

СТАН І БЕЗПЕКА КОРМІВ ТА КОРМОВОЇ СИРОВИНИ ЗА ПОКАЗНИКАМИ ЗАБРУДНЕНOSTІ МІКОТОКСИНАМИ В ТВАРИННИЦЬКИХ ГОСПОДАРСТВАХ УКРАЇНИ

В. І. Цвіліховський, О. А. Лапоша, А. В. Белоцька

Українська лабораторія якості та безпеки продукції АПК
Національного університету біоресурсів і природокористування України

У роботі досліджено корми і кормову сировину на присутність мікотоксинів, які регламентуються нормативним законодавством України та Європейського Союзу. У пробах, відібраних у тваринницьких господарствах Київської, Кіровоградської і Чернігівської областей, виявлено чотири види мікотоксинів. Позитивними на охратоксин А було 16 проб, зеараленон — 5, Т-2 токсин — 5 та дезоксиніваленол — 13. Вміст афлатоксинів В₁, В₂, G₁, G₂ — не виявлено. Потенційний ризик для здоров'я тварин встановлено в 26,1 % проб з вмістом охратоксину А, 43,5 % — з вмістом дезоксиніваленолу і 21,7 % — з вмістом зеараленону та Т-2 токсину.

Виявлено закономірне розповсюдження одних і тих же видів мікотоксинів незалежно від географічного розташування регіонів та форми господарювання, що свідчить про загальнодержавну проблему щодо безпеки кормової і харчової продукції.

Ключові слова: МІКОТОКСИНИ, КОРМИ, КОРМОВА СИРОВИНА, ОХРАТОКСИН А, АФЛАТОКСИНИ (В₁, В₂, G₁, G₂), ЗЕАРАЛЕНОН, Т-2 ТОКСИН, ДЕЗОКСИНІВАЛЕНОЛ, ХРОМАТОГРАФІЯ, ІМУНОФЕРМЕНТНИЙ АНАЛІЗ

В Україні й інших державах світу спостерігається тенденція до збільшення забруднення зерна і зернової продукції токсикогенними мікроскопічними грибами і отруйними вторинними низькомолекулярними метаболітами цих грибів — мікотоксинами. Забруднення зерна мікотоксинами можливе на всіх стадіях його виробництва, зберігання, переробки і транспортування. Отже, проблема стосується широкого кола підприємств, оскільки мікотоксини чинять токсичну дію на сільськогосподарських тварин, птицю і людину. Очевидно, що ця проблема є загальнодержавною.

Велика кількість міжнародних організацій, установ та агентств намагаються досягти універсальної стандартизації нормативних обмежень для мікотоксинів. Це є неймовірно складним завданням, оскільки потрібно враховувати багато чинників при прийнятті нормативних документів. Важливу роль у процесі ухвалення рішення відіграють: оцінка ризиків, аналітична точність, економічні аспекти та комерційні інтереси кожної країни при постачанні на ринок продуктів харчування чи кормів [1].

Безпека та якість продуктів харчування і кормів в останнє десятиріччя стала пріоритетною в усьому світі. Ґрунтуючись на результатах нових наукових досліджень і міжнародних документах, корми і харчові продукти повинні бути безпечними і корисними [2].

За оцінками зарубіжних аналітиків, більше 40 % світового зерна забруднено мікотоксинами. Сьогодні доведено, що гранично допустимих, безпечних рівнів мікотоксинів немає. Навіть найменші їх кількості в кормах володіють негативним ефектом і здатні поступово накопичуватися в організмі [3].

Головним завданням фахівців у роботі із забрудненими комбікормами і зерновими є своєчасне виявлення мікотоксинів, встановлення їх концентрації, ухвалення рішення про введення профілактичних і нейтралізуючих препаратів і добавок у корми.

Мета роботи — встановити можливий рівень забруднення мікотоксинами кормів і кормової сировини для сільськогосподарських тварин та оцінити їх безпеку.

Матеріали і методи

Дослідження проводили на кормах і кормовій сировині урожаю 2007–2009 років, які були відібрані в навчально-дослідних господарствах Національного університету біоресурсів і природокористування України Київської області. Для контролю брали корми з приватних господарств Кіровоградської і Чернігівської областей.

У досліді використано 23 проби: зерно пшениці, ячменю і кукурудзи, дерть (суміш зерна пшениці та ячменю), макуха рапсова, сіно суміші злаків, солома пшенична. Всі проби було досліджено на вміст мікотоксинів, які регламентуються українським [4] та європейським [5, 6] законодавством: афлатоксини B₁, B₂, G₁, G₂ (АфВ₁, АфВ₂, АфГ₁, АфГ₂), ократоксин А (ОТА), зеараленон (ЗЕА), Т-2 токсин (Т-2), дезоксиніваленон (ДОН).

Підготовку зразків для визначення АфВ₁, АфВ₂, АфГ₁, АфГ₂ і ОТА проводили згідно з інструкцією з використання імунізаційних колонок AFLAPREP[®] та OCHRAPREP[®] [7, 8].

Афлатоксини АфВ₁, АфВ₂, АфГ₁, АфГ₂ і ОТА визначали методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) на хроматографі Shimadzu LC 20 А. Для підтвердження наявності афлатоксинів у зразках проводили післяколонкову дериватизацію, яка підвищує природну флуоресценцію токсинів і робить кількісне їх виявлення більш точним. З цією метою використовували складну хімічну дериватизацію за допомогою лунки Kobra cell. Під час електрохімічної дериватизації афлатоксинів у лунці Kobra cell виникає реакція зв'язування з калію бромідом (час реакції 4 сек при кімнатній температурі). Аналіз проводили за таких умов: швидкість потоку — 1 мл/хв; об'єм уведення — 20 мкл; температура термостата — 40 °С; флуоресцентний детектор, довжина хвиль — $\lambda_{\text{ex}}=362$ нм та $\lambda_{\text{em}}=440$ нм; рухома фаза — ацетонітрил : вода : метанол (2:6:2), яка містила калію бромід у концентрації 0,12 г/л і 200 мкл/л нітратної кислоти. Використовували аналітичну колонку Supelco Ascentis[™] C18 15 cm×4,6 mm, 5 μ m та захисний картридж Supelguard[™] Ascentis[™] C18 2 cm×4,0 mm, 5 μ m.

Визначення ОТА в зразках проводили методом ВЕРХ при таких умовах: швидкість потоку — 1 мл/хв; об'єм уведення — 20 мкл; температура термостату — 40 °С; флуоресцентний детектор, довжина хвиль — $\lambda_{\text{ex}}=333$ нм; $\lambda_{\text{em}}=443$ нм; рухома фаза — ацетонітрил : вода : оцтова кислота (51:47:2, %). Використовували аналітичну колонку Agilent Zorbax ODS C18 25 cm×4,6 mm, 5 μ m.

Мікотоксини ЗЕА, Т-2 і ДОН визначали методом імунферментного аналізу за використанням тест-наборів RIDASCREEN[®] FAST: Zearalenon, T-2 Toxin, DON. Аналіз проводили з використанням тест-наборів [9, 10, 11]. Оптичну густину вимірювали при 450 нм за допомогою фотометра для імунферментного аналізу Biotek Elx 800.

Результати й обговорення

У результаті дослідження мікотоксинів у кормах і кормовій сировині з тваринницьких господарств Київської області було встановлено наявність мікотоксинів ОТА, ЗЕА, ДОН і Т-2 токсину (табл. 1).

У кормах з тваринницьких господарств Чернігівської області встановлено наявність мікотоксинів — ОТА, ЗЕА і ДОН, а Кіровоградської області — ОТА, ЗЕА і Т-2 токсин. Мікотоксини АфВ₁, АфВ₂, АфГ₁, АфГ₂ у всіх пробах кормів і кормової сировини

з тваринницьких господарств досліджуваних регіонів були нижче межі детектування або максимально допустимого рівня [5].

Аналіз досліджень свідчить, що забрудненість проб корму мікотоксинами складала: АфВ₁, АфВ₂, АфГ₁, АфГ₂ — 0 проб, ОТА — 16 проб, ЗЕА — 5 проб, Т-2 токсину — 5 проб і ДОН — 13 проб.

Таблиця 1

Наявність мікотоксинів у кормах і кормовій сировині, (n=3)

Регіон	Проба, рік урожаю сировини	Мікотоксини, позитивна/загальна кількість проб							
		АфВ ₁	АфВ ₂	АфГ ₁	АфГ ₂	ОТА	ЗЕА	Т-2	ДОН
Київська обл.	Зерно пшениці, 2007	0/1	0/1	0/1	0/1	1/1	0/1	0/1	1/1
	Зерно пшениці, 2008	0/4	0/4	0/4	0/4	2/4	0/4	0/4	4/4
	Зерно пшениці, 2009	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	1/2	0/2
	Зерно ячменю, 2008	0/3	0/3	0/3	0/3	2/3	2/3	1/3	1/3
	Зерно ячменю, 2009	0/1	0/1	0/1	0/1	1/1	0/1	0/1	1/1
	Дерть, 2008	0/6	0/6	0/6	0/6	6/6	0/6	2/6	4/6
	Макуха рапсова, 2008	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	1/1	0/1	0/1
Чернігівська обл.	Дерть, 2008	0/1	0/1	0/1	0/1	1/1	1/1	0/1	0/1
	Солома пшенична, 2008	0/1	0/1	0/1	0/1	1/1	0/1	0/1	1/1
	Сіно суміш злакових, 2008	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	1/1
Кіровоградська обл.	Дерть, 2008	0/1	0/1	0/1	0/1	1/1	1/1	1/1	0/1
	Зерно кукурудзи, 2008	0/1	0/1	0/1	0/1	1/1	0/1	0/1	0/1

За відсотковим вмістом від загальної кількості проаналізованих проб забрудненість в середньому складала: ОТА — 69,5 %, ЗЕА — 21,7 %, Т-2 токсин — 21,7 %, ДОН — 52,2 %.

Проби кормів і кормової сировини, які представляли потенційний ризик для здоров'я тварин за окремим вмістом мікотоксину, беручи до уваги нормативне законодавство ЄС та України, склали: ОТА — 6 проб, ЗЕА — 5 проб, Т-2 токсин — 5 проб і ДОН — 10 проб (табл. 2). За відсотковим вмістом від загальної кількості проаналізованих проб ці показники в середньому становили: ОТА — 26,1 %, ЗЕА — 21,7 %, Т-2 токсин — 21,7 % і ДОН — 43,5 %.

Таблиця 2

Наявність небезпечного вмісту мікотоксинів у кормах і кормовій сировині згідно з нормативним законодавством Європейського Союзу та України, (n=3)

Регіон	Проба, рік урожаю сировини	Мікотоксини, небезпечний вміст/кількість проб			
		ОТА	ЗЕА	Т-2	ДОН
Київська обл.	Зерно пшениці, 2007	0/1	0/1	0/1	0/1
	Зерно пшениці, 2008	0/4	0/4	0/4	3/4
	Зерно пшениці, 2009	0/2	0/2	1/2	0/2
	Зерно ячменю, 2008	2/3	2/3	1/3	1/3
	Зерно ячменю, 2009	0/1	0/1	0/1	1/1
	Дерть, 2008	3/6	0/6	2/6	3/6
	Макуха рапсова, 2008	0/1	1/1	0/1	0/1
Чернігівська обл.	Дерть, 2008	0/1	1/1	0/1	0/1
	Солома пшенична, 2008	0/1	0/1	0/1	1/1
	Сіно суміш злакових, 2008	0/1	0/1	0/1	1/1
Кіровоградська обл.	Дерть, 2008	0/1	1/1	1/1	0/1
	Зерно кукурудзи, 2008	1/1	0/1	0/1	0/1

Для проб зерна і зернопродуктів за нормами ЄС [6] вміст ОТА регламентовано на рівні 250 мкг/кг. Її норма в кормах для годівлі свиней складає 50 мкг/кг та птиці — 100 мкг/кг. За нормативним законодавством України, вміст ОТА в кормовій сировині та кормах не регламентується. У нашому експерименті наявність ОТА в кормах було виявлено

в шістнадцяти пробах, із яких п'ять — були за ЄС нормами небезпечні для згодовування свиням і три — птиці.

Нормативні документи України [4] регламентують вміст ЗЕА в зерні і комбікормі в кількості 1,0 мг/кг, що не допускається для годівлі холостих, супоросних, підсисних свиноматок, племінних курей, поросят до 2-місячного віку; 2,0 мг/кг — для свиней на відгодівлі масою до 50 кг і 3,0 мг/кг — для свиней на відгодівлі масою понад 50 кг. Виявлений вміст мікотоксину ЗЕА в п'яти пробах корму, за існуючими нормами України не могли згодовуватися холостим, супоросним, підсисним свиноматкам, племінним курям і поросят до 2-місячного віку. Для всіх інших тварин досліджений у нашій роботі корм можна було використовувати.

Законодавство ЄС [6] більш жорсткіше, але тільки для повнораціонних комбікормів. Так, для поросят ЗЕА допускається до 0,1 мг/кг комбікорму, для свиноматок і свиней на відгодівлі — 0,25 мг/кг, для телят, молочних корів, овець (включаючи ягнят) і кіз (включаючи козлят) — 0,5 мг/кг. Однак для зерна і зернопродуктів цей показник складає 2,0 мг/кг і не регламентується видом, віком і станом тварини. Таким чином, за нормами ЄС досліджені корми були безпечними.

Нормативний документ України [4] регламентує Т-2 токсин у зерні в кількості 0,1 мг/кг та комбікормі для курей-несучок та бройлерів — 0,2 мг/кг, а для телят і дорослої великої рогатої худоби на відгодівлі — 0,25 мг/кг. Таким чином, проведені в роботі дослідження кормів слід вважати небезпечними для годівлі тварин. За законодавством ЄС [6] Т-2 токсин враховується разом з ДОН у групі тріхотеценових мікотоксинів. Тому при дослідженні цих видів мікотоксинів у кормах потрібно враховувати їх загальний вміст.

За нормативним документом України [4] вміст ДОН у пробах зерна і комбікормів повинен складати 0,5–1,0 мг/кг і 1,0 мг/кг для всіх видів тварин. Таким чином, 8 з досліджених проб корму виявилися потенційно небезпечним для годівлі тварин. Особливо небезпечними за цим показником було шість проб, в яких вміст ДОН перевищений у 3,8–7,4 раза. Зокрема мікотоксин ДОН було виявлено в пробах соломи і сіна на рівні 3,2 та 1,5 мг/кг відповідно, які за нормами України та ЄС не нормуються. Тому, допустимий рівень мікотоксину ДОН для цих кормів невідомий.

Токсична реакція організму тварини і клінічні ознаки отруєння, коли діє більше ніж один мікотоксин, є комплексними і різноманітними. Взаємодії між мікотоксинами можуть впливати на прояв клінічних ознак, що відрізняються від таких, як при дії кожного токсину окремо. Присутність відразу декількох мікотоксинів може викликати синергічний ефект і приводить до більшої токсичності корму.

Мікотоксини, вміст яких було досліджено, та ще інші, зустрічаються зазвичай разом [3]. Виявлено 7 проб корму, які представляли потенційний ризик для здоров'я тварин за комплексним вмістом мікотоксинів, що складало в середньому 30,4 % від загально досліджених проб в експерименті.

Згідно з даними наукової літератури [3], місцем зараження кормів мікотоксинами є видова специфічність певного мікотоксину. Так, афлатоксини і ОТА відносяться до мікотоксинів, що продукуються коморними мікозними грибами, тоді як ЗЕА, Т-2 токсин і ДОН — мікотоксини, які завозяться в кормовій сировині з поля.

Таблиця 3

Місце ураження кормової сировини мікотоксинами в залежності від виду контамінанту

Місце ураження зерна	АфВ ₁	АфВ ₂	АфГ ₁	АфГ ₂	ОТА	ЗЕА	Т-2 токсин	ДОН
Поле	—	—	—	—	—	5	5	12
Комора	0	0	0	0	16	—	—	—

Встановлено, що майже 67 % кормів і кормової сировини, від кількості досліджених проб в експерименті, уражується в коморі і 71 % — у полі (табл. 3).

Висновки

У пробах кормів та кормової сировини, відібраних у тваринницьких господарствах Київської, Кіровоградської та Чернігівської областей, виявлено чотири види мікотоксинів. Позитивними на охратоксин А було 16 проб, зеараленон — 5, Т-2 токсин — 5 та дезоксиніваленол — 13. Вміст афлатоксинів В₁, В₂, G₁, G₂ — не виявлено. Потенційний ризик для здоров'я тварин відмічено в 26,1 % проб із вмістом охратоксину А, 43,5 % — із вмістом дезоксиніваленолу і 21,7 % — із вмістом зеараленону і Т-2 токсину.

Виявлено закономірне розповсюдження одних і тих же видів мікотоксинів, незалежно від географічного розташування регіонів і форми господарювання, що свідчить про загальнодержавну проблему в сфері безпеки кормової і харчової продукції.

Встановлено, що 67 % кормів і кормової продукції, від кількості досліджених проб у нашому експерименті, уражується в коморі і 71 % — польовими грибами.

Перспектива подальших досліджень. Встановити закономірне розповсюдження в тваринницьких господарствах України мікотоксин у зернових і комбікормах, визначити їх концентрації, винайти профілактичні і нейтралізуючі препарати і добавки.

V. Tsvilikhovskiy, E. Laposha, A. Belotska

STATE AND SAFETY OF FODDERS AND FODDER RAW MATERIALS UNDER THE INDICES OF MICROTOXINES POLLUTION IN UKRAINIAN ANIMAL HUSBANDRIES

S u m m a r y

Fodders and fodder raw materials were investigated in work for the presence of mycotoxins, which are regulated according to the normative legislation of Ukraine and European Union. There were found four types of mycotoxins in 23 samples, which were gathered in the farms of Kyiv, Kirovograd and Chernigov regions. Ochratoxin A was found in 16 samples, Zearalenon — in 5, T-2 toxin — in 5 and Deoxinivalenol — in 13 samples. Aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂ were not determined in any of the samples. A potential risk for the health of animals was set in 26,1 % tests with content of Ochratoxin A, 43,5 % — with content of Deoxinivalenol and 21,7 % — with content of Zearalenon and T-2 toxin. It was found out appropriate distribution of the same types of mycotoxins regardless of geographical location of regions and form of management, which testifies to the national problem concerning to safety of feed and food products.

В. И. Цвилюховский, Е. А. Лапоша, А. В. Белоцкая

СОСТОЯНИЕ И БЕЗОПАСНОСТЬ КОРМОВ И КОРМОВОГО СЫРЬЯ ПО ПОКАЗАТЕЛЯМ ЗАГРЯЗНЕННОСТИ МИКОТОКСИНАМИ В ЖИВОТНОВОДЧЕСКИХ ХОЗЯЙСТВАХ УКРАИНЫ

А н н о т а ц и я

В работе исследовано кормы и кормовое сырье на присутствие микотоксинов, которые регламентируются нормативным законодательством Украины и Европейского Союза. В 23 пробах, отобранных в животноводческих хозяйствах Киевской, Кіровоградской и Чернігівської областей, обнаружены четыре вида микотоксинов. Позитивными на

охратоксин А было 16 проб, зеараленон — 5, Т-2 токсин — 5 и дезоксиниваленол — 13. Содержимое афлатоксинов В1, В2, G1, G2 — не обнаружено. Потенциальный риск для здоровья животных установлен в 26,1 % проб с содержимым охратоксину А, 43,5 % — с содержимым дезоксиниваленола и 21,7 % — с содержимым зеараленона и Т-2 токсина.

Обнаружено закономерное распространение одних и тех же видов микотоксинов независимо от географического расположения регионов и формы ведения хозяйства, которое свидетельствует об общегосударственной проблеме относительно безопасности кормовой и пищевой продукции.

1. Regulation (EC) No 183/2005 of the European Parliament and of the council of 12 January 2005 laying down requirements for feed hygiene.

2. Regulation (EC) No 178/2002 of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety.

3. Know Mycotoxins — Global Mycotoxin Information Resource
<http://www.knowmycotoxins.com/ru/vpig.htm>

4. Наказ Державного департаменту ветеринарної медицини України від 03.11.1998 року, № 16 — Обов'язковий мінімальний перелік досліджень сировини, продукції тваринного та рослинного походження, комбікормової сировини, комбікормів, вітамінних препаратів та ін., які слід проводити в державних лабораторіях ветеринарної медицини і за результатами яких видається ветеринарне свідоцтво (Ф-2).

5. Commission Directive 2005/8/EC of 27 January 2005 amending Annex I to Directive 2002/32/EC of the European Parliament and of the Council on undesirable substances in animal feed.

6. Commission Recommendation 2006/576/EC of 17 August 2006 on the presence of deoxynivalenol, zearalenone, ochratoxin A, T-2 and HT-2 and fumonisins in products intended for animal feeding.

7. AFLAPREP® Application of immunoaffinity columns for sample clean-up prior to HPLC analysis for aflatoxins R-BIOPHARM RHÔNE LTD.

8. OCHRAPREP® Quantitative detection of Ochratoxin A using HPLC R-BIOPHARM RHÔNE LTD.

9. Enzyme immunoassay for the quantitative analysis of zearalenone RIDASCREEN® FAST Zearalenon R-BIOPHARM AG, Darmstadt, Germany.

10. Enzyme immunoassay for the quantitative analysis of T-2 toxin RIDASCREEN® FAST T-2 Toxin R-BIOPHARM AG, Darmstadt, Germany.

11. Enzyme immunoassay for the quantitative analysis of deoxynivalenol RIDASCREEN® FAST DON R-BIOPHARM AG, Darmstadt, Germany.

Рецензент: провідний науковий співробітник Української лабораторії якості та безпеки продукції АПК, доктор біологічних наук, професор В. М. Войціцький.