

УДК:637.142.2+УДК 615.014.24:582.3-035

ЧЕРНЮШОК О.А., аспірант, КОЧУБЕЙ–ЛИТВИНЕНКО О.В., канд. техн. наук, доцент,
ДАШКОВСЬКИЙ Ю.О., канд. техн. наук, с.н.с.,

Національний університет харчових технологій, м. Київ

КИРИЧОК Л.М., канд. біол. наук, пров.н.с.,

ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м.Київ

НЕШКІДЛИВІСТЬ СИРОВАТКИ МОЛОЧНОЇ, ОБРОБЛЕНОЇ ЕЛЕКТРОІСКРОВИМИ РОЗРЯДАМИ, ПРИ ОДНО- ТА БАГАТОРАЗОВОМУ ВВЕДЕННІ В ШЛУНОК БІЛИМ ЩУРАМ

Проведено дослідження сироватки молочної, обробленої електроіскровими розрядами на нешкідливість, що є актуальним враховуючи використання сироватки для виробництва харчових продуктів. Вивчено гостру та підгостру токсичність при одно- та багатократному введенні обробленої сироватки в шлунок білим щурам. Встановлено, що в умовах однократного перорального введення дорослим щурам обох статей в дозах 5,0-15,8 см³/кг не викликає загибелі, не впливає на температуру та фізіологічний приріст маси тіла.

Ключові слова: молочна сироватка, оброблення, електроіскрові розряди, гостра та підгостра токсичність, нешкідливість.

The subject of the research – a safety of the milk whey processed with electric-spark discharge – is an actual topic considering a milk whey usage in the food production. It is studied acute and subacute toxicity while processed milk whey is injected in the stomach of albino rats one or many times. It is determined that one-time parallel injection of the 5,0-15,8 cm³/kg dose for adult rats of both sexes neither bring the death, nor influence the temperature and physiological increase of the body weight.

Key words: milk whey, processing, electric-spark discharge, acute and subacute toxicity, safety.

Вступ

Молочна сироватка є побічним продуктом при виробництві сичужних сирів, сиру кисломолочного, казеїну. Сироватка складається в основному з води (93,7%), а решті (6,3%) належать сухі речовини, які є найціннішими компонентами молока. При виготовленні сирів та казеїну в сироватку переходить в середньому 50% сухих речовин молока, в тому числі лактоза (молочний цукор), молочний жир, білки, мінеральні речовини, які активно нормалізують життєдіяльність організму людини. Зокрема, лактоза нормалізує діяльність шлунково-кишкового тракту; білки сироватки (альбуміни та глобуліни) містять оптимальний набір життєво необхідних амінокислот і з точки зору фізіології харчування наближаються до амінокислотної шкали «ідеального білку», тобто білку, в якому співвідношення амінокислот відповідає потребам організму та використовуються для структурного обміну в основному для синтезу білків, утворення гемоглобіну та плазми крові.[1]

Наявність в молочній сироватці білків, які за складом в більшій мірі, ніж коров'яче молоко, відповідають складу жіночого молока, дозволяє використовувати білки сироватки для виробництва дитячого та дієтичного харчування.

Особливістю молочного жиру в сироватці є його ступінь дисперсності, що позитивно впливає на його засвоюваність.

В сироватку переходять практично всі солі і мікроелементи, а також водорозчинні вітаміни.[2]

Використання молочної сироватки для виробництва напоїв дає можливість не лише отримати цінними дієтичними, профілактичними, лікувальними властивостями, а і суттєво розширити асортимент продуктів з незбираного молока та забезпечити безвідхідне виробництво.

Для виготовлення сироваткових напоїв зазвичай використовують сироватку, очищену від часток білка. Зараз в світовій практиці для очистки використовують різні способи та методи: сепарування, фільтрування, відстоювання, обробку пектином, мембранні методи, ультра- та гель-фільтрацію. Ці традиційні способи очищення сироватки дозволяють розділити молочну сироватку на освітлену сироватку як основу для напоїв та білковий концентрат, який може використовуватися як збагачуючий компонент в різних технологіях молочних продуктів. На жаль, внаслідок видалення білкового компоненту біологічна цінність освітленої сироватки значно нижча, ніж

звичайної сироватки. Тому цілеспрямований пошук нових способів обробки сироватки з метою збереження її білкового складу, забезпечення однорідності системи (відсутність осадження сироваткових білків, особливо після теплового оброблення), нівелювання специфічного присмаку залишається надзвичайно актуальною проблемою для технологів. Для вчених Університету харчових технологій цей пошук завершився створенням електророзрядної установки (патент України №22033, 20.04.2007), на якій при напрузі 45кВ та кількості розрядів 20 обробляють сироватку молочну. Низкою експериментальних досліджень доведено, що даний спосіб оброблення приводить до диспергування білкових часток до середнього розміру 89...100нм, і тим самим забезпечують однорідність і стабільність системи, на відміну від вихідної сироватки, де спостерігається значне осадження білку. До того ж оброблена електроіскровими розрядами сироватка характеризується підвищеною біологічною цінністю порівняно з очищеною переліченими вище способами [3].

Метою даної роботи було експериментальне дослідження нешкідливості сироватки молочної, обробленої електроіскровими розрядами (СМОЕР), в порівняльному аспекті з сироваткою молочною освітленою (СМО).

Матеріали та методи

Кількісна оцінка показників гострої токсичності здійснюється різними методами, які, при практично ідентичній точності, відрізняються між собою величиною матеріальних витрат. Оптимальним методом для визначення гострої токсичності є метод найменших квадратів [4,8].

Досліди по визначенню гострої токсичності СМОЕР проводили на 24 дорослих білих щурах масою 180-220 г, які утримувалися групами по 6 тварин на стандартному раціоні віварію. Для виключення можливої статевої чутливості до СМОЕР вивчення її гострої токсичності здійснювали паралельно на тваринах обох статей.

Під час експерименту тварини знаходилися при температурі повітря +(19...25)°С, вологості повітря 50-60%, стандартному світловому режимі “день-ніч”. Відбір піддослідних тварин та формування груп проводили методом “випадкових чисел” [5].

При визначенні гострої токсичності сироватку вводили однократно через металевий зонд в шлунок в діапазоні доз 5,0-15,8 см³/кг згідно вибраному методу в натуральному вигляді. Спостереження за піддослідними тваринами проводили 14 діб. Основним критерієм токсичної дії СМОЕР була загибель тварин, але в період експерименту реєстрували також показники маси тіла та зовнішнього вигляду, поведінки, зоосоціальних відносин між тваринами, активності споживання корму та води, функціонування шлунково-кишкового тракту та дихання, зміни в реакції на зовнішні подразники (звукові, світлові, тактильні, хімічні, механічне стискання і т.д.).

Візуальний та інструментальний огляд піддослідних тварин включав аналіз зміни маси та температури тіла, кольору шкіри та видимих слизових оболонок, стану шкірного покриву, рухової активності тварин, стану серцево-судинної системи (ціаноз, частота та ритмічність серцевих скорочень), функціонування нервової системи (дратівливість, тонуси: очних яблук, кінцівок, черевних м'язів, хвоста), наявності рефлексів (повертання, рогівкового, вушної раковини, розгинання, обіймання, больовий), судом - клонічних чи тонічних, тремору чи посмикування окремих м'язів), стану дихальної системи (частота, глибина, ритмічність дихання), змін з боку органу зору (міоз, мідріаз, екзофтальм, блефароспазм, птоз, лакримація), функціонування видільної системи та системи травлення.

Приймаючи до уваги перспективу впровадження СМОЕР та виробів з неї у харчову промисловість, а, зрозуміло, і можливість тривалого їх застосування, вважалось доцільним вивчення впливу сироватки на життєдіяльність організму в умовах багаторазового (4-тижневого) введення. Досліди були проведені на 20 різностатевих білих щурах масою 150-180 г. Препарат вводили щоденно протягом вказаного періоду у нативному вигляді у дозі – 15,0 (по 5,0 см³/кг в три прийоми протягом 1 години). Візуально спостереження за тваринами проводили кожного дня, а окремі антропологічні (маса та температура тіла) та біохімічні дослідження проводилися на 14-ту та 28-у добу від початку введення СМОЕР. В якості критеріїв можливого негативного впливу СМОЕР на тварин за умов тривалого введення були виживання, маса тіла та масові коефіцієнти внутрішніх органів, температура, вміст білків, активність окремих ферментів [5,6].

Дослідження проводилися згідно Міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментів і інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986).

Експериментальні дані обробляли методами непараметричної статистики з використанням t-критерію Стьюдента; одиниці виміру показників, що досліджувалися, відповідають міжнародній системі СІ в медицині [8].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Найбільш інтегральним показником нешкідливості фізіологічно активних речовин, в тому числі лікарських засобів і харчових продуктів, є гостра токсичність. В порівняльному аспекті вона оцінюється величиною дози, яка призводить до загибелі 50% піддослідних тварин, тобто, середньо-летальною дозою. Визначення параметрів гострої токсичності дозволяє в умовах експерименту на тваринах визначити клас токсичності, характер та виразність симптомів гострого отруєння певною речовиною при одноразовому використанні в токсичних дозах.

Результати вивчення впливу сироватки при одноразовому введенні білим щурам в шлунок на виживання, зміну маси та температуру тіла узагальнені і надані в табл. 1.

Таблиця 1 – Показники інтоксикації білих щурів при вживанні сироватки молочної освітленої та обробленої електроіскровими розрядами.

Об'єкт дослідження	Стать тварин	Доза, см ³ /кг	Одержаний результат*	Маса тіла, г		Температура тіла, °С			
				На початку досліду	Через 14 діб	На початку досліду	Через 14 діб		
СМО	Самки	5,00	0/2	155	170	37,8	38,1		
		6,30	0/2	180	198	37,2	37,5		
		7,90	0/2	185	197	38,1	37,9		
		10,00	0/2	192	207	38,6	38,4		
		12,60	0/2	180	211	38,3	38,5		
		15,80	0/2	160	182	38,0	38,3		
	Самці	5,00	0/2	180	192	38,1	38,4		
		6,30	0/2	195	215	37,9	38,2		
		7,90	0/2	195	216	38,4	38,3		
		10,00	0/2	175	195	38,2	38,6		
		12,60	0/2	160	182	38,5	38,2		
		15,80	0/2	165	187	37,8	38,0		
		СМОЕР	Самки	5,00	0/2	185	198	38,6	38,4
				6,30	0/2	165	182	38,3	37,8
7,90	0/2			165	187	38,0	38,6		
10,00	0/2			190	205	37,8	38,0		
12,60	0/2			192	208	37,9	37,6		
15,80	0/2			190	202	38,2	38,0		
Самці	5,00		0/2	200	213	37,6	37,9		
	6,30		0/2	180	205	38,5	38,3		
	7,90		0/2	190	206	37,9	37,8		
	10,00		0/2	198	210	38,1	38,4		
	12,60		0/2	178	195	38,3	38,0		
	15,80		0/2	190	205	38,2	38,4		

Примітки: *-відношення кількості тварин, які загинули, до загальної кількості тварин в групі

Згідно з результатами таблиці очевидно, що в умовах одноразового введення сироватки молочної обох зразків в дозах 5,0-15,8 см³/кг дорослим щурам – як самкам, так і самцям – їх загибелі не спостерігалось.

Встановлено, що в процесі 14-добового спостереження за піддослідними тваринами, які однократно отримували СМОЕР чи СМО, якихось симптомів гострого отруєння виявлено не було: тварини адекватно реагували на всі зміни навколишнього середовища, зберігали звичайні зоосоціальні стосунки та реакцію на больові, тактильні, звукові, статичні та інші подразники, мали охайний зовнішній вигляд, в достатній кількості

споживали корм та воду; візуальних змін в функціонуванні шлунково-кишкового тракту та видільної системи не спостерігалось. Маса тіла тварин за вказаний період зростала в межах фізіологічної норми, причому у випадку обробленої сироватки приріст був дещо більший, а температура тіла під час проведення експерименту не зазнавала суттєвих змін в порівнянні з вихідними даними.

Результати досліджень впливу СМОЕР на функціонування основних органів і систем організму в умовах тривалого (28-кратного) введення представлені в табл. 2. Згідно з отриманими даними, при введенні СМОЕР per os в максимально допустимих фізіологічних об'ємах протягом 4 тижнів летальних випадків як серед самок, так і самців не спостерігалось. Були відсутніми і будь-які симптоми отруєння тварин з боку життєдіяльності серцево-судинної системи (частота та ритм серцевих скорочень, колір вушних раковин, видимих слизових оболонок та кінцівок), дихання (глибина, частота, ритмічність), центральної нервової системи (орієнтовно-пошукова та рухова активність, зоосоціальні відносини між тваринами, реакція на зовнішні подразники різної природи, зміни в поведінці, збудження, агресивність та ін.), органів травлення (кількість споживання води та їжі, закрепи, проноси і т.п.), видільної системи (частота уринації та дефекації) і т.п.

Таблиця 2– Вплив сироватки молочної обробленої електроіскровими розрядами в умовах тривалого застосування на деякі фізіологічні та біохімічні показники білих щурів (n=6)

Група тварин	Показники, розмірність	Статистичні показники	Час спостереження, дні		
			Початок	14 діб	28 діб
Інтактні (самки)	Вживання, %		100	100	100
	Маса тіла, г	M ± m	151,5 3,44	166,7 2,49	182,2 2,16
	Температура, °C	M ± m	38,1 0,11	37,9 0,13	38,1 0,12
	Гемоглобін, г/л	M ± m	150,3 1,921	153,2 2,87	167,3 3,45
	Загальний білок, г/л	M ± m	70,7 1,92	71,6 2,68	70,0 1,30
	Глюкоза, ммоль/л	M ± m	6,40 0,36	6,60 0,42	6,63 0,42
	АлАТ, мкмоль/год.мл	M ± m	1,67 0,09	1,67 0,10	1,67 0,11
	АсАТ, мкмоль/год.мл	M ± m	1,67 0,09	1,67 0,10	1,67 0,11
	Масові коефіц.: Печінка	M ± m	3,24 0,21	3,19 0,20	3,30 0,20
	Серце	M ± m	3,15 0,27	3,08 0,32	3,26 0,27
	Легені	M ± m	0,29 0,028	0,286 0,026	0,266 0,025
	Тимус	M ± m	0,84 0,06	0,80 0,04	0,83 0,06
	Селезінка	M ± m	0,12 0,009	0,12 0,013	0,13 0,011
	Наднирники	M ± m	0,37 0,024	0,37 0,023	0,38 0,013

Інтак-тні (самці)	Вживання, %	M ± m	0.027 0.001	0.028 0.002	0.031 0.001
	Маса тіла, г		100	100	100
	Температура, °C	M ± m	169,2 3,83	183,0 4,78	193,3 4,40
	Гемоглобін	M ± m	38,5 0,21	38,05 0,17	38,16 0,17
	Загальний білок, г/л	M ± m	163,16 2,87	161,83 3,83	165,5 3,45
	Глюкоза, ммоль/л	M ± m	70,5 1,65	70,65 2,87	70,7 2,30
	АлАТ, мкмоль/ год.мл	M ± m	6,05 0,27	6,27 0,31	6,15 0,35
	АсАТ, мкмоль/ год.мл	M ± m	1,61 0,073	1,67 0,053	1,67 0,055
	Мас. коефіцієнти внутр. органів Печінка	M ± m	2,98 0,08	2,95 0,13	3,02 0,08
	Серце	M ± m	3,25 0,15	2,96 0,19	2,97 0,12
	Легені	M ± m	0,31 0,023	0,32 0,021	0,33 0,017
	тимус	M ± m	0,81 0,035	0,82 0,023	0,84 0,029
	селезінка	M ± m	0,11 0,009	0,123 0,009	0,12 0,005
	наднирники	M ± m	0,38 0,023	0,38 0,020	0,39 0,013
			M ± m	0,029 0,0017	0,029 0,0031
СМОЕР, самки	Вживання	100	100	100	100
	Маса тіла, г	M ± m	161,6 3,83	172,0 3,90	182,2 2,29
	Температура, °C	M ± m	38,0 0,096	38,10 0,13	38,0 0,15
	Гемоглобін, г/л	M ± m	159,5 5,36	162,0 3,83	162,8 5,36

	Загальний білок, г/л	M ± m	71,28 1,32	71,4 2,30	69,8 2,23
	Глюкоза, ммоль/л	M ± m	6,06 2,11	6,10 2,87	6,22 2,29
	АлАТ, мкмоль/ год.мл	M ± m	1,64 0,012	1,67 0,040	1,73 0,032
	АсАТ, мкмоль/ год.мл	M ± m	3,04 0,065	2,97 0,13	3,05 0,11
	Масові коефіц.: Печінка	M ± m	3,05 0,13	3,12 0,17	3,09 0,21
	Серце	M ± m	0,34 0,03	0,33 0,03	0,37 0,031
	Легені	M ± m	0,69 0,04	0,72 0,037	0,70 0,038
	Тимус	M ± m	0,12 0,009	0,117 0,013	0,13 0,011
	Селезінка	M ± m	0,37 0,024	0,37 0,023	0,38 0,013
	Наднирники	M ± m	0,027 0,001	0,028 0,0017	0,029 0,0013
СМОЕР, самці	Виживання, %		100	100	100
	Маса тіла, г	M ± m	164,83 4,41	176,0 3,45	184,16 3,64
	Температура, °C	M ± m	37,9 0,27	37,9 0,11	38,0 0,13
	Гемоглобін, г/л	M ± m	159,83 4,79	159,0 3,83	161,0 3,80
	Загальний білок, г/л	M ± m	68,7 4,79	72,5 4,80	74,2 3,06
	Глюкоза, ммоль/л	M ± m	6,61 0,35	6,67 0,21	6,78 0,15
	АлАТ, мкмоль/ год.мл	M ± m	1,54 0,10	1,73 0,08	1,70 0,05
	АсАТ, мкмоль/ год.мл	M ± m	3,11 0,24	2,82 0,13	2,87 0,19
	Масові коефіц.: печінка	M ± m	3,03 0,13	3,08 0,14	3,04 0,10
	Серце	M	0,33	0,32	0,29

		± m	0,28	0,19	0,31
Легені	M		0,69	0,68	0,66
	± m		0,0 32	0,023	0,033
Тимус	M		0,11	0,123	0,12
	± m		0,009	0,009	0,005
Селезінка	M		0,37	0,38	0,38
	± m		0,024	0,012	0,013
Наднирники	M		0,026	0,028	0,030
	± m		0,0023	0,0013	0,0029

Таким чином, дані, отримані при вивченні підгострої токсичності СМОЕР, дозволяють зробити висновок, що при тривалому (4-тижневому) введенні білим щурам в дозі 15,0 см³/кг СМОЕР не викликає їх отруєння та загибелі, не змінює функціонування органів та систем організму, не впливає на фізіологічний приріст маси тіла у дорослих тварин.

ВИСНОВКИ

В умовах одно- та багаторазового введення в шлунок дорослих білих щурів проведено експериментальне вивчення токсичності молочної сироватки, що підлягала дії електроіскрових розрядів. Дослідження гострої токсичності здійснювалося в порівняльному аспекті з дією сироватки молочної освітленої. Встановлено, що молочна сироватка, яка підлягала обробці електроіскровими розрядами, в умовах однократного перорального введення дорослим щурам обох статей в дозах 5,0-15,8 см³/кг не сприяє їх загибелі, не впливає на температуру та фізіологічний приріст маси тіла. При тривалому (28-денному) введенні в максимально допустимих дозах сироватка, що підлягала дії електроіскрових розрядів, також не викликає загибелі тварин, не спричиняє негативної дії на функціонування органів травлення, дихання, центральної нервової, серцево-судинної та видільної систем, не впливає на температуру тіла та приріст маси; в процесі дослідження не встановлено проявів статевої чутливості. Отримані результати свідчать про ідентичність дії сироватки на основні фізіологічні показники функціонування організму, тобто, про нешкідливість запропонованого способу обробки.

Отже, проведені дослідження засвідчують, що виготовлення продуктів на основі сироватки молочної обробленої електроіскровими розрядами будуть безпечними для людини.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Храмцов А.Г., Нестеренко П.Г. Технология продуктов из молочной сыворотки: Учебное пособие. – М.:ДеЛи принт, 2004.- 587с.
2. Горбатова К.К. Биохимия молока и молочных продуктов. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1984. – 344с.
3. Чернюшок О.А., Кочубей-Литвиненко О.В., та інші. Сироватка молочна – біологічно цінний продукт// Наукові праці ОНАХТ Одеса – 2011.- №1(14). – С.40-42.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів(методичні рекомендації)/За ред.О.В.Стефанова.- Київ:Авіцена.-2001.-521 с.
5. Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение критериев непараметрической статистики в медико-биологических исследованиях.-Л.:Наука,1982.-57 с.
6. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте/ЗападнюкИ.П., Западнюк В.И., Захария Е.А. и др.-К.:Вища шк., 1983.-383с.
7. Липперт Г. Международная система единиц в медицине.-М.:Медицина, 1980.-207.
8. Пастушенко Т.В., Маруший Л.Б., Жуков А.А. и др. Экспресс-метод определения среднесмертельных доз химических веществ//Гиг.и сан.-1985.-№6.-С.46-48.