



Science and Technology Bulletin of SRC for Biosafety and Environmental Control of AIC

Contamination of maize, wheat and barley by mycotoxins (according to 2017 data)

K.V. Bilash, V. G. Yefimov, L.V. Yakunina

Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Article info

Received 20.04.2018

*Received in revised form
27.04.2018*

Accepted 3.05.2018

*Dnipro State Agrarian and
Economic University,*

Sergii Efremov Str., 25,

Dnipro, 49600, Ukraine

Tel. +38056-236-17-14

E-mail:

yefimov.v.h@dsau.dp.ua

Aflatoxins, deoxynivalenol (DON, vomitoxin), fumonisins, zearalenone, T-2 toxin and ochratoxin A belong to the mycotoxins that are most dangerous for humans and animals. For that matter, continuous monitoring of the presence of mycotoxins in crops which are used both for food production and for animals feeding remains relevant. The objective of our study was to analyze the level of contamination of samples of wheat, barley and corn with individual mycotoxins (according to 2017 data). Samples of wheat, barley and maize were selected in which the content of aflatoxin B1, zearalenone, T-2 and HT-2 toxin, ochratoxin A, DON and the amount of fumonisins by ELISA method using Tecna Celer test systems produced by TecnaLab (Italy) was determined. The optical density of the solutions was measured on a Microplate reader Immunochem 2000 at a wavelength of 450 nm. Evaluation of compliance of individual mycotoxins content to established standards was carried out according to the requirements on the basis of orders of the Ministry of Agrarian Policy and Food of Ukraine No. 131 of 19.03.2012 (for feed) and Ministry of Health of Ukraine No. 368 of May 13, 2013. The contents of T-2 toxins in food and feed corn grain (9.3%) and wheat grain (10.4%) were higher than the established requirements. 27.9% of the maize samples and 13.3% of the wheat samples did not meet the requirements of food production for the content of aflatoxin B1. The concentration of zearalenone in maize and wheat samples (11.6% and 9.3%, respectively) was higher than the level allowed for feed. The largest number of ochratoxin A samples did not meet food production requirements for wheat (16.0%) and maize (14.7%). Only 1.3% of wheat samples and 2.3% of corn samples for animals feeding exceeded the maximum allowable level. Deoxynivalenol (DON) was the most widespread mycotoxin, due to which the largest number of specimens of the examined grain did not meet the standards, primarily for feed: 49.6% corn, 16.0% barley and 13.3% wheat. In our studies, only two samples of corn (1.5%) did not meet the requirements for the level of fumonisins. Thus, in samples of corn, barley and wheat, the allowable level for food and feed grain for individual mycotoxins was quite high and exceeded 49%. The most contaminated mycotoxins were corn grains, and the main contaminant factor was DON, due to the peculiarities of air humidity, temperature regime and crop harvesting time frame.

Key words: mycotoxins; grain; food products; feed; maximum allowable level

Забрудненість кукурудзи, пшениці та ячменю мікотоксинами (за даними 2017 р.)

К.В. Білаш, В.Г. Єфімов, Л.В. Якуніна

Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро, Україна

До мікотоксинів, що несуть найбільшу небезпеку, як людині так і тваринам, відносять афлатоксини, деоксиніваленол (ДОН, вомітоксин), фумонізину, зearаленон, Т-2 токсин і охратоксин А. У зв'язку з цим, постійний моніторинг наявності мікотоксинів у зернових культурах, що використовують як для виготовлення продуктів харчування, так і для годівлі тварин, залишається актуальним. Мета роботи – провести аналіз рівня забрудненості зразків пшениці, ячменю та кукурудзи окремими мікотоксинами (за даними 2017 р.). Для досліджень відбирали зразки пшениці, ячменю та кукурудзи де визначали вміст афлатоксину В1, зearаленону, Т-2 і НТ-2 токсину, охратоксину А, ДОНу та суми фумонізинів методом ІФА з використанням тест-систем Tecna Celer виробництва

Citation:

Bilash, K. V., Yefimov, V. G. & Yakunina, L. V. (2018). Contamination of maize, wheat and barley by mycotoxins (according to 2017 data). *Science and Technology Bulletin of SRC for Biosafety and Environmental Control of AIC*, 6(2), 25–29.

TesnaLab (Італія). Оптичну щільність розчинів вимірювали на мікропланшетному рідері Immunochem 2000 при довжині хвилі 450 нм. Оцінку відповідності вмісту окремих мікотоксинів встановленим зразкам проводили згідно встановленим вимогам на підставі наказів Міністерства аграрної політики та продовольства України № 131 від 19.03.2012 р. (для кормової сировини) та Міністерства охорони здоров'я України № 368 від 13.05.2013 р. Вміст Т-2 токсину в продовольчому та фуражному зерні кукурудзи (9,3%) і пшениці (10,4%) був вище встановлених вимог. 27,9% зразків кукурудзи та 13,3% зразків пшениці за вмістом афлатоксину В1 не відповідали вимогам для продуктів харчування. Концентрація зеараленону в зразках кукурудзи та пшениці (11,6% та 9,3% відповідно) виявилася вищою від рівня, що допускається для кормів. За охратоксином А не відповідала для продовольчих потреб найбільша кількість зразків пшениці (16,0%) і кукурудзи (14,7%). Для годівлі тварин лише 1,3% зразків пшениці та 2,3% кукурудзи перевищували максимально допустимі значення. Дезоксиніваленол (ДОН) виявився найрозповсюдженішим мікотоксином за рахунок чого, найбільша кількість зразків дослідженого зерна не відповідала вимогам, в першу чергу, для кормової сировини: 49,6% кукурудзи, 16,0% ячменю і 13,3% пшениці. У дослідженнях лише два зразки кукурудзи (1,5%) не відповідали вимогам за рівнем фумонізину. Таким чином, у зразках кукурудзи, ячменю і пшениці рівень перевищення допустимих рівнів для продовольчого та фуражного зерна за окремими мікотоксинами достатньо високий і перевищує 49%. Найзараженіше мікотоксинами зерно кукурудзи, а основним контамінуючим фактором виявився ДОН, що пов'язано з особливостями вологості повітря, температурного режиму і термінів збирання цієї культури.

Ключові слова: мікотоксини; зерно; продукти харчування; корми; максимально допустимий рівень

Вступ

Мікотоксини є вторинними метаболітами, що під час росту грибів за нормальних умов не відіграють у їх метаболізмі ніякої ролі. Це різноманітні за хімічною структурою сполуки з молекулярною масою від 50 до понад 500 Да, що продукуються мікроскопічними грибами переважно родів *Aspergillus*, *Penicillium* та *Fusarium*. На сьогодні відомо, залежно від класифікації, 300-400 різних мікотоксинів, що забруднюють зернові культури як в польових умовах, так і при їх неналежному зберіганні (Pitt, 2000; Streit et al., 2012). До мікотоксинів, що несуть найбільшу небезпеку, відносять афлатоксини, дезоксиніваленол (ДОН, вомітоксин), фумонізину, зеараленон, Т-2 токсин і охратоксин А. Захворювання, викликані цими мікотоксинами, різноманітні, до них чутливі різні види тварин і людина (Richard, 2007; Yefimov et al., 2017).

За даними Brezvyun et al. (2013), кількість зразків зернових культур і кормів для тварин, в яких виявляли мікотоксини, в окремі роки досягала 34%, а найрозповсюдженішими були мікотоксини трихотеченової (ДОН, Т-2 токсин і зеараленон) групи. Часто контамінація зерна і комбікормів відбувається одночасно декількома токсинами, що може нести загрозу виникнення токсикозів внаслідок сумісної їх токсичної дії (Glebnyuk et al., 2014).

Окрім прямої токсичної дії на організм людини та тварин, що виникає при вживанні рослинних продуктів, мікотоксини здатні переходити у продукти тваринництва і з ними, до людського організму (Flores-Flores et al., 2015).

У зв'язку з цим постійний моніторинг наявності мікотоксинів у зернових культурах, що використовують для виготовлення продуктів

харчування та для годівлі тварин, залишається актуальним.

Мета роботи – провести аналіз рівня забрудненості зразків пшениці, ячменю та кукурудзи окремими мікотоксинами (за даними 2017 р.).

Матеріал і методи досліджень

Для досліджень відбирали зразки пшениці, ячменю і кукурудзи, що надійшли для досліджень до Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК Дніпровського державного аграрно-економічного університету.

У зразках зернових визначали вміст афлатоксину В1, зеараленону, Т-2 і НТ-2 токсину, охратоксину А, ДОНу та суми фумонізину методом ІФА з використанням тест-систем Tesna Celer виробництва TesnaLab (Італія).

Для безпосереднього визначення використовували екстракти зі зразків зернових культур. Для цього проводили первинну обробку згідно інструкції з визначення шляхом подрібнення наважки зерна з подальшою екстракцією 70% розчином метанолу при струшуванні на шейкері впродовж 3 хв. Після екстракції отримували фільтрат із використанням фільтрувального паперу «червона стрічка», в якому безпосередньо визначали вміст мікотоксинів.

Принцип визначення вмісту мікотоксинів методом ІФА ґрунтується на реакції взаємодії мікотоксинів, що містяться у фільтратах, зі специфічними до них антитілами, адсорбованими в полістиролових лунках із формуванням комплексу антиген-антитіло. Отриманий імунний комплекс виявляється за допомогою кон'югату, фермент якого після додавання субстрату викликає розщеплення субстрат-індикаторного розчину і утворення забарвленого продукту. Оптичну

щільність розчинів вимірювали на мікропланшетному рідері Immunochem 2000 при довжині хвилі 450 нм. Кількісний вміст мікотоксинів визначали за комп'ютерною програмою, наданою виробником тест-систем, з використанням даних, отриманих з калібрувальними розчинами мікотоксинів відомої концентрації.

Оцінку відповідності вмісту окремих мікотоксинів встановленим зразкам проводили згідно встановленим вимогам на підставі наказів Міністерства аграрної політики та продовольства України № 131 від 19.03.2012 р. (для кормової сировини) та Міністерства охорони здоров'я України № 368 від 13.05.2013 р.

Таблиця 1.

Відповідність зразків пшениці, кукурудзи та ячменю вимогам, встановленим до харчових продуктів і кормової сировини

Зерно	МДР		Кількість та % зразків, що не відповідають вимогам	
	МОЗ	Мін АПК	МОЗ	Мін АПК
Т-2 токсин				
пшениця	0,1	0,1	7/9,3%	7/9,3%
кукурудза	0,1	0,1	13/10,4%	13/10,4%
ячмінь	0,1	0,1	0	0
Афлатоксин В₁				
пшениця	0,005	0,02	10/13,3%	1/1,3%
кукурудза	0,005	0,02	36/27,9%	1/0,8%
ячмінь	0,005	0,02	0	0
Зеараленон				
пшениця	0,10	1,0	7/9,3%	0
кукурудза	0,35	1,0	15/11,6%	5/3,9%
ячмінь	0,10	1,0	0	0
Охратоксин А				
пшениця	0,005	0,05	12/16,0%	1/1,3%
кукурудза	0,005	0,05	19/14,7%	3/2,3%
ячмінь	0,005	0,05	3/1,2%	0
ДОН				
пшениця	1,75	1,0	8/10,7%	10/13,3%
кукурудза	1,75	1,0	25/19,4%	64/49,6%
ячмінь	1,25	1,0	5/20%	4/16%
Сума фумонізинів				
пшениця	не встановлено	5,0	-	0
кукурудза	4,0	5,0	2/1,5%	2/1,5%
ячмінь	не встановлено	5,0	-	0

Оскільки вимоги до вмісту Т-2 токсину в продовольчому та фуражному зерні співпадають, то однакова кількість зразків кукурудзи (9,3%) і пшениці (10,4%) не відповідали вимогам обох нормативних документів.

При визначенні вмісту афлатоксину В₁ в зразках ячменю встановлено, що його рівень відповідав вимогам, встановленим як для фуражних потреб, так і для виготовлення комбікормів. Водночас, у 27,9% зразків кукурудзи та 13,3% зразків пшениці рівень цього токсину

Результати та їх обговорення

За 2017 рік в Науково-дослідний центр біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК досліджено 229 зразків зернових культур на наявність мікотоксинів: 25 проб ячменю, 129 зразків кукурудзи та 75 пшениці з різних регіонів України (Дніпропетровської, Львівської, Тернопільської, Миколаївської областей).

При визначенні вмісту Т-2 токсину в зразках ячменю встановлено, що його рівень відповідав вимогам нормативно-технічної документації (табл. 1).

перевищував межі, встановлені для зерна, що використовують для виготовлення продуктів харчування. Оскільки для кормової сировини встановлений допустимий рівень є значно вищим, то лише 0,8% і 1,3% зразків кукурудзи та пшениці, відповідно, не можна використовувати в годівлі тварин.

Як і у випадку з двома попередніми мікотоксинами, вміст зеараленону в усіх досліджених зразках ячменю не перевищував граничні норми, встановлені для зерна, що

використовують у харчуванні людини та для виготовлення комбикормів. У той же час, відзначено перевищення за зеараленоном допустимих значень в зразках кукурудзи та пшениці (11,6% та 9,3% відповідно). Перевищення вмісту зеараленону в зразках пшениці, що може використовуватися в годівлі тварин, не спостерігали, тоді як у 9,3% досліджених проб пшениці він вищий за вимоги, встановлені для харчових продуктів.

При визначенні вмісту охратоксину А найбільша кількість зразків не відповідає для продовольчих потреб у пшениці (16,0%) і кукурудзи (14,7%), тоді як лише 1,2% зразків ячменю мали перевищення за цим показником безпечності. Враховуючи, що для кормової сировини допустимі межі вмісту охратоксину А є в 10 разів вище, то невідповідність встановлено лише в 1,3% зразків пшениці та в 2,3% кукурудзи.

Дезоксиніваленол (ДОН) виявився найбільш розповсюдженим, за рахунок чого найбільша

кількість зразків дослідженого зерна не відповідає вимогам, в першу чергу, для кормової сировини: 49,6% кукурудзи, 16,0% ячменю і 13,3% пшениці. Водночас, ДОН – єдиний мікотоксин, рівень якого жорсткіше контролюється для годівлі тварин, ніж у харчуванні людини. Тому значно менша кількість зразків не відповідає вимогам для харчових продуктів – 10,7% пшениці, 19,4% кукурудзи та 20% ячменю.

Вимоги щодо максимально допустимого рівня суми фумонізинів встановлено лише для продовольчої кукурудзи, тоді як їх вміст у зерні пшениці та ячменю взагалі не регламентується. Водночас, для всіх досліджених зернових культур вміст цього токсину при виробництві кормів для тварин встановлено на рівні 5 мг/кг. У наших дослідженнях лише два зразки кукурудзи (1,5%) не відповідали вимогам обох нормативно-технічних документів.

Таблиця 2.

Максимальний рівень мікотоксинів в досліджених зразках ячменю, пшениці та кукурудзи

Мікотоксини	Зернова культура		
	ячмінь	пшениця	кукурудза
Т-2 токсин, мг/кг	0,06	0,29	1,61
Афлатоксин В ₁ , мг/кг	0,004	0,213	0,024
Зеараленон, мг/кг	0,07	0,36	2,72
Охратоксин, мг/кг	0,018	0,018	0,075
ДОН, мг/кг	5,1	4,8	7,3
Сума фумонізинів, мг/кг	0,8	1,2	10,2

Максимальний рівень майже всіх мікотоксинів (Т-2 токсину, зеараленону, охратоксину А, ДОНу і фумонізинів) виявлено в зразках кукурудзи, тоді як найвищий рівень афлатоксину В₁, встановлено в зразках пшениці (табл. 2). На високий рівень зараженості кукурудзи мікотоксинами вказують й інші дослідники (Cavaliere et al., 2005). Очевидно, це можна пояснити вологими кліматичними умовами вирощування в період вегетації, сприятливим температурним діапазоном і затримкою збирання врожаю в осінні місяці.

Аналізуючи отримані дані, варто відзначити, що найбільший рівень зараженості всіх досліджених зернових характерний для вомітоксину, в меншій мірі – для Т-2 токсину і зеараленону. В літературі вказано, що саме мікотоксини трихотеценової групи є одними з основних контамінуючих факторів, і саме вомітоксину серед них відводиться провідна роль (Placinta et al., 1999; Ma et al., 2018).

У той же час, достатньо значна кількість зразків, в першу чергу пшениці та кукурудзи, не

відповідають за рівнем охратоксину А і афлатоксину В₁ для продовольчих продуктів, але не для кормової сировини. Причиною цього є більш жорсткий контроль за рівнем цих мікотоксинів згідно вимог МОЗ, що, напевне, пояснюється високим рівнем їх токсичності. Варто відзначити, що контамінація цими токсинами, в першу чергу, пов'язана з порушенням технологічних процесів зберігання зерна, зокрема, недотримання температурного режиму та вологості в місцях зберігання (Adeyeye, 2016).

Таким чином, причиною високої забрудненості досліджених зразків пшениці, ячменю та кукурудзи можуть бути як порушення агротехнічних процедур при вирощуванні цих культур, так і недотримання вимог щодо зберігання зібраного зерна.

Висновки

1. У зразках кукурудзи, ячменю та пшениці рівень перевищення допустимих рівнів для продовольчого і фуражного зерна за окремими

мікотоксинами був достатньо високим і перевищував 49%.

2. Найбільш зараженим мікотоксинами було зерно кукурудзи, а основним контамінуючим фактором виявився ДОН, що пов'язано з особливостями вологості повітря, температурного режиму і термінів збирання цієї культури.

References

- Adeyeye, S. A. O. (2016). Fungal mycotoxins in foods: A review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1).
- Brezvyn, O., Otchych, V. & Kotsiumbas, I. (2013). Kontrol mikotoksyniv u kormakh i yikh zneshkodzhennia. *Visnyk Lvivskoho universytetu. Seriya biolohichna*, 62, 242-249 (In Ukrainian).
- Cavaliere, C., D'Ascenzo, G., Foglia, P., Pastorini, E., Samperi, R., & Laganà, A. (2005). Determination of type B trichothecenes and macrocyclic lactone mycotoxins in field contaminated maize. *Food Chemistry*, 92(3), 559–568.
- Flores-Flores, M. E., Lizarraga, E., López de Cerain, A., & González-Peñas, E. (2015). Presence of mycotoxins in animal milk: A review. *Food Control*, 53, 163–176.
- Glebenyuk, V., Chumak, E. & Govoruha, V. (2014). Mycotoxicological description feed for pigs in Dnipropetrovsk region. *Science and Technology Bulletin of SRC for Biosafety and Environmental Control of AIC*, 2 (3), 82-85 (In Ukrainian).
- Ma, R., Zhang, L., Liu, M., Su, Y.-T., Xie, W.-M., Zhang, N.-Y., ... Sun, L.-H. (2018). Individual and Combined Occurrence of Mycotoxins in Feed Ingredients and Complete Feeds in China. *Toxins*, 10(3), 113.
- Pitt, J. I. (2000). Toxigenic fungi and mycotoxins. *British Medical Bulletin*, 56(1), 184–192.
- Placinta, C., D'Mello, J. P. & Macdonald, A. M. (1999). A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. *Animal Feed Science and Technology*, 78(1-2), 21–37.
- Richard, J.L. (2007). Some major mycotoxins and their mycotoxicoses – An overview. *International Journal of Food Microbiology*, 119 (1-2), 3-10.
- Streit, E., Schatzmayr, G., Tassis, P., Tzika, E., Marin, D., Taranu, I., Tabuc, C., Nicolau, A., Aprodu, I., Puel, O., & Oswald, I. P. (2012). Current Situation of Mycotoxin Contamination and Co-occurrence in Animal Feed-Focus on Europe. *Toxins*, 4(10), 788–809.
- Yefimov, V.H., Sofonova, D.M. & Masiuk, D.M. (2017). Poshyrennia ta toksykologichne znachennia okremykh mikotoksyniv u skotarstvi. *Kormy i fakty*, 5, 40-42 (In Ukrainian).