

УДК 663.874(476)

З. В. ВАСИЛЕНКО¹, Л. Н. НИКОЛАЕВИЧ², Е. А. ЦЕД¹, Л. М. КОРОЛЕВА¹, С. В. ВОЛКОВА¹

ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ И ОНКОСТАТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БЕЗАЛКОГОЛЬНОГО НАПИТКА БРОЖЕНИЯ НА ОСНОВЕ РИСОВОГО ГРИБА

¹Могилевский государственный университет продовольствия

²Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси

(Поступила в редакцию 03.02.2012)

В настоящее время безалкогольную отраслью выпускаются в основном напитки с использованием различных пищевых добавок: ароматизаторов, красителей, подкислителей, консервантов, подсластителей, которые применяют для ускорения технологического процесса, придания продукту новых свойств, удешевления стоимости и удлинения сроков их хранения [1].

Однако в последние годы в научной и популярной литературе появились диаметрально противоположные мнения о целесообразности и безопасности использования пищевых добавок при производстве безалкогольных напитков. Некоторые авторы считают, что большинство применяемых в безалкогольных производствах пищевых добавок безопасны, поскольку входят в список разрешенных в странах СНГ, в частности, в Республике Беларусь [1–3]. Однако список запрещенных пищевых добавок ежегодно расширяется за счет появления новых данных о токсичности ранее разрешенных пищевых добавок из списка [4–7].

По мнению проф. А. А. Кудряшовой, это происходит потому, что многие искусственные пищевые добавки не всегда детально изучаются до начала их широкого практического использования, и лишь спустя многие годы оказывается, что они вредны для организма человека. Подтверждением тому является опыт использования подсластителя аспартама, красителя тартразина, практическое применение которых началось гораздо раньше проведенных детальных исследований их безопасности [8, 9].

Другие авторы отмечают, что декларируемая безопасность пищевых добавок не соответствует действительности, поскольку все поступающие вместе с пищевыми добавками чужеродные для организма человека химические вещества (ЧХВ) обладают общетоксическим, гонадотоксическим, эмбриотоксическим, тератогенным и канцерогенным действиями [4–7, 10]. Взаимодействуя с веществами, входящими в состав клеток, тканей и органов человека, они могут приводить к нарушению нормальных метаболических процессов в организме, что сопровождается понижением иммунитета, возникновением всевозможных патологий, ускорением процессов старения и, как следствие, преждевременной смертью [11–13]. В связи с этим проблема производства натуральных безалкогольных напитков, не содержащих в своем составе пищевых добавок с ЧХВ, является весьма актуальной.

Альтернативой безалкогольным напиткам с использованием пищевых добавок являются натуральные напитки брожения, получаемые путем сбраживания растительного сырья специально подобранными микроорганизмами, обогащающими напиток полезными для организма человека продуктами своей жизнедеятельности.

В Могилевском государственном университете продовольствия разработана технология производства новых безалкогольных напитков брожения серии «Рисовит» с использованием в качестве сбраживающего компонента принципиально нового, ранее не применяемого источника брожения – рисового гриба, которая внедрена на ОАО «Новогрудский винзавод» [14].

Рисовый гриб представляет собой сложившуюся в ходе многовековой эволюции поликультуру микроорганизмов различных таксономических групп (молочнокислых, уксуснокислых бактерий и дрожжей) [15].

Нами было установлено, что при ферментации рисовый гриб продуцирует широкий спектр биологически ценных для организма человека веществ – витамины, аминокислоты, органические кислоты, обладает антагонистической активностью в отношении ряда условно-патогенных и патогенных микроорганизмов [16, 17]. Это в определенной степени объясняет описываемое в народной медицине значительное терапевтическое действие получаемого в домашних условиях настоя на основе рисового гриба. Он эффективен при патологиях нервной, сердечно-сосудистой, дыхательной, пищеварительной и других систем организма человека [18].

Цель настоящей работы – исследование профилактических и онкопротекторных свойств натурального безалкогольного напитка «Рисовит», полученного с использованием рисового гриба на экспериментальных моделях, имеющих большую физиологическую схожесть с организмом человека.

Материалы и методы исследований. Исследования были проведены на 120 подопытных животных (самцах 2-месячного возраста) – мышах линии ICR и крысах линии Wistar, содержащихся в стандартных условиях лабораторного вивария экспериментально-биологической клиники Института фармакологии и биохимии НАН Беларуси.

В экспериментах на мышах напиток «Рисовит», полученный на основе рисового гриба, вводили внутривентрикулярно в течение 30 дней. Контрольным животным вводили воду, которую использовали для получения напитка. Забор материала проводили на 1-е сутки после завершения эксперимента.

В I серии экспериментов изучали биохимический и иммунологический статус организма мышей после внутривентрикулярного введения напитка.

Во II серии экспериментов изучали молекулярно-клеточные эффекты в крови, костном мозге, тимусе, селезенке и печени крыс после введения напитка. Животные получали напиток неограниченно в виде питья в течение 14 дней.

В III серии опытов исследовали онкопротекторные свойства напитка на основе рисового гриба по частоте аденом легких мышей, вызываемых внутрибрюшинным введением химического мутагена уретана в дозе 1,5 мг/г веса, и определяли количество опухолей в легких на 1 мышшь и частоту опухолеобразования. Напиток рисового гриба вводили животным внутривентрикулярно в течение 30 дней.

Количество напитка рассчитывали исходя из суточной нормы потребления человека (200 мл на 70 кг веса, т. е. 2,86 г/кг массы животных), используя общепринятые коэффициенты пересчета [19]. Суточную дозу напитка «Рисовый гриб» для мыши определяли по следующей формуле:

$$2,86 \cdot 39 : 3,0 = 37,2 \text{ мл/кг,}$$

где 2,86 – количество напитка на кг массы тела человека в сутки, мл/кг; 39 – коэффициент пересчета доз для человека массой 70 кг; 3,0 – коэффициент пересчета доз для мыши средней массы около 0,020 кг.

Таким образом, каждое животное массой 20 г получало 0,74 мг напитка, что соответствовало дозе 37,2 мл/кг в течение 1 суток.

Крысы получали напиток неограниченно при свободном доступе. Поилки меняли ежедневно и измеряли объем выпитого напитка, что составило в среднем 10–12 мл напитка в сутки на одно животное.

Для оценки биохимических показателей использовали стандартные наборы для крыс и мышей, рекомендуемые для используемых приборов-анализаторов.

Биохимические показатели сыворотки крови: общий белок, активность аланинаминотрансферазы, активность аспартатаминотрансферазы, активность лактатдегидрогеназы, активность фракции МВ креатинкиназы, концентрацию мочевой кислоты, глюкозы, мочевины, холестерина, иммуноглобулина G, триглицеридов (ммоль/л) определяли с помощью готовых биохимических наборов (P. Z. Company, Poland) на автоматическом анализаторе «Hitachi-902».

Молекулярно-клеточные характеристики клеток крови, костного мозга, тимуса, селезенки, печени, мышц, семенников определяли по оценке ploидности ДНК-методом проточной цитометрии на «Cytomics FC 500» (Beckman Coulter, USA) и оценивали содержание апоптотических клеток и степень их пролиферации на разных стадиях клеточного цикла [20].

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием пакета статистики Microsoft Excel 2003 Pro. Статистически значимыми считали различия при значении $P < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. На I этапе исследований установлено (табл. 1), что внутрижелудочное введение напитка на основе рисового гриба приводит к увеличению количества общего белка, отвечающего за строительные и каталитические функции организма, а также к концентрации мочевой кислоты, что свидетельствует об активизации работы почек и снижении уровня низкомолекулярных триглицеридов, участвующих в образовании холестерина в кровеносных сосудах.

Т а б л и ц а 1. Биохимические показатели сыворотки крови мышей после внутрижелудочного введения напитка на основе рисового гриба

Показатель	Контрольная группа (n = 10)	Опытная группа (n = 30)
Общий белок, г/л	66,94±12,02	71,38±2,31
Активность аспаратаминотрансферазы, У/л	312,01±37,16	312,40±35,70
Активность аланинаминотрансферазы, У/л	75,15±3,96	76,85±4,32
Активность лактатдегидрогеназы, У/л	1402,78±117,57	1420,81±113,14
Активность фракции МВ креатинкиназы, У/л	24,40±3,80	29,72±4,94*
Концентрация мочевой кислоты, ммоль/л	83,15±11,18	87,63±12,70
Концентрация мочевины, ммоль/л	15,85±1,22	16,19±0,97
Концентрация глюкозы, ммоль/л	10,78±0,34	10,72±0,30
Концентрация холестерина, ммоль/л	2,97±0,12	2,50±0,12*
Концентрация иммуноглобулина G, г/л	0,03±0,01	0,36±0,12*
Концентрация триглицеридов, ммоль/л	1,20±0,17	1,17±0,14*

* $P < 0,05$. То же для табл. 2.

Вышеприведенные данные свидетельствуют о стимуляции обменных процессов в организме животных и позволяют сделать вывод, что напиток на основе рисового гриба обладает профилактическими свойствами, участвуя в регуляции метаболической активности организма.

Особое значение имеет установленный факт значительного (в 12 раз) увеличения концентрации иммуноглобулинов G, отмечаемое после внутрижелудочного введения животным напитка на основе рисового гриба, что свидетельствует о повышении иммунитета животных. Учитывая, что от количественного содержания иммуноглобулинов в крови напрямую зависит иммунный статус организма, то даже незначительное увеличение указанных антител в крови свидетельствует об иммуностимулирующем действии изучаемого напитка на экспериментальные модели.

II этап исследований. Известно, что процессы деления (пролиферации) и гибели (апоптоз) клеток взаимозависимы и составляют единый механизм в поддержании стабильности гомеостаза. Апоптоз является широко распространенным механизмом, ответственным за поддержание постоянства численности клеток в организме, формообразование и удаление дефектных клеток. Старение организма сопровождается снижением пролиферации клеток и ослаблением органов и систем.

Изучение указанных молекулярно-генетических характеристик клеток после введения напитка на основе рисового гриба показало однотипную динамику их изменения в органах различной функциональной направленности – снижение количества апоптотических и возрастание пролиферативных клеток (табл. 2).

Уровень пролиферации клеток изучаемых органов составлял от 0,6 до 45%, причем максимальной пролиферативной активностью обладали клетки сердца (+45%), семенников (+40%), ти-

Т а б л и ц а 2. Молекулярно-клеточные характеристики клеток органов различной функциональной специализации после введения напитка на основе рисового гриба, %

Вариант опыта	Апоптотические клетки	Пролиферативные клетки
<i>Костный мозг</i>		
Контрольная группа	3,77±0,4	20,92±0,8
Опытная группа	3,34±0,3	21,05±0,9
<i>Кровь</i>		
Контрольная группа	28,81±2,8	12,82±0,7
Опытная группа	27,45±4,1	16,54±2,0*
<i>Тимус</i>		
Контрольная группа	1,8±0,3	16,06±5,1
Опытная группа	1,79±0,1	22,22±2,3*
<i>Селезенка</i>		
Контрольная группа	17,14±0,8	12,98±1,7
Опытная группа	15,40±1,1	14,93±3,3
<i>Печень</i>		
Контрольная группа	48,2±4,3	10,35±2,6
Опытная группа	42,51±4,3*	12,8±4,2
<i>Мышцы</i>		
Контрольная группа	32,27±2,5	21,26±7,6
Опытная группа	26,4±2,4*	21,77±9,2
<i>Семенники</i>		
Контрольная группа	57,27±2,8	22,73±4,7
Опытная группа	57,29±2,3	31,39±6,0*
<i>Сердце</i>		
Контрольная группа	44,5±5,1	19,53±2,2
Опытная группа	37,5±4,8	28,29±2,6*

П р и м е ч а н и е. Контроль ($n = 10$) – группа животных, получавших воду; опыт ($n = 30$) – группа животных, получавших напиток на основе рисового гриба.

муса (+38%), крови (+29%); минимальной – костного мозга (+0,6%). Уровень апоптотических клеток вышеуказанных органов снижался с 6% (в костном мозге) до 19% (в мышцах).

Таким образом, установлено, что во всех изучаемых органах подопытных животных происходит увеличение скорости пролиферации клеток и снижение количества апоптотических клеток, что свидетельствует о стимулирующем действии напитка на основе рисового гриба на клетки различной функциональной специализации в организме, причем максимальный стимулирующий эффект напитка отмечается в клетках семенников, тимуса, сердца и крови.

III этап исследований. Исследования влияния напитка на основе рисового гриба на процессы опухолеобразования проводили на наиболее онкочувствительной линии мышей линии ICR 2–3-месячного возраста, весом 18,0–25,0 г, которые используются как одна из моделей для изучения процессов канцерогенеза в легких. Животные находились в стационарных условиях вивария при температуре $22 \pm 1,0$ °C со свободным доступом к воде и пище.

Полученные результаты (рисунок) свидетельствуют, что потребление напитка на основе рисового гриба снижает уровень спонтанного канцерогенеза на 4,7% по сравнению с контрольной группой животных, получавших только воду.

При введении уретана количество опухолей в легких возрастало в 5,6 раза по сравнению с контрольной группой животных.

Совместное введение уретана и напитка на основе рисового гриба приводило к снижению количества индуцированных уретаном опухолей на 46%, что позволяет говорить об онкопротекторном действии напитка по отношению к данной патологии.

Обнаруженное онкопротекторное действие напитка на основе рисового гриба, по-видимому, может являться следствием повышения иммунного статуса организма подопытных животных,

6. *Aboel-Zahab, H.* Physiological effects of some synthetic food colouring additives on rats // *Boll Chim Farm.* – 1997. – N 136(10). – P. 615–627.
7. *Bhatia M. S.* Allergy to tartrazine in psychotropic drugs / *M. S. Bhatia* // *Journal of Clinical Psychiatry.* – 2000. – Vol. 61(7). – P. 473–476.
8. *Кудряшова, А. А.* Пищевые добавки и продовольственная безопасность / *А. А. Кудряшова, Л. И. Шокина* // *Пищевые ингредиенты. Сырье и добавки.* – 2000. – № 1. – С. 4–8.
9. *Кудряшова, А. А.* Пищевые добавки и продовольственная безопасность / *А. А. Кудряшова* // *Пищевая промышленность.* – 2000. – № 7. – С. 36–37.
10. *Казаков, Е. Д.* Польза и вред пищевых добавок / *Е. Д. Казаков* // *Изв. вузов. Пищевая технология.* – 1997. – № 6. – С. 72.
11. *Казаков, Е. Д.* Метаболизм и пищевые добавки / *Е. Д. Казаков* // *Изв. вузов. Пищевая технология.* – 2001. – № 4. – С. 52–55.
12. *Кулев, Д. Х.* О качестве и безвредности пищевых добавок / *Д. Х. Кулев* // *Пищевые ингредиенты. Сырье и добавки.* – 2003. – № 1. – С. 48–50.
13. *Рогов, И. А.* Пищевая биотехнология: в 4 кн. / *И. А. Рогов, Л. В. Антипова, Г. П. Шуваева.* – Кн. 1. Основы пищевой биотехнологии – М.: КолосС, 2004. – 440 с.
14. Рисовит – уникальная новинка от ОАО «Новогрудский винзавод» // *Знак качества.* – 2011. – № 2. – С. 32–34.
15. Идентификация микробного состава поликультуры рисового гриба как основы получения ферментированных безалкогольных напитков / *Л. М. Королева* [и др.] // *Пиво и напитки.* – 2007. – № 2. – С. 40–42.
16. Рисовый гриб как продуцент биологически ценных веществ при получении натуральных безалкогольных напитков брожения / *Л. М. Королева* [и др.] // *Пиво и напитки.* – 2010. – № 4. – С. 12–13.
17. Натуральные напитки брожения на основе рисового гриба как перспективное направление развития современного безалкогольного производства / *З. В. Василенко* [и др.] // *Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. аграр. навук.* – 2011. – № 3. – С. 108–113.
18. *Филиппова, И. А.* Грибы, которые лечат / *И. А. Филиппова.* – СПб.: ВЕСЬ, 2004. – 224 с.
19. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. проф. *Р. У. Хабриева.* – 2-е изд. перераб. и доп. – М., 2005. – С. 48–50.
20. Научные и практические аспекты нового подхода к оценке свойств функциональных продуктов питания на основе натуральных ингредиентов / *Л. Н. Николаевич* [и др.] // *Пищевая промышленность: наука и технологии.* – 2011. – № 1. – С. 76–80.

Z. V. VASILENKA, L. N. NIKOLAEVICH, E. A. TSED, L. M. KOROLEVA, S. V. VOLKOVA

**PROPHYLACTIC AND ONCOSTATIC PROPERTIES OF SOFT DRINK FERMENTED
ON THE BASIS OF RICE FUNGUS**

Summary

The paper presents the results of a complex pre-clinical assessment of a soft drink fermented on the basis of rice fungus. It's shown on the experimental models that this drink possesses prophylactic, immunostimulatory and oncostatic properties, which allow to recommend it for people, especially those living in environmentally unfriendly regions.