

Występowanie przetworzonego białka zwierzęcego w paszach

KRZYSZTOF KWIATEK, ANNA WEINER, MONIKA PRZENIOSŁO-SIWCZYŃSKA

Zakład Higieny Środków Żywienia Zwierząt

Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Kwiatek K., Weiner A., Przeniosło-Siwczyńska M.

Prevalence of processed animal protein in feed

Summary

Restrictions on the use of processed animal protein (PAP) i.e. meat and bone meal (MBM) as an ingredient in the feed of ruminants and other food animals were introduced by the European Commission as a result of the BSE crisis. The same policy is implemented in Poland. The purpose of the study was to determine the prevalence of PAP in selected feed materials and feed compounds for food animals. The microscopic method was used in order to detect PAP in the examined samples and the constituents of animal origin were identified on the basis of typical, microscopically identifiable characteristics i.e. muscle fibers and other meat particles, cartilage, bones, horn, hair, bristles, blood, feathers, egg shells, fish bones, and scales. A total of 902 and 1,522 samples of animal feeds designated for ruminant and non-ruminant animals, respectively, were examined. The presence of PAP was detected in 93 (10.3 %) out of 902 samples of different animal feed for ruminants. 164 (10.8%) were positive amongst the 1,522 examined samples of different animal feed for non-ruminants. It should be noted that the microscopic method proved to be a useful and sensitive technique for detecting PAP in animal feed.

Keywords: feed, PAP, MBM

Przetworzone białko zwierzęce (Processed Animal Protein – PAP) w postaci różnego rodzaju mączek zwierzęcych było szeroko stosowane przez wiele lat w żywieniu zwierząt gospodarskich aż do 18 lipca 1988 r., kiedy to Wielka Brytania wprowadziła zakaz stosowania mączek mięsno-kostnych pochodzących od przeżuwaczy w żywieniu bydła (10, 27). Powodem wydania tego zakazu było stwierdzenie, iż to najprawdopodobniej mączki zwierzęce mogą być źródłem niezainaktywowanego czynnika wywołującego chorobę BSE, czyli gąbczastą encefalopatię bydła (11, 25, 26).

Wprowadzenie w 1988 r. w Wielkiej Brytanii zakazu stosowania mączek mięsno-kostnych w żywieniu bydła doprowadziło w następnych latach do spadku liczby rejestrowanych przypadków BSE. Jednakże od momentu wprowadzenia tego zakazu do chwili obecnej zarejestrowano ogółem w Wielkiej Brytanii i innych krajach Unii Europejskiej ponad 190 000 przypadków BSE, w tym kilkanaście w Polsce (15, 16, 27). W kolejnych latach w poszczególnych krajach członkowskich Unii Europejskiej, także w Polsce wprowadzano stopniowo ograniczenia prawne stosowania przetworzonego białka zwierzęcego w żywieniu zwierząt, co w efekcie doprowadziło do całkowitego zakazu stosowania mączek mięsno-kostnych pochodzących od zwierząt lądowych oraz częściowego zakazu stosowania mączek rybnych w żywieniu zwierząt gospodarskich (5, 21-23).

Zgodnie z obowiązującymi w Polsce przepisami w tym zakresie, środki żywienia dla zwierząt gospodarskich nie powinny zawierać mączek mięsno-kostnych pochodzących ze zwierząt lądowych, a w przypadku przeżuwaczy także mączek rybnych (20-22). Pomimo istniejącego zakazu sto-

sowania mączek mięsno-kostnych w produkcji pasz i żywieniu zwierząt gospodarskich istnieje możliwość wtórnego zanieczyszczenia lub celowego dodania tego rodzaju białka do pasz, co znajduje potwierdzenie w piśmiennictwie (2, 6, 7, 12).

Celem badań było określenie stopnia występowania przetworzonego białka zwierzęcego, w tym szczególnie zakazanych mączek zwierzęcych w środkach żywienia zwierząt gospodarskich. Ponadto oceniono przydatność metody mikroskopowej do wykrywania tego rodzaju białka.

Material i metody

Próbki środków żywienia zwierząt zostały poddane badaniom w Zakładzie Higieny Środków Żywienia Zwierząt PIWet.-PIB w Puławach. W okresie od stycznia 2003 r. do 31 grudnia 2004 r. zbadano ogółem 370 próbek środków żywienia zwierząt. Na liczbę tę składało się: 282 próbki mieszanek paszowych, 11 próbek koncentratów paszowych, 58 próbek dodatków paszowych, 17 próbek tzw. mieszanek czyszczących oraz 2 próbki materiałów paszowych.

Dodatkowo w okresie styczeń-grudzień 2003 r. przeprowadzono w 15 zakładach higieny weterynaryjnej pod nadzorem merytorycznym Zakładu Higieny Środków Żywienia Zwierząt PIWet.-PIB w Puławach badania środków żywienia zwierząt w kierunku obecności przetworzonego białka zwierzęcego. W laboratoriach zakładów higieny weterynaryjnej ogółem zbadano w tym czasie 2054 próbek środków żywienia zwierząt.

W badaniach zastosowano metodę mikroskopową, którą opisano w odpowiednich przepisach krajowych (18) i Unii Europejskiej (3, 4).

Zasada metody. Składniki pochodzenia zwierzęcego były identyfikowane pod mikroskopem stereoskopowym i biologicznym na podstawie cech charakterystycznych dla tkanek po-

chodzenia zwierzęcego, tj.: włókien mięśniowych, kości, włosa, szczeciny, piór, ości, łusek ryb. Badaniom w kierunku obecności tych składników poddawano otrzymane z analizowanych próbek osad oraz flotat.

Wstępne przygotowanie próbek. Z przesłanego do badań materiału odważano próbkę laboratoryjną o masie 5 g. Następnie próbkę umieszczano w rozdzielaczu i dodawano 50 ml tetrachloroetylenu. Po dokładnym wymieszaniu próbkę odstawiano na okres 3 min. celem oddzielenia się flotatu i osadu.

Wykrywanie i identyfikacja składników przetworzonego białka zwierzęcego w osadzie i flotacie przy użyciu odczynników osadzających i barwiących

Badanie osadu. Po wysuszeniu osadu dokonywano jego przeglądu, stosując mikroskop biologiczny i powiększenie w zakresie od 100 do 400 ×, pod kątem obecności charakterystycznych składników pochodzenia zwierzęcego (kości, ości, łuski, chrząstki). W charakterze pomocniczym do wykrywania składników kostnych stosowano olej parafinowy jako odczynnik osadzający. Osadzone w oleju kości były identyfikowane na podstawie obecności jamek kostnych wypełnionych powietrzem i widocznych pod mikroskopem biologicznym w postaci czarnych otworów o średnicy 5-10 μm. Odłamki kostne pochodzące od ssaków posiadają jamki kostne o kształcie eliptycznym do prawie okrągłego z mało widocznymi kanalikami kostnymi. Szczątki kostne drobiowe zazwyczaj mają jamki kostne mniejsze, bardziej okrągłe i gęściej ułożone w porównaniu z kośćmi ssaków. Kanaliki kostne są słabo widoczne. Ości także posiadają jamki kostne, ale o kształcie wydłużonym, wrzecionowatym z dobrze widocznymi kanalikami kostnymi. Istnieją jednak różnice pomiędzy gatunkami ryb, u niektórych, np. dorsza, jamki mają kształt liniowy bez widocznych kanalików.

Dodatkowo przeprowadzono badanie przy użyciu mikroskopu stereoskopowego, pod powiększeniem 20-40 ×. Oceniano cechy morfologiczne odłamków kostnych. Kości ssaków są białe lub kremowe i mają tępe krawędzie, natomiast drobiowe są zazwyczaj ciemniejsze i mają ostre krawędzie. Kości tych zwierząt są nieprzezroczyste w porównaniu z ośćmi, które są bardziej przejrzyste.

Badanie flotatu. Niewielką ilość wysuszonego flotatu rozprowadzano równomiernie na płytce Petriego, zalewano odczynnikiem cystynowym, a następnie podgrzewano. W przypadku obecności składników zwierzęcych zawierających cystynę (pióra, włosie) następowało ich wybarwienie się na kolor brązowoczarny. Celem uwidocznienia i identyfikacji fragmentów włókien mięśniowych rozprowadzano na powierzchni szkiełka podstawowego niewielką ilość wysuszonego flotatu, do którego dodawano 1-2 krople roztworu jodu w jodku potasu. Preparat przeglądano pod mikroskopem biologicznym pod powiększeniem 100-400 ×. Obecne w preparacie włókna mięśniowe wybarwiały się na czerwono. W identyfikacji obrazów mikroskopowych korzystano z autorskiego przewodnika do metody mikroskopowej (13).

Wyniki i omówienie

Wyniki badań wykonanych w Laboratorium Referencyjnym Zakładu Higieny Środków Żywności Zwierząt PIWet-PIB w Puławach przedstawiono w tab. 1 i 2, natomiast rezultaty badań wykonanych w zakładach higieny weterynaryjnej zawarto w tab. 3. Z kolei w tab. 4 dokonano zestawienia wyników badań otrzymanych we wszystkich laboratoriach badających.

Zgodnie z danymi tab. 1, obecność przetworzonego białka zwierzęcego stwierdzono w 41 (20,5%) spośród 200 zbadanych próbek mieszanek paszowych dla przeżuwaczy. Nie wykazano natomiast tego rodzaju białka w badanych próbkach koncentratów paszowych. Warty odnotowania

jest fakt, iż spośród 15 zbadanych próbek mieszanek czyszczących pobranych w końcowej fazie czyszczenia linii technologicznej w 6 (40%) zanotowano jeszcze obecność przetworzonego białka zwierzęcego.

W badanych próbkach różnego rodzaju środków żywienia dla zwierząt nieprzeżuwających (tab. 2) odsetek próbek dodatnich tzn. zanieczyszczonych przetworzonym białkiem ze zwierząt lądowych wahał się w zakresie od 1,72 do 63,41, w zależności od rodzaju próbki.

W badaniach środków żywienia zwierząt wykonanych w Polsce w 2003 r. przez laboratoria ZHW stwierdzono

Tab. 1. Obecność przetworzonego białka zwierzęcego w środkach żywienia dla przeżuwaczy

Rodzaj środka żywienia	Liczba zbadanych próbek	Liczba próbek pozytywnych (%)	Liczba próbek negatywnych (%)
Mieszanki paszowe	200	41 (20,5)	159 (79,5)
Koncentraty	10	0 (0)	10 (100)
Mieszanki czyszczące	15	6 (40,0)	9 (60,0)
Ogółem	225	47 (20,89)	178 (79,11)

Tab. 2. Obecność niedozwolonego przetworzonego białka zwierzęcego w środkach żywienia dla zwierząt nieprzeżuwających

Rodzaj środka żywienia	Liczba zbadanych próbek	Liczba próbek pozytywnych (%)	Liczba próbek negatywnych (%)
Mieszanki paszowe	82	52 (63,41)	30 (36,59)
Koncentraty	1	0 (0)	1 (100)
Mieszanki czyszczące	2	0 (0)	2 (100)
Dodatki paszowe	58	1 (1,72)	57 (98,28)
Materiały paszowe	2	1 (50)	1 (50)
Ogółem	145	54 (37,24)	91 (62,76)

Tab. 3. Wyniki badań środków żywienia zwierząt w kierunku przetworzonego białka zwierzęcego w 2003 r. w ZHW

Rodzaj środka żywienia	Liczba zbadanych próbek	Liczba próbek pozytywnych (%)	Liczba próbek negatywnych (%)
Środki żywienia dla zwierząt nieprzeżuwających	1377	110 (7,99)	1267 (92,01)
Środki żywienia tylko dla przeżuwaczy	677	46 (6,80)	631 (93,20)
Ogółem	2054	156 (7,60)	1898 (92,40)

Tab. 4. Zestawienie wyników badań wykonanych w latach 2003-2004 w PIWet.-PIB w Puławach i zakładach higieny weterynaryjnej

Rodzaj środka żywienia zwierząt	Liczba zbadanych próbek	Liczba próbek pozytywnych (%)	Liczba próbek negatywnych (%)
Środki żywienia tylko dla przeżuwaczy	902	93 (10,30)	80 (89,70)
Środki żywienia dla zwierząt nieprzeżuwających	1522	164 (10,80)	1358 (89,20)

również stosunkowo wysoki odsetek próbek dodatnich, tak w odniesieniu do pasz dla zwierząt przeżuwających (6,80), jak i nieprzeżuwających (7,99) (tab. 3). Zestawienie wszystkich otrzymanych wyników badań wykazało, że odsetek próbek dodatnich dla badanych środków żywienia wynosił 10,30 dla zwierząt przeżuwających i 10,80 dla nieprzeżuwających (tab. 4).

Otrzymane wyniki badań wyraźnie wskazują, że zastosowana metoda mikroskopowa pozwoliła na wykrycie przetworzonego białka zwierzęcego obecnego w badanych próbkach różnego rodzaju środków żywienia. Z uprzednio wykonanych badań własnych (12) oraz danych piśmiennictwa (8, 9) wynika, iż metoda mikroskopowa cechuje się stosunkowo wysoką czułością, gdyż pozwala na wykrycie już 0,1% dodatku mączki mięsno-kostnej do paszy.

Zakres odsetka dodatnich próbek środków żywienia dla przeżuwaczy i zwierząt nieprzeżuwających otrzymany w przeprowadzonych badaniach można uznać za zbliżony do danych innych autorów (1, 10), który wahał się w zakresie od 2,90 do 93,75.

Użycie odczynników osadzających i barwiących znacznie ułatwiało wykrywanie i identyfikację mikroskopową poszukiwanych elementów, a w szczególności piór, kości i sierści. Stwierdzenie w obrazie mikroskopowym wyżej wymienionych elementów cechujących się charakterystyczną strukturą prawie zawsze pozwalało na jednoznaczne sprecyzowanie wyniku badania. Poczynione spostrzeżenia odnośnie do wysokiej wartości diagnostycznej metody mikroskopowej w wykrywaniu mączek mięsno-kostnych w paszach znajduje potwierdzenie u innych autorów (7-9).

Z tego też względu metoda ta spełnia wymogi stawiane urzędowym metodom kontroli laboratoryjnej (3, 4, 8). Tym niemniej prowadzone są badania nad opracowaniem innych metod (2, 14, 24). Z drugiej jednak strony, technika mikroskopii posiada pewne wady, tj. czasochłonność, wysoki koszt badań czy subiektywność i związaną z tym konieczność posiadania dużego doświadczenia przez personel prowadzący badania.

Należy podkreślić fakt, iż po podsumowaniu wyników badań, wartości odsetka próbek pozytywnych pasz dla przeżuwaczy i zwierząt nieprzeżuwających różniły się nieznacznie (0,5) i osiągnęły średnie wartości w zakresie 10,3-10,8.

Wykonane wcześniej badania w Polsce (12), Północnej Irlandii (7) i Wielkiej Brytanii z użyciem metody mikroskopowej i/lub testu ELISA wykazały jednak niższy poziom zanieczyszczenia, gdyż obecność przetworzonego białka w badanych partiach mieszanek paszowych dla przeżuwaczy lub deklarowanych jako nie zawierające mączki mięsno-kostnej stwierdzono w zakresie od 0 do 2,60% badanych próbek.

Reasumując, należy stwierdzić, że znaczący odsetek badanych partii środków żywienia dla przeżuwaczy i zwierząt nieprzeżuwających wykazywał zanieczyszczenie zabronionym do stosowania przetworzonym białkiem zwierzęcym. W związku z koniecznością zapewnienia bezpieczeństwa surowców żywnościowych pochodzenia zwierzęcego i przestrzegania przepisów prawnych niezbędne jest wprowadzenie dalszych środków kontroli celem eliminowania bądź redukcji możliwości występowania tego rodzaju białka w środkach żywienia zwierząt.

Piśmiennictwo

1. *Boss P.*: The Swiss BSE Unit, FVO Magazine 2002, 2, s. 22-23.
2. *Colgan S., O'Brien L., Maher M., Shilton N., McDonnell K., Ward S.*: Development of a DNA-based assay for species identification in meat and bone meal. Food Res. Internat. 2001, 34, s. 409-414.
3. Commission Directive 98/88/EC of 13 November 1998 establishing 'guidelines for the microscopic identification and estimation of constituents of animal origin for the official control of feedingstuffs' (O.J.L 318, 27.11.98, p. 45).
4. Commission Directive 2003/126/EC of 23 December 2003 on the analytical method for the determination of constituents of animal origin for the official control of feedingstuffs.
5. Council Decision 2000/766/EC of 4 December 2000 concerning certain protection measures with regard to transmissible spongiform encephalopathies and the feeding of animal protein (O.J.L 306, 7.12.2000, p. 32).
6. *Cruywagen C. W.*: Feed microscopy in feed and pet food. INFORM 1999, 10, 1159-1161.
7. Final report of mission carried out in the United Kingdom (Northern Ireland) from 24 to 28 June 2002 in order to evaluate the implementation of certain EC measures aimed at the eradication, control and prevention of Transmissible Spongiform Encephalopathies (TSE) and amendments proposed by the UK as regards the date based export scheme (DBES).
8. *Gizzi G., Holst Ch., Baeten V., Berben G., Raamsdonk L.*: Intercomparison study for the determination of processed animal proteins including meat and bone meal in animal feed. Final report of 16 May 2003.
9. *Gizzi G., Raamsdonk L. W. D., Baeten V., Murray I., Berben G., Brambilla G., Holst C.*: An overview of tests for animal tissues in feeds applied in response to public health concerns regarding bovine spongiform encephalopathy. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz. 2003, 22, 311-331.
10. *Hahn H.*: Animal Meal: Production and determination in feedstuffs and the origin of bovine spongiform encephalopathy. Naturwissenschaften, 1999, 86, 62-70.
11. *Kooi B.*: BSE w Holandii. Materiały z sesji: Czy Polsce zagraża epidemia BSE? Puławy 2002, s. 42-49.
12. *Kwiatek K., Weiner A., Przeniosło M.*: Prevalence of the processed animal protein in animal feedingstuffs for ruminants. Bull. Vet. Inst. Puławy 2003, 47, 515-521.
13. *Kwiatek K., Przeniosło M., Weiner A.*: Przewodnik do metody mikroskopowej wykrywania przetworzonego białka zwierzęcego w środkach żywienia zwierząt. Monografia. Wyd. PIWet.-PIB, Puławy 2003.
14. *Natonek-Wisniewska M., Słota E.*: Metoda identyfikacji mączki mięsno-kostnej w mieszankach paszowych opracowana w Instytucie Zootechniki. Pasze Przemysł. 2004, 10, 2-4.
15. *Polak M. P., Rożek W., Rola J., Larska M., Żmudziński J. F., Kozaczyński W., Reichert M., Wijaszka T., Roels S.*: Pierwszy przypadek BSE w Polsce. Mat. z sesji: Czy Polsce zagraża epidemia BSE? Puławy 2002, s. 95-105.
16. *Polak M. P., Żmudziński J. F.*: Diagnostyka zakaźnych gąbczastych encefalopatii. Medycyna Wet. 2000, 56, 143-149.
17. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 12 września 2003 r. w sprawie wykazu materiałów paszowych pochodzących z tkanek zwierząt, które mogą być stosowane w żywieniu zwierząt gospodarskich (Dz. U. Nr 165, poz. 1605).
18. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 23 stycznia 2003 r. w sprawie metodyki postępowania analitycznego w zakresie określania zawartości składników pokarmowych i dodatków paszowych w materiałach paszowych, prefiksach i mieszankach paszowych (Dz. U. Nr 66, poz. 613 i 614).
19. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 26 maja 2003 r. w sprawie wykazu materiałów paszowych pochodzących z tkanek zwierząt, które mogą być stosowane w żywieniu zwierząt gospodarskich (Dz. U. Nr 104, poz. 978).
20. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 30 stycznia 2004 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie wykazu materiałów paszowych pochodzących z tkanek zwierząt, które mogą być stosowane w żywieniu zwierząt gospodarskich (Dz. U. Nr 32, poz. 280).
21. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 999/2001 z dnia 22 maja 2001 r. Ustanawiające przepisy w zakresie zapobiegania, zwalczania oraz likwidacji pewnych zakaźnych encefalopatii gąbczastych.
22. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1234/2003 z dnia 10 lipca 2003 r. Zmieniające załączniki I, IV i XI do rozporządzenia (WE) nr 999/2001 Parlamentu Europejskiego i Rady oraz rozporządzenie (WE) nr 1326/2001 w odniesieniu do paszowalnych encefalopatii gąbczastych oraz żywienia zwierząt.
23. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1774/2002 z dnia 3 października 2002 r. Ustanawiające przepisy zdrowotne związane z ubocznymi produktami zwierzęcymi nie przeznaczonymi do spożycia przez ludzi.
24. *Targalia M., Saulle E., Pestalozza S., Morelli L., Antonucci G., Battaglia P. A.*: Detection of bovine mitochondrial in ruminant feeds: a molecular test for the presence of bovine-derived materials. J. Food. Prot. 1998, 5, 513-518.
25. *Taylor D. M.*: Bovine spongiform encephalopathy-the beginning of the end? Br. Vet. J. 1996, 152, 501-518.
26. *Wilesmith J., Ryan J. B. M., Atkinson M. J.*: Bovine spongiform encephalopathy: epidemiological studies on the origin. Vet. Rec. 1991, 127, 199-203.
27. *Żmudziński J. F., Polak M. P., Rożek W., Larska M.*: BSE - mity i fakty. Mat. z sesji: Czy Polsce zagraża epidemia BSE? Puławy 2002, s. 7-28.

Adres autora: doc. dr hab. Krzysztof Kwiatek, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: kwiatekk@piwet.pulawy.pl