

МОНИТОРИНГОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МИКОТОКСИНОВ В КОМБИКОРМАХ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОГО ЖИДКОСТНОГО ХРОМАТОГРАФА ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В КОСТАНАЙСКОЙ ОБЛАСТИ.

Орынтаева М.Д. – магистр ветеринарных наук, преподаватель кафедры ветеринарной санитарии, Костанайский государственный университет имени А.Байтұрсынова

Жармагамбетов А.Т. - магистр ветеринарных наук, научный сотрудник Костанайская Научно-исследовательская Ветеринарная станция филиал ТОО «КазНИВИ»

Каибжанов А. - магистрант, Костанайский государственный университет имени А.Байтұрсынова

Микотоксикозы птицы - одна из наиболее экономически значимых проблем современного птицеводства. Высокопродуктивные породы птицы чрезвычайно чувствительны к микотоксинам. Поражение может не проявляться очевидными клиническими признаками, но снижение продуктивности неизбежно.

В статье изложены проблемы диагностики и профилактики микотоксинов в птицеводческих хозяйствах Костанайской области. Многие хозяйства убедились на практике, что микотоксины в кормах далеко не редкость и об этой проблеме уже не спорят, а принимают различные меры для профилактики вызываемых ими заболеваний и снижения экономического ущерба

Наиболее негативные влияния на птицеводческие хозяйства оказывают следующие микотоксины: афлатоксины, охратоксины, фуманизины, Т-2 токсин.

Зерно и грубые корма подвержены заражению на всех стадиях производства: сначала полевыми грибами, затем плесенью хранения. Зерновое сырьё может содержать несколько десятков микотоксинов. Говорить о сырье, полностью свободном от микотоксинов, невозможно. Разработаны МДУ наиболее изученных микотоксинов в кормах. Использование кормов естественного происхождения заставляет обратить внимание на полимикотоксикозы

Нами был проведен литературный обзор состояния изученности данного вопроса, с цитированием статей из зарубежных и отечественных журналов, газет и книг.

Так же статье отражены исследования на наличие микотоксинов в комбинированных кормах, предназначенные для скормливания сельскохозяйственных птиц.

Лабораторные исследования состояли из идентификации микотоксинов, определение общей токсичности, осуществляемые с помощью высокоэффективного жидкостного хроматографа.

Ключевые слова: диагностика, микотоксины, зеараленон, дезоксиниваленон, высокоэффективный жидкостный хроматограф.

ҚОСТАНАЙ ОБЛЫСЫНЫҢ ЖЕМ КОМБИНАТТАРЫНДА МОНИТОРИНГТІК ЗЕРТТЕУЛЕР БОЙЫНША ТИІМДІЛІГІ ЖОҒАРЫ СҰЙЫҚ ХРОМАТОГРАФ ӘДІСІМЕН МИКОТОКСИНДЕРДІ ЗЕРТТЕУ

Орынтаева М. Д. – ветеринария ғылымының магистрі, ветеринариялық санитария кафедрасының оқытушысы, А. Байтұрсынов атындағы Қостанай мемлекеттік университеті

Жармагамбетов А. Т. - ветеринария ғылымының магистрі, ғылыми қызметкер Қостанай Ғылыми - зерттеу Ветеринария станциясы "ЖШС филиалы-ғылыми-зерттеу ветеринариялық институты"

Каибжанов А. – магистрант, А. Байтұрсынов атындағы Қостанай мемлекеттік университеті

Құстың микотоксикозы – қазіргі кездегі экономикалық өзекті мәселелердің бірі. Өнімділігі жоғары құс тұқымдары микотоксикозға өте сезімтал келеді. Зақымдану кезеңінде айқын клиникалық белгілер байқалмайды, бірақ өнімділігінің төмендеуі сөзсіз.

Мақалада Қостанай облысының құс шаруашылықтарында диагностикалық мәселелер мен микотоксиндердің алдын-алу туралы баяндалған. Көптеген шаруашылықтар тәжірибе жүзінде азықтарда микотоксиндердің кездесетіне көз жеткізді және осы мәселе жайында дауласпайды, аурулардың алдын-алу үшін және экономикалық жағынан тиімділігін сақтап қалу барысында қажетті іс-шараларды қолданады.

Құс шаруашылықтарда зиян келтіретін микотоксиндердің көп тараған түрлері: афлатоксиндер, охратоксиндер, фузариозиндер, Т-2 токсині..

Дән және дәрекі жемшөптер өндірістің барлық кезеңдерінде зарарлануға душар: ең алдымен егістік саңылауқұлақтар, содан кейін зеңді саңырауқұлақпен. Дәннің шикізаты ондаған микотоксин құрайды. микотоксиндерден шикізат толықтай еркін деп есептеуге болмайды. МЖД ең басты микотоксиндер жемшөптерде әзірленеді. Полимикотоксикозға жемшөптің табиғи тегін игеру үшін назар көп аударуға мәжбүрлейді.

біз осы сұрақтарды үйретуді өткізу үшін әдеби шолуын жасадық , көп қиындыққа қарамастан, шетелдермен отандық журналдың, газеттердің және кітаптардың ішіне мақала ретінде басылды.

Лабораториялық зерттеулер микотоксиннің бірдейлестіруінен құралды, ортақ улағыштықтың ұйғарымына , көмек аса тиімді сұйықтықтың хроматографа жасалды.

Негізгі сөздер: диагностика, микотоксиндер, зеараленон, дезоксиниваленол, тиімділігі жоғары сұйықтық сұйықтық хроматографы.

MONITORING RESEARCHES OF MYCOTOXINS IN COMPOUND FEEDS BY METHOD OF THE HIGHLY EFFECTIVE LIQUID CHROMATOGRAPH USED IN THE KOSTANAY REGION

Oryntayeva M. D. – the master of veterinary sciences, the teacher of chair of a veterinary sanitation, Kostanaysky state university of A. Baytursynov

Zharmagambetov A.T. - master of veterinary sciences, research associate, Kostanay scientific-research Veterinary station, branch of "KAZSRVI" LLP

Kaibzhanov A - the magistrand, Kostanay State university of A. Baytursynov

Mycotoxicoses of a bird – is one of the most economically significant problems of modern poultry industry. Highly productive breeds of a bird are extremely sensitive to mycotoxins. The affect cannot be shown by obvious clinical signs, but decrease of productivity is inevitable.

Problems of diagnostics and prophylaxis of mycotoxins in poultry-farming farms of the Kostanay region are stated in the article. Many farms were convinced in practice that mycotoxins in fodders are not a rarity and don't debate on this problem anymore, and take various measures for prophylaxis of the diseases caused by them and depression of economic damage.

The following mycotoxins have the most negative influences on poultry-farming farms: aflatoxins, ochratoxins, fumonisins, T-2 toxin.

Grain and coarse fodders are subject to infection at all stages of production: at first field mushrooms, then mildew of storage. The grain raw materials may contain dozens of mycotoxins. To speak about raw materials, that completely free from mycotoxins, it is impossible. MPL of the most studied mycotoxins in fodders are developed. Use of forages of a natural origin forces to notice to polymycotoxicoses.

We carried out the literature review of a condition of study of the matter, with citing articles from foreign and homegrown magazines, newspapers and books.

Also the researches on existence of mycotoxins in the compound feeds that intended for feeding of agricultural birds are reflected in article.

Laboratory researches consisted of identification of mycotoxins, determination of the general toxicity, carried out by means of a highly effective liquid chromatograph.

Keywords: diagnostics, mycotoxins, zearealenone, desoxynivalenol, highly effective liquid chromatograph.

В настоящее время в птицеводстве одной из актуальных является проблема микотоксикозов.

Современное птицеводство характеризуется высокими параметрами продуктивности. Здесь особо нужно отметить заслуги генетиков и селекционеров, «спроектировавших» птицу с такими возвышенными показателями. Однако на этом их роль заканчивается; а дальнейшая забота о росте ложится на плечи специалистов хозяйств, которые должны вырастить птиц, максимально приблизив фактические показатели к заявленному стандарту. В первую очередь кормовой фактор, способный наиболее остро влиять на состояние здоровья всего поголовья, следует выделить наличие в кормовом сырье микотоксинов, высокое содержание которых может привести к снижению качества продукции, массовой гибели птицы, как следствие, к прямым убыткам для предприятия [1].

Особенно актуален этот вопрос в птицеводстве, где быстрый рост птицы и максимальная продуктивность возможны лишь, при условии отсутствия потенциально опасных веществ.

Мониторинг позволяет установить уровень загрязнения, оценить степень реальной нагрузки и опасности, выявить пищевые продукты, являющиеся наиболее благоприятным субстратом для

микроскопических грибов – продуцентов микотоксинов, а также подтвердить эффективность проводимых мероприятий по снижению загрязнения микотоксинами.

Скрининг – методы отличаются быстротой и удобны для проведения серийных анализов, позволяют быстро и надежно разделять загрязненные и незагрязненные образцы. К ним относятся такие широко распространенные методы как метод тонкослойной хроматографии для одновременного определения до 30 различных микотоксинов, флуоресцентный метод определения зерна, загрязненного афлотоксинами, миниколоночный метод и некоторые другие [2].

Исследовательская работа выполнялась в лаборатории микробиологии Инновационного научно-образовательного центра, Костанайского государственного университета имени А. Байтурсынова. А так же исследовательская работа выполнялась по обнаружению, идентификации и определению микотоксинов в комбикормах для птицы проводились в АО «КазАгрЭкс» г. Костанай, улица Дулатова 68 а.

В качестве объекта исследований использовались пробы комбикормов, отобранные на птицеводческих предприятиях: ТОО "Жас - Канат 2006 " г. Рудный, ТОО "Бройлерная птицефабрика Жас - Канат" г. Костанай, АО «Север Птица», п. Дружба. Были отобраны средние пробы по двум направлениям яичного и мясного.

В работе использованы эпизоотологический, бактериологический, микологический методы диагностики.

Мониторинговые исследования по обнаружению микотоксинов в комбикормах были выполнены с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии и микологического анализа.

В ходе испытаний было проанализировано 9 вида комбикорма на содержание дезоксиниваленон, зеараленон, охратоксин А, Т2- токсин, афлатоксин В₁. А также были проведены исследование на соответствие отобранных проб с техническим регламентом "Требования к безопасности кормов и кормовых добавок".

Результаты исследований.

Анализ отчетной документации.

Для определения видового состава и степени поражения кормов в хозяйствах Костанайской области проведен анализ отчетной документации КОФ РГП на праве хозяйственного ведения «Республиканская ветеринарная лаборатория» Комитета ветеринарного контроля и надзора Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан, город Костанай, за 2013 - 2015 гг.

В результате анализа отчетной документации областной ветеринарной лаборатории, установлено, что в направленных образцах для исследования содержали плесневой грибок - *Aspergillus fumigatus*.

Определение влажности комбикормов.

Определение влаги проводили в соответствии с ГОСТ 13496.3-92 (ИСО 6496-83) Комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения влаги.

Метод определения влаги высушиванием навески при 130 °С. За результат определения влаги принимали среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, которые вычисляли до второго десятичного знака и округляли до десятых долей процента.

Таблица 1 – Содержание влаги комбикорма

№	Наименование	Нормы по НД	Фактические значения, %	Превышение нормы, раз
1	ТОО "Жас - Канат 2006 ",	13,0%	12,3	-
2	ТОО "Бройлерная птицефабрика Жас-Канат"		15,7	1,2
3	АО "Север-птица",		17,5	1,3

Комбикорм, изготавливаемый ТОО "Жас - Канат 2006 ", г. Рудный среднее арифметическое содержание влаги составило 12,3%.

Комбикорм, изготавливаемый ТОО "Бройлерная птицефабрика Жас-Канат", г. Костанай, среднее арифметическое содержание влаги составило 15,7 %.

Комбикорм, изготавливаемый АО "Север-птица", г. Костанай, среднее арифметическое содержание влаги составило 17,5 %.

Результаты анализа комбикормов свидетельствуют о увеличении содержание влаги в среднем на 0,8 %, что способствует развитию плесени.

Выделения микроскопических грибов.

Микотоксилогическое испытание проводили по ГОСТ 13496.6-71 Комбикорм. Метод выделения микроскопических грибов. Для первичного выделения и идентификации различных групп грибов применяли определенные дифференциально-диагностические среды: для аспергиллов и пенициллов – агар Чапека и мальц-агар, для муковых грибов - сусловой агар, для фузариев - сусловой агар и среда Билай. Культивировали посеvy при 22 - 25°. Сроки культивирования были различны, в зависимости от рода и вида гриба, до образования характерного спороношения.

После окончания культивирования проводили макро- и микроскопическое исследование культур.

Определение содержания микотоксинов в комбикормах методом высокоэффективного жидкостного хроматографа.

Испытание проб проводили по методическим указаниям предназначены для лабораторий санитарно-эпидемиологических станций и НИИ гигиенического профиля при контроле за загрязнением зерна и зернопродуктов.

Обнаружение и количественное определение микотоксинов с помощью ВЭЖХ. После проведения градуировки хроматографического оборудования, с помощью растворов, экстракты комбикормов вводили микрошприцем в петлю хроматографа и наблюдали результаты исследований комбикормов на хроматограмме (в соответствии с приложением А). Для каждого вида комбикорма: «ПК-0», «ПК-2», «ПК1-1», «ПК-4», «Старт», «Рост», «Финиш» было проведено двукратное испытание полученных экстрактов и выявлены среднеарифметические показатели зараженности комбикормов микотоксинами (Таблица 2).

Таблица 2 - Концентрация микотоксинов в различных видах комбикорма

Наименование предприятий	Вид корма	Афлатоксин, мг/кг	ДОН мг/кг	Зеараленон, мг/кг	Охратоксин, мг/кг	Т-2 токсин, мг/кг
ТОО «Жас-Канат 2006»	ПК -0	0,003	1,39	2,0	х	0,71
	ПК-2	х	2,21	1,04	х	1,53
	ПК 1-1	х	2,5	2,0	х	х
	ПК -4	0,006	х	1,28	0,01	1,47
ТОО «Бройлерная птицефабрика Жас-Канат»	«Старт»	0,002	0,33	2,3	х	х
	«Рост»	0,009	х	1,05	х	1,91
	«Финиш»	0,007	х	5,11	0,006	0,93
АО «Север Птица»	ПК 1-1	0,006	0,41	2,21	х	0,61
	ПК -4	0,007	0,27	7,14	0,007	1,1 1

Значение "х" показывает, что исследования на данный вид токсина не проводились.

Изучение средних концентраций микотоксинов в различных комбикормах обнаружило превышений ПДК, некоторые виды комбикорма отличались более высоким содержанием микотоксинов

Испытуемые пробы комбикормов были поражены охратоксином, зеараленоном, Т-2 токсином, фуманизином, ДОН и афлатоксином. Было поражено охратоксином – 33,3 % проб, Т-2 токсином – 77,7 % проб, зеараленоном - 100 %, афлатоксином - 77,7 % и ДОН — 66,6 % проб. В результате полученных данных, можно сделать вывод о том, что процент контаминации микотоксинами достаточно большой.

Каждый вид комбикорма был поражен от 1 до 5 видов микотоксинов. Исходя из полученных данных, была составлена сводная таблица по превышению МДУ микотоксинов в исследуемых пробах (Таблица 3).

Таблица 3 - Уровни накопления микотоксинов в пробах

Микотоксины	МДУ, мг/кг	Уровни накопления, мг/кг	Превышение МДУ, раз
Охратоксин	0,005	0,006-0,01	2,0
Афлатоксин	0,005	0,002-0,009	1,8
Зеараленон	1,0	1,04-7,14	7,14
ДОН	0,7	0,27-2,27	3,2
Т-2 токсин	0,1	0,61-1,91	2,7

Анализ частот встречаемости превышений МДУ, показывает исключительно высокий процент превышения МДУ по зеараленону, дезоксиниваленолу и Т-2 токсину.

На сегодняшний день известно, что около 500 видов микроскопических грибов, которые выделяют токсичные метаболиты. Микотоксины имеют иммунодепрессивными, канцерогенными, мутагенными, аллергенными и тератогенными свойствами [3].

В организме людей и животных токсичные метаболиты плесневых грибов могут метаболизироваться до более опасных и токсичных производных [4].

По статистике Управления по продовольствию и сельскому хозяйству ООН 25 % мирового урожая зерновых ежегодно поражаются микотоксинами [5].

Микотоксины наносят огромный экономический вред животноводству и птицеводству во всем мире. Рост плесневых грибов снижает питательную ценность корма, ухудшая его потребление, что приводит к падению продуктивности животных [6].

Экономический ущерб, наносимый сельскому хозяйству микотоксинами, определяется потерями продуктов питания и резким снижением их пищевой ценности, затратами необходимыми на организацию системы контроля качества и проведение детоксикации загрязненных кормов кормового сырья.

При проведении санитарно-микологического исследования комбикормов, было установлено, что в 2014 г. в поступивших комбикормах, преобладали такие роды грибов как: 2014 г. *Aspergillus* sp. - 27,0 %, *Mucor* sp. - 13,9 %, *Penicillium* sp. - 5,4 %, *Fusarium* sp. - 2,7 %, с 2014 г. по май 2015 г. В пробах преобладали грибы рода *Fusarium* sp. - 29,7 % *Mucor* sp. - 26 %, *Aspergillus flavus* - 7,7 %, *Aspergillus fumigatus* - 6,5 %, и *Penicillium* sp. - 1,3 %.

В большинстве случаев выделяли ассоциации плесневых грибов (от 2 до 4 видов), из них чаще встречались *F. graminearum*, *F. poae.*, *Mucor* sp., *Asp. flavus*, *Penicillium* sp., *Asp. sclerotiorum*.

Пораженность микотоксинами комбикормов составила очень высокий уровень. Испытуемые пробы комбикормов были поражены охратоксином - 33,3 % проб, Т-2 токсином - 77,7 % проб, зеараленоном - 100 % проб, афлатоксином - 77,7 % проб, и ДОН - 66,6 % проб.

Были выделены микотоксины с уровнями накопления: Т-2 от 0,61 до 1,91 мг/кг (превышение МДУ в 2,7 раза); охратоксин от 0,006 до 0,01 мг/кг (превышение МДУ в 2,0 раза); зеараленон от 1,04 до 7,14 мг/кг (МДУ в 7,14 раза); афлатоксин от 0,002 до 0,009 мг/кг (МДУ в 1,8 раза) и ДОН от 0,27 до 2,27 мг/кг (МДУ в 3,2 раз). Доминирующим среди сочетания различных микотоксинов в пробах стали Т-2 токсин, зеараленон и дезоксиниваленол, с значительным превышением МДУ.

В соответствии с системой Анализа опасности и критических контрольных точек (НАССР), путем идентификации и оценки риска, обусловленного наличием микотоксинов, в процессе производства и потребления зерна и комбикормов было выделено 7 критических контрольных точек, на которых необходимо предпринимать меры для предотвращения контаминации: 1 - состояние и качество семян, 2 - качество обработки почвы, 3 - период прорастания, 4 - уборка урожая, 5 - период после уборки урожая, 6 - хранение и 7 - переработка. Для того чтобы избежать загрязнения зерна и кормов микотоксинами, необходимо тщательно придерживаться технологических норм в первых шести критических контрольных точках.

Казахстану нужна система организации контроля, специализированные центры, куда сельхозпроизводители могли бы обратиться. Важно и обучение специалистов, потому что прогресс

не стоит на месте, и в последние годы исследователи узнали много нового как о самих токсинопродуцирующих грибах, так и о методах анализа их вредоносности [4].

Постоянный контроль сырья и готовых комбикормов дает возможность предотвратить сложные последствия микотоксикозов для птицеводства, поэтому во всем мире разрабатываются нормативы допустимого содержания микотоксинов – в каждой стране в зависимости от уровня чистоты кормов, который они могут поддерживать, и способности специалистов достоверно обнаруживать те или иные виды микотоксинов.

В Казахстане есть ГОСТы, ПДК, но у нас, как известно, строгость законов компенсируется необязательностью их соблюдения: нормы есть, но нет четкой системы их соблюдения. Кроме того, поскольку микроскопические грибы образуют значительно больший спектр вторичных метаболитов, чем нормируется, то сертифицированный и чистый комбикорм может оказаться токсичным.

Литература:

1. Нуралиев Е.Р., Кочиш И.И. Микотоксикозы в птицеводстве // Научно - производственный журнал птицеводство. — 2014. - №4.-С. 25-28.
2. Авреньева Л.И., Соболев В.С., Кравченко Л.В., Тутельян В.А. Микоток-сины в кормах. // Гигиена и санитария. 1983. - № 2. - С. 27-28.
3. Левицкая А.Б., Авреньева Л.И., Тутельян В.А. Микотоксины в кормах: Вопр. питан. М.; - 1985. - № 3. - С 8-10.
4. Обремский К. Ztaralenone and deoxynivalenolmycotoxicosis // Polish journal of veterinary sciences.-2012.-№2.-с365-373
5. Трemasов М.Я., Сергейчев А.И., Титова В.Ю. и др. Микотоксикологический анализ проб кормов // Диагностика, профилактика и терапия незаразных болезней животных. Казань, 1996. - С. 47-49.
6. Croubels S. Влияние микотоксин на организм птиц // Международная ассоциация ветеринарных специалистов по болезням птиц(WVPA).-2013.№3.-с. 75-84.

References:

1. Nuraliev E.R., Kochish I.I. Mikotoksikozy vpticevodstve // Nauchno - proizvodstvennyj zhurnalpticevodstvo. — 2014. - №4.-S. 25-28.
2. Avren'eva L.I., Sobolev V.C., Kravchenko L.V., Tutel'jan V.A. Mikotok-sinyv kormah. // Gigenaisanitarija. 1983. - № 2. - S. 27-28.
3. Levickaja A.B., Avren'eva L.I., Tutel'jan V.A. Mikotoksinyv kormah: Vopr. pitan. M.; -1985.- № 3. - S 8-10.
4. Obremskij K. Ztaralenone and deoxynivalenolmycotoxicosis//Polish journal of veterinary sciences.-2012.-№2.-s365-373
5. Tremasov M.Ja., Sergejchev A.I., Titova V.Ju. i dr. Mikotoksikologicheskij analiz prob kormov // Diagnostika, profilaktika i terapijanezaraznyhboleznejzhivotnyh. Kazan', 1996. - S. 47-49.
6. Croubels S. Vlijaniemikotoksinnaorganizmptic // Mezhdunarlnajaassociacijaveterinarnyhspetsialistovpoboleznjampitic(WVPA).-2013.№3.-s. 75-84.

Сведения об авторах

Орынтаева Макпал Джанкельдиновна – магистр ветеринарных наук, преподаватель кафедры ветеринарной санитарии, Костанайский государственный университет имени А.Байтұрсынова. г.Костанай ул. Воинов – Интернационалистов 2 А, тел 87754353939; e-mail: makposya88@mail.ru

Жармагамбетов А.Т. - магистр ветеринарных наук, научный сотрудник Костанайская Научно-исследовательская Ветеринарная станция филиал ТОО «КазНИВИ». г.Костанай ул. Герцена 12, azamat9786@mail.ru

Каубжанов А. - магистрант, Костанайский государственный университет имени А.Байтұрсынова, г. Костанай

Орынтаева М. Д. – ветеринария ғылымының магистрі, ветеринариялық санитария кафедрасының оқытушысы, А. Байтұрсынов атындағы Қостанай мемлекеттік университеті

Жармагамбетов А. Т. - ветеринария ғылымының магистрі, ғылыми қызметкер, Қостанай Ғылыми - зерттеу Ветеринария станциясы "ЖШС филиалы-ғылыми-зерттеу ветеринариялық институты"

Каибжанов А. – магистрант, А. Байтұрсынов атындағы Қостанай мемлекеттік университеті

Oryntayeva Makpal Dzhankeldinovna – the master of veterinary sciences, the teacher of professorial chair of a veterinary sanitation, Kostanay State university of A. Baytursynov. Kostanay Voinov St. – Internationalists 2 A, telephone 87754353939; e-mail: makposya88@mail.ru

Zharmagambetov A.T. - master of veterinary sciences, research associate, Kostanay scientific-research Veterinary station, branch of "KAZSRVI" LLP. Kostanay Herzen St. 12, azamat9786@mail.ru

Kaibzhanov A - the magistrand, Kostanay state university of A. Baytursynov. Kostanay city