

**АНТРОПОГЕННЫЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ
КОНТАМИНАНТЫ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ:
НОВЫЕ ВЫЗОВЫ**

Хотимченко С.А.

ФГБНУ «НИИ питания», г.Москва

Пермь, 13 мая 2015 года

**ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ РИСКИ И ИСТОЧНИКИ ОПАСНОСТИ:
биологические, химические, физические**



«ГОРЯЧИЕ ТОЧКИ» В ОБЛАСТИ ОБЕСПЕЧЕНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ

**Эмерджентные
возбудители
пищевых
инфекций и
токсикоинфекций**

**Биотехнологии
(генетически
модифицированные
организмы
(ГМО, ГММ))**

**Новые «старые»
контаминанты
антропогенного
происхождения**

**Нanomатериалы
и
нанотехнологии**

БИОТЕРРОРИЗМ

**Фальсификация
пищевых продуктов**



Контаминанты антропогенного происхождения

Токсичные элементы
Пестициды
Нитрозосоединения
ПАУ
ПХБ
Дибензодиоксины и дибензофураны
Антибиотики
Гормональные препараты
Ветеринарные препараты
Радионуклиды
Вещества, мигрирующие из упаковки и тары

Антиалиментарные факторы

Пищевые вещества в высоких концентрациях

Хром, медь, цинк, железо и т.д.
Витамины А, D
и т.д.

Вещества, образующиеся в процессе технологических приемов приготовления пищи

Нитрозосоединения
ПАУ
Акриламид и др.

Пищевые добавки



Вещества, не присутствующие в пищевых продуктах, но вносимые с целью их фальсификации

меламин, суданы и т.д.

Контаминанты природного происхождения

Бактерии и их токсины
Микроскопические грибы и микотоксины
Растения и фитотоксины
Высшие грибы и их токсины
Одноклеточные водоросли и фикотоксины
Прионы
Вирусы
Простейшие
Токсины животных
Биологически активные вещества

Продукция био- и нанотехнологий:

Генетически модифицированные организмы растительного и животного происхождения

Генетически модифицированные микроорганизмы

Наночастицы и наноматериалы



ФАКТОРЫ, СПОСОБСТВУЮЩИЕ ПОЯВЛЕНИЮ НОВЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ И ВИРУСНЫХ ПАТОГЕНОВ

ФАКТОРЫ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ

- **Климатические изменения (глобальное потепление, засуха)**
- **Истощение плодородных почв**
- **Уничтожение лесных массивов, паводки, наводнения**
- **Изменения гидросистем, строительство дамб, мелиорация**
- **Увеличение численности населения**

ФАКТОРЫ, СВЯЗАННЫЕ С ПИЩЕЙ

- **Глобальные изменения в пищевой индустрии (укрупнение предприятий, создание высокопроизводительных мощностей по переработке животноводческого сырья и т.д.)**
- **Модификации технологических режимов производства**
- **Появление новых видов и способов упаковки**
- **Внедрение новых способов обеззараживания сырья и готовой продукции**
- **Применение антибиотиков в кормопроизводстве, для лечения и профилактики заболеваний животных, птицы, рыбы**
- **Транспортировка пищевой продукции на большие расстояния**
- **Экспорт продукции из стран с низкой санитарной культурой**

ФАКТОРЫ, СПОСОБСТВУЮЩИЕ ПОЯВЛЕНИЮ НОВЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ И ВИРУСНЫХ ПАТОГЕНОВ

МИКРОБНЫЕ ФАКТОРЫ

- **Адаптация патогенов к различным воздействиям (стрессам, антибиотиками и биоцидам).**
- **Горизонтальный трансфер генов вирулентности.**
- **Увеличение степени выявления патогенов при различных заболеваниях за счет совершенствования техники микробиологических и иммунологических исследований, достижений молекулярной биологии и генетического анализа.**

ФАКТОРЫ, СВЯЗАННЫЕ С ПОТРЕБИТЕЛЯМИ

- **Развитие международного туризма**
- **Увеличение числа иммунокомпромиссных групп населения**
- **Изменение структуры питания за счет уменьшения объема пищи, приготовленной в домашних условиях**
- **Недостаточность знаний об основах гигиены приготовления пищи**

ВОЗБУДИТЕЛИ ПИЩЕВЫХ ИНФЕКЦИЙ, ВОЗНИКШИЕ В КОНЦЕ XX века

Возбудители	Заболевания
С измененным генным аппаратом и новыми свойствами:	
Мультирезистентные Salmonella spp.	Сальмонеллез
E.coli O157:H7 (ЕНЕС)	Геморрагический энтероколит, почечная недостаточность
Enterococcus spp., устойчивые к гликопептидным антибиотикам	Септические и воспалительные заболевания
Вновь возникшие в благоприятных для них условиях в пище:	
Listeria monocytogenes	Менингоэнцефалит, аборт
Campylobacter spp.	Гастроэнтерит, артриты
Прионы	Новый вариант болезни Крейтцфельта-Якоба
Yersinia enterocolytica	Иерсиниоз
Vibrio parahaemolyticus	Гастроэнтериты
Enterobacter sakazakii	Некротический энтероколит, сепсис
Clostridium botulinum, психрофильные типы E и A	Ботулизм Ботулизм младенцев

В настоящее время возникает опасность поступления с пищевыми продуктами как известных, так и новых токсикантов:

- **яды белковой природы (рицин, абрин, фламмулин, вольвотокин, лигатоксин А, форатоксин и др.), алкалоиды, гликозиды, биогенные амины,**
 - **органические формы мышьяка и ртути,**
 - **токсины высших растений (грайанотоксин III, энатоксин и др.),**
 - **токсины морепродуктов (йессотоксины, азаспирациды, пектенотоксины, динофизотоксины, пиннатоксины, спиролиды, гимнодимин, гомоанатоксин-а, гониатоксины i-V, адриатотоксин В. Показано, что многие из них являются индукторами апоптоза),**
 - **токсины микробиологического происхождения (около 300 идентифицированных токсинов),**
 - **антибиотики, гормоны и гормоноподобные вещества, применяемые в ветеринарной практике,**
 - **токсические не пищевые вещества, применяемые для фальсификации пищевой продукции.**



В настоящее время возникает опасность поступления с пищевыми продуктами как известных, так и новых токсикантов:

- **токсические вещества различных классов, мигрирующие из упаковочных материалов (бисфенол А, фталаты и др.),**
- **фитогемаглютинины красных бобов, растительные лектины,**
- **биологически активные вещества (агариковая кислота, бета-азарон, гиперин, капсаицин, квассин, кумарин, ментофуран, метилэвгенол, пулегон, сафрол, туйон, синильная кислота, теукрин, эстрагол, берберин, аристохолевая кислота и др.),**
- **технологические вещества, используемые при производстве пищевых добавок и ароматизаторов (анилин, суданы, толуол, анизол и др.),**
- **продукты гидролиза пептидов, а также продукты их реакций с углеводами (2-амино-3,4,8-триметилимидазо [4,5-f] хиноксалин, акриламид, 4-метилимидазол, 2-амино-1-метил-6-фенилимидазол [4,5-b] пиридин, 2-ацетил-4-тетрагидрокси-бутилимидазол и др.)**



ПИРРОЛИЗИДИНОВЫЕ АЛКАЛОИДЫ

Пирролизидиновые алкалоиды (монокротамин, кливорин и др.) – токсины природного происхождения, содержащиеся в растениях вида *Crotalaria*, вызывающие вено-окклюзивную болезнь, обладающие цитотоксическим, генотоксическим, гепатотоксическим, канцерогенным эффектом.

Основным путем поступления являются пищевые продукты, полученные от различных животных (в том числе пчел), в кормах которых находились растения, содержащие пирролизидиновые алкалоиды.

Методы определения и нормативы содержания пирролизидиновых алкалоидов в мире не разработаны.

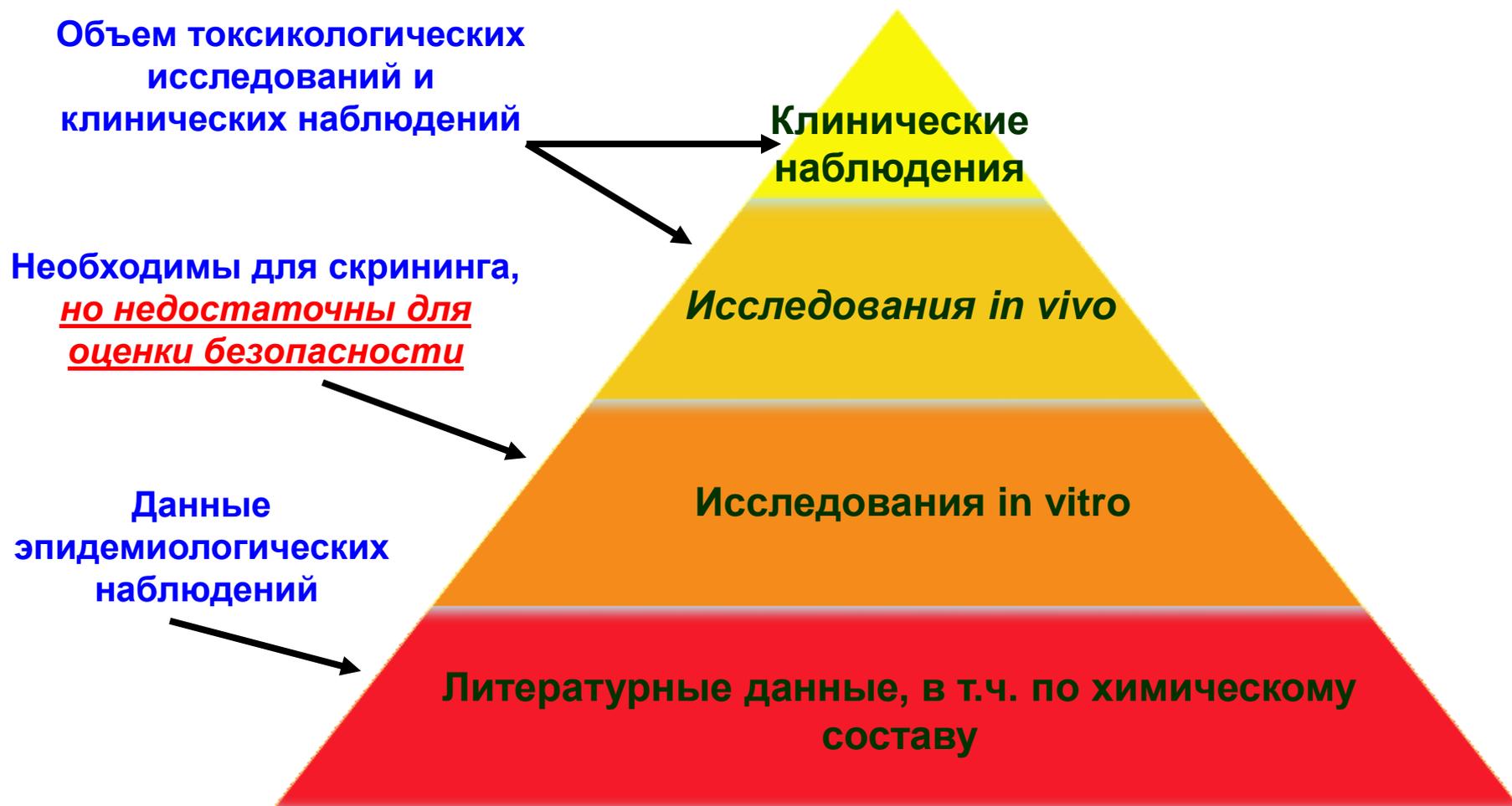
Комиссия Кодекс Алиментариус разработала проект «Свод правил для борьбы с сорняками для предотвращения и сокращения загрязнения пирролизидиновыми алкалоидами пищевых продуктов и кормов» («Code of practice for weed control to prevent and reduce pyrrolizidine alkaloid contamination in food and feed»)



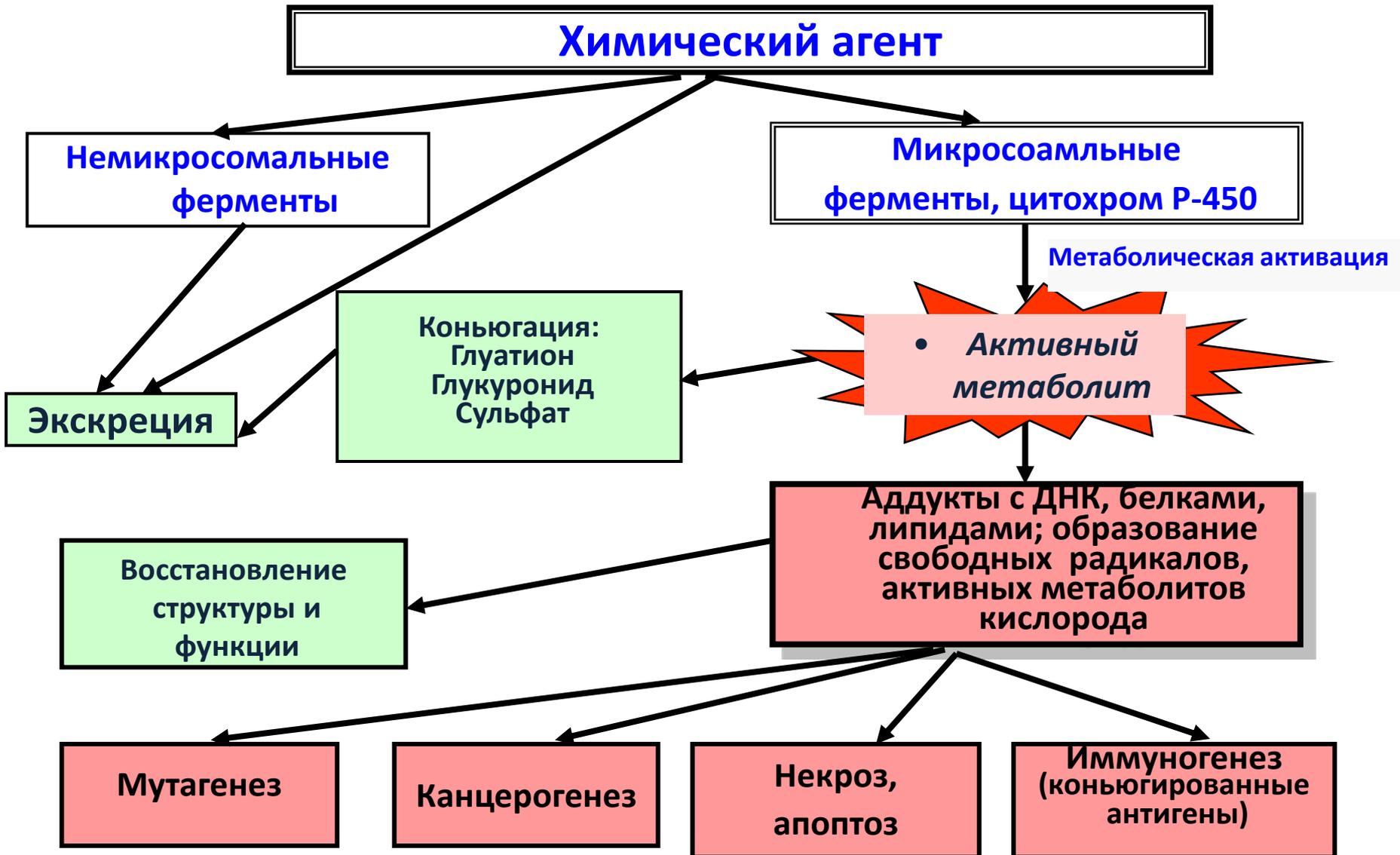
Оценка контаминантов пищевых продуктов



Оценка контаминантов пищевых продуктов



ПРИНЦИПИАЛЬНАЯ СХЕМА МЕТАБОЛИЗМА И БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЧУЖЕРОДНЫХ ВЕЩЕСТВ



СИСТЕМНЫЕ БИОМАРКЕРЫ

1. Система антиоксидантной защиты

Активность ферментов антиоксидантной защиты
(глутатионредуктазы; глутатионпероксидазы; супероксиддисмутазы; каталазы)

Активность процессов перекисного окисления липидов (содержание малонового диальдегида)

2. Система регуляции апоптоза

Стабильность мембран лизосом (общая и неседиментируемая активность ферментов лизосом: β -галактозидазы; β -глюкуронидаза; арилсульфатазы А и В)

3. Активность процессов апоптоза

(методы учета апоптозных клеток)

4. Система ферментов метаболизма ксенобиотиков

Активность ферментов 1-й и 2-й фазы метаболизма ксенобиотиков (7-этоксирезорурфин-О-деэтилазы; 7-пентоксирезорурфин-О-деэтилазы; UDP-глюкуронозилтрансферазы; глутатионтрансферазы; общее содержание цитохрома Р-450)

АКРИЛАМИД - ИСТОРИЯ ВОПРОСА

- **Акриламид (LD_{50} у мышей 170 мг/кг) широко используется в производстве пластмасс и в органическом синтезе.**
- **Акриламид не является естественным компонентом пищевых продуктов, не попадает в пищевые продукты из окружающей среды и не используется в пищевой промышленности.**
- **Поражает преимущественно нервную систему, а также печень и почки, способствует увеличению риска возникновения онкологических заболеваний и др.**
- **В 2002 году официальные органы в Швеции впервые заявили об обнаружении акриламида в пищевых продуктах.**
- **В этом же году другие официальные органы других стран заявили о подтверждении данных шведских ученых**



СОДЕРЖАНИЕ АКРИЛАМИДА В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

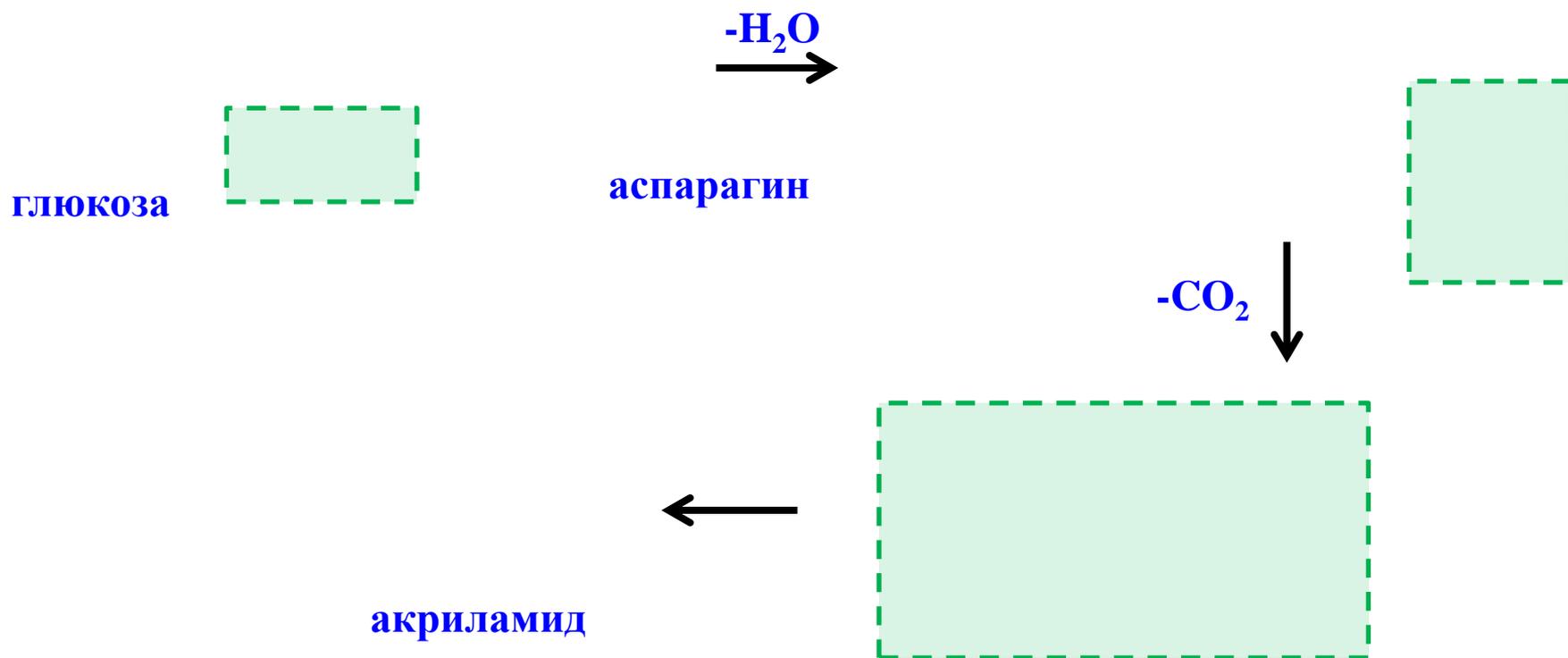
<i>Продукция</i>	<i>Содержание</i>
картофельные хлопья	50-2500 мкг/кг
кукурузные хлопья	100-850 мкг/кг
крекеры	20-600 мкг/кг
жареный картофель	350-450 мкг/кг
жареная кукуруза	100-300 мкг/кг
бисквиты	10-650 мкг/кг
кофе	100-400 мкг/кг
халва	10-230 мкг/кг
шоколад	40-100 мкг/кг

ДСД = 0,2-0,5 мкг/кг массы тела (14-35 мкг/70 кг)

Реальное суточное поступление: в среднем 35-40 мкг/сутки. На долю картофеля и зерновых продуктов приходится в среднем 25 мкг/сутки (на продукты из картофеля – 35%, хлеб – 16%, печенье, вафли, пирожные – 5%, зерновые завтраки – 3%). На остальные продукты – 10-15 мкг в сутки



ВОЗМОЖНЫЙ МЕХАНИЗМ ОБРАЗОВАНИЯ АКРИЛАМИДА ИЗ ГЛЮКОЗЫ И АСПАРАГИНА В ХОДЕ РЕАКЦИИ МАЙЯРА



Необходимые условия реакции: белок, восстанавливающие сахара, температура выше 120°C



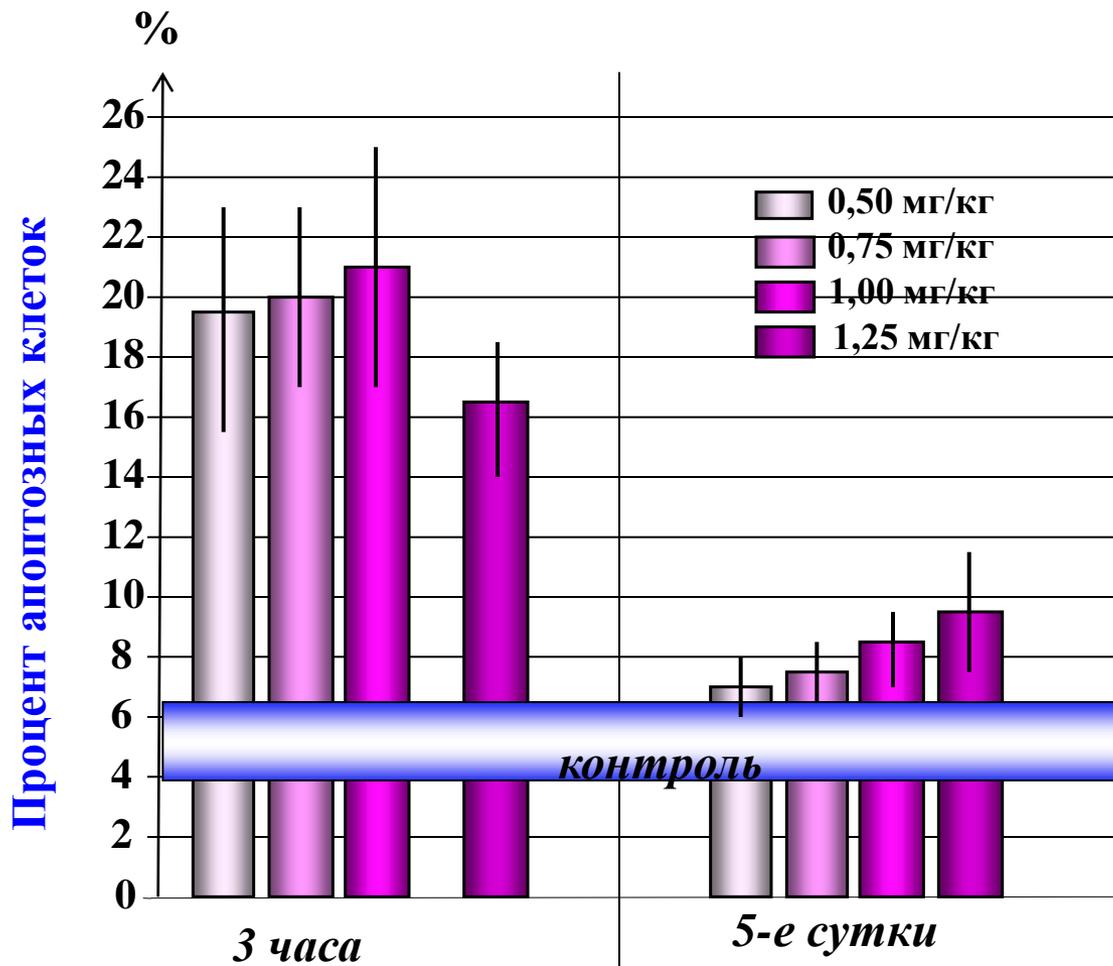
КОНТРОЛЬ ЗА УРОВНЕМ КОНТАМИНАЦИИ МОРЕПРОДУКТОВ ФИКОТОКСИНАМИ

Токсины	Количество проб		Содержание фикотоксинов в контаминированных образцах	ПДК
	Исследовано	содержащих фикотоксины		
PSP	177	142	25,0 – 536,8 МКГ/КГ	800,0 МКГ/КГ
ASP	181	15	0,047 – 1,33 МГ/КГ	20 МГ/КГ
DSP	152	12	33,27 – 657,0 МКГ/КГ	160 МКГ/КГ

Технологическая и кулинарная обработка сырья несколько снижает содержание PSP и ASP токсинов, но не DSP токсинов

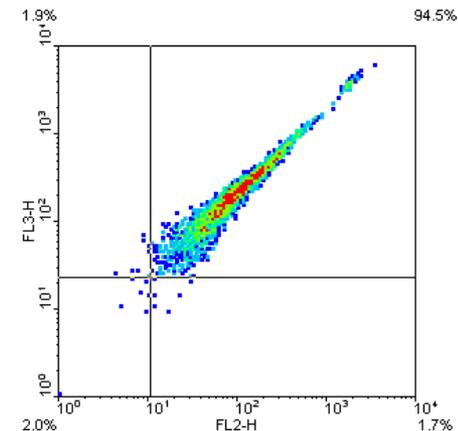


ПРОЦЕНТ КЛЕТОК БЕЛОГО ВЕЩЕСТВА МОЗГА, НАХОДЯЩИХСЯ В АПОПТОЗЕ ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО ВВЕДЕНИЯ ДОМОЕВОЙ КИСЛОТЫ

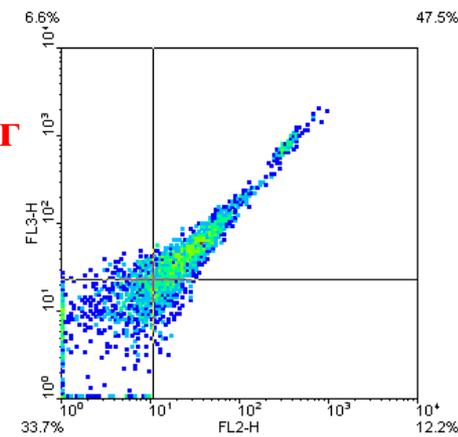


Доза ДК мг/кг массы тела

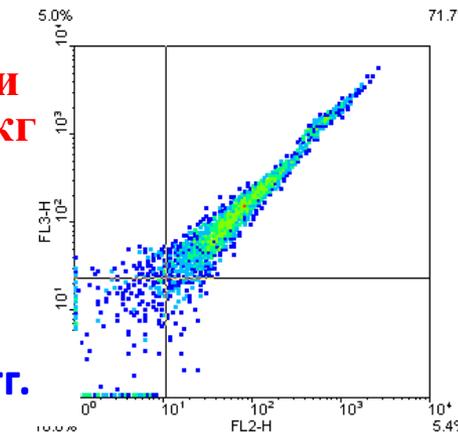
контроль



3 часа
1,25 мг/кг



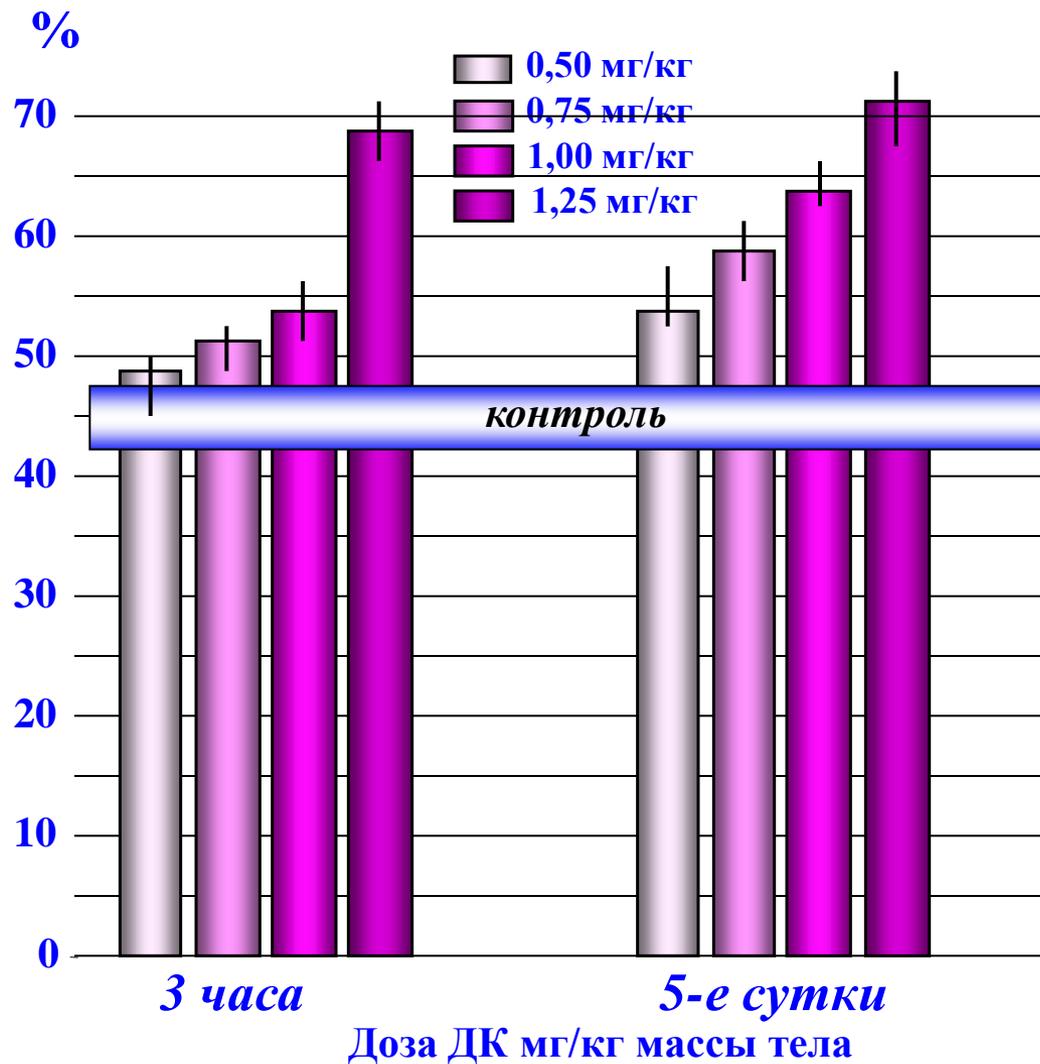
5-е сутки
1,25 мг/кг



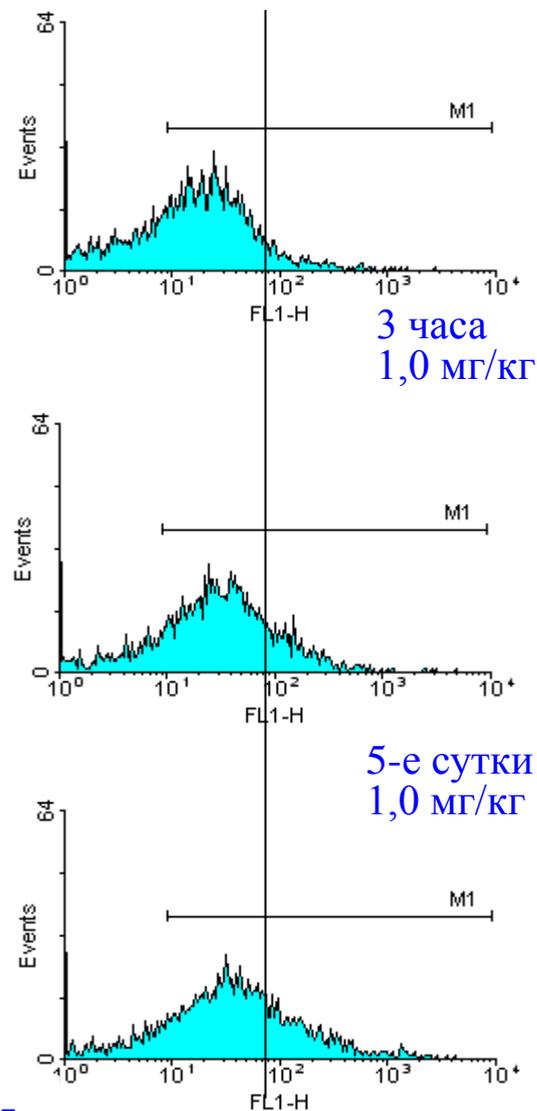
Хотимченко С.А., Мохова Ю.А., Мартынова Е.А., 2006-2008 гг.



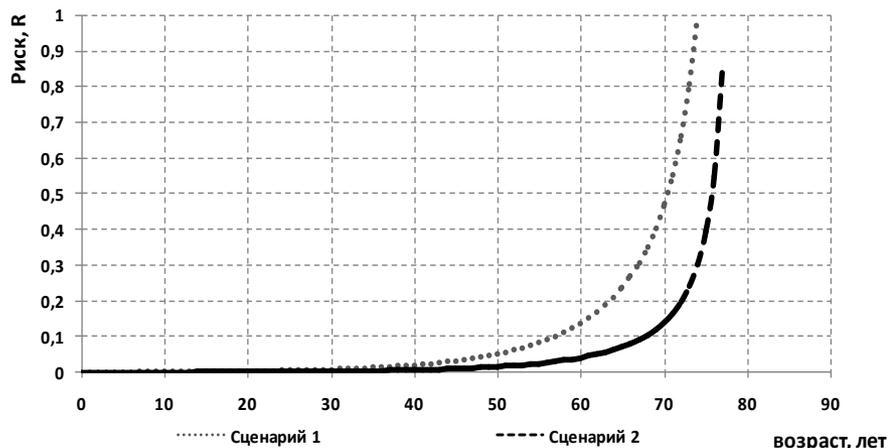
ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРА АПОПТОЗА CD95 НА КЛЕТКАХ БЕЛОГО ВЕЩЕСТВА КРЫС



Контроль CD95

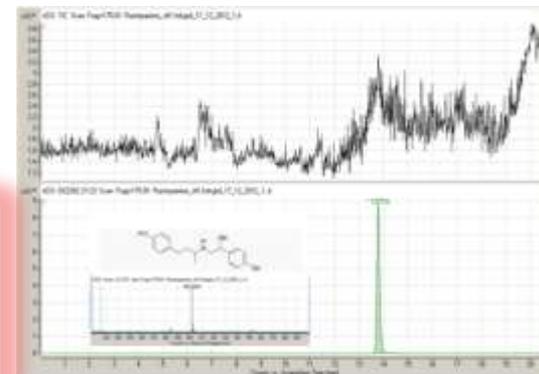


ОЦЕНКА РИСКА ПОСТУПЛЕНИЯ РАКТОПАМИНА: НОВЫЙ ПРИОРИТЕТНЫЙ ЗАГРЯЗНИТЕЛЬ МЯСА И МЯСОПРОДУКТОВ ИМПОРТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ



Приведенный риск нарушений функций сердечно-сосудистой системы

При оценке риска при поступлении рактопамина с пищевыми продуктами на уровне предела количественного определения, приведенный риск нарушения функций сердечно-сосудистой системы составит 0,141, что классифицируется как неприемлемый риск. Этот уровень риска может привести к сокращению прогнозируемой продолжительности жизни за счет дополнительных случаев заболеваний сердечно-сосудистой системы.



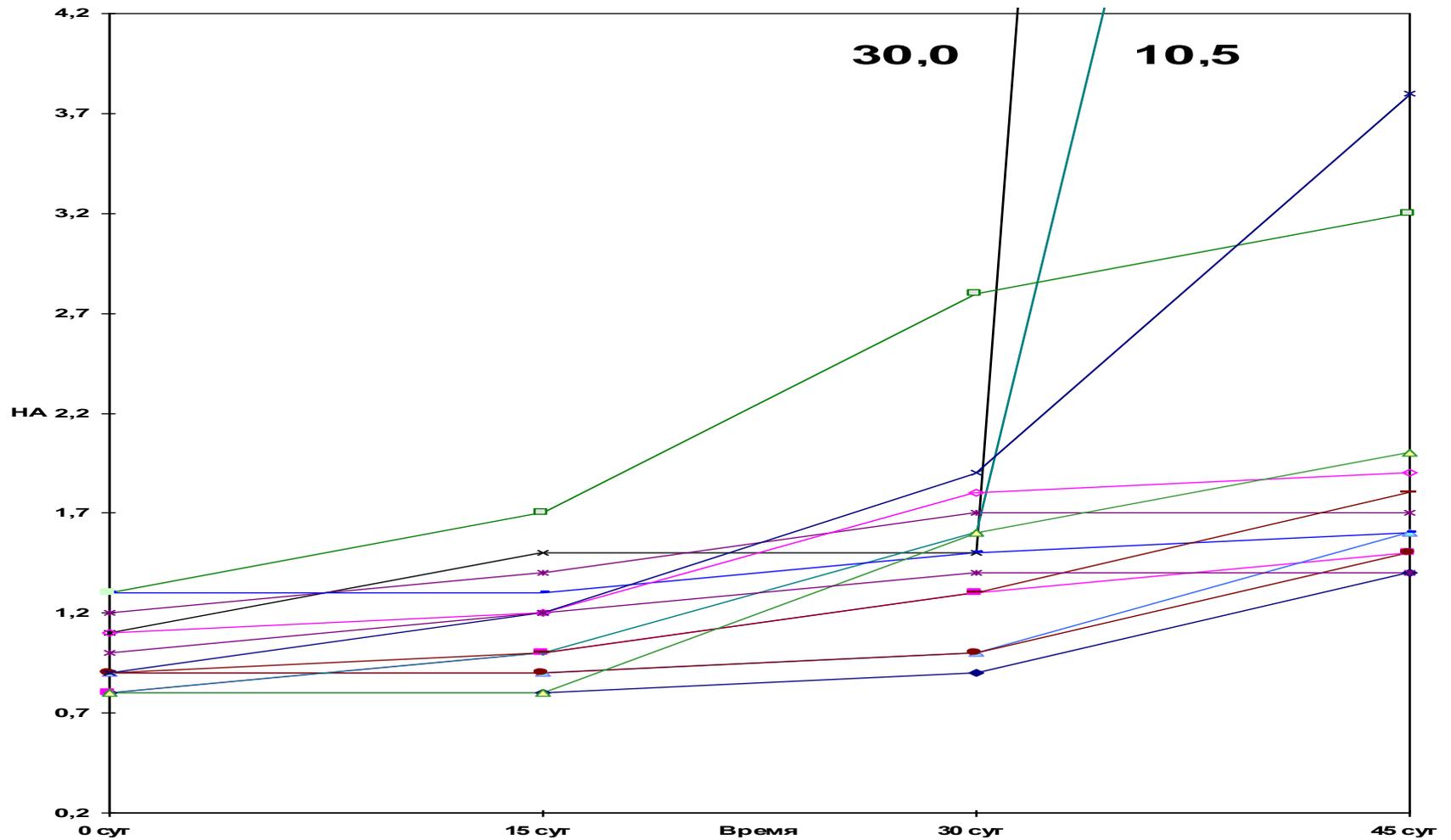
Хромато-масс-спектрометрическое определение рактопамина



ФГБНУ «НИИ питания», ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора, ФБУН «ФНЦ гигиены им.Ф.Ф.Эрисмана» Роспотребнадзора, ФГБНУ «ВНИИ мясной промышленности», 2013



ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ НИТРОЗОАМИНОВ В ВЕТЧИННЫХ ИЗДЕЛИЯХ



ПРИЧИНЫ РИСКОВ, СВЯЗАННЫХ С ПРИМЕНЕНИЕМ НАНОТЕХНОЛОГИЙ И НАНОМАТЕРИАЛОВ

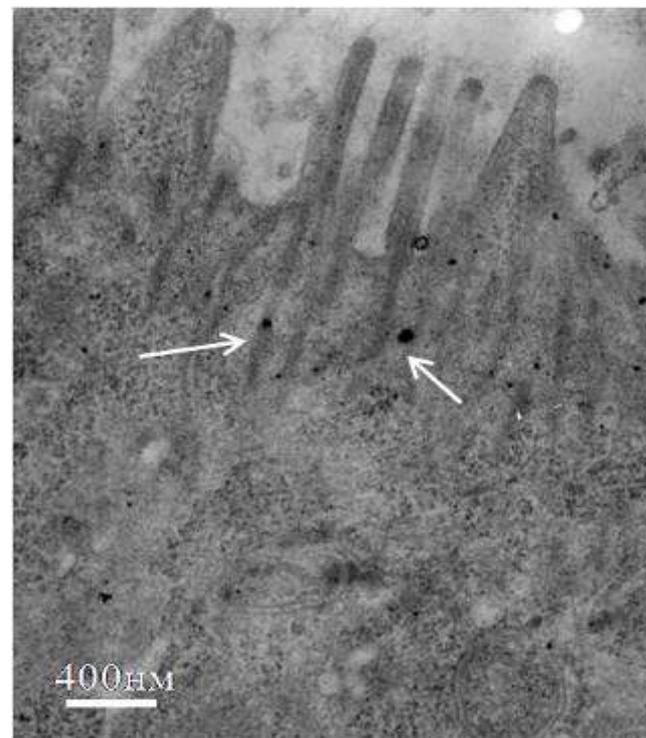


- **НЕБОЛЬШОЙ РАЗМЕР НАНОЧАСТИЦ** (способны легко проникать через барьеры организма и накапливаться во внутренней среде)
- **БОЛЬШАЯ УДЕЛЬНАЯ ПОВЕРХНОСТЬ НАНОМАТЕРИАЛОВ** (повышение растворимости и реакционной способности)
- **УСТОЙЧИВОСТЬ НАНОЧАСТИЦ К МЕТАБОЛИЗМУ И БИОДЕГРАДАЦИИ**
- **ОБЛЕГЧЕНИЕ ПРОНИКНОВЕНИЯ ТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В ОРГАНИЗМ** (эффект «Троянского коня»)
- **НАКОПЛЕНИЕ В ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ, ПЕРЕДАЧА ПО ТРОФИЧЕСКИМ ЦЕПЯМ В БИОСФЕРЕ**



Наночастицы TiO_2 (25-30 нм, агрегаты наночастиц) на продольном срезе микроворсинок эпителиоцита Пейеровой бляшки тонкой кишки (фиксация-глутаровый альдегид+ OsO_4 + двойное окрашивание)

Электронно-микроскопические изображения тканей слизистой оболочки тонкой кишки крысы с наночастицами Ag (фиксация глутаровый альдегид + OsO_4 + двойное контрастирование)



© Придворова С.М., Дзантиев Б.Б., Жердев А.В. (2011)

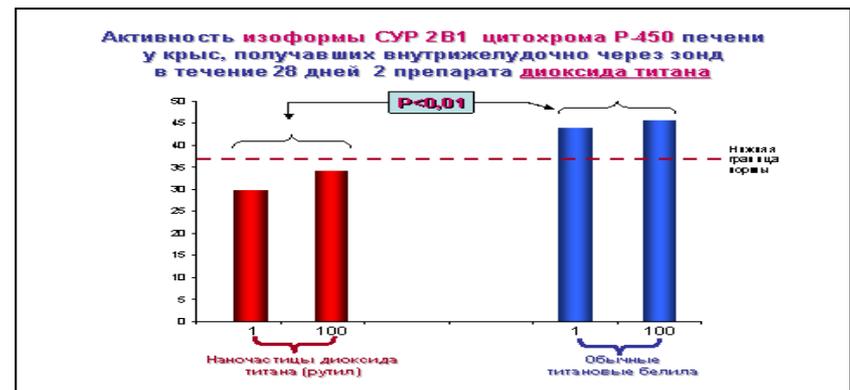
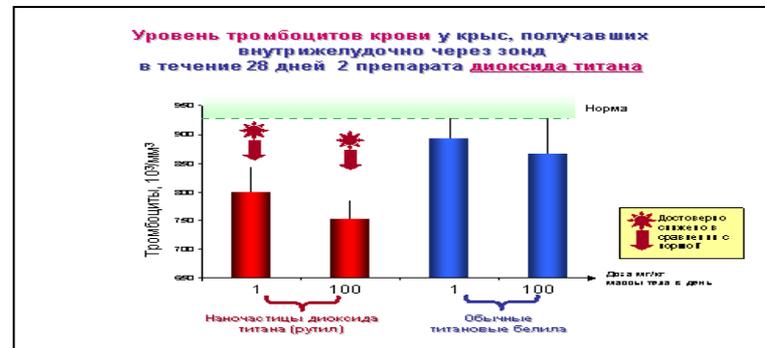
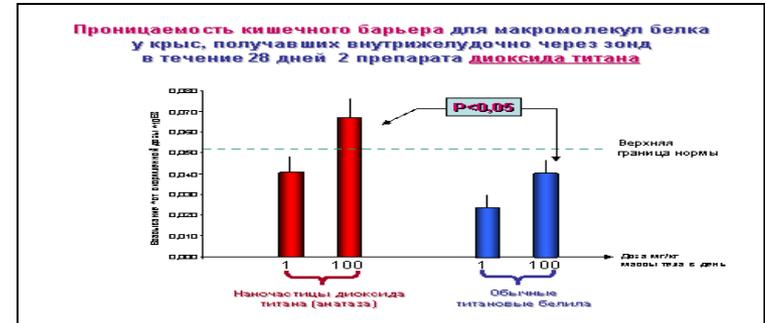
РЕЗУЛЬТАТЫ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ НАНОЧАСЦИЙ ДИОКСИДА ТИТАНА

- Острая токсичность: $LD_{50} > 5000$ мг/кг В экспериментах по пероральному введению крысам в течение 28 дней наночастиц диоксида титана в кристаллических модификациях рутила и анатаза в дозах 1-100 мг/кг/сутки отмечался комплекс сдвигов, многие из которых могут быть интерпретированы как неблагоприятные, то есть имеет место, по-видимому, токсическое действие.



Экспрессия изоформы Ми 2 глутатион-S-трансферазы в микросомах печени крыс при воздействии наночастиц диоксида титана

Тананова О.Н., Арианова Е.А., Гмошинский И.В., Аксенов И.В., Згода В.Г., Хотимченко С.А., 2012

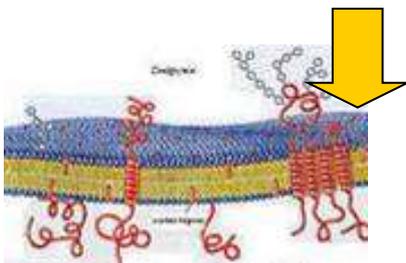


ВОЗДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА КРЕМНИЯ НА ПРОТЕОМ ПЕЧЕНИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА КРЫСАХ

Белок GRP78-
мишень
воздействия
НЧ SiO₂

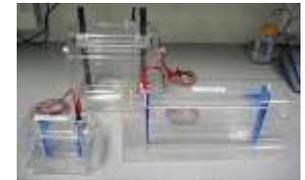
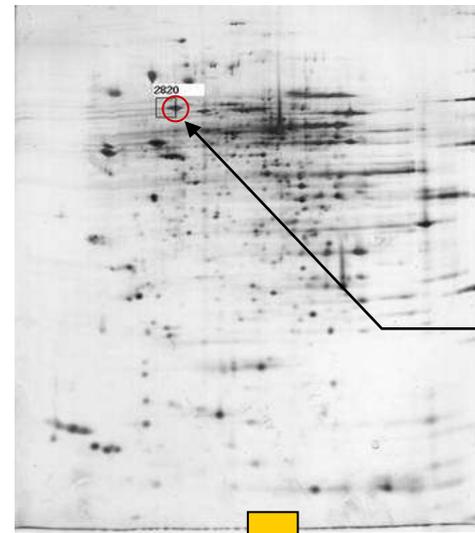


Функция: белок теплового шока,
молекулярный шаперон, обеспечивающий
нормальное свёртывание третичной структуры
мембранно-связанных белков и формирование
мультимерных белковых комплексов



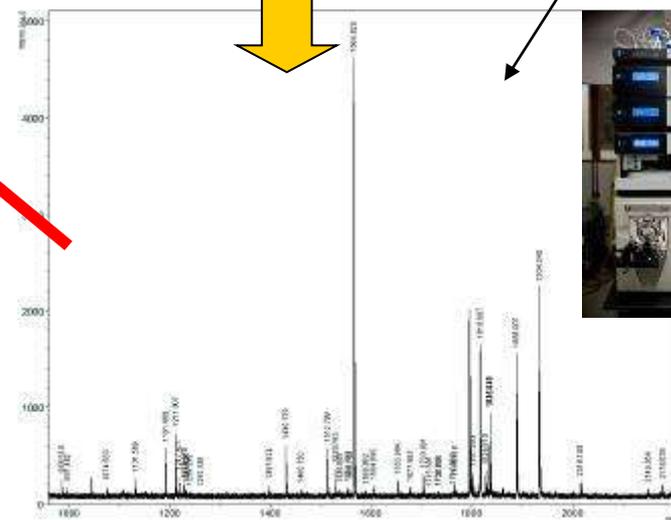
Следствия: нарушение
структуры и функции
мембранно-связанных
белков

Идентификация белка, экспрессия которого
подавляется под действием НЧ

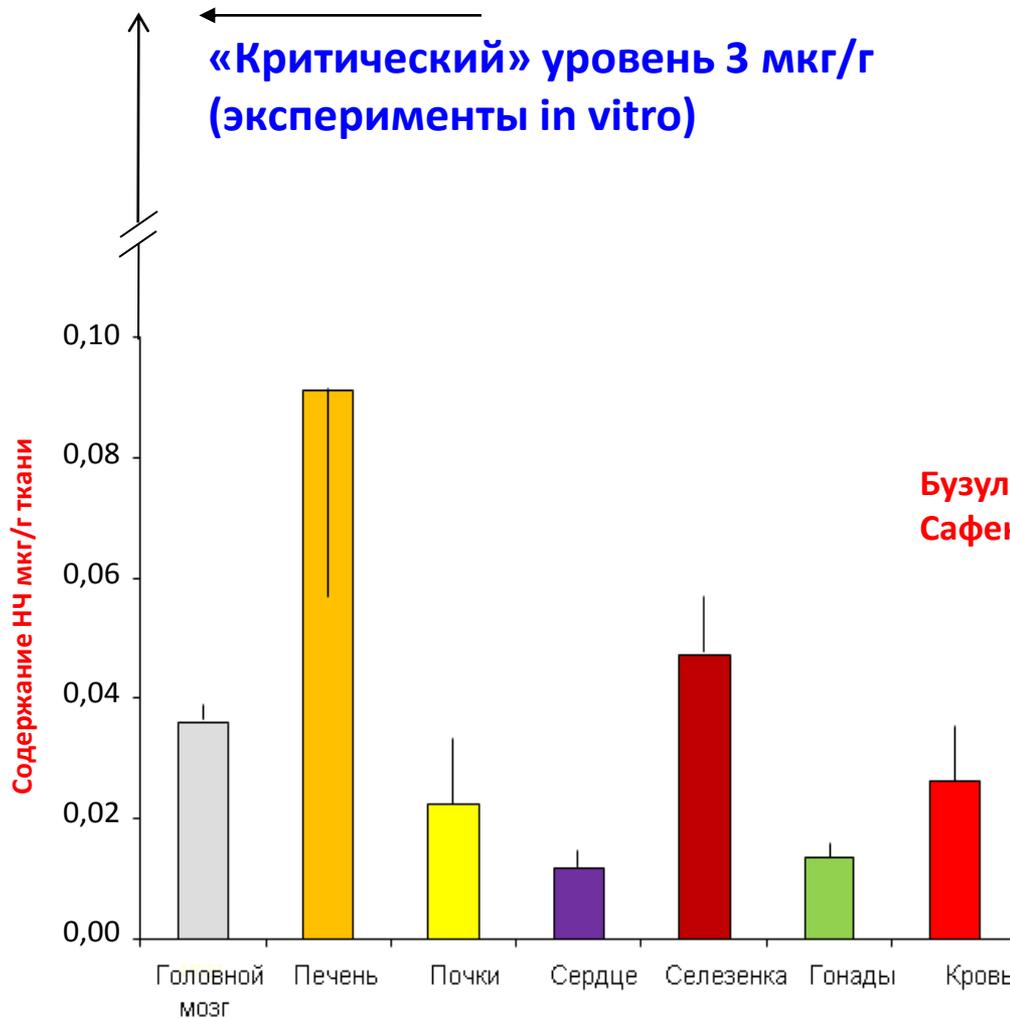


Положение на 2D-
электрофореграмме

Идентификация по
масс-спектру
пептидных
фрагментов



Оценка бионакопления наночастиц серебра в 28-дневном подостром эксперименте (по данным нейтронно-активационного анализа)

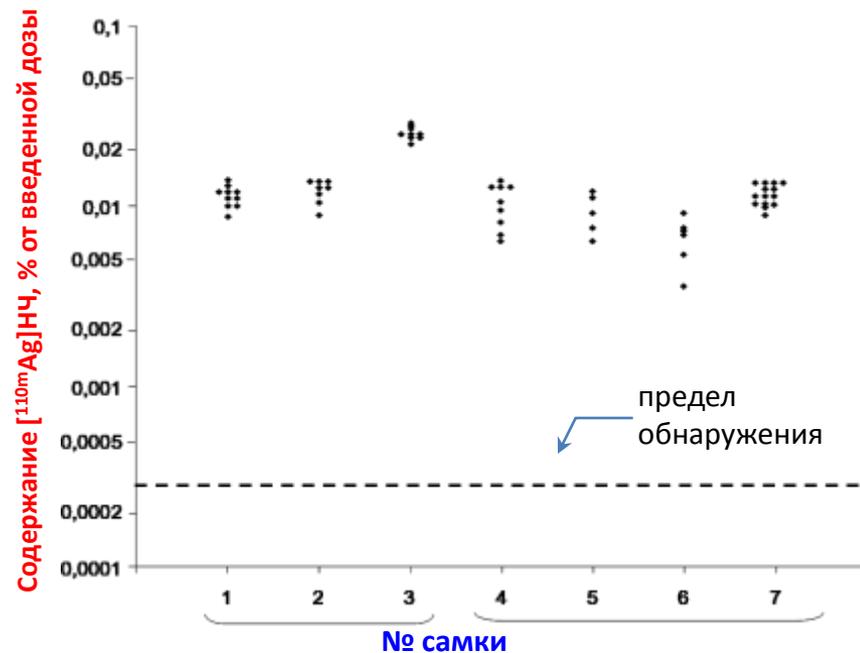


Бузулуков Ю.П., Арианова Е.А., Демин В.Ф.,
Сафенкова И.В., Гмошинский И.В., Тутьян В.А., 2014

Количественная оценка поступления наночастиц серебра из организма матери к потомству через плацентарный барьер и грудное молоко в эксперименте с использованием $[^{110m}\text{Ag}]$ -меченных наночастиц

№ кормящей самки	Число крысят	Среднее содержание, $M \pm m$	
		% от введенной дозы	нг/г массы тела
1	9	0.136 ± 0.004	31.9 ± 1.0
2	9	0.302 ± 0.022	62.5 ± 5.2
3	9	0.272 ± 0.009	68.5 ± 3.2
4	9	0.150 ± 0.004	33.3 ± 0.9
5	9	0.220 ± 0.007	52.9 ± 1.7

Среднее содержание НЧ серебра в организме 10-дневных крысят, вскармливаемых материнским молоком



Индивидуальные значения содержания $[^{110m}\text{Ag}]$ -НЧ серебра в плодах от 7 беременных самок крыс.

**ВПЕРВЫЕ В ПРАКТИКЕ МИРОВОЙ НАНОТОКСИКОЛОГИИ В
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ ДОКАЗАНА ВОЗМОЖНОСТЬ
ПОСТУПЛЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА ИЗ ОРГАНИЗМА
МАТЕРИ К ПОТОМСТВУ ЧЕРЕЗ ПЛАЦЕНТАРНЫЙ БАРЬЕР И
ГРУДНОЕ МОЛОКО**



- ❖ Наночастицы серебра средним размером 35 нм метили радиоизотопом ^{110m}Ag путем облучения тепловыми нейтронами в ядерном реакторе.
- ❖ Препараты радиоизотопно меченных наночастиц вводили внутривенно через зонд беременным (20-й день беременности) или кормящим (14 - 16-й дни лактации) самкам крыс в дозе 2 мг/кг массы тела. Содержание наночастиц в органах и тканях плодов и детенышей, получающих материнское молоко, определяли методом низкофоновой γ -спектрометрии.
- ❖ **Во всех случаях обнаружено проникновение меченых наночастиц через плаценту и в материнское молоко** в количествах, в 100-1000 раз превышающих чувствительность использованного аналитического метода. Средний уровень накопления НЧ в плодах составлял 0.085-0.147% от введенной дозы. Суммарное поступление ^{110m}Ag -НЧ в молоко составляло не менее $1.94 \pm 0.29\%$ от введенной дозы за 48 часов лактации; не менее 25% этого количества всасывалось в пищеварительном тракте крысят.

**Мельник Е.А., Бузулуков Ю.П., Демин В.Ф., Гмошинский И.В., Тышко Н.В., Тутьян В.А., 2013
(НИИ питания, НИЦ «Курчатовский институт»)**





Благодарим за
внимание!