

Методичні вказівки до лабораторних робіт з дисципліни «Токсикологічна хімія»

У підготовці бакалаврів за освітньою програмою (вибірковим блоком) «Хімічні технології харчових добавок і косметичних засобів» навчальна дисципліна «Токсикологічна хімія» є однією із базових дисциплін, мета якої полягає в наданні майбутнім бакалаврам теоретичних і практичних знань з токсикології та токсикологічної хімії як в галузі харчових продуктів та харчових добавок, так і галузі косметичних засобів.

Для досягнення поставленої мети студенту необхідно ознайомитись з теоретичними основами токсикологічної хімії: поняттям токсикантів, їх метаболізації в організмі, загальноживаними токсикологічного рівня вмісту добавок та домішок, токсикології харчових продуктів, домішок, харчових добавок та методами визначення вмісту токсикантів в продуктах харчування та косметичних засобах. Такі знання дозволять майбутньому професіоналу кваліфіковано організувати і проводити виробництво та використання харчових добавок та косметичних засобів, а також методів контролю рівня домішок та добавок.

Лабораторна робота №1

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ НІТРИТ-ІОНІВ В М'ЯСНИХ ПРОДУКТАХ ХАРЧУВАННЯ

1.1 Теоретичні відомості

Нітрати, нітрити та нітросоаміни - основні нітрогеновмісні шкідливі речовини в харчових продуктах. Нітрати - це солі нітратної кислоти (HNO_3), які є нормальним продуктом метаболізму нітрогеновмісних речовин в організмі будь-якої живої істоти. Так, в організмі людини за добу утворюється та використовується в обмінних процесах понад 100 мг нітратів. Самі нітрати не токсичні, їх потенційна токсичність зумовлена тим, що в певних умовах та кількостях нітрати у травному тракті частково відновлюються до нітритів — солей нітритної кислоти (HNO_2), які шкідливо впливають на стан здоров'я людини. Механізм токсичної дії нітритів на організм полягає у їх взаємодії з гемоглобіном крові, з утворенням метгемоглобіну, який не здатний зв'язувати і переносити кисень. Один міліграм нітриту натрію (NaNO_2) може перетворити на метгемоглобін близько 2000 мг гемоглобіну. Внаслідок дії нітритів на гемоглобін крові двовалентне залізо (Fe^{2+}) гемоглобіну перетворюється на тривалентне (Fe^{3+}). При цьому гемоглобін трансформується в метгемоглобін, який має темно-коричневе забарвлення. При нормальному вмісті в харчових продуктах нітритів в організмі утворюється близько 2 % метгемоглобіну, який під дією ферментів червоних кров'яних тілець (еритроцитів) дорослої людини перетворюється знову на гемоглобін. Діти віком від 2-х місяців до 1 року мають ферментну систему, яка не здатна «боротися» з нітритами. Систематичний вплив нітритів на організм

людини зменшує в організмі кількість вітамінів А, В, С, В і В₆. Це понижує його імунітет — стійкість до дії різних негативних факторів, зокрема й онкогенних. Встановлено, що причину випадкового, на перший погляд, захворювання на рак, особливо у молодому віці, необхідно шукати у відхиленнях у харчуванні (токсичності харчування), яких допускали в період вагітності та вигодовування немовлят.

Нітрити дозволені до використання в якості харчових добавок — антиокислювачів та стабілізаторів кольору при виробництві м'ясних продуктів, особливо варено-копчених та сиров'ялених ковбас та м'яса, а також копченої риби. Згідно Санітарних правил і норм по застосуванню харчових добавок залишковий вміст нітритів в м'ясних та рибних продуктах повинно складати не більше 50 мг/кг продукту в перерахунку на натрій нітрит.

1.2 Сутність методу визначення нітритів

Метод базується на взаємодії солей нітритної кислоти з реактивом Грісса (сумістю α -нафтиламіну та сульфанілової кислоти) в присутності оцтової кислоти з утворенням сполуки червоного кольору та фотометричному визначенні світлопоглинання при довжині хвилі (540 ± 2) нм. Метод Грісса може бути застосований лише для м'яса, м'ясних та м'ясомістких продуктів (ковбасних виробів, продуктів із м'яса, напівфабрикатів, кулінарних виробів, консервів), м'яса птиці та рибних виробів.

Лабораторна робота № 2

ВИЗНАЧЕННЯ ІОНІВ ПЛЮМБУМУ В М'ЯСІ ТА М'ЯСНИХ ВИРОБАХ ОПТИЧНИМ МЕТОДОМ

2.1 Теоретичні відомості

Унаслідок газових викидів автомобільного транспорту, підприємств хімічної та металургічної промисловості важкі метали забруднюють атмосферу, ґрунт, воду, звідки потрапляють в організм людей і тварин.

Плюмбум, який може міститися в тканинах забійних тварин, є небезпечним для здоров'я людини через високу токсичність і кумулятивність. Гранично допустима концентрація плюмбуму в м'ясі та м'ясних výroбах становить 0,5 мг/кг.

1.2 Сутність методу визначення плюмбуму

Визначення плюмбуму ґрунтується на одержанні сульфату плюмбуму, розчиненням його в ацетаті амонію і подальшої взаємодії з хроматом калію, яка супроводжується утворенням малорозчинного хромату плюмбуму. Світлопоглинання отриманої суспензії вимірюється за допомогою фотокалориметру відносно контрольного розчину при $\lambda = 490$ нм. Із

використанням стандартного розчину п्लомбуму ьудується калібрувальний графік. Пробу м'ясного пролукту озолують із концентрованою сірчаною кислотою та готують суспензію, вимірюють її світлопропускання та за калібрувальним графіком визначають вміст п्लомбуму.

Лабораторна робота №3

ВИЗНАЧЕННЯ МАСОВОЇ ЧАСТКИ КОФЕЇНУ У КАВІ ФОТОМЕТРИЧНИМ МЕТОДОМ

1.1 Теоретичні відомості

Кофеїн — алкалоїд рослинного походження, міститься в деяких рослинах, найвідоміші з яких кавове дерево, чай, какао. Мате та гуарана як джерела кофеїну використовуються рідше, в основному для приготування чаю і, останнім часом, енергетичних напоїв. Альтернативні назви кофеїну — матеїн і гуаранін — походять від назв цих двох рослин відповідно. Головні джерела кофеїну для сучасної людини — це чай, кава і шоколад. У своєму науковому дослідженні безпеки кофеїну в 2015 році Європейський орган з безпеки харчових продуктів (EFSA) виявив, що сумарна кількість кофеїну, яку вживають діти та підлітки з енергетичних напоїв, незначна. На сьогоднішній день найбільше кофеїну споживається з інших джерел: кави, чаю, шоколаду і коли. І це стосується людей будь-якого віку.

Вміст кофеїну в каві може бути дуже різним залежно від сорту кавових бобів і методу приготування, але в середньому одна порція кави (30 мл) містить від 40 мг кофеїну для еспресо з арабіки до 100 мг для міцної кави. Загалом, добре просмажена кава містить менше кофеїну, ніж слабо просмажена. Сорт кави Арабіка зазвичай містить менше кофеїну, ніж сорт Робуста. У каві також міститься невелика кількість теофіліну і немає зовсім теоброміну.

У багатьох культурах використовують як джерело кофеїну чай. Чай зазвичай містить приблизно вдвічі менше кофеїну ніж кава, залежно від міцності напою. Деякі сорти чаю, наприклад чорний, містять трохи більше кофеїну, ніж інші сорти. У чаї також міститься невелика кількість теоброміну і дещо більше теофіліну, ніж у каві.

Кофеїн також є інгредієнтом безалкогольних напоїв, таких, як кола, що виготовляється із горіхів кола. Безалкогольні напої зазвичай містять від 10 до 50 мг кофеїну на порцію. На відміну від них, енергетичні напої містять близько 80 мг кофеїну на порцію. Гуарана, основний складник енергетичних напоїв, має високий вміст кофеїну та низький теоброміну й теофіліну.

Шоколад, який виготовляють з какао, є слабким стимулятором, переважно завдяки вмісту в ньому теоброміну і теофіліну, хоча він також містить невелику кількість кофеїну. Однак вміст цих речовин у шоколаді надто малий для ефекту, який можна порівняти із дією кави на організм людини. Плитка молочного шоколаду вагою 28 г містить приблизно стільки кофеїну, скільки чашка декофеїнізованої кави.

Кофеїн є стимулятором центральної нервової системи. Дослідження свідчать, що кофеїн підсилює процеси збудження в корі головного мозку, у відповідних дозах він підсилює позитивні умовні рефлексії і підвищує рухову активність. Стимулююча дія підвищує розумову та фізичну працездатність, зменшує втому та сонливість. Великі дози, щоправда, можуть призводити до виснаження нервових клітин. У дозуванні кофеїну треба враховувати індивідуальні особливості нервової системи. Кофеїн послаблює дію снодійних і наркотичних речовин, підвищує рефлекторну збудливість спинного мозку. Серцева діяльність під дією кофеїну посилюється, серцеві скорочення стають більш інтенсивними та частішими. У колаптоїдних і шоківих станах артеріальний тиск під дією кофеїну підвищується, однак у разі нормального артеріального тиску суттєвих змін не відбувається, оскільки водночас зі збудженням судинного центру і серця розширюються також судини скелетних м'язів та інших органів тіла (мозку, серця, нирок) (щоправда судини органів черевної порожнини звужуються). Під дією кофеїну підсилюється секреторна діяльність шлунку. Кофеїн застосовують у випадку отруєння наркотиками.

Якщо кофеїн є відносно безпечним для людей, то для деяких тварин — собак, коней, папуг — через набагато слабшу здатність до метаболізму кофеїну ця речовина значно токсичніша.

Одне з останніх наукових підтверджень про позитивний вплив кофеїну на центральну нервову систему опубліковано в журналі *Nature Scientific Reports*. Учені зосередилися на феномені «загальної втоми центральної нервової системи», коли після фізичних навантажень відбувається розбалансування кількості молекул-месенджерів всередині організму і це призводить до того, що ЦНС не здатна ефективно передавати команди на скорочення м'язів. Досі не було зрозуміло, як це впливає на м'язи, які не задіяні безпосередньо при фізичних навантаженнях, наприклад, на очні. І за допомогою сучасних ІТ-технологій, що дозволяють відслідковувати рухи очних яблук (так званий *eye-tracking*), вчені дослідили, що в середньому швидкість руху очних яблук знижується на 8% після тренування, що перешкоджає засвоєнню нової візуальної інформації. Провели експеримент: при включенні червоного або зеленого сигналу очі випробуваного повинні переміститися з центру вліво або вправо. Швидкість такого переміщення відстежувалася за допомогою *eye-tracking* пристрою. І таким чином доведено, що порція кофеїну, еквівалентна двом чашкам еспресо, здатна повністю усунути ефект загальної втоми ЦНС і навіть мінімально прискорити реакцію.

Згідно зі статистикою споживання продуктів харчування, кофеїн вживають усі групи населення, серед яких і діти, і вагітні, оскільки вони вживають чай, каву, шоколад. Какао, чай і кава входять також в рекомендовані дієти для школярів, дошкільнят, вагітних і годуючих грудьми.

Кофеїн повністю всмоктується в шлунку та тонкій кишці через 45 хвилин після вживання. Період напів-виведення кофеїну з організму становить від 3,5 до 6 годин. Кофеїн легко розповсюджується в організмі. Тривале вживання спричиняє звикання. У разі відмови від постійного вживання організм стає

надчутливим до аденозину, що спричиняє раптове підвищення кров'яного тиску.

Кофеїн розкладається в печінці на три диметилксантинові речовини, кожна з яких має свій вплив на організм:

- Параксантин (84 %) — має ефект посилення розщеплення жирів.
- Теобромін (12 %) — розширює судини і підвищує кількість сечі. Теобромін міститься в какао, відповідно і в шоколаді.
- Теофілін (4 %) — розслаблює гладкі м'язи в бронхах, через що його використовують у лікуванні астми. Щоправда, терапевтична доза теофіліну в декілька разів вища, ніж отримується внаслідок метаболізму кофеїну.

Кожна з цих речовин далі розкладається й виводиться з організму разом із сечею.

Молекула кофеїну структурно подібна до молекули аденозину і може зв'язуватися зі специфічними аденозиновими рецепторами мозку. Аденозин зменшує процеси збудження в мозку, відповідно заміщення його кофеїном здійснює стимулюючий ефект. У випадку тривалого вживання кофеїну можливе утворення в клітинах мозку нових аденозинових рецепторів, внаслідок чого дія кофеїну послаблюється. Водночас, у разі раптового припинення вживання кофеїну аденозин займає всі доступні рецептори, що може спричинити підсилення гальмування з явищами втоми, сонливості, нудоти, депресії тощо. Ці симптоми проявляються через 12—24 години після припинення вживання кофеїну і можуть тривати від одного до п'яти днів. У такому випадку анальгетики, наприклад, аспірин, можуть полегшувати головний біль, так само як невеликі дози кофеїну.

При пероральному вживанні кофеїн швидко і повністю засвоюється організмом людини. Стимулюючі ефекти можуть починатися з 15 до 30 хвилини після вживання і тривати кілька годин. У дорослих період напіврозпаду кофеїну — час, необхідний організму для усунення 50 % кофеїну — широко варіюється в залежності від таких факторів, як вік, вага тіла, статус вагітності, приймання ліків і стан здоров'я. У здорових дорослих середній період напіврозпаду становить приблизно чотири години, з діапазоном від двох до восьми годин^[4].

Наукове співтовариство вивело кількість кофеїну на добу, яка не викликає занепокоєння і є безпечною. Це 400 мг на добу. Головні джерела кофеїну — це чай, кава і шоколад. Їх внесок — 85—95 %. Внесок, наприклад, енергетичних напоїв, згідно зі статистикою, не перевищує 2 %. В одній банці БЕН міститься 70—90 мг кофеїну, що становить менше чверті безпечної кількості 400 мг.

Ґрунтуючись на останніх рекомендаціях EFSA, вважаються безпечними щоденні надходження кофеїну в дозі 400 мг для дорослих і 3 мг/кг маси тіла для підлітків

1.2 Сутність методу визначення кофеїну

Метод ґрунтується на гідролітичному окисненні кофеїну до тетраметиленазоксантину, перетворенні його на тетраметилпурпурову кислоту (мурексидна проба) і наступному фотометричному вимірюванні світлопропускання забарвлення її розчину при довжині хвилі 525-540 нм відносно оптичної густини дистильованої води. Метод коректний за вмісту кофеїну в розчині від 10 мкг/мл до 30 мкг/мл. Ця реакція характерна для усіх пуринових кислот. Для визначення вмісту кофеїну попередньо знімається калібрувальний графік. При визначенні вмісту кофеїну в зназках кави проводять хлороформну екстракцію кофеїну, при цьому теобромін та теофілін не екстрагуються