

Таблиця 4 – Оценка прецизионности результатов, полученных разными методами при исследовании проб пищевых продуктов на содержание кадмия

Проба	№ п/п	ТА-4	Квант-2АТ	ТА-4	Квант-2АТ	ТА-4	Квант-2АТ	
Рыба ПДК 0,2 мг/кг				Д1 c = 0,05		Д2 c = 0,05		
	X(5)ер	0,0304	0,0328	0,0628	0,0646	0,074	0,0786	
	Хер	0,0316		0,0637		0,0763		
	Оценка прецизионности результатов, полученных разными методами							
		3,8 % < 17 %		1,4 % < 17 %		3 % < 17 %		
				Кк	К	Кк	К	
			-0,0179	0,0233	-0,0053	0,0173		
Хлеб ПДК 0,07 мг/кг				Д1 c = 0,05		Д2 c = 0,05		
	X(5)ер	0,022	0,0252	0,0626	0,066	0,0758	0,0734	
	Хер	0,0236		0,0643		0,0746		
	Оценка прецизионности результатов, полученных разными методами							
		6,8 % < 17 %		2,6 % < 17 %		1,6 % < 17 %		
				Кк	К	Кк	К	
			Кк	К	0,001	0,0164		
Молоко ПДК 0,03 мг/кг				Д1 c=0,01		Д2 c=0,01		
	X(5)ер	0,0075	0,0067	0,0128	0,0130	0,0151	0,0157	
	Хер	0,00709		0,01288		0,01541		
	Оценка прецизионности результатов, полученных разными методами							
		5,5 % < 17 %		1 % < 17 %		1,9 % < 17 %		
				Кк	К	Кк	К	
			-0,0042	0,0048	-0,0017	0,0036		
Мясо ПДК 0,05 мг/кг				Д1 c = 0,05		Д2 c = 0,05		
	X(5)ер	0,0334	0,0266	0,063	0,0628	0,0732	0,0768	
	Хер	0,03		0,0629		0,075		
	Оценка прецизионности результатов, полученных разными методами							
		11,3 % < 17 %		0,2 % < 17 %		2,4 % < 17 %		
				Кк	К	Кк	К	
			-0,0171	0,0228	-0,005	0,0169		

Примечание: Д1 – добавка на этапе пробоподготовки;
Д2 – добавка на этапе осуществления измерений.

Література

- ГОСТ 30178–96 «Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения токсичных элементов».
- ГОСТ 26929–94 «Сырье и продукты пищевые. Подготовка проб. Минерализация для определения содержания токсичных элементов».
- МУ 31–04/04 «Количественный химический анализ проб пищевых продуктов, продовольственного сырья, кормов и продуктов их переработки. Методика выполнения измерений массовых концентраций цинка, кадмия, свинца и меди методом инверсионной вольтамперометрии на анализаторах типа ТА».

УДК 664.665-021.4:613.2

ФЕРМЕНТАТИВНИЙ МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ АДАПТОГЕННИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ

Селіванська І.О., канд. техн. наук
Науково-виробнича асоціація «Одеська біотехнологія», м. Одеса

Запропонований метод *in vitro* визначення адаптогенних властивостей функціональних харчових продуктів з використанням ферменту фосфоліпази А₂ дозволяє швидко і дешево оцінити їх адаптогенні властивості, що в значній мірі вирішує питання пошуку нових, більш ефективних джерел і засобів, які містять адаптогенні речовини.

The method of determining the adaptive properties of functional foodstuffs with the use of a ferment phospholipase A₂ proposed makes it possible rapidly and to cheap estimate their adaptogenic properties, which to a considerable degree solves the problem of the search for new effective sources and means, which contain the adaptogenic substances.

Ключові слова: функціональні харчові продукти, адаптогенні властивості, фосфоліпаза A₂.

Одним із призначень функціональних харчових продуктів (ФХП) є їх здатність стимулювати адаптаційно-трофічні системи (АТС) організму. Завдяки цим системам можливе існування організму в навколишньому середовищі, яке постійно здійснює вплив на стан фізіологічних і біохімічних процесів, у тому числі й негативний.

Наявність у ФХП адаптаційних властивостей забезпечує при їх впливанні достатній рівень захисту організму від дії різних патогенів (мікроби, токсини, стреси, радіація тощо).

Загальноприйнятий метод визначення адаптаційних властивостей передбачає вивчення стану експериментальних тварин в умовах відтворення у них патологічного процесу за дії того чи іншого патогена. Таке біологічне дослідження потребує багато часу, має високу вартість, що суттєво стримує проведення оцінки ФХП щодо їх адаптогенних властивостей.

У розвитку патологічних процесів значне місце посідає фермент фосфоліпаза A₂ (ФЛА₂), яка розщеплює лецитин на лізолецитин і жирну кислоту (головним чином, арахідонову), з якої під дією циклооксигенази і ліпоксигенази утворюються медіатори запалення ейкозаноїди. Більшість адаптогенів здійснюють свій позитивний вплив на організм, пригнічуючи активність ФЛА₂. Виходячи з цього, ми запропонували метод визначення адаптогенних властивостей ФХП за ступенем інгібування ФЛА₂ (патент України на корисну модель № 22389).

Цей метод не потребує використання тварин і проведення багатовартісних досліджень, що дозволяє здійснити його широке використання для оцінки адаптогенних властивостей ФХП.

Адаптація, спосіб пристосовування організму до несприятливих зовнішніх та внутрішніх факторів, відіграє надзвичайно важливу роль у життєдіяльності організму [1, 2]. Це забезпечує виживання організму за екстремальних впливів, підвищення працездатності, а також формування стану підвищеного неспецифічного опору. Феномен адаптації присутній практично у всіх видів живих організмів, починаючи від бактерій і закінчуючи людиною [3].

Адаптаційний захист включає в себе організацію функцій пов'язаних між собою захисних систем (нейро-ендокринної, імунної, бактерицидної, антиоксидантної та інших) і процесів обміну речовин (трофічних систем), що визначає кінцевий результат – підвищений неспецифічний опір [4].

Адаптогени – це речовини, які здійснюють підготовку (активізацію) АТС організму [5].

Відповідно до молекулярних механізмів біологічної дії всі адаптогени можуть бути поділені на такі 6 класів: імуномодулятори, антиоксиданти, інгібітори ферментів, нейро-ендокринні модулятори, пребіотики, «провокатори» [6]. Для визначення адаптогенів запропоновано різні методи: біологічні, цитологічні, мікробіологічні, хроматографічні.

Біологічні методи складаються з того, що визначення адаптогенів здійснюють в експерименті на тваринах, у яких відтворюють ту чи іншу патологію або фізичне навантаження [7–9]. Результат біологічної дії адаптогенів визначають за ступенем змін показників здоров'я (або хвороби). Недоліками біологічних методів є такі: тривалість, напівкількісний характер, необхідність використовувати тварин, висока вартість.

У цитологічних методах [10, 11] використовують клітинні або тканинні культури, підтримання яких вимагає використання спеціального обладнання і кваліфікованих кадрів.

Мікробіологічні методи визначення адаптогенів [12–14] передбачають використання культур бактерій або найпростіших, за ростом яких можна оцінювати наявність адаптогенів. На жаль, ці методи більш придатні для визначення токсикантів, і до того ж вони вимагають наявності спеціальних приміщень, обладнання і фахівців-мікробіологів.

Існує значна кількість хроматографічних методів, які надто складні за рівнем обладнання і мають певні обмеження в силу високої хімічної специфічності [15–18].

В основу запропонованого нами методу визначення адаптогенних властивостей покладена здатність адаптогенів пригнічувати активність ключового ферменту розвитку запально-дистрофічних процесів – ФЛА₂ (КФ 3.1.1.4, фосфатид-2-ацилгідролаза), який здійснює 3 патологічних дії: руйнує або модифікує плазматичні і внутрішньоклітинні мембрани, що викликає значні порушення у функціонуванні клітини; утворює лізолецитини (лізофосфатиди), які, маючи дуже високі поверхнево-активні властивості, розривають гідрофобні зв'язки, які забезпечують взаємодію ліпідів і білків; виділяє з фосфоліпідів молекулу поліненасиченої жирної кислоти – арахідонової (C₁₉H₃₁COOH), яка є субстратом для дії циклооксигенази і ліпоксигенази, які утворюють безліч біологічно активних сполук – ейкозаноїдів, до числа яких входять

простагландини, лейкотрієни, тромбоксани. Саме ці речовини мають дуже сильні прозапальні властивості, діючи в концентраціях 10^{-8} – 10^{-9} М [19].

До цього часу в тканинах ссавців виявлено близько 20 різних ФЛА₂ [20], які можна розділити на 3 класи: секреторні (s-ФЛА₂), цитозольні (c-ФЛА₂), Ca²⁺-незалежні (i-ФЛА₂). У розвитку патологічних процесів в організмі беруть участь представники усіх трьох класів ФЛА₂.

В основу запропонованої методики визначення активності ФЛА₂ покладений метод Е. Habermann, а також Н. Литвинко і С. Кучуро в нашій модифікації [21, 22]. Ступінь гідролізу лецитину оцінювали за відносним зменшенням ширини зони просвітлення, що утворюється внаслідок ліполітичної дії ФЛА₂ на емульсію яєчного жовтка, включеного в агарозний гель.

Виходячи з гіпотези, що постулює обов'язкову властивість більшості адаптогенів інгібувати ФЛА₂, – як початкову ланку усього патологічного каскаду, ми запропонували визначати інгібуючу здатність різних сполук, які можуть бути віднесені з тих або інших причин до адаптогенів.

Для цього спочатку змішують 1 см³ розчину ФЛА₂ з концентрацією 0,5-1,5 мг/см³ і 0,4 см³ розчину очікуваного інгібітору ферменту. В контрольну пробу (без інгібітору) до 0,025 см³ розчину ФЛА₂ необхідно додати 0,010 см³ розчинювальної суміші (води чи органічних розчинників – диметилсульфоксиду або етилового спирту).

Після витримки суміші ФЛА₂ з інгібітором упродовж 30 хв за кімнатних умов відбирають 0,035 см³ суміші і вносять в лунки жовтково-агарозного субстрату, після чого чашки Петрі поміщають у термостат при +50 °С на 20 годин. Одночасно в інші лунки тих самих чашок вносять по 0,035 см³ суміші ФЛА₂ з розчинником.

Після термостатування вимірюють радіуси зони просвітлення на темному фоні за допомогою креслярського вимірника і штангенциркуля та розраховують активність ФЛА₂ у контрольних і експериментальних пробах. Спочатку вимірюють радіус зони просвітлення (R₁) і радіус лунки (R₂). Потім за формулою $S = \pi R^2$ розраховують площу зони просвітлення (S_n):

$$S_n = \pi R_1^2 - \pi R_2^2 .$$

Активність ФЛА₂ розраховують за формулою:

$$A = \frac{S_n}{20 \times 60 \times 0,025} = \frac{S_n}{30} , \text{ де}$$

A – активність в од/мл, приймаючи за 1 одиницю площу просвітлення в мм² за 1 хвилину.

Інгібуючу (анти-ФЛА₂) активність розраховують за формулою:

$$IA = \frac{(A_k - A_{ексн}) \times 0,025}{0,01} = (A_k - A_{ексн}) \times 2,5 , \text{ де}$$

IA – анти-ФЛА₂ активність, од/см³ розчину інгібітору;

A_к, A_{ексн} – активність ФЛА₂, од/см³ в контролі та експерименті відповідно.

Якщо необхідно перерахувати інгібуючу активність на міліграм досліджуваного препарату, тоді використовують формулу:

$$IA = \frac{(A_k - A_{ексн}) \times 2,5}{C} , \text{ де}$$

C – концентрація інгібітору в розчині, мг/см³.

За величиною інгібуючої активності будь-якого досліджуваного розчину адаптогена, знаючи активність 1 мг його чистої субстанції, можна розрахувати вміст адаптогена за формулою:

$$C = \frac{IA_{проби}}{IA_{суб}} , \text{ де}$$

C – вміст адаптогену, мг/см³;

IA_{проби} та IA_{суб} – анти-ФЛА₂ активність проби (од/см³) і субстанції (од/мг) відповідно.

У таблиці 1 наведено результати визначення активності ФЛА₂ з підшлункової залози і бджолиної отрути.

Таблиця 1 – Активність ФЛА₂ підшлункової залози і бджолиної отрути (1 од. = Δ мм²/хв)

ФЛА ₂	Конц., мг/см ³	Активність		Питома активність, од/мг білка
		од/см ³	од/мг	
Підшлункова залоза	0,45	4,48 ± 0,27	9,95 ± 0,61	11,06
Підшлункова залоза	0,226	2,28 ± 0,15	10,13 ± 0,08	11,26
Бджолина отрута	1,5	5,42	3,61	4,01
Бджолина отрута	1,0	3,20	3,20	3,55
Бджолина отрута	0,5	1,70	3,40	3,78

У табл. 2 наведено результати визначення інгібуючої активності різних концентрацій двох адаптогенів – хлорогенової кислоти і софорокозиду геністеїну.

Таблиця 2 – Анти-ФЛА₂ активність хлорогенової кислоти і софорокозиду геністеїну

Концентрація адаптогену, мг/мл	Анти-ФЛА ₂ , од/см ³	
	Хлорогенова кислота	Софорокозид геністеїну
0,2	0,425	1,85
0,5	1,150	4,025
1,0	1,750	6,225
1,5	2,200	6,950
2,0	3,825	7,550
3,0	4,350	8,150

Висновки

Адаптогенна функція ФХП є однією з вирішальних властивостей харчування в сучасних умовах існування людини. Несприятливі екологічні та соціально-екологічні обставини життя вимагають систематичного вживання адаптогенів для підтримки необхідного рівня захисних ситем організму.

Оцінка ФХП щодо адаптогенних властивостей дозволить значною мірою вирішити питання пошуку нових, більш ефективних джерел і засобів, які містять адаптогенні речовини.

Запропонований нами метод *in vitro* визначення адаптогенних властивостей з використанням ферменту ФЛА₂ дозволяє швидко і дешево оцінити адаптогенну властивість ФХП. Систематичне вживання харчових адаптогенів буде сприяти в кінцевому підсумку поліпшенню стану здоров'я людей.

Література

1. Воложин А. М. Болезнь и здоровье: две стороны приспособления / А. М. Воложин, Ю. К. Субботин. – М.: Медицина, 1998. – 480 с.
2. Крыжановский Г. Н. Некоторые общепатологические и биологические категории: здоровье, болезнь, гомеостаз, саногенез, адаптация, иммунитет, новые подходы и определение // Г. Н. Крыжановский // Пат. физиол. и экспер. терапия. – 2004. – № 3. – С. 3–7.
3. Котеров А. Н. Молекулярные и клеточные механизмы адаптивного ответа у эукариот / А. Н. Котеров, А. В. Никольский // Укр. биохим. журн. – 1999. – Т. 71, № 3. – С. 13–25.
4. Левицкий А. П. Адаптационно-трофические системы и их роль в патологии / А. П. Левицкий // Вісник стоматології. – 2003. – № 1. – С. 91–95.
5. Меерсон Ф. З. Адаптация, стресс и профилактика / Ф. З. Меерсон. – М.: Наука, 1981. – 277 с.
6. Левицкий А. Функциональная классификация адаптогенов / А. Левицкий // Вісник фармакології та фармації. – 2007. – № 2. – С. 32–36.
7. Влияние фитопрепаратов, содержащих фенилпропаноиды, на физическую работоспособность животных / В. А. Куркин, А. В. Дубищев, Г. Г. Запесочная [и др.] // Хим.-фарм. журн. – 2006. – Т. 40, № 3. – С. 30–31.
8. Потапович А. И. Сравнительное исследование антиоксидантных свойств и цитопротекторной активности флавоноидов / А. И. Потапович, В. А. Костюк // Биохимия. – 2003. – Т. 68, Вып. 5. – С. 632–638.
9. Кравченко Л. В. Влияние флавоноидов на резистентность микросом и повреждающее действие ПОЛ *in vivo* / Л. В. Кравченко, С. В. Морозов, В. А. Тутельян // БЭБИМ. – 2003. – Т. 136, № 12. – С. 648–652.
10. Горовая А. И. Использование цитологического тестирования для оценки экологической ситуации и эффективности оздоровления детей и взрослых природными адаптогенами / А. И. Горовая, И. И. Климкина // Довкілля та здоров'я. – 2005. – № 4. – С. 28–31.
11. Бондаренко О. Б. Метод тестирования биологически активных добавок по реакции аденилатциклической системы и цитоскелета патогенных клеток / О. Б. Бондаренко, Т. Ю. Щеголева // В кн.: Матеріали ІХ Укр. біохім. з'їзду, 24–27 жовтня 2006, Харків. – Т. II. – С. 167–168.
12. Цикуниб А. Д. Определение эндогенной интоксикации по токсикоурии с использованием *Tetrachitena pyriformis* / А. Д. Цикуниб // Клин.-лаб. диагностика. – 2001. – № 6. – С. 50–52.
13. Способ биологического контроля комплексного фитоадаптогена / О. А. Бочарова, М. А. Лыженкова, О. Н. Куренная [и др.] // БЭБИМ. – 2003. – Т. 136, № 12. – С. 694–696.
14. Подосиновичова Н. П. *Dafnia magna Straus* – новая модель для изучения антиоксидантного действия водорастворимых препаратов в эксперименте *in vivo* / Н. П. Подосиновичова, В. В. Петров, В. Б. Долго-Сабуров // Эксперим. и клин. фармакология. – 2005. – Т. 68, № 3. – С. 68–70.

15. Сур С. В. Методи ідентифікації та кількісного визначення флавоноїдів у рослинних зборах / С. В. Сур, О. Г. Макаренко, Т. В. Герасимчук // Фармацевтичний журнал. – 2001. – № 4. – С. 85–90.
16. Определение пренилированных флавоноидов хмеля и фитопрепаратов на его основе с помощью обращенно-фазовой ЖХВД / М. А. Алексеева, К. С. Сычев, К. И. Эллер [и др.] // Вопр. биол., мед. и фармац. химии. – 2004. – № 3. – С. 45–48.
17. Лобанова А. А. Исследование биологически активных флавоноидов в экстрактах из растительного сырья / А. А. Лобанова, В. В. Будаева, Г. В. Сакович // Химия раст. сырья. – 2004. – № 1. – С. 47–52.
18. Ускоренная гидрофобная хроматография растительных экстрактов: перспективный инструмент исследования биологически активных полифенолов / А. А. Маркарян, Т. Д. Даргаева, Р. Н. Алеутдин [и др.] // Биомед. хим. – 2004. – Т. 50, № 2. – С. 217–220.
19. Зубачик В. М. Біологічна роль фосфоліпази A_2 / В. М. Зубачик // Журн. АМН України. – 1999. – Т. 5, № 4. – С. 627–642.
20. Murakami M. Phospholipase A_2 / M. Murakami, I. Kudo // J. Biochem. – 2002. – 131, № 3. – С. 285 – 292
21. Ферментативный метод определения адаптогенов: Метод. рекомендации. ГФЦ МОЗУ / А. П. Левицкий, Л. Н. Россаханова, О. А. Макаренко [и др.] – К., 2007. – 17 с.
22. Литвинко Н. М. Определение действия химических соединений на активность фосфолипазы A_2 / Н. М. Литвинко, С. В. Качуро // Прикл. биохимия и микробиол. – 1999. – 35, № 4. – С. 388–396.

УДК 664.8/9 (083.76)

СТАНДАРТИЗАЦІЯ СУЧАСНИХ МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ ПОКАЗНИКІВ ЯКОСТІ ТА БЕЗПЕЧНОСТІ ХАРЧОВОЇ ПРОДУКЦІЇ

Філіпова Л.Ю., Невесела О.М, Зубарева Л.І., Крохальова А.А.

Відокремлений підрозділ Національного університету біоресурсів і природокористування України
«Науково-дослідний та проектний інститут стандартизації і технологій екобезпечної та
органічної продукції», м. Одеса

Розроблення національних стандартів України гарантує виробництво високоякісних овочево-фруктових консервів із дотриманням високих показників якості та безпеки. Охарактеризовано методологію розроблення державних стандартів щодо методів їх контролю. Це сприяє усуненню технічних бар'єрів для виходження вітчизняної продукції на світовий ринок та її конкурентоспроможності.

Developing national standards of Ukraine guarantees the production of high quality vegetable-fruit canned products that have high indices of quality and security. It was characterized the methodology of developing state standards on the methods of control. It helps our local products to remove technical barriers on entering the world market and to be competitive.

Ключові слова: безпека продуктів, методи контролю, національні стандарти, гармонізація, показники якості та безпеки.

Враховуючи перспективи України щодо членства в СОТ, а також існуючі між вітчизняними виробниками і державами Європейської співдружності та інших країн торговельні зв'язки, є нагальна необхідність визначення та розробки національних стандартизованих методів, які були б гармонізовані з міжнародними. Це дасть змогу адекватно визначати якість та безпеку продуктів харчування.

Удосконалення і розробка методів контролю якості та безпеки консервованих продуктів потребує створення загальної методологічної бази, яка включає:

- створення комплексу хімічних методів контролювання харчових продуктів, які містять встановлені в міжлабораторному випробуванні, за правилами ISO, метрологічні характеристики;
- визначення харчової цінності і хімічного складу продуктів харчування;
- виявлення, ідентифікацію і кількісне визначення контаменантів їжі;
- виявлення фальсифікації харчових продуктів.

Комплекс екологічних та стресових факторів створює підвищене антигенне навантаження на організм людини, викликає зниження імунобіологічної реактивності організму, призводить до порушення генетичного апарату клітин, змінення метаболічних процесів, що можна об'єднати в поняття «Екологічна патологія» [1].