

КРИЖАНОВСЬКА М. А.^{1✉}, ГОЛУБ Н. Я.², ПРОКОП'ЯК М. З.¹, ГОЛІНЕЙ Г. М.¹

¹ Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка, Україна, 46027, м. Тернопіль, вул. М. Кривоноса, 2, ORCID: 0000-0002-7802-5246, 0000-0002-2846-4208, 0000-0003-4346-9151

² Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна, 79005, м. Львів, вул. Грушевського, 4

✉ kryganovska@chem-bio.com.ua

ВПЛИВ ХАРЧОВИХ М'ЯСНИХ СМАКОАРОМАТИЧНИХ ДОБАВОК НА ВИНИКНЕННЯ ДОМІНАНТНИХ ЛЕТАЛЬНИХ МУТАЦІЙ У *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Мета. Дослідити мутагенний вплив смакоароматичних добавок м'ясних продуктів харчування компанії «Indasia» на виникнення домінантних летальних мутацій у *Drosophila melanogaster*. **Методи.** У роботі застосовано метод обліку домінантних летальних мутацій (ДЛМ) на *D. melanogaster*, який дозволяє фіксувати ранню (РЕЗ) і пізню (ПЕЗ) ембріональну загибель. **Результати.** Введення смакоароматичної добавки «Спеції для білих ковбасок гриль» у рекомендованій дозі викликало зменшення кількості відкладених яєць на 45 % відповідно до контрольної групи. Відмічено зростання кількості яєць з РЕЗ у 3 рази, а з ПЕЗ – у 5,5 рази ($P < 0,95$). Встановлено збільшення частоти виникнення ДЛМ у 5 разів відносно контрольної групи. Застосування смакоароматичної добавки «Ароматизатор зі смаком свинини» у рекомендованій дозі викликає зменшення відкладених яєць на 13 %, а у дозі збільшеній у 10 разів на 28 %, порівняно з контролем. Рекомендована доза викликає зростання як РЕЗ, яка у 3,6 раза перевищує рівень контрольної групи ($P > 0,95$), так і ПЕЗ, яка була вищою, порівняно із контролем, у 4,8 раза ($P > 0,95$). Підвищена у 10 разів доза призводить до збільшення кількості яєць з ранньою і пізньою ембріональною загибеллю відповідно у 4,9 та 4 рази, порівняно з контролем. Частота ДЛМ у рекомендованій дозі склала 6,49 %, а десятикратно збільшеній дозі – 8,67 % відповідно до контрольної групи. **Висновки.** Використання у живильному середовищі для личинкового згодовування самцям *D. melanogaster* лінії дикого типу Oregon смакоароматичної добавки «Спеції для білих ковбасок гриль» компанії «Indasia» у рекомендованій дозі показало збільшення частоти виникнення ДЛМ у 5 разів відносно контролю, а

десятикратно збільшена доза викликала підсилення мутагенної активності і призвела до повної загибелі імаго. Додавання смакоароматичної добавки «Ароматизатор зі смаком свинини» у рекомендованій дозі спричинює збільшення мутагенного ефекту у 3,5 рази, порівняно з контролем, та підвищує зростання частоти ДЛМ у 5,6 разів за використання її у дозі, збільшеній у 10 разів.

Ключові слова: *Drosophila melanogaster*, домінантні летальні мутації, харчові м'ясні ароматизатори, мутагенез, генотоксичний вплив.

Однією з найважливіших проблем здорового людського суспільства є повноцінне харчування, оскільки все необхідне для життєдіяльності людина отримує з їжі і води. У процесі харчування компоненти їжі зазнають ряд послідовних перетворень і трансформуються в енергію фізіологічних функцій і структурні елементи органів й тканин людини [1].

Проте сучасна людина з їжею отримує не лише біологічно активні, натуральні пластичні і енергетичні компоненти, але і компоненти антропогенного походження (харчові добавки, хлороорганічні і фосфорорганічні сполуки, радіонукліди, поліциклічні ароматичні вуглеводні, нітрозаміни та різного роду біологічні забруднювачі), які здатні впливати практично на всі системи живого організму, погіршувати здоров'я людини й призводити до неочікуваних і небажаних наслідків [2].

Виготовлення харчових продуктів масового споживання передбачає використання сучасних технологій виробництва і застосування різноманітних харчових добавок. Харчові добавки, як правило синтетичного походження та не мають харчового призначення і поживної цінно-

сті, сторонні для організму людини й не вживаються як самостійна їжа. Їх застосування передбачає полегшення і вдосконалення технологічного процесу виробництва продукту, його стійкість до різного виду псування й збільшення терміну зберігання, а найголовніше, збереження структури продукту, його зовнішнього вигляду і покращення смакових якостей [1, 3].

На сьогодні відомо 23 класи харчових добавок. Це барвники, консерванти, антиокисники, емульгатори, загущувачі, желюючі речовини, стабілізатори, підсилювачі смаку, ароматизатори, підсолоджувачі, розпушувачі, наповнювачі й ряд інших [2]. Будь-яка харчова добавка, як хімічна сполука, вважається безпечною за умови відсутності у неї гострої й хронічної токсичності, канцерогенності, мутагенної властивості. Для виробництва продуктів харчування допускаються харчові добавки, що за даними сучасних наукових досліджень не чинять негативного впливу на життя й здоров'я людини і не є шкідливими для майбутніх поколінь [4]. Застосування харчових добавок регулюється різними нормативними актами [5, 6].

Щорічно значно розширюється асортимент харчових добавок, а перелік продуктів харчування без їх використання зменшується. М'ясні вироби характеризуються значним вмістом харчових добавок. Ароматизатори і смакові добавки сприяють формуванню аромату готового продукту, отриманню оптимального смаку і запаху для м'ясопродуктів певної спрямованості, що виготовляються за рецептами з великими замінами м'ясної сировини, а також з використанням низькосортної сировини, усуненням специфічного присмаку в готовому продукті. Найчастіше такі добавки використовують у вигляді комплексних сумішей і вводяться на першій стадії м'ясорублення. До їх складу входять екстракти натуральних спецій і хімічні речовини: мальтодекстрин, декстроза, двооксид кремнію, бензойна кислота, стабілізатори – фосфатовмісні суміші (пірофосфати E450, трифосфати E451), аскорбат натрію, підсилювачі смаку (глутамат натрію E621), антиоксиданти (E300, E316), сіль. Завдяки добавкам формується індивідуальний смак м'ясних виробів, стабілізується колір на зрізі продукту [2, 7].

Деякі харчові добавки визнаються небезпечними для здоров'я людини і їх застосування забороняється [8, 9]. У науковій літературі наявні дані, які отриманні з використанням різних тест-систем на тваринних і рослинних об'єктах і

свідчать про мутагенну активність більшості з цих сполук [10–12]. Крім того на сьогодні існує велика кількість ароматичних і смакових хімічних сполук та їх сумішей, які ще повністю не вивчені й потребують додаткових досліджень і аналізу. Тому виробництво м'ясних продуктів харчування, контроль за їх якістю завжди були і залишаються життєво важливими проблемами, які дедалі ускладнюються і загострюються через зростання споживання і зменшення природних ресурсів м'ясної сировини. Мета наукової роботи полягала у дослідженні мутагенного впливу смакоароматичних добавок м'ясних продуктів харчування фірми «Indasia» на виникнення домінуючих летальних мутацій у *Drosophila melanogaster*.

Матеріали і методи

Матеріалом було обрано смакоароматичні добавки «Ароматизатор зі смаком свинини» і «Спеції для білих ковбасок гриль» компанії «Indasia», що належить до продовольчої групи Moguntia і є виробником змішаних спецій для харчової промисловості. На сьогодні налічує близько 40 відділень, що охоплюють всі європейські країни, США, Південну Америку, Японію, Південну Корею і Туніс [13]. На етикетках досліджуваних добавок наводиться склад і рекомендована доза застосування. Відповідно з інформації етикетки харчової добавки «Спеції для білих ковбасок гриль» відомо, що до її складу входять: декстроза, регулятор кислотності E331, спеції, аромат лимону, а рекомендована доза застосування 10 г на 1 кг м'яса. Склад добавки «Ароматизатор зі смаком свинини» включає: сіль, сахарозу, підсилювач смаку E621, ароматизатор E551, а рекомендована доза – 1 г на 1 кг м'яса. Через широкі обсяги асортименту м'ясної продукції і значні норми його споживання, нами, крім рекомендованої дози, вивчався вплив збільшеної у 10 разів дози.

Генетоксичну дію смакоароматичних добавок досліджували методом домінуючих летальних мутацій (ДЛМ) на *Drosophila melanogaster* лінії дикого типу *Oregon*, яка характеризується життєздатністю і високою інтенсивністю яйцекладки. Принцип методу полягає у порівнянні частоти виникнення ранньої і пізньої ембріональної загибелі у контролі й під дією досліджуваних речовин. Перевагою методу ДЛМ є те, що домінуючі мутації проявляються і в гетерозиготному стані, тому можна точніше визначити кількість мутаційних пошкоджень геному.

Експериментом передбачалось внесення для личинкового згодювання у живильне середовище досліджуваних добавок у відповідних концентраціях. Серед одержаних нащадків відбирали самців, яких схрещували з віргінними інтактними самками і висаджували на агарові пластини. Через 24 години у свіжих яйцекладках підраховували загальну кількість відкладених яєць. Після 48 годин перебування у термостаті здійснювали облік трьох типів яєць: прозорих (незапліднених), матових (рання загибель до 9 годин ембріонального розвитку) і забарвлених від жовтого до коричневого кольору (пізня ембріональна загибель після 9 годин розвитку). Частоту (%) ДЛМ розраховували за співвідношенням кількості яєць з ДЛМ до кількості запліднених яєць [14]. За допомогою коефіцієнта Стюдента (t) встановлювали достовірність різниці між дослідом і контролем, а також між окремими варіантами дослідю.

Результати та обговорення

Результати внесення у живильне середовище *D. melanogaster* смакоароматичної добавки «Спеції для білих ковбасок гриль» за рекомендованої дози та десятикратно збільшеної дози подано у таблиці 1 і на рисунку 1.

Отримані дані показали, що у мух контрольної групи середня кількість відкладених яєць становила 454 штуки, а використання смакоароматичної харчової добавки «Спеції для білих

ковбасок гриль» у рекомендованій дозі призвело до зменшення їх кількості на 45 % за рахунок цитотоксичного або мутагенного ефекту. На дослідному живильному середовищі спостерігалося достовірне збільшення незапліднених яєць до 10,0 ($P > 0,95$), проти контролю – 1,66. Кількість відкладених яєць з ранньою ембріональною загибеллю зросла і становила 9,66 штук, що практично у 3 рази перевищує контрольний рівень ($P < 0,95$). Кількість яєць з пізньою ембріональною загибеллю збільшилась до 14,66 штук, у той час як у контролі вона становила 2,66 ($P < 0,95$). Частота виникнення ДЛМ у 5 разів перевищувала рівень спонтанного мутування контрольної групи. Одержані результати свідчать про те, що досліджувана смакоароматична добавка вже у рекомендованій дозі веде до втрати життєвих функцій і летальності, починаючи з раннього етапу розвитку ембріона, як тільки запускаються процеси диференціації. Очевидно, складові компоненти добавки взаємодіють з білками, що знаходяться на мембранах клітин і призводять до порушення її функцій, а відтак ведуть до загибелі клітини. Ймовірно, що пошкодження геному, зумовлені добавкою «Спеції для білих ковбасок гриль», є настільки значними, що зміни в структурі ДНК залишаються нерепарованими і призводять до загибелі ембріона не лише на перших годинах розвитку, а і протягом пізнього ембріонального терміну.

Таблиця 1. Частота доміантних летальних мутації (ДЛМ) під дією смакоароматичної добавки «Спеції для білих ковбасок гриль»

Група	Контроль	«Спеції для білих ковбасок гриль»	
Доза	–	Рекомендована	x10
К-сть відкладених яєць	454,0±11,54	249,33±10,33	-
К-сть незапліднених яєць	1,66±0,21	10,0±0,87	-
td	-	12,8	-
P	-	> 0,95	-
К-сть яєць з РЕЗ	3,33±1,85	9,66±1,78	-
td	-	5,4	-
P	-	< 0,95	-
К-сть яєць з ПЕЗ	2,66±0,81	14,66±2,9	-
td	-	5,17	-
P	-	< 0,95	-
Частота ДЛМ, %	1,86±0,03	10,15±0,22	-

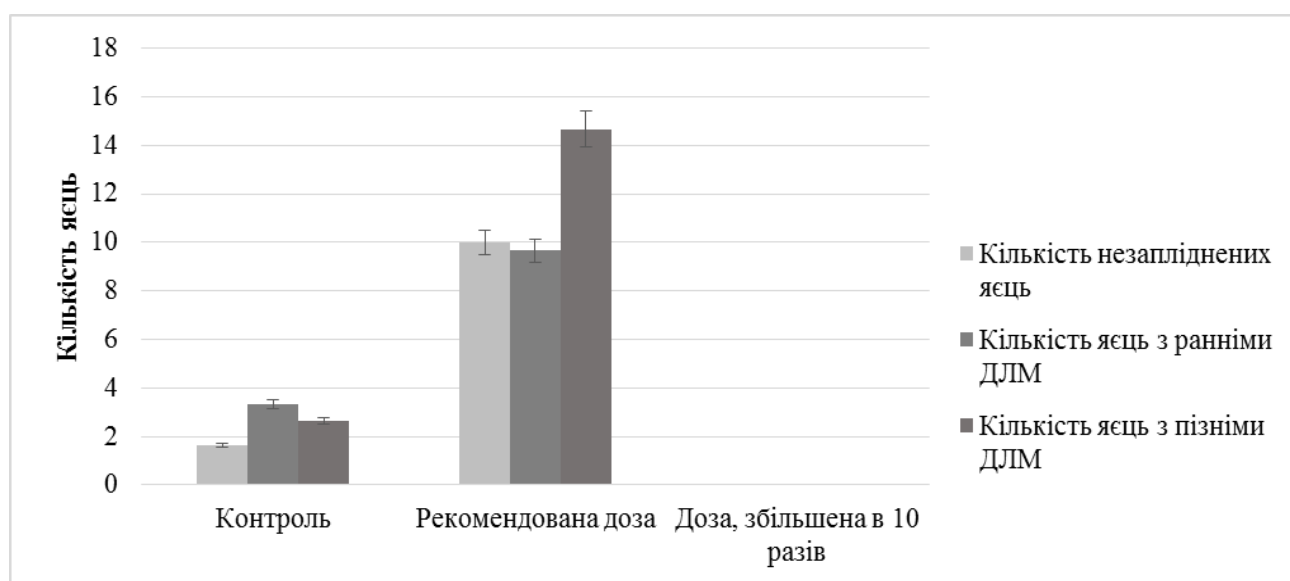


Рис. 1. Частота домінантних летальних мутацій (ДЛМ) під дією смакоароматичної добавки «Спеції для білих ковбасок гриль».

Введення у живильне середовище смакоароматичної харчової добавки «Спеції для білих ковбасок гриль» у десятикратно збільшеній дозі викликало повну загибель нащадків.

Генотоксичний вплив самоароматичної добавки «Ароматизатор зі смаком свинини» показаний у таблиці 2 і рисунку 2.

Результати дослідження показали, що за використання рекомендованої дози добавки середня кількість відкладених яєць становила 395 штук, що на 13 % менше, ніж у контрольній групі. Дія добавки достовірно спричинила під-

вищення середньої кількості незапліднених яєць до 10 штук, проти 1,66 ($P > 0,95$) контрольної групи. Серед запліднених яєць виявлено 12 з РЕЗ, що у 3,6 рази перевищує рівень контрольної групи ($P > 0,95$) та 13 з ПЕЗ, що було вище за контроль у 4,8 рази ($P > 0,95$). Імовірно, що складові компоненти харчової добавки індукують генні та/або хромосомні мутації і за личинкового згодовування збільшують частоту мутагенного навантаження, викликаючи загибель імаго.

Таблиця 2. Частота домінантних летальних мутацій (ДЛМ) під дією смакоароматичної добавки «Ароматизатор зі смаком свинини»

Група	Контроль	«Ароматизатор зі смаком свинини»	
		Рекомендована	x10
Доза	–		
К-сть відкладених яєць	454,0±11,54	395,0±28,36	326,0±15,97
К-сть незапліднених яєць	1,66±0,21	10,0±0,7	10,2±3,0
td	-	14,28	3,33
P	-	> 0,95	< 0,95
К-сть яєць з РЕЗ	3,33±1,85	12,0±1,41	12,0±1,41
td	-	12,73	12,73
P	-	> 0,95	> 0,95
К-сть яєць з ПЕЗ	2,66±0,81	13,0±0,7	10,66±0,8
Td	-	18,57	13,32
P	-	> 0,95	> 0,95
Частота ДЛМ, %	1,86±0,03	6,49±0,01	10,53±0,2

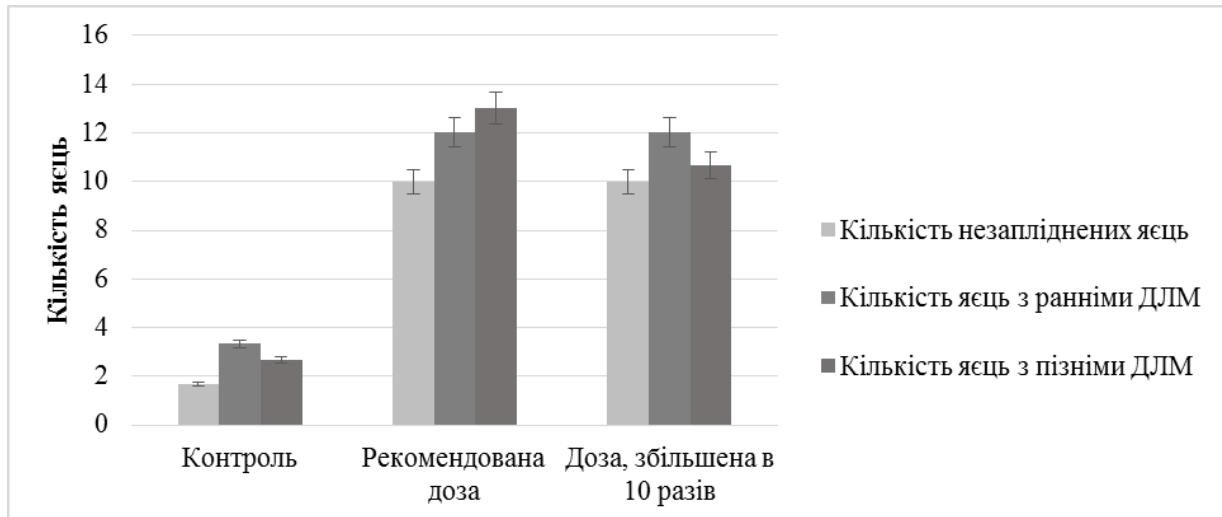


Рис. 2. Частота доміантних летальних мутацій під дією смакоароматичної добавки «Ароматизатор зі смаком свинини».

Додавання у поживне середовище цієї смакоароматичної добавки у дозі, збільшеній у 10 разів, призвело до зменшення числа відкладених яєць на 28 %, порівняно з контролем. Ця доза викликає збільшення числа яєць з ранньою і пізньою ембріональною загибеллю відповідно у 4,9 та 4 рази, порівняно з контролем ($P > 0,95$). Проте спостерігалось незначне зменшення кількості яєць з ПЕЗ, що свідчить про здійснення як конститутивних, так і індукційних систем репарації.

Частота спонтанного виникнення доміантних летальних мутацій у контрольній групі становила 1,86 %, тоді як під час використання досліджуваної добавки у рекомендованій дозі – 6,49 %, а десятикратне збільшення дози призвело до підвищення частоти утворення ДЛМ, порівняно з контролем, на 8,67 %.

Отримані результати показали, що досліджувані смакоароматичні харчові добавки виявляли статистично достовірну мутагенну активність, причому дія добавки «Спеції зі смаком білих ковбасок гриль» була вираженішою, порівняно з дією добавки «Ароматизатор зі смаком свинини».

вняно з дією добавки «Ароматизатор зі смаком свинини».

Висновки

Аналіз отриманих показників показав, що досліджувані смакоароматичні харчові добавки компанії «Indasia» володіють генотоксичним впливом вже у рекомендованій дозі і викликають мутагенну активність й збільшення частоти виникнення ДЛМ у *D. melanogaster*. Так, використання рекомендованої дози добавки «Спеції для білих ковбасок гриль» викликало збільшення ДЛМ у 5 разів; доза, збільшена в 10 разів, спричинила повну загибель імаго. Додавання рекомендованої дози смакоароматичної добавки «Ароматизатор зі смаком свинини» збільшило частоту ДЛМ у 3,5 рази; збільшення дози в 10 разів призвело до зростання ДЛМ у 5,6 рази. Зазначений на етикетці компонентний склад добавки не дає можливість виявити наявності шкідливої сполуки. Імовірно, має місце сумарний негативний мутагенний ефект дії складових компонентів добавки.

References

1. Kharchovi dobavky : Metodychni vказivky do praktychnykh robot dlia studentiv napriamu pidgotovky 6.051701 "Kharchovi tekhnologii ta inzheneriia" / O.L. Humeniuk. Chernihiv : ChNTU, 2014. 105 s. [in Ukrainian]
2. Honcharenko T. P., Zabelina A. O., Honcharenko O. H. Food additions as object of monitoring researches. Visnyk KDPU imeni Mykhaila Ostrohradskoho. 2007. Vyp. 6/2007 (47), Chastyna 2. S. 74–77. Retrieved from: [http://www.kdu.edu.ua/statti/2007-6-2\(47\)/74.pdf](http://www.kdu.edu.ua/statti/2007-6-2(47)/74.pdf). [in Ukrainian]
3. Smolyar V. I. Suchasni problemy vykorystannya kharchovykh dobavok. *Problemy kharchuvannya*. 2009. № 1/2. S. 5–13. Retrieved from: http://medved.kiev.ua/web_journals/arhiv/nutrition/2009/1-2_09/str05.pdf. [in Ukrainian]
4. Nedosiekova N. S. Problemy vykorystannya kharchovykh dobavok: prodovolcha bezpeka. *Bezpeka zhyttiedialnosti*. 2009. № 7. S. 2–3. Retrieved from: http://www.rusnauka.com/11_EISN_2008/Chimia/30448.doc.htm. [in Ukrainian]
5. Pro bezpechnist ta iakist kharchovykh produktiv : Zakon Ukrainy. Retrieved from: http://search.ligazakon.ua/l_doc2.nsf/link1/ed_2011_02_03/Z970771.html. [in Ukrainian]

6. Nakaz MOZ № 222 vid 23.07.1996 p. zi zminamy, vnesenymy nakazom MOZ № 218 vid 23.07.1998 r. «Pro zatverdzhennia sanitarnykh pravyl i norm po zastosuvanniu kharchovykh dobavok. Retrieved from: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0715-96#Text>. [in Ukrainian]
7. Syrokhman I. V., Lozova T. H. Tovaroznavstvo miasa y miasnykh vyrobiv : pidruchnyk 2-he vyd., pererob. ta dop. Kyiv : TsUL, 2017. 378 s. [in Ukrainian]
8. Zaboroneni kharchovi dobavky (abo shche ne dozvoleni) v Ukraini : Ofitsiyni sait : Kharchovi dobavky. Retrieved from: <http://dobavki-info.org.ua/zaboroneni-harchovi-dobavky.html>. [in Ukrainian]
9. Buldakov A. S. Pishhevy`e dobavki : spravochnik. SPb. : Severo-Zapad, 1996. S. 10–13, 51–68. [in Russian]
10. Bodnar I. V., Andreyko O. Y., Bodnar L. S. Identification of changes at the gene level in *Salmonella typhimurium* by the action of food flavorings. *The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University. Series: biology*. 2013 Is. 18, № 1079. S. 64–70. Retrieved from: [http://seriesbiology.univer.kharkov.ua/ukr/18\(2013\)/pdf/64.pdf](http://seriesbiology.univer.kharkov.ua/ukr/18(2013)/pdf/64.pdf). [in Ukrainian]
11. Bodnar I. V., Zubko O. S., Shcherbakova O. V., Gorbulska S. M., Bodnar L. S. Detection of changes in chromosomal level in eukaryotic organisms under the influence of food synthetic flavors and correcting them with vitamin chemioprotectors. *Factors in Experimental Evolution of Organisms*. 2016. Vol. 18. P. 67–71. [in Ukrainian]
12. Kryzhanovska M. A., Holub N. Ia. Number change of *Drosophila melanogaster* against the background of the vanillin confectionery flavor usage. *Scientific Issue Ternopil Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University. Series: Biology*. 2020. № 1–2 (79). S. 68–73. doi: 10.25128/2078-2357.20.1-2.9. [in Ukrainian]
13. Siegfried Sachse: Indasia wächst vor allem im Ausland. In: noz.de. 25. Juni 2014, abgerufen am 10. April 2016.
14. Medvedev N.N. Prakticheskaia genetika. M. : Nauka, 1968. 294 s. [in Russian]

KRYZHANOVSKA M. A.¹, HOLUB N. Ya.², PROKOPIAK M. Z.¹, HOLINEI H. M.¹

¹ Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University,
Ukraine, 46027, Ternopil, M. Kryvonosa str., 2

² Ivan Franko Lviv National University,
Ukraine, 79000, Lviv, Hrushevskoho str., 4

INFLUENCE OF MEAT FLAVORED FOOD ADDITIVES ON THE OCCURRENCE OF DOMINANT LETHAL MUTATIONS IN *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Aim. To investigate the mutagenic effect of meat flavored food additives of the Indasia food company on the occurrence of dominant lethal mutations in *Drosophila melanogaster*. **Methods.** The method of the accounting of dominant lethal mutations (DLM) in *Drosophila melanogaster* was used. This method allows recording early and late embryonic death. **Results.** Using the meat flavored food additive “Spices for grilled white sausages” in the recommended dose caused a decrease in the number of eggs by 45 %, according to the control group. An increase in the number of eggs with early embryonic death by 3 times, and eggs with late embryonic death by 5.5 times was noted ($P < 0.95$). A 5-fold increase in the frequency of DLMs compared to the control group was established. Using the meat flavored food additive “Flavoring with the taste of pork” in the recommended dose caused a decrease in the number of eggs by 13 %, according to the control group. Using this meat flavored food additive in a dose increased by 10 times caused a decrease in the number of eggs by 28 %, according to the control group. The recommended dose caused an increase the early embryonic death which was 3.6 times higher than in the control group ($P > 0.95$), and an increase late embryonic death which was 4.8 times higher than in the control group ($P > 0.95$). The frequency of DLMs in the recommended dose was 6.49 %, and in the tenfold increased dose – 8.67 %, according to the control group. **Conclusions.** The meat flavored food additives of the Indasia food company have a genotoxic effect in the recommended dose and cause the mutagenic activity and an increase of the frequency of occurrence of dominant lethal mutations in *D. melanogaster*.

Keywords: *Drosophila melanogaster*, dominant lethal mutation, meat flavored food additives, mutagenesis, genotoxic effect.