

УДК 619:614.31:636.085

Хімич М.С., к.вет.н. (khimichms@yandex.ua) ©

Одеський державний аграрний університет, м. Одеса, Україна

**КОНТРОЛЬ БЕЗПЕЧНОСТІ РИБИ З ВИКОРИСТАННЯМ
МІКРОБІОЛОГІЧНОГО ЕКСПРЕС-МЕТОДУ**

В світі існує багато методик надточного аналізу безпечності харчової продукції: атомно-адсорбційний, фотометричний, спектрометричний, рідинної хроматографії, тонкошарової хроматографії, обернено-фазової ВЕРХ та інші. Але сьогодні в Україні, вкрай обмежена кількість державних лабораторій ветеринарної медицини може забезпечити такий високоякісний аналіз.

Також, неможна забувати, що найсучасніші хіміко-аналітичні методи здатні визначати якісний і кількісний вміст окремих токсикантів в досліджуваному об'єкті, проте неспроможні в повній мірі дати відповідь щодо реакції організму тварини чи людини на дію досліджуваного об'єкту. Це пов'язано з тим, що в продукті можуть міститись токсичні речовини, наявність яких при дослідженні не передбачалась, мало вивчені речовини або з результатом комбінованої дії кількох токсичних речовин (речовини нетоксичні за ізольованої дії можуть викликати значний токсичний ефект у разі сумісного впливу).

*Тому і сьогодні, одним з перспективних способів вирішення проблеми безпечності продукції тваринництва є використання біотестування. Найпростішим і найдоступнішим тест-об'єктом для біотестування, за рахунок ряду властивостей, є інфузорія *Colpoda steinii*.*

*Дослідженнями встановлено, що мікробіологічний експрес-метод визначення токсичності риби з використанням інфузорії *C. steinii* за достовірністю результатів досліджень ідентичний класичному методу на лабораторних тваринах і мікробіологічному методу з використанням інфузорії *T. piriformis*, але скорочує час отримання результатів до 3-180 хв.*

Ключові слова: харчова продукція, риба, якість, безпека, безпечність, токсичність, біотестування, експрес-метод, тест-об'єкт, інфузорії, *Colpoda steinii*.

УДК 619:614.31:636.085

Химич М.С., к. вет. н., (khimichms@yandex.ua)

Одесский государственный аграрный университет, г. Одесса, Украина

**КОНТРОЛЬ БЕЗОПАСНОСТИ РЫБЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ЭКСПРЕСС-МЕТОДА**

В мире существует много методик сверхточного анализа безопасности пищевой продукции: атомно-адсорбционный, фотометрический, спектрометрический, жидкостной хроматографии, тонкослойной хроматографии, обратно-фазовой ВЭЖХ и другие. Но сегодня в Украине,

крайне ограниченное количество государственных лабораторий ветеринарной медицины могут обеспечить такой высококачественный анализ.

Также, нельзя забывать, что современные химико-аналитические методы способны определять качественное и количественное содержание отдельных токсикантов в исследуемом объекте, однако не могут, в полной мере, дать ответ о реакции организма животного или человека на действие исследуемого объекта. Это связано с тем, что в продукте могут содержаться токсичные вещества, наличие которых при исследовании не предусматривали, мало изученные вещества, или с результатом комбинированного действия нескольких токсичных веществ (вещества нетоксичны по изолированного действия могут вызвать значительный токсический эффект в случае совместного воздействия).

В связи с этим, и сегодня одним из перспективных способов решения проблемы безопасности продукции животноводства является использование биотестирования. Самым простым и доступным тест-объектом для биотестирования, за счет ряда свойств, является инфузория *Colpoda steinii*.

Исследованиями установлено, что микробиологический экспресс-метод определения токсичности рыбы с использованием инфузории *C. steinii* за достоверностью результатов исследований идентичен классическому методу на лабораторных животных и микробиологическому методу с использованием инфузории *T. piriformis*, но сокращает время получения результатов в 3-180 мин.

Ключевые слова: пищевая продукция, рыба, качество, безопасность, токсичность, биотестирование, экспресс-метод, тест-объект, инфузории, *Colpoda steinii*.

UDC 619:614.31:636.085

Khimich M.S., candidate of veterinary sciences, (khimichms@yandex.ua)

Odessa state agrarian university, Odessa, Ukraine

CONTROL OF SAFETY OF FISH WITH THE USE OF MICROBIOLOGICAL EXPRESS-METHOD.

In the world there are many methods ultraprecise analysis of food safety: atomic absorption, photometric, spectrometric, liquid chromatography, thin layer chromatography, reversed-phase HPLC, and others. But today in Ukraine, it is a limited number of state veterinary medicine laboratories can provide a high-quality analysis.

Also, one should not forget that the most advanced analytical methods are able to determine the qualitative and quantitative content of certain toxins in the test object, but can not fully answer for reaction of an animal or human effect on the studied object. This is due to the fact that the product may contain toxic substances whose presence in research is not predicted, poorly understood substance or the result of the combined action of several toxic substances (substances toxic for isolated actions may cause significant toxic effect in the case of joint influence).

*One promising way to solve the problem of safety of animal products is the use of bioassay. The easiest and most affordable test object for bioassay, by number of properties are ciliates *Colpoda steinii*.*

*Research has established that rapid microbiological method for determining the toxicity of fish using infusoria *C. steinii* the reliability of research results is identical to the classical method in laboratory animals and the microbiological method using ciliates *Tetrachimena piriformis*, but reduces the time to obtain results for 3-180 min.*

Key words: food products, fish, quality, safety, toxicity, bioassay, express (rapid) method, test object, ciliates, *Colpoda steinii*

Вступ. Найактуальнішим завданням ветеринарної медицини завжди було і лишається забезпечення якості і безпечності продуктів харчування. В сучасних умовах, коли з одного боку, в країні існує велика кількість малих приватних підприємств, що виготовляють харчову продукцію тваринного походження, а з іншого боку, країна крокує до європейської співдружності і виробники мають змогу активно завойовувати європейський ринок, де контроль якості продукції відбувається згідно системи НАССР, це завдання постає особливо гостро.

І за кордоном, і в нашій країні існує багато методик надточного аналізу безпечності харчової продукції: атомно-адсорбційний, фотометричний, спектрометричний, рідинної хроматографії, тонкошарової хроматографії, обернено-фазової ВЕРХ та інші. Але зважаючи на недосконалість нормативної бази і сучасний економічний стан в країні, вкрай обмежена кількість державних лабораторій ветеринарної медицини в змозі забезпечити високоякісний аналіз [1,2].

Крім того, необхідно пам'ятати – найсучасніші хіміко-аналітичні методи здатні визначати якісний і кількісний вміст окремих токсикантів в досліджуваному об'єкті, проте неспроможні в повній мірі дати відповідь щодо реакції організму тварини чи людини на дію досліджуваного об'єкту. Це пов'язано з тим, що в продукті можуть міститись токсичні речовини, наявність яких при дослідженні не передбачалась, мало вивчені речовини або з результатом комбінованої дії кількох токсичних речовин (речовини нетоксичні за ізолюваної дії можуть викликати значний токсичний ефект у разі сумісного впливу) [3-5].

Беручи до уваги згадані аспекти, і сьогодні, не можна списувати з рахунків біотестування. Адже саме біотестування хоча і не дає нам інформації щодо природи конкретного токсиканту, але з великою достовірністю дозволяє визначити ступінь загальної токсичності досліджуваного об'єкту [6].

До цього часу розроблено чисельну кількість різноманітних методів біотестування, але зважаючи на межі чутливості до токсикантів, швидкість реагування та біоетичні норми найпростішим і найдоступнішим для біотестування тест-об'єктом стають інфузорії [7].

Використання інфузорій для визначення токсичності об'єктів зовнішнього середовища, зерна, комбікормів і продуктів тваринного походження відомо давно [8-11].

Враховуючи вищевикладене метою наших досліджень було встановити можливість і ефективність використання інфузорії *Colpoda steinii* для визначення токсичності риби та рибопродуктів.

Матеріал і методи. Дослідженню підлягали зразки риби парної. Дослідження токсичності проводились паралельно трьома методами – метод лабораторних тварин (білі миші) і мікробіологічні методи з використанням в якості тест-організму інфузорій *Tetrachimena piriformis* і *Colpoda steinii*.

Дослідження на білих мишах та інфузорії *Tetrachimena piriformis* проводили відповідно до діючих методик [12, 13].

При дослідженні з використанням інфузорії *Colpoda steinii*, за основу було взято методичні рекомендації (мікробіологічний експрес-метод) визначення токсичності продуктів тваринництва і кормів [14, 15].

Підготовка культури *Colpoda steinii*. У флакони із культурою *Colpoda steinii*, заливали по 2мл поживного середовища за 24 год до проведення аналізу. Флакони закривали ватно-марлевими пробками та витримували в термостаті за температури $+(26-28)^{\circ}\text{C}$. Після цього флакони витримували в добре освітленому приміщенні протягом 10хв. Безпосередньо перед використанням проводили контроль активності культури.

Підготовка зразків риби. Відібраний зразок масою 20 грамів, гомогенізували, екстрагували водою яку додавали в кількості 100 мл, струшували протягом 20 хв. і фільтрували екстракт крізь паперовий фільтр.

Проведення аналізу. Зразок фільтрату та воду з колби, в об'ємі 2мл, вносимо до флаконів з активною культурою *Colpoda steinii*. Закриваємо флакони ватно-марлевими пробками і вміщуємо в термостат при температурі $+(26+28)^{\circ}\text{C}$, де витримували протягом всього досліду.

Через 3 хв. флакони виймали і досліджували активність колоди. У разі загибелі інфузорій у дослідному флаконі дослід припиняли. Якщо більшість інфузорій були живі продовжували спостереження протягом 3 год.

Оцінку ступеня токсичності дослідних зразків проводили відповідно до запропонованої шкали (табл. 1)

Таблиця 1.

Критерії оцінювання токсичності

Ступінь токсичності	Показники
Сильно токсично	Загибель 100 % колпод настає протягом 3хв
Токсично	Загибель 100 % колпод настає протягом 10хв
Слаботоксично	Протягом 3 год. загинуло менше 80% колпод
Нетоксично	Протягом 3 год. всі колподи залишаються рухливими та інтенсивність росту більше 90%

В якості позитивного контролю використовували мікотоксин Т-2, який вводили в зразок риби з розрахунку 1мг/кг. В якості негативного контролю використовували зразок в який додавали аналогічну кількість дистильованої води.

Результати дослідження. Проведені дослідження встановили, що токсичність риби парної визначена запропонованим мікробіологічним експрес-методом, з використанням в якості тест-об'єкту інфузорії *C. steinii*, ідентична токсичності визначеної класичним методом і мікробіологічним методом з використанням інфузорії *T. piriformis* (табл.2).

Встановлено, що за сильної токсичності риби парної результати дослідження при застосуванні інфузорії *C. steinii* отримуємо вже за 3хв., токсичності – за 10хв., слабій токсичності – за 1-3 год.

Таблиця 2

Токсичність риби парної залежно від методу досліджень (n-5)

Зразки	Тест-об'єкти					
	Білі миші	<i>Tetrachimena piriformis</i>	<i>Colpoda steinii</i>			
			3 хв.	10 хв.	1 год.	3 год.
Позитивний контроль	+++++	+++++	+++++			
Негативний контроль	----	----	----	----	----	----
Дослідні зразки	----	----	----	----	----	----
	----+	---+	----	----	----+	---++
	----	----	----	----	----	----+
	---++	--++	----	----+	---++	+++++
	-++++	-++++	---++	+++++		

Примітка: «+» падіж мишей, лізіс інфузорій;

«-» відсутність падежу мишей і лізісу інфузорій.

Висновки.

1. Визначення токсичності риби та рибопродуктів мікробіологічним методом з використанням інфузорії *C. steinii* в якості тест-об'єкту, дає результат ідентичний результату отриманому при дослідженні класичним методом на лабораторних тваринах і мікробіологічним з використанням інфузорії *T. piriformis*.

2. Застосування мікробіологічного метода з використанням інфузорії *C. steinii* в якості тест-об'єкту, скорочує тривалість дослідження на токсичність до 3-180 хв.

Перспективи подальших досліджень. Виходячи з отриманих результатів досліджень, можна стверджувати щодо перспективи подальших дослідів в цьому напрямку. Зокрема нами проводяться подальші досліді щодо можливості застосування методу з використанням інфузорії *C. steinii* при визначенні токсичності більш широкого спектру досліджуваних продуктів та щодо визначення спектру і кількості токсикантів на які інфузорії *C. steinii* реагуватиме.

Література

1. Ковбасенко В. М. Про удосконалення ветеринарно-санітарного контролю якості і безпеки кормів для непродуктивних тварин / В. М. Ковбасенко, М. С. Хіміч // Аграрний вісник Причорномор'я : зб. наук. праць Одеського ДАУ. – Одеса, 2004. – Вип. 25. – С. 32-36. – (Ветеринарні науки).
2. Виногодов В О , Виногодов Д О , Поляков Н Л Новый экспресс-метод определения токсичности м'ясопродуктів / В. О. Виногодов, Д. О. Виногодов, Н. Л. Поляков // Практик – 2006. – №2 – С. 26-31.
3. Конюхов А. Ф. Определение пестицидов в комбикормах / А. Ф. Конюхов // Ветеринария. – 1974. – № 6. – С. 101-102.

4. Маненко А. К. Сравнительная характеристика методов математической оценки характера комбинированного действия двух и более повреждающих химических факторов при одновременном и последовательном введении в острых опытах / А. К. Маненко, О. П. Иванова // Гигиена и санитария. - 1988. - № 11. - С. 55-58.
5. Пинигин М. А. О понятии "характер комбинированного действия" как основе гигиенической оценки / М. А. Пинигин // Гигиена и санитария. - 1986. - № 1. - С. 45-48.
6. Хоружая Т. А. Методы оценки экологической опасности / Т. А. Хоружая. – М.: "Экспертное бюро-М", 1998. – 224 с.
7. Этлин С. Н. Вопросы теории и практики применения простейших организмов в эколого-токсикологических исследованиях / С. Н. Этлин, Г. М. Лахонина, А. Г. Мадоян, А. Ю. Месронян // Экология морских и пресноводных простейших: Тезисы докладов II-го всесоюзного симпозиума протозоологов (Ярославль, 12-15 сентября 1989 г.) – Ярославль, 1989. – С. 79.
8. Виноходов Д. О. Научные основы биотестирования с использованием инфузорий : автореф. дис. на соискание уч. степени док. биол. наук : спец. 03.00.23 «Биотехнология» / Д. О. Виноходов. – СПб., 2007. – 30 с.
9. Пат.2039825, Российская Федерация, МКИ6 С 12 О 1/02, G 01 N 33/18 Способ определения токсичности объектов внешней среды / Виноходов Д. О., Виноходов В. О. – М НПО "Поиск" Роспатента, 1995. – 6 с.
10. Пат. 32482, Україна, МПК⁷ G 01 N 33/02, C 12 Q 1/02 Спосіб визначення токсичності кормів для непродуктивних тварин / Ковбасенко В. М., Розум Є. Ю., Хіміч М. С., Стрига А. М., Оніщенко О. В. – № u 2008 03 013 ; заявл. 11.03.08; опубл. 12.05.08, Бюл. №9.
11. Хіміч М. С. Контроль безпеки кормів тваринного походження для непродуктивних тварин з використанням мікробіологічного експрес-метода / М. С. Хіміч // Аграрний вісник Причорномор'я : зб. наук. праць Одеського ДАУ. – Одеса, 2005. – Вип. 30. – С. 124-128. – (Ветеринарні науки).
12. Методичні рекомендації токсико-біологічної оцінки харчових продуктів. – Київ, 1987. – 20с.
13. Шаблій В.Я. и др. Методические рекомендации по использованию инфузории Тетрахимена пириформис для токсико-биологической оценки пищевых продуктов. – Киев, 1983. – 14с.
14. Зерно фуражное, продукты його переробки, комбикорми. Методи визначення токсичності Державний стандарт Украши: ДСТУ 3570-97 - Київ: Держстандарт Украши, 1999. - 15 с.
15. Методичні рекомендації (мікробіологічний експрес-метод) визначення продуктів тваринництва і кормів. Під редакцією проф. Ковбасенко В.М. Одеса, 2003 – 18с.

Рецензент – к.вет.н., доцент Бінкевич В.Я.