

A_2 – кількість імпульсів Ga у стандартній калібрувальній матриці на кремнію оксиді, з концентрацією 1 мг/г;

G_a – концентрація Галію на кремнію оксиді у внутрішньому стандарті, 5 мг/г;

$M_{ст}$ – наважка внутрішнього стандарту, внесеного до проби, г;

Розрахунок кількості елемента, що визначається у пробі проводили відповідно до формули 2:

$$\bar{O} = \frac{I_{i\sigma} \times I_{\sigma+no}}{I_{no} \times M \times K_1} \times 1000 \quad (2)$$

де: X – кількість елемента в досліджуваній пробі, мг/кг натуральної ваги;

$I_{пр}$ – кількість імпульсів елемента в досліджуваній пробі;

$M_{з+ст}$ – маса золи, яка отримана після спалювання досліджуваного матеріалу в сукупності з масою внесеного внутрішнього стандарту на кремнію оксиді;

$I_{ст}$ – кількість імпульсів елемента у стандартній калібрувальній матриці на кремнію оксиді з концентрацією 1 мг/г;

M – величина наважки досліджуваного матеріалу, г;

K_1 – коефіцієнт перерахунку;

1000 – коефіцієнт перерахунку для переведення величини вмісту елемента в міліграми на 1 кг натуральної маси меду та бджіл.

Отже, спосіб визначення неорганічних елементів у меді та бджолах за допомогою рентген-флуоресцентного аналізу за спектром елементів дозволяє визначити одночасно декілька елементів у тому числі й ті, які мають важливе токсикологічне значення (Pb, Se, Zn, Cu, Fe, Mn, Ni, Cr, Sr, Co, Ca, Br).

Висновки. 1. Установлені оптимальні умови кількісного одночасного визначення в меді та бджолах неорганічних елементів (Pb, Se, Zn, Cu, Fe, Mn, Ni, Cr, Sr, Co, Ca, Br) способом рентген-флуоресцентного аналізу.

2. Запропонований метод дозволяє одночасно виконувати аналіз якісного складу й кількісного вмісту елементів у різних сортах меду при масі проби 25,0–30,0 г та 3,00–5,00 г бджіл.

Список літератури

1. Макаров, Ю.И. Пчелы и их продукты в экологическом мониторинге [Текст] / Ю. И. Макаров, А. В. Овчинников, Е. Г. Жук // Природа – наш дом. – 1995. – № 1. – С. 14–15. 2. Пашаян, С.А. Накопление поллютантов в цветках медоносов [Текст] / С.А. Пашаян // Пчеловодство. – 2005. – № 1. – С. 10–11. 3. Поліщук, В.П. Бджільництво [Текст] / В.П. Поліщук. – Львів : Укр. пасічник, 2001. – 296 с. 4. Honey bees and bee products as monitors of the environmental contamination [Text] / C. Porrini [at al.] // Apiacta. – 2003. – Vol. 38. – P. 63–70. 5. Кирьянова, Л.Ю. Медоносные пчелы и продукты пчеловодства как биоиндикаторы экологического неблагополучия окружающей среды [Текст] / Л. Ю. Кирьянова, Т. С. Уланова // Экологические проблемы Запад. Урала : материалы конф. студентов, аспирантов и молодых ученых. – Пермь, 2001. – С. 13–15. 6. Параняк, Р.П. Шляхи надходження важких металів у докільця та їх вплив на живі організми [Текст] / Л.П. Васильцева, Х.І. Макух // Біологія тварин. – 2007. – Т. 9, № 1 – 2. – С. 83–89. 7. Seyhan, Y. Honey as bioindicator by screening the heavy metal content of the environment [Text] / Y. Seyhan, H. Helmut, I. Heinz-Dieter // Deutsche Lebensmittel-Rundschau. – 2006. – Vol. 102. – P. 192–194. 8. Мельник, М.В. Ветеринарно-санітарна експертиза бджолиного меду в сучасних екологічних умовах України : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.06 / М.В. Мельник. – К., 2002. – 19 с. 9. Черноурков, Н.Г. Теория и практика рентген-флуоресцентного анализа [Текст] / Н.Г. Черноурков, О.В. Нипрук. – Н. Новгород : Нижегород. гос. ун-т, 2012. – 57 с.

DETECTION OF INORGANIC ELEMENTS IN HONEY AND IMAGO BEES A METHOD OF X-RAY ANALYSIS

Kutsan O.T., Dotsenko R.V., Orobchenko O.L., Niemkova S.M.

National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv

The method of detection inorganic elements (Pb, Se, Zn, Cu, Fe, Mn, Ni, Cr, Sr, Co, Ca, Br) in honey and bees by a X-ray analysis is developed. For analysis took 25,0–30,0 g honey and 3,00–5,00 g bees. Drying spent at a temperature regimen (130–150±2) °C. An ashing to black or grey leach spent at temperature 350–400 °C. Measurement spent on device “Spektroskan-Maks” behind intensity of radiance of elements in sample which depends on qualitative and quantitative structure of each concrete investigated sample. For allowance entering on feature of a template in each sample of leach led the intrinsic standard in the form powder of silicon oxide with the gallium.

УДК 619:615.9: 577.1:636.9

СТАН ПОКАЗНИКІВ БІЛКОВОГО ТА НУКЛЕЇНОВОГО ОБМІНУ В ПЛАЗМІ КРОВІ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН ЗА УМОВ ХРОНІЧНОГО НАДХОДЖЕННЯ ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНОЇ СОЇ

Куцан О.Т., Шевцова Г.М., Романько М.Є., Оробченко О.Л., Герілович І.О.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

Генетично модифіковані (ГМ) культури сьогодні використовують як для годівлі тварин, так і при виготовленні продуктів харчування. У структуру геному таких рослин, як правило, вбудовують невлавистий для неї ген, у результаті чого культура набуває стійкості до шкідників або до пестицидів, завдяки чому зменшуються втрати урожаю через ці фактори [1, 2].

Проте слід зауважити, що в науковій літературі майже відсутні однозначні дані щодо впливу ГМ-рослин на організм тварин і людини, тому дослідження з цього питання набувають все більшої актуальності. Складність полягає ще й у тому, що кожну генетичну модифікацію, слід розглядати окремо. Не можна робити висновки про безпечність однієї ГМ-лінії рослини на підставі досліджень іншої.

Беручи до уваги вище сказане, ми обрали для дослідження зерно ГМ-сої лінії MON 89788, яке дозволено для виготовлення кормів для тварин у Росії [3] і може потрапити на ринок нашої держави.

Метою нашої роботи було вивчити вплив генетично модифікованої сої на стан показників білкового та нуклеїнового обміну в плазмі крові білих мишей. Для цього були поставлені наступні задачі: 1. Визначити біохімічні показники, що характеризують білко-

вий та нуклеїновий обміни, у крові білих мишей за умов тривалого згодовування їм ГМ- і звичайної сої. 2. Дослідити взаємозв'язок між змінами вищеозначених показників і раціоном тварин. 3. Встановити можливість використання обраних тестів як показових для оцінки дії ГМ- рослин на організм тварин.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження проводили у відділі токсикології, безпеки та якості сільськогосподарської продукції ННЦ «І-ЕКВМ». Як модель для проведення досліду були обрані білі миші. Їх за принципом аналогів було поділено на три групи. Тварини контрольної групи отримували основний раціон (ОР), що не містив добавки сої. Миші І дослідної групи отримували ОР, 30 % складових якого було замінено соєю, що не містила генетичної модифікації; II дослідної групи – ОР, в якому 30 % складових було представлено ГМ соєю лінії MON 89788. Доступ до води був необмежений для тварин усіх груп. Дослід тривав 90 діб, контрольну евтаназію (шляхом інгаляційного хлороформного наркозу) тварин проводили через 21, 45 і 90 діб від початку експерименту, при цьому для проведення біохімічних досліджень відбирали зразки крові.

У плазмі крові мишей досліджували вміст загального білка та його фракцій за використання наборів реактивів виробництва НВП «Філісіт-Діагностика» (Україна). Визначення кількості нуклеїнових кислот (РНК, ДНК) і циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) середньої молекулярної маси проводили за методами Blobel G., Potter V.R. [4] і Гриневича Ю.А. [5] шляхом осадження нуклеїнових і білкових комплексів у градієнті щільності. Концентрацію серомукоїдів визначали спектрофотометрично за довжини хвилі 260 та 280 нм, як описано в роботі Меньшикова В.В. [6].

Статистичну обробку результатів проводили з використанням критерію Ст'юдента ($p < 0,05$) [7].

Результати досліджень. Результати біохімічних досліджень плазми крові експериментальних мишей у динаміці досліду наведені у таблицях 1 і 2.

Таблиця 1 – Стан показників протеїнограми у плазмі крові білих мишей у динаміці 3-місячного надходження сої звичайної та ГМ-сої (30 % від ОР) ($M \pm m$; $n=5$)

Протеїнограма	Група тварин (n=15)		
	Контроль (ОР)	I дослід (ОР + соя без ГМ)	II дослід (ОР + ГМ-соя)
Через 21 добу після початку досліду			
Загальний білок, г/дм ³	54,20±0,83	55,90±0,90	56,40±0,90
Альбуміни, г/дм ³	23,00±0,15	23,70±1,15	23,91±1,54
Глобуліни, г/дм ³	31,20±0,25	32,20±1,65	32,49±1,86
α глобуліни, г/дм ³	11,20±0,09	11,50±0,94	11,62±0,92
β глобуліни, г/дм ³	11,00±0,06	10,30±1,05	9,39±1,08*
γ глобуліни, г/дм ³	8,83±0,04	10,11±0,08*	11,19±0,08*
Через 45 діб після початку досліду			
Загальний білок, г/дм ³	53,70±1,16	57,90±1,10	59,04±2,00*
Альбуміни, г/дм ³	24,00±0,74	25,00±2,00	24,66±1,80
Глобуліни, г/дм ³	31,70±1,66	32,90±3,00	34,38±2,24
α глобуліни, г/дм ³	12,00±0,24	12,45±1,55	11,80±1,02
β глобуліни, г/дм ³	10,70±1,05	8,41±0,78*	9,58±0,92
γ глобуліни, г/дм ³	9,00±0,45	12,04±0,38*	13,00±1,52*
Через 90 діб після початку досліду			
Загальний білок, г/дм ³	52,80±1,08	60,05±3,25*	59,96±1,45*
Альбуміни, г/дм ³	23,15±1,12	26,00±1,56	25,82±2,25
Глобуліни, г/дм ³	29,65±2,00	34,05±1,50*	34,14±1,60*
α глобуліни, г/дм ³	11,40±0,80	12,00±1,90	11,86±1,84
β глобуліни, г/дм ³	9,30±0,95	9,71±1,82	10,08±1,04
γ глобуліни, г/дм ³	8,95±0,50	12,34±0,44*	12,20±1,02*

Примітка: * – різниця значень показника у крові дослідних тварин вірогідна при ($P \leq 0,05$) відносно рівня відповідного показника у крові контрольних тварин

Таблиця 2 – Стан показників білкового та нуклеїнового обмінів протеїнограми у плазмі крові білих мишей у динаміці 3-місячного надходження сої звичайної та ГМ-сої (30 % від ОР) ($M \pm m$; $n=5$)

Показники	Група тварин (n=15)		
	Контроль (ОР)	I дослід (ОР + соя без ГМ)	II дослід (ОР + ГМ-соя)
Через 21 добу після початку досліду			
Серомукоїди, мг/см ³	0,30±0,02	0,34±0,02	0,270±0,033**
ЦІК середньої молекулярної маси, мг/см ³	0,093±0,002	0,090±0,012	0,039±0,002*
РНК, мкг/см ³	1,01±0,05	1,10±0,18	0,94±0,07**
ДНК, мкг/см ³	0,13±0,01	0,115±0,003	0,102±0,005*
Загальна кількість НК, мкг/см ³	1,14	1,115	1,04
Через 45 діб після початку досліду			
Серомукоїди, мг/см ³	0,32±0,02	0,33±0,04	0,31±0,03
ЦІК середньої молекулярної маси, мг/см ³	0,080±0,003	0,090±0,002	0,079±0,009
РНК, мкг/см ³	1,11±0,02	1,10±0,002	0,920±0,005*
ДНК, мкг/см ³	0,12±0,01	0,11±0,01	0,100±0,003*
Загальна кількість НК, мкг/см ³	1,23	1,21	1,04
Через 90 діб після початку досліду			
Серомукоїди, мг/см ³	0,330±0,003	0,300±0,008	0,32±0,04
ЦІК середньої молекулярної маси, мг/см ³	0,084±0,005	0,090±0,007	0,090±0,010
РНК, мкг/см ³	1,110±0,003	1,120±0,004	1,020±0,005
ДНК, мкг/см ³	0,100±0,008	0,110±0,010	0,100±0,003
Загальна кількість НК, мкг/см ³	1,21	1,23	1,12

Примітки: різниця значень показника у крові дослідних тварин вірогідна при (* – $P \leq 0,05$) – відносно рівня відповідного показника у контролі; (** – $P \leq 0,05$) – відносно рівня відповідного показника у I дослідній групі (соя звичайна)

З результатів досліджень, які наведені в таблиці 1, видно, що під час дослідів спостерігали вірогідне підвищення вмісту загального білка в плазмі крові мишей обох дослідних груп. Так у тварин, що отримували добавку ГМ-сої (II група), реєстрували підвищення даного показника вже через 45 діб експерименту на 10,0 % і через 90 діб – на 13,6 % відносно його контрольних значень ($P \leq 0,05$). У мишей, що отримували добавку сої звичайної (I група), також визначали тенденцію до збільшення вмісту загального білка впродовж всього експерименту, що набувало вірогідності на 90 добу дослідження на 13,7 % відносно значень у групі контролю.

Очевидно, підвищення загального білка було обумовлене вірогідним зростанням упродовж всього експерименту вмісту γ -глобулінової фракції у плазмі крові мишей обох дослідних груп. Окрім того, на 21 добу у мишей, які отримували добавку ГМ-сої, спостерігали зниження вмісту β -глобулінів на 14,6 % відносно контрольних значень цього показника ($P \leq 0,05$). У крові тварин, яким згодували добавку сої звичайної, на 45 добу дослідів цей показник був вірогідно меншим на 21,4 % ніж за контрольний рівень.

Таким чином, надходження сої звичайної та ГМ-сої у складі раціону, як джерела протеїну, впливало на характер протеїнограми у крові білих мишей, а саме: вірогідне підвищення кількості γ -глобулінів на перших строках досліджень (21 доба), що через 1,5–3,0 місяця після початку дослідів забезпечило підвищення вмісту загального білка.

Для більш широкого дослідження змін білкового обміну та для поглибленого визначення опосередкованого впливу ГМ-рослин на організм тварин у плазмі крові мишей були визначені інші показники, які характеризують білковий та нуклеїновий обміни (таблиця 2).

Аналіз результатів дослідження утворення серомукоїдів (α -фетопротеїнів) і ЦІК середньої молекулярної маси, через 21 добу після початку дослідів, вказує, що додавання до основного раціону тварин ГМ-сої призводило до вірогідного зниження їх рівня в плазмі крові мишей (II група), що корелює з даними щодо перерозподілу в кількісному співвідношенні білкових фракцій у протеїнограмі (зниження кількості Я-глобулінів/зростання кількості γ -глобулінів). Надалі (на 45 і 90 добу досліджень) у плазмі крові мишей II дослідної групи реєстрували нормалізацію рівня цих показників до їх контрольних значень.

При дослідженні вмісту нуклеїнових кислот упродовж всього терміну досліджень спостерігали вірогідне зниження їх загальної кількості у плазмі крові мишей, що отримували добавку ГМ-сої (II група). Крім того, у плазмі крові мишей цієї групи на 21 і 45 добу експерименту встановлено вірогідне зменшення кількості ДНК на 14,5 % і 16,7 % та РНК на 21,5 % і 17,1 % відповідно відносно контрольних значень таких показників.

Таким чином, результати біохімічних досліджень плазми крові білих мишей, які протягом 3-х місяців отримували 30 % від основного раціону добавки сої звичайної та ГМ-сої, за показниками білкового та нуклеїнового обміну, показали, що в організмі лабораторних тварин під впливом генної модифікації виникають зміни, пов'язані із напруженням інтенсивності процесів синтезу нуклеїнових кислот. Цей факт зумовлений не лише із встановленням зниження загальної кількості НК, а також супроводжується (21 і 45 доба дослідів) вірогідним зменшенням вмісту серомукоїдів, ЦІК та саме РНК і ДНК у плазмі мишей II дослідної групи.

Значні перебудови у протеїнограмі плазми крові дослідних мишей встановлені у тварин, що одержували як сою звичайну, так і ГМ-сою, але вони набували максимального вираження наприкінці експерименту – через 90 діб після початку згодування добавок.

Висновки. 1. Генно-модифікована соя лінії MON 89788, при хронічному 90-добовому згодуванні, впливає на організм білих мишей та зумовлює суттєві зміни у метаболізмі нуклеїнових кислот і формуванні пулу загального білка.

2. Встановлено, що хронічне надходження сої звичайної та ГМ-сої призводить до поступових перебудов у протеїнограмі з вірогідним підвищенням вмісту загального білка за рахунок γ -глобулінової фракції у плазмі крові дослідних мишей.

3. На ранніх строках надходження (30 і 45 доба) ГМ-сої в організмі лабораторних тварин виникають зміни, пов'язані з напруженням інтенсивності процесів синтезу нуклеїнових кислот, що виявляється у вірогідному зниженні як їх загальної кількості, так і ДНК та РНК окремо. Вірогідне зменшення вмісту серомукоїдів і ЦІК на 21 добу дослідів корелює за спрямованістю змін із визначеним типом протеїнограми у крові дослідних мишей.

4. При оцінці впливу генної модифікації на організм сільськогосподарських тварин доцільно проводити комплекс біохімічних досліджень стану білкового та нуклеїнового обміну, вважати його як системний біомаркер прогностичної дії.

Перспективи подальших досліджень. Вивчити вплив ГМ сої на організм сільськогосподарської птиці.

Список літератури

1. Закревский, В.В. Генетически модифицированные организмы растительного происхождения: проблемы и перспективы их использования в питании населения России [Текст] / В.В. Закревский // Вопросы здорового и диетического питания. – 2011. – № 1. – С. 49–58.
2. Кузнецов, В.В. Генетически модифицированные организмы и полученные из них продукты: реальные и потенциальные риски [Текст] / В.В. Кузнецов, А.М. Куликов // Рос. хим. журн. – 2005. – Т. XLIX, № 4. – С. 70–83.
3. Россельхознадзор – Официальный сайт [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://fsvps.ru>. – Заглавие с экрана.
4. Blobel, G. Distribution of radioactivity between the acid-soluble pool and the pools of RNA in the nuclear, nonsedimentable and ribosome fractions of rat liver after a single injection of lebaledorotic acid [Text] / G. Blobel, V.R. Potter // Biochim. Biophys. Acta. – 1968. – Vol. 166, № 1. – P. 48–57.
5. Гриневич, Ю.А. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных [Текст] / Ю.А. Гриневич, А.Н. Алферов // Лаб. дело. – 1981. – № 8. – С. 493–495.
6. Меншиков, В.В. Лабораторные методы исследования в клинике [Текст] / под ред. В.В. Меншикова. – М., 1987. – 365 с.
7. Биометрия [Текст] : учеб. пособие для вузов / под ред. Г.Ф. Лакина. – М. : Высш. шк., 1990. – 352 с.

STATUS OF INDICATORS OF PROTEIN AND NUCLEIC ACID METABOLISM IN PLASMA LABORATORY ANIMALS IN LONG-TERM FEEDING WITH GENETICALLY MODIFIED SOYBEAN

Kutsan A.T., Shevtsova G.N., Roman'ko M.Ye., Orobchenko O.L., Gerilovich I.O.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv

The paper contains the results of biochemical blood tests related to protein and nucleic acid metabolism in white mice to estimate the safety of animal feedstuff, which contains the genetic modification. Long-term feeding with genetically modified soybean line MON 89788 affects performance proteinogram in blood plasma of white mice, leads to a significant reduction of the content seromucoides, circulating immune complexes, RNA, DNA and the total nucleic acids. There were proposed to assess the impact of genetically modified plants on the organism of farm animals carry complex biochemical studies of the protein and nucleic acid metabolism.