

8. Goff, Le, Lamien, C., Fakhfakh, C.E., Chadeyras, A., Aba-Adulugba, E., Libeau, G., Tuppurainen, E., et al. (2009). Capripoxvirus G-protein-coupled chemokine receptor: a host-range gene suitable for virus animal origin discrimination. *J. Gen. Virol.*, Vol.90 (8), 1967–1977.

9. Lamien, C.E., Leleuta, M., Goger, W., Silber, R., Tuppurainen, E. & Matijevic, M. (2011). Real time PCR method for simultaneous detection, quantitation and differentiation of capripoxviruses. *J. Virol. Methods*, Vol. 171 (1), 134–140.

10. Vidanovic, D., Sekler, M., Petrovic, T., Debeljak, Z., Vaskovic, N., Matovic, K., et al. (2016). Real time PCR Assays for the specific detection of field Balkan strains of lumpy skin disease virus. *Acta Veterinaria-Beograd*, Vol. 66(4), 444–454.

УДК 636.085.05:632.4:633.15

КАМІНСЬКА О.В., e-mail: mikology@ukr.net,

МАРЧЕНКО Т.В., e-mail: taya.marchenko@ukr.net,

ЄВТУШЕНКО Т.В., e-mail: t_yevtuchenko@ukr.net

Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи

АНАЛІЗ СТАНУ І НЕБЕЗПЕКИ ЗАБРУДНЕННЯ ЗЕРНА КУКУРУДЗИ ДЕОКСИНІВАЛЕНОМ ПРОТЯГОМ 2014-2017 РОКІВ

У статті наведені дані щодо моніторингу деоксинівалену (ДОН) в кукурудзі протягом 2014–2017 років. Виявлено 1–33% зразків з вмістом деоксинівалену в кількості 0,134–0,5 мг/кг; 4–17% зразків із вмістом деоксинівалену 0,5–1,0 мг/кг і 4–17% зразків із вмістом ДОНу в кількості 1,0–3,943 мг/кг. Відсоток уражених зразків у 2014 році сягає 46% від загальної кількості перевірених зразків зерна, у 2015 році – 72%, у 2016 році – 12%, у 2017 році – 22%.

Ключові слова: мікотоксини, деоксиніваленол (ДОН), імуноферментний аналіз (ІФА), рідинна хроматомаспектрометрія.

Вступ. Фактори небезпеки природних забруднювачів, якими є мікотоксини, для організму людей та тварин інколи перевищують небезпеку від хімічних речовин. Забруднення їжі та кормів мікотоксинами може становити ризик для здоров'я людини і тварин. Крім того, в деяких випадках вони також можуть негативно вплинути на якість їжі або корму. Продукти харчування та корми можуть забруднюватися за різних причин та різними шляхами. Ступінь забруднення їжі та кормів та вплив заходів щодо зменшення забруднення оцінюються за допомогою моніторингу та, в разі необхідності, спеціалізованих дослідницьких програм. Основними джерелами токсинів *Fusarium* є продукти з зернових, а саме пшениці та кукурудзи [1].

Деоксиніваленол (ДОН) належить до групи тріхотеценових мікотоксинів і синтезується грибами роду *Fusarium*. Деоксиніваленол часто виявляють у кормах, особливо у злаках. Мікотоксин деоксиніваленол, 3-ацетил- і 15-ацетил-деоксиніваленол найчастіше визначають у пшениці та рисі в країнах Європи і Північної Америки в концентраціях на рівні 1,0 мг/кг. У зв'язку з високою цитотоксичністю та імуносупресивністю цей токсин становить значний ризик

для організму тварин і людей та потребує детального вивчення рівнів накопичення в зерні та продуктах із зерна.

Комісія Кодексу Аліментаріусу встановила певні вимоги до рівнів безпеки деоксиніваленолу в зерні та зернопродуктах (табл. 1). Але на сьогоднішній день вимоги ЄС та України з питань максимально допустимих рівнів (МДР) постійно переглядаються та посилюються. Максимальні рівні встановлюються таким чином, щоб споживач був належним чином захищений. Тому моніторинг рівнів мікотоксинів у зерні та продуктах його переробки може послужити для перегляду МДР. В таблиці 1 зазначена порівняльна характеристика європейських та українських вимог щодо вмісту деоксиніваленолу в зерні, продуктах його переробки та кормах.

Таблиця 1

Максимально допустимі рівні деоксиніваленолу в кукурудзі та продуктах її переробки

Вид продукту	Вимоги ЄС, мг/кг [2, 3]	Вимоги України, мг/кг [4, 5, 6]
Необроблена кукурудза, крім необробленої кукурудзи, призначеної для переробки шляхом мокрого млива	1,750	1,0*
Злаки, призначені для безпосереднього вживання людиною, злакова мука, висівки і зародки, а також кінцева продукція, що збувається для безпосереднього вживання людиною	0,75	0,5*
Хліб, в тому числі невеликі хлібобулочні вироби, кондитерські борошняні вироби, печиво, злакові закуски і злаки для сніданків	0,5	-
Оброблена продукція на основі злаків і дитяче харчування для немовлят і дітей	0,2	-
Мелені фракції зерен кукурудзи з розміром часток >500 мікрон, що не використовується безпосередньо для вживання людиною	0,75	-
Мелені фракції зерен кукурудзи з розміром часток ≤500 мікрон, що не використовується безпосередньо для вживання людиною	1,25	-
Комбікорм для ВРХ, ДРХ	5,0	1,0
Комбікорм для свиней	0,9	1,0
Комбікорм для птиці	5,0	0,2
Кукурудза як корм для тварин	12,0	1,0-2,0

Примітка: * – для продовольчих і технічних потреб та експортування.

Максимальні рівні, встановлені для деоксиніваленолу в зернових і продуктах з них, враховують токсикологічну оцінку, результати оцінки впливів та можливості досягнень таких рівнів. Однак потрібно розуміти, що всі зусилля повинні бути спрямовані на подальше скорочення присутності цих токсинів *Fusarium* в зерні та зернових продуктах.

Мета нашої роботи полягала в моніторингу наявності деоксиніваленолу в кукурудзі та аналізі ризиків подальшого використання зразків з невеликим вмістом мікотоксину.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проводилися протягом 2014–2017 років за допомогою методу імуноферментного аналізу. Для проведення досліджень були використані тест-системи Ridascreen®DON (виробництва R-Biopharm AG, Німеччина), оскільки використання тест-систем Ridascreen® DON дозволяє швидко і з точністю виявити деоксиніваленол у злаках, кормах на рівні від 0,134 мг/кг [7].

Вилучення деоксиніваленолу зі зразків злаків проводилось бідистильованою водою з подальшим розведенням зразків та проведенням імуноферментного аналізу на тест-системах. Результати аналізу обраховувались автоматично методом зовнішніх стандартів за допомогою програми RIDA®Soft.

Результати досліджень та їх обговорення. За результатами імуноферментного аналізу зразків кукурудзи проведено аналіз частоти виявлення деоксиніваленолу на різних концентраційних рівнях. Результати аналізу зведено до таблиці 2.

Таблиця 2

**Частота виявлення деоксиніваленолу в зерні кукурудзи та пшениці
за 2014–2017 роки**

Період досліджень	Загальна кількість досліджених зразків	Зразків із вмістом ДОНу в межах 0,134–0,5 мг/кг		Зразків із вмістом ДОНу в межах 0,5–1,0 мг/кг		Зразків із вмістом ДОНу вище 1,0 мг/кг	
		кількість	%	кількість	%	кількість	%
2014 рік	142	26	18	17	12	22	15
2015 рік	36	13	33	7	17	6	17
2016 рік	26	3	12	0	-	0	-
2017 рік	23	3	13	1	4	1	4

Виявлено 12–33% зразків із вмістом деоксиніваленолу у кількості 0,13–0,5 мг/кг; 4–17% зразків із вмістом деоксиніваленолу 0,5–1,0 мг/кг і 4–17% зразків із вмістом ДОНу в кількості 1,0–3,9 мг/кг. Загальний відсоток ураженого зерна деоксиніваленолом, у 2014 році сягав 46% від загальної кількості перевірених зразків, у 2015 році – 72%, у 2016 році – 12%, у 2017 році – 22%.

Концентраційні рівні деоксиніваленолу, отримані в розрізі чотирьох років зображено на рисунку 1.

Найбільша концентрація деоксиніваленолу була виявлена в 2017 році у кількості 3,943 мг/кг, в 2015 році – 3,564 мг/кг та в 2014 році – 2,647 мг/кг. У 2016 році найбільша концентрація не перевищувала 0,3 мг/кг.

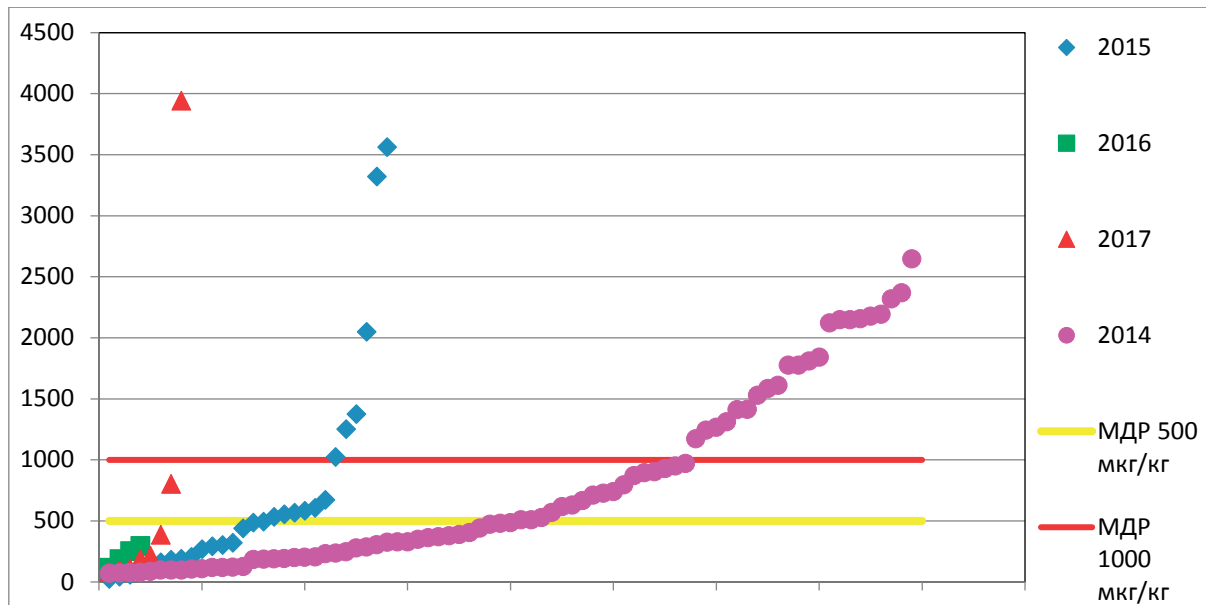


Рис. 1. Концентрації деоксиніваленолу, виявлені в зразках кукурудзи протягом 2014–2017 років, мкг/кг.

Висновки і перспективи подальших досліджень. Серед усіх зернових культур саме кукурудза найчастіше вражається деоксиніваленолом. Причиною може слугувати пізній період збирання кукурудзи та сприятливі погодні умови для інфікування кукурудзи грибами роду *Fusarium*, а також той факт, що фузарії ще в польових умовах здатні продукувати мікотоксини.

Дослідження на вміст деоксиніваленолу були проведені за допомогою імуноферментного аналізу, що дає перехресну реакцію з наступними метаболітами: 3-ацетилдеоксиніваленолом, 15-ацетилдеоксиніваленолом та ніваленолом. Лише метод рідинної хроматомаспектрометрії може надати точну відповідь про хімічну структуру молекули. Але метод ІФА дає змогу проаналізувати вміст токсинів у зразку і передбачити токсиногенний потенціал грибів роду *Fusarium*. Існуючі МДР не допускають споживання людиною кукурудзи та продуктів з неї з вмістом деоксиніваленолу від 1,0 мг/кг, а продукції із зерна – від 0,5 мг/кг. Отже, такі зразки кукурудзи можуть бути використані на корм тваринам. Але при перемеленні зерна гриби роду *Fusarium*, що присутні в цих зразках, здатні більш рівномірно розповсюджуватись по партії зерна. Це також підвищує площу ураження, а отже і збільшує можливість накопичення деоксиніваленолу в кормі. Тому можна стверджувати про небезпеку переробки зерна кукурудзи навіть з невеликим вмістом деоксиніваленолу. Знання про вміст деоксиніваленолу в зерні дають можливість переконатись у високому рівні небезпеки споживання кукурудзи людиною і підтверджують необхідність підвищеного контролю за рівнями мікотоксинів у зерні та продуктах його переробки. Вивчення рівнів виявлення деоксиніваленолу спрямоване, зокрема, на запобігання ризику для людей та тварин, його усунення або зменшення до прийнятних рівнів.

У перспективі планується здійснити комплексний аналіз фузарієтоксинів у зразках, де був присутній деоксиніваленол, провести оцінку ризиків

споживання даних зразків зерна кукурудзи та можливості їх подальшої переробки.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Commission Recommendation of 17 August 2006 on the prevention and reduction of Fusarium toxins in cereals and cereal products (2006/583/EC) // Official Journal of the European Union. – L 234/35. – 2006. – 29 August.
2. Commission Regulation (EC) No 629/2008 of 2 July 2008 amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs (2008/629/EC) // Official Journal of the European Union. – L 173/6. – 2006. – 3 July.
3. Commission Recommendation 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 (2006/576/EC) // Official Journal of the European Union. – L 229/7. – 2006. – 23 August.
4. 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) – 1998. – 44 с.
5. Комбікорма повнораціонні для сільськогосподарської птиці. Технічні умови: ДСТУ 4120-2002. – увед. вперше; чинний від 2003-04-01. – К.: Держспоживстандарт України, 2003. – 12 с. – (Національний стандарт України).
6. Кукурудза. Технічні умови: ДСТУ 4525:2006. – увед. вперше; чинний від 2007-04-01. – К.: Держспоживстандарт України, 2007. – 10 с. – (Національний стандарт України).
7. Методичні вказівки по кількісному визначенню деоксиніваленолу у зразках злаків, солоду, кормах, пиві і суслі тест-системою Рідаскрин ДОН (Ridascreen® DON) (виробництво фірми Р-Біофарм/R-Biopharm, Німеччина). – Київ, 2004. – 8 с.

АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ И ОПАСНОСТИ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ЗЕРНА КУКУРУДЫ ДЕОКСИНИВАЛЕНОМ В 2014–2017 ГОДАХ / Каминская Е.В., Марченко Т.В., Евтушенко Т.В.

В статье приведены данные по мониторингу деоксиниваленола (ДОН) в кукурузе в течение 2014–2017 годов. Выявлено 12–33% образцов с содержанием деоксиниваленола в количестве 0,134–0,5 мг/кг, 4–17% образцов с содержанием деоксиниваленола 0,5–1,0 мг/кг и 4–17% образцов с содержанием ДОНа в количестве от 1,0–3,943 мг/кг. Процент пораженных образцов в 2014 году достигла 46% от общего количества проверенных образцов зерна, в 2015 году – 72%, в 2016 году – 12%, в 2017 году – 22%.

Ключевые слова: микотоксины, деоксиниваленол (ДОН), иммуноферментный анализ (ИФА), жидкостная хромато-масспектрометрия.

ANALYSIS OF THE CONDITION AND DANGER OF CORN GRAIN CONTAMINATION WITH DEOXYNIVALENOL IN 2014–2017 / Kaminska O., Marchenko T., Evtuschenko T.

Introduction. *The contamination of food and feed with mycotoxins may pose a risk to human and animal health. However, today, the EU and Ukraine require the maximum permissible levels to be continuously controlled. Therefore, monitoring of mycotoxins levels in grain and products of its processing can be used for MRL revision. The maximum levels are set in such a way that the consumer is adequately protected.*

The goal of the work *was to monitor the presence of deoxynivalenol in corn and risks analysis of further use of samples with low levels of mycotoxin.*

Materials and method. The studies were conducted in 2014–2017 using the test-kit Ridascreen® DON (manufactured by R-Biopharm AG, Germany) for research, as makes deoxynivalenol detection in cereals fast and accurate at a level of 0.134 mg/kg.

Results of research and discussion. The content of deoxynivalenol in corn specimens reaches dangerous levels for the humans ranging from 1.171 to 2.647 mg/kg in 2014, 1,025–3,564 mg/kg in 2015, and it was 3,943 mg/kg in 2017. The rate of contaminated grain in 2014 was 46% of the total number of tested samples, in 2015 – 72%, in 2016 – 12%, in 2017 – 22%.

Conclusions and prospects for further research. The *Fusarium* fungus presented in the samples of the corn is capable of producing deoxynivalenol in different amounts. The percentage of affected grain is quite high at an average of 38% in four years. The area of contamination increases with the processing of grain. As a result, increases the possibility of accumulation of deoxynivalenol in the feed. Therefore, there is a growing risk of corn grain processing, even with a small amount of deoxynivalenol. The study of deoxynivalenol content is intended to prevent, eliminate or reduce to an acceptable level of risk for humans and animals. In the future, it is planned to analyze other fusaritoxins in samples containing deoxynivalenol and to assess the risk of consumption of such samples of corn grain and use it for further processing.

Keywords: mycotoxins, deoxynivalenol (DON), immunoassay (ELISA), liquid chromatomasspectrometry.

REFERENCES

1. Commission Recommendation of 17 August 2006 on the prevention and reduction of *Fusarium* toxins in cereals and cereal products (2006/583/EC). (2006, 29 August). *Official Journal of the European Union*, L 234/35.
2. Commission Regulation (EC) No 629/2008 of 2 July 2008 amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs (2008/629/EC). (2006, 3 July). *Official Journal of the European Union*, L 173/6.
3. Commission Recommendation 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 (2006/576/EC). (2006, 23 August). *Official Journal of the European Union*, L 229/7.
4. Obov'jazkovij minimal'nij perelik doslidzhen' sirovini, produkcii tvarinnogo ta roslinnogo pohodzhennja, kombikormovoї sirovini, kombikormiv, vitaminnih preparativ ta in., jaki slid provoditiv derzhavnih laboratorijah veterinarnoi medicini i za rezul'tatami jakih vidaet'sja veterinarne svidoctvo (F-2) [Mandatory minimum list of researches of raw materials, products of animal and plant origin, feed materials, mixed fodders, vitamin preparations, etc., which should be carried out by the state laboratories of veterinary medicine and the results of which are issued veterinary certificate (F-2)]. (1998). Kyiv: *Derzhavnij departament veterinarnoi medicini Ministerstva agrarnoi politiki Ukraini* [in Ukrainian].
5. Kombikorma povnoracionni dlja sil's'kogospodars'koї ptici. Tehnichni umovi [Commodity full-bird for farm birds. Specifications]. (2003). Kyiv: *Derzhspozhivstandart Ukraini* [in Ukrainian].
6. Kukurudza. Tehnichni umovi [Maiz. Specifications]. (2007). *DSTU 4525:2002 from 1 april 2007*. Kyiv: *Derzhspozhivstandart Ukraini* [in Ukrainian].
7. Metodichni vkazivki po kil'kisnomu viznachennju deoksinivalenolu u zrazkah zlakiv, solodu, kormah, pivi i susli test-sistemoju Ridaskrin DON (Ridascreen® DON) (virobnictvo firmi R-Biopharm, Nimechchina) [Quantitative determination of deoxynivalenone in samples of cereals, malt, forage, beer and whiskey test system Ridascrin® DON (manufactured by R-Biopharm, Niemechchina)] (2004). Kyiv: *Derzhavnij departament veterinarnoi medicini Ministerstva agrarnoi politiki Ukraini* [in Ukrainian].