulida namuna tayyorlash shartlariga turli omillarning ta'siri ko'rsatkichlari aniqlangan.

Tadqiqotning amaliy natijasi quyidagilardan iborat:

o'simlik mahsulotlari tarkibida mikotoksinlarni yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi metodlarida tahlil qilish tizimi ishlab chiqilgan;

o'simlik mahsulotlari tarkibida aflatoksin B1, B2, G1, G2; oxratoksin A, zearalenon, dezoksinivalenolmikotoksinlarini aniqlash uchun biomassani bir vaqtning o'zida ekstraktsiya qilish tizimi ishlab chiqilgan;

mahsulotlar tarkibida uchrovchi mikotoksinlarning har xil sinfiga kiruvchi turlarini tozalash va tanlab olish bo'yicha amaliyotda foydalanish uchun dispersiv suyuqlik-suyuqlik mikroekstraksiyasi usuli ishlab chiqilgan;

oziq-ovqat namunalari tarkibida aflatoksinlar, zearalenon va oxratoksin A mikotoksinlarni ajratishda sorbent sifatida foydalanishda yangi komponentlardan foydalanish tizimi ishlab chiqilgan.

Tadqiqot natijalarining ishonchliligi. Olingan ma'lumotlarning ishonchliligi tajribalar natijalarini qayd qilish, yig'ish va qayta ishlash, tahlil qilish imkonini beruvchi avtomatik tizimlar va zamonaviy tadqiqot uslublaridan foydalanilganligi bilan tasdiqlanadi. Ishda xulosalar zamonaviy matematik-statistika uslublaridan foydalanish asosida chiqarilgan, olingan natijalarni statistik qayta ishlash Styudent *t*-kriteriyasi yordamida o'rtacha qiymatning ishonchlilik intervali oraliq qiymatlarini hisoblagan holda amalga oshirilgan. Olingan natijalarning isboti mutaxassislarning ekspert baholari, tadqiqot natijalarining amaliyotda sinovdan o'tkazilishi, respublika va xalqaro miqyosdagi konferentsiyalardagi muhokamadan o'tkazilishi, natijalarning retsenziyadan o'tkaziluvchi ilmiy nashrlarda chop etilishi bilan izohlanadi.

Tadqiqot natijalarining ilmiy va amaliy ahamiyati.

Tadqiqot natijalarining ilmiy ahamiyati YSSX metodlari yordamida o'simlik mahsulotlari tarkibida mikotoksinlarning mavjudligi, ularning miqdoriy ko'rsatkichlarini baholash va monitoring qilish bo'yicha olib borilgan tadqiqot natijalaridan ekologik xavfsiz mahsulotlarni tayyorlash yoki yaratishning fundamental tadqiqotlarga asoslangan tizimini ishlab chiqishda foydalanilish istiqbollari yuqoriligi bilan izohlanadi.

Tadqiqot natijalarining amaliy ahamiyati shundan iboratki, mikotoksinlarni YSSX metodlari yordamida aniqlash, ajratib olish va tahlil qilishda metanoldan foydalanilgan holda substratni dispersiv suyuqlik-suyuqlik tizimida ishlab chiqilgan mikroekstraksiyalash usuli yetishtiriladigan o'simlik mahsulotlarini zamburug'lar bilan zararlanganlik darajasini aniqlash hamda mahsulotlarni saqlash sharoitlarini baholashda ishlab chiqarish jarayoniga xizmat qiladi.

Tadqiqot natijalarining joriy qilinishi. O'zbekiston sharoitida yaratilgan o'simlik mahsulotlari tarkibida toksinlarni yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi metodlarida aniqlash bo'yicha olingan ilmiy natijalar asosida:

yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi yordamida immunoaffinli kolonkalarda mikotoksinlarni ajratishdan oldin ularni substarda mavjudligini aniqlash, miqdoriy ko'rsatkichlarini baholash uchun ekstraktsiya tayyorlashda NaCl bilan birgalikda MgSO₄ va limon kislotasidan foydalanish usulidan Sanitariya-epidemiologik osoyishtalik va jamoat salomatlik xizmati Sirdaryo viloyati boshqarmasi "Toksikologiya" laboratoriyasida foydalanilgan (O'zbekiston Respublikasi Sanitariya-epidemiologik osoyishtalik va jamoat salomatlik xizmati markazining 2023 yil 07 fevraldagi 20-05017-sonli ma'lumotnomasi). Natijada, Guliston shahar markaziy dehqon bozorida sotilayotgan donli ekinlar mahsulotlari tarkibidagi mikotoksinlarni tez va samarali tarzda aniqlash hamda baholash imkonini bergan;

Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasidan foydalangan holda mikotoksinlarni biomahsulotlar tarkibidan aniqlashning soddalashtirilgan usulidan Samarqand viloyati "Samarqand Golden Chichpeas" MChJda yong'oq va achchiq bodom mevalari tarkibidagi aflatoksin B1 (AFB1), aflatoksin B2 (AFB2), aflatoksin G1 (AFG1), aflatoksin G2 (AFG2) mikotoksinlari hamda Toshkent viloyati "Berad agro" qo'shma korxonasi olma, shaftoli mevalari va uzumdan tayyorlangan sharbatlar tarkibida zamburug'lardan ajraladigan patulin mikotoksinini aniqlashda foydalanilgan (O'zbekiston Respublikasi qishloq xo'jaligi vazirligi huzuridagi qishloq xo'jaligida xizmatlar ko'rsatish agentligining 2023 yil 14 noyabrdagi 03/11-T-11-942-sonli ma'lumotnomasi). Natijada, o'simlik mahsulotlari tarkibidagi mikotoksinlarni aniqlash va monitoring qilib borishni yo'lga qo'yish asosida eksportbop mahsulotlarini tayyorlashda samaradorlikka erishish imkonini bergan.

Tadqiqot natijalarining aprobatsiyasi. Mazkur tadqiqot natijalari 2 ta xalqaro va 3 ta respublika ilmiy-amaliy anjumanlarida muhokamadan o'tkazilgan.

Tadqiqot natijalarining e'lon qilinganligi. Dissertatsiya mavzusi bo'yicha jami 4 ta ilmiy ish chop etilgan, jumladan O'zbekiston Respublikasi Oliy attestatsiya komissiyasining doktorlik dissertatsiyalari asosiy ilmiy natijalarini chop etish tavsiya etilgan ilmiy nashrlarda 3 ta, shulardan 2 tasi respublika va 1 tasi xorijiy jurnallarda nashr etilgan.

Dissertatsiyaning tuzilishi va hajmi. Dissertatsiya ishi kirish, to'rt bob, xulosa, foydalanilgan adabiyotlar ro'yxatidan iborat. Dissertatsiyaning hajmi 113 betni tashkil etadi.

DISSERTATSIYANING ASOSIY MAZMUNI

Dissertatsiyaning kirish qismida o‘tkazilgan tadqiqotlarning dolzarbligi va zarurati asoslangan, tadqiqotning maqsadi va vazifalari, obyekt va predmetlari tavsiflangan, respublika fan va texnologiyalari rivojlanishining ustuvor yo‘nalishlariga mosligi ko‘rsatilgan, tadqiqotning ilmiy yangiligi va amaliy natijalari bayon qilingan, olingan natijalarning ilmiy va amaliy ahamiyati ochib berilgan, tadqiqot natijalarini amaliyotga joriy qilish, nashr etilgan ishlar va dissertatsiya tuzilishi bo‘yicha ma’lumotlar keltirilgan.

Dissertatsiyaning **“Mikotoksinlarning tarkibi, tuzilishi, tarqalish sabablari, toksik xususiyatlari va ularni migratsiyasi monitoringi”** deb nomlangan birinchi bobi mikotoksinlar, ularning hosil bo‘lishi, oziq-ovqat mahsulotlarini ifloslantirish holatlari to‘g‘risida adabiyot manbalaridan olingan ma’lumotlar tahlili berilgan.

Pereira C.S., Cunha S.C., Fernandes J.O. (2019) tomonidan amalga oshirilgan tadqiqotlarda mikotoksinlar qishloq xo‘jaligi va chorvachilikdan olinadigan oziq-ovqat mahsulotlarni iste‘molga yaroqsiz holatga keltiruvchi eng muhim zararlovchilardan biri ekanligi qayd etiladi. Mikotoksinlarni zamburug‘lardan ajraladigan ikkilamchi metabolitlar ekanligi Edite Bezerra da Rocha M. va boshqa tadqiqotchilar ishlarida (2014) isbotlangan. Mikotoksinlar kichik va juda barqaror molekulalar bo‘lib, ularni zararsizlantirish yoki yo‘q qilish juda qiyin hamda zaharli xususiyatlarini saqlab, ozuqa zanjiriga kirishi Bryden W.L. (2012) tomonidan qayd etiladi.

Hozirgi kunda besh yuzdan ortiq mikotoksinlar (Urusov A.E. b., 2015), yuzdan oshiq zamburug‘ turlaridan ajraladigan potensial, toksik moddalar aniqlangan. Ular qishloq xo‘jaligi, chorvachilik va aholi salomatligi uchun zaharli ta’sir qiluvchi moddalar oxratoksinlar, aflatoksinlar, zearalenon, fumonisinlar, patulin va sitrininlarni ajratadi. Ushbu mikotoksinlarning global darajada paydo bo‘lishi va mikotoksinlarni iste‘mol qilishi bilan bog‘liq hayvonlarning sog‘ligiga xavf tug‘dirishi sababli, don va ozuqa tarkibidagi ushbu mikotoksinlar darajasi hozirgi vaqtda dunyoning bir qator mamlakatlarida qonun hujjatlari asosida tartibga solinadi (Vila-Donat P. b., 2019). Aniqlangan mikotoksinlarning 30 ga yaqin turi haqiqiy toksik xususiyatlarga ega (Surai P. F.va b., 2008).

Dissertatsiyaning **“Mahsulotlar tarkibidagi mikotoksinlarni aniqlash, ajratish va ko‘rsatkichlarini baholashda yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi metodlaridan foydalanish”**, deb nomlangan II bobida tadqiqot obyektlari va usullari to‘g‘risida ma’lumotlar berilgan.

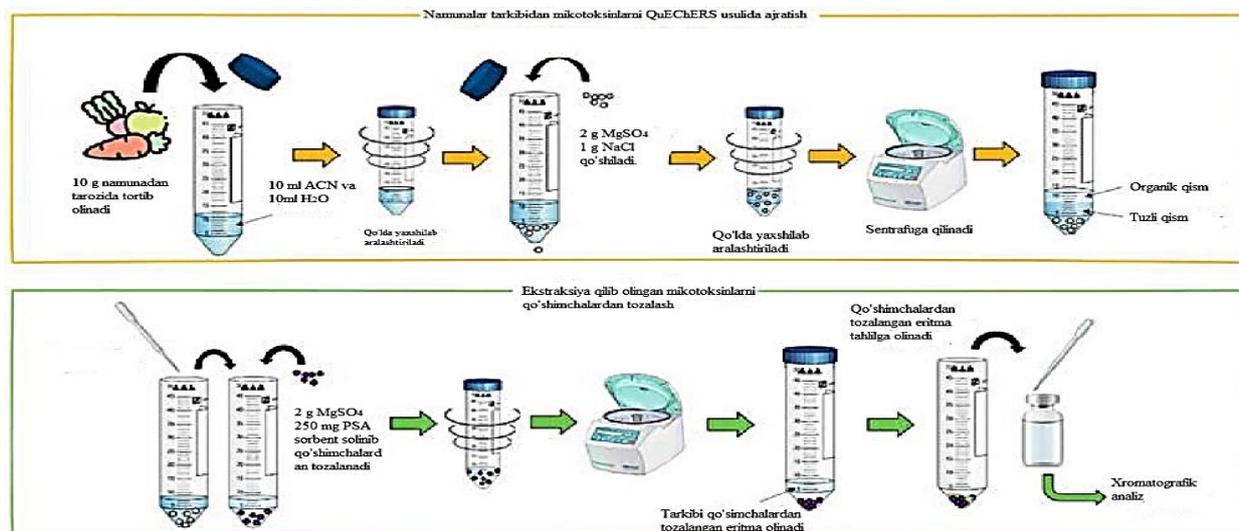
Tadqiqotlar uchun namunalar sifatida mamlakatimizning turli viloyatlarida yetishtirilgan quruq mevalar, donli ekinlar va ulardan tayyorlangan oziq - ovqat mahsulotlari tanlab olingan. Shunga muvofiq, obyekt sifatida olingan namunalar tarkibidagi mikotoksinlarni ajratishda turli metodlar qo‘llanilib, optimal ajratish usullari tanlab olingan. Namunalar tarkibidan ajratib olingan mikotoksinlarni aniqlashda yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi YSSX UV/FLD detektorlari bilan jihozlangan qurilmasidan foydalanilgan. Tajribalar davomida, quruq mevalar tarkibidagi aflatoksin B1, B2, G1 va G2 tahlillari yuqori samarali suyuqlik

xromatografiyasi qurilmasida aniqlangan. Makajo‘xori, bug‘doy, guruch va arpa kabi don mahsulotlarida oxratoksin A, dezoksinivalenolva zeralenon miqdori aniqlangan.

Aflatoksinlar ekstraksiyasi GOST ISO 31748 – 2012 me‘yoriy hujjatda keltirilgan namuna tahlilga tayyorlash metodi asosida amalga oshirildi.

Olingan eritma filtrlab olinib, tiniq holdagi eritma olinadi. So‘ngra affinkolonkali xromatografiyadan o‘tkazish uchun tayyorlandi. Ajratilgan filtrat V₃ tiniq bo‘lishi kerak. Olingan ekstraktdan aflatoksinlarni selektiv ajratib olishda immunoaffin kolonka tayyorlanib va ishlab chiqaruvchining ko‘rsatmalariga muvofiq tozalash jarayoni amalga oshirildi.

Namunalar takibidagi toksinlarni aniqlash uchun QuEChERS usuli yordamida namunalar tayyorlandi (1-rasm). Ozuqa namunalaridagi mikotoksinlarni tahlil qilish uchun optimallashtirilgan QuEChERS ekstraksiya usulining ketma - ketlik ko‘rinishi jarayoni 1-rasmda ko‘rsatilgan. YSSX-FLD bilan takomillashtirilgan QuEChERS jarayonidan foydalanishga asoslangan don va don mahsulotlarida oxratoksin A (OTA) ni aniqlash va tahlil qilishning yangi usuli ishlab chiqildi.



1-rasm. QuEChERS ekstraksiya usulining ketma – ketlik bosqichlari.

Don namunalari yuqorida taklif etilgan aflatoksin QuEChERS usuliga o‘xshash tarzda, ba’zi o‘zgarishlar bilan tayyorlangan. O‘zgartirilgan QuEChERS uchta bosqichni o‘z ichiga oladi: Birinchi bosqich: yaxshilab maydalanib, 0,1 sm o‘lchamgacha bir hil holga keltiriladigan 1 kg don namunasidan 1 g o‘lchab olindi va polipropilen sentrafuga probirkasiga (15 ml), solindi. Ikkinchi bosqich: 5,0 ml 20:70:10 (% , v/v) suv/asetonitril/sirka kislotasi 0,5 % li eritmasi aralashmasi qo‘shildi va sentrafuga probirkasida erituvchi butun namuna bilan yaxshilab aralashirilganligiga ishonch hosil qilish uchun 1 daqiqa davomida chayqatildi. Mikotoksinlarni to‘liq ekstraksiya qilish uchun. Uchinchi bosqich: Olingan eritmaga 2 g MgSO₄, 1,5 g limon kislotasi va 1 g PSA ni ekstrakt 5 daqiqa davomida 4000 ayl/min tezligida sentrafuga qilindi va YSSX tahlilidan oldin 0,5 ml yuqori organik qatlam 0,45 mkm neylon shpritsi filtri orqali filtrlandi. QuEChERS ekstraksiya usulida foydalaniladigan tuzlar miqdori optimallashtirildi.

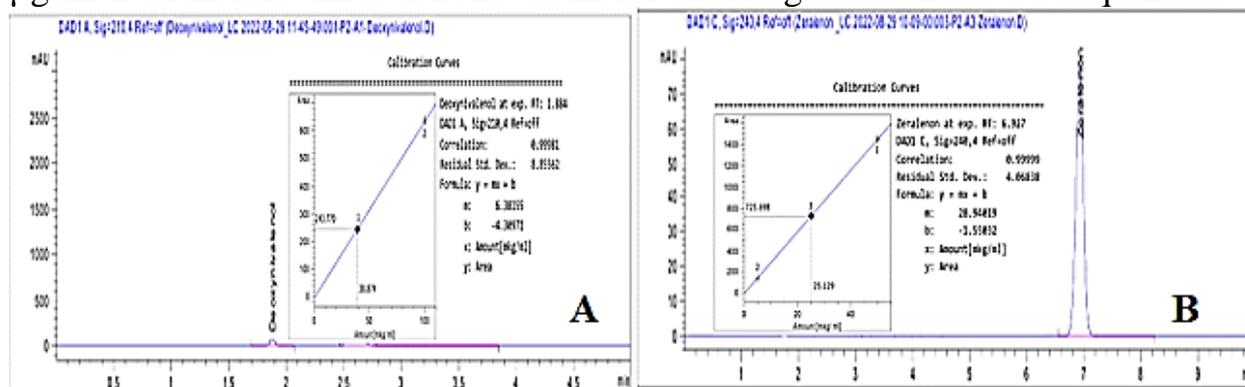
Biomahsulotlar tarkibidagi mikotoksinlarni aniqlash usullari

Biz samarali suyuqlik xromatografiyasi FLD yoki UV detektorlari bilan mikotoksinlarni aniqlashni yoʻlga qoʻdik. YSSX FLD bilan birgalikda, aflatoksin B1, B2, G1, va G2 hamda oxratoksin A miqdorini aniqlashning asosiy usuli boʻlib, yaxshi ishonchlilik va sezgirlik kabi koʻplab afzalliklarga ega. YSSX–FLD yordamida tahlillar oʻtkazishning avfzalligi shundaki, aniqlanayotgan modda tarkibidagi xromofor guruhlarining mavjudligiga ehtiyoj sezilmaydi, chunki ular tabiiy fluoresensiyaga ega boʻladi.

Moddalar miqdorini aniqlashda xromatogramma mutlaq kalibrlash yoki ichki standartlar qoʻshilish usullari yordamida tahlil qilinadi. Bir xil muhitda moddaning kolonkadan chiqish vaqti bir xil va doimiy boʻladi va bu xususiyatdan aniqlanuvchi birikmaning chinligini aniqlashda foydalaniladi. Miqdoriy tahlilda choʻqqilar yuzalari hisoblanadi, chunki choʻqqi yuzasi moddaning miqdoriga toʻgʻri mutanosib boʻladi. Shu sababli biz, olingan supramolekulyar komplekslarni sifat va miqdoriy tahlil qilish uchun yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi usulidan foydalandik.

Buning uchun oldin dezoksinivalenol va zeralenonlarning standart namunalarning kolonkada ushlanish vaqtlari va maydonlari aniqlab olindi.

Standart namunalar: standart eritma sifatida sotib olingan DON (200 µg/ml) (LRM46911) va ZEN (50 µg/ml) (CRM46916) lar atsetonitrilda suyultirilib turli konsentratsiyali eritmalar olindi. DONning 200 µg/ml li stqandart eritmasi 20 ml hajmli kolbada asetonitril bilan suyultiriladi. Soʻngra ishchi eritmasi sifatida 40 – 100 µg/ml va ZEN uchun esa 5 – 50 µg/ml li eritmalar olindi. Ishchi eritmalar muzlatgichda -20°C da saqlanadi.



2-rasm. (A) Dezoksinivalenolning 210 nm, da diod matritsali detektorda olingan standart namunasi va (B) Zeralenon standart namunasining diod matritsali detektorda 240 nm toʻlqin uzunligida olingan xromatogrammasi

Rasmda keltirilgan xromatogrammalardan koʻrinib turibdiki, standart sifatida olingan DON (200 µg/ml) va ZEN (50 µg/ml) (SigmaAldrich AQSH) baholashda kolonkada ushlanish vaqti DON 1,79 minutda, ZEN esa 6,92 minutda choʻqqi hosil qilganligini aniqladik. Miqdoriy jihatdan standart namunaning konsentratsiyasiga nisbatan xromatogramma choʻqqisi maydoniga nisbatan namunalar tarkibidan DON va ZENlarni miqdoriy koʻrsatkichlarini tekshirishimiz mumkin boʻladi.

Standart namunalar kalibrlanishidan olingan natijalar.

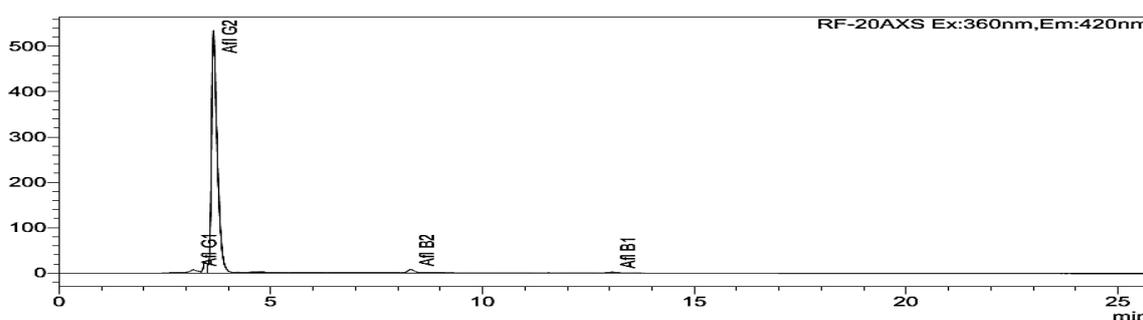
Standart nomi	Chiziqli diapazon ($\mu\text{g/ml}$)	Regressiya tenglamasi	R^2
DON	40–100	Formula: $y = mx + b$ m: 6.38155 b: -4.30971 x: Amount[mkg/ml] y: Area	0,99981
ZEN	5-50	Formula: $y = mx + b$ m: 28.94019b: -1.55032 x: Amount[mkg/ml]y: Area	0,99999

Olingan natijalar asosida, shunday xulosa qilish mumkinki, obyekt sifatida tanlab olingan namunalar tarkibidan DON va ZENni aniqlashda YSSX usulidan samarali foydalanish mumkin va bu usulda yuqori aniqlikda natijalar olish mumkin.

Tahlillarni bajarishimiz uchun bizda YSSX LC 2030 C3D Plus (Shimadzu) qurilmasi Shim-pack GIST-HP C18 150x4,6 mm 3 μm (Shimadzu) kolonkadan foydalanilib, termostat harorati 40⁰C da (ko‘chma faza) mobil faza sifatida gradiyent rejimida H₂O/H₃C-CN = 40/60 nisbatda olinib, fluorescent RF-20A detektorda qo‘zg‘aluvchan to‘lqin uzunligi 365 - 450 nmda va 0,5 ml/min oqim tezligida, mobil faza gabsizlangan va ishlatishdan oldin membrana filtri (47 mm \times 0,45 mkm) orqali filtrlangan, yuborilgan namuna hajmi 10 ml da “LabSolution” dasturi yordamida amalga oshirildi.

Aflatoksinlar standart namunalari YSSX Shimadzu LC2030 3D Plus qurilmasida tahlillar o‘tkazildi. Bajarilgan tahlil natijalariga asosan, AFG1 3,166, AFG2 esa 3,646 minutlarda aniqlandi. Aflatoksinlar B1 va B2 larda esa o‘z navbatida 13,057 va 8,301 minutlarda pik (cho‘qqi) hosil qilishi kuzatildi.

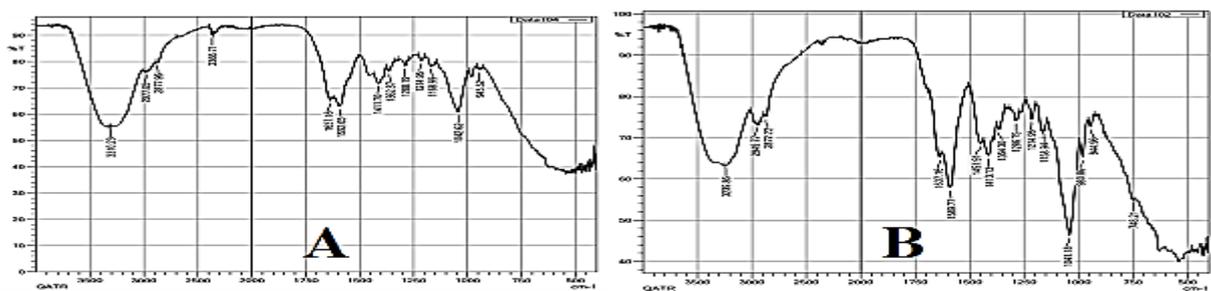
<Chromatogram>
mV



3-rasm. AFB1, AFB2, AFG1 va AFG2 larning standart namunalaridan olingan xromatogrammasi

Dissertatsiyaning “Ajrati b anilqlangan toksinlarni identifikatsiya qilish va ularning chegraviy qiymatlarini monitoring qilish”, deb nomlangan III bobida zamburug‘lar ishlab chiqarilgan mikotoksinlarni IQ spektroskopiyasi metodida aniqlash natijalari bayon etilgan. Shu bilan birga turli namunalarda mikotoksinlar miqdori ma’lumotlari keltirilgan.

IQ spektraskopiya usulida tahlil qilishda suyuqlik - suyuqlik ekstraksiyasi yordamida ajratilgan va yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi metodi yordamida miqdori aniqlangan dezoksinivalenolning tuzulishini tasdiqladik (4-a va b rasm).



4-rasm. Qayta ishlanmagan makkajo‘xori tarkibidan ajratilib, YSSX usuli asosida aniqlangan dezoksinivalenolning metanoldagi eritmasi miqdori 200 mkg/kg (A) va 680 mkg/ml (B) IQ spektrlari.

Olingan natijalarga asosan, qayta ishlanmagan makkajo‘xoridan ajratilib YSSX metodida aniqlangan ikki xil konsentratsiyalaridagi DON da natijalar olindi.

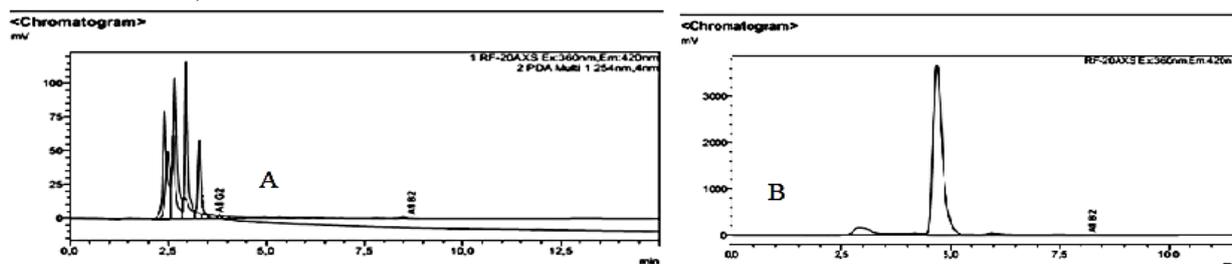
Metanoldagi DON (0,20-0,680 g/L) eritmaları Yaqin infraqizil spektraskopiya tizimlaridan foydalangan holda tahlil qilindi. Maksimal 1637 cm^{-1} bo‘lgan tarmoqli C=O (karbonil guruhi) tebranishlariga tayinlanishi mumkin; $1158 - 1589\text{ cm}^{-1}$ da maksimal antisimmetrik C–O–C cho‘zilishiga to‘g‘ri keladi; $1041 - 1042\text{ cm}^{-1}$ yaqinidagi tarmoqli R-CH-OH cho‘zilishi uchun mos; va $943 - 944\text{ cm}^{-1}$ bo‘lgan tarmoqli C-O (epoksid halqasi) cho‘zilishiga to‘g‘ri kelishi adabiyotlarda keltirilgan. Olingan ikki spektrlarga asosan, tahlil qilingan metanolli eritmalarimiz tarkibida dezoksinivalenol mavjud ekanligi aniqlandi.

Aflatoksinlar tahlili. Zamburug‘lar tomonidan ishlab chiqarilgan mikotoksinlar miqdoriy tahlil qilishda YSSX («Agilent–1260»; AQSH) usuli samarali tahliliy usul hisoblanadi. YSSX usuli yordamida aflatoksinlar miqdorini aniqlashda quyidagi formuladan foydalanildi:

$$C_x = \frac{S_x \times C_{st} \times 1,0207}{S_{st}}$$

Bu yerda: C_x – tahlil qilinayotgan namuna tarkibidagi mikotoksin miqdori; C_{st} – standart mikotoksin eritmasining konsentratsiyasi; S_x – tahlil qilinayotgan namunada mikotksinning xromatografik pikining yuza maydoni; S_{st} – standart mikotoksin xromatografik pikining yuza maydoni; 1,0207–qayta hisoblash koeffitsientini ifodalaydi.

Tadqiqotlar davomida, quruq mevalar: o‘rik, achchiq bodom, mayiz va yeryong‘oq kabi mahsulotlar tarkibidan aflatoksinlar miqdori o‘rganildi. Quyida o‘tkazilgan tahlillar asosida olingan xromatogrammalarni ko‘rishimiz mumkin (5-A va B rasm).

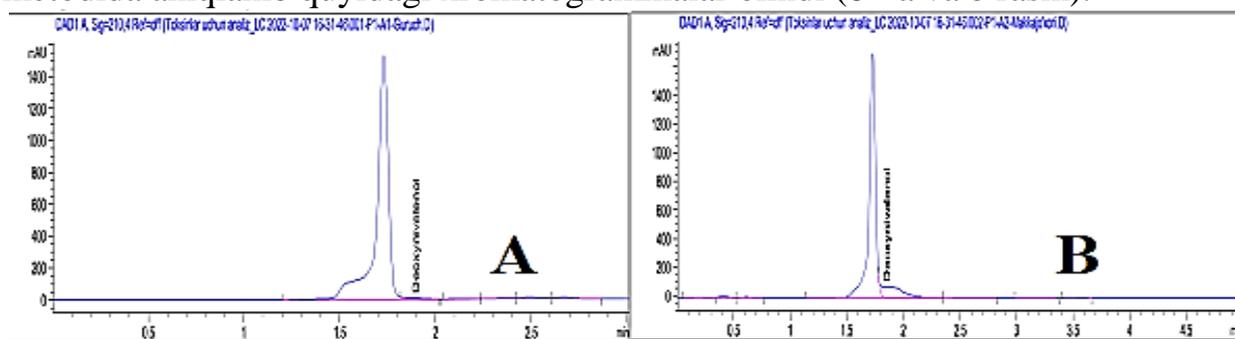


5-rasm. Jizzax (A) va Samarqand (B) viloyatlarida yetishtirilgan yong‘oq tarkibidagi aflatoksinlarni YSSX usuli asosida olingan xromatogrammasi.

Respublikamizning turli hududlarida yetishtirilgan quruq mevalar tarkibidagi zamburug‘lar tomonidan ishlab chiqarilgan aflatoksinlar, tadqiqotning zamonaviy usullarida tahlil qilinib, miqdori o‘rganildi.

Mamlakatimizning turli hududlarida yetishtiriladigan oziq-ovqat mahsulotlari sifatida iste‘mol qilingan quruq mevalar, donli ekinlar va ulardan olinadigan mahsulotlar tarkibidan mikotoksinlar yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi metodlarida aniqlandi. Quyida dezoksinivalenol, zearalenon va oxratoksin A lar bug‘doy, makkajo‘xori, arpa va guruch kabi olingan namunalar tarkibidan aniqlandi.

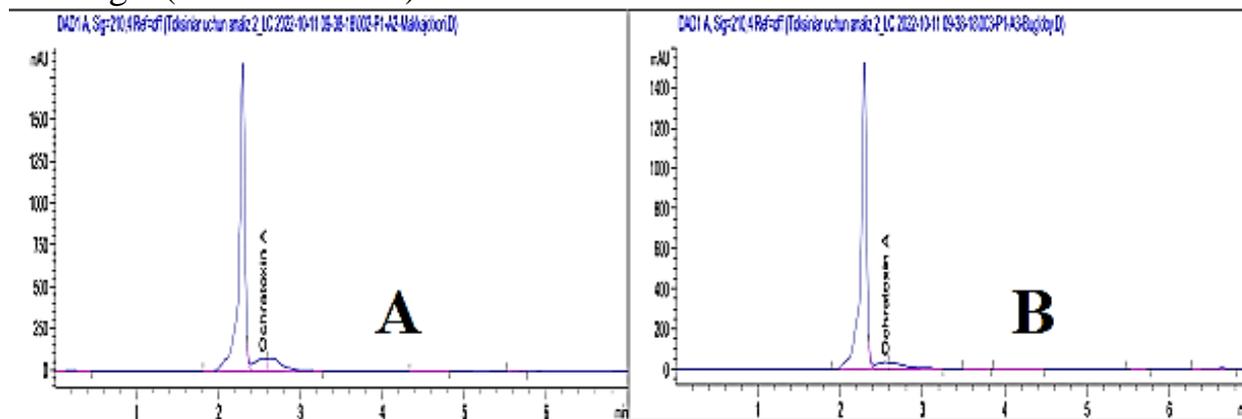
Dezoksinivalenol tahlili. Sirdaryo hududida yetishtirilgan donli ekinlar tarkibidagi zamburug‘lar tomonidan ishlab chiqariladigan ikkilamchi metabolitlar dezoksinivalenolva zearalenon miqdori yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi metodida aniqlanib quyidagi xromatogrammalar olindi (6 - a va b rasm).



6-rasm. Sirdaryo viloyatida yetishtirilgan sholi (A) va makkajo‘xori (B) tarkibidagi DON ning YSSX usuli asosida olingan xromatogrammasi.

Xuddi shu tartibda Sirdaryo viloyatida yetishtirilgan boshqa qishloq xo‘jaligi o‘simliklari mahsulotlari tarkibidagi dezoksinivalenol tahlil qilindi.

Oxratoksin A tahlili. Respublikamiz aholisining asosiy iste‘mol mahsulotlari hisoblanadigan guruch, un va un mahsulotlari ishlab chiqarish uchun asosiy homashyo sifatida don mahsulotlari foydalaniladi. Shu sababli oziq-ovqat mahsulotlarida zamburug‘lar tomonidan ishlab chiqariladigan oxratoksin A miqdorini o‘rganish va nazorat qilish zarur. Quyida yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi usuli asosida tahlil qilingan mahsulotlar xromatogrammasi keltirilgan(7- A va B rasm).



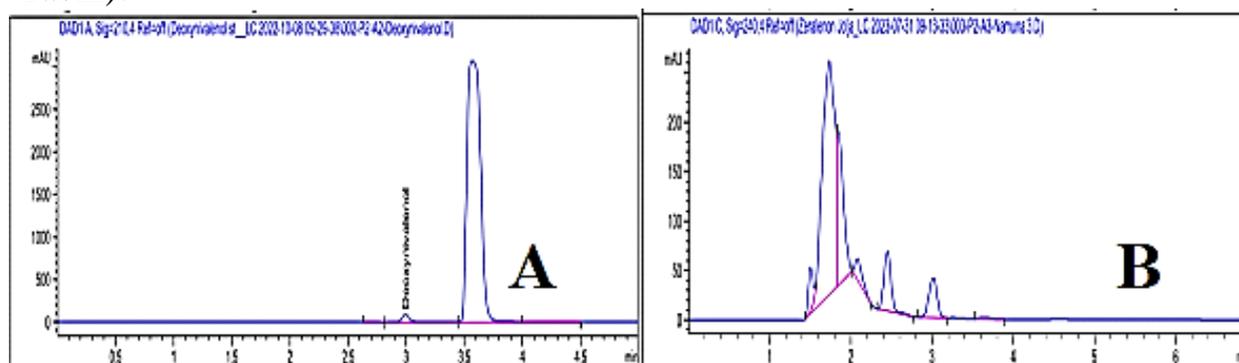
7-rasm. Sirdaryo viloyatida yetishtirilgan makkajo‘xori (A) va bug‘doy (B) tarkibidagi oxratoksin A ning YSSX usuli asosida olingan xromatogrammasi.

Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi usuli asosida olib borilgan izlanishlarga tayanib, bug‘doy doni tarkibida tekshirilgan arpaga nisbatan DON miqdori o‘n barobar yuqori ekanligi qayd etildi. Dezoksinivalenolmiqdori qayta ishlanmagan makkajo‘xori tarkibida, me‘yoriy hujjatlarda belgilangan miqdor chegaralaridan past va tanlangan mahsulotlar tarkibida nisbatan ko‘p miqdorda yuqori ekanligi aniqlandi (7-rasm).

Tovuq go‘shiti tarkibidagi dezoksinivalenolva zearalenon miqdoriy tahlili.

Standart namuna sifatida keltirilgan DON va ZEN YSSX metodida kalibrlanishida, korrelyatsiya koeffitsienti 0,99 dan katta bo‘lishini ta‘minlashimiz zarur.

Bunda standart namunalar kalibrlash yordamida chizilgan ZEN va DON uchun qabul qilingan standart chiziqlik va korrelyatsiya koeffitsienti ZEN uchun 0,99999 va DON uchun 0,99981 ko‘rsatkichlarni olishga erishildi. ZEN uchun usulning chiziqlik egrisi standart namunalarida 5,10,20 va 25 µg/mlning turli to‘rt darajalarida, ZEN uchun miqdoriy chegarasi 20, 40 va 100 µg/ml gacha uch daraja, kalibrlash egri chizig‘i hosil qilindi. O‘tkazilgan tahlillar asosida quyidagi natijalar olindi (8 a va b –rasm).



8-rasm. DON (A) va ZEN (B) jo‘ja namuna xromatogrammasi

Donli ekinlarni asosiy iste‘mol qilivchi kasallangan jo‘jalardan olingan go‘shit namunalari tarkibidagi mikotoksinlarning miqdori yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi metodi asosida tahlil qilindi. Olingan natijalarga asosan, zamburug‘lar ajratadigan mikotoksinlarning miqdoriy ko‘rsatkichlari olindi.

Tahlillarda namunalar tarkibidagi DON va ZEN tahlilida ikki tovuq jo‘jalari go‘shitlari tahlil qilindi. Olingan natijalarga asosan, dezoksinivalenolmiqdori 1 namuna jo‘jada 42,81 mkg/kg miqdori aniqlandi. Tekshirishlar natijasida ikkinchi namuna tarkibidan dezoksinivalenolva zearalenon aniqlanmadi. Natijada tahlil uchun olingan ikki jo‘jalar iste‘mol uchun yaroqli ekanligi aniqlandi.

Dissertatsiyaning “**Mikotoksinlarning mahsulotlar kesimida ta‘sir qilish ko‘rsatkichlarini tahlil qilish**”, deb nomlangan 4 bobida zamburug‘larning ko‘payishi va mikotoksin ishlab chiqarish sharoitlari va mikotoksinlarning migratsiyasini aniqlash natijalari tahlil qilingan.

Namlik va harorat sharoitlari qulay bo'lganda, zamburug'lar bilan zararlanish o'simliklar rivojlanishining turli bosqichlarda dalada yoki keyinchalik quritish, saqlash vaqtida sodir bo'lishi mumkin (2-jadval).

2–jadval

Zamburug'lar turlari, ularning o'sishi va mikotoksin ishlab chiqarish uchun maqbul sharoitlar turli tadqiqotlar.

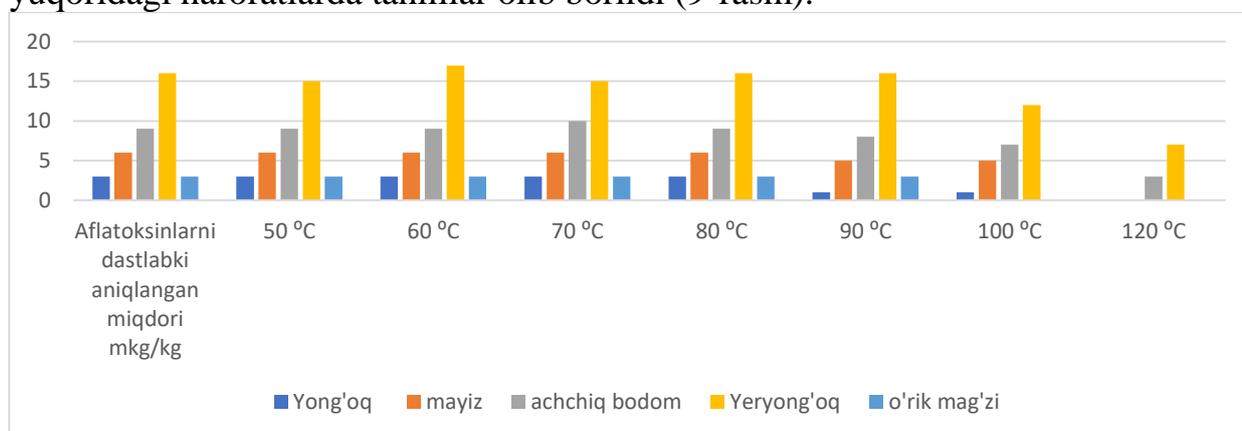
Zamburug'lar	O'sish		Optimal o'sish		Toksin ishlab chiqarish uchun optimal	
	Harorat	a _w	Harorat	a _w	Harorat	a _w
<i>Aspergillus flavus/paraziticus</i>	15–44°C	0,91–0,99	35°C	0,95	33°C	0,99
<i>Aspergillus ochraceous</i>	10–40°C	0,80–0,98	24–31°C	0,96–0,98	25–30°C	0,98
<i>Aspergillus carbonarius</i>	8–40°C	0,90–0,93	32–35°C	0,94–0,99	30–35°C	

Laboratoriya sharoitida zamburug'lar bilan zararlangan makkajo'xori donlarning mikotoksinlar ishlab chiqarilishiga harorat va namliklarning ta'siri o'rganilib, monitoring qilindi.

YSSX usuli yordamida olingan natijalarga qaraganda, laboratoriya sharoitida bir xil 85 foiz namlik va turli haroratda saqlangan zamburug' bilan zararlangan makkajo'xori donlarida 10 va 35°C haroratda 10 mkg/ml miqdorda DON hosil bo'lganligi aniqlandi.

Aflatoksinning zamburug'lardan ajralishi va to'planishi ob-havo sharoitlariga bog'liq. Tuproq namligi me'yordan past va harorat yuqori bo'lsa, havoda *Aspergillus* sporalari soni ortadi. Bu sporalar hasharotlar va noqulay ob-havo orqali ekinlarga yuqadi. *Aspergillus* sporalari mahsulotlarda rivojlanib, o'zidan aflatoksin sinfiga kiruvchi toksinlarni ajratadi. Laboratoriya sharoitida namunalardan aniqlangan aflatoksinlarni YSSX usuli asosida quyidagi natijalar olindi:

Zararlangan quruq mevalar yong'oq, mayiz, achchiq bodom, yeryong'oq va o'rik mag'zi tarkibidagi aflatoksinlarni zararsizlantirish bo'yicha, laboratoriyada yuqoridagi haroratlarda tahlillar olib borildi (9-rasm).



9-rasm. Quruq mevalar tarkibidagi aflatoksinlarni zararsizlantirishda haroratga bog'liqligini tahlil natijalari

Tahlil natjalariga ko'ra, 50°C dan 90°C gacha saqlangan namunalarda mikotoksinlar miqdorida deyarli o'zgarish kuzatilmadi va aflatoksinlar namunalarimizda saqlanib qolishi kuzatildi.

Yong'oq tarkibidagi umumiy aflatoksinlar miqdori 100-120°C saqlanganda zararsizlantirish kuzatildi. Tarkibida aflatoksinlar miqdori yuqori bo'lgan namunalarda, aflatoksinlarning miqdori kamayishi kuzatildi. Inkubatsiya qilingan yeryong'oqlarda 90°C dan 120°C haroratgacha oshirilganda umumiy aflatoksinlar miqdori 50% gacha, achchiq bodom tarkibida esa 60% gacha kamayishi kuzatildi.

Mikotoksinlarni migratsiyasi va zararli ta'sirini baholash

Qayd etilganidek, standart namuna sifatida keltirilgan DON va ZEN YSSX usulida donli ekinlar mahsulotlarida aniqladik. Ushbu tadqiqotlarni davom ettirish asosida standart namunalar yordamida ZEN va DON toksinlarini bug'doy, makkajo'xori va pomidorning ontogenetik rivojlanishi bosqichlarida zamburug'lardan ajralishini monitoring qilib bordik. Buning asosiy sababi fermer dala maydonida yetishtirilgan makkajo'xori, bug'doy doni bilan o'zining tadbirkorligi asosida boqilayotgan parranda va chorva mollarini doim oziqlantirib kelgan. Kuzatishlar natijasida aniqlangan patologik belgilarining yuqumlilik xususiyatini aniqlash uchun kasallangan o'simliklardan namunalar olindi, materiallari va ish uslublarida ko'rsatilganidek, mexanik usulda inokulyatsiya qilindi va kasallik alomatlarining paydo bo'lishi kuzatildi.

Parranda va qora mollarida patologik holatlar doim kuzatib kelingan. Tadqiqotlar davomida fermer dalasida bug'doy, makkajo'xori va yoniga pomidor ekanidek, biz ham bug'doy, makkajo'xori va pomidor ekdik. Faqat ekishdan oldin va vegetativ rivojlanish bosqichlarida ZEN va DON toksinlarini ajralishiga sabab bo'luvchi zamburug' bilan inokulyatsiya qildik. Osimlikning vegetativ rivojlanishi va mahsulotlari tarkibida ZEN va DON toksinlarini ham yuqorida YSSX metodida standartlar yordamida aniqlaganimizdek, aniqlab, monitoring qilib bordik (4-jadval). Olingan natijalar shuni ko'rsatdiki, makkajo'xori va bug'doy nihollarining vegetativ rivojlanish bosqichlarida ZEN va DON toksinlarining bosqichli tarzda zamburug'lardan ajralish miqdori ortib bordi. Garchi ZEN va DON toksinlarining mahsulotlarda ruxsat etilgan ko'rsatkichlaridan past bo'lsada, mavjudligi aniqlandi (3-jadval).

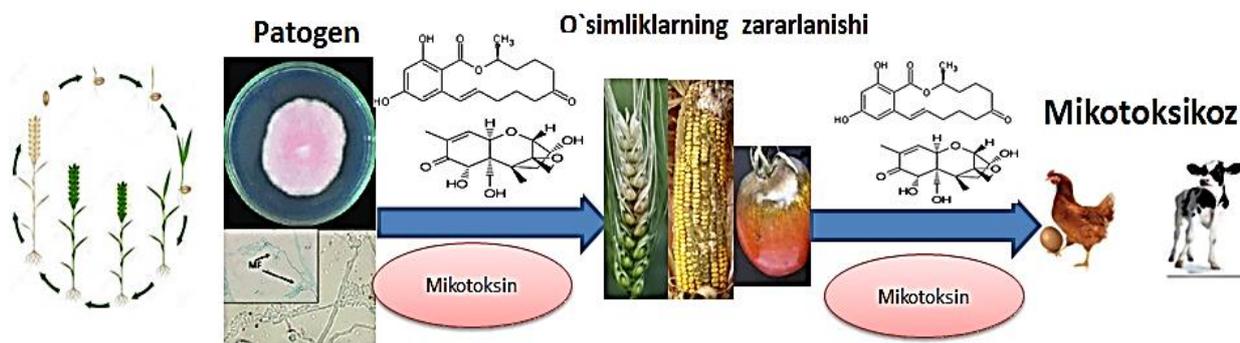
3-jadval

O'simliklarning vegetativ rivojlanish bosqichlari va mahsulotlarida ZEN va DON toksinlarining ko'rsatkichlari (mg/kg)

O'simliklar	Dastlabki vegetativ rivojlanish bosqichida		Boshqoq va meva hosil bo'lganda		Mahsuloti tarkibida	
	ZEN	DON	ZEN	DON	ZEN	DON
Makkajo'xori	9	14	14	26	41	50
Bug'doy	-	24	11	32	16	45
Pomidor	-	-	-	18	14	36

Tadqiqotlarimiz davomida tovuq va qoramolga bug'doy va makkajo'xori donini fermer kabi ozuqa sifatida tayyorlab berdik. Toksinlarga ega ozuqa bilan

oziqlantirilgan tovuqda 5-chi kuni, qoramolda esa 11 kuni og‘iz qismi (qoramolda), tumshuq atrofida (tovuqda) qizil toshmalar paydo bo‘lib, oziqlanishga nisbatan ishtahasi dastlabki holatga nisbatan pasaydi. Tovuq va qoramolda fermer tovuq‘i va qoramolidagidek patologik o‘zgarishlar kuzatildi.

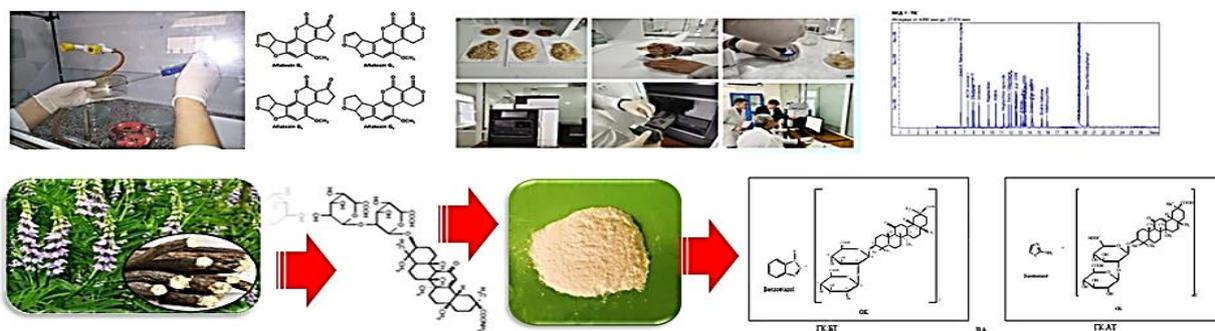


10-rasm. Makkajo‘xori, bug‘doy o‘simliklarining vegetativ rivojlanish bosqichlari va mahsulotlari asosida, ZEN va DON toksinlarining migratsiyasi

O‘simlik mahsulotlarida toksinlarni bo‘lmasligini eng muhim jihati zamburug‘lar bilan kasallanishini oldini olish yoki kasallangan o‘simliklarda zamburug‘larga qarshi tabiiy fiziologik faol birikmalar asosida ekologik zararsiz bo‘lgan vosita yoki preparatlarni qo‘llashdan iboratdir.

Shunga ko‘ra, tadqiqotlarimiz davomida shirinmiya ildiz tizimidan ajratib olingan fiziologik faol modda glitsirrizin kislotasi asosida tayyorlangan komplekslardan foydalangan holda, o‘simlik mahsulotlarini toksinlar bilan ifloslanishini oldini olish imkoniyatlarini aniqlashga harakat qildik. Buning uchun tayyorlangan kompleks bilan zamburug‘ bilan inokulyatsiya qilingan makkajo‘xori va bug‘doy doniga ishlov berdik (10-rasm).

Natijalar shuni ko‘rsatdiki, barcha variantlarda glitsirrizin kislotasi komplekslari bilan ishlov berilganda, osimliklarning rivojlanish bosqichlari va mahsulotlaridan toksinlar aniqlanmadi. Demak preparat zamburug‘larning rivojlanishiga qarshi ta‘sir etib, o‘simliklarning chidamliligini oshirgan. Zamburug‘larning rivojlanmasligi hisobiga o‘simliklar toksinlardan holi, ekologik xavfsiz mahsulot olish imkoniyatini yuzaga kelish imkoniyatini bergan (11-rasm).



11-rasm. Zamburug bilan inokulyatsiya qilingan makkajo‘xori va bug‘doyga ishlov berish uchun tayyorlangan glitsirrizin kislotasi komplekslari

Demak, o‘simliklarni rivojlanish bosqichlarida zamburug‘larga qarshi personallashtirilgan tabiiy preparatlar bilan ishlov berilganda, ijobiy natijalar olish mumkin ekan.

XULOSALAR

1. Biomahsulotlar tarkibida mikotoksinlarni yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi metodlarida tahlil qilish tizimi ishlab chiqilgan.

2. Oziq-ovqat mahsulotlari tarkibida aflatoksin B1, B2, G1, G2; oxratoksinning A, zeralenon, dezoksinivalenolmikotoksinlarini aniqlash uchun mahsulotlarni bir vaqtning o‘zida ekstraksiya qilish tizimi ishlab chiqilgan.

3. Biomahsulotlarda mavjud turli sinfdagi mikotoksinlarni qo‘shimcha tozalash va tanlab olish uchun dispersiv suyuqlik-suyuqlik mikroekstraksiyasi usuli taklif qilingan bunda metanoldan foydalanilmagan holda mikotoksinlarni yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasida tahlil qilish tizimi ishlab chiqilgan.

4. Biomahsulotlar namunalaridan aflatoksinlar, zearalenon va oxratoksin A mikotoksinlarni ajratishda QuEChERS usulidan foydalanilib, ajratuvchi sorbent sifatida tarkibida kremniy saqlagan birlamchi ikkilamchi amin PSA bilan birgalikda limon kislotasidan foydalanilgan.

5. Mikotoksinlarni yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi metodlarida tahlil qilishda QuEChERS usulida namuna tayyorlash shartlariga turli omillarning ta’siri ko‘rsatkichlari aniqlangan.

6. Yetishtiriladigan quruq mevalar (o‘rik, yong‘oq, achchiq bodom, mayiz va yeryong‘oq) hamda donli ekinlar (bug‘doy, sholi, arpa va makkajo‘xori) kabi oziq-ovqat mahsulotlarini zamburug‘lar bilan zararlanish darajasini o‘rganish hamda olingan mahsulotlarni saqlash sharoitlari tavsiya etilgan.

ISHLAB CHIQRISHGA TAVSIYALAR

O‘simliklar va ulardan olinadigan oziq – ovqat mahsulotlari tarkibidan zamburug‘lar tomonidan ishlab chiqariladigan aflatoksin B1, B2, G1 va G2, dezoksinivalenol, zeralenon va oxratoksin A kabi mikotoksinlarni zamonaviy metodlarda ajratib olishning ishlab chiqilgan yangi yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi usullaridan foydalanish tavsiya etildi.

Yetishtiriladigan quruq mevalar (o‘rik, yong‘oq, achchiq bodom, mayiz va yeryong‘oq) hamda donli ekinlar (bug‘doy, sholi, arpa va makkajo‘xori) kabi oziq-ovqat mahsulotlarini zamburug‘lar bilan zararlanish darajasini o‘rganish hamda olingan mahsulotlarni saqlash sharoitlari ishlab chiqildi.

**МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ, НАУКИ И
ИННОВАЦИЙ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН
НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.03/05.06.2020.К/В.91.03 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ГУЛИСТАНСКОМ ГОСУДАРСТВЕННОМ
УНИВЕРСИТЕТЕ**

ГУЛИСТАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

ТОЖИКУЛОВ АБДУХАЛИЛ АБДУЖАЛИЛ УГЛИ

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТОКСИНОВ В СОСТАВЕ БИОПРЕПАРАТОВ,
СОЗДАННЫХ В УСЛОВИЯХ УЗБЕКИСТАНА, МЕТОДАМИ
ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ**

02.00.10 – Биоорганическая химия (Биология)

**АВТОРЕФЕРАТ
ДИССЕРТАЦИИ ДОКТОРА ФИЛОСОФИИ (PhD)
ПО БИОЛОГИЧЕСКИМ НАУКАМ**

Тема диссертации доктора философии (PhD) по биологическим наукам зарегистрирована за номером В2024.2.PhD/B1149 в Высшей аттестационной комиссии при Министерстве высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан.

Диссертация выполнена в Гулистанском государственном университете.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекский, русский, английский (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета (www.siyes.uz) и на Информационно-образовательном портале “ZiyoNet” (www.ziynet.uz).

Научный руководитель:

Кушиев Хабибжон Хожибобоевич

доктор биологических наук,
профессор

Официальные оппоненты:

Хошимова Нигора Рустамовна

доктор биологических наук, старший научный
сотрудник

Кадыров Орифжон Шарипович

кандидат фармацевтических наук, доцент

Ведущая организация:

Ташкентский химико-технологический институт

Защита диссертации состоится «___» _____ 2024 г. в ___ часов на заседании Научного совета DSc.03/05.06.2020.К/В.91.03 по присуждению ученых степеней при Гулистанском государственном университете (Адрес: 140100, г.Гулистан, 4-микрорайон, кампус университета. Тел.: (+99867) 225-24-90, e-mail: gdu_info@edu.uz).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Гулистанского государственного университета (зарегистрирован за № ____). (Адрес: 120100, г.Гулистан, 4-микрорайон, кампус университета. Тел.: (+99866) 233-38-73, e-mail: sies_info@edu.uz)

Автореферат диссертации разослан «___» _____ 2024 года.

(реестр протокола рассылки №__ от «___» _____ 2024 года).

Тиялбаев Заиджон

Зампредседатель научного совета по
присуждению учёных степеней, д.б.н.,
профессор

Джураев Тулкин Арзикулович

Учёный секретарь научного совета по
присуждению учёных степеней, доктор
философии (PhD) по биологическим наукам,
доцент

Хошимова Нигора Рустамовна

Председатель научного семинара при научном
совете по присуждению учёных степеней,
доктор биологических наук, старший научный
сотрудник

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации. Одной из глобальных проблем в мире, стоящих сегодня перед человечеством, является возникновение отравлений или тяжелых заболеваний из-за токсинов, выделяемых различными патогенными и фитопатогенными микроорганизмами в состав пищевых продуктов¹. Более пятисот микотоксинов в составе пищевых продуктов, таких как трихотецены, охратоксины, афлатоксины, зеараленон, фумонизины, патулин и цитринины, секретируемые более чем сотней грибов, оказывают негативное влияние на здоровье скота, птицы и населения. Организациями ООН по безопасности пищевых продуктов ФАО и ВОЗ подчеркнуто, что 25% сельскохозяйственной продукции загрязнены микотоксинами, а в совместном решении обозначены специальные задачи, показывающие актуальность проведения мониторинга содержания микотоксинов в пищевых продуктах, связанных со здоровьем человека². Соответственно, важное значение имеют выявление и управление количественными показателями токсинов в пищевых продуктах, выращиваемых в условиях каждого климата.

Во многих научных центрах развитых стран мира проводятся исследования по управлению миграцией патогенных и фитопатогенных микроорганизмов в направлении безопасности пищевых продуктов, а также по выявлению их нормативных показателей на основе определения их вредности для продукции вместе с выделяемыми токсинами. В связи с этим при обеспечении безопасности растительной продукции особое внимание уделяется выбору или созданию оптимальных методов обнаружения токсинов, выделяемых патогенами, и установлению предела количественного показателя микотоксинов в составе продукции. Соответственно, в научном и практическом аспекте важное значение имеет мониторинг качества продукции на основе выбора и создания методов, позволяющих проводить высокоточный анализ токсинов в составе продукции.

В нашей стране на основе проводимых сегодня исследований, на практике реализуются инновационные разработки, основанные на нанотехнологических подходах по определению состава пищевых продуктов и созданию экологически безопасной продукции, и достигаются определенные научные результаты. В Стратегии развития по дальнейшему развитию экономики Нового Узбекистана³ обозначены важные задачи по «стимулированию научно-исследовательской и инновационной деятельности, создания эффективных механизмов внедрения на практике научных и инновационных достижений». Соответственно, в целях

¹Лара Х. Х., Аяла-Нунес Н. В., Икстепан-Туррент Л., Родригес-Падилья С. Механизм антивирусного действия наночастиц серебра против ВИЧ-1 // Журнал нанобиотехнологий.-2010.-№ 8.-р. 31–39.

²Вестник Южно-Уральского государственного университета. Сер. Еда и биотехнология. 2020, том. 8, нет. 1, стр. 105–111.

³ Указ Президента Республики Узбекистан от 28 января 2022 года за №УП-60 «О Стратегии развития Нового Узбекистана на 2022-2026 годы» <https://lex.uz/ru/docs/5841077>

обеспечения экологической безопасности растительной продукции, имеющей важное стратегическое значение в пищевой отрасли нашей страны, отбор (селекция) и создание устойчивых к патогенам сортов растений, подбор или создание эффективных методов выявления микотоксинов в составе продукции имеет особое значение в научном и практическом аспекте.

В «Стратегии развития сельского хозяйства Республики Узбекистан на 2020-2030 годы» продовольственная безопасность зависит от широкого спектра социально-экономических, демографических и экологических факторов и считается одной из основных составляющих частей развития страны. Данное диссертационное исследование в определенной степени служит для решения задач, обозначенных в Постановлении Президента Республики Узбекистан №ПП-387 от 6 октября 2022 года «О дополнительных мерах по финансовой поддержке сельскохозяйственной продукции», от 10 ноября 2020 года № ПП-4887 «О дополнительных мерах по обеспечению здорового питания населения», от 16 января 2018 года № УП-5303 «О мерах по дальнейшему обеспечению продовольственной безопасности страны», от 28 января 2022 года №УП-60 «О стратегии развития Нового Узбекистана на 2022-2026 годы», а также в других нормативно-правовых актах, связанных с данной деятельностью по обеспечению безопасности пищевых продуктов.

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий Республики Узбекистан. Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетным направлением развития науки и техники республики V. «Сельское хозяйство, биотехнологии, экология и охрана окружающей среды».

Степень изученности проблемы. Первые сведения о появлении микотоксинов были представлены в 1977 году на конференции по микотоксинам Программы ООН по окружающей среде. В то время было показано, что афлатоксины, зеараленон, охратоксин А, цитрин, трихоцены, патулин и алкалоиды спорыньи естественно появляются в составе различных кормов и пищевых продуктов. Токсины ниваленол и зеараленон, содержащиеся в зерновых культурах, с точки зрения пищевой безопасности впервые были изучены в 1989 году Елинеком К.Ф., Поландом А.Е., Вудом Г.Е. В 1990 году Перайка М., Радич Б., Лучич А. и Павлович М., в 2003 году Беннетт Дж. В., Клих М., в 2008 году Сураи П. Ф., Мезес М., Мельничук С. Д., Фотина Т. И. обнаружили, что около 30 видов токсинов, выявленных в составе пищевой продукции, имеют высокотоксичные свойства.

Зерно и зерновые продукты являются основным источником микотоксинов. *Claviceps purpurea* известен на ржи уже более 2000 лет и за последнее тысячелетие стал причиной смертей тысяч людей в Европе. В связи с изучением болезни бери-бери (авитаминоз) было выявлено, что *Penicillium citreonigrum*, известный в Японии с 17 века, выделяет в рисе токсин цитреовиридин.

В нашей стране последствия микотоксинов, выделяемых фузариозным грибом на растениях, изучены А. Юлдошевым и др. (2000), Б.А. Хасановым и др. (2002), Б.А. Хасановым (2013, 2017), В.А. Khasanov (2013). Кроме того, Хаитбоева Б.А. (2017), Турдиева Д.Т. и др. (2019), Хасанов Б.А. и др. (2019), Сафаров Б.А. и др. (2020) также выявили развитие *Fusarium* у видов растений и выделяемые ими токсины. Хакимов Б.А. и др., (2021), Хасанов Б.А. (2020, 2021, 2022) изучали последствия влияния микотоксинов, продуцируемых грибами, на сладкий и острый перец. Однако исследований по обнаружению микотоксинов, выделяемых грибами из растений и растительных продуктов с использованием ВЭЖХ, не проводилось.

Связь исследования с планами научно-исследовательской работы, проводимой в высшем учебном учреждении. Диссертационная работа выполнена в рамках плана научно-исследовательских работ «Научно-исследовательского института агrobiотехнологий и биохимии» Гулистанского государственного университета по исследовательской теме «Исследование воздействия биотических и абиотических факторов на рост и развитие растений».

Цель исследования заключается в выборе и создании эффективных методов обнаружения токсинов из состава пищевых продуктов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Задачи исследования:

разработка индикаторов загрязнения пищевой продукции микотоксинами и системы их обнаружения;

создание возможности сочетания методов пробоподготовки QuEChERS и дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции (DSSME) для получения различных классов микотоксинов из образцов пищевых продуктов;

оптимизация условий пробоподготовки и методов выявления в высокоэффективной жидкостной хроматографии с помощью приборов, оснащенных УФ, ФЛД-детекторами, для получения экстрактов высокой чистоты из различных матриц, необходимых для анализа хроматографическими методами;

выделение афлатоксинов из состава сухофруктов (миндаля, косточек абрикоса, арахиса), сравнительный анализ и мониторинг динамики количества содержащихся в их составе микотоксинов;

определение показателей влияния внешних факторов в ходе анализа микотоксинов методами высокоэффективной жидкостной хроматографии;

совершенствование методов хроматографического разделения и обнаружения охратоксина А и зеараленонов в зерновых кормах и пищевых продуктах.

В качестве **объекта исследования растительной протии** были выбраны микотоксины, выделяемые из патогенов (афлатоксины В1, В2, G1, G2; охратоксин А, зеараленон, дезоксиниваленон) в составе растительной продукции, сухофрукты растений и продукты зерновых культур.

Предметом исследования является отбор и создание эффективных методов выявления токсинов, выделяемых из патогенов (возбудителей болезней) в составе растительной продукции, выращиваемой в условиях Узбекистана, с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Методы исследования. В исследовательской работе использованы методы высокоэффективной жидкостной хроматографии, газовой хроматографии, а также возможности информационно-компьютерного анализа. Статистическая обработка полученных результатов была осуществлена с помощью программ Excel 2003 (Microsoft Office; США) и OriginPro v. 8.5 SR1 (EULA, Northampton, MA 01060-4401, США).

Научная новизна диссертационного исследования состоит из нижеследующих:

разработана система одновременной экстракции продуктов для обнаружения микотоксинов афлатоксина B1, B2, G1, G2; охратоксина A, зеараленона и дезоксиниваленола;

для дополнительной очистки и выделения различных классов микотоксинов предложен метод дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции и разработана система анализа микотоксинов в высокоэффективной жидкостной хроматографии без использования метанола;

создан эффективный метод обнаружения и выделения афлатоксинов, зеараленона и охратоксина A, различных микотоксинов в составе растительной продукции с использованием сорбента, содержащего в своем составе кремний, первичные и вторичные амины PSA и лимонную кислоту;

при анализе микотоксинов методами высокоэффективной жидкостной хроматографии определены показатели влияния различных факторов на условия пробоподготовки в QuEChERS.

Практические результаты исследования Выявление и оценка микотоксинов, выделяемых патогенами в составе растительной продукции, выращенной в условиях Узбекистана, и их количества объясняется нижеследующими результатами:

разработана система анализа микотоксинов в составе растительной продукции методами высокоэффективной жидкостной хроматографии;

разработана система одновременной экстракции биомассы для обнаружения в составе растительных продуктов микотоксинов афлатоксина B1, B2, G1, G2; охратоксина A, зеараленона и дезоксиниваленола;

предложен к использованию в практике метод дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции для очистки и выделения входящих в разные классы различных видов микотоксинов, встречающихся в составе продуктов;

разработана система использования новых компонентов в качестве сорбента при разделении микотоксинов афлатоксина, зеараленона и охратоксина A в составе проб пищевых продуктов.

Достоверность результатов исследования. Достоверность полученных данных подтверждается использованием автоматических систем и современных методов исследования, позволяющих регистрировать, собирать и обрабатывать, анализировать результаты экспериментов. В работе выводы сделаны на основе использования современных математико-статистических методов, статистическая обработка полученных результатов проведена путем расчета промежуточных значений доверительного интервала среднего значения с использованием *t*-критерия Стьюдента. Доказательство полученных результатов объясняется экспертными оценками специалистов, практической проверкой результатов исследований, обсуждениями на республиканских и международных конференциях, публикацией результатов в рецензируемых научных изданиях.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость результатов исследования объясняется высокими перспективами использования результатов проведенного исследования по оценке и мониторингу с помощью методов ВЭЖХ наличия микотоксинов в составе растительной продукции, их количественных показателей при разработке основанной на фундаментальных исследованиях системы получения или создания экологически безопасной продукции.

Практическая значимость результатов исследований заключается в том, что разработанный метод микроэкстракции субстра в дисперсионной жидкостно-жидкостной системе с использованием метанола при обнаружении, выделении и анализе микотоксинов методами ВЭЖХ служит производственному процессу при выявлении степени повреждения грибками вырабатываемых растительных продуктов и при оценке условий хранения продуктов.

Внедрение результатов исследования. На основе результатов проведенных исследований по выявлению токсинов методами высокоэффективной жидкостной хроматографии в составе растительной продукции, созданной в условиях Узбекистана:

перед разделением микотоксинов на иммуноаффинных колонках с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии, метод использования вместе с NaCl MgSO₄ и лимонной кислоты при приготовлении экстракции для определения их наличия в субстрате, оценки их количественных показателей использован в лаборатории «Токсикологии» Сырдарьинского областного управления Службы санитарно-эпидемиологического благополучия и общественного здоровья (Справка № 20-05017 от 07 февраля 2023 года Центра службы санитарно-эпидемиологического благополучия и общественного здоровья Республики Узбекистан). В результате дана возможность быстро и эффективно выявить и оценить микотоксины в составе зерновой продукции, реализуемой на центральном фермерском рынке города Гулистана;

Упрощенный метод выявления из состава биопродуктов микотоксинов с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии

использован в ООО «Самаркандский Золотой Нут» (Samarqand Golden Chichreas) Самаркандской области по выявлению микотоксинов афлатоксина В1 (AFB1), афлатоксина В2 (AFB2), афлатоксина G1 (AFG1), афлатоксина G2 (AFG2) в грецких орехах и горьком миндале, а также на совместном предприятии «Берад Агро» Ташкентской области при выявлении микотоксина патулина, выделяемого из грибов в соках, приготовленных из яблок, персиков и винограда (Справка Агентства сельскохозяйственных услуг при Министерстве сельского хозяйства Республики Узбекистана №03/11-Т-11-942 от 14 ноября 2023 г.). В результате появилась возможность добиться эффективности в подготовке экспортной продукции на основе налаживания мониторинга и выявления микотоксинов в составе растительной продукции.

Апробация результатов исследования. Результаты данного исследования обсуждались на 2-х международных и 3-х республиканских научно-практических конференциях.

Опубликованность результатов исследований. Всего по теме диссертации опубликовано 4 научные работы, в том числе 3 опубликованы в научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов докторских диссертаций, из них 2 в республиканских и 1 в зарубежном журналах.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения, списка использованной литературы. Объем диссертации составляет 113 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во **введении** обоснованы актуальность и востребованность проведенных исследований, описываются цель, задачи, объект и предмет исследования, показано соответствие приоритетным направлениям развития науки и техники республики, изложены научная новизна и практические результаты исследования, раскрыты научная и практическая значимость полученных результатов, представлены сведения о внедрении результатов исследования в практику, об опубликованных работах и структуре диссертации.

В первой главе диссертации, озаглавленной **“Нормы микотоксинов и пределы их безопасности в пищевых продуктах”** представлен анализ данных, взятых из литературных источников о микотоксинах, их образовании и случаях загрязнения пищевых продуктов.

Перейра К.С., Кунья С.К., Фернандес Х.О. (2019) отметили, что микотоксины являются одними из важнейших вредителей, которые делают продукты сельского хозяйства и животноводства непригодными для потребления. Тот факт, что микотоксины являются вторичными метаболитами, выделяемыми грибами, был доказан в работе Эдите Безерра да Роша М. и других исследователей (2014). Микотоксины представляют

собой небольшие и очень стабильные молекулы, которые трудно нейтрализовать или разрушить и которые могут проникать в пищевую цепь, сохраняя при этом свои токсичные свойства. Брайден У.Л. (2012) отметили.

В настоящее время выявлено более пятисот микотоксинов (Урусов А.Е.б., 2015), потенциально токсичных веществ, выделяемых более чем сотней видов грибов. Среди них выделяют трихотецены, охратоксины, афлатоксины, зеараленон, фумонизины, патулин и цитринины, токсичные для сельского хозяйства, животноводства и здоровья населения. В связи с глобальным распространением этих микотоксинов и риском для здоровья животных, связанным с потреблением микотоксинов, уровень этих микотоксинов в зерне и кормах в настоящее время регулируется законодательством ряда стран мира (Ви́ла-Донат П. . б., 2019). Около 30 видов выявленных микотоксинов обладают реальными токсическими свойствами (Сурай П.Ф. и др., 2008).

Во II главе диссертации, озаглавленной «Использование методов высокоэффективной жидкостной хроматографии при определении, разделении и оценке микотоксинов в продукции» приведены сведения об объектах и методах исследования.

В качестве образцов для исследования были выбраны сухофрукты, зерновые культуры, выращенные в разных регионах нашей страны, и изготовленные из них пищевые продукты. Соответственно, были использованы различные методы выделения микотоксинов из состава образцов, взятых в качестве объектов, и выбраны оптимальные методы выделения. При определении микотоксинов, экстрагированных из состава образцов, использовали прибор высокоэффективной жидкостной хроматографии ВЭЖХ, оснащенный УФ/ФЛД-детекторами. В ходе исследований анализа афлатоксинов В1, В2, G1 и G2 в составе сухофруктов определяли на аппарате высокоэффективной жидкостной хроматографии. Количество охратоксина А, дезоксиниваленола и зеараленона было обнаружено в таких зерновых продуктах, как кукуруза, пшеница, рис и ячмень. Выделение афлатоксинов осуществляли на основе метода, указанного в нормативном документе ГОСТ ИСО31748-2012.

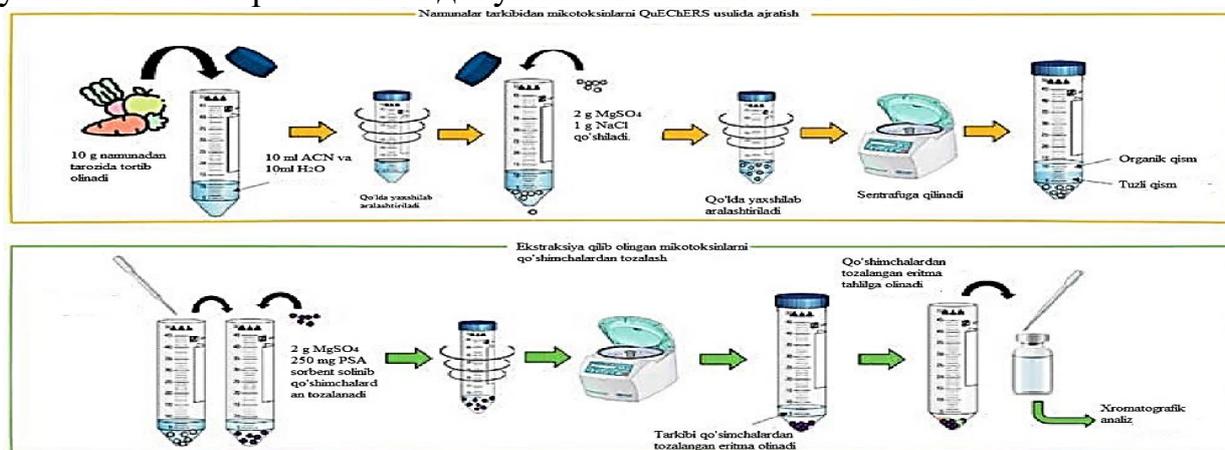


Рис.1. Последовательные этапы метода QuEChERS-экстракции

Полученный раствор фильтруют и получают прозрачный раствор. Затем его готовят для проведения аффинной колоночной хроматографии. Отделенный фильтрат V_3 должен быть прозрачным. Для селективного извлечения афлатоксинов из полученного экстракта готовится иммуноаффинная колонка и проводится процесс очистки согласно инструкции производителя.

Для выявления токсинов из состава проб (образцов) были приготовлены пробы с помощью метода QuEChERS (рис.1).

Последовательность действий оптимизированного метода QuEChERS-экстракции для анализа микотоксинов в образцах кормов показан на рис.2. Разработан новый метод обнаружения и анализа охратоксина А (ОТА) в зерне и зерновых продуктах, основанный на использовании процесса QuEChERS, усовершенствованного с ВЭЖХ-ФЛД. Образцы зерна готовили аналогично предложенному выше методу QuEChERS с афлатоксином, с некоторыми модификациями. Модифицированный QuEChERS включает в себя три этапа:

Первый этап: 1 г зерна массой 1 кг мелко измельчали и гомогенизировали до размера 0,1 см и помещали в полипропиленовую центрифужную пробирку (15 мл). Второй этап: Добавьте 5,0 мл 0,5% раствора воды/ацетонитрила/уксусной кислоты (20:70:10) (% по объему) и перемешайте встряхиванием в течение 1 минуты, чтобы растворитель тщательно перемешался со всем образцом. центрифуга. трубка. Для полного удаления микотоксинов. Третий этап: в полученную пробирку добавляли 2 г $MgSO_4$, 1,5 г лимонной кислоты и 1 г PSA, экстракт центрифугировали при 4000 об/мин в течение 5 минут и 0,5 мл верхнего органического слоя фильтровали через фильтр. Фильтр 0,45 мкм. . Нейлоновый шприцевой фильтр перед анализом ВЭЖХ. Оптимизировано количество солей, используемых в методе экстракции QuEChERS.

Методы определения микотоксинов в составе биопродуктов

Мы применили обнаружение микотоксинов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии FLD или УФ-детекторов. ВЭЖХ в сочетании с FLD является основным методом определения количества афлатоксинов B1, B2, G1 и G2 и охратоксина А и имеет множество преимуществ, таких, как хорошая надежность и чувствительность. Преимущество проведения анализов с помощью (ВЭЖХ-ФЛД) состоит в том, что нет необходимости в наличии хромофорных групп в определяемом веществе, поскольку они обладают естественной флуоресценцией.

При определении количества веществ хроматограмма анализируется с помощью методов абсолютной калибровки или добавления внутренних стандартов. Время элюирования вещества из колонки в одной и той же среде одинаково и постоянно, и это свойство используется для определения подлинности детектируемого соединения. При количественном анализе учитываются площади пиков, поскольку площадь пика прямо

пропорциональна количеству вещества. Поэтому для качественного и количественного анализа полученных супрамолекулярных комплексов мы использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Для этого сначала определяли время удерживания в колонке и площади стандартных образцов дезоксиниваленола и зеараленона.

Стандартные образцы: ДОН (200 µg/ml) (LRM46911) и ЗЕН (50 µg/ml) (CRM46916), приобретенные в виде стандартных растворов, разводили в ацетонитриле с получением растворов различной концентрации. Стандартный раствор ДОН концентрацией 200 µg/ml разбавляют ацетонитрилом в колбе емкостью 20 мл. Далее в качестве рабочего раствора брали растворы для ДОН 40-100 µg/ml и для ЗЕН 5-50 µg/ml. Рабочие растворы хранили в холодильнике при -20°C.

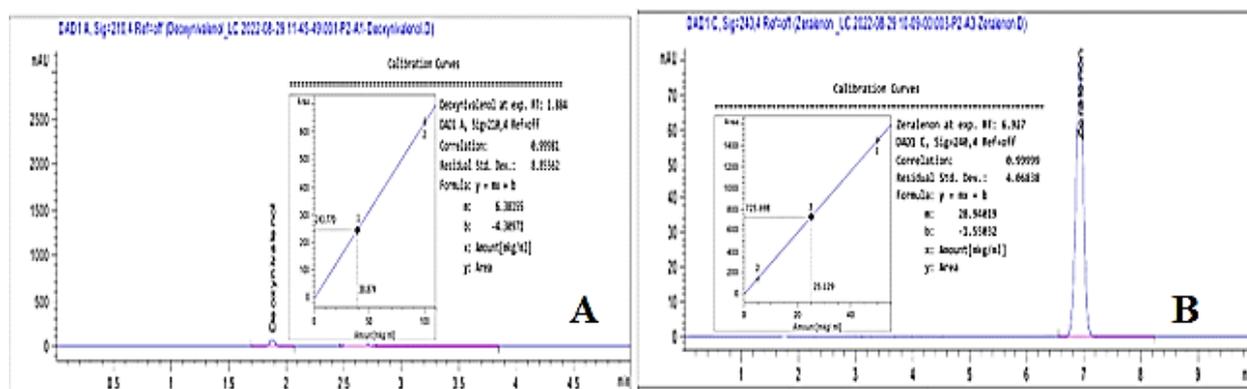


Рис. 2. Хроматограмма стандартных образцов Дезоксиниваленола полученного при длине волны 210 нм (А) и зеараленона (В), полученного при длине волны 240 нм

Как видно из хроматограмм, представленных на рисунках, при оценке ДОН (200 мкг/мл) и ЗЕН (50 мкг/мл) (SigmaAldrich, США), принятых за стандарт, выявлено, что время удерживания ДОН на колонке при оценке составило 1,79 мин, а ЗЕН на 6,92 минуте образовал пик. Количественно мы сможем проверить количественные показатели ДОН и ЗЕН из состава образцов в зависимости от площади пика хроматограммы относительно концентрации стандартного образца.

Таблица 1

Результаты, полученные от калибровки стандартных образцов (проб)

Наименование стандарта	Линейный диапазон (µg/ml)	Уравнение регрессии	R^2
DON	40–100	Формула: $y = mx + b$ m: 6.38155 b: -4.30971 Amount[mkg/ml] y: Area	0,99981
ZEN	5-50	Формула: $y = mx + b$ m: 28.94019 b: -1.55032 Amount[mkg/ml] y: Area	0,99999

Для выполнения анализов мы использовали колонку Shim-pack GIST-HP C18 150x4,6 мм 3 мм (Shimadzu) прибора ВЭЖХ LC 2030 C3D Plus (Shimadzu), при температуре термостата 40°C (подвижная фаза) взятой в качестве мобильной фазы в градиентном режиме в отношении H₂O/H₃C-CN = 40/60, снятая на флуоресцентном детекторе РФ-20А при длине волны возбуждения 365 - 450 нм и скорости потока 0,5 мл/мин мобильная фаза дегазировалась и перед использованием подвергалась фильтрации через мембранный фильтр (47 мм × 0,45 мкм), объем отправленного образца 10 мкл осуществлен с помощью программного обеспечения LabSolution.

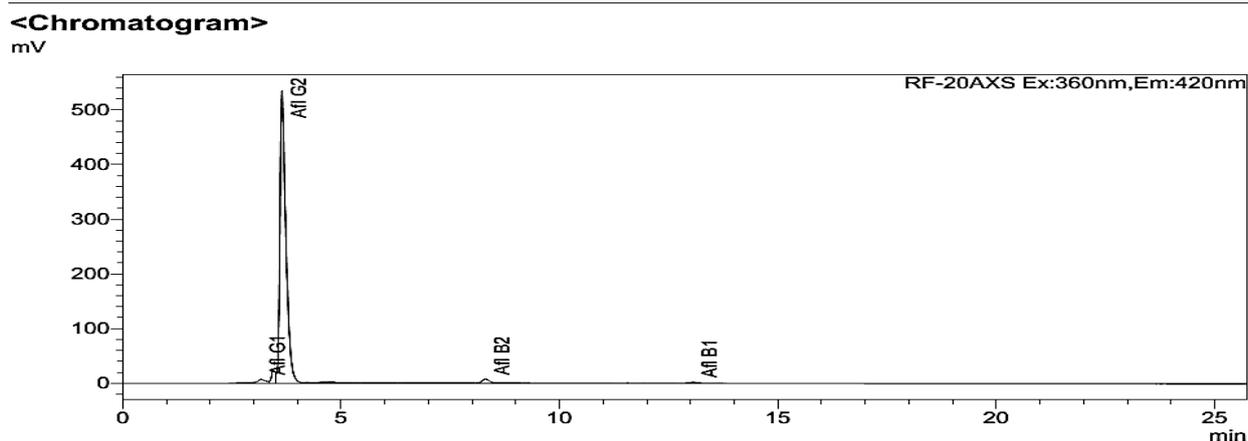


Рис. 3. Хроматограмма, полученная из стандартных проб AFB1, AFB2, AFG1 и AFG2

Анализ стандартных проб (образцов) афлатоксинов проведен на приборе ВЭЖХ Shimadzu LC2030 3D Plus. По результатам анализа AFG1 определили на уровне 3,166, а AFG2 на 3,646 минуте. Было замечено, что афлатоксины B1 и B2 образуют пики при 13,057 и 8,301 минуте соответственно.

В главе III диссертации, озаглавленной **«Идентификация экспериментально обнаруженных токсинов и мониторинг предельных значений их концентраций»** описаны результаты выявления микотоксинов, продуцируемых грибами, методом ИК-спектроскопии. При этом приведены сведения о количестве микотоксинов в различных пробах.

Спектроскопические методы привлекают все большее внимание как экономически эффективный аналитический инструмент для классификации или оценки загрязнения сельскохозяйственной продукции микотоксинами и грибами. При анализе методом ИК-спектроскопии мы подтвердили структуру дезоксиниваленола, выделенного методом жидкостно-жидкостной экстракции и количественно определенного с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии.

На основании полученных результатов были получены результаты по ДОНу в двух разных концентрациях, выделенному из необработанной кукурузы и определенному методом ВЭЖХ.

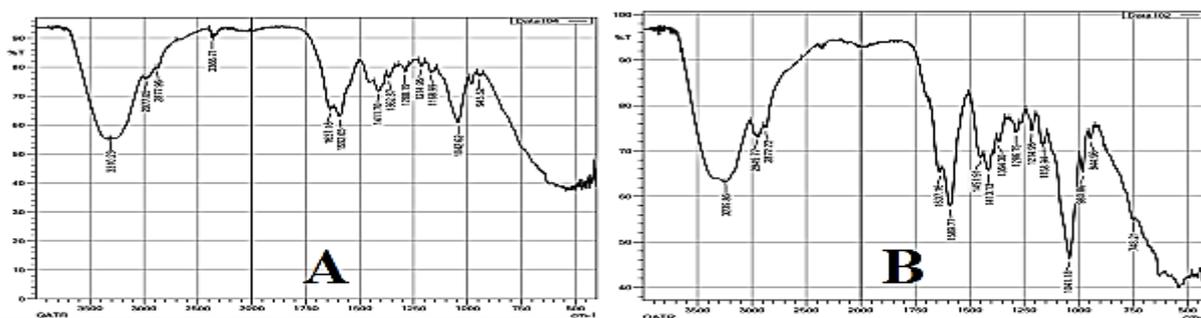


Рис. 4. Количество дезоксиниваленола в метанольном растворе, выделенном из необработанной кукурузы и определенном методом ВЭЖХ, составляет 200 мкг/кг (А) и 680 мкг/мл (Б) ИК спектры/

Растворы ДОН (0,20–0,680 г/л) в метаноле анализировали с использованием систем ближней инфракрасной спектроскопии. Полоса с максимумом при 1637 см^{-1} может быть отнесена к колебаниям $\text{C}=\text{O}$ (карбонильной группы); максимум при $1158\text{--}1589\text{ см}^{-1}$ соответствует антисимметричному растяжению валентному $\text{C}-\text{O}-\text{C}$; полоса около $1041\text{--}1042\text{ см}^{-1}$ соответствует растяжению $\text{R}-\text{CH}-\text{OH}$; и в литературе сообщается о полосе $943\text{--}944\text{ см}^{-1}$, соответствующей растяжению $\text{C}-\text{O}$ (эпоксидного кольца). На основании полученных двух спектров было установлено, что в составе анализируемых нами метанольных растворах присутствует дезоксиниваленол.

Количественные показатели микотоксинов в составе анализируемых продуктов

Анализ афлатоксинов. Метод ВЭЖХ («Agilent-1260»; США) является эффективным аналитическим методом количественного анализа микотоксинов, продуцируемых грибами. Для определения количества афлатоксинов методом ВЭЖХ использовали следующую формулу:

$$C_x = \frac{S_x \times C_{st} \times 1,0207}{S_{st}}$$

Здесь: S_x – количество микотоксина в анализируемой пробе; S_{st} – концентрация стандартного раствора микотоксина; S_x – площадь поверхности хроматографического пика микотоксина в анализируемой пробе; S_{st} – площадь поверхности стандартного хроматографического пика микотоксина; 1,0207 представляет собой коэффициент перерасчета. В ходе исследований изучалось количество афлатоксинов в составе таких продуктов, как сухофрукты: абрикосы, горький миндаль, изюм и арахис. Ниже мы можем видеть хроматограммы, полученные на основе анализа (Рис.5).

Современными методами исследования проанализированы афлатоксины, вырабатываемые грибами в сухофруктах, выращенных в различных регионах нашей республики, изучено их количество.

Ниже мы можем видеть полученные методом высокоэффективной жидкостной хроматографии количественные показатели афлатоксинов в

некоторых сухофруктах - арахисе, изюме, грецких орехах, косточках абрикоса и горьком миндале, выращенных в условиях Узбекистана.

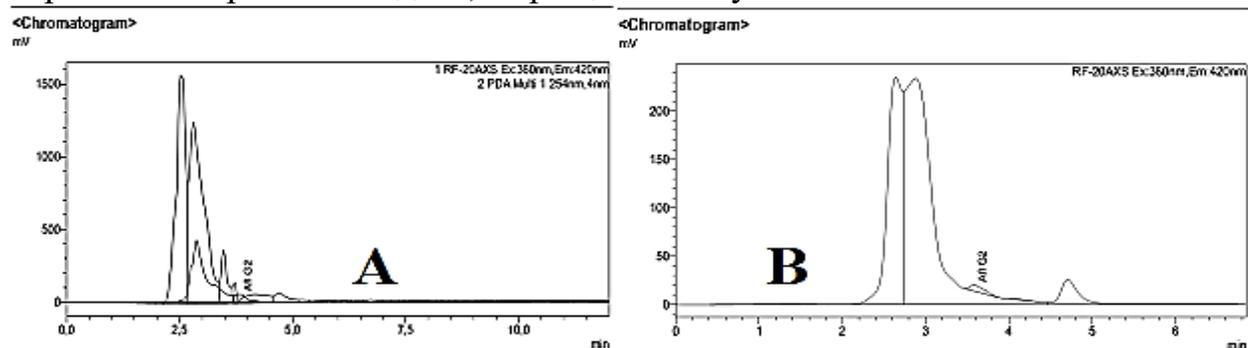


Рис. 5. Хроматограмма афлатоксинов в составе грецких орехов, выращенных в Джизакской (А) и Самаркандской (Б) областях, полученная по методу ВЭЖХ

Методами высокоэффективной жидкостной хроматографии выявлены микотоксины из состава сухофруктов, злаков и получаемых из них продуктов, потребляемых в качестве пищевой продукции, выращенных в различных регионах нашей страны. Ниже в составе взятых образцов пшеницы, кукурузы, ячменя и риса выявлены дезоксиниваленол, зеараленон и охратоксин А.

Анализ дезоксиниваленола. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии определено количество вторичных метаболитов дезоксиниваленола и зеараленона, продуцируемых грибами в составе зерновых культур, выращиваемых в Сырдарьинской области, и получены следующие хроматограммы.

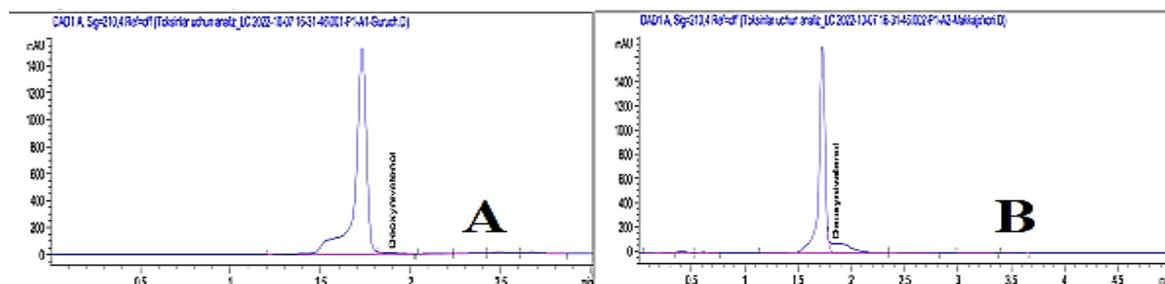


Рис. 6. Хроматограмма ДОН в составе риса (А) и кукурузы (Б), выращенных в Сырдарьинской области, полученная по методу ВЭЖХ

Аналогичным образом анализировали содержание дезоксиниваленола в составе продукции других сельскохозяйственных растений, выращенных в Сырдарьинской области.

Анализ охратоксина А. Зерновые продукты используются в качестве основного сырья для производства риса, муки и мучных изделий, которые являются основными потребительскими товарами населения нашей республики. Поэтому необходимо изучать и контролировать количество охратоксина А, вырабатываемого грибами, в пищевых продуктах. Ниже представлена хроматограмма продуктов, проанализированных на основе методов высокоэффективной жидкостной хроматографии.

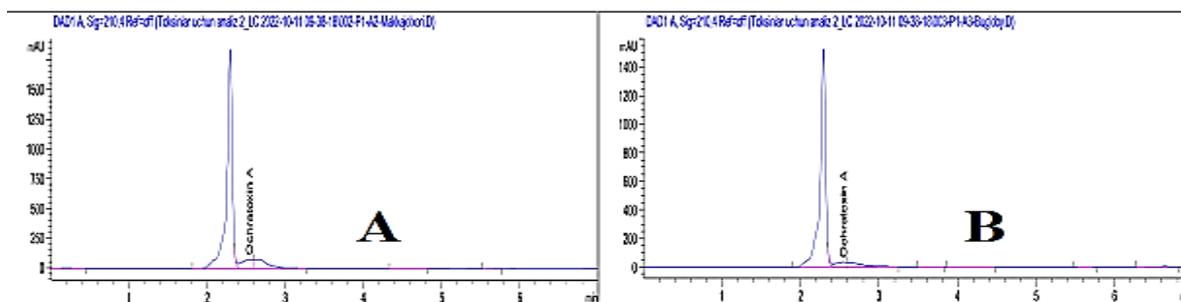


Рис.7. Хроматограмма охратоксина А из состава выращенных в Сырдарьинской области кукурузы (А) и пшеницы (В), полученная на основе метода ВЭЖХ

На основании исследований, проведенных с помощью методов высокоэффективной жидкостной хроматографии, отмечено, что количество ДОН в зерне пшеницы в десять раз выше, чем в тестируемом ячмене.

Установлено, что количество дезоксиниваленола в составе необработанной кукурузы ниже пределов количества, указанных в нормативных документах, а в составе отобранных продуктов оно относительно в большем количестве. На основании результатов проведенного анализа установлено, что содержащиеся в продукции микотоксины пригодны к употреблению в соответствии с количественными пределами, установленными в пределах наличия в продукции на территории Республики Узбекистан.

Количественный анализ дезоксиниваленола и зеараленона в составе куриного мяса

Необходимо обеспечить, чтобы коэффициент корреляции был больше 0,99 при калибровке ДОН и ЗЕН, которые представлены в виде стандартного образца, по методу ВЭЖХ. При этом стандартные коэффициенты линейности и корреляции ЗЕН и ДОН, полученные с помощью калибровки стандартных образцов, достигли показателей 0,99999 для ЗЕН и 0,99981 для ДОН. Построена кривая линейности метода для ЗЕН при четырех различных уровнях 5, 10, 20 и 25 мкг/мл в стандартных образцах, в трех уровнях предела количественного определения ЗЕН до 20, 40 и 100 мкг/мл, построена калибровочная кривая.

На основании проведенных анализов получены нижеследующие результаты.

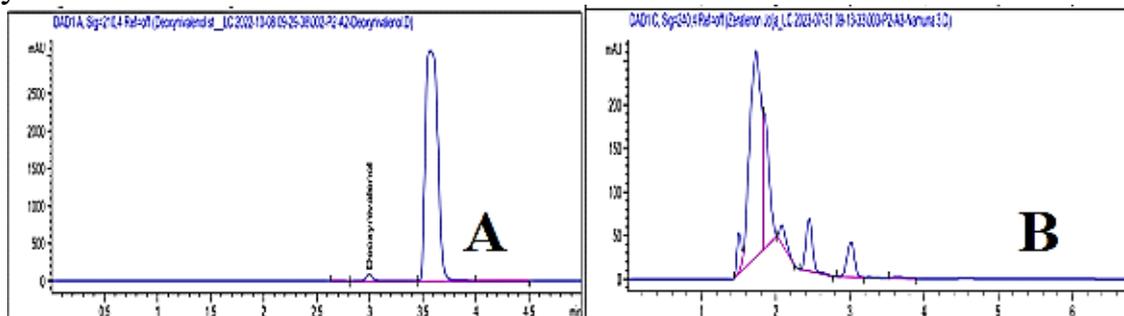


Рис.8. Хроматограмма образцов цыплят ДОН(А) и ЗЕН(В)

На основе метода высокоэффективной жидкостной хроматографии проанализировано количество микотоксинов в пробах мяса, взятых от зараженных кур – основных потребителей зерновых культур. На основании полученных результатов получены количественные показатели микотоксинов, продуцируемых грибами.

В анализах проанализировано мясо двух кур на содержание ДОН и ЗЕН в составе проб. На основании полученных результатов количество дезоксиниваленола в 1 пробе курицы определено как 42,81 мкг/кг. В результате проверки дезоксиниваленол и зеараленон в составе второй пробы не обнаружены. В результате выявлено, что две взятые для анализа курицы оказались пригодными к употреблению в пищу.

В главе 4 диссертации под названием «Анализ показателей воздействия микотоксинов в разрезе продуктов» анализируются результаты размножения грибов и условия производства микотоксинов, а также результаты определения миграции микотоксинов.

При благоприятных влажностных и температурных условиях грибковое заражение может возникнуть на различных стадиях развития растений в полевых условиях или позднее при сушке, во время хранения (табл. 2).

Таблица 2

Типы грибов, их рост и оптимальные условия для производства микотоксинов

Грибы	Рост		Оптимальный рост		Оптимальные условия для производства токсинов	
	Температура	a _w	Температура	a _w	Температура	a _w
<i>Aspergillus flavus/paraziticus</i>	15–44 °С	0,91–0,99	35 °С	0,95	33 °С	0,99
<i>Aspergillus ochraceous</i>	10–40 °С	0,80–0,98	24–31 °С	0,96–0,98	25–30 °С	0,98
<i>Aspergillus carbonarius</i>	8–40 °С	0,90–0,93	32–35 °С	0,94–0,99	30–35 °С	

В лабораторных условиях изучено влияние температуры и влажности на производство микотоксинов зернами кукурузы, зараженной грибами и проведен мониторинг. На основании полученных результатов были получены нижеследующие результаты

По результатам, полученным с помощью метода ВЭЖХ, установлено, что в зараженных грибом зернах кукурузы, хранившихся при одинаковой 85% влажности и различных температурах в условиях лаборатории, при температуре 10 и 35 °С, образовывалось ДОН в количестве 10 мкг/мл.

Температурная зависимость нейтрализации афлатоксинов в составе сухофруктов

Выделение афлатоксина от грибов и накопление зависит от погодных условий. При влажности почвы ниже нормы и высокой температуре количество спор *Aspergillus* в воздухе увеличивается. Эти споры передаются

растениям через насекомых и неблагоприятные погодные условия. Споры *Aspergillus* развиваются в продуктах, выделяют токсины, относящиеся к классу афлатоксинов. Афлатоксины, обнаруженные из проб в лабораторных условиях на основе метода ВЭЖХ и получены результаты (Рис.9).

Анализы по нейтрализации афлатоксинов в составе зараженных сухих плодах грецких орехов, изюма, горького миндаля, арахиса и косточек абрикоса проводились в лаборатории при указанных выше температурах.

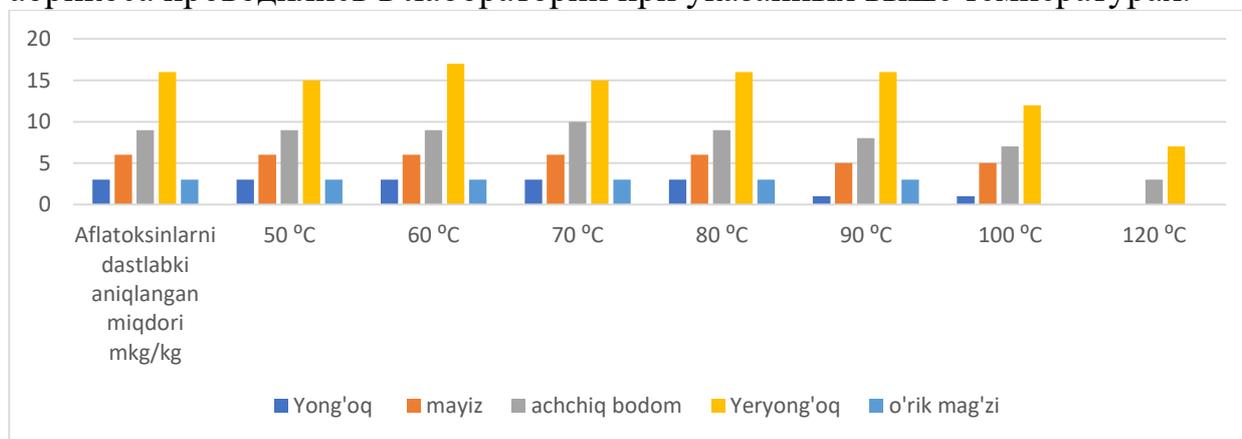


Рис. 9. Результаты анализа температурной зависимости при нейтрализации афлатоксинов, содержащихся в сухофруктах

Как видно по результатам анализа, количество микотоксинов в образцах, хранившихся от 50°C до 90°C, практически не наблюдалось изменений, а в наших образцах наблюдалось сохранение афлатоксинов.

Нейтрализация наблюдалась при хранении общего количества афлатоксинов в составе орехов при температуре 100-120°C. В образцах с повышенным содержанием афлатоксинов в составе, наблюдалось снижение количества афлатоксинов. В инкубированном арахисе наблюдалось снижение общего количества афлатоксинов на 50%, а в составе горького миндаля - на 60% при повышении температуры с 90°C до 120°C.

Оценка миграции и вредного воздействия микотоксинов

Как уже упоминалось, представленные в качестве стандартного образца ДОН и ЗЕН определяли в продукции зерновых культур методом ВЭЖХ. На основании продолжения этих исследований, мы проводили мониторинг выделения токсинов ЗЕН и ДОН из грибов на стадиях онтогенетического развития пшеницы, кукурузы и томатов с помощью стандартных образцов. Основная причина этого заключается в том, что фермер всегда кормил птицу и скот, выращиваемых на базе его бизнеса, зернами кукурузы и пшеницы, выращенными в поле.

Для определения инфекционных свойств выявленных в результате наблюдений патологических симптомов отбирали образцы зараженных растений, механически инокулировали их, как указано в материалах и методах работы, и наблюдали появление симптомов заболевания.

Патологические состояния всегда наблюдались у домашней птицы и черного скота. В ходе исследования мы сажали пшеницу, кукурузу и

помидоры точно так же, как фермер сажал рядом с собой в поле пшеницу, кукурузу и рядом с ними помидоры. Только мы проводили инокуляцию гриба, вызывающего выделение токсинов ЗЕН и ДОН, перед посадкой и на стадиях вегетативного развития. Токсины ЗЕН и ДОН в вегетативном развитии и в составе продуктов растения определяли и контролировали, как мы описали выше, с помощью стандартов методом ВЭЖХ (табл. 3).

Таблица 3.

Стадии вегетативного развития растений и показатели токсинов ЗЕН и ДОН в продуктах (мг/кг)

Растения	На начальной стадии вегетативного развития		При формировании колоса и плода		В составе продукта	
	ЗЕН	ДОН	ЗЕН	ДОН	ЗЕН	ДОН
Кукуруза	9	14	14	26	41	50
Пшеница	-	24	11	32	16	45
Помидор	-	-	-	18	14	36

Полученные результаты показали, что на стадиях вегетативного развития проростков кукурузы и пшеницы количество выделения из грибов токсинов ЗЕН и ДОН постепенно (поэтапно) увеличивалось. Хотя наличие токсинов ЗЕН и ДОН в продуктах оказалось ниже допустимых норм, было выявлено их присутствие.

В ходе нашего исследования мы, как и фермер, готовили курам и крупному рогатому скоту зерно пшеницы и кукурузы в качестве корма. У кур, получавших токсинсодержащие корма, на 5-е сутки, а у крупного рогатого скота - на 11-е сутки появились красные высыпания в области рта и вокруг у кур, а аппетит к принятию пищи у них снизился по сравнению с исходным состоянием. У кур и крупного рогатого скота наблюдались те же патологические изменения, что и у фермерских кур и крупного рогатого скота.

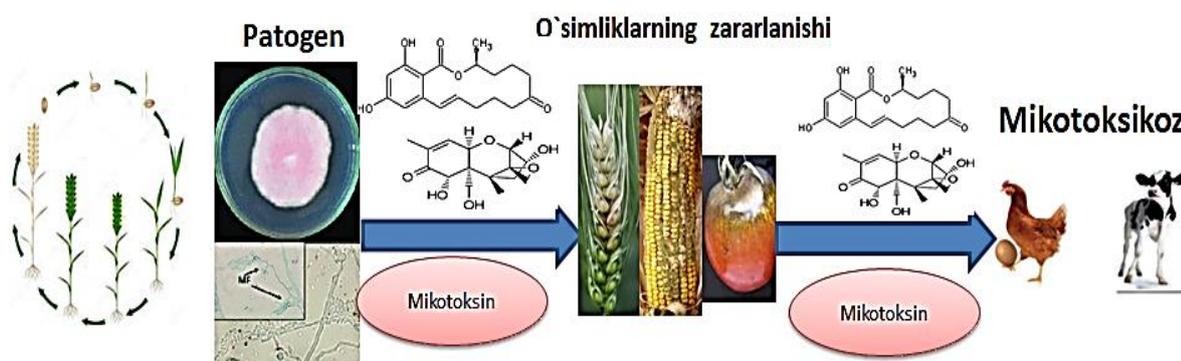


Рис. 10. Миграция токсинов ЗЕН и ДОН на основе стадий вегетативного развития и продуктов растений кукурузы, пшеницы.

Важнейшим аспектом отсутствия токсинов в растительной продукции является профилактика грибковых инфекций или применение экологически чистых средств или препаратов на основе природных физиологически активных соединений против грибов в зараженных растениях.

Соответственно, в ходе наших исследований мы попытались определить возможности предотвращения загрязнения растительной продукции токсинами путем использования комплексов, приготовленных на основе глицирризиновой кислоты – физиологически активного вещества, выделенного из корневой системы солодки. Для этого приготовленным комплексом обрабатывали зерно кукурузы и пшеницы, инокулированные грибом (рис. 11).

Результаты показали, что при обработке комплексами глицирризиновой кислоты во всех вариантах на стадиях развития растений и в продуктах токсинов не обнаружено. Следовательно, препарат оказывает противодействие развитию грибов и повышает устойчивость растений. За счет неразвития грибов растения позволили получать экологически безопасную продукцию, свободную от токсинов.

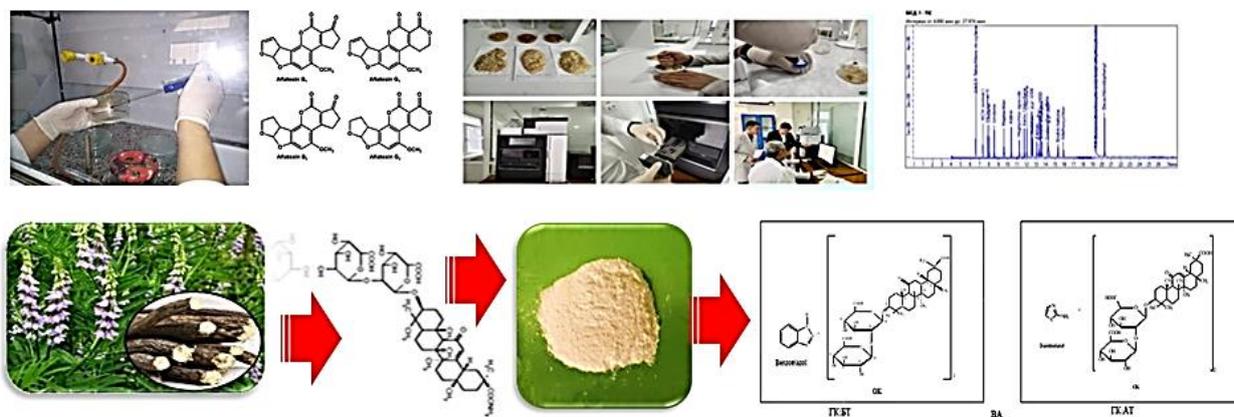


Рис. 11. Комплексы глицирризиновой кислоты для лечения инокулированных грибом кукурузы и пшеницы

Значит, положительные результаты можно получить при обработке растений персонализированными натуральными противогрибковыми препаратами на стадиях развития.

ВЫВОДЫ

1. Разработана система анализа микотоксинов в составе биопродуктов методами высокоэффективной жидкостной хроматографии.
2. Для выявления в составе пищевых продуктов афлатоксинов В1, В2, G1, G2; охратоксина типа А: зераленона, дезоксиниваленоловых микотоксинов разработана система одновременной экстракции.
3. Предложен метод дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции для дополнительной очистки и отбора (выделения) микотоксинов различных классов, присутствующих в биопродуктах, а также разработана система анализа микотоксинов в высокоэффективной жидкостной хроматографии без использования метанола.
4. Для выделения афлатоксинов, зераленоновых и охратоксиновых микотоксинов из образцов биопродуктов применяли метод QuEChERS, в

качестве разделяющего сорбента использовали лимонную кислоту в сочетании с кремнесодержащим первичным вторичным амином PSA.

5. При анализе микотоксинов методами высокоэффективной жидкостной хроматографии определены показатели влияния различных факторов на условия подготовки проб методом QuEChERS.

6. Рекомендовано изучить степень зараженности грибками таких пищевых продуктов, как выращенные сухофрукты (абрикосы, грецкие орехи, горький миндаль, изюм и арахис) и зерновых культур (пшеницы, риса, ячменя и кукурузы) и условий хранения полученной продукции.

РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРОИЗВОДСТВУ

Рекомендовано использовать вновь разработанные методы высокоэффективной жидкостной хроматографии для выделения современными методами таких микотоксинов, как афлатоксины В1, В2, G1 и G2, дезоксиниваленол, зераленон и охратоксин А, продуцируемые грибками из состава растений и полученных из них пищевых продуктов.

Рекомендуется изучить степень зараженности грибками таких пищевых продуктов, как выращиваемые сухофрукты (абрикосы, грецкие орехи, горький миндаль, изюм и арахис) и зерновых культур (пшеница, рис, ячмень и кукуруза), а также условия хранения полученной продукции (одинаково с 6 пунктом выводов).

**MINISTRY OF HIGHER EDUCATION, SCIENCE AND INNOVATION OF
THE REPUBLIC OF UZBEKISTAN
SCIENTIFIC COUNCIL DSc.03/05.06.2020.K/B.91.03 FOR THE AWARD
OF ACADEMIC DEGREES UNDER GULISTAN STATE UNIVERSITY**

GULISTAN STATE UNIVERSITY

TOJIKULOV ABDUKHALIL ABDUJALIL UGLI

**DETERMINATION OF TOXINS IN THE COMPOSITION OF
BIOLOGICAL PRODUCTS CREATED IN UZBEKISTAN CONDITIONS
USING HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY
METHODS**

02.00.10 – Bioorganic chemistry (Biology)

**ABSTRACT
DOCTOR OF PHILOSOPHY (PhD) DISSERTATIONS
IN BIOLOGICAL SCIENCES**

Gulistan – 2024

The topic of the Doctor of Philosophy (PhD) dissertation in biological sciences is registered under number B2024.2.PhD/B1149 with the Higher Attestation Commission under the Ministry of Higher Education, Science and Innovation of the Republic of Uzbekistan.

The dissertation was completed at Gulistan State University.

The abstract of the dissertation in three languages (Uzbek, Russian, English (summary)) is posted on the web page of the Scientific Council (www.siyes.uz) and on the Information and Educational Portal "ZiyoNet" (www.ziynet.uz).

Scientific supervisor:

Kushiev Khabibjon Khojiboboevich
Doctor of Biological Sciences, Professor

Official opponents:

Khoshimova Nigora Rustamovna
doctor of biological sciences, senior researcher

Kadyrov Orifjon Sharipovich
Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor

Lead organization:

Tashkent Institute of Chemical Technology

The defense of the dissertation will take place "____" _____ 2024 at ____ hours at a meeting of the Scientific Council DSc.03/05.06.2020.K/B.91.03 for awarding academic degrees at Gulistan State University (Address: 140100, Gulistan, 4th microdistrict, university campus. Tel.: (+99867) 225-24-90, e-mail: gdu_info@edu.uz).

The dissertation can be found at the Information and Resource Center of Gulistan State University (registered under No. ____). (Address: 120100, Gulistan, 4th microdistrict, university campus. Tel.: (+99866) 233-38-73, e-mail: sies_info@edu.uz)

The abstract of the dissertation was sent out "____" _____ 2024.
(registry of mailing protocol No. __ dated "____" _____ 2024).

Tilyabaev Zaidjon

Deputy Chairman of the Scientific Council for Awarding Academic Degrees, Doctor of Biological Sciences, Professor

Djuraev Tulkin Arzikulovich

Scientific Secretary of the Scientific Council for Awarding Scientific Degrees, Doctor of Philosophy (PhD) in Biological Sciences, Associate Professor

Khoshimova Nigora Rustamovna

Chairman of the scientific seminar at the Scientific Council for the Award of Academic Degrees, doctor of biological sciences, senior researcher

ABSTRACT OF DOCTORAL DISSERTATION

The purpose of the research: It consists in the selection and creation of effective methods for the detection of toxins in food products using high-performance liquid chromatography.

As the object of research different varieties of dry fruits (almonds, apricots, grapes, walnuts) and grain crops (barley, wheat, rice and corn), tomatoes and chicken meat were selected.

The scientific novelty of the dissertation research consists of the following:

aflatoxin B1, B2, G1, G2; a simultaneous product extraction system has been developed for the detection of mycotoxins ochratoxin A, zearalenone, and deoxyvalenol;

for additional purification and isolation of different classes of mycotoxins, a dispersive liquid-liquid microextraction method was proposed, and a system for the analysis of mycotoxins in high-performance liquid chromatography without the use of methanol was developed;

using a sorbent containing silicon, primary and secondary amine PSA, and citric acid, an effective method was created for the detection and separation of aflatoxins, zearalenone, and ochratoxin type A mycotoxins in plant products;

in the analysis of mycotoxins by high-performance liquid chromatography methods, indicators of the influence of various factors on sample preparation conditions were determined in QuEChERS.

Implementation of research results. Based on the results of the research on the determination of toxins in the composition of plant products created in the conditions of Uzbekistan by high-performance liquid chromatography methods:

The results obtained on the use of immunoaffinity columns in the detection and quantitative evaluation of mycotoxins secreted by fungi using high-performance liquid chromatography were used in the "Toxicology" laboratory of the Syrdarya Region Department of Sanitary-Epidemiological Peace and Public Health Service (Sanitary-Epidemiological Peace of the Republic of Uzbekistan and Center for Public Health Service Reference No. 20-05017 of February 07, 2023). As a result, it became possible to quickly and effectively identify and evaluate mycotoxins in grain products sold in the central farmers' market of Gulistan.

Aflatoxin B1 (AFB1), aflatoxin B2 (AFB2), aflatoxin G1 (AFG1), aflatoxin G2 (AFG2) in walnuts and bitter almonds in the Samarkand region "Samarkand Golden Chicpeas" LLC from a simplified method for the determination of mycotoxins in bioproducts using high-performance liquid chromatography) mycotoxins and patulin mycotoxin released from fungi in juices made from apples, peaches and grapes in the joint enterprise "Berad Agro" of the Tashkent region were used (agency of agricultural services under the Ministry of Agriculture of the Republic of Uzbekistan reference No. 03/11-T-11-942 of November 14, 2023). As a result, it was possible to achieve efficiency in the preparation of exportable products based on the establishment of monitoring and identification of mycotoxins in plant products.

Approbation of the results of the research. The results of this study were discussed at 2 international and 3 republican scientific conferences.

Publication of research results. In total, 4 scientific papers have been published on the topic of the dissertation, including 3 articles in scientific journals recommended by the Higher Attestation Commission of the Republic of Uzbekistan, 2 of them in republican and 1 in foreign journals.

The structure and scope of the dissertation. The dissertation consists of an introduction, four chapters, a conclusion, and a list of used literature. The volume of the dissertation is 113 pages.

E'LON QILINGAN ISHLAR RO'YXATI
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I-bo'lim (I-часть: Part I.)

1. Tojikulov A.A., Kushiyeu H.H., Djuraev T.A. Quruq mevalar tarkibidagi og'ir metallar va organik toksinlarni qiyosiy tahlil qilish//Scientific Bulletin of NamSU-Научный вес ник НамГУ-NamDU ilmiy axborotnomasi 2022. -№9. - B.100-107 (02.00.00 №18)

2. Tojikulov A.A., Kushiyeu H.H., Djuraev T.A., Bekpulatov H.O. Comparative analysis of aflatoxin content in bitter almond fruits (prunus dulcis var. achchiq) growing in various geographical region Uzbekistan by high-performance liquid chromatography//Chemistry and chemical engineering 2022. - №1. -Pp.71-76 (02.00.00 №3)

3. Tojikulov A.A., Kushiev Kh.Kh., Djuraev T.A., Shapulatov U.M. The Determination of Mycotoxins in the Composition of Walnut (Juglans Regia L.) Fruits Cultivated in Different Geographical Regions of Uzbekistan by High-Performance Liquid Chromatography Method and Their Comparative Analysis// International Journal of Current Science Research and Review ISSN: 2581-8341 № 6 Issue 11 November 2023 DOI: 10.47191/ijcsrr/V6-i11-45, Scientific Journal Impact Factor: 6.789 IJCSRR @ 2023. -Pp.7389-7394

4. Tojikulov A.A., Kushiev H.H., Shapulatov U.M., Khalmuratova Z.T. Investigation of some mycotoxins produced by fungi from meat products// Science and Education in Karakalpakstan. 2023.-№3/2. ISSN 2181-9203 -Pp.172-176 (02.00.00 №16)

II-bo'lim (I-часть: Part I.)

5. Tojikulov A.A., Kushiev Kh.Kh., Djuraev T.A., Khudoynazarov M.S. Determination of deoxynivalenol and zearalenone in food products by high performance liquid chromatography//International Scientific Conference on Actual Problems of the Chemistry of Natural Compounds Dedicated to the 80 th Anniversary of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan 15.05.2023 Toshkent 2023 -Pp.182

6. Tojikulov A.A., Ibragimova Sh.X., Qo'shiyev H. H. Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi metodi yordamida yeryong'oq mevasi tarkibidagi aflatoksinlar miqdorini tahlil qilish//Qarshi davlat universiteti Zamonaviy organik kimyoning dolzarb muammolari Respublika ilmiy-amaliy anjumani materiallari 1-may 2021. -B.130-132.

7. Qo'shiyev H.H, Tojikulov A.A., Djuraev T.A. Sirdaryo viloyati Xovos tumanida yetishtirilgan yong'oq tarkibidagi aflatoksinlar miqdorini yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi metodi yordamida tahlil qilish//Guliston davlat universiteti Geografiya va ekologiya fanlar tizimining dolzarb muammolari

va ularning echimlari. Respublika ilmiy-amaliy konferentsiya materiallari. 2022 yil 13-14 aprel Guliston 2022. -B.211-214

8. Тожикулов А.А., Кушиев Ҳ.Ҳ., Джураев Т.А., Худойназаров М.Ш. Обнаружение важных токсинов высокоэффективными методами жидкостной хроматографии//Научный обозреватель Научно-аналитический журнал № 12 (144)//2022 Свидетельство о государственной регистрации ПИ №ФС 77-42040 ISSN 2220-329X -С.76-79.

9. Tojikulov A.A., Kushiev Kh.Kh., Djuraev T.A., Shapulatov U.M. The confirmation of the structure of deoxynivalenol in the composition of corn grain infected with fungi using infrared spectroscopy//Актуальные вопросы общества, науки и образования: сборник статей IX Международной научно-практической конференции. – Пенза: МЦНС «Наука и Просвещение». 2023. - С.11-14

Avtoreferat «_____» jurnali tahririyatida
tahrirdan o‘tkazilib, o‘zbek, rus va ingliz tillaridagi matnlar o‘zaro
muvofiglashtirildi.

Bosmaxona litsenziyasi:



9338

Bichimi: 84x60 ¹/₁₆. «Times New Roman» garniturası.
Raqamli bosma usulda bosildi.
Shartli bosma tabog‘i: 3,5. Adadi 100 dona. Buyurtma № 31/24.

Guvohnoma № 851684.
«Tipograff» MCHJ bosmaxonasida chop etilgan.
Bosmaxona manzili: 100011, Toshkent sh., Beruniy ko‘chasi, 83-uy.