

Streszczenie

Obowiązek znakowania triheptanianem glicerolu (GTH) ubocznych przetworzonych produktów pochodzenia zwierzęcego, zaliczonych, zgodnie z Rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1069/2009 z dnia 21 października 2009 r., do kategorii 1 lub 2, wprowadzono 1 lipca 2008 roku. Kontrola właściwego stosowania GTH jako markera, wymagała opracowania metod analitycznych, które mogłyby być z powodzeniem stosowane przez urzędowe laboratoria. W związku z powyższym podjęto w tym zakresie przedmiotowe badania metodyczne, które są przedmiotem niniejszej rozprawy.

W części wstępnej niniejszej pracy przedstawiono krótki opis historii przemysłu utylizacyjnego oraz możliwe przyczyny i przypadki występowania gąbczastych encefalopatii bydła. Dokonano również przeglądu przepisów przedmiotowego prawa, które od lat osiemdziesiątych XX wieku systematycznie wprowadzano w celu wyeliminowania sytuacji kryzysowych związanych z występowaniem BSE w Europie i na świecie. W tym rozdziale przedstawiono także kategoryzację produktów ubocznych pochodzenia zwierzęcego, ich źródła, sposoby przetwarzania oraz możliwe zagospodarowanie. Scharakteryzowano substancję chemiczną, a mianowicie triheptanian glicerolu, który wybrano jako marker do znakowania produktów kategorii 1 i 2 oraz wyjaśniono definicje odnoszące się do produktów pochodnych.

Głównym celem prowadzonych badań była optymalizacja i doskonalenie ogólnych wytycznych metodycznych, a następnie wdrożenie do praktyki laboratoryjnej opracowanych metod oznaczania triheptanianu glicerolu w ubocznych przetworzonych produktach pochodzenia zwierzęcego oraz opracowanie i wdrożenie metody oznaczania markera w paszach. W oparciu o dostępne piśmiennictwo, zaplanowano opracowanie metodyk przy wykorzystaniu techniki chromatografii gazowej z różnymi rodzajami detekcji.

W części doświadczalnej pracy scharakteryzowano materiał użyty do badań – rodzaj i liczbę wykorzystanych próbek, stosowane odczynniki i substancje wzorcowe, wykorzystane wyposażenie oraz materiały pomocnicze. Nakreślono także schemat opracowanych metodyk oznaczania GTH w ubocznych przetworzonych produktach pochodzenia zwierzęcego i paszach oraz opisano parametry, które, zgodnie z wymaganiami, powinny charakteryzować metodę badawczą.

W przypadku optymalizacji metodyk oznaczania GTH w ubocznych przetworzonych produktach pochodzenia zwierzęcego, jak i przy opracowaniu metodyki wykrywania i oznaczania markera w paszach, szczególny nacisk położono na optymalizację warunków

pracy aparatury pomiarowej (chromatograf gazowy, kolumna wraz z termostatem, przepływ gazu nośnego, dozownik oraz detektor). Ważnym elementem realizacji założonych celów było również udoskonalenie etapów ekstrakcji i oczyszczania tłuszczu wraz z zawartym w nim markerem.

Opracowane w formie procedur badawczych metody chromatograficzne zostały w pełni zwalidowane zgodnie z wymaganiami określonymi w Decyzji 2002/657/EC. Dokonano również sprawdzenia metodyk umożliwiających oznaczanie zawartości GTH w ubocznych przetworzonych produktach pochodzenia zwierzęcego w porównaniach międzylaboratoryjnych. Uzyskane wyniki potwierdziły, że opracowane procedury charakteryzują się wiarygodnością, a wyniki uzyskiwane przy ich użyciu są porównywalne z wynikami otrzymywanymi przez inne laboratoria krajowe i zagraniczne. Metody zostały wdrożone do praktyki laboratoryjnej i są wykorzystywane w urzędowych badaniach kontrolnych prowadzonych w kraju.

W latach 2010 – 2021 przebadano ogółem 1819 próbek, z czego większość stanowiły mączki mięsno – kostne (899 próbek) oraz tłuszcz utylizacyjny (820 próbek). W 2022 roku przebadano dodatkowo 64 próbki mieszanek paszowych dla drobiu, pobrane w ramach projektu, mającego na celu monitoring zanieczyszczeń chemicznych w paszach dla zwierząt gospodarskich w świetle aktualnych wymagań prawa żywnościowego. Próbki niespełniające wymagań w rozumieniu obowiązujących przepisów prawa, czyli mączki mięsno – kostne oraz tłuszcze kategorii 1 i 2, w których zawartość markera GTH nie osiągnęła poziomu 250 mg/kg masy tłuszczu stanowiły około 10,6% (193 próbki). Natomiast w żadnej próbce mieszanek paszowych dla drobiu, przebadanych przy użyciu opracowanej do tego celu metodyki, nie stwierdzono obecności markera GTH, co może świadczyć to o tym, że do ich produkcji nie zostały wykorzystane niedozwolone mączki mięsno – kostne bądź tłuszcze kategorii 1 i 2.

Założone cele niniejszej dysertacji zostały zrealizowane, a przygotowane w ramach pracy procedury badawcze spełniają potrzeby i wymagania w zakresie monitorowania prawidłowego stosowania markera GTH w ubocznych przetworzonych produktach pochodzenia zwierzęcego oraz wykrywania i oznaczania tego markera w paszach.

Summary

Mandatory labelling with glycerol triheptanoate (GTH) of processed animal by-products, which fall under category 1 or 2 in accordance with Regulation (EC) No. 1069/2009 of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009, was introduced on July 1, 2008. The control of the proper use of GTH as a marker required the development of analytical methods that could be successfully used by official laboratories. Therefore, methodological research was undertaken in this regard, which is the subject of this dissertation.

The introduction to this thesis provides a brief overview of the history of the rendering industry and the possible causes and cases of bovine spongiform encephalopathies. This section discusses the legislation that has been systematically introduced since the 1980s to prevent BSE emergencies in Europe and worldwide. The chapter also includes a categorization of animal by-products, their sources, methods of processing and possible uses. It characterizes glycerol triheptanoate, a substance selected for marking products falling under category 1 and 2, and explains definitions related to derived products.

The main objective of the conducted research was to optimize and improve the general methodological guidelines, and then to implement the developed methods for the determination of glycerol triheptanoate in processed animal by-products in the laboratory practice, and to develop and implement a method for determining the marker in feed. Based on the available literature, gas chromatography technique with various types of detection was selected as the most suitable technique for the planned methodologies.

In the experimental part of this dissertation, the materials used in the research were characterized, including the type and number of samples, the reagents and reference substances, the equipment and auxiliary materials. A scheme of the developed methodologies for the determination of GTH in processed animal by-products and feeds was also outlined, and the parameters that, according to the requirements, should characterize the research method were described.

In the case of optimizing the methods for GTH determination in processed animal by-products, as well as the development of the method for detecting and determining the marker in feed, particular emphasis was placed on optimizing the working conditions of the instrumental part of the method (gas chromatograph, column with thermostat, carrier gas flow, dispenser and detector). Moreover, the pivotal elements in achieving the set goals were the improvement of fat extraction and purification steps.

The chromatographic methods developed as research procedures have been fully validated in compliance with the requirements of the Decision 2002/657/EC. The methodologies enabling the determination of GTH content in processed animal by-products were additionally tested in the inter-laboratory comparisons. The outcome of the comparison confirmed the suitability of the developed procedures and the reliability of the obtained results, which were comparable to those obtained by other national and international laboratories. The methods have been implemented in laboratory practice and are used in official control tests conducted in Poland.

In 2010-2021, a total of 1819 samples were tested, including meat and bone meal (899 samples) and rendering fat (820 samples). Additionally, in 2022, sixty-four samples of compound feed for poultry were tested for the GTH. The samples were collected within a project aiming at monitoring chemical contamination in feed for farm animals in the light of the current requirements of the food law. Samples that did not meet the requirements under applicable law, i.e. meat and bone meals and fats of category 1 and 2, in which the content of the GTH marker did not reach the level of 250 mg/kg of fat basis, accounted for approximately 10.6% (193 samples). However, none of the tested samples of compound feeds for poultry, using the developed methodology, showed the presence of the GTH marker. This result suggests that prohibited meat and bone meals or category 1 and 2 fats were not utilized in the production of the compound feeds for poultry.

In conclusion, the assumed goals of this dissertation have been successfully achieved, and the developed research procedures meet the needs and requirements for monitoring the proper use of the GTH marker in the processed animal by-products and detecting and determining the marker in feeds.