© Кулик Я. М., Власенко В. В., Обертюх Ю. В., Виговська І. О.

УДК 633.34:637.136:579.83/88

[1]Кулик Я. М., [2]Власенко В. В., [3]Обертюх Ю. В., [3]Виговська І. О.

ВПЛИВ ВОДНОЇ ВИТЯЖКИ ТРАНСГЕННОЇ РАУНДАПОСТІЙКОЇ СОЇ НА ПРИГНІЧЕННЯ РОСТУ КИШКОВОЇ ПАЛИЧКИ, КОМПОЗИЦІЇ БАКТЕРІЙ КЕФІРНОЇ ЗАКВАСКИ І СТИМУЛЮВАННЯ БІФІДОБАКТЕРІЙ В УМОВАХ IN VITRO

[1]Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова (м. Вінниця)

[2]Вінницький національний аграрний університет (м. Вінниця)

[3]Інститут кормів та сільського господарства Поділля НААН (м. Вінниця)

kulikmf@mail.ru

Дана робота є фрагментом НДР «Науково-практичні технології м'яких сирів функціонального призначення», № державної реєстрації 0115U006610.

Вступ. Використання різних генетично модифікованих (ГМ) культур у продуктах харчування для людей є дискусійним і особливо це стосується ГМ сої. Адже ГМ соя може входити як компонент білка в складі хліба, печива, дитячого харчування, маргарину, супів, піци, їжі швидкого приготування, вареної ковбаси, цукерок, морозива, чіпсів, шоколаду, соєвого молока і т. д., але біологічна небезпека цих продуктів харчування залишається нерозкритою.

Фірма «Монсанто» (США) в зерно сої класичної селекції за допомогою методу «генетичної гармати» вводить ген ферменту 5-енолпірувілшікімат-3-фосфат синтази (ЕПШФС) із ґрунтової бактерії *Agrobacterium tumefaciens* і одержується генетично модифікована раундапостійка соя. Цей фермент ЕПШФС каталізує перетворення шикимової кислоти в хоризмову, яка є попередником 3-х ароматичних амінокислот: фенілаланіну, тирозину і триптофану. Тому при потраплянні на листову поверхню водного розчину гліфосату на нетрансгенні рослини — бур'яни відбувається їх загибель.

Генномодифікована соя містить генетичну структуру (плазміду) *Agrobacterium tumefaciens*, яка є кільцевою дволанцюговою молекулою ДНК розміром 214233 пар основ і містить 199 генів, з яких 197 кодують білки [12], ця плазміда містить гени, що контролюють біосинтез і катаболізм специфічних амінокислот — опінів [13], гени вірулентності, гени синтезу фітогормонів — цитокінінів і ауксинів. Ці гормони викликають утворення пухлин і дедиференціювання тканин рослини. Т-ДНК власне і є інтегрованою ділянкою Ті-плазміди, що має гени синтезу фітогормонів і опіонів [19]. Цитокініни забезпечують індукцію ділення рослинних клітин. Опіни — продукти конденсації аргініну із кетокислотою і цукром. Синтезуються вони в корончатих галах рослин, трансформованих різними штамами *Agrobacterium tumefaciens*. Оскільки всі опіни виявляються тільки в клітинах пухлин, індукованих *Agrobacterium tumefaciens*, і відсутні в клітинах нормальних рослин або в клітинах рослинних пухлин інших типів, тому вони можуть розглядатися як специфічні біохімічні маркери для клітин корончатих галів. Була звернута увага, що ГМ соя містить 199 генів Ті-плазміди *Agrobacterium tumefaciens*, з яких 197 кодують білки [12], а послідовність амінокислот у білках обумовлена генетично. Навіть незначні зміни цієї послідовності змінюють функцію білка або роблять неможливим їх здійснення [4].

Скандинавськими вченими був досліджений імуномодулюючий ефект Cry1Ab-білка з *Bacillus thuringiensis* (Bt) і PHA-E-лектина з квасолі (*Phaseolus vulgaris erythroagglutinin*) при 28-і 90 денному їх згодовуванні щурам лінії «Вістар». Щурів годували а) контрольним рисом; б) трансгенним рисом, який експресує Cry1Ab-білок і PHA-E-лектин; в) трансгенним рисом у поєднанні з очищеним рекомбінантним білком. На основі проведених досліджень авторами зроблено висновок, що оскільки Cry1Ab-білок та PHA-E-лектин мають здатність індукувати антигенспецифічну відповідь антитіл, то вважається доцільним проводити детальне вивчення трансгенних рослин, що продукують ці білки [9,15].

Дослідження впливу ДНК ГМ сої GTS 40-3-2 і кукурудзи MON 810 на штами кишкової палички свідчать про можливість синтезу неспецифічних білків у *E. coli* штаму 0-55 [5].

Існують державні стандарти України: ДСТУ ISO 21569:2008, ДСТУ ISO 21570:2008, ДСТУ ISO 21571:2008, ДСТУ ISO 224276:2008, ДСТУ CEN/TS 15568:2008, ДСТУ ISO/TS 21586:2008, ДСТУ ISO 24276:2008, ДСТУ 5021.1:2008, ДСТУ ISO 5021.2:2008 і Російської Федерації: ГОСТ Р 52173:2003, ГОСТ Р 52174:2003 на визначення ГМ компонентів у продуктах харчування при їх виробництві з генетично модифікованої сої.

У системі лабораторного контролю трансгенних продуктів існує два напрямки: це методи ДНК-діагностики та методи імунодіагностики. Перший метод полягає у виявленні трансгенної ДНК (конкретні вбудовані гени та регуляторні ділянки ДНК векторних конструкцій 35S промотору, NOS термінатору). Метод полімеразної ланцюгової реакції базу-

ється на використанні зареєстрованих на території Європи діагностичних наборів: SureFood PREP Plant, SureFood GMO Screen 35S+NOS+FMV, SureFood GMO ID RR-Soya, SureFood GMO ID MON810 Corn, SureFood GMO QUANT RR-Soya, SureFood GMO QUANT MON810 Corn, SureFood GMO QUANT 35S Corn, SureFood GMO QUANT 35S Soya (R-Biopharm AG, Німеччина) та стандартні зразки різної відсоткової концентрації сої, кукурудзи (ERM, Бельгія), ампліфікатор Biorad CFX96. Імунологічні методи дозволяють виявляти безпосередньо трансгенні білки. Вони базуються на утворенні стійкого комплексу молекули трансгенного білка (антигену) зі специфічними до нього антитілами [2,3,6,8].

Переважна більшість зарубіжних публікацій, висвітлюють вплив генетично модифікованих кормів на фізіологічний стан організму тварин в цілому, а також їх продуктивність за умов згодовування трансгенних кормів, зокрема кукурудзи [20], сої [16,18] пшениці [17]. Незалежні дослідники повідомляли про нефротоксичний та гепатотоксичений ефекти які викликає використання ГМ кукурудзи [21]. Ушкодження гістоструктури печінки також було виявлено іншими авторами, які використовували ГМ сою у годівлі щурів [7]. За іншими даними, фрагменти трансгенних генів фуражної кукурудзи (Zein, Sh-2) були виявлені у крові, печінці, селезінці та нирках поросят, яких 35 діб годували кормом з генетично модифікованими інгредієнтами (ГМІ). Крім того, було знайдено фрагмент гену Cry1A (b), який є елементом трансгенної конструкції ГМ кукурудзи MON810 [14].

Проведені дослідження впливу ГМ кормів на стан мікробіоценозу каудальної частини кишечника свиней за згодовування звичайної і трансгенної сої [10]. Якісний та кількісний аналіз сої, на вміст генетично модифікованих інгредієнтів проводився з використанням комерційних ПЛР-тест наборів, згідно з чинними нормативними документами на методи досліджень: ДСТУ ISO 21569.2008, ДСТУ ISO 21570:2008, ДСТУ ISO 21571.2008. Для визначення наявності ГМ-дії проводили виділення ДНК з об'єктів рослинного походження (соя) з використанням комерційного набору «сорб-ГМО-Б» («Синтол», Росія) згідно з інструкцією виробника.

Зразки для аналізу мікрофлори відбиралися шляхом взяття мазків з прямої кишки у 4 піддослідних свинок з кожної групи. Мікробіологічні дослідження проводили в лабораторії інфекційних захворювань Інституту свинарства і агропромислового виробництва НААН України. Для визначення видового складу мікробіоценозу піддослідних свиней використовували поживні середовища: Ендо, агар Сабуро, м'ясо-пептонний бульйон (МПБ), м'ясо-пептонний агар (МПА) та середовище Кітт-Тароцці.

Наведений аналіз літературних джерел свідчить про те, що генетично модифікована соя містить не просту, а складну субстанцію генетичної структури *Agrobacterium tumefaciens*, а існуючі методи визначення в продуктах харчування людей тільки стверджують про її наявність, але не попереджують небезпеки використання. Так, у Постанові уряду Російської федерації № 839 від 23 серпня 2013 року зазначається, що незалежно від цільового використання ГМ продукції необхідно буде представляти заключення результатів молекулярно-генетичних досліджень і досліджень біологічної безпеки.

Мета дослідження. Вивчити в умовах in vitro вплив водної витяжки ГМ раундапостійкої сої порівняно із соєю класичної селекції на ріст кишкової палички *E. coli*, бактерій кефірної закваски і біфідобактерій.

Об'єкт і методи дослідження. Оцінка інтенсивності росту кишкової палички *E. coli* проводилась в умовах in vitro при наявності в поживному середовищі Ендо водної витяжки генетично модифікованої раундапостійкої сої порівняно з середовищем водної витяжки не генетично модифікованої сої.

У лабораторних умовах брали сухе поживне середовище Ендо згідно дози для приготування 100 мл середовища. Відважену дозу переносили в колбу і додавали водну витяжку ГМ сої до об'єму 100 мл (pH 7,2) і кип'ятили 3-5 хвилин до повного розварювання агару, а потім фільтрували крізь ватно-марлевий фільтр. Одержаний фільтрат поживного середовища стерилізували при температурі 120 ± 1°С упродовж 15 хвилин в автоклаві та після охолодження до температури 40-50°С живильне середовище розливали в асептичних умовах у стерильні чашки Петрі по 20 мл. Через 7-10 хвилин, як правило, проходило застигання середовища, на яке проводили посів суспензії мікробних тіл *E. coli* (перше дослідне середовище).

Друге дослідне середовище готували як вищенаведене, але водна витяжка була не ГМ сої.

Контролем слугувало середовище Ендо виготовлене по загальноприйнятій методиці.

Для одержання водної витяжки ГМ і не ГМ сої відважували по 50 г бобів обох варіантів і засипали в термостійкі скляні стакани, а потім додавали по 300 мл дистильованої води, нагрівали до кипіння і кип'ятили 30 хвилин. Мета — інактивація уреази, антитрипсину, антихімотрипсину та інших антипоживних і біологічно активних речовин. Після кип'ятіння відвар фільтрували крізь нейлонову тканину і таким чином одержували водну витяжку ГМ і не ГМ сої.

Для перевірки інтенсивності росту *E. coli* на контрольному та запропонованих середовищах використовували тест-штами культур *E. coli* (К. 12). З отриманих культур на м'ясо-пептонному агарі проводили змив 1 мл мікробних тіл, а після цього проводили його розведення 1:100 і це служило як дослідна посівна суспензія. Посівну суспензію висівали на приготовлені дослідні поживні середовища та контрольне за загальноприйнятою методикою. Посіви інкубували в термостаті при температурі 36 ± 1°С. Підрахунок колоній проводили через кожну добу впродовж 5 діб. Дослідження проводили в 3-и кратних повтореннях.

Постановка досліджень базується на перенесенні ДНК сої GTS-40-3-2 в кишечну паличку штаму 0-55 [5]. Так, автори упродовж 5-и днів культуру кишкової палички пересівали на агар. Після посіву на культуру вносили 50 мкл стандартного 1,0% розчину ДНК сої GTS-40-3-2. Після 5-ти пересівів культури бактерій проби відбирали штапелем в окремі пробірки на 1,5 мл для виділення ДНК. Результати цих досліджень

показали, що *E. coli* штаму 0-55 акумулює p35S генетично модифікованої сої GTS-40-3-2, який є сильним промотором і може запускати транскрипцію фрагменту ДНК, в який він вбудувався, а це може викликати синтез неспецифічних білків. По заключенню дослідників зміна штаму *E. coli* може мати ризик як для здоров'я людей, так і біологічного різноманіття видів при контактуванні з цим штамом [5].

Враховуючи наявність у трансгенній сої основи ґрунтової бактерії *Agrobacterium tumefaciens*, яка синтезує білки та інші низькомолекулярні сполуки, які відсутні в бобах не ГМ сої, а тому при надходженні в складі продуктів харчування в шлунково-кишковий тракт людей можуть впливати на мікрофлору кишечника. Для вивчення такого впливу водної витяжки ГМ сої і не ГМ в умовах in vitro були взяті бактерії кефірної закваски, до складу якої входять кефірні дріжджі, *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus*, *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis,* а також біфідобактерії.

При одержанні водної витяжки ГМ і не ГМ сої, як подано вище, із бобів сої обох варіантів у водний розчин переходили водорозчинні термостійкі білки, пептиди, амінокислоти, мінеральні речовини, ліпопротеїди, жирні кислоти і водорозчинні вуглеводи, а з ГМ сої додатково можливо залишки гліфосату і його метаболіти та неідентифіковані сполуки. Після кип'ятіння відвар фільтрували крізь нейлонову тканину і таким чином одержували водну витяжку ГМ і не ГМ сої. Тоді з обох водних витяжок відбирали по 20 мл водного розчину і вимірювали pH на лабораторному pH-метрі «pH-150МИ» та проводили титрування 0,01 n NaOH до pH 7. Потім в обидві водні витяжки додавали по 0,14 мг сухої композиції бактерій кефірної закваски — інкубували в термостаті при t = 37°C упродовж 24 годин і проводили знову титрування 0,01 n NaOH до pH 7. Таким чином, різниця між кількістю 0,01 n NaOH, що пішло на титрування 20 мл водних витяжок після і до інкубації є величиною життєдіяльності бактерій кефірної закваски з утворенням молочної та інших кислот у поживному середовищі водних витяжок обох варіантів сої. За аналогією одержували водні витяжки обох варіантів сої для проведення досліджень з біфідобактеріями, яких додавали по 0,03 мг сухого порошку для інкубації в термостаті при t = 37°C упродовж 24 годин. Титрування водних витяжок проводили аналогічно як з кефірними бактеріальними закваскам.

Результати досліджень та їх обговорення. Ріст тест-штамів *E. coli* (K. 12) був отриманий як на контрольному, так і на дослідних середовищах. На першому дослідному середовищі ріст колоній був пригнічений. На другому дослідному та контрольному середовищах колонії *E. coli* були червоного кольору та мали металевий блиск. Установлено, що кількість колоній на першому дослідному середовищі була на 37,0 ± 1,5 % меншою в порівнянні до контролю, тоді як у порівнянні з другим дослідним середовищем цей показник становив 3,5 ± 0,4 %.

Виходить, що водна витяжка ГМ сої пригнічує на 37,0% ріст кишкової палички *E. coli* порівняно до середовища без сої і на 3,5% ріст на середовищі з не ГМ соєю.

Вплив водної витяжки бобів ГМ сої на життєздатність композиції бактерій кефірної закваски в умовах in vitro подано в **таблиці 1.** До кефірної закваски входять кефірні дріжджі, лактобацили, лактококи, леуконосток і оцтовокислі бактерії. Лактококи — найбільш активна частина кефірної закваски, які забезпечують швидке зростання кислотності молока впродовж перших годин бродіння. При високих кислотностях вони пригнічуються. Кількість мезофільних лактобацил у кефірному стартері не перевищує 10^2-10^3/мл і ці бактерії не відіграють важливої ролі для якості продукту. Leuconostos spp. беруть участь у формуванні специфічного смаку та аромату кефіру і можуть, при надмірному розвитку викликати утворення газу, а деякі здатні продукувати полісахариди [1].

Таблиця 1.

Вплив водної витяжки бобів ГМ сої порівняно з не ГМ соєю на ріст композиції бактерій кефірної закваски в умовах in vitro

Показник		Водна витяжка бобів сої, M ± m, n = 10	
		не ГМ – контроль	ГМ – дослід
pH водної витяжки	до інкубації	6,23 ± 0,01	6,01 ± 0,01
	після інкубації	4,48 ± 0,02	4,37 ± 0,01
Титрування 20 мл витяжки 0,01 n NaOH (мл)	перед додаванням кефірної закваски	7,7 ± 0,1	10,4 ± 0,2
	після інкубації в термостаті 24 год.	66,4 ± 1,0	53,2 ± 1,6
Різниця в мл 0,01 n NaOH між II і I титруванням		58,7 ± 0,9	42,8 ± 1,6
Різниця в % ГМ сої до не ГМ контроль – не ГМ соя – 100 %		100	–27 ± 2,3

Дані **таблиці 1** переконливо показують пригнічення життєздатності композиції бактерій кефірної закваски від 36 до 15,8%. Нами проведено 10 визначень у 3-х повтореннях показників активності бактерій кефірної закваски і середня величина її пригнічення становить 27,0 ± 2,3 %.

Вплив водної витяжки бобів ГМ сої на життєздатність біфідобактерій в умовах in vitro наведена в **таблиці 2.**

Проведення досліджень із біфідобактеріями обґрунтовується тим, що вони становлять основу нормальної мікрофлори травного тракту і кількісно складають більшу частину бактерій товстого кишечника. У дітей в 1 г фекалій міститься 10^{10}-10^{11} біфідобак-

терій, а в дорослих — 10^9-10^{10}. Ці бактерії потрапляють в організм дитини з перших годин життя і можуть становити до 80-90% мікрофлори кишечника новонародженого. Вони активно зброджують сахарозу, галактозу, фруктозу, мальтозу, мелібіозу, рафінозу, лактозу та інші вуглеводи з утворенням оцтової і молочної кислот у молярному співвідношенні 3:2. Ними утворюються також мурашина і янтарна кислоти та спирт. Масляну, пропіонову кислоти та вуглекислий газ не утворюють [1,11].

Таблиця 2.

Вплив водної витяжки бобів ГМ сої порівняно з не ГМ соєю на ріст біфідобактерій в умовах in vitro

Показник		Водна витяжка бобів сої, M ± m, n = 9	
		не ГМ – контроль	ГМ – дослід
pH водної витяжки	до інкубації	6,23 ± 0,01	6,00 ± 0,01
	після інкубації	4,47 ± 0,03	4,36 ± 0,03
Титрування 20 мл витяжки 0,01 n NaOH (мл)	перед додаванням біфідобактерій	7,0 ± 0,2	10,5 ± 0,1
	після інкубації в термостаті 24 год.	64,4 ± 0,2	75,9 ± 0,7
Різниця в мл 0,01 n NaOH між II і I титруванням		57,4 ± 0,4	64,6 ± 0,5
Різниця в % ГМ сої до не ГМ контроль – не ГМ соя – 100 %		100	12,7 ± 1,1

Результати досліджень впливу водної витяжки ГМ сої свідчать про стимулювання росту біфідобактерій у живильному середовищі трансгенної сої. Проведено 9 визначень у 3-х повтореннях життєздатності біфідобактерій і встановлено підвищення в середньому на 12,7 ± 1,1 % їх здатності утворювати оцтову, молочну, мурашину і янтарну кислоти, які утворюються у водній витяжці ГМ сої порівняно із не ГМ соєю.

Рослинними стимуляторами росту біфідобактерій у молоці є також знежирена соя, екстракт картоплі, тростинний цукор, кукурудзяний екстракт і морквяний сік. Як стимулятори росту застосовують сорбіт, сірчанокислу мідь та лактат заліза. Одним із способів активації росту біфідобактерій в молоці є отримання мутантів цих мікроорганізмів, здатних рости без будь-якого захисту від кисню [1].

Виходить, що соя класичної селекції, тобто, не ГМ природно стимулює ріст біфідобактерій, тоді виникає питання, а які ж фактори живильного середовища трансгенної сої порівняно з таким же середовищем не ГМ сої додатково підвищують на 12,7% їх життєздатність?

Позитивний вплив біфідобактерій на організм людей обумовлюється тим, що вони підтримують нормальний баланс мікрофлори кишечника; продукують оцтову, молочну та частково мурашину і янтарну кислоту, які знижують pH середовища, чим створюють несприятливі умови для розвитку патогенних мікроорганізмів. Здатні виділяти продукти метаболізму, які пригнічують життєдіяльність патогенних бактерій і знижують концентрацію потенційно небезпечного аміаку й амінів у крові. Стимулюють імунну систему проти патогенних організмів і підсилюють захисну здатність організму завдяки стимулювання IgA-антитіл. Сприяють зниженню рівня холестерину в крові через участь ферменту редуктази. Проявляють протипухлинну активність і сприяють відновленню нормальної мікрофлори кишечника після терапії антибіотиками. Поліпшують засвоюваність молочних продуктів у людей, в яких не перетравлюється лактоза через виділення р-галактозидази, яка компенсує дефіцит лактази в кишечнику. Біфідобактерії синтезують вітаміни групи В (B_1, B_2, B_6 і B_{12}) і вітамін К, які можуть засвоюватись в організмі людини [11].

Поряд з переконливими аргументами позитивного впливу активності біфідобактерій на організм людей необхідно послатись і на деякі, можливо, негативної дії підвищення життєздатності біфідобактерій у товстому кишечнику людей під впливом використання ГМ сої в продуктах харчування. Зокрема, нетолерантність дорослої людини до лактози є фактором зниження pH у нижніх відділах кишечника. Лактоза зброджується з утворенням молочної кислоти, що й є причиною діареї. Стимулювання утворення мурашиної кислоти в товстому кишечнику, а саме для ободової і прямої кишки є фактором подразнення клітин слизової оболонки, що може бути наслідком непередбаченого захворювання. Адже мурашина кислота в рослині — кропива при потраплянні ззовні на тіло і після укусу мурашок, в залозах яких є мурашина кислота, в людей з'являються виразки на шкірі.

Висновки. Водна витяжка генетично модифікованої раундапостійкої сої як живильне середовище в умовах in vitro пригнічує на 37% ріст кишкової палички *E. coli* — штам К12 і на 27,0% життєздатність композиції бактерій кефірної закваски, тоді як за таких умов на 12,7% стимулює активність біфідобактерій з утворенням оцтової, молочної, мурашиної і янтарної кислот.

Стимулювання активності біфідобактерій під впливом генетично модифікованої раундапостійкої сої в продуктах харчування сприяє утворенню мурашиної кислоти в товстому кишечнику людей, що є фактором подразнення його слизової, а це може викликати небезпечні захворювання.

Перспективи подальших досліджень. Проведення досліджень з іншими штамами кишкової палички і молочнокислих бактерій окремих родів, так як вони в кефірній заквасці представлені трьома родами. Поглиблення всебічних досліджень біологічної небезпеки використання трансгенної сої в продуктах харчування для людей.

Література

1. Власенко І.Г. Сучасна оцінка молочних продуктів дієтичного та лікувально-профілактичного призначення / І.Г. Власенко, В.В. Власенко, С.В. Гирич. — Вінниця: «Едельвейс і К», 2008. — 208 с.
2. Гайдей О.С. Аналіз результатів визначення гмо в сировині рослинного походження за 2014 рік / О.С. Гайдей, В.О. Загребельний, Ю.М. Новожицька, Н.В. Усаченко // Зернові продукти і комбікорми. — 2015. — № 1 (57) — С. 25-28.
3. Гинцбург А.Л. Подходы к оценке биобезопасности генетически модифицированных микроорганизмов, используемых в пищевой продукции / А.Л. Гинцбург, Б.С. Народицкий // Сб. трудов 7-го всероссийского конгресса «Здоровое питание населения России». — Москва, 2003. — С. 123-124.
4. Дурст Л. Кормление сельскохозяйственных животных / Л. Дурст, М. Виттман / Пер. с нем. А.И. Чигрина, А.А. Дягилева; Под ред. И.И. Ибатуллина, Г.В. Проваторова. — Винница: Новая книга, 2003. — 382 с.
5. Журба Р.Г. Влияние ДНК генномидифицированных сои GTS 40-3-2 и кукурузы MON810 на штаммы кишечной палочки E. coli O-55 и M-17 / Р.Г. Журба, А.Г. Журба, А.П. Симчук. — Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». — 2010. — Том 23, № 4. — С. 89-94.
6. Ивановцев В.В. Идентификация трансгенной сои в продуктах и кормах / В.В. Ивановцев, В.В. Светличкин, А.В. Каверин // Журнал «Ветеринария и кормление». — Москва, 2006. — № 6. — С. 21-22.
7. Колоусова Н.Г. Патоморфологические изменения в печени крыс при употреблении генномодифицированной сои / Н.Г. Колоусова, Г.И. Губина-Вакулик, Т.А. Иваненко [и др.] // Актуальні проблеми онкоморфології: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю та 3 конференції Українського дивізіону інтернаціональної академії патології, 12-13 травня 2011 р., Харків, Україна. — Харківський нац. мед. університет. — Харків, 2011. — С. 100.
8. Методические указания «Определение генетически модифицированных источников (ГМИ) растительного происхождения методом полимеразной цепной реакции». МУК 4.2.1902-04.
9. Салига Н.О. Генетично модифіковані рослини та їх вплив на організм тварин / Н.О. Салига, В.В. Снітинський // Біологія тварин: науково-теоретичний журнал. — 2010. — Том 12, № 2. — С. 67-74.
10. Семенов С.О. Динаміка мікробіоценозу кишечнику у свиней за умов використання трансгенної сої / С.О. Семенов, С.Г. Зінов'єв, О.А. Біндюг, С.М. Корінний, Т.М. Цивенко // Свинарство. Міжвід. темат. наук. зб. — Полтава ТОВ «Фірма «Техсервіс», 2013. — Вип. 63. — С. 69-76.
11. Сирохман І.В. Товарознавство харчових продуктів функціонального призначення: навч. посібник / І.В. Сирохман, В.М. Завгородня. — Львівська комерційна акад. — Київ: Центр учбової літ., 2009. — 544 с.
12. Agrobacterium tumefaciens str. C58 Ti plasmid, complete sequence. NCBI [Електронний ресурс]. — Режим доступу: https://uk.wikipedia.org/wiki/Agrobacterium_tumefaciens.
13. Agrobacterium and Ti Plasmids — A Brief History. Scribd. 2013 [Електронний ресурс]. — Режим доступу: https://uk.wikipedia.org/wiki/ Agrobacterium_tumefaciens.
14. Jeffrey M.S. Genetic Roulette. The documented health risks of genetically engineered foods / M. Smith Jeffrey // Fairfield: Yes Books. — 2007. — 319 p.
15. Kroghsbo S. Immunotoxicological studies of genetically modified rice expressing PHAE lectin or Bt toxin in Wistar rats / S. Kroghsbo, C. Madsen, M. Poulsen [et al.] // Toxicology. — 2008. — Vol. 245, № 1-2. — P. 24-34.
16. Magaca-Gymez J.A. Pancreatic response of rats fed genetically modified soybean / J.A. Magaca-Gymez, G. Lypez Cervantes, G. Yepiz-Plascencia, A.M. Calderyn de la Barca // J Appl Toxicol. — 2008. — Vol. 28. — P. 217-226.
17. Magaca-Gymez J.A. Risk assessment of genetically modified crops for nutrition and health / J.A. Magaca-Gymez, A.M. Calderyn de la Barca // Nutrition Reviews. — 2008. — Vol. 67. — № 1. — P. 1-16.
18. Malatesta M. Reversibility of hepatocyte nuclear modifications in mice fed on genetically modified soybean / M. Malatesta, C. Tiberi, B. Baldelli [et al.] // Eur. J. Histochem. — 2005. — Vol. 49. — P. 237-242.
19. Moore L.W. Diversity of opines and opine-catabolizing bacteria isolated from naturally occurring crown gall tumors / L.W. Moore, W.S. Chilton, M.L. Canfield // Applied and environmental microbiology. — 1997. — Vol. 63, № 1. — P. 201-207.
20. Seralini Gilles-Eric New analysis of a rat feeding study with a genetically modified maize reveals signs of hepatorenal toxicity / Gilles-Eric Seralini, Dominigue Cellier, Joel Spiroux de Vendomois // Aech. Environ. Contam. Toxicol. — 2007. — Vol. 52. — P. 596-602.
21. Vendomois de G.S. A comparison of the effects of three GM Corn varieties on mammalian health / G.S. de Vendomois, F. Roullier, D. Cellier [et al.] // Int. J. Biol. Sci. — 2009. — № 5 (7). — P. 706-726.

УДК 633.34:637.136:579.83/88

ВПЛИВ ВОДНОЇ ВИТЯЖКИ ТРАНСГЕННОЇ РАУНДАПОСТІЙКОЇ СОЇ НА ПРИГНІЧЕННЯ РОСТУ КИШКОВОЇ ПАЛИЧКИ, КОМПОЗИЦІЇ БАКТЕРІЙ КЕФІРНОЇ ЗАКВАСКИ І СТИМУЛЮВАННЯ БІФІДОБАКТЕРІЙ В УМОВАХ IN VITRO

Кулик Я. М., Власенко В. В., Обертюх Ю. В., Виговська І. О.

Резюме. Проведені дослідження впливу водної витяжки генетично модифікованої раундапостійкої сої на ріст кишкової палички, композиції бактерій кефірної закваски і біфідобактерій. Встановлено, що водна витяжка генетично модифікованої сої як живильне середовище в умовах in vitro пригнічує на 37,0% ріст кишкової палички *E. coli* — штам K12 і на 27,0% життєздатність композиції бактерій кефірної закваски, тоді як за таких же умов на 12,7% стимулює активність біфідобактерій. Генетично модифікована раундапостійка соя містить генетичну структуру (плазміду) *Agrobacterium tumefaciens*, що обумовлює синтез білків невластивих не генетично модифікованій сої. Це вимагає проведення всебічних досліджень біологічної небезпеки використання генетично модифікованої сої в продуктах харчування для людей.

Ключові слова: генетично модифікована раундапостійка соя, кишкова паличка, композиція бактерій кефірної закваски, біфідобактерії.

УДК 633.34:637.136:579.83/88

ВЛИЯНИЕ ВОДНОЙ ВЫТЯЖКИ ТРАНСГЕННОЙ РАУНДАПОУСТОЙЧИВОЙ СОИ НА УГНЕТЕНИЕ РОСТА КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ, КОМПОЗИЦИИ БАКТЕРИЙ КЕФИРНОЙ ЗАКВАСКИ И СТИМУЛИРОВАНИЕ БИФИДОБАКТЕРИЙ В УСЛОВИЯХ IN VITRO

Кулик Я. М., Власенко В. В., Обертюх Ю. В., Выговская И. А.

Резюме. Проведенные исследования влияния водной вытяжки генетически модифицированной раундапоустойчивой сои на рост кишечной палочки, композиции бактерий кефирной закваски и бифидобактерий. Установлено, что водная вытяжка генетически модифицированной сои в качестве питательной среды в условиях in vitro подавляет на 37,0% рост кишечной палочки *E. coli* — штамм К12 и на 27,0% жизнеспособность композиции бактерий кефирной закваски, тогда как при таких же условиях на 12,7% стимулирует активность бифидобактерий. Генетически модифицированная раундапоустойчивая соя содержит генетическую структуру (плазмиды) *Agrobacterium tumefaciens*, что обусловливает синтез белков несвойственных не генетически модифицированной сое. Это требует проведения всесторонних исследований биологической опасности использования генетически модифицированной сои в продуктах питания для людей.

Ключевые слова: генетически модифицированная раундапоустойчивая соя, кишечная палочка, композиция бактерий кефирной закваски, бифидобактерии.

UDC 633.34:637.136:579.83/88

ACTION AQUEOUS EXTRACT OF TRANSGENIC ROUNDUP RESISTANT SOYBEANS IN GROWTH INHIBITION OF INTESTINAL STICKS, THE COMPOSITION BACTERIA KEFIR LEAVEN AND STIMULATION OF BIFID BACTERIA IN CONDITIONS IN VITRO

Kulyk Y. M., Vlasenko V. V., Obertiukh Y. V., Vyhovska I. O.

Abstract. *Research purpose*. Study in conditions in vitro effect of aqueous extract of GM Roundup resistant soybean soybeans compared to classical selection for growth of intestinal sticks *E. coli*, bacteria kefiric leaven and bifid bacteria.

Object and research methods. Assessment of intensity of growth an intestinal stick *E. coli* carried out in conditions in vitro in the presence of nutrient medium Endo aqueous extract genetically modified Roundup resistant soybean compared with environment water extraction are not genetically modified soy.

To obtain aqueous extract of GM and non GM soy weighed 50 grams beans both options and covered in heat-resistant glass cups, and then added by the 300 ml of distilled water, heated to boiling and boil for 30 minutes. After boiling decoction filtered through a nylon cloth and thus prepared aqueous extract of GM and non GM soy.

The intensity of the growth of *E. coli* strain (K. 12) studied at the test and the proposed media. Seeding suspension was plated on nutrient media prepared research and monitoring by the conventional method. Crops were incubated in an incubator at 36 ± 1°C.

With both water extracts were taken to 20 ml of an aqueous solution and measured pH laboratory pH-meter "pH-150MI" and conducted titration 0.01 n NaOH to pH 7. Then, in both aqueous extract was added 0.14 mg of dry bacteria composition kefiric leaven were incubated in thermostat at t = 37°C within 24 hours and was performed again titration 0.01 n NaOH to pH 7. Thus, the difference between the amount of 0,01 n NaOH, for titration of 20 ml of water extracts after and to incubation is the size vital functions of bacteria to form kefiric leaven lactic and other acids in the nutrient medium water extracts both options soybeans. By analogy obtained aqueous extract both options soybean for conduct research on bifid bacteria, which was added 0.03 mg of dry powder for incubation in thermostat at t = 37°C within 24 hours. Titration water extracts conducted similarly as with kefir bacterial cultures.

Research results and their discussion. Growth of test strains of *E. coli* (K. 12) was obtained as on the control, so and in research environments. Water extract of GM soy inhibits the 37.0% growth an intestinal stick *E. coli* compared to medium without soy and by 3.5% growth in an environment with non-GMO soybeans.

Effect of aqueous extract of soy beans GM compared with non GM soy on growth composition kefiric bacteria leaven shows inhibition of viability composition kefiric bacteria leaven from 36 to 15.8%. The influence of aqueous extract of GM soya indicate a stimulating the growth of bifid bacteria in the culture medium. Soya classical selection i.e. not GM naturally stimulates the growth of bifid bacteria, then the question arises, and what are the factors of culture medium of transgenic soybeans compared to the same environment is not GM soya additional increase of 12.7% of their viability.

Stimulation the formation of formic acid in the large intestine under the influence of GM soya for colon and rectal irritation factor is mucosal cells, which may be a consequence of an unforeseen illness.

Conclusions. Water extract genetically modified Roundup resistant soybean inhibit 37% growth an intestinal stick *E. coli* — strain K12 and 27.0% of bacteria kefiric leaven, but stimulates the activity of bifid bacteria 12.7%. Stimulation activity of bifid bacteria influenced genetically modified Roundup resistant soybean in a foodstuff can increase the formation of formic acid in the colon of people is a factor irritation of the mucous.

Keywords: genetically modified Roundup resistant soybean, intestinal sticks, bacteria composition kefiric leaven, bifid bacteria.

Рецензент — проф. Лобань Г. А.

Стаття надійшла 09.05.2016 року