

and reproductive parameters in females. In addition, there was adverse influence on males and females fertility, which was assessed by the indexes of conception and fertility.

Conclusions. Comparing the obtained data, it may be concluded that all the test substances does not cause the general toxic effects and not induce any adverse effects on the reproductive function of male and female Wistar Han rats in the low dose 0.2 mg/kg/bw (NOEL).

Key words: triazole fungicides, pesticides, reproductive toxicity, methodological approaches.

*Рецензент – проф. Катрушов О. В.
Стаття надійшла 06.05.2018 року*

DOI 10.29254/2077-4214-2018-2-144-114-117

УДК 633.34:604:543.645.6

¹Кулик Я. М., ²Чорнолата Л. П.

НАЯВНІСТЬ НЕПРИРОДНИХ ПЕПТИДІВ У БІЛКУ БОБІВ ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНОЇ РАУНДАПОСТІЙКОЇ СОЇ

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

²Інститут кормів та сільського господарства Поділля НААН (м. Вінниця)

kulikmf@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Дана робота є фрагментом НДР «Вивчити вплив довготривалого згодовування трансгенної раундапостійкої сої на відтворювальну здатність свиней і курей», № державної реєстрації 0117U002236.

Вступ. Присутність ГМО в продуктах харчування підтверджується шляхом виявлення генетичних вставок 3SS, NOS і FMV. Можливо в майбутньому з'являться й інші векторні системи. При виявленні 3SS проби перевіряються на природну контамінацію вірусом мозаїки цвітної капусти з допомогою ПЛР-систем CaMV. Крім цього, ефективність виділення ДНК повинна підтверджуватися за допомогою ПЛР системи на рослину ДНК.

Якщо досліджувані проби виявилися ГМО-позитивними проводиться ідентифікація і класифікація ГМО, щоб з'ясувати чи дозволений чи ні цей трансгенний організм. У Європі, продукти, що містять заборонені ГМО, не дозволені для ввезення в Євро-союз, крім того ці продукти не можна виробляти і переробляти на території Європи. Для дозволенних ГМО головним є кількісне визначення в діапазоні до 0,9 % у зразках харчових продуктів. Вміст ГМО в кількості копій ДНК може бути визначена кількісно в залежності від рослинної матриці та результати подаються у відсотках.

Щодо такої оцінки генетично модифікованої (ГМ) раундапостійкої сої нами звернута увага на наявність неприродних пептидів у її білку і, можливий, негативний вплив цих пептидів на організм людини при використанні такої сої в продуктах харчування. Так, при боротьбі з бур'янами, тобто, обприскування ГМ раундапостійкої сої Roundup (гліфосат) впливає на метаболічний процес шикимової кислоти в рослинах бур'янів, блокуючи синтез деяких незамінних ароматичних амінокислот, зокрема, фенілаланіну, тирозину і триптофану [1], перед усім у точках росту стебла і кореня [2]. За таких умов блокування синтезу зазначених ароматичних амінокислот стебло рослини засихає. При обприскуванні певна частина гліфосату попадає і на листову поверхню і стебло ГМ сої. Це фаза бутонізації. Рослина сої продовжує розвиватися і гліфосат не блокує синтез незамінних ароматичних амінокислот через наявність в її гене-

тичній структурі ферменту 5-енолпіруватшкімат-3-фосфатази (EPSPS). Рослина сої продовжує ріст і формуються боби (зерно) з високим вмістом білка. Гліфосат – це молекула гліцину з метилфосфонільною групою, зв'язаною з атомом азоту. Як аналог гліцину він може мати місце в процесах синтезу білка соєвих бобів. За таких умов утворюються неприродні пептиди в бобах (зерні) ГМ раундапостійкої сої.

Гліцин, найменша амінокислота, яка має унікальні властивості та здатність приєднуватися до плазматичної мембрани або цитоскелету в організмі людей і тварин. Глибокий аналіз літературних джерел виявив ряд класів білків, які залежать від природних (консервативних) залишків гліцину для виконання належної функції. Заміна гліфосатом природних (консервативних) гліцинів пояснює зв'язок із діабетом, ожирінням, астмою, набряком легень, наднирковою недостатністю, безпліддям та іншими захворюваннями [3].

Мета досліджень. Визначити наявність неприродних пептидів у білку бобів ГМ раундапостійкої сої порівняно з не ГМ соєю на здатності ароматичних амінокислот (триптофан, тирозин та фенілаланін) поглинати ультрафіолетове світло в діапазоні 280 нм, так як проведеними нами дослідженнями на основі реакції Паулі встановлено, що гліфосат при кип'ятінні вступає у взаємодію, тобто, утворює сполуки з ароматичними амінокислотами не ГМ сої і більш виражено з такими ж амінокислотами ГМ раундапостійкої сої.

Об'єкт і методи досліджень. Боби (зерно) ГМ раундапостійкої сої і не ГМ сої. В один скляний термостійкий стакан поміщали 2 г дрібно подрібненої на лабораторному млинку ГМ раундапостійкої сої, а в другий такий же стакан 2 г не ГМ сої. В обидва стакани добавляли по 150 мг дистильованої води і кип'ятили впродовж 30 хвилин. Мета кип'ятіння – інактивація антипоживних речовин і перехід у водний розчин водорозчинних білків, пептидів і вільних амінокислот. Після кип'ятіння в кожний стакан добавляли дистильовану воду до мітки – 150 мл, тобто добавляли воду, яка випаровувалася при кип'ятінні, а потім окремо з кожного стакану відбирали середню пробу 10 мл водного розчину сої і добавляли 20 мл 6,0 % розчину трихлороцтової кислоти (ТХО) для осадження білків і фільтрували крізь паперовий

фільтр. Таким чином одержували фільтрат білків сої обох варіантів, в яких визначали вміст пептидів із ароматичними амінокислотами і вільних ароматичних амінокислот на спектрофотометрі СФ-4 при довжині хвилі 280 нм. Було проведено дослідження 20 зразків сої не ГМ і 10 зразків ГМ раундапостійкої сої.

Результати досліджень та їх обговорення. Показники екстинкції спектрофотометра СФ-4 фільтрату після осадження білків ТХО зразків ГМ раундапостійкої сої показали нижчий рівень пептидів із ароматичними амінокислотами і в сумі з вільними ароматичними амінокислотами порівняно з такими ж показниками екстинкції фільтрату не ГМ сої (табл.). Проте необхідно звернути увагу на різну різницю зменшення ароматичних амінокислот в ГМ раундапостійкій сої по відношенню до не ГМ сої. Із проаналізованих 20 зразків не ГМ в 10-ти зразках різниця була в межах 38-40 %, а в 5-ти з коливаннями від 20 до 23 %, а в наступних 5-ти рівень становив 14-16 %. Безперечно показники екстинкції вмісту ароматичних амінокислот залежать від вмісту білка в бобах (зерні) сої, тому нами визначено загальний вміст білка в сої ГМ і не ГМ, але різниця в 10-ти сортів не ГМ сої на рівні майже 40 % вищого рівня ароматичних амінокислот проти ГМ раундапостійкої сої також має пояснення через наявність у раундапостійкій сої сполук між гліфосатом і ароматичними амінокислотами.

Гліфосат може заміщувати гліцин під час синтезу протеїну, але я [4] відкинув цю ідею, оскільки я помилково вважав, що наявність бічного ланцюга на атомі азоту не дозволить гліфосату приєднатися до пептидного ланцюга [4].

Виникає питання. Чому гліфосат (N-фосфонометилгліцин) вступає в пептидні зв'язки в бобах (зерні) сої з ароматичними амінокислотами в процесі синтезу білків сої? Очевидно, фосфонометильна група N-фосфонометилгліцину вступає у взаємодію з ароматичним кільцем цих амінокислот, що зменшує поглинання ультрафіолетового світла ароматичними амінокислотами.

У таблиці наведені дані 5-ти зразків не ГМ сої зменшення вмісту ароматичних амінокислот на рівні 20 % і в 5-ти зразках такої ж сої на рівні 14 %. Така строкатість вмісту ароматичних амінокислот у бобах не ГМ сої пояснюється різною часткою генетичної структури *Agrobacterium tumefaciens*, як основи ГМ раундапостійкої сої.

Дані кореляції разом із прямими біологічними доказами становлять переконливу дію гліфосату, як аналогу гліцину, що визначає більшу частину токсичності гліфосату [5].

Аналіз джерел літератури показує, що гліфосат (фосфонометилгліцин – синтетична амінокислота) може заміщувати природний гліцин у випадкових точках у процесі синтезу білка з невідомими наслідками. Той факт, що ця синтетична амінокислота, аналог природної амінокислоти, яка виконує багато важливих ролей у функції білків, що містять її, робить можливим, щоб заміщення гліфосатом гліцину в пептидах могло спричинити велику кількість несприятливих і непередбачуваних ефектів [3].

Поряд із цим виявлено дефекти нервової системи та черепно-лицевих вад розвитку в дітей, які народилися в регіонах, де використовуються гербіциди на основі гліфосату. Група дослідників вивчала вплив низьких доз гліфосату (1/5000 розбавлення розчинів комерційного

гербіциду на основі гліфосату) в розвитку африканських кітятих жаб та курячих ембріонів [6]. Оброблені ембріони були дуже ненормальними лялечні ембріони перетворилися на пугловки з черепними деформаціями, а мікроцефалія в ембріонів курчат.

Гліфосат, ймовірно, також присутній у м'ясі, яйцях, сирі та інших молочних продуктах, які одержані від тварин, яким згодовували корми з гліфосатом (люцерну, кукурудзу та сою) [7,8].

По заключенню Samsel і Seneff (2013) гліфосат, є поширеним у нашому харчуванні та всупереч не-токсичним властивостям, він може бути насправді найбільш біологічно руйнівною хімічною речовиною в нашому середовищі. Адже гліфосат діє як аналог гліцину і може помилково включатися в пептиди під

Таблиця.

Показники екстинкції спектрофотометра СФ-4 при довжині хвилі 280 нм на вміст ароматичних амінокислот у фільтраті ТХО зразків ГМ і не ГМ сої

Зразок сої	Показник екстинкції ГМ сої	Показник екстинкції не ГМ сої	Різниця до ГМ сої	% зменшення ароматичних амінокислот
1	0,455	0,746	0,291	39,0
2	0,424	0,729	0,305	41,8
3	0,441	0,710	0,269	37,9
4	0,413	0,698	0,285	40,8
5	0,431	0,692	0,261	37,7
6	0,414	0,689	0,275	39,9
7	0,432	0,710	0,278	39,2
8	0,457	0,790	0,333	42,2
9	0,446	0,728	0,282	38,7
10	0,467	0,723	0,256	35,4
M ± m	0,438	0,722	0,284	39,3
11	0,457	0,586	0,129	22,0
12	0,454	0,570	0,116	20,4
13	0,420	0,551	0,131	23,8
14	0,448	0,569	0,121	21,3
15				
M ± m	0,445	0,569	0,124	21,8
16	0,424	0,492	0,068	13,8
17	0,432	0,504	0,072	14,3
18	0,442	0,519	0,077	14,8
19	0,454	0,522	0,068	13,0
20	0,450	0,529	0,079	14,9
M ± m	0,440	0,513	0,073	14,2

час синтезу білка. Гліцин, найменша амінокислота, має унікальні властивості, які підтримують гнучкість і здатність прив'язуватись до плазматичної мембрани або цитоскелету. Заміна гліфосатом консервативних гліцинів може легко пояснити зв'язок із діабетом, ожирінням, астмою, хронічним обструктивним захворюванням легень, набряком легень, наднирковою недостатністю, аміотрофічним бічним склерозом.

Висновки. Встановлено нижчий вміст ароматичних амінокислот у ГМ раундапостійкій сої порівняно з не ГМ соєю, що свідчить про наявність у ГМ сої неприродних пептидів, очевидно, сполук гліфосату з тирозином, триптофаном і фенілаланіном.

Перспективи подальших досліджень. Визначення вмісту ароматичних амінокислот у ГМ раундапостійкій сої як фактору небезпеки її використання в продуктах харчування.

Література

1. Amrhein N, Deus B, Gehrke P, Steinrücken HC. The site of the inhibition of the shikimate pathway by glyphosate, II: interference of glyphosate with chorismate formation in vivo and in vitro. *Plant Physiol.* 1980;66(5):830-4.
2. Sahnó LO, Komarnitskiy IK, Kuchuk MV. Stiykist do glifosatu i glyufozinatu v pokolinnyah T1–T2 biotekhnologichnih roslin ripaku (*Brassica napus* L.). *Visnyk Ukrayinskoho tovarystva henetykiv i selektsioneriv.* 2015;13(1):3-10. Dostupno: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vutgis_2015_13_1_3 [in Ukrainian].
3. Samsel A, Seneff S. Glyphosate pathways to modern diseases V: Amino acid analogue of glycine in diverse proteins. *Journal of Biological Physics and Chemistry.* 2016;16:9-46.
4. Seneff S. Glyphosate in Collagen. *Wise Traditions in Food, Farming and the Healing Arts*, the quarterly magazine of the Weston A. Price Foundation. 2017;(1). Available from: <https://www.westonaprice.org/health-topics/environmental-toxins/glyphosate-in-collagen>
5. Samsel A, Seneff S. Glyphosate's suppression of cytochrome P450 enzymes and amino acid biosynthesis by the gut microbiome: pathways to modern diseases. 2013;15:1416-63.
6. Paganelli A, Gnazzo V, Acosta H, Lpez SL, Carrasco AE. Glyphosate-based herbicides produce teratogenic effects on vertebrates by impairing retinoic acid signaling. *Chem. Res. Toxicol.* 2010;23:1586-95.
7. Pesticide residues in food. In *FAO/WHO. Evaluations Part I: Residues.* 1st ed.; Volume 78, In Proceedings of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts Residues in Food and the Environment and the WHO Expert Group on Pesticide Residues, Rome, Italy, 29 September–8 October, 1986; Food and Agriculture Organization of the United Nations: Rome, Italy, 1986; FAO Plant Production and Protection Paper.
8. Sullivan TP, Sullivan DS. The effects of glyphosate herbicide on food preference and consumption in black-tailed deer. *Can. J. Zool.* 1979;57:1406-12.

НАЯВНІСТЬ НЕПРИРОДНИХ ПЕПТИДІВ У БІЛКУ БОБІВ ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНОЇ РАУНДАПОСТІЙКОЇ СОЇ

Кулик Я. М., Чернолата Л. П.

Резюме. Дослідженнями, які включають кип'ятіння у водному розчині подрібненої сої, осадження білків трихлороцтовою кислотою, одержання фільтрату і визначення на спектрофотометрі вмісту ароматичних амінокислот на принципі поглинання ними ультрафіолетових променів при 280 нм, встановлено нижчий вміст ароматичних амінокислот в генетично модифікованій (ГМ) раундапостійкій сої порівняно з не ГМ соєю, що свідчить про наявність в ГМ сої неприродних пептидів, очевидно, сполуки гліфосату з тирозином, триптофаном і фенілаланіном.

Ключові слова: генетично модифікована соя, не генетично модифікована соя, водна витяжка сої, екстинкція, пептиди, ароматичні амінокислоти.

НАЛИЧИЕ НЕЕСТЕСТВЕННЫХ ПЕПТИДОВ В БЕЛКЕ БОБОВ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННОЙ РАУНДАПОУСТОЙЧИВОЙ СОИ

Кулик Я. М., Чернолата Л. П.

Резюме. Исследованиями, которые включают кипячение в водном растворе измельченной сои, осаждения белков трихлоруксусной кислотой, получение фильтрата и определения на спектрофотометре содержания ароматических аминокислот на принципе поглощения ими ультрафиолетовых лучей при 280 нм, установлено низкое содержание ароматических аминокислот в генетически модифицированной (ГМ) раундапостойчивой сои по сравнению с не ГМ соей, что свидетельствует о наличии в ГМ сои неестественных пептидов, очевидно, соединения глифосата с тирозином, триптофаном и фенилаланином.

Ключевые слова: генетически модифицированная соя, не генетически модифицированная соя, водная вытяжка сои, экстинкция, пептиды, ароматические аминокислоты.

THE EVIDENCE OF UNNATURAL PEPTIDES IN PROTEIN BEANS OF GENETICALLY MODIFIED ROUNDUP RESISTANT SOYBEAN

Kulyk Y. M., Chornolata L. P.

Abstract. Research purpose. Determined the presence of unnatural peptides in protein beans GM Roundup resistant soybeans compared with non-GM soy on the ability of the aromatic amino acids (tryptophan, tyrosine and phenylalanine) to absorb ultraviolet light in the range of 280 nm, as our studies conducted on Pauli reaction found that glyphosate, at boiling, enters the interaction, that is, forms compounds with aromatic amino acids not GM soybean and more expressed with the same amino acids GM as Roundup resistant soy.

Object and research methods. In a glass heat-resistant glass was placed 2 g finely crushed on a laboratory mint GM Roundup resistant soybean, and in the second 2 g non-GM soybeans. In both glasses, 150 mg of distilled water was added and boiled for 30 minutes. Purpose of boiling – inactivation of anti-nutrients and transition to aqueous solution of water-soluble proteins, peptides and free amino acids. After boiling in each glass, distilled water was added to the label to 150 ml, that is, water was added which evaporated during boiling, and then separately from each glass, a medium sample of 10 ml of aqueous soy solution was taken and 20 ml of a 6.0% solution trichloroacetic acid (TCA) to precipitate the proteins and filter through a paper filter. Thus, soy protein filtrate was obtained from both variants, which determined the content of peptides with aromatic amino acids and free aromatic amino acids on a spectrophotometer SF-4 at a wavelength of 280 nm. A study was conducted on 20 samples of soybeans non-GM and 10 GM samples of Roundup resistant soybeans.

Research results and their discussion. The extinction parameters of the spectrophotometer SF-4 filtrate after precipitation of TCA proteins of GM samples of Roundup resistant soybeans showed a lower level of peptides with aromatic amino acids and in the amount of free aromatic amino acids compared with the same extinction parameters of filtrate not GM soybeans. The extinction parameters of the content of aromatic amino acids depend on the protein content of soybeans, therefore, we determine the total protein content of soybean GM and not GM but the

difference in 10 samples of varieties is not GM soya at the level of almost 40% higher level of aromatic amino acids against GM Roundup resistant soybean has an explanation due to the presence in the Roundup resistant soybean compounds between glyphosate and aromatic amino acids.

The research, which include boiling in aqueous solution the crushed soybeans, trichloroacetic acid protein precipitation, obtaining filtrate and determination on a spectrophotometer content of aromatic amino acids on the principle of absorption of ultraviolet rays at 280 nm, set a lower content of aromatic amino acids in genetically modified (GM) Roundup resistant soybeans compared with non-GM soybeans, which indicating the presence in GM soybean unnatural peptides apparently glyphosate compounds of tyrosine, tryptophan and phenylalanine.

Conclusions. The lower content of aromatic amino acids in GM Roundup resistant soybeans is compared with non-GM soybeans, which indicates the presence of GM soybeans of unnatural peptides, apparently, compounds of glyphosate with tyrosine, tryptophan and phenylalanine.

Key words: genetically modified soybean, not genetically modified soybeans, aqueous extraction soybean, extinction, peptides, aromatic amino acids.

*Рецензент – проф. Катрушов О. В.
Стаття надійшла 16.05.2018 року*

DOI 10.29254/2077-4214-2018-2-144-117-122

УДК 615.9:616.15:616-099:632.95.024

Лісовська В. С., Жмілько П. Г., Шуляк В. Г.

ОЦІНКА ТОКСИЧНОГО ВПЛИВУ КАРБЕНДАЗИМУ НА СИСТЕМУ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ГОСТРОЇ ПЕРОРАЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової і хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя МОЗ України» (м. Київ)

lisovskaviktorii@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота є фрагментом НДР «Наукове обґрунтування методології державної санітарно-гігієнічної експертизи, її нормативно-правового та інформаційного забезпечення» (№ державної реєстрації 0100U000255).

Вступ. Карбендазим – системний фунгіцид бензімідазольного ряду, що контролює широкий спектр захворювань рослин і використовується в якості протрувача насіння, для обробки зернових культур, фруктів, овочів, декоративних рослин, а також продуктів рослинного походження для довготривалого зберігання. Згідно з моніторингом залишків пестицидів в продуктах харчування, карбендазим входить у першу тридцятку речовин, що забруднюють рослинну продукцію [1]. Незважаючи на наявність нормативів та регламентацію безпечного застосування пестицидів, за певних обставин їх рівень може перевищувати допустимі норми і стати причиною виникнення як потенційного, так і реального ризику небезпеки для здоров'я людини [2].

Основним механізмом токсичної дії карбендазиму є анеугенні ефекти, а саме порушення утворення веретена поділу при мітозі [3]. Такі ефекти можуть мати вплив на процеси кровотворення за рахунок порушення мітотичної активності клітин-попередників у кістковому мозку. Ураховуючи те, що кров є інтегральною частиною регуляторних систем організму, спрямованих на підтримання параметрів гомеостазу за дії ксенобіотиків [4], а також беручи до уваги здатність карбендазиму порушувати кількісний склад та функціональну активність клітин периферичної крові [5-7], актуальним є з'ясування характеру змін в системі крові при дії карбендазиму та його впливу на гемопоез, що сприятиме поглибленому розумінню механізму гострих і хронічних інтоксикацій та розробленню заходів попередження негативного впливу на організм.

Метою даної роботи було визначити можливість і характер впливу карбендазиму на систему крові щурів, як одну із загальнорегулюючих систем організму.

Об'єкт і методи дослідження. В роботі використано генеричний 98 % технічний карбендазим. Хімічна назва діючої речовини: метил бензімідазол-2-ілкарбамат (IUPAC); метил 1H-бензімідазол-2-ілкарбамат (CAS).

Дослідження проведено на статевозрілих щурах самцях Wistar масою тіла 200-250 г, отриманих із розплідника дрібних лабораторних тварин ТОВ «Три-Ю». В експеримент відібрано 6 тварин з однорідною масою тіла та подібними показниками периферичної крові. Щури утримувалися у стандартних умовах на збалансованому раціоні.

Експериментальні дослідження було проведено з дотримання вимог гуманного ставлення до піддослідних тварин, регламентованих Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.) та Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986 р.).

Карбендазим в дозі 750 мг/кг (½ ЛД50) у вигляді водної емульсії з емульгатором ОП-7 вводили тваринам внутрішньошлунково одноразово за допомогою зонду. Відбір крові здійснювали з надрізу бокової вени кінчика хвоста. Дослідження показників крові проводили в динаміці у одних і тих же тварин на 1, 3, 7, 14 і 21 добу після введення карбендазиму. В якості контролю використовували показники відібраних зразків крові тварин до введення досліджуваної речовини. Всі маніпуляції з тваринами проводили у відповідності до вимог комісії з біоетики [8].

У периферичній крові лабораторних тварин визначали концентрацію гемоглобіну за допомогою гемоглобінометру ціанметгемоглобіновим методом, кількість еритроцитів та лейкоцитів в камері Горяєва, кількість ретикулоцитів в мазках крові після супра-