

ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОРМОВОГО КОМПЛЕКСА ПЕНТАГАРД *IN VITRO*, ПРЕДНАЗНАЧЕННОГО ДЛЯ СОРБЦИИ И ДЕЗАКТИВАЦИИ МИКОТОКСИНОВ

Резюме. В статье рассматриваются свойства кормового комплекса Пентагард, состоящего из комбинации минеральных сорбентов и живых пробиотических бактерий рода *Bacillus*, способных к биодеструкции микотоксинов. Установлено, что благодаря системному механизму действия Пентагард эффективно сорбирует афлатоксин B1, зеараленон и охратоксин A, а также путем биодеградации количественно детоксицирует дезоксиниваленол и T-2 токсин, тем самым минимизируя потенциальное воздействие микотоксинов на здоровье животных. Оценка способности препарата связывать и разрушать микотоксины является важным шагом в разработке безопасных и экономически эффективных решений для животноводства.

Ключевые слова: Пентагард, кормовые комплексы, микотоксины, сорбция, биодеградация, *Bacillus* spp.

EFFICIENCY OF THE PENTAGARD FEED COMPLEX *IN VITRO*, INTENDED FOR SORPTION AND DEACTIVATION OF MYCOTOXINS

Abstract. This article explores the properties of the complex feed additive Pentaguard, which consists of a combination of mineral sorbents and viable selected cells of *Bacillus* spp. bacteria. These bacteria are highly effective mycotoxin biodegraders and possess probiotic properties. Due to its complex mechanism of action, Pentaguard efficiently sorbs aflatoxin B1, zearalenone, and ochratoxin A, while also quantitatively detoxifying deoxynivalenol and T-2 toxin through biodegradation. This minimizes the potential impact of mycotoxins on livestock health. Evaluating the ability of this additive to bind and degrade mycotoxins is a crucial step in developing safe and cost-effective solutions for livestock farming.

Key words: Pentaguard, feed additives, mycotoxins, sorption, biodegradation, *Bacillus* spp.

ВВЕДЕНИЕ

Микотоксины, образуемые некоторыми представителями микромицетов, являются наиболее опасными загрязнителями сельскохозяйственного сырья и пищевых продуктов. В связи с потенциально высоким риском для здоровья человека, животных и птицы особый научный интерес представляют три широко распространенных микотоксина: дезоксиниваленол (ДОН), фумонизин и зеараленон. Их присутствие в кормах особенно опасно для молодняка животных и птицы. Например, для телят в возрасте до шести месяцев, чей рубец еще не сформирован и малоактивен, микотоксины могут стать одной из причин падежа. Кроме того, указанные соединения способны переходить

УДК 60:636.085

Научная статья

DOI 10.69539/2413-287X-2025-05-4-240

ВЛАДИМИР АЛЕКСЕЕВИЧ ЦЫГАНОВ^{1,2},

аспирант кафедры «Биотехнологии и технологии продуктов биоорганического синтеза»
ФГБОУ ВО РОСБИОТЕХ,
инженер-исследователь ООО «Иннагро»
E-mail: ts_wladimir@inbox.ru

ЕЛЕНА ВИКТОРОВНА ГЛАГОЛЕВА²,

заместитель руководителя биотехнологического
направления
E-mail: glagolevaev@mail.ru

ВАХТАНГ ВИТАЛЬЕВИЧ ДЖАВАХИЯ^{1,2},

кандидат биологических наук, директор НПЦ
«Индустриальные биотехнологии»
ФГБОУ ВО РОСБИОТЕХ,
генеральный директор ООО «Иннагро»
E-mail: vahoru@mail.ru

АЛЕКСАНДР АЛЕКСАНДРОВИЧ КОЛПАКОВ³,

технолог по свиноводству
E-mail: akolpakov@kmkorma.ru

¹ФГБОУ ВО РОСБИОТЕХ

125080, г. Москва, Волоколамское шоссе, д. 11

²ООО «Иннагро»

119311, г. Москва, Цветной б-р, д. 30, стр. 1

³ООО «Коудайс МКорма»

108803, г. Москва, пос. Сосенское, деревня Летово, д. 5Д

Поступила в редакцию: 07.04.2025

Одобрена после рецензирования: 21.04.2025

Принята в публикацию: 22.04.2025

UDC 60:636.085

Research article

DOI 10.69539/2413-287X-2025-05-4-240

VLADIMIR A. TSYGANOV^{1,2},

Graduate student of Department of Biotechnology and Bioorganic Synthesis Russian Biotechnology University (Rosbiotech),
Research Engineer of LLC «Innagro»
E-mail: ts_wladimir@inbox.ru

ELENA V. GLAGOLEVA²,

Deputy Head of Biotechnology Department
E-mail: glagolevaev@mail.ru

VAKHTANG V. DZHAVAKHIYA^{1,2},

PhD, Director of R&D Center «Industrial Biotechnologies», General Director of LLC «Innagro»
E-mail: vahoru@mail.ru

ALEXANDER A. KOLPAKOV³

Technologist in Pig Breeding
E-mail: akolpakov@kmkorma.ru

¹Russian Biotechnology University (Rosbiotech)

125080, Moscow, Volokolamskoe sh., 11

²LLC «Innagro»

119311, Moscow, Tsvetnoy b-r, 30, build. 1

³LLC «Koudaijs MKorma»

108803, Moscow, pos. Sosenskoye, Letovo village, 5D

Received by editor office: 04.07.2025

Approved in revised: 04.21.2025

Accepted for publication: 04.22.2025

в продукцию животноводства и птицеводства, что представляет значительную угрозу для здоровья человека.

Одним из решений, направленных на снижение негативного воздействия микотоксинов, может быть использование кормовых добавок на основе разнообразных сорбентов, включающих цеолиты, бентониты, алюмосиликаты, диоксид кремния, компоненты дрожжевых стенок. Однако многие препараты обладают высокой гидрофильтностью и, следовательно, низкой сорбционной емкостью по отношению к гидрофобным веществам. А, как известно, микотоксины относятся к соединениям с весьма высокой гидрофобностью (плохо растворимы в воде).

Лидером среди минеральных природных сорбентов является бентонит, к недостаткам которого можно отнести способность к десорбции токсинов при слабощелочных значениях pH (нижние отделы кишечника), при этом не происходит детоксикации токсинов. Сорбция разных токсинов на бентоните относительно невысокая и определяется как химическими свойствами микотоксинов, так и алюмосиликатным каркасом самого бентонита.

Биометоды считаются многообещающими способами детоксикации, поскольку они экологически чистые, требуют мягких условий реакции, показывают высокую специфичность, селективность и эффективность. Эти методы полагаются в основном на адсорбцию ДОН на клеточных стенках микроорганизмов или на разложение его микробными ферментами. В процессе такой биотрансформации образуются нетоксичные и безопасные метаболиты.

Различные микроорганизмы, такие как бактерии, грибы, актиномицеты и водоросли, способны разрушать и адсорбировать микотоксины трихотецинового ряда, детоксифицируя корма. В частности, большим потенциалом в деструкции трихотецинов обладают различные штаммы *Bacillus* spp. Например, деградация дезоксиниваленола после культивирования в среде, содержащей данный микотоксин, штаммами *B. subtilis* ZZ и *B. licheniformis* DY составила более 98% и 72,2%, соответственно [5]. *B. subtilis* NHIBC006D способен детоксифицировать до 73,5% этого микотоксина [7].

Также в качестве деактивирующих агентов применяются непосредственно ферменты, вырабатываемые некоторыми микроорганизмами. Так, необходимую активность в отношении микотоксинов проявляют протеаза А, панкреатин, эпоксидаза, афлатоксин-детоксизим, лактоногидролаза.

Учитывая актуальность разработки комплексных кормовых добавок, сочетающих различные механизмы детоксикации микотоксинов, была поставлена цель оценить эффективность нового кормового комплекса Пентагард по сорбции и биодеградации микотоксинов *in vitro*. Препарат разработан специалистами «Коудайс МКорма» совместно с учеными компании «Иннагро». В качестве действующего вещества содержит сухую сбалансированную смесь диатомита, бентонита, инактивированные стенки дрожжей

Saccharomyces cerevisiae, экстракт солодки и комбинацию жизнеспособных клеток спорообразующих бактерий рода *Bacillus*.

Минеральные компоненты смеси обладают высокой сорбционной способностью в отношении афлатоксина, энтеротоксинов и тяжелых металлов. Усиливают рост кишечных ворсинок при длительном использовании, обладают гемостатическими свойствами и противогельминтной активностью.

Инактивированные стенки дрожжей *S. cerevisiae* потенцируют действие минеральной основы, обладают высокой избирательной сорбцией в отношении зеараленона и охротоксина, обладают пребиотическими свойствами.

Согласно литературным данным метаболиты живых бактерий позволяют биотрансформировать несорбируемые микотоксины, такие как трихотецины (Т-2 токсин, ДОН), сразу после потребления кормового комплекса. Добавление производителей этих метаболитов пролонгирует их действие на весь период прохождения кормового кома по ЖКТ, а также снижает бактериальную нагрузку на организм за счет пребиотического эффекта [1, 2].

Экстракт солодки содержит глицирризин, глицирризиновую кислоту и ее соли, обладающие мощным гепатопротекторным действием, сильной антиоксидантной активностью, что позволяет снизить общую токсическую нагрузку на печень и стимулировать барьерную функцию кишечника.

Исходя из этого, можно предположить, что Пентагард будет обладать комплексным действием по отношению к токсинам различной этиологии, снижать токсическую нагрузку на организм животного и стимулировать защитные функции организма за счет входящих в его состав биологически активных веществ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследований являлся кормовой комплекс Пентагард, предназначенный для сорбции и деградации микотоксинов.

Методика изучения сорбционной емкости

Сорбционную емкость препарата Пентагард определяли по ранее описанным методикам [3, 9]. В исследование включали навеску массой 20 мг, что соответствует содержанию кормового комплекса в 10 г корма (дозировка 2 кг препарата на 1 т корма). Для испытаний использовали рабочие растворы микотоксинов объемом 10 мл с концентрациями, соответствующими ПДК микотоксина в 10 г корма, согласно ТР ТС 015/2011 «О безопасности зерна». Их готовили из стандартных растворов микотоксинов в метаноле с высокой концентрацией путем разбавления до рабочей концентрации в растворе соляной кислоты (pH 2). Для приготовления стандартных и рабочих растворов микотоксинов использовались коммерчески доступные аналитические стандарты (производство

ООО «НПК Эврика»): афлатоксин B1 (99,7%), зеараленон (99,3%), дезоксиваленол (99,5%), охратоксин A (99,5%), T-2 токсин (98,8%).

Пробирки с навесками испытуемого препарата помещали в орбитальный шейкер-инкубатор (250 об./мин) при температуре 40°C на 60 мин для имитации условий желудка. После центрифугирования (не менее 4000 об./мин, 10 мин) отбирали аликвоту супернатанта для количественной оценки содержания микотоксина. По отношению его концентрации после адсорбции (c_a) к начальной концентрации (c_0) вычисляли величину адсорбции (A). Остатки кислого супернатанта сливали с осадка испытуемого препарата досуха, после чего добавляли в центрифужную пробирку 10 мл фосфатного буфера с показателем pH 8 и помещали в орбитальный шейкер-инкубатор (250 об./мин) при температуре 40°C на 60 мин для имитации десорбции микотоксина в слабощелочных условиях кишечника. После центрифугирования (не менее 4000 об./мин, 10 мин) отбирали аликвоту супернатанта для количественной оценки содержания микотоксина. Отношение его концентрации после десорбции (c_d) к концентрации адсорбированного токсина ($c_0 - c_a$) соответствует величине десорбции (D).

Опыты были проведены в пяти повторностях для каждого микотоксина.

Количественная оценка процессов адсорбции/десорбции

Количественную оценку содержания микотоксина в рабочих растворах после процессов адсорбции и десорбции осуществляли посредством метода обращенно-фазовой ВЭЖХ с УФ-спектрометрическим детектированием. Условия хроматографического анализа указаны в таблице 1.

Исходя из данных ВЭЖХ-анализа, рассчитывали по формуле величину адсорбции микотоксина (A):

$$A = \left(1 - \frac{c_a}{c_0}\right) \cdot 100\% \quad (1),$$

где c_a — концентрация микотоксина в рабочем растворе в результате процесса адсорбции, мкг/мл, измеряемая хроматографически;

c_0 — начальная концентрация микотоксина в рабочем растворе, мкг/мл;

величину десорбции афлатоксина B1 (D):

$$D = \frac{c_d}{c_0 - c_a} \cdot 100\% \quad (2),$$

где c_d — концентрация микотоксина в рабочем растворе в результате процесса десорбции, мкг/мл, измеряемая хроматографически.

Сорбционную емкость препарата (CE) рассчитывали по формуле:

$$CE = \frac{(c_0 - c_a) - c_d}{c_0} \cdot 100\% \quad (3).$$

Значения адсорбции, десорбции и сорбционной емкости вычисляли как среднее арифметическое из пяти повторностей.

Методика изучения биодеградации

Для определения глубины биодеградации микотоксинов использовали методику [4]. Для этого навеску готового препарата массой 20 мг помещали в стерильный буферный раствор с pH = 4,5. Далее вносили стандартный раствор микотоксина в метаноле до достижения концентрации, равной ПДК на 1 кг среды, согласно ТР ТС 015/2011 и отбирали пробу, соответствующую начальной точке биодеградации. Колбы помещали в орбитальный шейкер-инкубатор (250 об./мин) и термостатировали при температуре 40°C в течение заданного времени. Затем отбирали пробы через 12, 24, 30 и 48 ч после начала экспозиции. Их центрифугировали при 4000 об./мин в течение 10 мин. Полученный рабочий супернатант сливали с осадка и использовали для количественной оценки глубины биодеградации.

Опыты были проведены в пяти повторностях для каждого микотоксина.

Количественная оценка

процесса биодеградации микотоксинов

Дезоксиваленол. Рабочий супернатант лиофилизировали, сублимат экстрагировали хлороформом (1:1). Аликвоту органического слоя отбирали, растворитель упаривали досуха, после чего пробу концентрировали в 20 раз, перерасторняя в смеси метанол — 0,1 мМ раствор HCl, и определяли содержание микотоксина методом обращенно-фазовой ВЭЖХ с УФ-спектрофотометрическим детектированием. По разности концентраций микотоксина в начальной и исследуемой точках судили о глубине процесса биодеградации, аналогично формуле (1). Условия ВЭЖХ-анализа для дезоксиваленола аналогичны условиям, приведенным в таблице 1.

T-2 токсин. Рабочий супернатант лиофилизировали, сублимат подвергался дальнейшему анализу. Для изучения глубины биодеградации T-2 токсина использовали метод стандартного конкурентного иммуноферментного анализа по технологии Randox Biochip Array. Определение было выполнено ООО «Шанс Био». По разности концентраций микотоксина в начальной и исследуемой точках судили о глубине процесса биодеградации, аналогично формуле (1).

Глубина биодеградации вычисляется как среднее арифметическое из пяти повторностей.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Данные об адсорбции, десорбции и сорбционной емкости препарата Пентагард в отношении исследуемых микотоксинов приведены в таблице 2. Они свидетельствуют, что Пентагард обладает высокой сорбционной емкостью по афлатоксину B1, зеараленону и охратоксину A.

Таблица 1. Условия хроматографического анализа процессов адсорбции и десорбции

Микотоксин	Афлатоксин В1	ДОН	Зеараленон	Охратоксин А	T-2 токсин
Методика выполнения измерений	ФР.1.31.2008.04629	ФР.1.31.2008.04631	ФР.1.31.2008.04630	ФР.1.31.2012.13727	[6]
Хроматографическая система	Waters 1525 Binary HPLC pump / Waters 2487 Dual λ. Absorbance Detector				
Колонка	Диасфер-110-C18; 5 мкм; 4,6x250 мм				
Неподвижная фаза	Органо-силикагель C18 с TMS-эндкеппингом типа ядро-оболочка				
Подвижная фаза	Ацетонитрил-метанол-вода (24:24:52)	20 мМ K ₂ PO ₄ -ацетонитрил (90:10)	ацетонитрил-метанол-вода (40:25:35)	20 мМ NH ₄ Cl (рН 9,6)-ацетонитрил (80:20)	Метанол-вода (55:45)
Длина волны, нм	265	222	235	215	208
Температура, °С	30	50	30	25	30
Скорость потока, мл/мин	1,0	0,9	1,0	0,75	1,0
Режим элюирования	Изократический				

Таблица 2. Результаты исследования адсорбции, десорбции и сорбционной емкости препарата Пентагард

Показатель	Афлатоксин В1	ДОН	Зеараленон	Охратоксин А	T-2 токсин
Адсорбция при pH 2, %	98,0	19,3	98,0	100,0	9,7
Десорбция при pH 8, %	0	7,5	3,1	1,2	72,2
Сорбционная емкость, %	98,0	17,8	95,0	98,8	2,7

Литература

- Гулюшин, С. Пробиотики при микотоксикозах: энзимы — главный критерий / С. Гулюшин, Е. Елизарова, А. Долгорукова // Комбикорма. — 2018. — №12. — С. 40–45.
- Патент RU 2491942 С1, МПК A23K 10/00, A23C 9/00. Способ уменьшения токсичности микотоксинов в кормах для животных / Патентообладатель: Всероссийский научно-исследовательский институт кормов; заявитель: ООО «НПО "ЛУКОЙЛ-ЗОРКИН"». — № 2012148723/10; заявл. 29.05.2012; опубл. 27.12.2013.
- Шевяков, А. Н. Метод скрининга кормовых добавок по их способности сорбировать микотоксины *in vitro* / А. Н. Шевяков, Н. Н. Гогина // Комбикорма. — 2023. — № 11. — С. 49–52.
- Alberts, J. F. Detoxification of mycotoxins by actinomycetes: A review / J. F. Alberts, Y. Engelbrecht, P. S. Steyn, W. H. Holzapfel, W. H. Van Zyl // International Journal of Food Microbiology. — 2006. — Т. 109. — № 1–2. — 121–126 pp.
- Cheng, B. Detoxification of Deoxynivalenol by bacillus strains / B. Cheng, C. Wan, S. Yang, H. Xu, H. U. A. Wei, J. Liu [et al.] // Journal of Food Safety. — 2010. — Т. 30. — 599–614 pp.
- Omurtag, G. Z. Determination of T-2 toxin in grain and grain products by HPLC and TLC / G. Z. Omurtag, D. Yazicioğlu // Journal of Environmental Science & Health. — Part B. — 2000. — Т. 35. — №. 6. — 797–807 pp.
- Tan, J. Identification of a *Bacillus subtilis* strain with deoxynivalenol degradation ability / J. Tan, S. Yang, S. U. Hui-Bo, W. U. Yan-Dong, Y. Tong // Contemporary Chemical Industry. — 2018. — Т. 47. — 547–551 pp.
- Zybura, A. The efficiency of mycotoxin binding by sorbents in the *in vitro* model using a naturally contaminated animal feed / A. Zybura, P. Jedziniak // Journal of Veterinary Research. — 2024. — Т. 68. — № 2. — P. 233.

В то же время препарат не способен в полной мере детоксифицировать через адсорбционные механизмы токсины трихотеценового ряда — дезоксиваленол и T-2 токсин.

Учитывая комбинированный состав препарата, включающий не только минеральную, но и биологическую составляющую, обеспечивающую альтернативные пути детоксификации, дополнительно была изучена способность к биодеградации неудовлетворительно сорбируемых микотоксинов.

Из ряда штаммов бактерий, относящихся к роду *Bacillus*, методом быстрого скрининга на чашках Петри (данные не приводятся) были отобраны наиболее перспективные, проявившие наибольшую жизнеспособность на агаризованной среде, содержащей T-2 токсин и ДОН в концентрациях, равных предельно допустимым согласно ТР ТС 015/2011. Отобранные штаммы-претенденты предварительно были испытаны в опытах на биодеградацию данных микотоксинов. После установления способности отобранных штаммов *Bacillus* spp. к количественной биодеструкции трихотеценов проводились дополнительные исследования, направленные на изучение биодеградирующей активности препарата Пентагард с целью оценки его эффективности в условиях комплексного воздействия.

На рисунке представлена динамика биодеградации T-2 токсина и ДОН препаратом Пентагард в течение 48 ч, в таблице 3 — значения глубины деструкции на различных этапах экспозиции: 12, 24, 30 и 48 ч.

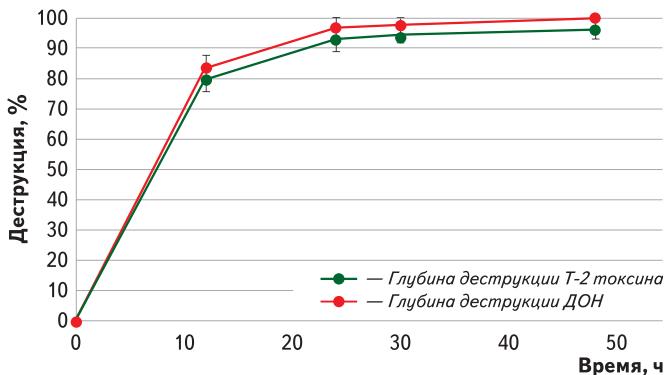


Таблица 3. Глубина биодеструкции Т-2 токсина и ДОН препаратом Пентагард, %

Микотоксин	Время экспозиции, ч			
	12	24	30	48
Т-2 токсин	79,5	92,7	94,4	95,9
ДОН	83,2	96,5	97,4	99,4

ВЫВОДЫ

Результаты исследования показали высокую эффективность кормового комплекса Пентагард в сорбции микотоксинов, включая афлатоксин B1, зеараленон и охратоксин A, с надежным связыванием и предотвращением десорбции в ЖКТ. Эксперименты по биодеградации свидетельствуют, что комбинация минеральных сорбентов и бактерий рода *Bacillus* эффективно разлагает трихотециены с деструкцией Т-2 токсина и ДОН на 79,5% и 83,2% через 12 ч и на 95,9% и 99,4% через 48 ч. Пентагард демонстрирует комплексное воздействие, при



*Динамика биодеструкции Т-2 токсина и ДОН
препаратором Пентагард*

котором минеральная и биологическая составляющие дополняют друг друга, усиливая общий эффект детоксикации, и является перспективным средством защиты животных от микотоксинов с потенциалом для дальнейших исследований и оптимизации состава. ■