

**МЕТОДИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ НА ТЕСТ-МОДЕЛИ  
TETRAHYMENA PYRIFORMIS БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТИ И БЕЗВРЕДНОСТИ  
КОНСЕРВОВ МЯСНЫХ ДЛЯ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ**

Бондарук А.М., Свинтилова Т.Н., Журихина Л.Н., Долгина Н.А., Цыганков В.Г.

Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены», Минск, Республика Беларусь

**Реферат.** Разработан и апробирован метод биологической оценки на тест-модели *Tetrahymena pyriformis* консервов мясных для детского питания, учитывающий суточное потребление данного продукта детьми раннего возраста.

Разработанный метод позволяет оценить безвредность и биологическую ценность детского питания на мясной основе. Под безвредностью в данном исследовании понимают отсутствие в составе продукта контаминантов, которые могут оказывать повреждающее действие на культуру *Tetrahymena pyriformis*.

**Ключевые слова:** консервы мясные для детского питания, пюре из говядины, пюре из мяса кролика, пюре из цыпленка, биологическая ценность, безвредность, методы оценки, *Tetrahymena pyriformis*.

**Введение.** В последнее время экологическая ситуация в различных регионах мира ухудшилась. Это связано с развитием промышленности, дальнейшей урбанизацией, использованием многочисленных удобрений, ядохимикатов в растениеводстве, использованием кормов с различными добавками для сельскохозяйственных животных.

В связи с этим получение экологически чистого сырья для производства продуктов детского питания является крайне важной проблемой. Разработка на основе биотестирования методов оценки биологической ценности и безвредности пищевой продукции и использование этих методов в системе государственного санитарного надзора и контроля в области обеспечения качества и безопасности пищевой продукции для детского питания своевременна и актуальна.

Одно из преимуществ *Tetrahymena pyriformis* как объекта биотестирования состоит в том, что она может быть использована для одновременного определения как безвредности, так и биологической ценности пищевой продукции [1].

**Цель работы** — разработка и апробация методов оценки на тест-модели *Tetrahymena pyriformis* биологической ценности и безвредности детского питания на мясной основе.

**Материалы и методы.** Объектами исследования являлись консервы мясные для детского питания:

- пюре из говядины гомогенизированное стерилизованное для детского питания с 6 мес. производства Республики Беларусь. Состав: мясо говядины, мясной бульон, мука рисовая (5%), масло растительное, масло МEG-3;

- пюре из мяса кролика гомогенизированное стерилизованное для детского питания с 6 мес. производства РФ. Состав: мясо кролика, мука рисовая, масло растительное кукурузное рафинирование дезодорированное, вода питьевая;

- пюре из цыпленка гомогенизированное стерилизованное для детского питания с 6 мес. производства РФ. Состав: мясо цыпленка, рис, масло подсолнечное, вода.

Осуществлен расчет содержания детских мясных консервов в среде культивирования *Tetrahymena pyriformis*, исходя из фактической пищевой ценности исследуемого продукта, а также с учетом коэффициента экстраполяции для детей 6 мес. (5000) [2, 3].

Содержание пюре из говядины в концентрациях 11,0; 22,0 и 44,0 мг/мл, пюре из мяса кролика в концентрациях 8,25; 16,5 и 33,0 мг/мл, пюре из цыпленка в концентрациях 7,1; 14,25; 28,5 и 57,0 мг/мл обеспечивает содержание белка в среде культивирования *Tetrahymena pyriformis* 1; 2; 4 мг/мл, необходимых для расчета биологической ценности продукта, и соответствуют суточному потреблению данных продуктов детьми в возрасте 6 мес. (таблица 1).

Таблица 1. — Состав среды культивирования *Tetrahymena pyriformis* на основе мясных консервов для детского питания

Концентрация гомогената, мг/мл	Белки, мг/мл	Жиры, мг/мл	Углеводы, мг/мл	ЭЦ, кал/мл
Пюре из говядины				
11,0	1,00	1,05	0,44	15,40
22,0	2,00	2,09	0,88	30,80
44,0	4,00	4,18	1,76	61,60
Пюре из мяса кролика				
8,25	1,00	0,40	0,33	8,90

Окончание таблицы 1

Концентрация гомогената, мг/мл	Белки, мг/мл	Жиры, мг/мл	Углеводы, мг/мл	ЭЦ, кал/мл
16,5	2,00	0,80	0,65	17,80
33,0	4,00	1,60	1,30	35,60
Пюре из цыпленка				
7,1	0,50	0,64	0	9,80
14,3	1,00	1,28	0	19,50
28,5	2,00	2,57	0	39,10
57,0	4,00	5,13	0	78,10

Исследуемый продукт являлся единственным источником пищевых веществ в среде культивирования *Tetrahymena pyriformis*.

Стандартными средами культивирования при определении биологической ценности являлась питательная среда, содержащая полноценный белок (пептон), углеводы (глюкозу), хлорид натрия, сухой дрожжевой экстракт (источник натуральных витаминов), подсолнечное масло.

Подготовка проб к анализу осуществлялась с соблюдением правил асептики.

Безвредность мясных консервов исследовали на протяжении жизненного цикла популяции *Tetrahymena pyriformis*. Осуществляли визуальный анализ состояния одноклеточных организмов, графический анализ кривой роста популяции и математический анализ основных показателей жизнедеятельности популяции (константа мгновенной скорости роста, время генерации, число поколений, численность популяции), культивируемой в среде, содержащей исследуемые образцы продуктов, определяли биотический потенциал (БП) популяции.

Биологическую ценность мясных консервов для детского питания оценивали по отношению к стандартной среде культивирования. Определяли показатели: коэффициент эффективности белка (КЭБ), стандартизованная относительная биологическая ценность (СОБЦ) по отношению к стандартному белку в %. Учитывались результаты определения скорости роста, биотического потенциала, численности популяции *Tetrahymena pyriformis* на всех этапах жизненного цикла. При расчете показателей биологической ценности консервов принималось во внимание отсутствие каких-либо вредных воздействий продукта на *Tetrahymena pyriformis*.

Полученные экспериментальные данные обрабатывали статистически с определением средней арифметической каждого вариационного ряда, среднеквадратичного отклонения, стандартной ошибки, коэффициента вариации и критерия Стьюдента. При уровне значимости  $<0,05$  различия средних арифметических показателей безвредности и биологической ценности считались статистически достоверными [4].

**Результаты и их обсуждение.** Визуальный анализ состояния популяции *Tetrahymena pyriformis*, произрастающей в среде культивирования, содержащей исследованные консервы мясные для детского питания, не выявил каких-либо морфологических и функциональных нарушений у отдельных особей. В среде культивирования на основе пюре из цыпленка инфузории имели более удлиненную форму, чем в среде культивирования на основе остальных пюре. Гибели организмов на протяжении жизненного цикла популяции в среде, содержащей пюре из говядины и пюре из кролика, не наблюдалось. В среде на основе пюре из цыпленка в стационарной фазе роста (96 ч) в концентрации 28,5 мг/мл отмечалась гибель организмов на уровне 54%.

Анализ показателей жизнедеятельности популяции *Tetrahymena pyriformis*, культивировавшейся в среде на основе консервов мясных для детского питания, выявил, что в лаг-фазе наблюдается выраженное стимулирование процессов жизнедеятельности инфузорий в среде на основе пюре из говядины на всех концентрациях относительно двух других пюре. При содержании белка 1 и 2 мг/мл численность популяции в среде, содержащей пюре из цыпленка, увеличилась на 138 и 42% соответственно относительно пюре из кролика, а при содержании белка 4 мг/мл, наоборот, уменьшилась на 95% ( $p < 0,05$ ). Через 48 ч инкубации при содержании белка 1 и 2 мг/мл наблюдается выраженное ингибирование жизненного потенциала популяции в среде на основе пюре из кролика относительно пюре из цыпленка и на всех концентрациях относительно пюре из говядины. В фазе замедленного роста в средах на основе пюре из говядины и цыпленка при концентрациях белка 1 и 4 мг/мл значимых различий в показателях жизнедеятельности инфузорий не наблюдалось, тогда как при содержании белка 2 мг/мл численность популяции была выше на 16% в среде, содержащей пюре из цыпленка ( $p < 0,05$ ). Численность популяции в среде на основе пюре из кролика была достоверно ниже остальных консервов на всех концентрациях. Через 96 ч инкубации при содержании белка 2 мг/мл численность популяции не имела статистически значимых различий в средах на основе пюре из цыпленка и кролика, на остальных концентрациях наблюдалось ингибирование показателей жизнедеятельности популяции в среде на основе кролика относительно других пюре. При концентрациях белка 1 и 4 мг/мл численность инфузорий в средах на основе пюре из говядины и цыпленка не отличалась, тогда как при 2 мг/мл численность популяции в среде, содержащей пюре из говядины, была на 104% выше ( $p < 0,05$ ) (рисунок).

Таким образом, культивирование *Tetrahymena pyriformis* в средах, содержащих консервы мясные для детского питания, выявило выраженное ингибирование жизненных процессов *Tetrahymena pyriformis* в среде на основе пюре из кролика (рисунок).

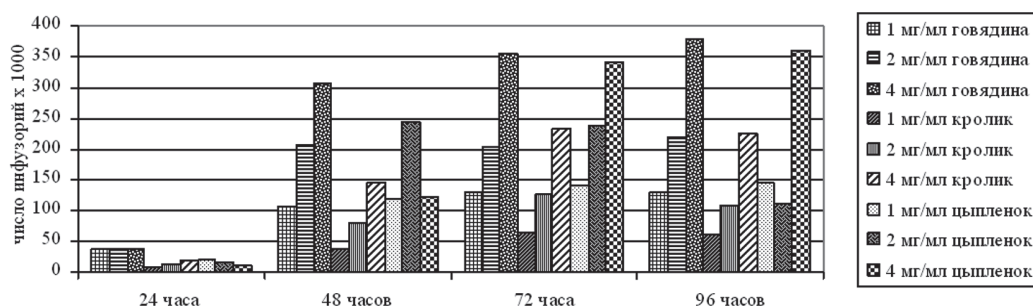


Рисунок — Динамика роста популяции *Tetrahymena pyriformis* в среде культивирования на основе консервов мясных для детского питания

Биотический потенциал популяции, культивировавшейся в среде, содержащей пюре из мяса кролика, был достоверно ниже данного показателя для среды на основе пюре из говядины во всех исследованных концентрациях на всех этапах жизненного цикла популяции *Tetrahymena pyriformis* и составлял от 24 до 70% ( $p < 0,05$ ) (таблица 2).

Таблица 2. — Биотический потенциал *Tetrahymena pyriformis*, культивировавшейся в средах на основе консервов мясных для детского питания

Гомогенат (белок), мг/мл	Время экспозиции, ч				
	24	48	72	96	
«Пюре из говядины»					
11,0 (1)	0,78±0,014	1,10±0,027	0,90±0,054	0,67±0,012	
22,0 (2)	0,79±0,024	2,15±0,096	1,42±0,004	1,15±0,030	
44,0 (4)	0,77±0,012	3,21±0,035	2,46±0,071	1,98±0,010	
«Пюре из мяса кролика»					
8,25 (1)	0,19±0,017*	0,38±0,0*	0,45±0,023*	0,31±0,0*	
16,5 (2)	0,26±0,026*	0,83±0,012*	0,88±0,029*	0,56±0,012*	
33,0 (4)	0,41±0,010*	1,51±0,006*	1,61±0,023*	1,18±0,021*	
«Пюре из цыпленка»					
14,3 (1)	0,45±0,021**	1,24±0,018**	0,98±0,056***	0,77±0,050***	
28,5 (2)	0,34±0,009**	2,53±0,084**	1,65±0,029**	0,57±0,010*	
57,0 (4)	0,21±0,010**	1,27±0,065**	2,37±0,110***	1,87±0,063***	
Содержание белка, мг/мл	«Пюре из мяса кролика» в % к «Пюре из говядины»				
	1	24	35	50	46
	2	33	39	62	49
	4	53	70	65	60
	«Пюре из цыпленка» в % к «Пюре из говядины»				
	1	58	113	109	115
	2	43	118	116	50
	4	27	40	96	94
«Пюре из мяса кролика» в % к «Пюре из цыпленка»					
	1	42	31	46	40
	2	76	33	53	98
	4	195	119	68	63
Примечания:					
1 — * — статистически достоверные (при уровне значимости <0,05) изменения БП <i>Tetrahymena pyriformis</i> в среде на основе «Пюре из мяса кролика» по отношению к «Пюре из говядины».					
2 — ** — статистически достоверные (при уровне значимости <0,05) изменения БП <i>Tetrahymena pyriformis</i> в среде на основе «Пюре из цыпленка» по отношению к «Пюре из мяса кролика» и «Пюре из говядины».					
3 — *** — статистически достоверные (при уровне значимости <0,05) изменения БП <i>Tetrahymena pyriformis</i> в среде на основе «Пюре из цыпленка» по отношению к «Пюре из мяса кролика».					

В сравнении со средой на основе мяса цыпленка этот показатель был выше только при содержании белка 4 мг/мл через 24 ч инкубации (195%) и через 48 ч (119%) ( $p < 0,05$ ). На всех остальных концентрациях и этапах жизненного цикла биотический потенциал среды на основе мяса кролика был ниже, чем среды, содержащей мясо цыпленка, и составлял от 31 до 76% ( $p < 0,05$ ) (таблица 2). Биотический потенциал в среде на основе пюре из цыпленка увеличился относительно этого показателя в среде на основе мяса говядины только через 48 ч при содержании белка 1 (113%) и 2 мг/мл (118%), а также через 72 ч при содержании белка 2 мг/мл (116%) ( $p < 0,05$ ) (таблица 2). При концентрациях белка 1 и 4 мг/мл через 72 и 96 ч инкубации статистически значимых различий между двумя средами не наблюдалось. На всех остальных концентрациях и этапах жизненного цикла данный показатель в среде на основе мяса цыпленка был достоверно ниже относительно мяса говядины и составлял от 27 до 58% ( $p < 0,05$ ) (таблица 2).

При расчете показателей биологической ценности консервов мясных для детского питания принималось во внимание отсутствие каких-либо проявлений вредного воздействия продукта на *Tetrahymena pyriformis*. При этом учитывались результаты определения скорости роста, биотического потенциала, численности популяции *Tetrahymena pyriformis* на этапах жизненного цикла. Показатели стандартизованной относительной биологической ценности рассчитывались и оценивались по отношению к Стандарту при уровне белка в пробах 4 мг/мл через 72 ч инкубации (таблица 3).

Таблица 3. — Биологическая ценность консервов мясных для детского питания по результатам оценки на *Tetrahymena pyriformis*

Образец	КЭБ	СОБЦ
Стандарт	0,76±0,017	100±2
«Пюре из говядины»	0,89±0,027*	118±3,3*
«Пюре из мяса кролика»	0,58±0,009*	77±1,2*
«Пюре из цыпленка»	0,85±0,039*	113±5,2*

Примечание — \* — статистически достоверные изменения (при уровне значимости  $< 0,05$ ) показателей биологической ценности консервов мясных по отношению к Стандарту.

КЭБ консервы «Пюре из мяса кролика» снизился относительно Стандарта, в то время как усвояемость «Пюре из говядины» и «Пюре из цыпленка» была значительно выше показателей Стандарта ( $p < 0,05$ ) (таблица 3).

СОБЦ «Пюре из говядины» по отношению к Стандарту увеличилась на 18% ( $p < 0,05$ ), биологическая ценность «Пюре из цыпленка» превышала показатели Стандарта на 13% ( $p < 0,05$ ), тогда как этот показатель для консервы «Пюре из мяса кролика» составлял только 77% от Стандарта. Данные результаты свидетельствуют о высокой биологической ценности консервов «Пюре из говядины» и «Пюре из цыпленка».

**Заключение.** Разработан и апробирован экспресс-метод биологической оценки на тест-модели *Tetrahymena pyriformis* консервов мясных для детского питания, учитывающий суточное потребление данного продукта детьми раннего возраста.

Определена стандартная среда сравнения для расчета биологической ценности детского питания на мясной основе — это питательная среда, содержащая полноценный белок (пептон), углеводы (глюкозу), хлорид натрия, сухой дрожжевой экстракт (источник натуральных витаминов), подсолнечное масло.

Разработанный метод позволяет изучить безвредность и биологическую ценность детского питания на мясной основе, оценить изменение этих показателей в процессе технологической переработки, а также провести сравнительную оценку детского питания на основе различных видов сырья.

#### Литература

1. Богдан, А.С. Методические подходы к оценке на *Tetrahymena pyriformis* биологической ценности и безвредности пищевой продукции / А.С. Богдан, А.М. Бондарук, В.Г. Цыганков // Здоровье и окружающая среда: сб. науч. тр. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, Респ. науч.-практ. центр гигиены; гл. ред. Г.Е. Косяченко. — Минск: РНМБ, 2013. — Вып. 22. — С. 247–251.
2. Богдан, А.С. Экстраполяция результатов оценки биологически активных веществ на *Tetrahymena pyriformis* на теплокровных животных и человека / А.С. Богдан // Актуальные проблемы научного обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения и пути их реализации. — Минск, 2000. — С. 106–107.
3. Экспресс-методы оценки биологической ценности и безвредности пищевой продукции на *Tetrahymena pyriformis*: инструкция по применению № 035-1215: утв. 21.03.2016 / А.М. Бондарук [и др]. — Минск, 2016. — 26 с.
4. Прозоровский, В.Б. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований / В.Б. Прозоровский // Психофармакология. Биол. наркология. — 2007. — Т. 7, № 3-4. — С. 2000–2120.

### METHODOLOGICAL FEATURES OF RESEARCH OF BIOLOGICAL VALUE AND HARMLESSNESS OF CANNED MEAT BABY FOOD ON *TETRAHYMENA PYRIFORMIS*

Bondaruk A.M., Svintilova T.N., Zhurihina L.N., Dolgina N.A., Tsygankov V.G.

Republican Unitary Enterprise "The Scientific and Practical Center of Hygiene", Minsk, Republic of Belarus

The method of a biological assessment of canned meat baby food on *Tetrahymena pyriformis*, considering the daily consumption of this product by young children, has been developed and approved.

The developed method allows to determine the biological value and harmlessness of meat-based child nutrition. Under the harmlessness of meat nutrition in this study understands the absence of contaminants in the product, which may have a damaging effect on the culture of *Tetrahymena pyriformis*.

**Keywords:** canned meat baby food, mashed beef, rabbit meat mash, chicken mash, biological value, harmlessness, methods of assessment, *Tetrahymena pyriformis*.

Поступила 06.06.2016