

**ВЗАЄМОДІЯ ГЛІФОСАТУ З АМІНОКИСЛОТАМИ ГЕНЕТИЧНО
МОДИФІКОВАНОЇ РАУНДАПОСТІЙКОЇ І НЕ ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНОЇ
СОЇ У ВОДНОМУ РОЗЧИНІ В УМОВАХ IN VITRO**

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

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

kulikmf@mail.ru

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

Вступ. 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 кодуєть білки. Ця плазміда містить гени, що контролюють біосинтез і катаболізм специфічних азотвмісних сполук – опіонів, гени вірулентності, гени синтезу фітогормонів – цитокінінів і ауксинів. Ці гормони викликають утворення пухлин і дедиференціювання тканин рослини. Т-ДНК власне й є інтегрованою ділянкою Ті-плазмиди, що має гени синтезу фітогормонів і опінів. Ті-плазмиди (від англійського tumor inducing – викликаючі пухлини). В одній клітині агробактерії не можуть зустрітись не тільки Ті- і Рі-плазмиди, але навіть дві різних Ті-плазмиди, якимось чином перша, яка проникла в бактерію плазмиди, не допускає проникнення і розмноження інших плазмид, подібних на неї [11]. У результаті перенесення Т-ДНК із Ті-плазмиди в клітину рослини-господаря відбувається неконтрольоване утворення гормонів (ауксинів і цитокінінів), що призводить до злякисного росту клітин і подальшого синтезу азотвмісних речовин – опінів [11].

При боротьбі з бур'янами, тобто, обприскуванні ГМ раундапостійкої сої Roundup (гліфосат) впливає на метаболічний процес шикімової кислоти, блокуючи синтез деяких незамінних ароматичних амінокислот, зокрема, фенілаланіну, тирозину, триптофану і гістидину [12], перед усім у точках росту стебла і кореня [10]. Чутливий до гліфосату процес метаболізму шикімової кислоти в клітинах бактерій, грибів, водоростей, рослин, протозой, але відсутній у комах, риб, птахів і ссавців, у яких немає специфічної мішені – ферменту 5-енолпіруватшкімат-3-фосфатсинтази (EPSPS) [10], проте гліфосат є «можливим канцерогеном для людини» (категорія небезпеки «2 А»).

Якщо вести мову за неідентифіковані фактори ГМ раундапостійкої сої, то необхідно зазначити, що більшість ДНК-локусів археїв несхожі з вже відомими послідовностями. Зокрема, до 15% білків, що кодуються різними археями є унікальними для цього домену. Функції багатьох цих білків і досі не-

відомі [1]. Це є підтвердженням того, що ГМ соя має складну структуру.

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 [6]. Очевидно це дія гліфосату в поєднанні з білками ГМ сої і ці сполуки є токсинами для проростків.

Діючою речовиною гербіциду Roundup є N-фосфометилгліцин (гліфосат), це молекула гліцину з метилфосфонільною групою, зв'язаною з атомом азоту. Як аналог гліцину, можна очікувати, що він заміщує гліцин у випадкових точках процесу синтезу білка з невідомими наслідками. Гліцин, найменша амінокислота, яка має унікальні властивості та здатність приєднуватися до плазматичної мембрани або цитоскелету. Глибокий аналіз літературних джерел виявив ряд класів білків, які залежать від природних (консервативних) залишків гліцину для виконання належної функції. Заміна гліфосатом природних (консервативних) гліцинів пояснює зв'язок із діабетом, ожирінням, астмою, набряком легень, наднирниковою недостатністю, безпліддям та іншими захворюваннями [22].

Деформація дзьобів у синиць [15,16] під впливом поїдання насіння соняшнику, обприсканого Roundup (гліфосатом) перед збиранням урожаю, може бути пояснена порушеною здатністю KEAP1 зв'язуватися з цитоскелетом, що призводить до конститутивної активації Nrf2 і надлишкової експресії синтезу кератину [22].

Nrf2 є лейцин захисним білком, який захищає від окисного ушкодження в результаті відповіді на запалення після дії різних екологічних чинників [19], а KEAP1 є цитоплазматичним білком, який регулює експресію Nrf2 шляхом зв'язування з ним, щоб запобігти його переміщенню в ядро, таким чином дозволяючи подальшу його деградацію [20,23]. Нерегульована зверхактивація Nrf2 в зв'язку з порушенням функції KEAP1, як передбачається, може призвести до гіперкератозу [22].

Пріонні хвороби, які називають трансмісивними губчатими енцефалопатіями, є новими дегеративними захворюваннями, при яких збудник являє собою неправильно сформований білок. Вважається, що пріони відповідальні за хворобу Куру, хвороби Крейтцфельда-Якоба і коров'ячої губчастої енцефалопатії (BSE, коров'ячий сказ). Коров'ячий сказ

вперше з'явився у Великобританії в 1986 році, після того, як Roundup був використаний для боротьби з бур'янами і корови споживали корми з гліфосатом щонайменше протягом десятиліття [22]. У той час як BSE, як вважають, викликана годівлею, зараженого мозку, спинного мозку або шлунково-кишкового тракту інфікованих туш, то залишається відкритим питання про те, що викликало появу оригінальних неправильно сформованих білків, щоб ініціювати інфекцію. Пріонні білки містять багату на гліцин гідрофобну область, яка показує майже ідеальне збереження в широкому діапазоні видів. Ця область є важливим для процесу неправильного формування і поширення пріонів [17]. Це здається дивним, що досить консервативна область білка, є незмінена генетичними мутаціями, може бути джерелом токсичності. Нормальна форма пріонних білків, PrP^C, швидко катаболізується, в той час як патогенна ізоформа, PrP^{Sc}, має високу стійкість до протеолізу [14]. Підпоследовність, що містить тільки PrP 106-126 є високо консервативною неструктурованою областю PrP, яка вважається основним джерелом фібриллогенності. Він має високу тенденцію до агрегації в структуру β-поверхні, що утворює амілоїдні фібрили *in vitro* [21,24].

Поряд із цим у досліджах на лабораторних тваринах при згодовуванні ГМ раундапостійкої сої багатьма авторами встановлено порушення репродуктивних функцій у щурів, зміни гормонального балансу і безпліддя в наступних поколіннях [2,3,4,7,8], що може бути пов'язано з неідентифікованими факторами і можливо з фітоестрогенами. Класичним прикладом впливу фітоестрогенів на сільськогосподарських тварин стала «клеверная болезнь», яка зустрічається в овець та інших пасовищних тварин. Вперше цю хворобу описали в 40-х роках ХХ століття в Австралії. Фермери помітили, що в овець, що споживають переважно конюшину виду *Trifolium subterraneum* L. (конюшина підземна), часто виникають безпліддя та інші порушення репродуктивної функції [9].

Аналіз джерел літератури показує, що гліфосат (фосфометилгліцин-синтетична амінокислота гліцину) може заміщувати природний гліцин у випадкових точках процесу синтезу білка з невідомими наслідками. Той факт, що ця синтетична амінокислота, аналог природної амінокислоти, яка виконує багато важливих ролей у функції білків, що містять її, робить можливим, щоб заміщення гліфосатом гліцину у пептидах могло спричинити велику кількість несприятливих і непередбачуваних ефектів [22].

Мета досліджень. Вивчити взаємодію гліфосату з амінокислотами ГМ раундапостійкої і не ГМ сої у водному розчині в умовах *in vitro* на принципі реакції Паулі з ароматичними амінокислотами та формольного титрування.

Об'єкт і методи досліджень. У перші 2 стакани поміщали по 10 г бобів (зерна) не ГМ сої і в один із них додавали 66 мг Roundup (гліфосату) в сухому порошкоподібному вигляді, а в 3 і 4-й стакани аналогічно по 10 г ГМ раундапостійкої сої і в один із них додавали також 66 мг Roundup (гліфосату). В усі 4 стакани добавляли по 150 мл дистильованої води,

а в 5-тий стакан тільки 66 мг Roundup (гліфосату) і 150 мл дистильованої води. При кип'ятінні впродовж 1 години вода випаровувалася, тому доводили об'єм до 100 мл дистильованою водою. У процесі кип'ятіння відбувалася інактивація всіх біологічно активних речовин сої з переходом у водний розчин термостійких водорозчинних білків, пептидів і амінокислот, у т. ч. ароматичних у не ГМ сої і можливо залишку гліфосату з раундапостійкої сої. У процесі кип'ятіння гліфосат, як діюча речовина гербіциду Roundup, вступає у взаємодію з амінокислотами, пептидами та білками водної витяжки сої обох варіантів. Після кип'ятіння відвар проціджували крізь нейлонову тканину і таким чином одержували водну витяжку для наступних досліджень.

В одержаних водних витяжках сої і водного розчину гліфосату визначали за реакцією Паулі вміст ароматичних амінокислот, зокрема, фенілаланіну, тирозину, гістидину і триптофану. Взаємодія гліфосату з ароматичними амінокислотами водної витяжки сої в процесі кип'ятіння повинна проявитися утворенням сполук гліфосату з ароматичними амінокислотами. Адже гліфосат блокує їх синтез у не раундапостійких рослинах – бур'янах при обприскуванні посівів ГМ сої.

Хід визначення був наступним: в колбочки з 1 мл 1,0% розчину сульфанілової кислоти в 5,0% розчині соляної кислоти додавали 2,0 мл 0,6% розчину нітриту натрію при ретельному змішуванні та додавали 2,0 мл водної витяжки сої одного з варіантів і знову після змішування додавали 6 мл 10% розчину карбонату натрію (Na₂CO₃) з наступним перемішуванням і одержанням вишнево-червоного забарвлення розчину. Такий колір зберігається недовго упродовж 2-3 хвилини, тому одержаний розчин швидко розбавляли дистильованою водою в співвідношенні 1 : 1 і фекували на спектрофотометрі в кюветі товщиною 1 см проти дистильованої води при довжині хвилі 540 нм. Оптичну густину визначали після витримки поки не зупиниться стрілка на певному показнику. Аналогічні аналізи виконували з наступними витяжками сої, а в кінці з водним розчином кристалічного Roundup (гліфосат), який піддавався кип'ятінню без сої. Дослідження водного розчину тільки з гліфосатом показали відсутність реакції Паулі, тому ця реакція була специфічною для ароматичних амінокислот.

У водних витяжках сої 2-х варіантів і в розчині тільки гліфосату без сої визначали вміст амінного азоту за принципом формольного титрування [5]. Так, у 25 мл водного розчину 2-х варіантів сої під контролем рН-метра 0,1 n NaOH доводили рН до 8,0, а потім 0,01 n NaOH до рН 9,0. У пробі тільки з гліфосатом, тобто, в 25 мл водного розчину 0,01 n NaOH доводили рН до 9,0. Буферність водних розчинів була лужною. Паралельно брали 3-и проби по 25 мл дистильованої води і добавляли в кожну колбочку по 1 мл стандартного розчину формальдегіду з доведенням 0,01 n NaOH до рН 9,0. Буферність такого розчину з формальдегідом також була лужною з однаковим показником (рН 9,0), як і в попередніх розчинах. Після цього водні розчини сої і гліфосату змішували кожний зі своїм розчином формальдегіду. За таких умов формальдегід вступає в реакцію з

аміногрупами нейтральних амінокислот. У результаті чого вивільняються карбоксильні групи і нейтральні амінокислоти набувають кислої реакції. При титруванні таких розчинів 0,01 n NaOH знову до pH 9,0 під контролем рН-метра визначаються нейтральні амінокислоти. Переведення мл 0,01 n NaOH, що пішло на титрування у показники нейтральних амінокислот є необов'язковим, так як порівнюються водні розчини між собою у відсотках.

Результати досліджень та їх обговорення. Показники екстинкції ФЕКа реакції Паулі на вміст ароматичних амінокислот у водній витяжці різних зразків не ГМ сої і такі ж показники при кип'ятінні з гліфосатом показали зменшення вмісту ароматичних амінокислот при кип'ятінні сої з гліфосатом (табл. 1). Це є свідченням того, що гліфосат

екстинкції ФЕКа зменшується. Очевидно, фосфонометильна група N-фосфонометилгліцину реагує з ароматичним кільцем цих амінокислот, що перешкоджає проходженню реакції Паулі.

Проведення аналогічних досліджень із ГМ раундапостійкою соєю показало більше зменшення показників екстинкції ФЕКа цієї сої після кип'ятіння з гліфосатом (табл. 2). Якщо відсоток зменшення вмісту ароматичних амінокислот у не ГМ сої становив $10,4 \pm 0,88\%$ у діапазоні відхилень $14,0-7,0\%$, то в ГМ сої середня величина становила $18,1 \pm 3,09\%$ з відхиленнями від $36,0$ до $9,0\%$ (табл. 1 і 2).

Проведений аналіз співставлення реакції з ароматичними амінокислотами не ГМ сої із ГМ соєю та з гліфосатом при кип'ятінні свідчить про більш виразну реакцію ароматичних амінокислот раундапостій-

Показники екстинкції ФЕКа реакції Паулі на вміст ароматичних амінокислот у водній витяжці різних зразків не ГМ сої-контроль та її з гліфосатом (Roundup)

Зразок сої	Соєа контроль показники екстинкції	Соєа з гліфосатом показники екстинкції	Різниця до контролю	% зменшення вмісту амінокислот при кип'ятінні з гліфосатом
1	0,256	0,224	0,032	12,0
2	0,347	0,300	0,047	14,0
3	0,362	0,320	0,042	12,0
4	0,384	0,329	0,055	14,0
5	0,408	0,377	0,031	8,0
6	0,242	0,216	0,026	11,0
7	0,262	0,238	0,024	9,0
8	0,387	0,348	0,039	10,0
9	0,442	0,410	0,032	7,0
10	0,382	0,354	0,028	7,0
M ± m	$0,347 \pm 0,0232$	$0,312 \pm 0,0222$	$0,036 \pm 0,0033$	$10,4 \pm 0,88$

Примітка. Реакція Паулі відсутня на вміст ароматичних кислот у водному розчині гліфосату після його кип'ятіння.

Таблиця 1.

кої сої в розумінні взаємодії фосфонометильної групи гліфосату з ароматичним кільцем цих амінокислот.

Показники формольного титрування на вміст амінокислот у водній витяжці не ГМ сої (табл. 3) без гліфосату і при кип'ятінні з гліфосатом переконливо показали взаємодію амінокислот із N-фосфонометилгліцином. У результаті такої взаємодії утворюються сполуки пептидів із фосфонометильною групою гліфосату. Аналогічні результати одержані в дослідженнях із генетично модифікованою раундапостійкою соєю (табл. 4).

Показники екстинкції ФЕКа реакції Паулі на вміст ароматичних амінокислот у водній витяжці різних зразків ГМ сої та її з гліфосатом (Roundup)

Зразок сої	ГМ соєа показники екстинкції	ГМ соєа з гліфосатом показники екстинкції	Різниця до контролю	% зменшення вмісту амінокислот при кип'ятінні з гліфосатом
1	0,250	0,190	0,060	24,0
2	0,414	0,288	0,126	30,0
3	0,367	0,234	0,133	36,0
4	0,400	0,357	0,043	11,0
5	0,335	0,300	0,035	10,0
6	0,340	0,295	0,045	13,0
7	0,320	0,290	0,030	9,0
8	0,333	0,264	0,069	21,0
9	0,362	0,310	0,052	14,0
10	0,315	0,273	0,042	13,0
M ± m	$0,344 \pm 0,0155$	$0,280 \pm 0,0150$	$0,064 \pm 0,012$	$18,1 \pm 3,09$

Таблиця 2.

Якщо гліфосат вбудований замість гліцину в конструктивний пептид, це може перешкоджати розщепленню дефектного пептиду, що призводить до накопичення нерозгалужених коротких пептидних ланцюгів із невідомими наслідками в крові або в клітинах, що містять такі дефектні білки [22].

У захист безпечної використання ГМ раундапостійкої сої в продуктах харчування виставляється аргумент, що вміст гліфосату (Roundup) у такій сої є незначним, але в протива-

(N-фосфонометилгліцин), який міститься в ГМ раундапостійкій сої в шлунково-кишковому тракті, крові та клітинах тканин у першу чергу людей, а потім тварин вступає в пептидний ланцюг як аналог гліцину. У даному дослідженні гліфосат реагує з ароматичними амінокислотами, зменшуючи інтенсивність забарвлення розчину по реакції Паулі, тобто, показник

гу таким судженням необхідно, зазначити про біоаккумуляцію гліфосату і його метаболітів в організмі тварин. Так, здатність гліфосату до біоаккумуляції і метаболізму в тварин було чітко продемонстровано в дослідженні 1988 року, проведеного Howe і співавт. [18]. Гліфосат був первинним радіоактивним матеріалом, який виявлено у сечі та фекаліях тварин, а біо-

Таблиця 3.

Показники формольного титрування на вміст амінокислот у водній витяжці різних зразків не ГМ сої та її з гліфосатом (Roundup)

Зразок сої	Соя не ГМ, мл 0,01 n NaOH	Гліфосат, мл 0,01 n NaOH	Соя не ГМ з гліфосатом, мл 0,01 n NaOH	Взаємодія гліфосату з амінокислотами, мл 0,01 n NaOH	% збільшення вмісту амінокислот при кип'ятінні з гліфосатом
1	8,5	8,0	10,6	5,9	25,0
2	8,8	8,0	10,6	6,2	20,0
3	9,8	8,0	13,0	4,8	33,0
4	9,6	8,0	12,6	5,0	31,0
5	11,2	8,0	14,1	5,1	26,0
6	9,2	8,0	12,3	4,9	34,0
7	10,0	8,0	11,9	6,1	19,0
8	10,8	8,0	13,6	5,2	26,0
9	10,4	8,0	14,2	4,2	37,0
10	8,6	8,0	11,6	5,0	15,0
M ± m	9,7 ± 0,31	8,0	12,5 ± 0,435	5,2 ± 0,21	26,6 ± 2,39

Таблиця 4.

Показники формольного титрування на вміст амінокислот у водній витяжці різних зразків ГМ сої та її з гліфосатом (Roundup)

Зразок сої	ГМ соя без гліфосату, мл 0,01 n NaOH	Гліфосат, мл 0,01 n NaOH	ГМ соя з гліфосатом, мл 0,01 n NaOH	Взаємодія гліфосату з амінокислотами, мл 0,01 n NaOH	% збільшення вмісту амінокислот при кип'ятінні з гліфосатом
1	7,1	8,0	9,0	6,1	27,0
2	8,0	8,0	10,0	6,0	25,0
3	7,9	8,0	9,5	6,4	20,0
4	7,5	8,0	10,6	4,9	41,0
5	5,8	8,0	8,4	5,4	45,0
6	7,2	8,0	10,2	5,0	42,0
7	5,3	8,0	7,1	6,2	34,0
8	6,0	8,0	8,6	5,4	43,0
9	6,7	8,0	9,3	5,4	39,0
10	6,0	8,0	8,8	5,2	47,0
M ± m	6,8 ± 0,31	8,0	9,2 ± 0,34	5,6 ± 0,18	36,3 ± 3,11

аккумуляція була виявлена у всіх тканинах, залозах і органах [18].

Висновки

1. На основі реакції Паулі встановлено, що гліфосат в умовах *in vitro* вступає у взаємодію, тобто, утворюючи сполуки з ароматичними амінокислотами не ГМ сої і більш виражено з такими ж ароматичними амінокислотами ГМ раундапостійкої сої.

2. Методом формольного титрування підтверджено, що гліфосат в умовах *in vitro* при його кип'ятінні у водному розчині з цілими бобами (зерном) сої вступає у взаємодію з амінокислотами як

аналог гліцину з утворенням неприродних пептидних сполук.

3. Проведені дослідження є аргументом небезпеки використання ГМ сої в продуктах харчування для людей і, особливо, дітей.

Перспективи подальших досліджень. Проведення досліджень на тваринах із метою виявлення впливу гліфосату в складі ГМ раундапостійкої сої на відтворювальну здатність. Адже недавнє дослідження, проведене Coullery і співавтр. [13] показано, що гліфосат викликає незворотний аномальний ріст і затримку розвитку нейронів, взятих із ембріонів щурів.

Література

1. Hyl MI, Smetana OY, Yulevych OI, Barkar YV, Horbatenko IY, Nezhlukchenko TI, та in. Molekuliarna henetyka ta tekhnologii doslidzhennia henoma: navch. posib. Editor professor MI. Hyl. Kherson: OLDI-PLIUS; 2015. 320 s. [in Ukrainian].
2. Ermakova IV. Geneticheski modifitsirovannaya soya privodit k snizheniyu vesa i uvelicheniyu smertnosti kryisyat pervogo pokoleniya. Predvaritelnyie issledovaniya. Ekoinform. 2006;1. [in Russian].
3. Ermakova IV, Barskov IV. Izuchenie fiziologicheskikh i morfologicheskikh parametrov u kryis i ih potomstva pri ispolzovanii dietyi sodержashey soyu s transgenom EPSPS SR4. Modern problems of science and education. Biological Sciences. 2008;6:19-20. [in Russian].
4. Ermakova IV. Vliyaniye soi s genom EPSPS SR4 na fiziologicheskoye sostoyaniye i reproduktivnyie funktsii kryis v pervyih dvuh pokoleniyah. Modern problems of science and education. 2009;5:15-21. [in Russian].
5. Ivankin AN, Kulikovskiy AV, Proshina OP. Osnovyi biotekhnologii. Laboratornyie raboty: ucheb.-metodich. posobie. M.: FGBOU VPO MGUL; 2016. 20 s. [in Russian].
6. Kulyk MF, Kornichuk OV, Buhaiov VD, Obertiukh YV, Khimich OV, Lilyk TV, та in. Pryhnichennia rostu prorostkiv zerna pshenytsi, trytykale i zhyta pid vplyvom vodnoi vytyazhky raundapostiikoї HM soi porivniano z ne HM soieiu. Bulletin of Agrarian Science. 2013;6:21-4. [in Ukrainian].

7. Malygin AG. Vliyanie soevoy diety na reproduktivnyie funktsii myishey. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya. Biologicheskoye nauki.* 2008;6:23. [in Russian].
8. Malygin AG, Ermakova IV. Soevaya dieta podavlyaet reproduktivnyie funktsii gryzunov. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya. Biologicheskoye nauki.* 2008;6:26. [in Russian].
9. Margolina A. Pravda i vyimysel o fitoestrogenah. *Nauka i zhizn'.* 2008;5:64-72. Available from: <https://www.nkj.ru/archive/articles/13952>. [in Russian].
10. Sahn LO, Komarnitskiy IK, Kuchuk MV. Stiykist do glifosatu i glyufozinatu v pokolinnyah T1–T2 biotekhnologichnih roslin ripaku (Brassica napus L.). *Visnyk Ukrayins'koho tovarystva henetykiv i selektsioneriv.* 2015;13(1):3-10. Available from: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vutgis_2015_13_1_3. [in Ukrainian].
11. Chub VV. Rasteniya-GMO: kak eto delaetsya. *Potentsial. Khimiya. Biologiya. Meditsina.* 2011;11:11. Available from: http://elementy.ru/nauchno-populyarnaya_biblioteka/431512/Rasteniya_GMO_kak_eto_delaetsya. [in Russian].
12. Amrhein N, Deus B, Gehrke P, Steinrücken HC. The site of the inhibition of the shikimate pathway by glyphosate, II: interference of glyphosate with chorismate formation in vivo and in vitro. *Plant Physiol.* 1980;66(5):830-4.
13. Coullery RP, Ferrari ME, Rosso SB. Neuronal development and axon growth are altered by glyphosate through a WNT non-canonical signaling pathway. *Neurotoxicology.* 2015;52:150-61.
14. Florio T, Paludi D, Villa V, et al. Contribution of two conserved glycine residues to fibrillogenesis of the 106-126 prion protein fragment. Evidence that a soluble variant of the 106-126 peptide is neurotoxic. *J. Neurochem.* 2003;85:62-72.
15. Handel CM, Pajot LM, Matsuoka SM, et al. Epizootic of beak deformities among wild birds in Alaska: An emerging disease in North America? *Auk.* 2010;127:882-98.
16. Handel CM, Van Hemert C. Environmental contaminants and chromosomal damage associated with beak deformities in a resident North American passerine. *Environ. Toxicol. Chem.* 2015;34:314-27.
17. Harrison CF, Lawson VA, Coleman BM, et al. Conservation of a glycine-rich region in the prion protein is required for uptake of prion infectivity. *J. Biol. Chem.* 2010;285:20213-23.
18. Howe RK, Chott RC, McClanahan RH. The Metabolism of Glyphosate in Sprague Dawley Rats. Part II. Identification, Characterization and Quantification of Glyphosate and its Metabolites after Intravenous and Oral Administration (unpublished study MSL-7206 conducted by Monsanto and submitted to the EPA July 1988).
19. Ma Q. Role of Nrf2 in oxidative stress and toxicity. *A. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2013;53:401-26.
20. Ogura T, Tong KI, Mio K. Keap1 is a forked-stem dimer structure with two large spheres enclosing the intervening, double glycine repeat, and C-terminal domains. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2010;107:2842-7.
21. Rymer D, Good TA. The role of prion peptide structure and aggregation in toxicity and membrane binding. *J. Neurochem.* 2000;75:2536-45.
22. Samsel A, Seneff S. Glyphosate pathways to modern diseases V: Amino acid analogue of glycine in diverse proteins. *Journal of Biological Physics and Chemistry.* 2016;16:9-46.
23. Suzuki T, Maher J, Yamamoto M. Select heterozygous Keap1 mutations have a dominant-negative effect on wildtype keap1 in vivo. *Cancer Res.* 2010;71:1700-9.
24. Tagliavini F, Prelli F, Verga L, et al. Synthetic peptides homologous to prion protein residues 106-147 form amyloid-like fibrils in vitro. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1993;90:9678-82.

ВЗАЄМОДІЯ ГЛІФОСАТУ З АМІНОКИСЛОТАМИ ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНОЇ РАУНДАПОСТІЙКОЇ І НЕ ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНОЇ СОЇ У ВОДНОМУ РОЗЧИНІ В УМОВАХ IN VITRO

Кулик Я. М., Обертюх Ю. В., Выговська І. О., Гончар Л. О.

Резюме. Встановлено, що діюча речовина Roundup – гліфосат в умовах in vitro вступає у взаємодію з ароматичними амінокислотами сої, а з іншими амінокислотами в організмі, як аналог гліцину, утворює пептидні сполуки, що є підтвердженням утворення в організмі людей і тварин неприродних пептидів за наявності в продуктах харчування і кормах гліфосату.

Ключові слова: генетично модифікована соя, не генетично модифікована соя, водна витяжка сої, гліфосат, Roundup, реакція Паулі, формольне титрування.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГЛИФОСАТА С АМИНОКИСЛОТАМИ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННОЙ РАУНДАПОУСТОЙЧИВОЙ И НЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННОЙ СОИ В ВОДНОМ РАСТВОРЕ В УСЛОВИЯХ IN VITRO

Кулик Я. М., Обertiukh Ю. В., Выговская И. А., Гончар Л. А.

Резюме. Установлено, что действующее вещество Roundup – глифосат в условиях in vitro вступает во взаимодействие с ароматическими аминокислотами сои, а с другими аминокислотами в организме, как аналог глицина, образует пептидные соединения, что является подтверждением образования в организме людей и животных неестественных пептидов при наличии в продуктах питания и кормах глифосата.

Ключевые слова: генетически модифицированная соя, не генетически модифицированная соя, водная вытяжка сои, глифосат, Roundup, реакция Паули, формольное титрование.

INTERACTION OF GLYPHOSATE WITH AMINO ACIDS OF A GENETICALLY MODIFIED ROUNDUP-RESISTANT AND NOT GENETICALLY MODIFIED SOYBEAN IN AQUEOUS SOLUTION IN THE CONDITIONS OF IN VITRO

Kulyk Y. M., Obertiukh Y. V., Vyhovska I. O., Honchar L. O.

Abstract. Research purpose. To study the interaction of glyphosate with amino acids GM Roundup-resistant and non GM soy in an aqueous solution in conditions in vitro on the principle of Pauli reaction with aromatic amino acids and formal titration.

Object and research methods. In the first 2 cups placed 10 g of soybeans not GM and in one of them added 66 mg of Roundup (glyphosate) in dry powder form, and in the 3rd and 4th cups, similar to 10 g of GM Roundup-resistant soybean, and in one of them was added also 66 mg of Roundup (glyphosate). In all 4 cups, 150 ml of distilled water was added, and in the 5th cup only 66 mg of Roundup (glyphosate) and 150 ml of distilled water. When boiling during 1 hour, the water evaporated, so the volume was adjusted to 100 ml with distilled water. In the process of boiling, there was inactivation of all biologically active substances soy with the transition to aqueous solution of heat-resistant water-soluble proteins, peptides and amino acids, including aromatic in non-GM soybeans and possibly the remaining glyphosate from the Roundup-resistant soy.

In the boiling process, glyphosate, as the active ingredient of the Roundup herbicide, interacts with the amino acids, peptides and proteins of aqueous extracts soy of both variants. After boiling broth filtered through a nylon cloth and thus received aqueous extract for subsequent studies.

In the obtained aqueous extract of soy and glyphosate aqueous solution was determined by reaction Pauli content of aromatic amino acids, including phenylalanine, tyrosine, histidine and tryptophan. The interaction of glyphosate with aromatic amino acids of aqueous extract of soya in the boiling process should be manifested by the formation of compounds of glyphosate with aromatic amino acids. Because glyphosate is blocking their synthesis in non-Roundup-resistant plants – weeds when crop spraying of GM soy.

In water extracts of soya 2nd variants and in a solution only glyphosate without soy was determined by the content of amine nitrogen on the principle of formol titration.

Research results and their discussion. Indicators extinction FEC reaction Pauli content of aromatic amino acids in aqueous extract different samples of non-GM soybeans and the same indicators when boiling with glyphosate showed reduction of aromatic amino acids by boiling soybeans with glyphosate.

This is evidence that glyphosate (N-phosphonomethylglycine) contained in Roundup-resistant GM soybeans in the gastrointestinal tract, blood and tissue cells, primarily of people, and animals enter into peptide chain as glycine analogue. In this study, glyphosate reacts with aromatic amino acids reducing the color intensity of the reaction Pauli, i.e., the index of extinction FEC reduced. Obviously, the phosphonomethyl group of N-phosphonomethylglycine reacts with an aromatic ring of these amino acids, which prevents the passage of the Pauli reaction.

Realization similar studies with Roundup-resistant GM soy showed a further decrease of extinction FEC of soybeans after boiling with glyphosate. If the percentage of reduction the content of aromatic amino acids in non-GM soybean was 10.4 ± 0.88 % in the range of deviations of 14.0-7.0 %, then in GM soy the average value was 18.1 ± 3.09 % with a variation of 36.0 to 9.0%.

The analysis of the comparison of the reaction with aromatic amino acids of non-GM soybeans with GM soya and with glyphosate during boiling indicates a more distinct reaction of the aromatic amino acids of Roundup-resistant soy in the understanding of the interaction of the phosphonomethyl group of glyphosate with the aromatic ring of these amino acids.

Indicators of formol titration on the content of amino acids in aqueous extracts of non-GM soybeans without glyphosate and when boiling with glyphosate convincingly showed the interaction of amino acids with N-phosphonomethylglycine. As a result of such interaction, compounds of peptides with a phosphonomethyl group of glyphosate are formed. Similar results were obtained in studies with Roundup-resistant GM soybeans.

Conclusions

1. Based on Pauli the reaction found that glyphosate under conditions in vitro glyphosate interacts, that is, forming compounds with aromatic amino acids of non-GM soybeans and more pronounced with the same aromatic amino acids Roundup-resistant GM soybeans.

2. The method of formol titration confirmed that in vitro glyphosate when it is boiled in an aqueous solution with whole soybean interacts with amino acids as an analogue of glycine to form unnatural peptide compounds.

3. The studies conducted are an argument for the risk of using GM soy in food for people and especially children.

Key words: genetically modified soybeans are not genetically modified soybeans, soybean extract water, glyphosate, Roundup, Pauli reaction, formol titration.

Рецензент – проф. Дубінін С. І.
Стаття надійшла 22.01.2018 року