

# ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИЧЕСКОГО И ГЕНОТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПИЩЕВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ МЕТОДОМ ALLIUM TEST

## INVESTIGATION OF TOXIC AND GENOTOXIC EFFECTS OF SYNTHETIC FOOD DYES BY THE ALLIUM TEST METHOD

*О. В. Новик, О. В. Лозинская*

*A. Novik, O. Lozinskaya*

*Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,  
г. Минск, Республика Беларусь  
oksana-97@tut.by*

*Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus*

Исследовано влияние пищевых красителей с помощью метода Allium test. Произведена оценка токсического, митозмодифицирующего и мутагенного действия факторов. Обнаружено, что различные пищевые красители ингибируют рост корешков, угнетают митоз, индуцируют хромосомные аберрации и отставания хромосом.

The effect of food dyes was investigated using the Allium test method. The toxic, mitosis-modifying and mutagenic action of the factor was assessed. It was also found that various food dyes inhibit root growth, inhibit mitosis, induce chromosomal aberrations and chromosome lagging.

*Ключевые слова:* Allium-test, ана-телофазный метод, пищевые красители, митотический индекс, профазный индекс, метафазный индекс, анафазный индекс, телофазный индекс, мутагены.

*Keywords:* Allium-test, ana-telophasic method, food dyes, mitotic index, prophase index, metaphase index, anaphase index, telophase index, mutagens.

Проблемы, связанные со здоровьем человека, в наши дни не всегда зависят от генетической наследственности или предрасположенности к тому или иному виду заболевания. В последнее время всё большее воздействие на состояние организма и его работоспособность оказывают продукты питания, а если быть точнее – их состав.

Рацион человека постоянно изменялся. От натурального хозяйства и продуктов, выращенных своими руками и сохранивших полезные свойства, мы перешли к продуктам, изготовляемым в промышленных масштабах. Для увеличения сроков хранения, улучшения их вкусовых качеств и внешнего вида (запаха и цвета) в большую часть этих продуктов добавляют красители, консерванты, антиокислители, эмульгаторы, стабилизаторы и загустители.

В настоящее время большое распространение получили искусственные пищевые красители, представляющие собой водорастворимые органические соединения, не существующие в природе. Пищевой ценности они не имеют, а вот вред красителей для организма человека весьма возможен.

Актуальность изучения пищевых добавок как одного из факторов, воздействующих на человека, обусловлена распространённостью злокачественных заболеваний, аллергозов и других патологий.

Цель работы: исследование токсического, митозмодифицирующего и мутагенного действия различных синтетических пищевых красителей методом Allium-test.

К задачам, которые необходимо решить, относятся:

- изучить спонтанный уровень MI и ХА в клетках корневой меристеме Allium сера;
- выявить митозмодифицирующий эффект пищевых красителей;
- оценить мутагенный эффект пищевых красителей.

Материалом исследования являлись пищевые красители: оранжевый (Желтый «Солнечный закат» – E110), желтый (Тартразин – E102), зеленый (Зеленый S – E142), синий (Бриллиантовый Голубой FCF – E133).

Объектом исследования в данном тесте является меристема проростков корешков лука посевного – Allium сера сорта Штутгартен–Ризен. Выбранная растительная тест-система регистрирует все типы генетических повреждений: геномные, хромосомные, генные. Она позволяет выявлять как мутагены, непосредственно повреждающие ДНК, так и промутагены, то есть факторы генетически безопасные, но приобретающие мутагенную активность в процессе метаболизма в организме.

Для проведения опыта использовали одинаковые по размеру луковицы сорта Штутгартен–Ризен около 3,5 г, предварительно удалив внешние чешуи.

Проращивание луковиц проводилось в растворах пищевых красителей 3-х концентраций 1 % p-p, 0,25 %, 0,5 %) в 3 повторностях, контролем являлась водопроводная вода. В условиях опыта луковицы помещались в стеклянные пробирки так, чтобы донце луковиц соприкасалось с водой. Луковицы проращивали при комнатной температуре и естественном освещении в течение 4–5 дней.

По завершении эксперимента срезанные корешки помещали в фиксатор (96 % этиловый спирт и ледяная уксусная кислота в соотношении 3:1).

Для обнаружения хромосомных aberrаций (одиночные, множественные фрагменты, хроматидные, хромосомные мосты, микроядра) готовили временные давленные препараты корневых меристем, используя зону активно делящихся клеток, расположенную на 2–4 мм выше корневого чехлика. После удаления корневого чехлика, первый мм – меристематический район, где идет митоз, 2-й мм – первое дочернее поколение меристематических клеток. Окрашивание проводили красителем ацеткармином.

Микроскопирование проводилось при увеличении 10×40. Подсчитывали количество клеток на различных стадиях митоза. Учет aberrаций хромосом в апикальной меристеме корешков лука проводили на стадии ана-телофаз. Ана-телофазный анализ позволяет изучать частоту мутаций путем учета суммы хромосомных aberrаций (ХА) и отставаний (отс.) на стадиях анафазы и телофазы к общей сумме ана-телофаз на препарате.

Были подсчитаны фазные индексы (ПИ, % – профазный индекс; МИ, % – метафазный индекс; АИ и ТИ, % – анафазный и телофазный индексы) – процент клеток в различных стадиях митоза от общего количества делящихся клеток.

Для интегральной оценки мутагенной активности использовался показатель ВМЭ (выраженности мутагенного эффекта). ВМЭ определялась в тесте *A. seara* как кратность превышения процента индуцированных мутаций над контрольным значением.

Показателем уровня митотической активности является митотический индекс (МИ, %), показывающий соотношение числа клеток, находящихся в митозе, к общему числу проанализированных клеток, исследованных на препарате изучаемой. На основании эксперимента было показано, что преобладает митотоксическое действие изучаемого фактора. Уменьшение МИ может быть обусловлено как уменьшением пролиферации клеток, так и изменением продолжительности различных фаз, то есть задержкой клеток на определенных фазах митоза.

Анализ митотоксического эффекта показал, что максимальные значения были показаны в варианте с добавлением красителей E133 (синий) и E102 (желтый) (рис. 1).

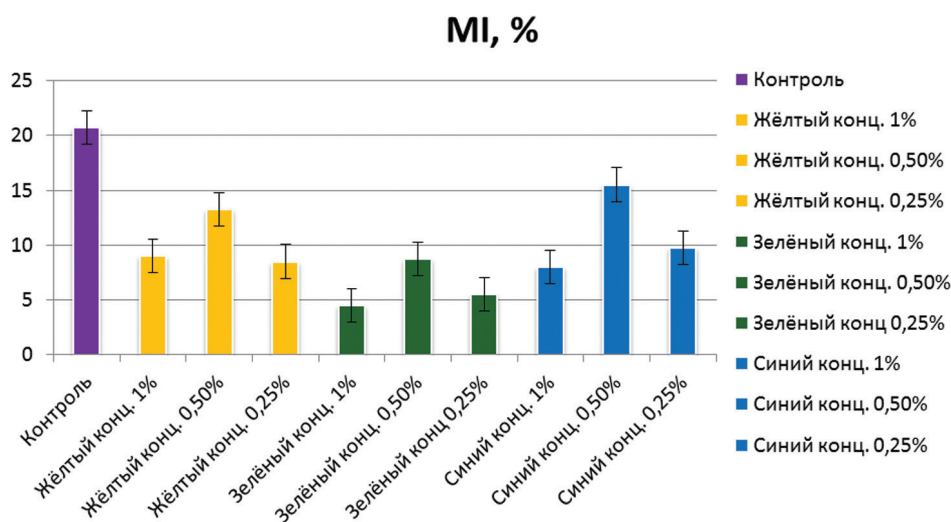


Рисунок 1 – Значения митотического индекса для различных красителей

Так, краситель Зеленый проявил митотоксический эффект при концентрации 1 %, где митотический индекс составил – 4,5 %, для Бриллиантового Голубого наименьший индекс – (8 %) проявился также при концентрации 1 %.

Чтобы понять причины изменения митотического индекса были рассмотрены фазные индексы. На рисунке 2 видно, что ПИ большинства клеток, выросших на красителях, не отличается от контроля. Тем не менее, минимальные значения ПИ, % наблюдаются после воздействия растворов концентрацией 0,25 %, содержащих синий (E133) и зеленый (E142) красители (рис. 2). Профазный индекс при концентрации 0,25 % с использованием синего красителя составил 33,33 % и 36,36 % – зеленого красителя. Можно предположить, что снижение ПИ при достаточно высоком митотическом индексе связан с репарационными процессами в клетках, либо запрограммированной гибелью клеток.

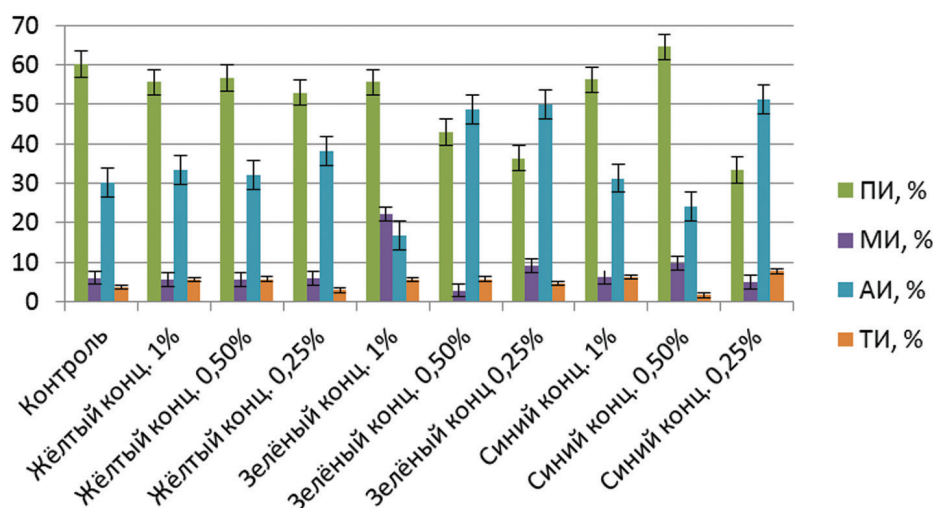


Рисунок 2 – Значения фазных индексов для различных красителей

Как следует из рис. 2 увеличение метафазного индекса до 22,2 % показано в варианте концентрацией 1 % с добавлением E142 по сравнению с контрольным вариантом, хотя митотический индекс здесь был самым низким.

Применение ана-телофазного метода позволило выявить значительное повышение частоты хромосомных aberrаций в корневой меристеме *A. sepa*.

При концентрации пищевых красителей 0,5 % во всех опытных вариантах зарегистрировано увеличение частоты хромосомных aberrаций и отставаний по сравнению с контрольным уровнем (табл. 1).

Среди всех 3 опытных вариантов с красителями наиболее резко выделялись мутагенной активностью при концентрациях 0,50 % два варианта, в которых использовались пищевые красители зеленого (Зеленый S, E142), желтого (Тартразин, E102) и один вариант синего цвета концентрацией 0,25 % (Бриллиантовый Голубой FCF, E133).

Как видно из таблицы, наибольшее количество aberrаций по сравнению с контролем встречается в варианте опыта с E142 при концентрации 0,5. Здесь выявлено всего 11 aberrаций; из них 4 отставаний хромосом, 5 опережений и 2 моста.

Таблица 1 – Частота хромосомных aberrаций и их разнообразие для каждого красителя

Вариант	Всего aberrаций	Отставания	Опережения	Мосты
Тартразин 1 %	5	1	2	2
Тартразин 0,5 %	8	2	6	
Тартразин 0,25 %	4	1		3
Зелёный 1 %	2	1		1
Зелёный 0,5 %	11	4	5	2
Зелёный конц. 0,25 %	5	1	2	2
Бриллиантовый голубой 1 %	3		3	
Бриллиантовый голубой 0,5 %	5	1		4
Бриллиантовый голубой. 0,2 %	7	2	4	1
Контроль	2	1		1

Среди хромосомных нарушений преобладают опережения. Так, для тартразина 0,5 % – 6, зеленый – 5. Значительное количество мостов показано для бриллиантового голубого 0,5 % – 4. При этом в контроле этой патологии не обнаружено.

Появление значительного количества aberrаций может свидетельствовать о том, что синтетические пищевые красители нарушают сборку микротрубочек цитоскелета клетки и мешают формированию веретена деления, что в результате выразилось в появлении патологических митозов.

В результате проведенного исследования на митозмодифицирующее и мутагенное действие пищевых красителей (Тартразин (E102), Зеленый S (E142), Бриллиантовый Голубой FCF (E133)) были сделаны следующие выводы:

Спонтанный уровень MI в меристеме *Allium sepa* составляет 20,75 %, а частота ХА – 1,03 %. Все изученные виды синтетических пищевых красителей угнетают прирост корешков у *A. sepa*, что свидетельствует о токсической активности всех исследованных красителей.

Пищевые красители влияют на пролиферативную активность *A. sepa*, оказывая в основном митотоксическое воздействие.

Все исследованные виды синтетических пищевых красителей вызывают хромосомные мутации или обладают мутагенной активностью: увеличивают частоту хромосомных аберраций и отставаний до 7,2 %, что превышает контрольный уровень (1,03 %) в 7 раз. Уровень мутагенного эффекта классифицируется как средний.

Таким образом, показано, что все исследованные красители обладают мито- и генотоксической активностью, а, следовательно, продукты с такой добавкой могут представлять опасность для здоровья человека.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Булдаков, А. С. Пищевые добавки / А. С. Булдаков. – СПб.: «Ут», 1996. – 240 с.
2. Справочник оз. Неро / И. М. Прохорова. – М.: Наука, 2008. – 59 с.
3. Чупис, В. Н. Система биотестов для экологического мониторинга / В. Н. Чупис [и др.] // Экология и промышленность России. – 2008. – № 1. – С. 44–45.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ СИСТЕМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ДИАТОМОВЫХ КОМПЛЕКСОВ ФИТОПЛАНКТОНА И КАЧЕСТВО ВОДЫ РЕК НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «ПРИПЯТСКИЙ»

## COMPARATIVE SYSTEMATIC ANALYSIS OF THE DIATOM COMPLEXES OF PHYTOPLANKTON AND WATER QUALITY OF THE RIVERS OF NATIONAL PARK “PRIPYATSKI”

**И. В. Рышкель, О. С. Рышкель, И. М. Назаров**  
**I. Ryshkel, O. Ryshkel, I. Nazarov**

*Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,  
г. Минск, Республика Беларусь  
ryshkel@yandex.ru*

*Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus*

Реализация Конвенции о сохранении биологического разнообразия предусматривает инвентаризацию флоры особо охраняемых территорий. К их числу относится Национальный парк «Припятский», расположенный на юге Беларуси. В рамках инвентаризации альгофлоры заповедной территории особое место занимает отдел Bacillariophyta (диатомовые водоросли). Актуальность и необходимость изучения диатомовых водорослей определяется уникальным строением их оболочек в виде кремнеземных панцирей. Они хорошо сохраняются в донных осадках, а при изменении параметров водной среды, комплекс видов диатомовых водорослей соответствующим образом изменяется, выполняя индикаторную роль. Целью исследования являлся анализ систематического комплекса диатомовых водорослей и качества вод рек Национального парка «Припятский».

The implementation of the Convention on the conservation of biological diversity requires the flora inventory of specially protected areas. They include the national Park “Pripyat”, which is located in the south of Belarus. In the framework of algal flora inventory of the protected area, a special place belongs to Bacillariophyta (diatoms). The relevance and necessity of studying diatom algae is determined by the unique structure of their shells in the form of silica frustules. They are well preserved in bottom sediments, and when changing the parameters of the aquatic environment, the complex of diatom algae species changes performing an indicator role. The aim of the study was to analyze the systematic complex of diatoms and the water quality of the rivers of the national Park “Pripyatski”.

*Ключевые слова:* диатомовые водоросли, фитопланктон, таксономический состав, экологические группы, виды, реки, Национальный парк «Припятский».

*Keywords:* diatoms, phytoplankton, taxonomic composition, ecological groups, species, rivers, national Park “Pripyat”.

В связи с реализацией Конвенции о сохранении биологического разнообразия, инвентаризация флор особо охраняемых территорий, к которым относится Национальный парк (НП) «Припятский», расположенный в междуречье Припяти, Ствиги и Уборти на юге Беларуси, сохраняет и сегодня свою актуальность [1].

С 2010 г. проводятся исследования по выявлению видового богатства водорослей разнотипных водных объектов в рамках выполнения работ по проблеме инвентаризации альгофлоры заповедной территории, но пока они далеки от завершения [2]. Среди водорослей особое место занимает отдел *Bacillariophyta* (диатомовые водоросли).

Актуальность и необходимость изучения диатомовых водорослей определяется уникальным строением их оболочек в виде кремнеземных панцирей, четкими экологическими предпочтениями и специфическими требованиями к условиям среды, широким и массовым распространением. Кремнистые створки хорошо сохраняются в донных осадках, при изменении параметров водной среды комплекс видов соответствующим образом изменяется, выполняя индикаторную роль.