

УДК 664.788: 57.084.1

*ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОСТЕЙШИХ РОДА PARAMETIUM
В ГИГИЕНИЧЕСКИХ ЭКСПЕРИМЕНТАХ ПО ИССЛЕДОВАНИЮ
ПРОДОВОЛЬСТВЕННОГО СЫРЬЯ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ*

**А.В. ГРЕБЕНЩИКОВ¹, И.М. ЖАРКОВА¹, Ю.И. СЛЕПОКУРОВА¹,
Д.П. ЕФРЕМОВ²**

¹ Воронежский государственный университет инженерных технологий,
394036, Российская Федерация, г. Воронеж, пр-т Революции, 19,
электронная почта: serafim10@yandex.ru

² ООО «АгроЛён»,
658055, Российская Федерация, Алтайский край, с. Журавлиха, ул. Советская, 5,
электронная почта: smkaltai@mail.ru

В статье приведены результаты исследования на тест-организмах *Parametium caudatum* модельных объектов (соевый белок, пшеничные отруби, α -токоферола ацетат, лактат кальция, рафинированное масло подсолнечника). Показано, что введение их в среду в концентрациях 1:1000, 1:10000 и 1:100000 стимулировало рост сопротивляемости модельного организма по отношению к стрессирующему фактору. Установлено, что мука из клубней чумы оказывает благоприятное воздействие на живой организм; морковный порошок, полученный дезинтеграционно-кондуктивным способом, обладает более высокой биологической эффективностью, чем порошки полученные конвективной или ИК-сушкой. Приведены результаты исследования влияния параметров водной экстракции при температуре 40°C полисахаридов слизи из семян льна (гидромодуль 1:10 и 1:15, продолжительность от 30 до 120 мин) на степень извлечения целевого продукта и биологическую эффективность экстрактов. У полисахаридного комплекса слизи из семян льна выявлена высокая метаболическая активность, способствующая возрастанию стойкости клеточной мембраны к стресс-факторам. Анализ полученных результатов позволяет сделать заключение о возможности, целесообразности и эффективности использования тест-организмов *Parametium caudatum* для разноплановых гигиенических исследований продовольственного сырья и пищевых продуктов.

Ключевые слова: тест-организм, биологическая эффективность, безопасность, чума, порошок моркови, полисахариды семян льна

Повышение качества выпускаемой продукции – приоритетная задача предприятий пищевой промышленности. Наряду с органолептическими и физико-химическими показателями качества пищевых продуктов важнейшими характеристиками служат показатели безопасности и биологической эффективности. О двух последних группах показателей можно судить на основе данных, получаемых с помощью современных методов химического анализа либо в эксперименте *in vivo*. Причем именно исследования *in vivo* дают возможность оценить влияние на живой организм не только индивидуального

вещества в чистом виде, но и комплексное воздействие целых комбинаций, что предпочтительно, поскольку пищевые продукты представляют, как правило, многокомпонентные системы.

Применение в качестве тест-организма инфузорий, в частности *Paramecium caudatum*, обладает рядом преимуществ по сравнению с лабораторными животными (мыши, крысы): соблюдение современных требований биоэтики; сокращенное время, простота проведения, небольшие издержки при осуществлении эксперимента; стабильная высокая чувствительность к различным стресс-факторам окружающей; возможность не только получения биологического эффекта но и его визуального контроля увеличивающего объективность метода. Возможность экстраполяции результатов исследований обоснована многочисленными исследованиями [1].

Нами проведены исследования влияния на тест-культуру *Paramecium caudatum* модельных сред, содержащих изолят соевого белка, пшеничные отруби, α -токоферола ацетат, лактат кальция, рафинированное масло подсолнечника [2]. Результаты эксперимента, показали, что в среднем время продолжительности жизни инфузорий в экспериментальных культурах превышало на $36,1 \pm 21,36$ % соответственно продолжительность в контрольной культуре простейших, которая не содержала вышеперечисленные составляющие.

Отмечается также, во всех анализируемых рабочих концентрациях при разведении 1:1000, 1:10000 и 1:100000 и с учетом внесения гипертонического раствора натрия хлорида в количестве 0,1 - 0,3 см³ соответственно, проявление в достаточно высокой степени защитных свойств, при исследовании физиологического воздействия α - токоферола ацетата. Отмечено что продолжительность жизни отдельных инфузорий под воздействием среды с α -токоферола ацетатом была больше в среднем в 0,35 раза и в 3 раза при внесении соответственно 0,1 см³ и 0,3 см³ гипертонического раствора натрия хлорида по сравнению с интактной (контрольной) культурой инфузорий.

Следует отметить, что жизнеспособность клеток инфузорий под воздействием содержащегося в субстрате α -токоферола ацетата сохранялась, в отличие от образцов не содержащих исследуемые компоненты, даже при воздействии стресс-фактора в виде гипертонического раствора хлорида натрия в количестве 0,4-0,5 см³. Полученные данные, служат подтверждением антиоксидантных свойств и характеристик витамина Е, при этом, проявляя антиоксидантное действие, витамин Е способствует сохранению структурной целостности клеток простейших и относительной активности синтетических процессов в их клетках.

Результат поведенного исследования по изучению физиологического влияния пшеничных отрубей показал умеренное проявление защитного эффекта во всех образцах при разных соотношениях объект:субстрат (1:1000, 1:10000 и 1:100000) при внесении стрессирующего фактора в количестве от 0,1 до 0,3 см³. Наряду с этим, продолжительность жизни инфузорий, из среды с добавлением пшеничных отрубей, было больше в среднем в 1,13 раза и 2,87 раза при внесении соответственно 0,1 см³ и 0,3 см³ гипертонического раствора натрия хлорида по сравнению с инфузориями, полученными на обычном субстрате.

Во всех опытных субстратах, которые содержали пшеничные отруби, сохранялась жизнеспособность клеток инфузорий вплоть до момента внесения в них стрессирующего фактора в количестве 0,4 см³, наряду с тем, что в контрольном субстрате инфузории уже полностью погибали. Полученный эффект обуславливает проявление функциональных свойств, входящих в пшеничные отруби БАВ: витамин Е и полиненасыщенные жирные кислоты (антиоксидантное и иммунокорректирующее действие), макроэлементы, в частности кальций (поддержание иммунной системы). Кроме того, возможно также проявление адсорбирующих свойств нерастворимых пищевых волокон, присутствующих в отрубях [3].

При исследовании физиологического воздействия масла подсолнечника на живой организм, полученные результаты, демонстрируют умеренное защитное действие при разных соотношениях объект:субстрат при внесении стрессирующего фактора в количестве от 0,1 до 0,3 см³. При этом наблюдается увеличение время жизни протист в 1,14 раза и в 3,39 раза, инкубированных в среде, содержащей масло подсолнечника, при внесении соответственно 0,1 см³ и 0,3 см³ стрессирующего фактора по сравнению с инфузориями, выращенными на обычном субстрате.

Устойчивость к разрушающему действию стрессирующего фактора у простейших из популяций, выращенных на субстратах с добавлением растительного масла при соотношении объект:субстрат 1:10000 и 1:100000 при внесении стрессирующего фактора в количестве до 0,5 см³, а в разведении 1:1000 – вплоть до 0,6 см³. Отмеченное явление вероятно обусловлено проявлением функциональных свойств, полиненасыщенных жирных кислот и витамина Е входящих в состав растительного масла.

Исследование особенностей воздействия на тест-культуру простейших лактата кальция выявило его умеренные защитные свойства в обычных соотношениях объект:субстрат при внесении стрессирующего фактора в количестве от 0,1 до 0,3 см³. При этом время жизни протист, инкубированных в среде, содержащей лактат кальция, было больше в среднем на 34,4 % при внесении от 0,1 см³ до 0,3 см³ гипертонического раствора натрия хлорида по сравнению с культурой инфузорий полученной на обычном субстрате.

Устойчивость к разрушающему воздействию у инфузорий сохранялась в субстрате с лактатом кальция вплоть до введения стрессирующего фактора в объёме 0,5 см³, тогда как в обычном субстрате полная гибель простейших была отмечена при внесении 0,4 см³ стрессирующего фактора. Отмеченное явление может быть доказательством наличия положительного влияния препарата кальция как на резистентность так и на состояние клеточной мембраны.

При исследовании воздействия на культуру инфузорий соевого белка были получены результаты, иллюстрирующие умеренный защитный эффект рабочих соотношений объект:субстрат при внесении стрессирующего фактора в количестве от 0,1 до 0,3 см³. При этом продолжительность жизни простейших, при инкубировании в субстрате с соевым белком, была больше в среднем в 2 раза при внесении от 0,1 см³ до 0,3 см³ стрессирующего фактора по сравнению с культурой инфузорий полученной на обычном субстрате.

Устойчивость к разрушающему воздействию у инфузорий сохранялась в субстратах при обычных соотношениях соевого белка и субстрата при внесении в стрессирующего фактора в количестве 0,3-0,4 см³. Данное явление, вероятно, обусловлено наличием функциональных свойств входящих в соевый белок (изолят) минеральных веществ, в частности цинка, а также наличием в питательном субстрате легкоусвояемых протеинов, способствующих повышению резистентности у инфузорий.

Для экспериментального исследования в условиях *in vivo* биоэффективности такого нетрадиционного растительного сырья как мука из клубней чуфы (выращенной в Воронежской области России и в Испании) использовали метод «разрушающего воздействия» (в качестве повреждающего фактора применяли 10 %-ный раствор NaCl) и тест-культуру инфузорию *Paramecium caudatum* [2]. Анализ полученных данных показал наличие протекторного воздействия компонентов муки из клубней испанской чуфы, которое проявлялось при меньших ее концентрациях в субстрате по сравнению с мукой, полученной из клубней воронежской чуфы. При этом, продолжительность жизни инфузорий, полученных на субстрате, содержащем муку из клубней испанской и воронежской чуфы, при внесении 0,1 см³ стрессирующего фактора больше в 1,3-1,6 и 1,2-1,5 раза соответственно, а при внесении 0,3 см³ раствора NaCl больше в 15,5-23,5 и 11-17 раз соответственно по сравнению с интактной культурой инфузорий. Выявлялась обратная зависимость времени жизни инфузорий от содержания натрия хлорида в

исследуемой культуре. Следует отметить биологический эффект полученный при исследовании муки из клубней чуфы, который обусловлен наличием в ее составе разнообразных биологически активных веществ, в частности, ПНЖК, витамина Е, кальция, цинка, селена.

В модельном эксперименте с помощью тест-культуры *Paramecium caudatum* нами исследована биологическая эффективность морковного порошка, полученного четырьмя способами сушки: на электросушилке Redmond RFD-0158 с конвективным теплоподводом; дезинтеграционно-кондуктивным способом сушки [4]; на лиофильной сушилке ЛС-1000 с кондуктивным теплоподводом; ИК-способом сушки. Установлено, что все исследованные образцы порошков моркови в изученных дозировках не обладают биоцидным действием, следовательно, не токсичны и могут быть использованы в качестве ингредиентов для производства пищевых продуктов. Анализ полученных экспериментальных данных, в частности уровни генеративной функции и биотического потенциала, даёт возможность сделать вывод о том, что при дезинтеграционно-кондуктивном способе сушки растительных порошков биологически активные вещества сохраняются также успешно, как и при вакуум-сублимационном способе сушки [5]. Соответственно, любые получаемые подобным способом овощные или фруктовые порошки, будут иметь существенные преимущества в производстве функциональных пищевых продуктов по сравнению с порошками, полученными иными способами. Уровень стандартизованной относительной биологической ценности порошка моркови, полученной описываемым способом [4], практически не уступает порошку, выработанному посредством вакуум-сублимационного способа сушки.

В настоящее время наблюдается возросший интерес к растительным полисахаридам, которые обладают высокой биологической активностью и являются гипоаллергенными. Одним из перспективных источников для промышленного производства полисахаридов служат семена льна [6].

Известно, что полисахариды семян льна проявляют умеренные радиопротекторные и иммунозащитные свойства [7].

Все способы выделения полисахаридов из семян льна основаны на процессах экстракции водой или растворами солей. При этом экстракцию проводят либо из неразрушенных семян льна, либо непосредственно из отделенной от ядра оболочки. На эффективность экстракции влияют следующие факторы: соотношение сырья и растворителя (гидромодуль), температура и время проведения экстракционного процесса.

При подборе рационального гидромодуля следует учитывать, что увеличение массовой доли экстрагента ведет, с одной стороны, к повышению движущей силы, с другой – к понижению концентрации экстрагируемых веществ и увеличению стоимости целевого продукта, так как потребуются больший объем осаждающего агента или более длительный процесс их концентрирования. При этом уменьшение массы экстрагента приводит к повышению вязкости раствора, что также увеличивает затрачиваемую мощность. Оптимальным и экономичным гидромодулем для проведения процесса в промышленном масштабе, как определили авторы [8, 9], является гидромодуль в интервале 18–20, аналогично этому показателю при выделении белка.

По методике В.С. Бузламы посредством разрушающего воздействия (повреждающим фактором служил 10%-ный раствор хлорида натрия) нами проведена оценка биологического действия водных экстрактов полисахаридов слизи из семян льна, полученных экстракцией дистиллированной водой при температуре 40°C во временном интервале 30 - 120 мин (гидромодуль 1:10 и 1:15). В результате исследования у полисахаридного комплекса слизи из семян льна была выявлена высокая метаболическая активность, способствующая возрастанию стойкости клеточной мембраны к стресс-факторам. Анализ экспериментальных данных позволил заключить, что наиболее рациональным является режим извлечения полисахаридов слизи из семян льна посредством

водной экстракции из семян льна при гидромодуле 1:10 и температуре 40 °С в течение 120 мин, поскольку внесение его в субстрат с тест-организмами способствовало их лучшей выживаемости при большем на 16,7-50 % количестве внесенного гипертонического раствора хлорида натрия, вызывавшем гибель тест-организмов в других экспериментальных субстратах.

Обобщив все полученные результаты можно сделать заключение о возможности, целесообразности и эффективности использования простейших рода *Paramecia* для гигиенических исследований продовольственного сырья и пищевых продуктов.

Работа выполнена при финансовой поддержке прикладных научных исследований Министерством образования и науки Российской Федерации в рамках реализации федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы» по соглашению о предоставлении субсидии № 14.577.21.0256 от 26 сентября 2017 г. Уникальный идентификатор ПНИЭР RFMEFI57717X0256.

ЛИТЕРАТУРА

1. Долгов В.А. Применение инфузорий тетрахимена пириформис для оценки качества и безопасности продуктов птицеводства / В.А. Долгов, С.А. Лавина, Т.С. Арно и др. // Птица и птицепродукты. – 2014. – № 6. – С. 50-52.

2. Жаркова И.М. Исследование биоэффективности муки из клубней чуфы в эксперименте *in vivo* / И.М. Жаркова, А.В. Гребенщиков, В.Г. Густинович, А.А. Самохвалов, С.Я. Корячкина // Известия вузов. Пищевая технология, № 5-6 (365-366), 2018. – С. – 109-113.

3. Корнен Н.Н. Оценка эффективности антиоксидантного и гепатопротекторного действия пищевых добавок, полученных из виноградной выжимки [Текст] / Н.Н. Корнен, С.А. Калманович, Т.А. Шахрай, В.И. Мартовщук, Е.В. Кузьминова, М.П. Семененко // Известия вузов. Пищевая технология. – 2018. – № 2-3 (362-363). – С. 121–123.

4. Способ комбинированного получения растительных порошков из различных видов сельскохозяйственного сырья и дикоросов Пат. 2615819 Российская Федерация, МПК А 23L 19/15. / Густинович В.Г., Годунов О.А., Черных В.Я. – № 2016103324; заявл. 02.02.2016; опубл. 11.04.2017, Бюл. № 11.

5. Жаркова И.М. Исследование в эксперименте *in vivo* биологического действия морковных порошков как источника биологически активных веществ / И.М. Жаркова, А.В. Гребенщиков, В.Г. Густинович // Проблемы АПК региона. – 2019. – № 2. – С. 274–281.

6. Особенности процесса экстракции полисахаридов слизи из семян льна / И.Э. Миневич [и др.] // Научный журнал НИУ ИТМО. Сер. Процессы и аппараты пищевых производств. – 2018. – № 2. – С. 3–11.

7. Лекарственное растительное сырье. Фармакогнозия: учеб. пособие / Г. А. Белодубровская [и др.]; под ред. Г.П. Яковлева, К.Ф. Блиновой. – СПб.: СпецЛит, 2004. – 765 с.

8. Миневич И.Э. Гидроколлоиды из семян льна: характеристика и перспективы использования в пищевых технологиях / И.Э. Миневич, Л.Л. Осипова // Научный журнал НИУ ИТМО. Сер. Процессы и аппараты пищевых производств. – 2017. – № 3. – С. 16–25.

9. Миневич И.Э. Исследование процесса экстракции полисахаридов и белка из льняного жмыха / И.Э. Миневич, Л.Л. Осипова, В.А. Зубцов // Научные достижения – льноводству : материалы науч.-практ. конф. «Основные результаты и направления развития научных исследований по льну-долгунцу», посвящ. 80-летию образования ВНИИ льна, Торжок, 1–3 нояб. 2010 г. / ГНУ ВНИИЛ Россельхозакадемии – Торжок: ВНИИЛ, 2010. – С. 406–410.

REFERENCES

1. Dolgov V.A. Primenenie infuzoriy tetrakhimena piriformis dlya otsenki kachestva i bezopasnosti produktov ptitsevodstva / V.A. Dolgov, S.A. Lavina, T.S. Arno i dr. // Ptitsa i ptitseprodukty. – 2014. – № 6. – S. 50-52.

<http://ntk.kubstu.ru/file/2884>

2. Zharkova I.M. Issledovanie bioeffektivnosti muki iz klubney chufy v eksperimente in vivo / I.M. Zharkova, A.V. Grebenschikov, V.G. Gustinovich, A.A. Samokhvalov, S.Ya. Koryachkina // Izvestiya vuzov. Pishchevaya tekhnologiya, № 5-6 (365-366), 2018. – S. – 109-113.

3. Kornen N.N. Otsenka effektivnosti antioksidantnogo i gepatoprotektnogo deystviya pishchevykh dobavok, poluchennykh iz vinogradnoy vyzhimki [Tekst] / N.N. Kornen, S.A. Kalmanovich, T.A. Shakhray, V.I. Martovshchuk, E.V. Kuzminova, M.P. Semenenko // Izvestiya vuzov. Pishchevaya tekhnologiya. – 2018. – № 2-3 (362-363). – S. 121–123.

4. Sposob kombinirovannogo polucheniya rastitelnykh poroshkov iz razlichnykh vidov selskokhozyaystvennogo syrya i dikorosov Pat. 2615819 Rossiyskaya Federatsiya, MPK A 23L 19/15. / Gustinovich V.G., Godunov O.A., Chernykh V.Ya. – № 2016103324; zayavl. 02.02.2016; opubl. 11.04.2017, Byul. № 11.

5. Zharkova I.M. Issledovanie v eksperimente in vivo biologicheskogo deystviya morkovnykh poroshkov kak istochnika biologicheski aktivnykh veshchestv / I.M. Zharkova, A.V. Grebenschikov, V.G. Gustinovich // Problemy APK regiona. – 2019. – № 2. – S. 274–281.

6. Osobennosti protsessa ekstraktsii polisakharidov slizi iz semyan lna / I.E. Minevich [i dr.] // Nauchnyy zhurnal NIU ITMO. Ser. Protsessy i apparaty pishchevykh proizvodstv. – 2018. – № 2. – S. 3–11.

7. Lekarstvennoe rastitelnoe syre. Farmakognoziya: ucheb. posobie / G. A. Belodubrovskaya [i dr.]; pod red. G.P. Yakovleva, K.F. Blinovoy. – SPb.: SpetsLit, 2004. – 765 s.

8. Minevich I.E. Hidrokolloidy iz semyan lna: kharakteristika i perspektivy ispolzovaniya v pishchevykh tekhnologiyakh / I.E. Minevich, L.L. Osipova // Nauchnyy zhurnal NIU ITMO. Ser. Protsessy i apparaty pishchevykh proizvodstv. – 2017. – № 3. – S. 16–25.

9. Minevich I.E. Issledovanie protsessa ekstraktsii polisakharidov i belka iz lnyanogo zhmykha / I.E. Minevich, L.L. Osipova, V.A. Zubtsov // Nauchnye dostizheniya – Inovodstvu : materialy nauch.-prakt. konf. «Osnovnye rezultaty i napravleniya razvitiya nauchnykh issledovaniy po lnu-dolguntsu», posvyashch. 80-letiyu obrazovaniya VNII lna, Torzhok, 1–3 noyab. 2010 g. / GNU VNIIL Rosselkhozakademii – Torzhok: VNIIL, 2010. – S. 406–410.

*RESEARCH PROSPECTS OF PROTOZOA GENUS PARAMETIA USING
IN HYGIENIC EXPERIMENTS WITH FOOD RAW MATERIALS AND FOOD*

**A.V. GREBENSHCHIKOV¹, I.M. ZHARKOVA¹, YU.I. SLEPOKUROVA¹, D.P.
EFREMOV²**

*¹ Voronezh State University of Engineering Technologies,
19, Revolutsii av., Voronezh, Russian Federation, 394036,
e-mail: zharir@mail.ru*

*² OOO «AgroLen»,
5, Sovetskaya st., village Zhuravlykha, Altai region, Russian Federation, 658055,
e-mail: smkaltai@mail.ru*

The article presents the research results with using the test organisms *Parametium caudatum* of model objects (soy protein, wheat bran, α -tocopherol acetate, calcium lactate, refined sunflower oil). It is shown that their introduction into the environment at concentrations of 1: 1000, 1: 10000 and 1: 100000 stimulates a relatively high resistance of the model organism under the influence of a stress factor. It is established that flour from chufa tubers has a beneficial effect on a living organism; carrot powder obtained by the disintegration-conductive method has significant advantages for the production of functional food products in comparison with powders obtained by an electric dryer or by IR method; its biological effect is similar to the product obtained by vacuum freeze-drying. The results of the study of the water extraction parameters effect at a temperature of 40°C of polysaccharides mucus from flax seeds (hydromodule 1:10 and 1:15, duration from 30 to 120 minutes) on the extraction degree of the target product and the biological effectiveness of the extracts are presented. The polysaccharide complex of mucus from flax seeds revealed a high metabolic activity, which contributes the cell membrane resistance increasing to stress factors. The analysis of the results allows us to conclude about the possibility, feasibility and effectiveness of the test organisms *Parametium caudatum* using for diverse hygienic studies of food raw materials and food products.

Keywords: test organism, biological effectiveness, safety, chufa, carrot powder, flax seeds polysaccharides