

## **ВИВЧЕННЯ IN VITRO ЕФЕКТИВНОСТІ СОРБЕНТІВ РІЗНИХ ГРУП, ЩО ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ В УКРАЇНІ ПРИ МІКОТОКСИКОЗАХ**

*І. Я. Коцюмбас<sup>1</sup>, О. М. Брезвин<sup>1</sup>, О. М. Васянович<sup>2</sup>, М. Є. Григоренко<sup>2</sup>, Р. О. Кушнір<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів  
та кормових добавок

<sup>2</sup>Інститут ветеринарної медицини УААН

*У статті охарактеризовані методи дезінтоксикації мікотоксинів. Ефективні методи дезінтоксикації мікотоксинів у тваринництві засновані на використанні з ураженим кормом сорбентів. Методи сорбції вважаються найбільш безпечним для тварин. Проведено мікотоксикологічні дослідження ефективності 8 сорбентів різних груп представлених на ринку України вітчизняного виробництва: альфасорб, кормосан, вугілля активоване, та іноземного виробництва: чек-о-токс, клінофід, bagacid; toxidex-premix, екосорб. Вивчено in vitro рівень сорбуючої здатності рекомендованих виробником доз сорбентів. Відзначено, що найкраще себе зарекомендував сорбент альфасорб, який сорбує не тільки афлатоксини, але і ряд інших небезпечних мікотоксинів, у тому числі Т-2 токсин.*

Сучасне законодавство України та ЄС підвищує вимоги щодо якості та безпечності кормів, кормової і продовольчої сировини та харчової продукції, але в наш час існує загальносвітова проблема контамінації кормів і кормової сировини мікотоксинами, яка потребує нагального вирішення. Більшість вчених прийшли до висновку, що безпечних доз мікотоксинів не існує, а уникнути контамінації кормів токсичними грибами практично не можливо.

Найпрактичніші методи дезінтоксикації мікотоксинів у тваринництві та птахівництві засновані на використанні з ушкодженим кормом сорбентів. Сорбенти знижують біологічну активність мікотоксинів, зменшують всмоктування токсинів у шлунково-кишковому тракті, захищають продукцію тваринництва від забруднення мікотоксинами. Метод сорбції вважається найбільш ефективним і безпечним відносно тварин [1–3].

Сорбенти мають різні властивості і можуть поділятися за багатьма ознаками, зокрема:

- за лікарською формою та фізичними властивостями: гранули, порошки, таблетки, пасти, гелі, колоїдні, інкапсульовані матеріали, кормові добавки;
- за хімічною структурою: активоване вугілля, силікагелі, цеоліти, алюмоселікати, окисні та інші неорганічні сорбенти, кормові волокна тощо;
- за механізмом сорбції: адсорбенти, абсорбенти, іонообмінні матеріали, сорбенти з комбінованим механізмом дії каталітичними властивостями;
- за селективністю: селективні, неселективні, монофункціональні бі- та поліфункціональні [3–6].

Ентеросорбенти — лікувальні препарати різної структури і складу, що здійснюють зв'язування речовин у шлунково-кишковому тракті шляхом адсорбції, іонообміну та комплексоутворення.

Всі сучасні ентеросорбенти повинні відповідати таким вимогам:

- а) не володіти токсичними властивостями;
- б) бути нетравматичними для слизових оболонок;
- в) швидко евакуююватись з кишечника;
- г) володіти високими сорбційними властивостями;

- д) не викликати дисбактеріозів;
- е) мати вигідну лікарську форму.

Механізми лікувальної дії ентеросорбції до сих пір продовжують обговорюватись. Так, в основі методу сорбційної дезінтоксикації організму лежить наукове обґрунтування чотирьох механізмів зниження системної концентрації токсичних речовин та їх метаболітів:

- попередження можливості зворотнього всмоктування токсичних речовин з крові в кишечник з подальшим їх зв'язуванням на сорбентах (подібний до механізму кишечного діалізу);

- доочищення шлункових соків, що містять значну кількість токсичних речовин;

- модифікація ліпідного і амінокислотного спектрів кишечного вмістимого (за рахунок вибіркового поглинання сорбентом вільних жирних кислот);

- виведення токсичних речовин, які утворюються в самому кишечнику, тобто бере на себе частину функції органів, що приймають участь в дезінтоксикації ендотоксинів та їх метаболітів [8, 9, 11]. У результаті зменшується метаболічне навантаження на печінку і нирки, що дозволяє повніше використати їх дезінтоксикаційний потенціал при зменшенні проявів системного токсикозу.

Аналіз описаних механізмів сорбції дозволяє говорити про обґрунтованість застосування ентеросорбентів, оскільки лікувальний ефект дводенної ентеросорбції порівнюється до одного сеансу гемосорбції [12].

Сьогодні на ринку ветеринарних препаратів України існує широкий спектр запропонованих сорбентів: неорганічні, органічні та комбіновані. В якості зв'язуючих матеріалів використовують активоване вугілля, цеоліти, деякі глини (бентоніт, сапоніт, каолін) гідратний натрій, кальцій-алюмосилікати, діатомовий ґрунт тощо. Дія сорбентів заснована на здатності виводити мікотоксини із шлунково-кишкового тракту, швидко зв'язувати та ефективно утримувати токсини при різних рівнях рН. Але негативним фактором більшості сорбуючих матеріалів є низька специфічність, що призводить до зв'язування поживних речовин, вітамінів та мікроелементів.

Дослідження вчених показують, що мінеральна сировина (цеоліти, бентоніти тощо) використовуються в тваринництві, а її додавання до раціону позитивно відображається на здоров'ї та продуктивності тварин. Однак, деякі мікотоксини можуть адсорбуватися на окремі сорбенти в шлунку і десорбуватися при лужному середовищі в просвіті кишечника, в результаті чого ефективність підбору сорбентів є сумнівна [6]. Висушений алюмосилікат натрію (кальцію) здатний знизити прояв афлотоксикозу, але не ефективний відносно фузаріотоксинів, вони також можуть сорбувати вітаміни, лікарські речовини. Бентоніти ефективні відносно до Т-2 токсину, але тільки у великих і відносно непрактичних концентраціях. Інші види глин також мають невеликий потенціал зв'язування токсинів, але тільки при застосуванні їх у відносно великих дозах [13–15].

Хоча всі сорбенти, так чи інакше, є пасивними поглиначами мікотоксинів, але ефективність їх дії на сьогодні залишається предметом гострих дискусій вчених.

Метою наших досліджень було вивчення у модельних дослідах *in vitro* антитоксичної активності найбільш функціональних на ринку сорбентів як вітчизняного, так й іноземного виробництва при взаємодії їх з токсинами — патуліном, афлатоксином В<sub>1</sub>, стеригматоцистином, зеараленоном, ДОН, Т-2 токсином.

**Матеріали і методи.** У роботі використано 8 сорбентів різних груп вітчизняного виробництва: альфасорб, кормосан, вугілля активоване, та іноземного виробництва: чек-о-токс, клінофід, baracid; toxidex-premix, екосорб.

Під час дослідження, за початкову кількість досліджуваного сорбенту брали рекомендовану виробником дозу. Дослід проводили з шести мікотоксинами одночасно: патуліном, афлатоксином В<sub>1</sub>, стеригматоцистином, зеараленоном, ДОН, Т-2 токсином. У колбі змішували рекомендовану дозу сорбенту з максимально допустимою дозою

мікотоксинів. Нанесення екстракту проводили через 5, 15, 30 хв та 12 і 24 год після початку дослідю.

Визначення наявності мікотоксинів проводили методом тонкошарової хроматографії згідно з МВ–15–14/73 «Скринінг-методу одночасного виявлення афлатоксину В<sub>1</sub>, патуліну, стеригматоцистину, Т-2 токсину, зеараленону та дезоксиніваленолу» [16]. Екстракт наносили на пластину «Силуфол», «Силуфол УФ–254» хроматографували в системі розчинників толуол–етилацетат–мурашина кислота (5:4:1) та проглядали в УФ-променях з довжиною хвилі 365 нм. Для виявлення мікотоксину зеараленону пластину обробляли 20 % спиртовим розчином АІСІ<sub>3</sub> з послідовним нагріванням при температурі 80 °С протягом 5 хв, наявність Т-2 токсину виявляли після обробки хроматографічних пластин 20 % спиртовим розчином сірчаної кислоти та 1–3 хв термічної обробки за температури 130 °С. Для виявлення патуліну пластину «Силуфол УФ–254» поміщали на 15–20 хв у камеру з хлором, після чого висувували в сушильній шафі, обробляли 0,5 % розчином гідрохлориду бензидину та проглядали в УФ-променях з довжиною хвилі 254 та 365 нм.

**Результати та обговорення.** У результаті дослідів була встановлена різна сорбуюча ефективність наявних сорбентів, а також час необхідний для сорбції. Визначаючи термін сорбції, було встановлено, що через 30 хв після внесення токсину до сорбенту, ефективність сорбції була однаковою через 1, 12 і 24 години від початку дослідю. Також було встановлено, що при збільшенні МДР токсину в пробі, відповідно зменшується його сорбція, незалежно від часу. Як видно з таблиці 1, всі сорбенти, в основному, сорбували афлатоксин В<sub>1</sub> та патулін і практично не зв'язували Т-2 токсин, ДОН і зеараленон.

Таблиця 1

Сорбуюча здатність сорбентів через 30 хв від початку дослідю, %

Назва сорбенту	Афлатоксин В <sub>1</sub>	Патулін	Стеригматоцистин	Зеараленон	Т-2 токсин	ДОН
Альфасорб	не виявлено	не виявлено	75	не виявлено	55	40
Чек-о-токс	не виявлено	не виявлено	60	50	35	32
Клінофід	не виявлено	не виявлено	60	55	45	не виявлено
Вагаcid	не виявлено	не виявлено	45	не виявлено	35	30
Toxidex-premix	35	40	не виявлено	45	40	15
Кормосан	не виявлено	не виявлено	не виявлено	не виявлено	30	30
Екосорб	не виявлено	не виявлено	не виявлено	45	45	не виявлено
Вугілля активоване	не виявлено	не виявлено	не виявлено	35	50	40

Багатьма дослідниками доведено, що не всі сорбенти можуть нейтралізувати трихотецени. Трихотецени — це група, яка складається приблизно з 170 мікотоксинів, подібних за структурою. Вони синтезуються грибами роду *Fusarium*. Кожен трихотецен має подвійну кільцеву систему, на якій розташовується епоксидазне кільце. Різниця в будові бічного ланцюга молекули використовується для поділу цієї великої групи токсинів за типом А і В. Тип А, в основному, включає Т-2 токсин, НТ-2 та інші, які, зазвичай, в 10 разів токсичніші, ніж трихотецени типу В (ДОН, ніваленол і фузаренон Х тощо). Головна токсична структура всіх трихотеценів — це епоксидне кільце, яке є головною мішенню для успішної нейтралізації цих мікотоксинів.

При проведенні дослідження ефективності детоксикації рекомендованих виробником доз сорбентів різних груп, була відмічена низька ефективність сорбції фузаріотоксинів. У зв'язку з цим, запропоновані дози сорбентів вирішили збільшити вдвічі. Результати проведених досліджень наведені в таблиці 2.

## Сорбуюча здатність подвоєної дози сорбенту через 30 хв від початку дослід, %

Назва сорбенту	Афлатоксин В <sub>1</sub>	Патулін	Стеригматоцистин	Зеараленон	Т-2 токсин	ДОН
Альфасорб	не виявлено	не виявлено	80	не виявлено	90	72
Чек-о-токс	не виявлено	не виявлено	70	65	75	60
Клінофід	не виявлено	не виявлено	75	70	80	не виявлено
Varacid	не виявлено	не виявлено	70	не виявлено	50	45
Toxidex-premix	55	60	не виявлено	63	не виявлено	25
Кормосан	не виявлено	не виявлено	не виявлено	не виявлено	80	50
Екосорб	не виявлено	не виявлено	не виявлено	75	70	не виявлено
Вугілля активоване	не виявлено	не виявлено	не виявлено	55	80	70

Як видно з таблиці 2, експерименти *in vitro* показали, що всі досліджувані сорбенти при збільшенні їх дози покращували свою сорбуючу дію. Необхідно відмітити, що найкраще себе зарекомендував сорбент альфасорб, який адсорбував 5 мікотоксинів і показав високий результат при сорбції Т-2 токсину (90 %). Як маркер детоксикаційної дії сорбентів було взято вугілля активоване, яке також мало високу сорбуючу здатність до Т-2 токсину — 80 %. Задовільний результат виявлений і при використанні екосорбу (сорбція Т-2 токсину — 70 %).

Отже, проведені дослідження показали, що найскладніше сорбувати Т-2 токсин, жодний із досліджуваних сорбентів не проявив 100 % сорбції в рекомендованій виробником дозі. Але рівень сорбції Т-2 токсину значно зріс, приблизно в 1,5–2 рази, в досліді із збільшеною вдвічі дозою сорбентів. При цьому сорбція Т-2 токсину в значній кількості збільшилась лише при використанні альфасорбу — до 90 %.

## В И С Н О В К И

1. Застосування сорбентів є одним з ефективних підходів до вирішення проблеми мікотоксикозів.

2. Вивчено *in vitro* ефективність рекомендованої виробником дози сорбентів та встановлено оптимальний час їх сорбції. Необхідно відмітити, що процент сорбції підвищився при збільшенні вдвічі рекомендованої дози, що обов'язково потрібно враховувати при застосуванні того чи іншого сорбенту.

3. У ході дослідів найкраще себе зарекомендував сорбент альфасорб, який добре сорбував не тільки афлатоксини, а й ряд інших небезпечних мікотоксинів, включаючи Т-2 токсин.

**Перспективи подальших досліджень.** Проведення серії токсикологічних досліджень кормової добавки альфасорб у гострому та хронічному досліді.

### STUDYING IN VITRO EFFECTIVENESS OF SORBENTS OF DIFFERENT GROUPS THAT ARE USED IN UKRAINE AT MYCOTOXICOSISES

*I. Y. Kotsyumbas, O. M. Brezvyin, O. N. Vasyanovich, M. E. Grigorenko, R. A. Kushnir*

## S U M M A R Y

The article presents methods of detoxification of mycotoxins characteristics. Efficient methods for detoxification of mycotoxins in livestock are based on applying affected food sorbents. Sorption methods are considered the most effective and safe for animals. Mycotoxicologic researches of the effectiveness of 8 sorbents of domestic production on the Ukrainian market of veterinary preparations: Alfisorb, Activated Charcoal, Kormosan and

foreign production: Check-o-Toks, Klinofid; Baracid; Toxidex-premix; Ecosorb was conducted. In vitro level of sorbtive ability of sorbents doses recommended by the manufacturer was studied. It was noted that the best proved itself popular sorbent Alfisorb which adsorbs not only aflatoxins, but also a number of other dangerous mycotoxins, including T-2 toxin.

## ИЗУЧЕНИЕ IN VITRO ЭФФЕКТИВНОСТИ СОРБЕНТОВ РАЗНЫХ ГРУПП ИСОЛЬЗОВАННЫХ В УКРАИНЕ ПРИ МИКОТОКСИКОЗАХ

*И. Я. Коцюмбас, О. М. Брезвын, О. Н. Васянович, М. Е. Григоренко, Р. А. Кушнир*

### А Н Н О Т А Ц И Я

В статье представлены методы дезинтоксикации микотоксинов. Эффективные методы дезинтоксикации микотоксинов в животноводстве основаны на использовании с поражённым кормом сорбентов. Метод сорбции считается наиболее безопасным для животных. Проведены микотоксикологические исследования эффективности 8 сорбентов, представленных на рынке ветеринарных препаратов Украины, отечественного: альфасорб, кормосан, уголь активированный, и иностранного производства: чек-о-токс, клинофид, baracid, toxidex-premix, экосорб. Изучено in vitro уровень детоксикации рекомендованных производителем доз сорбентов. Отмечено, что лучше всего себя зарекомендовал сорбент альфасорб, який сорбировал не только афлатоксины, но и ряд других опасных микотоксинов, включая Т-2 токсин.

### Л І Т Е Р А Т У Р А

1. *Малинин О. А.* Ветеринарная токсикология / О. А. Малинин, Г. А. Хмельницкий, А. Т. Куцан. — Корсунь-Шевченковский : ЧП Майдаченко, 2002. — 464 с.
2. *Ганжар П. С.* Учебное пособие по клинической токсикологии / П. С. Ганжар, А. А. Новиков. — М. : Колос, 1979. — 470 с.
3. *Черняев Н.* Как бороться с мнимой токсичностью? / Н. Черняев // Комбикорма. — 2000. — № 4. — С. 27.
4. *Филипов М.* Определение качества комбикормов потребителем / М. Филипов, А. Гроздов // Комбикорма. — 1999. — № 7. — С. 29–30.
5. *Цвылев О.* Новый метод в контроле качества сырья и комбикормов / О. Цвылев, Ж. Дергалева // Комбикорма. — 1999. — № 7. — С. 31–33.
6. *Рудиченко В.* Природні харчові сорбенти як чинник здоров'я сучасної людини / В. Рудиченко. — К. : Вища школа, 1997. — 367 с.
7. *Цибулько Н. П.* Влияние ежемесячных курсов энтеросорбции на течение и исход хронического токсического поражения печени / Н. П. Цибулько, А. А. Кривчик // Здравоохранение Беларуси. — 1999. — № 3. — С. 24–27.
8. *Beaver R. M.* Distribution of aflatoxin in tissues of growing pigs fed an aflatoxin contaminated diet amended with a high affinity aluminosilicate sorbent / R. M. Beaver, D. M. Wilson, M. A. James // Veter. hum. Toxicol. — 1989. — Vol. 32, № 1. — P. 16–18.
9. *Котик А. Н.* Спосіб консервації та детоксикації фуражного зерна для профілактики мікотоксикозів птиці / А. Н. Котик, В. А. Труфанова // Вет. Мед. України. — 1998. — № 1. — С. 19.
10. *Хмелевский Б. Н.* Профилактика микотоксикозов у животных / Б. Н. Хмелевский, З. И. Пилипец, Л. С. Малиновская и др. — М. : Агропромиздат, 1985. — 271 с.
11. *Лужников Е. А.* Острые отравления / Е. А. Лужников, Л. Г. Костомарова. — М. : Медицина, — 1989. — 432 с.

12. *Челмакина В. П.* Современные методы искусственной детоксикации / В. П. Челмакина. — Алма-Ата. : Наука, 1965. — 136 с.
13. *Новіцький К. М.* Ефективність застосування адсорбентів на основі активованого вугілля при Т-2 токсикозі / К. М. Новіцький // Ветеринарна медицина України. — 2000. — № 11. — С. 39–40.
14. *Новіцький К. М.* Ефективність застосування адсорбентів при Т-2 токсикозі білих мишей / К. М. Новіцький // Ветеринарна медицина України. — 2001. — № 6. — С. 42–43.
15. *Хмельницький Г. О.* Застосування ентеросорбентів при мікотоксикозах тварин / Г. О. Хмельницький, К. М. Новіцький // Тези доповідей наукової конференції професорсько-викладацького складу, наукових співробітників та аспірантів, присвяченої 80-річчю факультету ветеринарної медицини. — Київ : НАУ КМ України. — 2000. — С. 23.
16. *Ображей А. Ф.* Скринінг-метод одночасного виявлення афлатоксину В<sub>1</sub>, патуліну, стеригматоцистину, Т-2 токсину, зеараленону та вомітоксину в різних кормах : Методичні рекомендації // А. Ф. Ображей, О. Ф. Корзуненко, О. М. Васянович та ін. — Київ, 1998. — С. 36–43.

**Рецензент:** доктор біологічних наук, професор О. Г. Малик, ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок.