

ВИЯВЛЕННЯ КРОВ'ЯНОГО БОРОШНА У КОРМАХ ДЛЯ ТВАРИН

І. Я. Коцюмбас, Г. П. Ривак, Т. Р. Левицький, Т. І. Шарій

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів
та кормових добавок

Представлено метод мікроскопічної ідентифікації кров'яного борошна, а також виявлення його у кормах для тварин. Після специфічної обробки зразка та отримання ситових фракцій, дослідження проводять за допомогою стерео- та біологічного мікроскопів при різних діапазонах збільшення у прохідному та поляризованому світлі із застосуванням об'ємного реагенту — гліцерину. Метод мікроскопічної ідентифікації компонентів тваринного походження у кормах дозволяє виявляти у складі комбікормів кров'яне борошно, а також відрізнити його від іншої сировини тваринного походження (м'ясо-кісткового, рибного, пір'яного борошна тощо) та може застосовуватися для виявлення фальсифікації кормів, що має важливе значення для попередження виникнення пріонних інфекцій у тварин.

Вперше гіпотезу, щодо виникнення і поширення губчастоподібної енцефалопатії (ГЕ) пов'язане із згодовуванням тваринного борошна (кісткового, м'ясо-кісткового, кров'яного тощо), було опубліковано у Великій Британії ще в 1988 році. Дослідженнями доведено, що основним шляхом потрапляння збудника ГЕ в організм ВРХ та інших тварин є пероральний, при поїданні тваринного борошна, чи інших продуктів тваринного походження. Тому, належний контроль за кормами та кормовою сировиною, яка вноситься в склад комбікормів, є важливою ланкою у запобіганні розповсюдження такої небезпечної пріонної інфекції тварин і людей, як губчастоподібна енцефалопатія.

Наказом № 180 від 4.09.2008 р. Державним комітетом ветеринарної медицини України було затверджено «Інструкцію щодо діагностики, профілактики та боротьби з губчастоподібною енцефалопатією великої рогатої худоби», в якій зазначено необхідність здійснення спеціалістами ветеринарної медицини безперервного епізоотологічного моніторингу ГЕ ВРХ щодо: кормів, комбікормів, кормових добавок, сировини, які містять білки жуйних тварин та компоненти тваринного походження. Для профілактики цього захворювання державні лабораторії ветеринарної медицини зобов'язані проводити дослідження кормів, комбікормів та кормових добавок для тварин (крім птиці та риби) на наявність у них білків жуйних та компонентів тваринного походження.

На виконання цього наказу в лабораторії контролю кормових добавок і преміксів ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок адаптовано і впроваджено комплекс лабораторних методів досліджень кормів, кормових добавок, сировини та продуктів тваринного походження щодо виявлення у їх складі недозволених компонентів тваринного походження та тканин жуйних.

Аналітичний метод мікроскопічної ідентифікації, який впроваджено в лабораторії, полягає у виявленні перероблених компонентів тваринного походження у кормах, кормових добавках і кормовій сировині на основі їх морфологічних характерних та гістологічних ознак. Вимоги, правила та порядок проведення аналітичного методу мікроскопічної ідентифікації компонентів тваринного походження в ЄС до 2009 року були встановлені директивою 2003/126 від 23 грудня 2003. У 2009 році в ЄС було введено в дію розпорядження 152/2009 від 27.01.2009 р. стосовно методів контролю, які необхідно проводити при державному контролі кормів, в тому числі, і аналітичного методу мікроскопічної ідентифікації. В Європейському Союзі цей метод є арбітражним методом контролю кормових матеріалів, особливо при виявленні тканин тваринного походження,

оброблених при високих температурі і тиску ($133^{\circ}\text{C}/3\text{ Bar}/20'$).

Одним із компонентів тваринного походження, яке є потенційним джерелом пріонних інфекцій і часто застосовується у складі комбікормів для балансування їх поживності, є кров'яне борошно, що виготовляється з крові тварин з додаванням 5 % кісток. Це найбагатший протеїном корм. У ньому міститься від 73 до 81 % протеїну, 3–5 % жиру, 9–11 % вологи. Однак, протеїн кров'яного борошна невисокої якості, він бідний метіоніном, ізолейцином, гліцином. Дещо нижча вартість кров'яного борошна стає приводом для фальсифікації ним високобілкової сировини і додавання його у корми для тварин з метою балансування раціонів за вмістом протеїну.

Матеріали і методи. Аналітичний метод мікроскопічної ідентифікації використовується для виявлення компонентів тваринного походження (визначених як продукти переробки тіл або частин тіл ссавців, птиці і риб) у кормах, кормових добавках і кормовій сировині. Виконується за допомогою двоступеневої мікроскопічної ідентифікації з використанням біологічного і стереомікроскопів при різних діапазонах збільшення, у прохідному та темному полі з використанням об'ємних реагентів, реактивів забарвлення та знебарвлення і цифрової камери з системою обробки зображення.

Для проведення досліджень та вивчення макро- і мікроскопічних характеристик було взято зразки кров'яного борошна, а також приготовлено зразки рибного борошна і комбікорму з його вмістом для ідентифікації методом мікроскопії.

У ситових фракціях технікою мікроскопії передбачено просіювання проби через сита лабораторні і отримання щонайменше двох фракцій.

Фракція (або фракції) ситова $>0,5$ мм розсипається рівномірно тонким шаром у чашці Петрі і систематично розглядається під стереомікроскопом при різних збільшеннях, у пошуках інгредієнтів тваринного походження. Препарати, отримані з ситової фракції $<0,5$ мм систематично розглядають під мікроскопом біологічним при різних збільшеннях і різному освітленні, у пошуках інгредієнтів тваринного походження.

Після проведення седиментації (розділення) за допомогою тетраклоретилену, з отриманого осаду і флотату готують мікропрепарати. Для цього на предметне скло шпателем наносять невелику кількість, відповідно приготованої досліджуваної проби, додають 3–4 краплі гліцерину або парафінової олії (об'ємний реагент) і розглядають під біологічним мікроскопом при різних діапазонах збільшення.

Результати й обговорення. Кров'яне борошно, в залежності від способу отримання, навіть без застосування реактивів і будь-якої обробки, має специфічний зовнішній вигляд, а також має характерні особливості при розгляді під стерео- та біологічним мікроскопами.

Кров'яне борошно при розгляді під стереомікроскопом, має вигляд порошку темно-червоного або чорного кольору з нерегулярними фрагментами (грудочками). Також, кров'яне борошно може мати вигляд червоно-чорного пилу, а при розгляді під стереомікроскопом — дрібно-дисперсного порошку матового темного червоно-чорного кольору з кулястими фрагментами (рис. 1, 2). Дослідження кров'яного борошна під стереомікроскопом проводилися без застосування реактивів, при різних збільшеннях.

Рис. 1. Кров'яне борошно
(стереомікроскоп, 4х)

Рис. 2. Кров'яне борошно
(стереомікроскоп, 7х)

На рисунках 3 і 4 показано, який вигляд має кров'яне борошно під біологічним мікроскопом при застосуванні об'ємного реактиву — гліцерину в різних діапазонах збільшення у прохідному та поляризованому світлі.

Рис. 3. Кров'яне борошно
(біологічний мікроскоп, гліцерин, 10х)

Рис. 4. Кров'яне борошно
(біологічний мікроскоп, гліцерин, 40х)

Під біологічним мікроскопом у мікропрепараті з гліцерином кров'яне борошно має вигляд нерегулярних склеєних часточок темно-червоного кольору. Окрім фрагментів крові, у кров'яному борошні при огляді мікропрепаратів, приготованих з фракції осаду в гліцерині, під біологічним мікроскопом можна виявити фрагменти кісток (рис. 5).

Після проведення седиментації наважки зразка комбікорму згідно з методикою, було приготовано мікропрепарати із застосуванням гліцерину. При розгляді цих мікропрепаратів під біологічним мікроскопом при збільшенні 10х10 у комбікормі для свиней виявлено фрагменти кров'яного борошна (рис. 6).

Зразок рибного борошна також було приготовано згідно з методикою, і при розгляді мікропрепаратів із застосуванням гліцерину при різних діапазонах у прохідному світлі виявлено фрагменти кров'яного борошна (рис. 7, 8).

*Рис. 5. Кров'яне борошно
(біологічний мікроскоп, 5х)*

*Рис. 6. Кров'яне борошно в комбікормі
(біологічний мікроскоп, 10х, гліцерин)*

*Рис. 7. Кров'яне борошно в рибному борошні
(біологічний мікроскоп, гліцерин, 20х)*

*Рис. 8. Кров'яне борошно в рибному борошні
(біологічний мікроскоп, гліцерин, 10х)*

Крім кров'яного борошна у полі зору мікроскопа видно фрагменти м'язових волокон, луски з риб.

Для одержання достовірних результатів нами було досліджено по три мікропрепарати кожної фракції, отриманої після седиментації і зроблено висновок, що рибне борошно та комбікорм для свиней містять у своєму складі кров'яне борошно.

У подальшому, для встановлення видової приналежності кров'яного борошна застосовують метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), що базується на виділенні з корму специфічної для певного виду тварин ДНК, її ампліфікації з наступною ідентифікацією за допомогою електрофорезу та відеосистеми обробки зображення.

В И С Н О В К И

Метод мікроскопічної ідентифікації компонентів тваринного походження у кормах дозволяє виявляти у складі комбікормів кров'яне борошно, а також відрізнити його від іншої сировини тваринного походження (м'ясо-кісткового, рибного, пір'яного борошна тощо) та може застосовуватися для виявлення фальсифікації кормів, що має важливе значення для попередження виникнення пріонних інфекцій у тварин.

Перспективи подальших досліджень. Дослідження продовжуватимуться в напрямку проведення мікроскопічної ідентифікації рослинних компонентів у кормах, а також вітамінів та мінералів у преміксах.

DETECTION OF BLOOD MEAL IN ANIMAL FEED

I. Ya. Kotsyumbas, G. P. Ryvak, T. R. Levytskiy, T. I. Shariy

State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medical Products and Fodder Additives

S U M M A R Y

Method of microscopic identification of blood meal and its detection in animal feed had been presented. After a specific sample processing and receiving screens fractions, researches are conducted using stereo- and biological microscopes at different ranges of increase in transmitted polarized light and using a bulk reagent — glycerol. Method of microscopic identification of components of animal origin in feed can detect blood meal in animal feed, and distinguish it from other raw materials of animal origin (meat-bone, fish, feather meal etc.) and can be used to detect fraud feed which is important for the prevention of prion infection in animals.

ВЫЯВЛЕНИЕ КРОВЯНОЙ МУКИ В КОРМАХ ДЛЯ ЖИВОТНЫХ

И. Я. Коцюмбас, Г. П. Рывак, Т. Р. Левицкий, Т. И. Шарий

Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных препаратов и кормовых добавок

А Н Н О Т А Ц И Я

Представлен метод микроскопической идентификации кровяной муки, а также выявление ее в кормах для животных. После специфической обработки образца и получения ситовых фракций, исследование проводится с помощью стерео- и биологического микроскопов при различных диапазонах увеличения в проходящем и поляризованном свете с применением объемного реагента — глицерина. Метод микроскопической идентификации компонентов животного происхождения в кормах позволяет выявлять в составе комбикормов кровяную муку, а также отличить ее от другого сырья животного происхождения (мясо-костной, рыбной, перьевой муки и т. д.) и может применяться для выявления фальсификации кормов, что имеет важное значение для предупреждения возникновения прионных инфекций у животных.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. Krzysztof Kwiatek, Monika Przenioslo, Anna Weiner. Przewodnik do metody mikroskopowej wykrywania przetworzonego bialka zwierzecego w srodkach zywienia zwierzat. 24-100 Pulawy, 2004.
2. Kwiatek K. Oznaczanie przetworzonego bialka zwierzecego w srodkach zywienia zwierzat. Materiały z kursu laboratoryjnego dla ZHW. Pulawy, 2002.
3. Slota E., Natonek M., Zyga A. Wykrywanie komponentu zwierzecego w paszach. Wiadomosci Zootechniczne — 2003. — 41 (1), S. 15–17.
4. Slota E., Natonek M., Zyga A. Wykrywanie i analiza materialu zwierzecego w

pozywieniu i paszach // Biuletyn Informacyjny IZ — 2001. — S. 39 (2), 19–24.

5. Microscopic method in processed animal proteins identification in feed: application of image analysis // Luciano Pinotti, Anna Campagnoli, Gianluca Tognon et al. // *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2004. — 8 (4). — P. 249–251.

6. Розпорядження ЄС 152/2009 від 27.01.2009 р.

7. Kwiatek K., Weiner A., Przenioslo M. Presence of processed animal protein in feedingstuffs for ruminants // *Bull. Veter. Inst. in Pulawy*, 2003. — Vol. 47, № 2. — P. 515–521.

8. Pinotti L., Campagnoli A., Tognon G. Microscopic method in processed animal proteins identification in feed: applications of image analysis // *Biotechnol. Agron. Soc. Environnem.*, 2004. — Vol. 8, № 4. — P. 249–251.

9. Roetschi A., Frick G., Hauswirth H. Analyses des aliments pour animaux: verification de la composition par microscopie // *Rev. suisse Agr.*, 2003. — Vol. 35, № 3. — P. 131–138.

Рецензент — кандидат ветеринарних наук О. М. Щербентовська, ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок.