

НЕБЕЗПЕКА ВИКОРИСТАННЯ ТРАНСГЕННОЇ РАУНДАПОСТІЙКОЇ СОЇ В ПРОДУКТАХ ХАРЧУВАННЯ ДІТЕЙ ЧЕРЕЗ НАЯВНІСТЬ У НІЙ НЕІДЕНТИФІКОВАНИХ ФАКТОРІВ

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

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

kulikmf@mail.ru

Дана робота є фрагментом НДР «Вивчити вплив довготривалого згодовування трансгенної раундапостійкої сої на відтворювальну здатність свиней і курей», № державної реєстрації 0117U002236.

Вступ. Генетично модифікована (ГМ) соя є високобілковою культурою, але використання її в продуктах харчування для дітей, підлітків і молодих людей дискутується в багатьох країнах світу. Але ось невеликий список тих продуктів у яких присутні ГМО: «7-Up», «Фієста», «Маунтін Дью», «Спрайт», «Фанта», тонік «Кінлі», «Фруктайм», Abbot Labs Similac (дитяче харчування), Cadbury (Кедбері) шоколад, какао, Ferrero (шоколадні цукерки), «Raffaello», «Kinder», «Nutella», «Тіс Тас», Hipp (дитяче харчування), Mars M&M (шоколад), McDonald's (Макдональдс) мережа «ресторанів» швидкого харчування, Milky Way (шоколад), Nestle шоколад «Нестле», «Росія», Pepsi-Co Pepsi, Snickers (шоколад), Twix (шоколад), безалкогольний напій Coca-Cola: «Кока-Кола», «Coca-Cola», дитяче харчування Nestle, «Делми» Unilever (Юнілевер), йогурти, кефір, сир, дитяче харчування Depon, кетчупи, соуси. Heinz Foods (Хайенц Фудс), печиво Parmalat, приправи, майонези, соуси Heinz, Hellman's, Knorr, рис Uncle Bens Mars, супи Campbell, чай Lipton, шоколад, чіпси, кава, дитяче харчування Kraft (Крафт), шоколадні вироби Hershey's Cadbury Fruit&Nut, шоколадний напій Nestle Nesquik, попкорн. У сучасних супермаркетах продаються більш 40 % продуктів із ГМО. Найбільше ГМО міститься в ковбасних виробках, у різних напівфабрикатах: пельменях, чебуреках, хінкалях і млинцях, дитячому харчуванні (згідно з лабораторними дослідженнями, 70 % дитячих пюре і сумішей містять генномодифіковані інгредієнти, в кондитерських і хлібобулочних продуктах. ГМ-сою додають у печиво і шоколад [8]. І ці дискусії продовжуються, незважаючи на те, що в досліді на лабораторних тваринах (миші, щурі та хом'яки) при згодовуванні їм різних генетично модифікованих культур як кормів у складі раціону встановлені патологічні зміни в печінці, підшлунковій і щитовидній залозах, селезінці та сім'яниках [17,18,20,22]. Поряд із цим встановлено порушення репродуктивних функцій у щурів, зміни гормонального балансу і безпліддя в наступних поколіннях [4,5,6,14,15]. Генетично модифікований горох призводить до змін в імунній системі, а також запаленню легень у мишей [19]. Прихильники ГМО стверджують, що чужорідні генетичні вставки конкретні в ГМ сої піддаються ферментативному роз-

щепленню в травному тракті тварин і людей, а тому її можна використовувати як продукт харчування.

Так, дослідженнями Т. Р. Левицького (2014) при оцінці безпечності застосування соєвого шроту, отриманого із генетично модифікованої сої, на курчатах-бройлерах не виявлено наявності трансгенних ДНК у крові, грудному м'язі, печінці, нирках, селезінці. За висновком автора в шлунково-кишковому тракті ДНК сої Roundup Ready ефективно денатурується. Згодовування генетично модифікованої сої не викликає контамінації трансгенами тканин та органів курчат-бройлерів та навколишнього природного середовища [13].

У проведених нами дослідіах на свинях по типу процесів травлення близьких до людей було встановлено, що довготривале згодовування поросяткам із раннього віку трансгенної сої негативно вплинуло на репродуктивну здатність і проявило токсичну дію на печінку та нирки ще неідентифікованих сполук ГМ сої і залишку гліфосату в ній [11].

По заключенню Sivalini та ін. [21] загальний хімічний склад зерна ГМ кукурудзи не може бути визначений у деталях, так як використання суттєвої еквівалентності недостатньо, щоб виділити потенційні невідомі токсини. Так, у крові людей виявлено наявність токсину генетично модифікованих баклажанів, продаж яких заборонено. Баклажани містили токсин, одержаний із ґрунтової бактерії *Bacillus thugiensis* (Bt). Дослідження проведені в університеті Шербрука Канади [11].

Генетично модифікована соя містить генетичну структуру *Agrobacterium tumefaciens* Ті-плазмиду, яка є кільцевою дволанцюговою молекулою ДНК розміром 214233 пар основ і містить 199 генів, з яких 197 кодують білки. Ця плазміда містить гени, що контролюють біосинтез і катаболізм специфічних амінокислот — опінів, гени вірулентності, гени синтезу фітогормонів — цитокінів і ауксинів. Ці гормони викликають утворення пухлин і дедиференцювання тканин рослини. Т-ДНК власне і є інтегрованою ділянкою Ті-плазмиди, що має гени синтезу фітогормонів і опіонів. Цитокініни забезпечують індукцію ділення рослинних клітин.

У Постанові Ради (ЕС) 834/2007 щодо заборони використання генетично модифікованих організмів (ГМО) зазначено, що ГМО, похідні ГМО і продукти, які вироблені з ГМО, не повинні використовуватися як харчові продукти, корми, технологічні добавки, продукти захисту рослин, добрива, речовини для по-

кращення ґрунту, насіння, вегетативний посадковий матеріал, мікроорганізми і тварини в органічному виробництві.

Водночас за висновком В. В. Закревського (2006), наука поки що не в змозі дати остаточну відповідь на питання — чи безпечні для здоров'я людини ГМ продукти? [9]. І це не залежить від бажання чи небажання вчених, а пояснюється недостатнім рівнем розвитку науки і дуже коротким періодом використання трансгенних продуктів харчування. Тому під час оцінки харчової продукції з ГМ організмів існує певна вірогідність невиявлення будь-якого токсину або біологічно активних сполук, наявних у нових продуктах або компонентах продуктів харчування, які можуть бути небезпечними для здоров'я людей. У трансгенних продуктах можуть виявлятися будь-які «мінорні компоненти», які у звичайних аналогічних продуктах ніколи не трапляються. Як це позначиться на здоров'ї людей, ніхто не знає. В. В. Закревський (2006) підкреслює, що лабораторні дослідження не можуть дати вичерпну інформацію про ГМ продукцію. Діагностика ДНК здатна тільки встановити, є в продуктах чужорідний ген чи немає [9].

Впродовж заключення В. В. Закревського (2006) необхідно зазначити, що в ГМО разом із цільовими генами можуть інтегруватися й інші фрагменти ДНК, які несуть гени з небажаними ознаками, наприклад, гени, які продукують токсини чи стійкість до антибіотиків [1,2]. Поряд із цим *Agrobacterium tumefaciens*, фрагменти ДНК якої перенесені до ГМ трансгенної раундапостійкої сої, є бактерією паразитом, тому що має здатність проникати в клітини коріння рослин, тобто, переносити гени синтезу фітогормонів, які викликають утворення пухлин.

Однак, більшість експериментів по генетичній інженерії проводиться за допомогою плазмід бактерії *Agrobacterium tumefaciens*. Плазіда — це невелика молекула ДНК бактерій у формі кільця, яка має здатність проникати крізь клітинну мембрану і вбудовуватися в ДНК рослини. У цій плазміді є два гени, які викликають рак у рослин. У природі ця бактерія через пошкоджені частини рослин проникає в клітини і вбудовує в їх хромосоми онкогени [16].

Нашими дослідженнями встановлено, що водна витяжка ГМ раундапостійкої сої різко пригнічує в 1,9-2,5 рази лінійний ріст проростків зерна пшениці, тритикале, і жита порівняно з такою ж самою витяжкою не ГМ сої [10]. Саме плазмідні цих бактерій мають здатність генетично трансформуватися не тільки в рослини, але, як виявилось, і в клітини вищих організмів, зокрема, людини [7].

Мета досліджень. Виявлення присутності неідентифікованого фактору трансгенної раундапостійкої сої методом біологічних тестів.

Об'єкт і методи досліджень. Інфузорії — тетрахімена піріформіс, водна витяжка після кип'ятіння бобів сої і цілих рослин ГМ сої і не ГМ сої, водний екстракт жовтка і білка яєць курей, яким згодовували ГМ сою (дослід) і соняшниковий шрот (контроль), водний екстракт (бульон) м'язової і кісткової тканини шурів, яким згодовували ГМ сою (дослід) і соняшниковий шрот (контроль).

Відомий метод визначення токсичності кормів біопробами на інфузоріях тетрахімена піріформіс, на який розроблено ДСТУ 3570-97 (ГОСТ 13496.7-97) [3]. Метод засновано на екстракції ацетоном із досліджуваної проби токсичних речовин в основному мікогенного походження і подальшій дії водних розчинів на інфузорії тетрахімена піріформіс. Інфузорії — це одноклітинний організм близький до клітин організму тварин і людини. Живуть у прісних водоймах і живляться бактеріями, в т. ч. *Agrobacterium tumefaciens*.

В основу біологічного тесту взята оцінка і порівняння інтенсивності розмноження і росту інфузорій тетрахімена піріформіс в умовах *in vitro* у водних витяжках бобів ГМ і не ГМ сої.

У методі визначення біологічного тесту є вперше виявлення трансгенної раундапостійкої сої, яке відбувається за рахунок фактору стимулювання переважно безстатевого розмноження інфузорій тетрахімена піріформіс у середовищі водної витяжки генетично модифікованої раундапостійкої сої порівняно з таким же середовищем не ГМ сої.

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. У процесі кип'ятіння відбувалася інактивація уреаз, антитрипсину і антихімотрипсину та інших антипоживних біологічно активних речовин із переходом у водний розчин фракції термостабільних водорозчинних білків, низькомолекулярних речовин із бобів сої не ГМ та фрагментів плазмід ДНК та інших низькомолекулярних сполук *Agrobacterium tumefaciens* із бобів ГМ сої. Після кип'ятіння відвар фільтрували крізь нейлонову тканину і таким чином одержували водну витяжку ГМ і не ГМ сої.

Зберігання маточної культури інфузорії тетрахімена піріформіс у пептоновому середовищі проводиться відповідно ДСТУ 3570-97 (ГОСТ 13496.7-97).

Випробування кожної водної витяжки сої ГМ і не ГМ проводили в 3-х разових повтореннях. У три флакони від антибіотиків вносили по 1 см³ водної витяжки раундапостійкої сої ГМ та аналогічно в 3-и флакони — не ГМ сої, а потім додавали в кожний флакон по 0,1 см³ 3-х добової культури інфузорії тетрахімена піріформіс.

Після цього контрольні та дослідні флакони залишали за умов кімнатної плюсової температури на 3-и дні. Оцінку росту і розмноження інфузорій проводили у краплі водного середовища всіх флаконів. Краплю брали пастерівською піпеткою і наносили на предметне скло мікроскопу. Проглядали під мікроскопом (збільшення 7 x 10) місткість краплі та всіх її шарів. У досліджуваних пробах обчислювали кількість живих і загиблих інфузорій та їх розміри. Дослідження проводили протягом першого, другого і третього дня перебування інфузорій у флаконах.

Наступний біологічний тест базується на визначенні наявності неідентифікованого фактору трансгенної раундапостійкої сої в яйцях курей на основі стимулювання життєздатності інфузорій *Tetrahymena pyriformis* в умовах *in vitro* при використанні поживного середовища — водного екстракту жовтка і білка яєць курей, яким у складі раціону згодовували тран-

генну раундапостійку сою. Наявність неідентифікованого фактору трансгенної раундапостійкої сої в курячих яйцях є здатність їх стимулювати життєздатність інфузорій *Tetrahymena pyriformis* у поживному середовищі водного екстракту після кип'ятіння жовтка і білка яєць курей, яким у складі раціону упродовж 2-х місяців згодовували трансгенну раундапостійку сою порівняно з водним екстрактом жовтка і білка яєць курей, яким не згодовували ГМ сою.

Даний метод дає можливість досить переконливо та з мінімальними матеріально-технічними затратами визначити наявність неідентифікованого фактору трансгенної раундапостійкої сої в курячих яйцях і попередити їх використання в першу чергу в продуктах дитячого харчування. Так, двом групам кур-несучок по 10 голів у кожній згодовували стандартний раціон. Дослідна група одержувала корми стандартного раціону з домішкою екструдованої трансгенної раундапостійкої сої, а контрольна — з додаванням соняшникового шроту. Дослід продовжувався два місяці. Для одержання водного екстракту жовтка і білка яєць курей дослідної і контрольної груп проводили 3-и рази відбір яєць по троє з групи. Яйця розбивали і відділяли жовток і білок із перенесенням в термостійкі скляні стакани, а потім додавали по 50 мл дистильованої води на один жовток і білок, після їх ретельно гомогенізували до одержання однорідного водного розчину і нагрівали до кипіння, кип'ятили 30 хвилин. У процесі кип'ятіння відбувалася інактивація біологічно активних речовин із переходом у водний розчин фракції термостабільних водорозчинних білків, ліпопротеїдів, фосфоліпідів, низькомолекулярних речовин та фрагментів кільцевих структур ДНК і неідентифікованих речовин *Agrobacterium tumefaciens* із яєць курей дослідної групи. По закінченню кип'ятіння в кожний стакан додавали по 2 мл 9% оцтової кислоти і перемішували зварені білок і жовток. Після фільтрації способом віджимання крізь нейлонову тканину одержували водний екстракт жовтка і білка, який повторно фільтрували крізь паперовий фільтр. В одержаному екстракті краплями доводили величину рН до 7,2-7,5 0,1 n розчином NaOH.

Випробування кожного водного екстракту жовтка і білка проводили, беручи по 3-и яйця від кожної групи курей. У три флакони від антибіотиків вносили по 1 см³ водного екстракту жовтка і в 3-и флакони білка яєць курей дослідної та аналогічно в 6 флаконів — контрольної групи, а потім додавали в кожний флакон по 0,1 см³ 3-х добової культури інфузорії *Tetrahymena pyriformis*.

Після цього контрольні та дослідні флакони залишали за умов кімнатної плюсової температури на 5 днів. Оцінку росту і розмноження інфузорій проводили у краплі водного середовища всіх флаконів. Краплю брали пастерівською піпеткою і наносили на предметне скло мікроскопу. Проглядали під мікроскопом (збільшення 7 x 10) місткість краплі та всіх її шарів. У досліджуваних пробах обчислювали кількість живих і загиблих інфузорій та їх розміри. Дослідження проводили протягом першого-другого, третього-четвертого і п'ятого дня перебування інфузорій у флаконах.

Визначення наявності неідентифікованого фактору трансгенної раундапостійкої сої в організмі лабораторних тварин проводили на основі стимулювання життєздатності інфузорій *Tetrahymena pyriformis* в умовах *in vitro* при використанні поживного середовища — водного екстракту після кип'ятіння м'язової і кісткової тканини лабораторних тварин.

Двом групам білих щурів по 10 голів у кожній згодовували стандартний раціон віварію. Дослідна група одержувала перлову кашу з домішкою прожареної трансгенної раундапостійкої сої, а контрольна з додаванням соняшникової макухи. Дослід продовжувався два місяці. Для одержання водного екстракту м'язової і кісткової тканини дослідних і контрольних щурів проводили їх забій по 3 голови з кожної групи і тушки, тобто, м'язову і кісткову тканину мілко подрібнювали і поміщали в термостійкі скляні стакани, а потім додавали по 200 мл дистильованої води, нагрівали до кипіння і кип'ятили 30 хвилин. У процесі кип'ятіння відбувалася інактивація біологічно активних речовин із переходом у водний розчин фракції термостабільних водорозчинних білків, низькомолекулярних речовин із м'язової і кісткової тканини щурів контрольної групи і можливо фрагментів плазмід ДНК та неідентифікованих сполук *Agrobacterium tumefaciens* із тканини тварин дослідної групи. Після кип'ятіння відвар фільтрували крізь нейлонову тканину і таким чином одержували водний екстракт м'язової і кісткової тканини щурів дослідної і контрольної групи.

Випробування кожного водного екстракту м'язової і кісткової тканини проводили від 3-х щурів. У три флакони від антибіотиків вносили по 1 см³ водного екстракту м'язової і кісткової тканини щурів дослідної та аналогічно в 3-и флакони — контрольної групи, а потім додавали в кожний флакон по 0,1 см³ 3-х добової культури інфузорії *Tetrahymena pyriformis*.

Після цього контрольні та дослідні флакони залишали за умов кімнатної плюсової температури на 3-и дні. Оцінку росту і розмноження інфузорій проводили у краплі водного середовища всіх флаконів. Краплю брали пастерівською піпеткою і наносили на предметне скло мікроскопу. Проглядали під мікроскопом (збільшення 7 x 10) місткість краплі та всіх її шарів. У досліджуваних пробах обчислювали кількість живих і загиблих інфузорій та їх розміри. Дослідження проводили протягом першого, другого і третього дня перебування інфузорій у флаконах.

Результати досліджень та їх обговорення. У перший день у пробах водної витяжки сої не ГМ загальний стан інфузорій був стабільний і спостерігалось їх розмноження. У пробах водної витяжки ГМ сої була активна фаза розмноження, яка на 50-60 % була активніша за кількістю інфузорій відносно не ГМ сої. На другий день у контрольних пробах (водна витяжка сої не ГМ) розмноження не відбувалось, спостерігалися повільні рухи інфузорій, загиблих було в межах 40 %, а в дослідних пробах (водна витяжка сої ГМ) продовжувалося їх розмноження, але не в такій активній формі. Загиблих інфузорій було до 20 %. На третій день у контрольних пробах було 70 % загиблих інфузорій, а в дослідних до 30 %. Паралельно проводили визначення розмірів інфузорій при їх розмно-

Таблиця 1.

Порівняльна оцінка життєздатності інфузорій тетрахімена піріформіс у трав'яному соку сої не ГМ (контроль) і трансгенної раундапостійкої (дослід)

Дні спостережень	Контроль	Дослід
1-й	Спостерігається рух. Знаходяться на стадії розмноження. Загиблих немає.	Спостерігається коловий повільний рух. Стадія розмноження. Загиблих немає.
2-й	Інфузорії малорухливі. Розмножуються. Загиблих до 5 %.	Спостерігається коловий повільний рух. Розмножуються. Загиблих немає.
3-й	Інфузорії малорухливі. Не розмножуються. Загиблих до 10 %.	Спостерігається повільний рух. Інфузорії розмножуються. Загиблих немає.

женні в обох варіантах витяжок. Встановлено, що інфузорії у водній витяжці не ГМ сої мали розміри до 0,3 мм, а у витяжці ГМ раундапостійкої сої були значно меншими за розмірами. Аналогічні дослідження проводили з віджатию соком цілих рослин сої ГМ і не ГМ.

Відомо, що інфузорії розмножуються безстатевим шляхом — поперечним поділом клітини або пупкуванням і періодично в їх життєвому циклі відбувається статевий процес — кон'югація, а також автогамія. На основі інтенсивності розмноження інфузорій у середовищі водної витяжки ГМ раундапостійкої сої та їх меншого розміру порівняно із водною витяжкою не ГМ сої можна зробити висновок про наявність безстатевого циклу розмноження інфузорій у середовищі водної витяжки ГМ раундапостійкої сої. Проте необхідно зазначити, що інфузорії при безстатевому розмноженні втрачають здатність до статевого розмноження.

Враховуючи те, що у водних витяжках бобів сої обох варіантів були присутні тільки термостабільні водорозчинні білки і низькомолекулярні сполуки за виключенням у витяжці ГМ раундапостійкої сої і низькомолекулярні фрагменти плазмід ДНК та неідентифіковані речовини ґрунтової бактерії є підстава зробити заключення про активний вплив на процес розмноження інфузорій тетрахімена піріформіс фрагментів плазмідів ДНК і неідентифікованих речовин *Agrobacterium tumefaciens*. Виходить, що ці сполуки витримують довготривале кип'ятіння і переходять у водний розчин, тому вони можуть всмоктуватися в шлунково-кишковому тракті тварин і людей і стимулювати певні клітини в організмі по типу неконтрольованого розмноження.

З огляду наявності неідентифікованого фактору в бобах раундапостійкої ГМ сої виникає питання щодо виявлення цього фактору в цілих рослинах. З цією метою було взято цілу рослину раундапостійкої і не ГМ сої у фазу бутонізації, подрібнено і пропущено крізь м'ясорубку для одержання гомогенної маси, з якої одержували сік при віджиманні крізь нейлонову тканину. Після цього сік підігріли і кип'ятили впродовж декількох хвилин. Одержані проби трав'яного соку раундапостійкої і не ГМ сої використовували як поживне середовище для інфузорій тетрахімена піріформіс із метою оцінки їх життєздатності за методикою яка використовувалася з водними витяжками сої. Результати досліджень наведені в таблиці 1.

Продовжений строк розмноження інфузорій *Tetrahymena pyriformis* у трав'яному соку трансгенної раундапостійкої сої порівняно з не ГМ соєю є підтвердженням наявності фактору бактерії *Agrobacterium tumefaciens* як в бобах ГМ сої, так і в стеблі з листям, тобто, він має генетичну основу.

У перший-другий день у пробах водного екстракту жовтка 3-х яєць курей дослідної групи спостерігався активний рух інфузорій і дуже активне їх розмноження, а в екстрактах жовтка 3-х яєць контрольної групи був пригнічений рух інфузорій і розмноження не спостерігалось. На 3-4-й день в екстрактах жовтка 3-х яєць курей дослідної і контрольної груп спостерігався

активний рух інфузорій і активне їх розмноження. На 4-5-й день у дослідній групі спостерігався активний рух інфузорій і активне розмноження, а в контрольній групі розмноження було припинене, рух інфузорій повільний, одноманітний і було 10 % загиблих інфузорій (табл. 2). Проведені аналогічні дослідження з екстрактом білка яєць обох груп курей, які показали різницю в розмноженні інфузорій тільки на 4-5-й день їх життєздатності. Так, на 4-5-й день інфузорії в живильному середовищі екстракту білка яєць курей дослідної групи мали активний рух і повільне розмноження, тоді як на цьому екстракті в контрольній групі також спостерігався активний рух, але розмноження було відсутнє (табл. 2).

Виходить, що у водному екстракті жовтка і білка яєць курей контрольної групи були присутні тільки термостабільні водорозчинні білки, ліпопротеїди, фосфоліпіди, мінеральні речовини і деякі низькомолекулярні сполуки, тоді як в екстракті жовтка і білка яєць курей дослідної групи були і низькомолекулярні фрагменти кільцевих плазмід ДНК та неідентифікованих речовин ґрунтової бактерії *Agrobacterium tumefaciens*. На основі цього є підстава зробити заключення про активний вплив на підвищену життєздатність інфузорій *Tetrahymena pyriformis* фрагментів кільцевих плазмід ДНК і неідентифікованих речовин *Agrobacterium tumefaciens*, які були присутні в жовтку яєць курей дослідної групи. Зазначені сполуки витримують довготривале кип'ятіння і переходять у водний екстракт при кип'ятінні, тому вони всмоктуються в шлунково-кишковому тракті курей і трансформуються у фолікули, які продукують жовткову масу. З воронки яйцеводу жовток надходить у найдовший білковий відділ, в якому стінками яйцеводу секретуються альбуміни, з яких формується білок яйця.

У перший день у пробах водного екстракту м'язової і кісткової тканини шурів контрольної групи стан інфузорій був стабільний і спостерігалось їх активне розмноження і активний рух. У пробах водного екстракту м'язової і кісткової тканини шурів дослідної групи також було активне розмноження і активний рух. На другий день у контрольних пробах спостерігалось повільне розмноження і повільна рухливість

Дослідження життєздатності інфузорій *Tetrahymena pyriformis* у живильному середовищі водного екстракту жовтка і білка яєць курей, яким згодовували трансгенну раундапостійку сою (дослід) і не генетично модифіковану сою (контроль), три повторення

Тривалість спостереження	Контрольна група		Дослідна група	
	екстракт жовтка яєць курей	екстракт білка яєць курей	екстракт жовтка яєць курей	екстракт білка яєць курей
1-2-й день	Спостерігається пригнічений рух і розмноження відсутнє	Спостерігається активний рух і активне розмноження	Спостерігається активний рух і дуже активне розмноження	Спостерігається дуже активний рух і активне розмноження
3-4-й день	Спостерігається активний рух і активне розмноження	Спостерігається дуже активний рух і активне розмноження	Спостерігається активний рух і дуже активне розмноження	Спостерігається дуже активний рух і активне розмноження
4-5-й день	Спостерігається повільний рух і розмноження відсутнє. 10 % загиблих інфузорій	Спостерігається активний рух, розмноження відсутнє	Спостерігається активний рух і активне розмноження	Спостерігається активний рух, розмноження повільне

інфузорій, а в дослідних пробах спостерігалось розмноження і активна рухливість інфузорій. На третій день у контрольних пробах було 20-30 % загиблих інфузорій, а в дослідних загиблих інфузорій не було.

Таким чином, результати досліджень підтверджують здатність м'язової і кісткової тканини стимулювати життєздатність інфузорій *Tetrahymena pyriformis* у поживному середовищі водного екстракту м'язової і кісткової тканини шурів, які у складі раціону протягом 2-х місяців споживали трансгенну раундапостійку сою.

Враховуючи те, що у водному екстракті м'язової і кісткової тканини шурів контрольної групи були присутні тільки термостабільні водорозчинні білки, жири, мінеральні речовини і деякі низькомолекулярні сполуки, тоді як в екстракті м'язової і кісткової тканини тварин дослідної групи були і низькомолекулярні фрагменти плазмід ДНК та неідентифіковані речовини ґрунтової бактерії, є підстава зробити заключення про активний вплив на підвищену життєздатність інфузорій *Tetrahymena pyriformis* плазмід ДНК і неідентифікованих речовин *Agrobacterium tumefaciens*, які є присутні в організмі шурів дослідної групи. У такому разі ці сполуки витримують довготривале кип'ятіння і переходять у водний екстракт при кип'ятінні, тому вони можуть всмоктуватися в шлунково-кишковому тракті тварин і людей і стимулювати життєздатність певних клітин в організмі при споживанні ними трансгенної сої.

Фрагменти трансгенних генів фуражної кукурудзи (Zein, SH-2) були виявлені у крові, печінці, селезінці та нирках поросят, яких 35 діб годували кормом із генетично модифікованими інгредієнтами. Крім

того, було знайдено фрагмент гену Gyu IA(b), який є елементом трансгенної конструкції ГМ кукурудзи MON810 [21].

Нашими дослідженнями виявлено наявність у потомстві шурів неідентифікованого фактору трансгенної раундапостійкої сої при її згодовуванні впродовж декількох поколінь [12].

Послідовне змінення загального обміну речовин у ГМО не може бути виключеним, так як може призвести, наприклад, до утворення інших потенційно активних сполук, таких як мікроРНК (Чжан та ін., 2012) або Leukotoxin ДІОЛА (Markaverich et al., 2005) [21].

Висновки. Виявлення за допомогою біологічного тесту наявності неідентифікованого фактору в бобах трансгенної раундапостійкої сої, в жовтку і білку яєць курей та м'язовій і кістковій тканині шурів, яким згодовували таку сою обґрунтовується стимулюванням розмноження інфузорій тетрахімена піріформіс у поживному середовищі водної витяжки сої, водному екстракті після кип'ятіння жовтка і білка яєць курей та водному екстракті (бульйоні) м'язової і кісткової тканини шурів. Це є підтвердженням, що в трансгенній раундапостійкій сої присутній неідентифікований фактор, який викликає небезпеку використання такої сої в продуктах харчування дітей, підлітків і молодих людей.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні складових неідентифікованого фактору трансгенної раундапостійкої сої, зокрема, стимулювання розмноження інфузорій тетрахімена піріформіс яке обумовлюють фрагменти плазмід ДНК *Agrobacterium tumefaciens* чи інші біологічно активні субстанції низькомолекулярних речовин.

Література

- Haidei O.S. Analiz rezultativ vyznachennia HMO v syrovyni roslynnoho pokhodzhennia za 2014 rik / O.S. Haidei, V.O. Zahrebelnyi, Yu.M. Novozhytska, N.V. Usachenko // Naukovo-vyrobnychy zhurnal «Zernovi produkty i kombikormy». — Odesa, 2015. — № 1 (57). — S. 25-28.
- Gintsburg A.L. Podhodyi k otsenke biobezopasnosti geneticheski modifitsirovannykh mikroorganizmiv, ispolzuemykh v pishevoy produktsii / A.L. Gintsburg, B.S. Naroditskiy. — Sb. trudov 7-go vsereossiyskogo kongressa «Zdorovoe pitanie naseleniya Rossii». — Moskva, 2003. — S. 123-124.
- DSTU 3570-97 (HOST 13496.7-97) Zerno furazhne. produkty yoho pererobky. Kombikormy. Metody vyznachennia toksychnosti.

4. Ermakova I.V. Geneticheski modifitsirovannaya soya privodit k snizheniyu vesa i uvelicheniyu smertnosti kryisyat pervogo pokoleniya / I.V. Ermakova: Predvaritelnyie issledovaniya // Ekoinform. — 2006. — № 1.
5. Ermakova I.V. Vliyanie soi s genom EPSPS SR4 na fiziologicheskoe sostoyanie i reproduktivnyie funktsii kryis v pervyih dvuh pokoleniyah / I.V. Ermakova // Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya. — 2009. — № 5. — S. 15-21.
6. Ermakova I.V. Izuchenie fiziologicheskikh i morfologicheskikh parametrov u kryis i ih potomstva pri ispolzovanii dietyi sodержashey soyu s transgenom EPSPS SR4 / I.V. Ermakova, I.V. Barskov // Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya. Biologicheskie nauki. — 2008. — № 6. — S. 19-20.
7. Ermakova I.V. Chto myi edim? Vozdeystvie na cheloveka GMO i sposoby zaschity / I.V. Ermakova. — 2-e izd. — M.: Amrita, 2011. — 64 s.
8. Zhuravleva E.V. K voprosu o gennomodifitsirovannyih produktah pitaniya i ih vliyani na organizm cheloveka / E.V. Zhuravleva, O.G. Bochkareva, L.R. Gimadieva, G.M. Ahmadiev // Nauchnoe soobshchestvo studentov XXI stoletiya. Estestvennyie nauki: sb. st. po mat. XX mezhdunar. stud. nauch.-prakt. konf. — Novosibirsk: Izd. «SibAK». — 2014. — № 6 (20). — S. 5-12 / [Elektronnyy resurs] — Rezhim dostupa. — URL: [http://www.sibac.info/archive/nature/6\(20\).pdf](http://www.sibac.info/archive/nature/6(20).pdf).
9. Zakrevskiy V.V. Geneticheski modifitsirovannyye istochniki pischi rastitelnogo proishozhdeniya / V.V. Zakrevskiy. — Prakticheskoe rukovodstvo po sanitarno-epidemiologicheskomu nadzoru. — Sankt-Peterburg: Dialekt, 2006. — 152 s.
10. Kulyk M.F. Pryhnicennia rostu prorstkiv zerna pshenytsi, trytykale i zhyta pid vplyvom vodnoi vytyazhky raundapostiiko HM soi porivniano z ne HM soieiu / M.F. Kulyk, O.V. Korniihuk, V.D. Buhaiov [ta in.] // Visnyk ahrarnoi nauky. — 2013. — № 6. — S. 21-24.
11. Kulyk M.F. Reproduktyvna zdatsnist ta fiziolohichni stan pechinky i nyrok svynei za dovhotryvaloho zghodovuvannia raundapostiiko HM soi / M.F. Kulyk, Y.M. Kulyk, O.V. Korniihuk [ta in.] // Visnyk ahrarnoi nauky. — 2013. — Spetsialnyi vypusk, veresen. — S. 88-92.
12. Kulyk Y.M. Naiavnist u potomstvi shchuriv neidentyfikovanoho faktoru transhennoi soi pry yii zghodovuvanni uprodovzh dekilkokh pokolin / Ya.M. Kulyk, V.T. Rautskiene, Yu.V. Obertiukh, O.V. Khimich // Visnyk problem biolohii i medytsyny. — 2015. — Vyp. 4, Tom 1 (124). — S. 105-109.
13. Levytskyi T.R. Otsinka bezpechnosti zastosuvannia soievoho shrotu, otrymanoho iz henetychno modyfikovanoi soi, na kurchatakh-broilerakh / T.R. Levytskyi // Naukovo-tekhnichnyi biuleten Instytutu biolohii tvaryn i Derzhavnoho naukovo-doslidnoho kontrolnoho instytutu vetpreparativ ta kormovykh dobavok. — 2014. — Vyp. 15, № 2-3. — S. 61-64. — Rezhym dostupu: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Ntibit_2014_15_2-3_13.
14. Malygin A.G. Vliyanie soevoy diety na reproduktivnyie funktsii myishey / A.G. Malygin // Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya. Biologicheskie nauki. — 2008. — № 6. — S. 23.
15. Malygin A.G. Soyevaya diyeta podavlyayet reproduktivnyie funktsii gryzunov / A.G. Malygin, I.V. Yermakova // Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya. Biologicheskyye nauki. — 2008. — № 6. — S. 26.
16. Novozhilov O.V. GMO dlya vseh / O.V. Novozhilov. — K.: RA NOVA, 2004. — 52 s.
17. Malatesta M. Ultrastructural, morphometrical and immunocytochemical analysis of hepatocyte nuclei from mice fed on genetically modified soybean / M. Malatesta, C. Caporalony, S. Gavaudan [et al.] // Cell Struct. Funct. — 2002. — Vol. 27. — P. 173-180.
18. Malatesta M. Fine structural analyses of pancreatic acinar cell nuclei from mice fed on GM soybean / M. Malatesta, M. Biggiogera, E. Manuali [et al.] // Eur. J. Histochem. — 2003. — Vol. 47. — P. 385-388.
19. Prescott V.E. Transgenic expression of bean alpha-amylase in peas results in altered structure and immunogenicity / V.E. Prescott, P.M. Campbell, A. Moore [et al.] // Journal of Agricultural and Food Chemistry. — 2005. — Vol. 53. — P. 9023-9030.
20. Pusztai A. Report of project coordinator on data produced at the Rowett Research Institute / A. Pusztai. — SOAEFD flexible Fund Project Ro 818. 22 October, 1998.
21. Sýralini G.-E. Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize / G.-E. Sýralini, E. Clair, R. Mesnage [et al.] // Food Chem. Toxicol. — 2012. — Vol. 50, № 11. — P. 4221-4231.
22. Vecchio L. Ultrastructural analysis of testes from mice fed on genetically modified soybean / L. Vecchio, B. Cisterna, M. Malatesta [et al.] // Eur. J. Histochem. — 2003. — Vol. 48. — P. 449-453.

УДК 633.34:612.392.7:593.17

НЕБЕЗПЕКА ВИКОРИСТАННЯ ТРАНСГЕННОЇ РАУНДАПОСТІЙКОЇ СОЇ В ПРОДУКТАХ ХАРЧУВАННЯ ДІТЕЙ ЧЕРЕЗ НАЯВНІСТЬ У НЕЇ НЕІДЕНТИФІКОВАНИХ ФАКТОРІВ

Кулик Я. М., Обертюх Ю. В., Хімич О. В., Выговська І. О.

Резюме. Проведеними дослідженнями за допомогою біологічного тесту виявлено наявність неідентифікованого фактору в бобах трансгенної раундапостійкої сої, в жовтці і білку яєць курей та м'язовій і кістковій тканині щурів, яким згодували таку сою, обґрунтовується стимулюванням розмноження інфузорій тетрахімена пірiformis у поживному середовищі водної витяжки сої, водному екстракті після кип'ятіння жовтка і білка яєць курей та водному екстракті (бульйоні) м'язової і кісткової тканини щурів. Це є підтвердженням, що в трансгенній раундапостійкій сої присутній неідентифікований фактор, який викликає небезпеку використання такої сої в продуктах харчування дітей, підлітків і молодих людей.

Ключові слова: трансгенна раундапостійка соя, яйця курей, м'язова і кісткова тканини щурів, інфузорії тетрахімена пірiformis, фрагменти плазмід ДНК *Agrobacterium tumefaciens*, біологічно активні низькомолекулярні речовини.

УДК 633.34:612.392.7:593.17

ОПАСНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТРАНСГЕННОЙ РАУНДАПОСТОЙКОЙ СОИ В ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ ДЕТЕЙ ЧЕРЕЗ НАЛИЧИЕ В НЕЙ НЕИДЕНТИФИЦИРОВАННЫХ ФАКТОРОВ

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

Резюме. Проведенными исследованиями с помощью биологического теста выявлено наличие неидентифицированного фактора в бобах трансгенной раундапостойкой сои, в желтке и белке яиц кур и мышечной и костной ткани крыс, которым скармливали такую сою, обосновывается стимулированием размножения инфузорий тетрахимены пириформис в питательной среде водной вытяжки сои, водном экстракте после кипяче-

ния желтка и белка яиц кур и в водном экстракте (бульоне) мышечной и костной ткани крыс. Это является подтверждением, что в трансгенной раундапостойкой сое присутствует неидентифицированный фактор, который вызывает опасность использования такой сои в продуктах питания детей, подростков и молодых людей.

Ключевые слова: трансгенная раундапостойкая соя, яйца кур, мышечная и костная ткани крыс, инфузии тетрахимена пириформис, фрагменты плазмид ДНК *Agrobacterium tumefaciens*, биологически активные низкомолекулярные вещества.

UDC 633.34:612.392.7:593.17

DANGER USE OF TRANSGENIC ROUNDUP RESISTANT SOY IN FOOD PRODUCTS CHILDREN THROUGH PRESENCE IN HER OF UNIDENTIFIABLE FACTORS

Kulyk Y. M., Obertiukh Y. V., Khimich O. V., Vygovska I. O.

Abstract. *Research purpose.* Detecting the presence of unidentified factor transgenic roundup resistant soybeans by method biological tests.

Object and research methods. Ciliates — *Tetrahymena pyriformis*, after boiling water extract of soybeans and whole plant GM soybeans and non GM soy, aqueous extract of yolks and egg whites of chickens were fed GM soy (experiment) and sunflower meal (control), aqueous extract (broth) muscle and bone tissue of rats were fed GM soy (experiment) and sunflower meal (control).

To obtain the aqueous extract of GM and non GM soy weighed 50 grams beans both options and covered in heat-resistant glass cups, and then added 300 ml of distilled water, heated to boiling and boil for 30 minutes. In the process of boiling occurred inactivation of urease, antitrypsin and antyhimotrypsynu and other anti-nutritional bioactive substances with the transition to an aqueous solution of water-soluble fraction thermostable proteins of low molecular weight substances from non-GM soybeans and plasmid DNA fragments and other low molecular weight compounds *Agrobacterium tumefaciens* with GM soya beans. After boiling broth filtered through a nylon cloth and thus prepared aqueous extract of GM and non GM soy.

Test each aqueous extract of soybean GM and non GM conducted a 3-time repetition. In three vials of antibiotics contributed to 1 cm³ aqueous extract roundup resistant GM soybeans and similarly in the 3-bottle — non-GM soybeans, and then added to each bottle to 0.1 cm³ 3 daily culture ciliates *Tetrahymena pyriformis*.

The following biological test based on the determined presence of unidentified factor transgenic roundup resistant soybeans in the eggs of hens based on stimulating vitality ciliates *Tetrahymena pyriformis* in conditions in vitro when using a nutrient medium — water extract of yolk and egg whites chickens which a part of the diet were fed transgenic roundup resistant soybeans. The presence of unidentified factor roundup resistant transgenic soy in chicken eggs is their ability to stimulate the vitality of ciliates *Tetrahymena pyriformis* in nutrient medium aqueous extract after boiling egg yolk and whites chicken, which in part of the diet for 2 months were fed roundup resistant transgenic soybeans compared with water extract the yolk and egg whites chicken, which is not were fed GM soy.

To obtain the aqueous extract of yolk and egg whites chicken experimental and control groups performed 3 times the selection of eggs for three of the group. Smashed eggs and yolk and whites separated from the transfer of in heat-resistant glass cups, and then added for 50 ml of distilled water for one egg yolk and whites, after their thoroughly homogenized to obtain a homogeneous aqueous solution and heated to boiling, boil for 30 minutes. In the process of boiling occurred inactivation of biologically active substances with the transition to an aqueous solution of water-soluble fraction thermostable proteins, lipoproteins, phospholipids, low molecular weight compounds and fragments of ring structures of DNA and unidentified substances *Agrobacterium tumefaciens* from eggs of hens of the experimental group. After the boil in every glass added 2 ml of 9 % acetic acid and stirred welded whites and yolk. After filtration method of push ups through a nylon fabric obtained water extract of yolk and whites, which re-filtered through a paper filter. In the extract obtained drops pH value adjusted to 7.2-7.5 0.1 n solution of NaOH.

To obtain an aqueous extract of muscle and bone tissue of experimental and control rats carried their slaughter for 3 heads from each group and carcasses, ie, muscle and bone tissue finely crushed and placed in a heat-resistant glass cups, and then added 200 ml of distilled water, heated to boiling and boil for 30 minutes. In the process of boiling occurred inactivation of biologically active substances with the transition to an aqueous solution of water-soluble fraction thermostable proteins of low molecular weight substances from the muscle and bone tissue of rats in the control group and possible fragments of DNA plasmids and unidentified compounds *Agrobacterium tumefaciens* tissues of animals of the experimental group. After boiling decoction filtered through a nylon cloth and thus obtained aqueous extract of muscle and bone tissue of rats experimental and control group.

Test each aqueous extract of muscle and bone tissue carried from 3 rats. In three vials from antibiotics contributed to 1 cm³ of aqueous extract of muscle and bone tissue of rats research and similar in 3-bottle — the control group, and then added to every bottle to 0.1 cm³ 3 daily culture ciliates *Tetrahymena pyriformis*.

Research results and their discussion. The performed a study using a biological test revealed the presence of unidentified factor in transgenic beans resistant roundup soybean in egg yolks and egg whites chicken and muscle and bone tissue of rats were fed soy substantiated such stimulation multiplication ciliates *Tetrahimena piriformis* nutrient medium in aqueous extract of soy, water the extract after boiling (broth) of muscle and bone tissue of rats.

Conclusions. The research results are confirmation that the transgenic soybean roundup resistant present unidentified factor that causes the danger of using such soy in food products children, adolescents and young people.

Keywords: roundup resistant transgenic soy, chickens eggs, muscle and bone tissue of rats, ciliates *Tetrahimena piriformis*, fragments of plasmid DNA *Agrobacterium tumefaciens*, biologically active low molecular weight substances.

Рецензент — проф. Гапон С. В.

Стаття надійшла 07.06.2017 року