

## Aktualna sytuacja w zakresie stosowania, metod wykrywania i identyfikacji gatunkowej mączek mięsno-kostnych

Anna Weiner, Ilona Paprocka, Agata Gołębiowska, Krzysztof Kwiatek

z Zakładu Higieny Pasz Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach

Nowoczesne, intensywne technologie chowu i hodowli zwierząt wymagają, aby stosowana w żywieniu pasza zawierała odpowiedni poziom białka pochodzenia roślinnego i zwierzęcego. Jeszcze do niedawna różnego rodzaju mączki uzyskane ze zwierząt stanowiły jedno ze źródeł wysokowartościowego, łatwo przyswajalnego białka i zwykle wchodziły w skład wytwarzanych mieszanek paszowych dla zwierząt gospodarskich i ryb. Także w żywieniu przeżuwaczy materiały paszowe pochodzenia zwierzęcego miały stosunkowo szerokie zastosowanie u wysoko produkcyjnych zwierząt.

Do takich białek zwierzęcych stosowanych w przeszłości w żywieniu przeżuwaczy można zaliczyć mączkę rybną, która w niewielkim stopniu rozkłada się w żwacu (30–45%) i odznacza się wysoką zawartością lizyny i metioniny w białku paszowym trawionym w jelicie. Podobne właściwości ma również mączka z krwi (1). Mączka mięsna lub mięsno-kostna uzyskana ze zwierząt lądowych charakteryzuje się nieco mniejszą zawartością lizyny i metioniny, a w żwacu rozkłada się tylko około 50% białka ogólnego tych mączek (2). W Polsce produkuje się mączkę keratynową z piór kurzych (z niewielkim udziałem mączki z krwi), której białko rozkłada się w żwacu w około 35%, a strawność jelitowa białka paszowego nierozłożonego w żwacu wynosi około 74%. Biorąc pod uwagę stopień rozkładu w żwacu białka ogólnego materiałów paszowych pochodzenia zwierzęcego, skład aminokwasowy białka nierozkładanego w żwacu oraz jego strawność jelitową, można przyjąć, że stanowią one dobre uzupełnienie niedoborów aminokwasowych, szczególnie u wysoko wydajnych zwierząt przeżuwających. Stąd też wynika obecny nacisk niektórych krajów, aby dopuścić mączkę rybną do żywienia przeżuwaczy.

Mączki mięsno-kostne stanowią także źródło energii i składników mineralnych. Zakaz ich stosowania sprawia, że do przemysłowych mieszanek paszowych konieczne jest dodawanie większej ilości

tłuszczu, co powoduje problemy technologiczne, ponieważ trudniej jest utrzymać odpowiednią jakość granulatu. Z kolei jego jakość ma decydujący wpływ na strawność i wykorzystanie paszy, a zatem na przyrost masy ciała czy efekty ekonomiczne. Poza tym stosowane w żywieniu zwierząt gospodarskich pasze przemysłowe trzeba często uzupełniać składnikami mineralnymi, chociażby kredą, fosforanami i chlorkiem sodu.

Wystąpienie epidemii gąbczastej encefalopatii bydła (bovine spongiform encephalopathy – BSE) spowodowało wprowadzenie szeregu aktów prawnych mających na celu ograniczenie stosowania przetworzonego białka zwierzęcego w żywieniu zwierząt gospodarskich. Pierwszy zakaz, wprowadzony w Wielkiej Brytanii 18 lipca 1988 r., dotyczył stosowania w żywieniu bydła mączek mięsno-kostnych pochodzących od przeżuwaczy. Z początkiem lipca 1994 r. wprowadzono zakaz karmienia bydła, owiec i kóz mączką mięsno-kostną ze ssaków. Następnie w 2001 r. wstrzymano całkowicie stosowanie przetworzonego białka zwierzęcego w paszach dla zwierząt gospodarskich przeznaczonych do produkcji surowców i produktów żywnościowych pochodzenia zwierzęcego (3). Wyjątek stanowi mączka rybną, którą dopuszczono do karmienia zwierząt innych niż przeżuwacze. W kolejnych latach wprowadzono akty prawne precyzujące zakaz stosowania produktów pochodzenia zwierzęcego w żywieniu zwierząt gospodarskich (4, 5, 6, 7, 8). Ze względu na fakt, że obowiązujące przepisy nie przewidują żadnych poziomów tolerancji, obecność zabronionych składników pochodzenia zwierzęcego w paszach stanowi naruszenie zakazu paszowego.

Zgodnie z obecnie obowiązującym rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1069/2009 i rozporządzeniem Komisji (UE) nr 142/2011 (6, 8) zakazane jest stosowanie przetworzonego białka pochodzenia zwierzęcego w następujących przypadkach:

1) żywienia zwierząt lądowych danego gatunku, innych niż zwierzęta futerkowe,

### Prospects of implementation of meat and bone meal into the animal nutrition

Weiner A., Paprocka I., Gołębiowska A., Kwiatek K., Department of Hygiene of Animal Feedingstuffs, National Veterinary Research Institute, Pulawy

The recent bovine spongiform encephalopathy (BSE) epidemic is strongly suspected to have arisen from feeding cattle with rendered protein materials derived from scrapie-infected sheep tissues. BSE spreading was highly correlated with the absence of stringent control and rendering processes. Many regulations have been put in place to prevent the introduction and spread of BSE in various regions. Since 1988, a ban on enriching cattle feeds with ruminant derived proteins has led to decline of BSE incidence in the UK. At present, a ban on feeding farm animals with animal derived proteins is in force in EU. In EU the only validated and accepted method of detecting animal protein is classical microscopy. Intensive works are conducted above drawing up and implementing the PCR method allowing for the species identification of the processed animal protein. Current results obtained from the use of the microscopic and PCR techniques allow to state that the molecular biology method can, at present, be used as a supplementary method.

**Keywords:** meat and bone meal, processed animal protein detection, microscopy, PCR

przetworzonym białkiem zwierzęcym ze zwierząt tego samego gatunku, ale dopiero po spełnieniu dodatkowych środków kontroli;

- 2) żywienia zwierząt odpadami gastronomicznymi lub materiałami paszowymi zawierającymi odpady gastronomiczne lub z nich wyprodukowanych, z wyjątkiem zwierząt futerkowych;
- 3) żywienia zwierząt gospodarskich paszami roślinnymi pozyskanymi z użytków i wypasanie na pastwiskach, na których zastosowano nawozy organiczne lub polepszacze gleby inne niż obornik przed upływem okresu karencji, wynoszącym 21 dni;
- 4) żywienia ryb hodowlanych przetworzonym białkiem pochodzącym z ryb tego samego gatunku.

Zgodnie z obowiązującymi przepisami prawnymi (6, 8) dopuszczone do stosowania w żywieniu zwierząt gospodarskich są następujące produkty:

- 1) mleko i produkty na bazie mleka, siara;
- 2) jaja i przetwory jajeczne;
- 3) żelatyna pochodząca od zwierząt innych niż przeżuwacze;
- 4) hydrolizaty białkowe pochodzące od zwierząt innych niż przeżuwacze oraz ze skór i skórek przeżuwaczy;

5) tłuszcz paszowy.

Ponadto zwierzęta inne niż przeżuwacze mogą być karmione:

- 1) mączkami rybnymi;
- 2) fosforanami dwuwapniowym i trójwapniowym pochodzącymi od zwierząt innych niż przeżuwacze;
- 3) produktami z krwi pochodzącymi od zwierząt innych niż przeżuwacze.

Wyjątek stanowią młode, nieodsadzone przeżuwacze, u których można zastosować produkty mlekozastępcze zawierające mączkę rybną. Możliwość wykorzystania przetworzonych białek pochodzenia zwierzęcego według aktualnie obowiązujących przepisów zestawiono w tabeli 1.

Ponadto trzeba zaznaczyć, że rozporządzenie Komisji (UE) określa wymagania dla tłuszczów paszowych oraz hydrolizatów białkowych (5). Zgodnie z wytycznymi zawartość nierozpuszczalnych zanieczyszczeń stałych w tłuszczach paszowych pochodzących od przeżuwaczy nie powinna przekraczać 0,15%, a w odniesieniu do hydrolizatów białkowych pozyskanych od przeżuwaczy masa cząsteczkowa nie powinna przekraczać 10 000 Da.

W lipcu 2010 r. Komisji Europejska wydała komunikat do Parlamentu Europejskiego i Rady zatytułowany „Druga mapa drogowa dla TSE. Dokument strategiczny w sprawie pasażowalnych encefalopatii gąbczastych na lata 2010–2015” (9). Dokument ten został wydany w celu przybliżenia planowanych zmian pod kątem dostosowywania przepisów

prawnych do sytuacji, w której Unia Europejska jest bliska wyeliminowaniu BSE z populacji bydła. Niemniej jednak konieczne jest zachowanie czujności i stałe monitorowanie sytuacji na wypadek pojawienia się nowych ognisk BSE lub nowego czynnika wywołującego TSE. Zmiany w przepisach, zgodnie z komunikatem, mają być wprowadzane stopniowo w oparciu o naukową ocenę ryzyka opracowaną przez Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA). Ponadto wprowadzane zmiany muszą uwzględniać istniejące metody badawcze wykorzystywane do kontroli.

Proponowane na poziomie Unii Europejskiej zmiany mają dotyczyć stopniowego uchylania zakazu paszowego, przy jednoczesnym uwzględnieniu dwóch opcji rozwiązań opisanych w punktach 1 i 2, a mianowicie:

**Określenie poziomu tolerancji zawartości przetworzonego białka w paszach przeznaczonych dla zwierząt hodowlanych**

Obecnie jedyną uznaną, referencyjną metodą badania pasz w kierunku obecności przetworzonego białka pochodzenia zwierzęcego jest metoda mikroskopowa. Aktualnie stosowana metoda opisana jest w rozporządzeniu Komisji (WE) nr 152/2009 (10). Badanie polega na wykrywaniu składników pochodzenia zwierzęcego w paszach przy użyciu mikroskopu

biologicznego i stereoskopowego. Elementy te są wykrywane i identyfikowane na podstawie typowych cech morfologicznych dla tkanek pochodzenia zwierzęcego, tj. włókna mięśniowe, tkanka chrzęstna, kości, rogi, włosie, szczecina, krew, pióra, skorupy jaj, ości ryb, łuski, skrzela. Metoda mikroskopowa jest metodą jakościową i pozwala na wykrycie obecności oraz w pewnym stopniu różnicowanie przetworzonego białka zwierzęcego pochodzącego ze zwierząt lądowych i ryb (11). Podstawową zaletą tej prostej technicznie metody jest możliwość wykrywania stosunkowo niskich zawartości składników pochodzenia zwierzęcego w paszach, na poziomie 0,1%. Jednak metoda ta ma wiele wad, wśród których należy wymienić czasochłonność, gdyż dokładne zbadanie jednej próbki wymaga niekiedy ok. 2 godzin. Ponadto poziom wykrywalności składników pochodzenia zwierzęcego w dużej mierze zależy od wiedzy i doświadczenia osoby wykonującej badanie.

Laboratorium Referencyjne Unii Europejskiej ds. Białka Zwierzęcego (EURL-AP) przeprowadziło badania mające na celu ocenę przydatności metody mikroskopowej pod względem określenia składu ilościowego składników pochodzenia zwierzęcego w paszach. Jednak otrzymane wyniki badań międzylaboratoryjnych tej metody są niezadowolające. Oznacza to, że metoda ta nie pozwala w sposób wiarygodny oszacować łącznej ilości białka zwierzęcego w paszy. Z tego względu

Tabela 1. Zestawienie aktualnie obowiązujących przepisów dotyczących zakazu paszowego (9)

Rodzaje przetworzonego białka pochodzenia zwierzęcego	Gatunki zwierząt			
	zwierzęta hodowlane z wyjątkiem futerkowych			zwierzęta domowe i futerkowe
	przeżuwacze	inne niż przeżuwacze (oprócz ryb)	ryby	
Przetworzone białko zwierzęce, oprócz mączki z krwi i mączki rybnej	NZ	NZ	NZ	Z
Mączka z krwi przeżuwaczy	NZ	NZ	NZ	Z
Produkty krwiopochodne pochodzące od przeżuwaczy	NZ	NZ	NZ	Z
Żelatyna pochodząca od przeżuwaczy	NZ	NZ	NZ	Z
Białka hydrolizowane, oprócz białek pochodzących od zwierząt innych niż przeżuwacze lub pochodzących ze skór pozyskanych od przeżuwaczy	NZ	NZ	NZ	Z
Mączka z krwi zwierząt innych niż przeżuwacze	NZ	NZ	Z	Z
Mączka rybną	NZ*	Z	Z	Z
Produkty krwiopochodne pochodzące od zwierząt innych niż przeżuwacze	NZ	Z	Z	Z
Fosforany dwuwapniowy i trójwapniowy pochodzenia zwierzęcego	NZ	Z	Z	Z
Białko hydrolizowane pochodzące od zwierząt innych niż przeżuwacze lub pochodzące ze skór pozyskanych od przeżuwaczy	Z	Z	Z	Z
Żelatyna pochodząca od zwierząt innych niż przeżuwacze	Z	Z	Z	Z
Jaja, przetwory jajeczne, mleko, przetwory mleczne, siara	Z	Z	Z	Z
Białko zwierzęce inne niż wyżej wymienione	NZ	Z	Z	Z

\* - zatwierdzone są preparaty mlekozastępcze zawierające mączkę rybną i przeznaczone są wyłącznie dla nieodsadzonych przeżuwaczy

NZ - niezatwierdzone

Z - zatwierdzone

zrezygnowano z kontynuowania dalszych badań w tym zakresie i skoncentrowano się na metodach wykorzystujących technikę PCR.

### Uchylenie przepisów dotyczących zakazu paszowego w odniesieniu do zwierząt innych niż przeżuwacze (świnie, drób, ryby)

Przetworzone białko zwierzęce może być źródłem białka dla zwierząt gospodarskich innych niż przeżuwacze, które wymagają karmienia paszą zawierającą wysokiej jakości białko. Ze względu na fakt, że ryzyko przeniesienia BSE między zwierzętami nieprzeżuwającymi jest minimalne można brać pod uwagę uchylenie zakazu w odniesieniu do stosowania przetworzonego białka zwierzęcego pochodzącego od zwierząt innych niż przeżuwacze w paszach dla zwierząt nieprzeżuwających. Jednak należy zwrócić uwagę, że nadal obowiązywałby zakaz powtórnego przetwarzania wewnątrzgatunkowego, czyli np. mączka mięsno-kostna z drobiu mogłaby być podawana wyłącznie świnom. Możliwe byłoby to jedynie w przypadku dostępności wiarygodnych metod badawczych w zakresie identyfikacji pochodzenia gatunkowego przetworzonego białka zwierzęcego (12, 13). Laboratorium Referencyjne Unii Europejskiej ds. Białka Zwierzęcego (EURL-AP) aktualnie sprawdza nowe metody diagnostyczne umożliwiające identyfikację gatunkową (przeżuwacze, drób, świnia) mączki mięsno-kostnej w paszy. W lutym 2012 r. zakończono badania walidacyjne metody wykrywania i identyfikacji gatunkowej przetworzonego białka pochodzącego od przeżuwaczy z zastosowaniem techniki Real-Time PCR. Zakończono badania biegłości zorganizowane przez EURL-AP z wykorzystaniem nowo opracowanej procedury. Uzyskane wyniki badań biegłości są obecnie analizowane przez organizatora, a następnie będą przedstawione Komisji Europejskiej. Na podstawie uzyskanych rezultatów zostanie najprawdopodobniej podjęta decyzja, czy i na jakich zasadach metoda zostanie wprowadzona do rutynowego badania pasz. W przypadku pozytywnej oceny dla metody Real-Time PCR wykrywania i identyfikacji gatunkowej przetworzonego białka przeżuwaczy będzie szansa na wprowadzenie pod koniec bieżącego roku tej metody do praktyki laboratoryjnej. Wszystko wskazuje na to, że metoda PCR będzie służyć jako uzupełnienie referencyjnej metody mikroskopowej.

Konieczność stosowania w urzędowej kontroli dwóch metod analitycznych wynika z faktu, że mikroskopowa metoda referencyjna nie pozwala na wykrycie

obecności niektórych składników pochodzenia zwierzęcego, tj. serwatka i mleko w proszku, plazma suszona, tłuszcz, składniki kolagenowe czy produkty z jaj. Natomiast przy użyciu metody PCR istnieje możliwość uzyskiwania poprawnych wyników niezależnie od obecności składników o charakterystycznej strukturze morfologicznej, również produktów, których obecności nie można potwierdzić metodą referencyjną (14, 15). Przy zastosowaniu metody PCR, w przypadku obecności mleka w proszku, serwatki, produktów z krwi lub tłuszczu bez deklaracji, istnieje duże prawdopodobieństwo otrzymania wyniku fałszywie dodatniego.

Warto podkreślić, że wynik dodatni uzyskany w badaniu metodą opartą na technice PCR nie pozwala na określenie źródła pochodzenia białka, czy jest to np. białko mleka w proszku czy mączki mięsno-kostnej. Dodatkowo na przebieg reakcji PCR może wpływać wiele czynników powodujących zakłócenie toku analitycznego i otrzymanie wyników fałszywie dodatnich lub ujemnych, np. dodatek preparatów witaminowo-mineralnych (12).

Podsumowując, prowadzone są intensywne prace nad uchyleniem zakazu stosowania przetworzonego białka zwierzęcego w żywieniu zwierząt gospodarskich. Jednak nadal będzie obowiązywał zakaz powtórnego przetwarzania wewnątrzgatunkowego. Warunkiem koniecznym do wprowadzenia takich zmian jest dostępność wiarygodnych i precyzyjnych metod umożliwiających identyfikację gatunkową przetworzonego białka zwierzęcego. Liberalizacja zakazu i możliwość stosowania przetworzonego białka zwierzęcego w żywieniu i produkcji mieszanek paszowych dla zwierząt nieprzeżuwających umożliwiłyby zmniejszenie deficytu białka w przemyśle paszowym.

### Piśmiennictwo:

1. Relquin H., Verite R., Guinard G., Pisulewski P.M.: *Dairy cows requirements for amino acids. Animal science research and development: moving toward a new century.* Centre of Food and Animal Research. Agriculture and AgriFood, 1995 Canada, Ottawa, Kanada, s. 142-160.
2. INRA. Institut National de la Recherche Agronomique: *Ruminant Nutrition.* John Lilbey Eurotext, 1988 London-Paris, s. 203.
3. 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 (L 147, 31.05.2001)
4. 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 pasażowalnych encefalopatii gąbczastych oraz żywienia zwierząt (L 173/6, 11.07.2003).
5. Rozporządzenie Komisji (WE) 808/2003 z dnia 12 maja 2003 r. zmieniające rozporządzenie 1774/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady ustanawiające przepisy zdrowotne dotyczące produktów ubocznych pochodzenia zwierzęcego nieprzeznaczonych do spożycia przez ludzi (L 117/1, 13.05.2003)

6. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1069/2009 z dnia 21 października 2009 r. określające przepisy sanitarne dotyczące produktów ubocznych pochodzenia zwierzęcego, nieprzeznaczonych do spożycia przez ludzi, i uchylające rozporządzenie (WE) nr 1774/2002 (rozporządzenie o produktach ubocznych pochodzenia zwierzęcego). (L 300/1, 14.11.2009).
7. Rozporządzenie Komisji (UE) Nr 595/2010 z dnia 2 lipca 2010 r. zmieniające załączniki VIII, X i XI do rozporządzenia (WE) Nr 1774/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady ustanawiającego przepisy sanitarne dotyczące produktów ubocznych pochodzenia zwierzęcego, nieprzeznaczonych do spożycia przez ludzi (L 173/1, 08.07.2010)
8. Rozporządzenie Komisji (UE) Nr 142/2011 z dnia 25 lutego 2011 r. w sprawie wykonania rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1069/2009 określającego przepisy sanitarne dotyczące produktów ubocznych pochodzenia zwierzęcego, nieprzeznaczonych do spożycia przez ludzi, oraz w sprawie wykonania dyrektywy Rady 97/78/WE w odniesieniu do niektórych próbek i przedmiotów zwolnionych z kontroli weterynaryjnych na granicach w myśl tej dyrektywy (L 54/1, 26.02.2011)
9. Komunikat Komisji do Parlamentu Europejskiego i Rady. Druga mapa drogowa dla TSE. Dokument strategiczny w sprawie pasażowalnych encefalopatii gąbczastych na lata 2010-215.
10. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 152/2009 z dnia 27 stycznia 2009 r. ustanawiające metody pobierania próbek i dokonywania analiz do celów urzędowej kontroli pasz (L 54/1, 26.02.2009).
11. Van Raamsdonk L.W.D., Pinotti L., Veys P., Bremer M., Hekman W., Kemmers A., Campagnoli A., Paltanin C., Belinchon Crespo C., Vlieghe J., Pinckaers V. & Jørgensen J. S.: New developments in classical microscopy; what can be expected for the official control? *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2011, **15**(S1), 15-24.
12. Fumiere O., Veys P., Boix A., von Holst C., Baeten V., Berben G.: Methods of detection, species identification and quantification of processed animal protein in feedingstuffs. *Biotech. Agron. Soc. Environ.* 2009, **13**(S), 57-70.
13. Rodríguez M.A., García T., Gonzáles I., Asensio L., Hernández P.E., Martín R.J.: PCR identification of beef, sheep, goat and pork in raw and heat-treated meat mixtures. *J. Food Prot.* 2004, **67**, 172-177.
14. Martín I., García T., Fajardo V., López-Calleja I., Hernández P.E., González I., Martín R. Species-specific PCR for the identification of ruminant species in feedstuffs. *Meat Sci.* 2007, **75**, 120-127.
15. Frezza D., Giambra V., Chegiani F., Fontana C., Maccabiani G., Losio N., Faggionato E., Chiappini B., Vaccari G., von Holst C., Lanni L., Saccares S., Ajmone-Marsan P.: Standard and light-cycler PCR methods for animal DNA species detection in animal feedstuffs. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 2008, **9**, 18-23.

Dr Anna Weiner, Zakład Higieny Pasz, Państwowy Instytut Weterynaryjny, al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy