

ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ И ПРАКТИКА ПРИМЕНЕНИЯ АДСОРБЕНТОВ МИКОТОКСИНОВ



П.-Н. КОЛЛЕН, Э. ДЁМЭ, доктора наук,

В. КРЮКОВ, д-р биол. наук, **В. КУЗЬМИН**, д-р вет. наук, **В. ТАРАСЕНКО**, канд. хим. наук, компания Olmix

На рынке кормовых добавок предлагают несколько десятков адсорбентов микотоксинов (МТ). Одни из них появились давно и о них, вероятно, забыли, а другие были созданы в последнее время. Не всегда самые последние лучше предыдущих — их эффективность зависит от профессионализма разработчиков, а распространение — в значительной мере от маркетинговой политики. В настоящей статье дана общая информация о развитии производства адсорбентов, что поможет практикам сориентироваться при выборе подходящего адсорбента. В рекламных проспектах обычно приводят оценку эффективности адсорбентов по важнейшим параметрам, определяемых, как правило, лабораторными методами, не способными дать им объективную характеристику (В. Крюков, ж. «Комбикорма» №9, 2014). Рекомендации по применению адсорбентов, которые дают без учета конкретной ситуации у потребителя, нередко компрометируют не только предлагаемые препараты, но и саму идею применения адсорбентов.

В научных исследованиях при разработке новых кормовых добавок исследователи четко определяют цель работы и условия проведения испытаний, поэтому их эффективность обусловлена определенными рамками. Изучая действие МТ на животных, исследователи используют корм, в котором путем добавок создают заданное количество токсинов. При оценке результатов особое внимание надо обращать на их источники в кормах. Принципиально их может быть два. Первый — это чистые кристаллические микотоксины, которые также используют в опытах при установлении МДУ. В отчетах об испытаниях подробно описывают состав сырья, используемого для производства комбикорма, его технические параметры. В результате аналогичные опыты могут быть повторены другими исследователями и воспроизведены полученные результаты. Однако чистые микотоксины слишком дорогие и не всегда доступны, поэтому надежных данных о величинах МДУ для крупных животных установлено гораздо меньше, чем для птицы или молодняка свиней. Второй источник — корма, загрязненные МТ в естественных условиях или намеренно подвергнутые плесневению. Преимуществом этого варианта является то, что испытываемые корма загрязнены МТ естественным путем и ближе по свойствам к

реальной практике. Кроме того, этот источник дешевый, поэтому нет необходимости расходовать средства на приобретение дорогих чистых микотоксинов. Недостаток его связан с присутствием в эксперименте неконтролируемых факторов, которые существенно влияют на результаты и искажают возможность получения объективных выводов. Они не согласуются с результатами, полученными другими исследователями при испытании кормов с равными дозами чистых МТ, поскольку в таком источнике кроме токсинов, доступных для анализа, может содержаться неизвестное количество других МТ, определение которых не всегда возможно в реальной ситуации. Наиболее важным и всегда присутствующим фактором, «усиливающим» действие МТ, является то, что в кормах или сырье одновременно содержатся продукты незавершенного биосинтеза микотоксинов — предтоксины. Они тоже обладают токсичностью. В настоящее время не существует доступных методов контроля содержания предтоксинов в различных видах продуктов. Их доля и соотношение с обнаруженными МТ неизвестны, хотя и установлено их негативное действие. При сравнении степени влияния на животных равных доз очищенных микотоксинов и образовавшихся в корме естественным путем отмечается, что действие последних более пагубно, поскольку одновременно с ними в организм поступают сопутствующие токсичные вещества, содержание которых контролировать невозможно.

Результаты, полученные с использованием кормов, загрязненных МТ в естественных условиях, не могут быть подтверждены в повторных опытах даже одним и тем же исследователем, поскольку концентрация отдельных токсинов и соответственно их соотношение в каждом случае не повторяются. При использовании такого источника МТ неясно, насколько будет восстановлена продуктивность при применении адсорбентов, так как исключена возможность создания полноценной контрольной группы. Корм, приготовленный из аналогичных компонентов, не содержащих МТ, будет отличаться по параметрам питательности, так как при росте грибов изменяется его состав — уменьшается содержание витаминов и жира. Это необходимо учитывать научным работникам, которые планируют исследования и разрабатывают методики проведения экспериментов.



Адсорбенты при испытаниях на фоне разных источников МТ будут проявлять неодинаковую эффективность — обычно она ниже на фоне контаминации кормов в естественных условиях.

Вначале адсорбенты были разработаны для профилактики афлатоксикоза. В качестве первых адсорбентов микотоксинов испытывались активированный уголь и гидратированные алюмосиликаты, затем начали применять цеолиты, бентониты, диатомиты и другие минералы. Названные минералы входят в группу алюмосиликатов, но отличаются структурой. В природных условиях им сопутствуют различные примеси, которые могут составлять значительную долю, оказывая тем самым влияние на адсорбционные свойства добываемых минералов.

Низкая адсорбционная способность минеральных адсорбентов по отношению к трихотеценовым МТ стала поводом для поиска адсорбционных материалов среди органических веществ. Большую эффективность проявили хитозаны и глюкоманнаны, выделяемые из стенок клеток дрожжей. Последние оказались наиболее доступным продуктом как по технологии получения, так и в экономическом отношении. На рынке за короткий период времени появилось несколько адсорбентов на основе глюкоманнанов, имеющих разное коммерческое название. Однако отличия в химическом составе глюкоманнанов, полученных из разных штаммов дрожжей, незначительны, а разная эффективность производимых на их основе адсорбентов обусловлена особенностями применяемой технологии их выделения и в значительной мере — степенью очистки.

Изучение действия афлатоксина на животных облегчало то, что его количество, в отличие от других МТ, легко измерить с помощью спектрометрических или флюориметрических детекторов. Афлатоксин и продукты его метаболизма можно обнаружить в тканях, молоке и яйцах. Это позволяло изучать влияние различных адсорбентов на концентрацию афлатоксина в организме и на этом основании судить об их эффективности. Установили, что большинство минеральных адсорбентов *in vitro* связывают до 70–90% афлатоксина. Между результатами *in vitro* и *in vivo* наблюдалась хорошая корреляция. Результаты, полученные многими исследователями, в 80-е годы создавали оптимизм и предпосылки для предположений, что адсорбенты будут эффективно связывать и другие МТ.

Появившиеся на рынке кормовых добавок первые препараты, которые позиционировались как адсорбенты микотоксинов, изучали на фоне афлатоксикоза. Поскольку они были первыми, поэтому их можно отнести к **первому поколению**. При сложившейся в 60-е годы ситуации в социуме, обеспокоенном канцерогенностью афлатоксина, эти адсорбенты явились ответом науки на выявленную проблему, поскольку другие испытанные методы предупреждения афлатоксикоза оказались неэффективными.

По мере изучения новых видов МТ, установления их структуры и разработки методов анализа, стала на-

капливаться информация о том, что зерно поражается микотоксинами еще в поле в процессе роста растений и формирования урожая. В условиях поля большинство из известных МТ появляется в результате заражения растений грибами рода *Fusarium*, который характеризуется богатым видовым составом. Эти грибы продуцируют большую родственную группу трихотеценовых токсинов, включающую более 50 наименований, а также десятки других видов МТ. В практике еще не освоены доступные методы снижения токсинообразования на растениях в поле, поэтому МТ, продуцируемые полевыми грибами, относят к «данному» природой. При хранении зерно (и силос) поражается грибами родов *Aspergillus* и *Penicillium*, в результате образуются МТ, накопление которых связано с человеческим фактором, то есть упущениями при заготовке и хранении.

Изучение эффективности адсорбентов первого поколения показало, что они малоэффективны в отношении большинства МТ, продуцируемых грибами рода *Fusarium*. Вместе с тем донесение этой истины до практиков встретило серьезное препятствие со стороны продавцов адсорбентов — некоторые адсорбенты первого поколения, действительно, неплохо связывали фузариотоксины *in vitro*. Для практики проблема оказалась сложнее, чем для науки. Если микотоксикологи с пониманием восприняли этот факт, то производители адсорбентов не желали с этим мириться и для рекламы, расширения сбыта своей продукции находили «доводы» об эффективности адсорбентов в противодействии фузариотоксинам. В качестве доводов они использовали результаты исследований *in vitro*. Однако в обзоре, включающем около 150 ссылок на оригинальные работы и подготовленном ведущими микотоксикологами Европы по заданию Европейского агентства по продовольственной безопасности (EFSA), в 2009 г. был сформулирован четкий вывод о том, что результаты, полученные *in vitro*, не отражают закономерностей *in vivo* (Доступно: efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/22e.pdf). Поэтому их нельзя использовать в качестве доказательств эффективности тестируемых адсорбентов для профилактики МТ у животных.

Исследования *in vitro* проводят в закрытой системе, которая обычно представляет собой сосуд (пробирка, колба) с непроницаемыми стенками. В него помещают раствор микотоксина и добавляют тестируемый адсорбент. После инкубации токсина с адсорбентом измеряют количество оставшегося в растворе несвязанного МТ и рассчитывают долю (%) адсорбированного МТ. Бесспорно, все делается и рассчитывается правильно, но в таком представлении данных скрыта манипуляция результатами. В экспериментах *in vitro* в среду добавляют так много адсорбента, что даже при слабой способности к связыванию произойдет убыль токсина из раствора. Если бы производители адсорбентов выражали убыль микотоксина в инкубационной среде не в процентах, а в весовом количестве в расчете на 1 г адсорбента, то это ограничило бы беспредельное добавление адсорбента в инкубационную

среду, так как с увеличением его доли эффективность связывания в расчете на единицу массы снижается. Такой расчет более объективно характеризовал бы адсорбент. Для этого не нужно проводить дополнительных анализов, так как известно количество исходного токсина в растворе и количество токсина, оставшегося в растворе после добавления адсорбента, по разности находим количество связанного МТ и эту величину делим на массу адсорбента — простая арифметика. При этом следует учитывать, что в лабораторных опытах отношение количества адсорбента к МТ всегда выше, чем рекомендуется в наставлениях по применению. И повторимся: не существует общепризнанного метода оценки адсорбции МТ *in vitro*, что является следствием получения несравнимых результатов. Это замечание относится к адсорбентам всех поколений.

Желудочно-кишечный тракт — это открытая динамическая система, в которой постоянно изменяется состав химуса: перевариваются белки, углеводы, образуя множество простых соединений, добавляется желчь (все это влияет на состав среды), изменяется рН, происходит всасывание веществ, в том числе микотоксинов, и разбавление их концентрации при потреблении воды, а также экскреция метаболитов всосавшихся микотоксинов. Все эти процессы трудно моделировать вне организма, поэтому они слишком далеки от условий, создаваемых в пробирке, чтобы результаты *in vitro* использовать для прогноза эффективности адсорбента в практике животноводства.

Накопление научной информации о низкой эффективности минеральных адсорбентов по отношению к большинству фузариотоксинов вызвало необходимость создания более активных адсорбентов МТ.

Появилось **второе поколение адсорбентов**, которое не имело глубокого научного обоснования и развилось на основании тестирования комбинаций минеральных адсорбентов с различными физическими свойствами (например, комбинация цеолита с бентонитом). Позднее начали приготавливать смеси на основе минеральных и органических адсорбентов. Это давало повод производителям заявлять, что используются адсорбенты сложного состава по секретным запатентованным технологиям (при этом не указывали номера патента). Эффективность применения таких препаратов подтверждалась теми же исследованиями — установлением процента связывания микотоксинов в пробирке. Однако это не привело к существенному повышению связывания фузариотоксинов адсорбентами второго поколения по сравнению с первым. Физические смеси слабых индивидуальных адсорбционных материалов не могли обеспечить повышение адсорбционных свойств создаваемых препаратов.

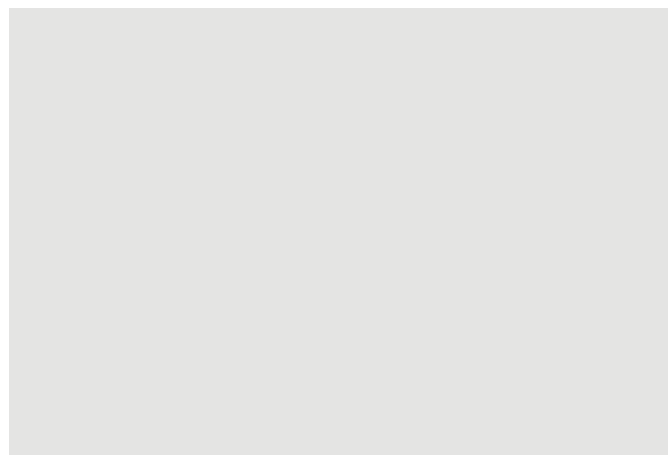
Неудовлетворенность адсорбентами второго поколения стимулировала дальнейшие исследования. Еще раньше было установлено, некоторые микотоксины частично подвергаются трансформации кишечной микрофлорой еще до всасывания и теряют активность. Слабее МТ дей-

ствуют на жвачных животных, так как частично инактивируются микрофлорой рубца. Это стало поводом для развития исследований по поиску продуцентов ферментов, способных инактивировать микотоксины в желудочно-кишечном тракте. В результате появились адсорбенты **третьего поколения**, являющиеся комплексными как по составу, так и по действию: они включают в себя известные адсорбенты предыдущих поколений, которые связывают в основном афлатоксин, а также ферменты, которые способны инактивировать микотоксины. Иногда препараты третьего поколения относят к инактиваторам токсинов, а не к адсорбентам.

Первый продукт третьего поколения, появившийся на рынке, состоял из минерального адсорбента и ферментного препарата, обладающего эпоксидгидролазной активностью. В лабораторных исследованиях было установлено, что в результате его действия трихотеценовые микотоксины теряли эпоксидную группу и в реальных дозах не проявляли токсичности. Фермент, инактивирующий трихотецены, неактивен по отношению к другим токсинам. Отщепление от крупной молекулы, например, деоксиниваленола маленькой эпоксидной группы лишает исходную молекулу токсичности, при этом основная часть молекулы остается неизменной и всасывается. Будучи для организма чужеродным веществом, она должна из него выводиться, а перед этим подвергнуться трансформации в системе метаболизма чужеродных соединений. Разработчики поспешили с выходом на рынок с новым препаратом. Судьба инактивированного ДОН в организме так и осталась неизученной и неизвестны отдаленные последствия его действия.

Система метаболизма чужеродных соединений защищает организм от той части микотоксинов, которую не связали адсорбенты и не инактивировали ферменты, входящие в состав препарата, однако поступившие в эту систему нетоксичные чужеродные вещества создают дополнительную нагрузку и снижают ее защитную функцию от неизменных токсинов.

С точки зрения производства, адсорбенты третьего поколения достаточно дорогие, так как получение входящих



в их состав ферментных препаратов требует значительных расходов. К настоящему времени имеются сообщения о возможности промышленного производства четырех ферментных препаратов, каждый из которых специфичен только к одному микотоксину. Технически в препарат несложно включить ферменты, инактивирующие и другие микотоксины, однако это делают редко. Ограничителем является цена препарата.

Микотоксины в кормах обнаруживаются непостоянно, и прогнозировать их наличие — занятие рискованное, поэтому заранее выбрать препарат с требуемым ферментом довольно проблематично. Исходя из этого, можно заключить, что препараты третьего поколения в практических условиях не могут оправдать возлагаемых на них надежд.

Если корм не содержит тот микотоксин, на который рассчитан фермент, а контаминирован другими видами токсинов, то препарат третьего поколения превращается в заурядный продукт первого поколения. Приобретать дорогой адсорбент, содержащий фермент, разрушающий только один вид микотоксина, можно лишь при твердой уверенности, что он будет постоянно присутствовать в корме.

Наибольшее распространение на рынке получили адсорбенты, содержащие эпоксидгидролазу, инактивирующую (по замыслу производителей) трихотеценовые микотоксины в результате отщепления эпоксидной группы. Однако следует учитывать, что существует четыре типа трихотеценов: А, В, С и D. Описаны только результаты исследований по инактивации дезоксиниваленола (тип В) и в меньшей степени — Т-2 токсина (тип А), тогда как отсутствует информация по изучению действия фермента на микотоксины типа С, у которых совершенно другая структура, и неизвестно, насколько их эпоксидная группа доступна для эпоксидгидролазы. (Входящие в эту группу микотоксины (веррукаринны и родиринны) нередко встречаются в силосе и сенаже.) Поэтому заявлять, что эпоксидгидролаза действует на все трихотеценовые токсины, не имея экспериментальных доказательств, по крайней мере, слишком смело.

К проблеме этого поколения препаратов следует также отнести неизученность влияния инактивированных МТ как на адсорбционную емкость адсорбентов, так и на организм животного. Селекция продуцентов ферментов, инактивирующих микотоксины, была выполнена *in vitro* и в этих же условиях была подтверждена их эффективность. Но насколько они проявляют ее в кишечнике после прохождения желудка, в котором подвергаются перевариванию под действием пепсина, остается неустановленным.

В 2005 г. был изобретен наноматериал Амадеит, который позволил создать адсорбенты **четвертого поколения**. Данный продукт не встречается в каких-либо природных источниках: он создан на основе природного минерального сырья и олигосахаридов, выделенных из специфических морских водорослей. При разработке нового адсорбента учтен размер молекул микотоксинов, который составляет от 0,6 до 3,8 нм.

В большинстве случаев для производства адсорбентов в качестве природного сырья используют глинистые минералы, которые обладают слоистой структурой. Расстояние между слоями составляет 0,2–0,3 нм. В межслойное пространство такого размера не могут проникнуть крупные молекулы МТ. Создатели Амадеита, используя в качестве сырья глинистый минерал монтмориллонит, раздвинули слои до 2,5–4,0 нм и зафиксировали их с помощью сульфатированных олигосахаридов из водорослей. Это позволило увеличить адсорбирующую поверхность в десятки раз, а связывание трихотеценовых микотоксинов — в 5–20 раз по сравнению с исходным природным минералом. Новый адсорбент представляет собой не смесь монтмориллонита и олигосахаридов, а новый монокомпонентный продукт, созданный на их основе. Кроме адсорбционных свойств, он обладает свойствами молекулярного сита, поскольку расстояние между слоями сопоставимо с размером молекул МТ, а наличие межслойного пространства олигосахаридов препятствует значительной десорбции МТ при повышении рН во время перемещения химуса из желудка в кишечник. В какой-то мере новый адсорбент внутренней структурой моделирует активированный уголь, но отличается от него тем, что позволяет управлять размером межслойных пространств, меняя размер олигосахаридов. Преимущество этого адсорбента перед предыдущими поколениями в том, что он полнее связывает токсины, защищая организм, как от исходных МТ, так и от преформированных, то есть более эффективно защищает внутреннюю среду организма. На основании созданного адсорбента были приготовлены коммерческие препараты, которые под фирменными названиями появились на мировом рынке и доступны в России.

В данной статье намеренно не названы фирмы-производители адсорбентов предлагаемые ими продукты, чтобы не создавать рекламы отдельным адсорбентам и тем самым влиять на их выбор. И хотя на мировом рынке известно до 50 наименований адсорбентов, отличаются они часто незначительно, иногда просто ничего не определяющей добавкой какого-либо биологически активного вещества.

Информация о научных исследованиях и обосновании эффективности тех или иных адсорбентов не доходит до российского потребителя, хотя имеется обширная научная база, с которой можно ознакомиться в англоязычной научной литературе. Выбор подходящих адсорбентов осложняется недостаточными знаниями об их реальных свойствах, о которых невозможно судить по сведениям, приводимым в коммерческой рекламе. Закупку сырья, в том числе и адсорбентов, на крупных предприятиях, особенно холдингах, производят специалисты коммерческих отделов, которые далеки от знаний свойств адсорбентов и не всегда прислушиваются к мнению ветеринарных врачей и зоотехников относительно требований,

выставляемых ими к адсорбентам. Серьезным ограничением при выборе подходящего продукта является цена адсорбентов, однако эта важная экономическая мера совершенно непригодна в их выборе. Наиболее дешевыми будут адсорбенты первого поколения, но они связывают только афлатоксин, который является редкостью для российских условий.

При оценке практиками новых кормовых добавок самым надежным является собственный опыт. Трудно найти птицефабрику или свиноводческое хозяйство, в которых не использовали те или иные адсорбенты. Однако при выборе адсорбентов собственный опыт, не подкрепленный анализом кормов на содержание МТ и дополнительными знаниями, часто вводит в заблуждение. Выбранные адсорбенты спустя какое-то время заменяют другими из-за низкой их эффективности или появления новой информации, которая влияет на принятие решения. Используют более дешевые препараты с целью экономии средств, разочаровываются в них и возвращаются к дорогим. В значительной мере это обусловлено трудностью реальной оценки содержания МТ в кормах. Распространение микроскопических (плесневых) грибов и их способность к образованию токсинов крайне нестабильны. В природе токсигенные штаммы грибов могут вегетировать несколько генераций, не образуя МТ. Токсигенность проявляется в зависимости от условий

роста грибов, складывающихся во время формирования урожая, условий уборки и технологии хранения.

Выбор адсорбентов в конкретной ситуации — достаточно сложная задача. Предыдущий опыт их использования помогает не всегда, поскольку на него трудно опираться в условиях постоянно меняющейся концентрации микотоксинов в кормах и их перечня. Результаты действия адсорбентов, полученные в разные сезоны года, несравнимы, если не ведется надежного контроля содержания микотоксинов в кормах. При низком фоне контаминации одинаковую эффективность покажут как слабые недорогие адсорбенты, так и сильные адсорбенты с широким спектром связывания, но они дорогие. Из такого опыта можно сделать вывод, что не надо тратить лишние деньги. Однако при высоком содержании МТ в кормах животные будут защищены только при использовании мощного адсорбента: слабый приведет к потере средств и снижению продуктивности.

Важно знать, что адсорбенты не связывают микотоксины в корме до потребления его животными. Они абсорбируют их только в желудочно-кишечном тракте после растворения в химусе и являются средствами профилактики микотоксикозов. На этом основании следует сделать вывод, что адсорбенты не могут вылечить микотоксикоз, поскольку это заболевание организма, а адсорбенты не всасываются, то есть не попадают в его внутреннюю среду. ■