

6. *Vogt P.H., Edelmann A., Kirsch S. et al.* Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. // *Hum Mol Genet.*- 1996.-Vol. 5.-P. 933–943.
7. *Krausz C., Forti G. & McElreavey K.* The Y chromosome and male fertility and infertility. // *International Journal of Andrology.* -2003.- Vol. 26.-P.70-75.
8. *Simoni M., Bakker E., Krausz C.* EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of y-chromosomal microdeletions // *International J. of Andrologi.*- 2004.- No 27.- P. 240-249.
9. *Маниатис Т., Фриз Е.Е, Сэмбрук Ж.* Молекулярное клонирование.- М. Мир.- 1985.- С.420.
10. *Simoni M., Bakker E., Krausz C.* EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of y-chromosomal microdeletions // *International J. of Andrologi.*- 2004.- No 27.- P. 240-249.
11. *Черных В.Б., Курило Л.Ф., Штлейко Л.В.* и авт. Анализ микроделеций в локусе AZF у мужчин с бесплодием: совместный опыт исследований. // *Медицинская генетика.*-2003.- Т. 2. № 8. С. 367-379
12. *Maurer, B. & Simoni, M.* Y chromosome microdeletion screening in infertile men. // *Journal of Endocrinological Investigation.* -2000.- Vol. 23.- P. 664-670.

Резюме

Отримані результати молекулярно-генетичних досліджень свідчать про те, що мікроделеції AZF локусу Y-хромосоми є однією з найбільш частих (мажорних) генетичних причин непліддя у чоловіків при важких формах порушення сперматогенезу. Серед всіх обстежених інфертильних чоловіків частота мікроделецій Y-хромосоми становить 7%, причому, найчастіше мікроделеції AZF регіону виявляються у чоловіків з аспермією та азооспермією, частота яких становить 10,8% та 12,7% відповідно.

Полученные результаты молекулярно-генетических исследований свидетельствуют о том, что микроделеции AZF локусу Y-хромосома являются одной из наиболее частых (мажорных) генетических причин бесплодия у мужчин при тяжелых формах нарушения сперматогенеза. Среди всех обследованных инфертильных мужчин частота микроделеций Y-хромосома составляет 7%, причем, чаще всего микроделеции AZF региона обнаруживали у мужчин с аспермией и азооспермией, частота которых составляет 10,8% и 12,7% соответственно.

The obtained results of molecular-genetic researches testify that Y-chromosome AZF locus microdeletions are one of the major genetic causes of infertility in males with severe forms of spermatogenesis failure. Among all studied infertile men Y-chromosome microdeletions frequency was 7%, thus, AZF region microdeletions mostly were found in males with aspermia and azoospermia. Their frequencies were 10,8% and 12,7% accordingly.

ТКАЧОВА Д.Л., ДУГАН О.М.

Національний технічний університет України «КПІ»,

Україна, 03056, м. Київ, пр. Перемоги, 37, e-mail: diotech@ntu-kpi.kiev.ua

ПОТЕНЦІЙНА МУТАГЕННА ДІЯ КОПЧЕНИХ М'ЯСОПРОДУКТІВ

Попередження або гальмування небажаного мікробіологічного псування м'яса і м'ясних продуктів досягається шляхом застосування різноманітних способів консервування із застосуванням дії різних зберігаючих факторів (бар'єрів): фізичних (високі і низькі температури, іонізуюче випромінювання, ультрафіолетове випромінювання, упаковки і захисних покриттів); хімічних (використання

консервантів); фізико-хімічних (посол, копчення); біохімічних (направлене використання мікрофлори).

Сучасні способи обробки мають бути направлені на отримання стійких при зберіганні продуктів з високими показниками якості, що може досягатися комбінацією декількох зберігаючих факторів (бар'єрів), які не можуть подолати мікроорганізми, присутні у продукті. Прикладом традиційної комбінації бар'єрів може слугувати копчення м'ясопродуктів, де сполучаються консервуюча дія зневоднення, солі і бактерицидних речовин коптільного диму [4].

Копчення – це обробка м'ясопродуктів коптільним димом з метою надання їм специфічних органолептичних властивостей і подовження термінів зберігання. М'ясні продукти обробляються як гарячим димом (обсмаження, гаряче копчення, запікання у диму), так і холодним димом (холодне копчення) [3,4].

Коптільний дим – це складна дисперсійна система типу аерозолі. Дисперсійним середовищем є парогазова суміш, яка складається з повітря, газоподібних продуктів горіння, парів коптільних речовин і водяних парів. Дисперсійна фаза представлена частками рідких і твердих речовин – продуктів неповного згорання деревини. Основна маса коптільних речовин зосереджена у дисперсійній фазі. У димі присутні частки попелу і сажі, які є небажаними домішками. У складі коптільного диму знайдені наступні класи органічних сполук: органічні кислоти (оцтова, пропіонова, масляна, валеріанова, мурашина), альдегіди і кетони, спирти, феноли та їхні ефіри, аміни, поліциклічні ароматичні вуглеводні (ПАВ) тощо [4]. Загальна кількість речовин, присутніх у димі, оцінюється у 5-10 тисяч, з яких ідентифіковано біля 500 індивідуальних компонентів [1,3].

Для отримання коптільного диму використовують деревину листяних порід: бук, дуб, вільха, береза, клен, ясен, тополь та ін. Застосування різних порід деревини дозволяє отримати різноманітний аромат, смак і колір м'ясопродуктів. Найкращий за складом і властивостям дим утворюється при температурі 220-300°C. Зниження температури супроводжується збільшенням кількості сажі, більш темним забарвленням та погіршенням аромату і смаку. При температурі вище 300°C виникає підвищена небезпека утворення канцерогенних ПАВ [3].

Поряд із класичним копченням використовують бездимне копчення із застосуванням коптільних рідин. Це очищені конденсати диму, які в значній мірі звільнені від смол і небажаних побічних продуктів (ПАВ і нітрозамінів) [3]. Коптільна рідина використовується в якості ароматизатора.

За Сарафановою [5] *ароматизатор – харчова добавка, що вноситься у харчовий продукт для покращення його аромату та смаку, і являє собою суміш смакоароматичних речовин із розчинником або сухим носієм, або без них.* Оскільки ароматизатори є складними багатокомпонентними сумішами і виробляються вони у світі у кількостях в декілька тисяч, то коди «Е» їм не надаються.

Як було зазначено вище, коптільний дим містить тисячі неідентифікованих компонентів, через що кінцеву токсиколого-гігієнічну оцінку копченню надати неможливо. Основним токсичним компонентом диму є добре відомий канцероген – бенз(а)пірен. Наряду з ним у димі зустрічаються і інші поліциклічні сполуки. Гранично допустима концентрація бенз(а)пірену складає 1 мкг/кг їстівної частини копченого продукту. Вважається, що при холодному копченні на продукті осаджується менше бенз(а)пірену, ніж при гарячому. Особливо високий вміст бенз(а)пірену спостерігається при чорному копченні. При копченні солених м'ясопродуктів можуть утворюватися також небезпечні для здоров'я нітрозфеноли [3].

Бездимне копчення являє собою обробку виробів у коптільній камері або безпосереднім введенням коптільного препарату у продукт (у фарш разом із розсолом), чи нанесенням його на поверхню продукту (зануренням у коптільну рідину, розбризкуванням, обмазуванням). Основою для виготовлення коптільних препаратів (рідин) слугують конденсати, утворені вловлюванням компонентів диму водою [4].

Перевагою бездимного копчення є те, що якщо при традиційному димовому способі в результаті контакту копчених продуктів з нітрогазами, що містяться у коптильному димі, існує небезпека забруднення продуктів нітросолями, то при бездимному способі копчення це небажане явище повністю виключається [2]. Згідно з директивою ЄС концентрація бенз(а)пірену у коптильних рідинах не повинна перевищувати 10,0 мкг/кг [7]. Такі препарати мають ряд недоліків, а саме неадекватність складу і співвідношення коптильних речовин у коптильних препаратах у порівнянні з коптильним димом; висока трудомісткість поверхневої обробки продуктів коптильними препаратами; відсутність повної імітації запаху, смаку і кольору у продуктах у порівнянні з традиційним копченням [4].

На сьогодні використовується велика кількість різноманітних за технологічними властивостями, хімічним складом і способами застосування коптильних препаратів із різними назвами та індексами: «Аромат копчення», «Вахтоль», «Вобеоль», «ВНИИМП», «ВНИИМП-1», «Геркосеф», «Жидкий дым», «КП-74», «Коптильная соль», «Коптильное масло», «МИНХ», «ПДВ» та ін. [2].

Як вже було зазначено, копчення – добре відоме джерело контамінації їжі поліциклічними ароматичними вуглеводами. Методи традиційного процесу копчення можуть суттєво різнитися, через що вміст ПАВ у копчених продуктів значно варіює.

Факторами, що впливають на склад копченого продукту, є вид деревини, методи прямого і непрямого копчення, різні температури копчення, тип димогенератора, доступність кисню, час копчення тощо [7]. За даними літератури проведені чисельні дослідження вмісту ПАВ у копчених продуктах харчування. Так, у Сербії визначили вміст ПАВ шести типів копчених м'ясних продуктів, а саме вітччини з яловичини, свинини, бекону у оболонці, бекону без оболонки, ковбаси сајна і ковбаси sremksa. Зразки відбиралися на виробництві кожні три години протягом 15-18 днів копчення. Найбільшу концентрацію ПАВ мали копчена вітччина із яловичини і бекон без оболонки. Результати досліджень показали, що вміст у зразках 16 ПАВ, визначених Міжнародним агентством з досліджень раку (IARC) як пріоритетні, складав від 1,5 до 6,8 мкг/кг [8]. У інших дослідженнях [11] були перевірені на наявність канцерогенних і неканцерогенних ПАВ такі копчені продукти, як індичатина, свинина, курчатина, яловичина і риба, та 18 промислових коптильних препаратів. Загальна концентрація ПАВ у копчених м'ясних продуктах складала від 2,6 до 29,8 мкг/кг, у копченій рибі – від 9,3 до 86,6 мкг/кг. Загальна концентрація канцерогенних ПАВ у копченому м'ясі складала до 7,4 мкг/кг і у копченій рибі до 16,0 мкг/кг. У коптильних препаратах загальна концентрація ПАВ складала від 6,3 до 43,7 мкг/кг, а концентрація канцерогенних ПАВ складала від 0,3 до 10,2 мкг/кг [20]. Ще одним прикладом є дослідження 11 зразків коптильних препаратів і 44 зразків копчених продуктів (ковбаса, бекон, реберця тощо) різних виробників. У 73% коптильних препаратів був знайдений бенз(а)пірен, його рівні коливалися в межах 0,1 – 336,6 мкг/кг. У 52% зразків копчених продуктів також знайдений бенз(а)пірен у кількості від 0,1 до 5,9 мкг/кг [20]. У 2004 році групою дослідників [12] була складена база даних (на основі 139 посилань на літературні джерела з 23 країн світу) по вмісту нітросолей, гетероциклічних амінів та ПАВ у продуктах харчування. Згідно цієї бази даних в різних копчених продуктах загальний вміст ПАВ реєструвався у наступних концентраціях: у яловичині – 42,1 мкг/кг; птиці – 4,5 - 17,3 мкг/кг; сосисках – 14,9 мкг/кг; вітччині – 2,6 - 9,5 мкг/кг; свинині – 7,5 мкг/кг; ковбасі – 7,2 - 10,0 мкг/кг.

ФАО/ВООЗ підкреслює необхідність проведення досліджень мутагенності хімічних препаратів, що використовуються в якості харчових добавок. Продукція, приготована з використанням коптильних рідин, досить добре досліджена з токсикологічних позицій. Однак, через те, що коптильні препарати містять такі мутагенні речовини, як феноли, формальдегід, оцтову кислоту та ін., були проведені додаткові дослідження мутагенної активності коптильних препаратів. Так, препарат ВНИИМП не викликав мутацій у трьох експериментальних моделях, що дало підґрунтя

говорити про відсутність у них мутагенної дії. У щурів, які отримували протягом місяцю продукцію, виготовлену із застосуванням препарату «Вахтоль», не було відмічено мутагенної дії на статеві клітини. У той же час коптільний препарат «Вахтоль» у 1% концентрації збільшував у порівнянні з контролем частоту мутацій у культурі *E.coli*, а також проявив тенденцію до збільшення хромосомних аберацій у культурі тканин людини. Тому, дані рекомендації з обмеження використання вказаного препарату у харчовій промисловості [1]. В інших експериментах цитогенетичні дослідження впливу коптільної рідини у чотирьох концентраціях на хромосоми клітин кісткового мозку мишей також не виявили мутагенної дії [14]. Ще одні автори [18] вивчали дію чотирьох промислових коптільних рідин, конденсату коптільного диму і конденсату тютюнового диму. Отримані результати свідчили про те, що на відміну від конденсату тютюнового диму, ані коптільні рідини, ані конденсат коптільного диму не викликали мутацій у тесті Еймса із застосуванням штаму *S. typhimurium* TA98, тоді як три коптільні рідини проявляли мутагенну активність у дослідженнях із штамом TA100.

Крім коптільних препаратів на мутагенність досліджені різноманітні копчені продукти, конденсати коптільного диму і його фракції. Так, проведені дослідження конденсату коптільного диму, отриманого із різних порід деревини у Нігерії, у тесті Еймса із застосуванням штамів TA98 і TA100. В результаті всі конденсати викликали дозозалежне збільшення гістидинових ревертантів здебільшого у присутності метаболічної активації. У конденсатах були ідентифіковані 7 ПАВ, а саме пірен, бенз(а)пірен, бенз(а)антрацен, бенз(к)флуорантен, бенз(б)хризен, бенз(г,х,і)перилен та дибенз(а,е)пірен [6]. У інших дослідженнях [13] фракції екстрактів копчених м'ясних продуктів, що містили ПАВ, досліджувалися на штамів TA98 і TA100 у відсутності метаболічної активації і після чотиригодинної обробки нітритом при 37°C у кислому середовищі. Результати досліджень у тесті Еймса показали, що нітрит перетворює ПАВ у кислому середовищі у мутагени прямої дії, які можуть бути нітро-ПАВ.

Зафіксована мутагенна дія зразків прокопченого тунця, який широко застосовується в японській кухні. Дослідження проводили на штамі TA98 з метаболічною активацією. Мутагенна дія була вища, ніж очікувана при тому рівні бенз(а)пірену, що був визначений у цих зразках. Хроматографічними методами було показано, що основними мутагенними компонентами, ймовірно, слугували представники гетероциклічних амінів – імідазохіноліни та імідазохіноксаліни [15].

Крім того, у тесті Еймса із застосуванням 5 штамів *S. typhimurium* був досліджений конденсат диму з коптільні. Найбільша увага була приділена фракціям вільним від ПАВ, але які містили фенольні сполуки, які відповідають за консервуючу і ароматизуючу дію коптільного диму. Фенольні сполуки, якими збагачений коптільний дим, а саме фенол, крезол, 2,4-диметилфенол, сирінгол, евгенол, ванілін та гваякол, давали негативні результати у тесті Еймса до концентрації 5000 мкг на чашку у присутності і відсутності метаболічної активації. Фракціонування конденсату на фенольні фракції і дослідження кожної фракції у тесті Еймса також дало негативні результати за виключенням деяких випадків, що не виключає наявність невеликої кількості мутагенних домішок [17].

Досліджені 5 похідних карболових кислот, які формуються при взаємодії карбонільних сполук коптільного диму з триптофаном, на мутагенність у тесті Еймса. В результаті три з протестованих сполук не викликали мутацій у штамів TA97, TA98 і TA100, а дві сполуки виявилися токсичними для *S. typhimurium* [16].

Слід звернути увагу, що епідеміологічні дослідження вказують на кореляційні зв'язки між зростаючими випадками ракових захворювань шлунково-кишкового тракту і системне споживання копчених продуктів [10]. За спостереженнями протягом 10 років у певному регіоні Угорщини із словенським населенням процент раку шлунку від загальної захворюваності на рак вдвічі більше (47-50%), ніж у всій Угорщині в цілому (29,9%). Відомо, що у цьому регіоні населення споживає домашні копчені продукти з

вмістом бенз(а)пірену 4,16 мкг/кг, тоді як у домашніх копчених продуктах інших регіонів і у промислових копчених продуктах вміст бенз(а)пірену в середньому складає 0,7 мкг/кг [9]. Також, у північно-східному регіоні Індії зафіксовані часті випадки назофарингальної карциноми, які пов'язують із вживанням копченого м'яса в цьому регіоні. Дослідження екстрактів копченого м'яса у тесті Еймса на штамах TA98, TA1538, TA100, TA1535 і TA1537 у присутності і відсутності метаболічної активації показали наявність мутагенної активності. Крім того, була показана індукція зразками злоякісних пухлин у мишей. Хімічний аналіз екстрактів показав присутність низьких концентрацій летких нітрозамінів [19].

Таким чином, за даними літератури, проведені чисельні дослідження із визначення мутагенної активності конденсатів коптильного диму, коптильних препаратів і безпосередньо зразків різноманітних копчених продуктів із одночасним визначенням в них вмісту потенційних мутагенів/канцерогенів, таких як ПАВ, нітрозаміни і гетероциклічні аміни. Отримані дані є неоднозначними і не дають у повній мірі відповіді про мутагенний/канцерогенний властивості копчених продуктів і коптильних препаратів. Здебільшого, копчені продукти і конденсати коптильного диму виявляли мутагенну дію у тесті Еймса, тоді як коптильні препарати були менш мутагенними. У багатьох досліджуваних зразках визначені високі рівні ПАВ, причому і у деяких коптильних препаратах, які початково створювалися із метою позбавлення забруднення ПАВ. Небезпеку вживання неякісної копченої продукції доводять і епідеміологічні дослідження, що вказують на кореляційний зв'язок між раковими захворюванням шлунково-кишкового тракту і систематичним вживанням копченої їжі з вмістом ПАВ (і як основним показником - бен(а)пірену), що значно перевищує ГДР. Виходячи з вищесказаного, актуальним є подальше вивчення мутагенної активності копчених продуктів, виявлення причин, що впливають на варіабельність вмісту мутагенних/канцерогенних речовин і відповідно на мутагенність копченого продукту (а саме - вид деревини, температура і час копчення, додавання нітритів тощо), здійснення екстраполяції даних генетичних тестів на людину і встановлення кореляційних зв'язків між харчовим раціоном і захворюваністю населення.

Література

1. *Булдаков А.С.* Пищевые добавки. Справочник. – СПб.: „Ut”, 1996. – 240 с.
2. *Курко В.И.* Основы бездымного копчения. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1984. – 228 с.
3. *Люк Э., Ягер М.* Консерванты в пищевой промышленности. – СПб: ГИОРД, 1998. – 296 с.
4. *Перкель Т. П.* Физико-химические и биохимические основы производства мяса и мясных продуктов: Учебное пособие / Кемеровский технологический институт пищевой промышленности. - Кемерово, 2004. - 100 с.
5. *Сарафанова Л.А.* Пищевые добавки: Энциклопедия. – СПб: ГИОРД, 2004. – 808 с.
6. *Asita A.O., Matsui M., Nohmi T. et al.* Mutagenicity of wood smoke condensates in the Salmonella/microsome assay // *Mutat. Res.* – 1991. - Vol. 264, № 1. –P. 7-14.
7. *CX/FAC 05/37/34 Discussion paper on polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) contamination, Thirty-seventh session of joint FAO/WHO food standards programme / Codex committee on food additives and contaminants.* – The Hague, the Netherlands. - 2005. – 9 p.
8. *Djinovic J., Popovic A., Wolfgang J.* Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in different types of smoked meat products from Serbia // *Meat Science.* – 2008. – Vol. 80. – P. 449 – 456.
9. *Fritz W., Soos K.* Smoked food and cancer // *Bibl. Nutr. Dieta.* – 1980. – Vol. 29. – P. 57 – 64.
10. *Goldman R., Shields P.G.* Food mutagens // *J. Nutr. (Suppl.)* – 2003. – Vol. 133. – P. 965S – 973S.

11. *Gomaa E.A., Gray J.I., Rabie S. et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked food products and commercial liquid smoke flavourings // *Food. Addit. Contam.* – 1993. – Vol. 10, № 5. – P. 503-521.
12. *Jakszyn P., Agudo A., Ibanez R. et al.* Development of a food database of nitrosamines, heterocyclic amines, and polycyclic aromatic hydrocarbons // *J. Nutr.* – 2004. - Vol. 134. – P. 2011–2014.
13. *Kangsadalampai K., Butryee C. and Manoonphol K.* Direct mutagenicity of the polycyclic aromatic hydrocarbon-containing fraction of smoked and charcoal-broiled foods treated with nitrite in acid solution // *Food Chem. Toxicol.* -1997. – Vol. 35, № 2. – P. 213-218.
14. *Kazimirova A., Jablonicka A.* Evaluation of potential mutagenic effect of the liquid smoke preparation UTP in vivo: cytogenetic analysis of mouse bone marrow // *Mutat. Res.* – 1994. – Vol. 323, № 1-2. – P. 89 – 92.
15. *Kikugawa K, Kato T, Hayatsu H.* Mutagenicity of smoked, dried bonito products // *Mutat. Res.* – 1985. – Vol. 158, № 1-2. – P. 35-44.
16. *Papavergou E., Ioannides C., Clifford M.N.* The evaluation in the Ames test of the mutagenicity of tetrahydro-beta-carboline-3-carboxylic acids from smoked foods // *Food Addit. Contam.* – 1992. – Vol. 9, № 2. – P. 183-187.
17. *Pool B.L., Lin P.Z.* Mutagenicity testing in the Salmonella typhimurium assay of phenolic compounds and phenolic fractions obtained from smokehouse smoke condensates // *Food Chem. Toxicol.* – 1982. – Vol. 20, № 4. – P. 383-391.
18. *Putnam K. P., Bombick D. W., Avalos J. T. and Doolittle D. J.* Comparison of the cytotoxic and mutagenic potential of liquid smoke food flavourings, cigarette smoke condensate and wood smoke condensate // *Food Chem. Toxicol.* – 1999. – Vol. 37, № 11. – P. 1113-1118.
19. *Sarkar S., Nagabhushan M., Soman C.S. et al.* Mutagenicity and carcinogenicity of smoked meat from Nagaland, a region of India prone to a high incidence of nasopharyngeal cancer // *Carcinogenesis.* - 1989. – Vol. 10, № 4. - P. 733-736.
20. *Yabiku H.Y., Martins M.S., Takahashi M.Y.* Levels of benzo[a]pyrene and other polycyclic aromatic hydrocarbons in liquid smoke flavour and some smoked foods // *Food. Addit. Contam.* - 1993. - Vol. 10, № 4. – P. 399-405.

Резюме

Коротко висвітлена проблема контамінації м'ясопродуктів при їхньому копченні. Розглядаються два типи копчення: традиційне - копильним димом, і бездимне – копильними препаратами. Наводяться дані з потенційної мутагенної і канцерогенної дії копчених продуктів, копильних препаратів і конденсатів копильного диму та дані по вмісту в них бенз(а)пірену та інших поліциклічних ароматичних вуглеводнів.

Коротко освещена проблема контаминации мясопродуктов при их копчении. Рассматриваются два типа копчения: традиционное – копильным дымом, и бездымное – копильными препаратами. Приводятся данные по потенциальному мутагенному и канцерогенному действию копченых продуктов, копильных препаратов и конденсатов копильного дыма и данные по содержанию в них бенз(а)пирена и других полициклических ароматических углеводородов.

The problem of meat products contamination during their smoking has been briefly reported. Two types of smoking have been discussed: traditional smoking and smoking with using smoke flavourings. The data concerning potential mutagenic and carcinogenic activity of smoked products, smoke flavourings and wood smoke condensates have been cited. Additionally there is information about the contents of benzo(a)pyrene and other polycyclic aromatic hydrocarbons in mentioned samples.