

24.07.2010

МИКОТОКСИНЫ – СТРАТЕГИЯ УСТРАНЕНИЯ ИХ ВЛИЯНИЯ НА ОРГАНИЗМ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ И ПТИЦЫ

Малков М.А., Богомолов В.В., Данькова Т.В., Краснов К.А.

ЗАО «НПФ «ЭЛЕСТ», ФГУ Облветлаборатория, (Санкт-Петербург)

Нет необходимости описания огромного вреда в мировом масштабе приносимого токсинами - продуцентами, которых являются грибы. Стало очевидным, что последнее звено в последовательности отрицательного воздействия микотоксинов – человек, который через продукты получает опасные дозы этих соединений. В этой статье мы ставим задачу объективной оценки эффективности имеющихся инструментов воздействия, направленных на снижение концентрации токсинов на всех этапах – от поля до конечного потребителя зерна. Необходимо, наконец, понять, как «работают» нейтрализаторы токсинов в зависимости от природы, содержащихся в них сорбентов и других составляющих. Какова роль субстратов корма в системе корм-сорбент? Как быть с печенью – основной мишенью для токсинов? В этой связи, поскольку мы впервые предложили гепатопротекторный корм «Фунгистат-ГПК», который помимо сорбента, содержит гепатопротекторный блок, эффективно повышающий детоксицирующую активность печени [8], нас интересовало место, которое занимает этот многопрофильный нейтрализатор токсинов. Тем более, что мы усилили его эффективность сорбции введением еще одного сорбента.

Материалы и методы.

Сорбционную способность исследуемых препаратов мы определяли следующим образом.

Исследуемые препараты предварительно смешивали с модельным кормом (размолотое зерно пшеницы) в оптимальной концентрации, рекомендуемой производителем, а затем еще и с каждым из шести микотоксинов по-очередно.

Таким образом, мы предполагали:

- 1) оценить ПКПД каждого препарата в его рекомендуемой рабочей концентрации;
- 2) изучить взаимодействие в сложной биохимической системе - корм-сорбент-микотоксин в процессе пищеварения; выявить истинный вклад сорбента в связывании микотоксина;
- 3) определить влияние изменения условий в процессе пищеварения на способность изучаемых препаратов к детоксикации корма от микотоксинов.

На первом этапе исследований мы использовали шесть стандартов микотоксинов, а именно: Афлатоксин, Охратоксин, Т-2 токсин, Дезоксиниваленол, Зеараленон и Фумонизин. Они были по-очередно смешаны в концентрации 200 мкг/кг с каждым из отобранных препаратов. В коллекцию исследуемых препаратов были включены: «Фунгистат ГПК» и пять широко известных препаратов-сорбентов микотоксинов. Ниже приведено описание их состава:

№1 Фунгистат – алюмосиликаты+ бентониты+ органические кислоты+ гепатостимуляторы+ протеолитический комплекс+ фунгистатики+ нуклеозиды

№2 - неорганический сорбент (специальным образом обработанные цеолиты) + биотрансформирующий фермент

№3 - смесь из адсорбентов + дрожжи+ соли пропионовой кислоты

№4 - сорбент органической природы (полисахариды)

№5 – бентониты+ дрожжи+ полисахариды растительного происхождения

№6 - глинистые субстанции+ продукты переработки дрожжей+ органические кислоты+ антиоксиданты+ растительные экстракты.

Кроме того, для первого этапа исследований мы изучили перспективные сорбенты микотоксинов природного органического и неорганического происхождения: цеолиты, бентониты, хитозан, жом цикория и яблочный пектин в отношении их способности сорбировать и десорбировать токсины.

Для оценки сорбционной способности препарата был введен специальный критерий оценки – Практический коэффициент полезного действия (ПКПД).

Стандартная методика определения сорбционной способности сорбента (Метод In vitro)

Практический коэффициент полезного действия сорбента определяется в процентах по разности между адсорбцией (связыванием) и десорбцией (высвобождением). Чем выше этот коэффициент (Net Efficiency), тем эффективнее адсорбция – тем большее количество связанного и, тем самым, дезактивированного микотоксина. Сорбция микотоксинов определяется количественно при

различных рН, имитирующих смену кислотности среды в пищеварительном тракте животных. Величину адсорбции и десорбции (в мкг/кг) измеряют по утвержденной методике при постановке теста In vitro.

1. Стандартный вариант: корм измельчают и гомогенизируют, определяют в нем содержание микотоксинов. Вносят добавку – исследуемый сорбент. При искусственном загрязнении корма токсином в “чистый”, предварительно протестированный корм, вносят рассчитанное количество микотоксина и тщательно гомогенизируют пробу;

В нашем случае использовали исследуемый препарат, смешанный с микотоксинами в дозе 200 мкг/кг каждого поочередно; во-втором варианте смешивали размолотую пробу зерна пшеницы с исследуемым препаратом в его рекомендуемой рабочей концентрации от 2 до 10 г/кг и затем с каждым из шести микотоксинов по-очереди.

2. Полученную пробу вносят в количестве 20г в колбу Эрленмеера;

3. В колбу с пробой приливают 40 см³ жидкости, имитирующей желудочный сок (водный раствор соляной кислоты с рН=1,2);

4. Выдерживают при постоянном перемешивании (с помощью магнитной мешалки) 1 час при температуре 37°С. Тем самым, моделируется время нахождения корма и рН среды в желудке;

5. Отделяют методом декантации надосадочную жидкость от осадка;

6. Экстракт (вытяжку) из микотоксинов – надосадочную жидкость исследуют на содержание микотоксина методом ИФА.

Таким образом, получают величину **адсорбции - общее количество токсинов, связанных сорбентом за время нахождения корма в желудке**, равную разнице между количеством токсина в исходной пробе корма и количеством токсина в надосадочной жидкости, отделенной после инкубации пробы корма в кислом растворе.

7. К осадку добавляют 40см³ жидкости, имитирующей кишечный сок (буфер PBS с рН=7,4);

8. Выдерживают при постоянном перемешивании (с помощью магнитной мешалки) 3 часа при температуре 37°С. Тем самым, моделируется время нахождения корма и рН среды в кишечнике;

9. Методом декантации отделяют надосадочную жидкость от осадка;

10. Экстракт (вытяжку) из микотоксинов – надосадочную жидкость исследуют на содержание микотоксина методом ИФА;

Таким образом, получают величину **десорбции – количество токсина, освобожденного от сорбента за время нахождения корма в кишечнике**, равную количеству токсина в надосадочной жидкости после инкубации в щелочной среде.

11. Устанавливают **практический коэффициент полезного действия – сорбционную способность (практическую адсорбцию)**, равный разнице между величиной адсорбции и десорбции – количество токсина, которое осталось связанным с сорбентом.

Результаты и их обсуждение.

При анализе состава многих нейтрализаторов (по опубликованным рекламным материалам) можно заметить, что используются два типа сорбентов – алюмосиликаты, глины, слюды природного происхождения и полисахариды (дрожжей, водорослей, ракообразных). Необходимо отметить также, что ряд западных компаний используют модифицированные алюмосиликаты, обладающие усиленной сорбционной емкостью. Нам представлялось интересным оценить эффективность сорбции, десорбции и ПКПД ряда сорбентов в отношении наиболее распространенных токсинов.

Таблица 1.

| № п/п | Наименование | Обнаруженная сорбционная активность в отношении: | Адсорбция мкг/кг | Десорбция мкг/кг | ПКПД % |
|-------|-------------------------------------|--|------------------|------------------|--------|
| 1. | Цеолиты (без разбавления в корме) | Охратоксин | 179 | 21 | 80* |
| | | Т-2 токсин | 199,2 | 0 | 100 |
| | | ДОН (вомитоксин) | 199,8 | 1,4 | 99,2 |
| | | Зеараленон | 199,8 | 0 | 99,9 |
| | | Фумонизин | 197,5 | 1,3 | 98,1 |
| 2. | Бентониты (без разбавления в корме) | Т-2 токсин | 172,8 | 0 | 86,4 |
| | | ДОН (вомитоксин) | 179,6 | 0,5 | 89,6 |
| | | Зеараленон | 199,8 | 0 | 99,9 |
| | | Фумонизин | 124,8 | 0,6 | 62,1 |

| | | | | | |
|-----|---|------------------|-------|------|------|
| 3. | Хитозан (кислорастворимый) (без разбавления в корме) | Афлатоксин В1 | 170,0 | 67,2 | 51,4 |
| | | Охратоксин | 184,2 | 31,9 | 76,2 |
| | | Т-2 токсин | 199,9 | 0,2 | 99,9 |
| | | ДОН (вомитоксин) | 198,5 | 0,2 | 99,2 |
| | | Зеараленон | 199,8 | 0 | 99,9 |
| | | Фумонизин | 199,2 | 1,4 | 98,9 |
| 4. | Жом цикория (без разбавления в корме) | Т-2 токсин | 129,2 | 11,5 | 58,9 |
| | | ДОН (вомитоксин) | 174,8 | 9,2 | 82,8 |
| 5. | Сорбент № 1 (Фунгистат) (без разбавления в корме) | Т-2 токсин | 199,4 | 0 | 99,7 |
| | | ДОН (вомитоксин) | 199,4 | 66,4 | 66,7 |
| | | Зеараленон | 200,0 | 0 | 100 |
| 6. | Сорбент № 1 ** (Фунгистат) | Афлатоксин В1 | 148 | 43 | 53 |
| | | Охратоксин | 150 | 61 | 45 |
| | | Т-2 токсин | 96 | 0 | 48 |
| | | Зеараленон | 200 | 0 | 100 |
| | | Фумонизин | 200 | 0 | 100 |
| 7. | Сорбент № 2 ** (Фунгистат) | Афлатоксин В1 | 140 | 40 | 50 |
| | | Охратоксин | 152 | 60 | 46 |
| | | Т-2 токсин | 135 | 0 | 68 |
| | | Зеараленон | 200 | 0 | 100 |
| | | Фумонизин | 200 | 0 | 100 |
| 8. | Пектин яблочный** | Афлатоксин В1 | 138 | 48 | 45 |
| | | Охратоксин | 156 | 44 | 56 |
| | | Зеараленон | 182 | 0 | 91 |
| | | Фумонизин | 200 | 0 | 100 |
| 9. | Монтмориллонит** | Афлатоксин В1 | 160 | 64 | 48 |
| | | Охратоксин | 149 | 62 | 44 |
| | | Т-2 токсин | 79 | 25 | 27 |
| | | ДОН | 100 | 0 | 50 |
| | | Зеараленон | 162 | 0 | 81 |
| | | Фумонизин | 200 | 0 | 100 |
| 10. | Смесь сорбентов, в т.ч. монтмориллонит** | Афлатоксин В1 | 137 | 32 | 53 |
| | | Охратоксин | 140 | 81 | 30 |
| | | Т-2 токсин | 40 | 19 | 11 |
| | | ДОН | 66 | 0 | 33 |
| | | Зеараленон | 156 | 0 | 78 |
| | | Фумонизин | 160 | 0 | 80 |

*Приведены данные только по микотоксинам ПКПД, к которым был установлен не менее 40%

**Сорбент исследован в концентрации 0,5% по отношению к массе модельного корма (пшеница).

Как видно из приведенных результатов, эффективность сорбционно-десорбционного процесса в отсутствие субстратов корма, различна для разных типов сорбентов. ПКПД является максимальным для смесевых композиций алюмосиликатов и глин, а также полисахаридов из панциря крабов (хитозан). Последний является также, в отличие от других, эффективным в отношении афлатоксина. В присутствии субстрата корма (пшеница) десорбция снижается (необратимый процесс), что вероятно связано с необратимостью сорбции на субстратах корма. В то же время очевидно снижение эффективности сорбции для ряда токсинов (Дон, Т-2 токсин, охратоксин) в присутствии субстрата корма (пшеница) по сравнению с чистыми сорбентами. Указанное обстоятельство объясняется тем, что пшенично-крахмальная смесь содержит подвижные низкомолекулярные соединения (моно и дисахариды, жирные кислоты, триглицериды, неорганические соли и др.), которые переходят на добавленный сорбент и дезактивируют его, конкурируя с токсинами. Мы в дальнейшем более подробно обсудим эту ситуацию.

Таблица 2.

Сорбционная и десорбционная эффективность модельного корма
(пшеница, 0,2 %) в отношении различных токсинов.

| Наименование сорбента | Токсины | | | | | |
|------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|---------------|----------------------|---------------------|
| | Афлатоксин мкг/кг | Охратоксин мкг/кг | Т-2 токсин мкг/кг | ДОН мкг/кг | Зеараленон мкг/кг | Фумонизин мкг/кг |
| Модельный корм (пшеница, 0,2 %) | | | | | | |
| Сорбция, мкг/кг | 131 | 143 | 50 | 40 | 120 | 108 |
| Десорбция, мкг/кг | 40 | 89 | 24 | 0 | 0 | 0 |
| ПКПД, % | 46 | 27 | 13 | 20 | 60 | 54 |

Что касается сорбционных свойств субстрата (на примере пшеницы), то из данных табл. 2 видно, что емкость сорбции достигает 70%, в том числе по Афлатоксину 65,5, в то время как чистые сорбенты не обладают такой способностью и ПКПД по Афлатоксину в основном ниже 40%, за исключением хитозана (табл. 1). Из приведенных данных следует также, что в неконкурентных условиях (чистые сорбенты), емкость сорбции для различных токсинов находится в пределах 88-100%, за исключением некоторых экзотических сорбентов (жом цикория), что свидетельствует в целом о неизбирательной сорбции. В условиях конкурентной сорбции (в массе модельного корма) емкость сорбции сорбентов (например, цеолитов – 5, 6 (таб.1)), заметно снижается. Однако и в этих условиях емкость сорбции наиболее популярных сорбентов, например, цеолитов (6) и монтмориллонитов (9), (таб.1) в отношении большинства токсинов практически одинакова. Исключение составляет ДОН, по которому для композиции (9 (таб.1)) емкость сорбции и ПКПД значительно выше, чем для смеси фракции сорбентов, включающей также монтмориллонит. Наблюдаемый эффект снижения сорбционной емкости сорбента в присутствии других сорбентов связан, по-видимому с конкурентными взаимодействиями и требует экспериментальной подборки соотношения сорбентов в смеси.

В дальнейших исследованиях нас интересовало, проявляются ли отмеченные закономерности при использовании сорбентов в составе рецептур известных нейтрализаторов и «Фунгистата».

В таблице 3 приведены данные по адсорбции и десорбции афлатоксина на известных нейтрализаторах, включающих различные сорбенты. Как оказалось, в условиях корм-сорбенты емкость сорбции всех нейтрализаторов в отношении этих токсинов не превышает 7-10%. Порядка 70% захватывается субстратом корма, оставшиеся 20% вообще не сорбируются.

Таблица 3.

Сравнительная сорбционная способность изучаемых сорбентов
в отношении Афлатоксина В1 (200 мкг/кг).

| Нейтрализатор токсинов | Характеристика, компонентный состав | 1 вариант (0,2% нейтрализатора) | | | 2 вариант (0,5% нейтрализатора) | | |
|------------------------|--|---------------------------------|---------------------|-----------|---------------------------------|---------------------|-----------|
| | | Адсорбция мкг/кг | Десорбция мкг/кг | ПКПД % | Адсорбция мкг/кг | Десорбция мкг/кг | ПКПД % |
| 1 | «Фунгистат» алюмосиликаты, бентониты, органические кислоты, гепатостимуляторы, протеолитический комплекс, фунгистатики | 142 | 46 | 48 | 144 | 45 | 50 |
| 2 | Неорганический сорбент (цеолиты, специально обработанные, фермент – биотрансформации | 142 | 28 | 57 | 146 | 30 | 58 |

| | | | | | | | |
|-------------------|---|-----|----|----|-----|----|----|
| | я) | | | | | | |
| 3 | Смесь минеральных адсорбентов, дрожжи, соли пропионовой кислоты | 141 | 33 | 54 | 142 | 32 | 55 |
| 4 | Сорбент органической природы (полисахариды дрожжей) | 143 | 38 | 53 | 147 | 39 | 54 |
| 5 | Бентониты (монтморилонит), полисахариды растительного происхождения, дрожжи | 137 | 32 | 53 | 139 | 33 | 53 |
| 6 | Глинистые субстанции, продукты переработки дрожжей, органические кислоты, антиоксиданты, растительные экстракты | 140 | 28 | 56 | 143 | 30 | 57 |
| 7 | Монтморилонит | 160 | 64 | 48 | 164 | 65 | 50 |
| 8 | Пектин | 134 | 47 | 44 | 138 | 48 | 45 |
| Сорбент № 1 | Алюмосиликаты, бентониты | 148 | 44 | 52 | 148 | 43 | 53 |
| 10 Сорбент № 2 | Слоистые сорбенты | 138 | 40 | 49 | 140 | 40 | 50 |
| 11 | Субстрат корма (пшеница) | 131 | 40 | 46 | 133 | 40 | 47 |

Таблица 4.

Сравнительная сорбционная способность изучаемых сорбентов в отношении Фумонизина (суммы-200 мкг/кг).

| Нейтрализатор токсинов | Характеристика, компонентный состав | 1 вариант (0,2% нейтрализатора) | | | 2 вариант (0,5% нейтрализатора) | | |
|------------------------|--|---------------------------------|------------------|--------|---------------------------------|------------------|--------|
| | | Адсорбция мкг/кг | Десорбция мкг/кг | ПКПД % | Адсорбция мкг/кг | Десорбция мкг/кг | ПКПД % |
| 1 | «Фунгистат» алюмосиликаты, бентониты, органические кислоты, гепатостимуляторы, протеолитический комплекс, фунгистатики | 200 | 0 | 100 | 200 | 0 | 100 |
| 2 | Неорганический сорбент (цеолиты, специально | 128 | 0 | 64 | 200 | 0 | 100 |

| | | | | | | | |
|-------------------|---|-----|---|-----|-----|---|-----|
| | обработанные), фермент (биотрансформация) | | | | | | |
| 3 Токсины | Смесь минеральных адсорбентов, дрожжи, соли пропионовой кислоты | 146 | 0 | 73 | 200 | 0 | 100 |
| 4 | Сорбент органической природы (полисахариды дрожжей) | 152 | 0 | 76 | 200 | 0 | 100 |
| 5 | Бентониты (монтморилонит), полисахариды растительного происхождения, дрожжи | 160 | 0 | 80 | 200 | 0 | 100 |
| 6 | Глинистые субстанции, продукты переработки дрожжей, органические кислоты, антиоксиданты, растительные экстракты | 168 | 0 | 84 | 200 | 0 | 100 |
| 7 | Монтморилонит | 200 | 0 | 100 | 200 | 0 | 100 |
| 8 | Пектин | 160 | 0 | 80 | 200 | 0 | 100 |
| 9 Сорбент № 1 | Алюмосиликаты, бентониты | 182 | 0 | 91 | 200 | 0 | 100 |
| 10 Сорбент № 2 | Слоистые сорбенты | 172 | 0 | 86 | 200 | 0 | 100 |
| 11 | Субстрат корма (пшеница) | 108 | 0 | 54 | 108 | 0 | 54 |

Примечание:

1-6 – нейтрализаторы токсинов,

7-8 – сорбенты,

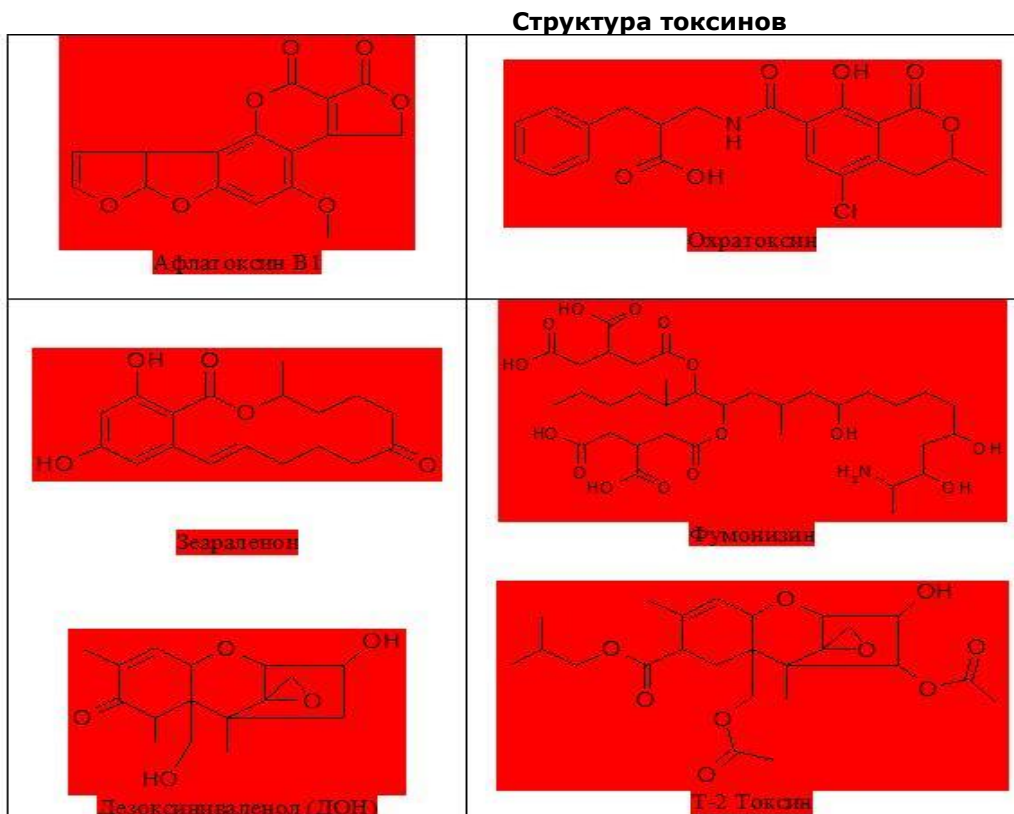
9-10 – сорбент №1, сорбент №2 (Фунгистат)

Некоторое увеличение сорбции наблюдали для монтморилонита, но эта разница нивелировалась при включении сорбента в состав нейтрализатора и в условиях десорбции в щелочной среде. Как видно из таблицы 3, данные по ПКПД очень близки для всех нейтрализаторов токсинов и отдельных сорбентов. Аналогичная картина наблюдалась нами и для охратоксина. В то же время, в отношении зеаралинона и фумонизина наблюдается иная картина (таб. 4, на примере фумонизина), при 0,2% вводе нейтрализаторов и сорбентов эффективность сорбции для них различна в отношении фумонизина и максимальная (100%) для монтморилонита и «Фунгистата» при полном отсутствии десорбции. Для остальных нейтрализаторов остаточный фумонизин находится в пределах 10-20%. Интересно, что эти два токсина (зеараленон и фумонизин) хорошо «откликаются» на увеличение сорбента или нейтрализатора в смеси. Как видно из данных таблицы 4 при увеличении нормы ввода до 0,5% адсорбция возрастает, разница в адсорбции нивелируется. Как в целом понимать ситуацию в смеси корм-сорбент?

Имитатор корма (смесь крахмала и измельченной пшеницы) являющийся по своему химическому составу смесью преимущественно полисахаридов, а также относительно небольшого

количества липидов, масел, восков, фосфолипидов, за счет своей развитой поверхности, обладает значительной сорбирующей способностью. Полисахариды более склонны сорбировать вещества полярного ионогенного типа (такие как охратоксин, зеараленон, фумонизин), а липиды – малополярного (афлатоксин В1). ДОН и Т-2 токсины, вероятно должны сорбироваться как на полисахаридах, так и на липидах, но слабо (см. структуру токсинов на стр.)

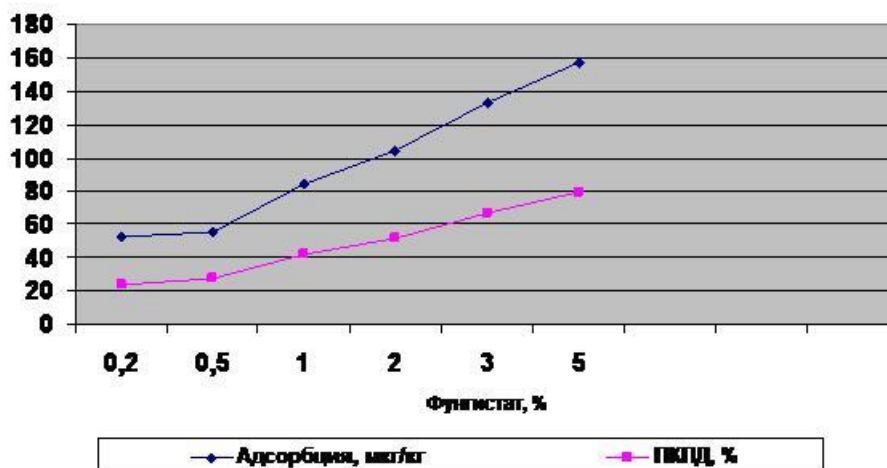
Рис.1



Добавление к такому корму любого сорбента в количестве 0,2 или 0,5% не может существенно изменить интегральную сорбирующую способность полученной смеси. Для этого сорбент должен был бы обладать примерно на 3 порядка более высокой сорбционной емкостью, чем кормовая смесь, а настолько эффективных сорбентов пока не известно (следует подчеркнуть, что речь идет именно о сорбентах, а не о химических ковалентно-связывающих реагентах, комплексообразователях и т.д.). Также ни один из известных сорбентов, добавленных в небольших количествах (0,2-0,5%) не сможет «перетянуть» на себя значительную долю токсинов, сорбированных на компонентах корма. При увеличении доли сорбента в корме от 0,2 до 5%, сорбирующая способность полученной смеси возрастает существенно в 2-3 раза (рис.1).

Рис.2

Сорбционная способность «Фунгистата» при его содержании в корме от 0,2 до 5% на примере Т-2 токсина.



При увеличении от 1 до 5% нормы ввода сорбента емкость сорбции возрастает пропорционально до 3%, а затем начинает снижаться.

Таблица 5.

Сорбционная способность «Фунгистата», в сравнении с импортными аналогами в отношении Т-2 токсина.

| Нейтрализаторы токсинов | Концентрация сорбента 1% | | | Концентрация сорбента 5% | | |
|-------------------------|--------------------------|------------------|--------|--------------------------|------------------|--------|
| | Адсорбция мкг/кг | Десорбция мкг/кг | ПКПД % | Адсорбция мкг/кг | Десорбция мкг/кг | ПКПД % |
| «Фунгистат» | 84 | 0 | 42 | 157 | 0 | 79 |
| 3 | 80 | 0 | 40 | 151 | 0 | 76 |
| 5 | 77 | 0 | 39 | 146 | 0 | 73 |
| 6 | 74 | 0 | 37 | 144 | 0 | 72 |

Как видно из таблицы 5, аналоги «Фунгистата», имеющие различный компонентный состав, при увеличении нормы ввода в 5 раз, увеличивают емкость сорбции вдвое (также и ПКПД).

Таким образом, не следовало ожидать, что добавка относительно небольшого количества сорбента к корму (0,2 %) принципиально увеличит сорбцию токсинов.

Этот теоретический прогноз соответствует данным, ранее приведенным в таблицах. В практике обычно используют нормы ввода от 0,05 до 0,2%. Это означает, что на первом этапе, при поступлении в желудок смеси корм-сорбент, сорбция токсинов будет не намного выше, чем в случае обычного корма. Именно такая ситуация, когда роль сорбента нивелирована, моделировалась в экспериментах *in vitro*.

На рисунке 2 наглядно демонстрируется эффективность процесса сорбции-десорбции в крайне неоптимальных (но экономически выгодных) условиях (норма ввода 0,2%). Тем не менее, из рисунка видно, что «Фунгистат» в этих условиях проявляет на общем фоне высокую активность, в особенности в отношении Т-2 токсина, зеараленона и фумонизина. Можно было бы с какой-то степенью вероятности прогнозировать ситуацию *in vivo*, т.е. в кишечнике у животных и птицы, когда по мере утилизации пищевых компонентов, концентрация сорбента будет нарастать и на выходе сорбция токсинов будет значительно выше, чем в случае обычного корма. Возможно, что наблюдаемые эффекты по снижению токсикозов у птицы и свиней при норме ввода 0,2 %, объясняются именно этим обстоятельством.

Как мы уже отмечали, в условиях корм-сорбент значительная часть токсинов (Т-2 токсин, афлатоксин, ДОН, охратоксин) не сорбируются смесью корм-сорбент, т.е. в условиях эксперимента остаются в водной фазе. Это обстоятельство объясняется тем, что упомянутые микотоксины достаточно гидрофильны и в исследуемых концентрациях (0,1 мг/л) заметно сольватируются водной фазой. Связывание перечисленных четырех микотоксинов с компонентами корма, как и сорбентами, осуществляется за счет Ван-дер-Ваальсовых взаимодействий, энергия которых ненамного превышает энергию сольватации водородными связями. При возрастании концентрации сорбента в смеси, соотношение будет сдвинуто в сторону сорбента, и остаточная концентрация токсинов будет снижаться.

Как мы видели из данных рисунка 1, несмотря на различную структуру сорбентов и введение добавок (ферменты), разрушающих токсины, ПКПД для различных токсинов достаточно близки за исключением Т-2 токсина, ПКПД которого значительно меньше, а также зеараленона и фумонизина. В последнем случае разброс наиболее значителен. Как мы отмечали выше, удерживание таких микотоксинов, как афлатоксин, Т-2 токсин, ДОН и охратоксин осуществляется в основном за счет Ван-дер-Ваальсовых взаимодействий, но не за счет специфического связывания.

В силу своей химической структуры (см. структурные формулы) афлатоксин В1, дезоксиниваленол (ДОН) и Т-2 токсин вообще не склонны к комплексообразованию. Для охратоксина в принципе можно подобрать комплексообразующий реагент, но, судя по нашим результатам ни один из сорбентов, как и компоненты кормовой смеси, не комплексуют охратоксин. В результате емкость сорбции сольватируемых токсинов из воды, без участия комплексообразования, не может быть высокой, и будет всегда иметь обратимый характер.

Напротив, зеараленон и фумонизин весьма склонны к образованию комплексов с рядом катионов металлов. Такими металлами могут быть алюминий, железо, медь, переходные металлы. Точный состав сорбентов и кормовой смеси, хотя неизвестен, но алюминий во всех исследованных сорбентах присутствует (алюмосиликаты, бентониты и др., встречается медь, железо. Во всяком случае, приведенные данные (табл. 1), свидетельствуют, о необратимой сорбции токсинов зеараленона

и фумонизина, что может быть связано с их комплексообразованием. Таким образом, повышенную сорбирующую способность изученных смесей и сорбентов к зеараленону и фумонизину следует, вероятно, объяснить их комплексообразованием.

Что касается низкой сорбирующей способности Т-2 токсина. При рассмотрении структур шести токсинов можно отметить следующее (стр.7): охратоксин, зеараленон и фумонизин, довольно полярны и содержат протонодонорные функции, благодаря чему склонны к связыванию с полярными сорбентами (окись алюминия, алюмосиликаты, кремнезем и др.).

Афлатоксин гораздо менее полярен, но обладает плоской сопряженной системой, способной к связыванию на сорбентах и компонентах кормовой смеси за счет дисперсионных п-п взаимодействий. Хуже связываются ДОН и Т-2 токсин, обладающие неплоским каркасным скелетом и сравнительно невысокой полярностью. Но если молекула ДОН имеет сопряженный фрагмент, хотя и небольшой, но все-таки способный к п-п взаимодействиям (имеется ввиду двойная С=С связь, сопряженная с С=О группой), а также протонодонорные гидроксигруппы, то в случае Т-2 токсина, где нет элементов сопряжения и содержится всего одна гидроксигруппа, возможности к связыванию с сорбентом совсем мизерны.

Таким образом, низкая сорбция Т-2 токсина по сравнению с остальными пятью микотоксинами вполне объяснима его структурными особенностями.

Заключение.

Проблема микотоксикозов на сегодня настолько важна, что, несомненно, требует выработки обоснований стратегии профилактики и устранения токсинов по всей цепочке – от поля до человека. Известно, что споры грибов-продуцентов токсинов обитают в почве и оттуда попадают в растения, а затем в зерно. Несомненно, что какая-то часть спорового материала попадает с посевным материалом. Процедуры «протравливания» посевного материала достаточно трудоемки и малоэффективны. Можно считать, что в любом случае собранное зерно имеет достаточную споровую нагрузку для активного прорастания при неблагоприятных условиях хранения. Понятно, что идеальных условий хранения не создать и, какая-то часть зерновых окажется отличным субстратом для прорастания спор, образование воздушного мицелия и образование в нем «вторичных» метаболитов-токсинов. Ранее нами было установлено [2,3,4,5], что в процессе «вторичного» синтеза, образующиеся вторичные метаболиты «перетекают» в споры грибов, выполняя, скорее всего функцию источников питания при прорастании. Очевидно, однако, что контроль этого процесса маловероятен в больших масштабах хранения зерна и речь может идти только о торможении самого процесса образования грибной биомассы и соответственно, о предотвращении выброса токсинов из мицелия в окружающую среду. Наилучший и хорошо апробированный путь – это введение в зерно при хранении пропионата, который эффективно профилактирует образование токсинов, за счет ингибирования роста грибных гиф. В настоящее время в ограниченном масштабе в массу зерна вводятся импортные добавки в виде органических кислот (пропионовой, муравьиной и др.). Однако, эта процедура достаточно дорогостоящая и не используется повсеместно, хотя и является практически единственным эффективным средством торможения роста грибных гиф. Мы считаем совершенно необходимым иметь производство доступной пропионовой кислоты (и ее солей) в России для обязательного (например, в соответствии с Техническим Регламентом) введения пропионата в зерно перед его закладкой на хранение. Важным обстоятельством является влияние пропионата на синтез глюкозы в крови, нормализацию функции печени и увеличение продуктивности (например, молочной). Нами испытана специальная модификация «Фунгистата-ГПК» для зерна, содержащая ингибиторы роста грибов, налипатели, гепатопротекторы. Установлено, что при нанесении на поверхность зерна, силоса «Фунгистата» толщиной слоя 0,5см, обеспечивается профилактика торможения развития мицелия грибов[1,6,7]. Процесс экономически целесообразен. Тем не менее, на практике, зараженное грибами и токсинами зерно, шроты, жмыхи, попадает на комбикормовые заводы и является причиной токсикозов с/х животных и птицы, со всеми последствиями.

Из полученных нами результатов следует, что имеющиеся нейтрализаторы токсинов в системе корм-сорбент не в состоянии в полной мере в условиях экономической целесообразности обеспечить полное освобождение от токсинов корма. Трудно представить картину, имеющую место в кишечнике, когда с одной стороны, свободные токсины (несорбированные), с другой стороны десорбированные с компонентов корма, создают серьезную нагрузку для печени. Возможность сорбции токсинов именно в условиях кишечника представляется серьезной проблемой и это тема нашего следующего исследования.

Мы выяснили, что в условиях экономической целесообразности «Фунгистат-ГПК» (0,2%), содержащий два различных по структуре сорбента, имеет преимущество в сорбции Т-2 токсина, зеараленона, фумонизина. При дальнейшем увеличении ввода нейтрализаторов (от 1%), разница между ними в системе сорбция-десорбция в значительной степени нивелируется. Становится очевидной необходимость обязательной паспортизации компонентов корма (углеводно-белковых) на содержание токсинов, что соответственно и будет определять количество вводимых нейтрализаторов. Из проведенного исследования стало также на наш взгляд понятно, что свойства токсинов, связанные с их структурой не могут гарантировать полноты сорбции даже в самых оптимальных условиях подбора сорбентов. В этой связи очевидна необходимость поиска дополнительных путей нейтрализации токсинов. Один из таких путей – ферментативный гидролиз активных фрагментов (связей) молекулы нейтрализатора, что достигается как с помощью микробных культур-трансформантов, так и отдельных очищенных ферментов. На наш взгляд, последнее не может быть экономически целесообразным. Нейтрализаторы токсинов, содержащие микроорганизмы-трансформанты нами изучены в сравнительном аспекте и не выявили каких-либо преимуществ с обычными сорбентами. Однако оптимальные условия для проявления активности, этих культур либо ферментов достаточно трудно достижимы и, возможно, что *in vivo* действительно имеется эффект. Тем не менее, этот путь представляется перспективным и такие попытки должны быть продолжены. И, наконец, о функции печени, которая в наибольшей степени страдает от токсикозов. Нами впервые была предложена и реализована на практике композиция «Фунгистат-ГПК» (гепатопротекторный корм), содержащая в своем составе регуляторный комплекс, действие которого направлено на усиление детоксицирующей функции печени. При проведении лабораторных опытов на мышах нами было установлено [8], что в присутствии афлатоксина «Фунгистат-ГПК» сохраняет функцию печени, тогда как нейтрализатор, в составе которого находились манано-глюкановые полисахариды, но отсутствовал регуляторный комплекс, не обеспечил профилактическую защиту печени.

Таким образом, мы полагаем, что существует три направления исследований, направленных на оптимизацию условий устранения токсинов.

- поиск новых сорбентов, обладающих эффективной сорбцией в кислой и щелочной области.
- поиск штаммов микроорганизмов с трансформирующим действием в отношении микотоксинов, в особенности трихотеценовой группы.
- оптимизация регуляторного комплекса в составе «Фунгистат-ГПК» с целью усиления детоксицирующей функции печени.

Выводы и предложения.

1. Изучена эффективность процесса сорбции-десорбции в условиях корм-сорбент для различных нейтрализаторов токсинов.
2. В условиях целесообразного ввода (0,2%) установлена низкая активность ПКПД сорбентов и нейтрализаторов токсинов в сравнении с кормом. Показано, что «Фунгистат-ГПК» в этих условиях имеет более высокие показатели в отношении Т-2 токсина, зеараленона и фумонизина – за счет синергидного эффекта двух сорбентов различной природы в выбранном соотношении.
3. При концентрациях токсинов в корме на уровне МДУ оптимальной нормой ввода следует считать 1-2%.
4. Для правильного выбора нормы ввода сорбентов, необходимо провести паспортизацию поступающих кормов, шротов на колонизацию грибами-продуцентами микотоксинов (и самих токсинов) по регионам.
5. Считать необходимым, ввести в Технический Регламент регулирования «Безопасность кормов и кормовых добавок» обязательное введение нейтрализаторов токсинов в зерно и корма.
6. Считать крайне важным организацию отечественного производства экономически доступной пропионовой кислоты и ее солей с целью обязательного ее ввода в зерно перед закладкой на хранение.

Литература.

1. Соколова Ю.Н., Богомолов В.В., Головня Е.Я. «Контроль безопасности кормов. Теория и практика». ФГУ «Ленинградская межобластная ветеринарная лаборатория»
2. Малков М.А., Маркович А.В. «Изменение содержания нуклеиновых кислот в цикле развития пенициллов-продуцентов гризеофульвина в глубинной культуре *Pen.nigricans* ».Антибиотики, №7, 1966, с. 314.
3. Малков М.А. «Биосинтез нуклеиновых кислот культурой *pen.nigricans*».Прикладная биохимия и микробиология, №4, 1966, с. 392.
4. Малков М.А. «Влияние состава среды на обмен нуклеиновых кислот в мицелии *Pen.nigricans* продуцента гризеофульвина».Антибиотики, №9, 1967, с. 782.
5. Малков М.А. «Дифференциация ядер у *pen.nigricans*».Микробиология, т. XXXVII, в. 2, 1968, с. 312.

6. Соколова Ю.Н., Богомолов В.В., Головня Е.Я. «Комплексное микотоксинологическое обследование кормов». ФГУ «Ленинградская межобластная ветеринарная лаборатория». РацВетИнформ, № 3, 2007
7. Головня Е.Я. «Результаты комплексного микотоксинологического обследования кормов». ФГУ «Ленинградская межобластная ветеринарная лаборатория». БИОинфо, № 3, 2007
8. Богомолов В.В., Головня Е.Я. «Оценка эффективности нового комплексного препарата с фунгистатической и сорбционной активностью методами биотестирования». ФГУ «Ленинградская межобластная ветеринарная лаборатория». Каталог международного специализированного конгресса-выставки «Ветеринария, Зоотехния, Биокорма», август 2006.