Региональная конференция
по научно-техническому творчеству школьников
«Лабиринты науки»

Секция экология

Изучение генотоксической активности энергетика марки «Flash»с использованием лука в качестве тест-объекта

Исследовательская работа

Выполнена учеником
10 естественно-научного класса
Средней школы
«Провинциальный колледж»
Казанцевым Борисом Леонидовичем

Научный руководитель –
Кандидат биологических наук,
Учитель биологии, зам.директора ГОУ ЯО Средняя школа «Провинциальный колледж»
Фомичева Анна Николаевна

Ярославль, 2023

Оглавление

Введение 3

Глава III. Результаты исследования и их обсуждение 8

Список использованной литературы 13

Глава I. Обзор литературы 14

1.1. Классификация и химический состав энергетиков 14

1.2. Влияние энергетиков на здоровье человека 17

Введение

В настоящее время существует проблема большой загруженности учеников старших классов. Из-за этого большую популярность приобрели энергетические напитки. При этом, многие ученики 10-11 классов не знают о вреде энергетиков.

Эксперты из эстонского отделения ВОЗ в журнале “Frontiers in Public Health” (2014) опубликовали результаты исследования, согласно которым в Европе 1 /3 взрослых, каждый пятый ребенок и более 2 /3 подростков пьют энергетики. В то время как взрослые получают из них только 8% потребляемого кофеина, у детей этот показатель гораздо выше и составляет 43%. Поэтому ученые предупреждают об опасности кофеиновой интоксикации, которая намного сильнее выражена у детей, чем у взрослых.

Генотоксичность — это термин, нарушение клеточного генетического материала, влияющее на его целостность. Генотоксичные вещества потенциально мутагенны или канцерогенны, в частности, способны привести к мутации или к развитию опухоли. К ним относятся как определенные типы химических соединений, так и определенные типы радиации.

Нарушения генетического аппарата в половых клетках не сказывается на здоровье организма, подвергшегося воздействию, но, оказавшись при слиянии гамет в зиготе, окажутся в каждой клетке нового организма. Последствия этого могут проявиться в разные этапы онтогенеза и выражаться как: стерильность; несостоявшаяся беременность, связанная с гибелью на самых ранних этапах развития, так что беременность может быть и не диагностирована; самопроизвольные выкидыши (абортусы); перинатальная смертность (смертность во время родов); врожденные пороки развития; наследственные болезни. Вероятно, все перечисленные нарушения

– это надводная часть айсберга, так как нам ещё не известны все последствия при различных вариантах генетических нарушений.

На данный момент во всем мире передовыми научными центрами проводится исследования генотоксической активности факторов окружающей среды. Однако такие исследования генотоксического эффекта энергетиков практически не проводятся.

Цель исследования - изучить генотоксическую активность энергетика марки «Flash» с использованием лука в качестве тест-объекта.

Задачи исследования:

1. Определить длину корней лука при воздействии разных концентраций энергетика.
2. Определить митотический индекс в меристеме лука при разных концентрациях энергетика.
3. Определить индексы фаз митоза в меристеме лука при разных концентрациях энергетика.
4. Сравнить данные, полученные для различных концентраций энергетика.

   Обзор литературы по теме исследования (Глава 1) представлен в приложении 1.

Глава II. Материалы и методы

Материал исследования –энергетик марки «Flash».

Состав энергетика «Flash», указанный производителем: таурин, кофеин, витамин с, ниацин, пантотеновая кислота, витамин В6, фолиеновая кислота.

Проводили серию последовательных разведений энергетика с помощью воды (таблица 1). Для разведения использовали воду марки «Улеймская» из скважины № 119, жесткостью не более 7 мг-экв/л, с минеральными солями не более (мг/л): Кальций 130; Магний 65; Калий 20; Гидрокарбонаты 400; Сульфаты 250; Хлориды 250 (соответствует ТУ 0131-002-05098305-2015, производитель ООО «Угличский завод минеральной воды»).

Таблица 1

Концентрации растворов энергетика, использованные в эксперименте

Вариант опыта	Концентрация раствора энергетика (%)
контроль	0
1	1
2	0,01
3	0,001

Для изучения генотоксичности энергетика был использован *Allium test*, рекомендованный экспертами Всемирной Организации Здравоохранения как стандарт в цитогенетическом мониторинге окружающей среды и как альтернатива генотоксикологическим тестам на лабораторных животных. Объектом в данном тесте являются корешки лука посевного - *Allium cepa* сорта Штутгартен ризен. Выбранный нами для исследования тест на растительном организме экономичен, поскольку на нем можно регистрировать геномные, хромосомные и генные генетические повреждения (в отличие от микроорганизмов).[1]

[1] Костырева Е.А., Борисенков Н.С. ALLIUM-ТЕСТ КАК МЕТОД БИОТЕСТИРОВАНИЯ // Материалы IX Международной студенческой научной конференции «Студенческий научный форум»

Для эксперимента использовали одинаковые по размеру луковицы *Allium cepa* сорта Штутгартен ризен. Луковицы помещали в предварительно приготовленные растворы энергетика в течение 5 дней. Проращивали по 3 луковицы для каждого варианта опыта.

Через 5 дней замеряли длину 10 корешков каждой луковицы для оценки токсического действия. Измерение корней используется в качестве краткосрочного скрининг-теста, так как не требует сложной аппаратуры, легко регистрируется визуально. Срезанные корешки фиксировали в 70% этиловом спирте.

Для анализа готовили временные давленые препараты корневых меристем. Лезвием отрезали кончик корешка длинной 2-3 мм, помещали на предметное стекло в каплю 45% уксусной кислоты, накрывали покровным стеклом и с помощью спички раздавливали до получения монослоя клеток.2

Препараты анализировали под световым микроскопом «Микамед» при увеличении 400 раз. На препаратах рассматривали мелкие, округлой формы клетки с хорошо прокрашенным хроматином и неповрежденными клеточными стенками.

Учет митотической активности проводили следующим образом. Просматривали около 600-700 клеток для каждого препарата. Подсчитывали общее количество неделящихся клеток и отдельно клетки на разных стадиях митоза.

Показателем уровня митотической активности является митотический индекс (МитИ, %) - доля клеток, находящихся в митозе, к общему числу проанализированных клеток, исследованных на препарате.

1. 2 Прохорова И.М., Ковалева М.И., Фомичева А.Н. Генетическая токсикология. Лабораторный практикум. - Ярославль: ЯрГУ, 2005. 66 с.

Индекс может говорить о нормальном протекании митоза, об угнетении процесса деления клеток или, напротив, усилении митотической активности тканей. На основании этого делается заключение о митозмодифицирующим действии изучаемого фактора. Увеличение МитИ может быть обусловлено как усилением деления клеток, так и изменением продолжительности различных фаз, то есть задержкой клеток на определенных фазах митоза.

Раскрыть причины изменений МитИ позволяют индексы фаз митоза. Для расчета фазных индексов подсчитывали количество клеток, находящихся на разных стадиях митоза, определил долю от общего количества делящихся клеток:

ПИ, % - профазный индекс;

МИ, % - метафазный индекс;

А-ТИ, % - ана-телофазный индекс.

Математическая обработка результатов проводилась с помощью программы MS Excel. Для всех значений рассчитывалось среднее значение и ошибка среднего (m). Достоверность разницы между контролем и опытом проводилась с помощью t-критерия Стьюдента для малых выборок.

Изучение влияния жидкости для вейпов на митотическую активность меристемы корней *Allium cepa*

Глава III. Результаты исследования и их обсуждение

3.1. Длина корней лука при воздействии энергетика «Flash»

Результаты изучения длины корней лука при воздействии различных концентраций энергетика представлены в таблицах 2 и 3 на рис. 1.

Таблица 2

Длина корней (см) по каждой луковице при воздействии различных концентраций энергетика

номер корешка лука	Контроль 1	Контроль 2	Контроль 3	0,01 (1)	0,01 (2)	0,01 (3)	0,001 (1)	0,001 (2)	0,001 (3)	0,0001 (1)	0,0001 (2)	0,0001 (3)
1	6,00	3,00	2,00	0,10	0,40	0,40	0,60	1,80	2,00	3,60	4,60	1,20
2	3,00	3,30	1,20	0,10	0,30	0,30	0,80	2,00	1,20	1,00	1,60	2,40
3	2,00	4,20	4,10	0,10	0,20	0,30	0,30	1,40	0,60	1,00	2,00	2,40
4	5,30	2,80	1,00	0,10	0,20	0,30	0,70	0,70	0,50	0,80	3,40	2,20
5	4,50	2,80	3,00	0,10	0,10	0,30	0,50	0,70	0,50	0,30	0,60	4,20
6	4,60	2,60	3,00	0,10	0,10	0,30	0,30	0,60	0,30	1,50	0,60	4,20
7	2,20	3,80	3,20	0,10	0,10	0,30	0,60	0,30	0,50	1,20	1,20	2,90
8	1,80	3,70	2,40	0,10	0,10	0,20	0,60	0,20	0,60	0,60	3,00	3,00
9	5,10	2,20	2,30	0,20	0,10	0,10	0,60	0,20	0,30	0,60	0,20	3,20
10	2,80	2,60	2,10	0,30	0,10	0,30	0,40	0,90	0,70	0,80	2,90	3,90
среднее значение	3,73	3,10	2,43	0,13	0,17	0,28	0,54	0,88	0,72	1,14	2,01	2,96
ошибка	0,48	0,20	0,27	0,02	0,03	0,02	0,05	0,20	0,16	0,30	0,45	0,30

Из данных таблицы 2 видно, что при влиянии раствора энергетика во всех изученных концентрациях происходит угнетение роста корней, выражающееся в снижении их длины, по сравнению с контролем.

Таблица 3

Средняя длина корней лука

вариант опыта	среднее	m
Контроль 1	3,73	0,48
Контроль 2	3,10	0,20
Контроль 3	2,43	0,27
0,01 (1)	0,13	0,02
0,01 (2)	0,17	0,03
0,01 (3)	0,28	0,02
0,001 (1)	0,54	0,05
0,001 (2)	0,88	0,20
0,001 (3)	0,72	0,16
0,0001 (1)	1,14	0,30
0,0001 (2)	2,01	0,45
0,0001 (3)	2,96	0,30

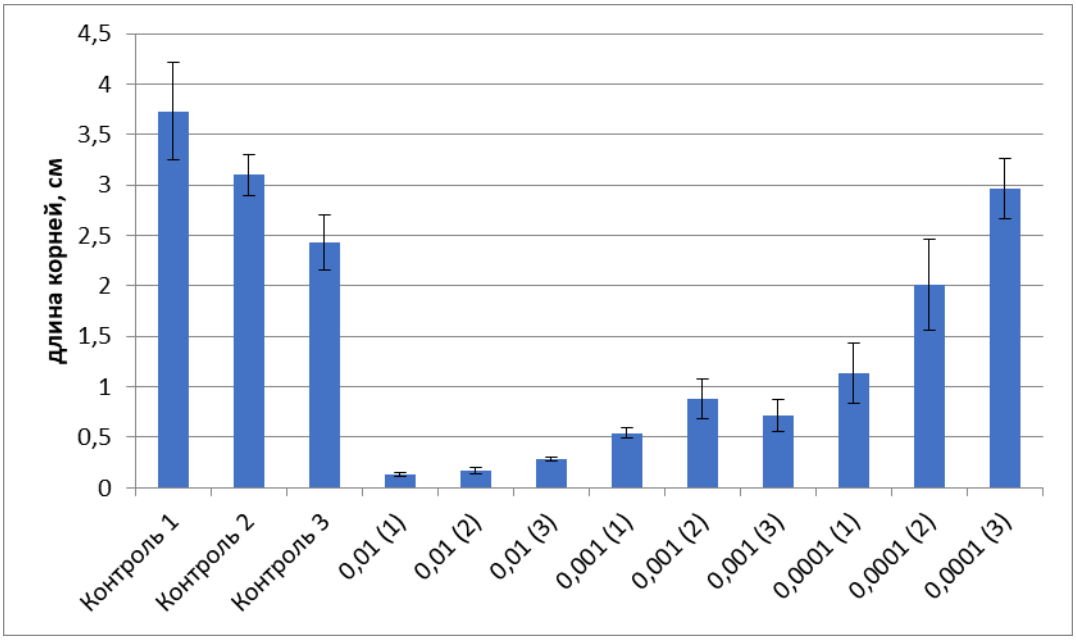


Рис 1. Длина корней у лука при воздействии различных концентраций энергетика.

Степень снижения уровня прироста корней зависит от концентрации энергетика. Максимально угнетение роста корней отмечено для концентрации 0,01, минимальное – 0,0001

3.2. Изучение влияния раствора энергетика «Flash» на митотическую активность меристемы корней *Allium cepa*

Результаты изучения длины корней лука при воздействии различных концентраций энергетика представлены в таблице 4 на рис. 2.

Таблица 4

Митотический индекс в меристеме *Allium cepa* при воздействии раствора энергетика

Вариант опыта	МитИ, %	Т-критерий Стьюдента
Контроль	6,87±1,14	-
Концентрация 0,01	0,11±0,10	5,90
Концентрация 0,001	0,11±0,11	5,91
Концентрация 0,0001	7,17±0,80	0,22

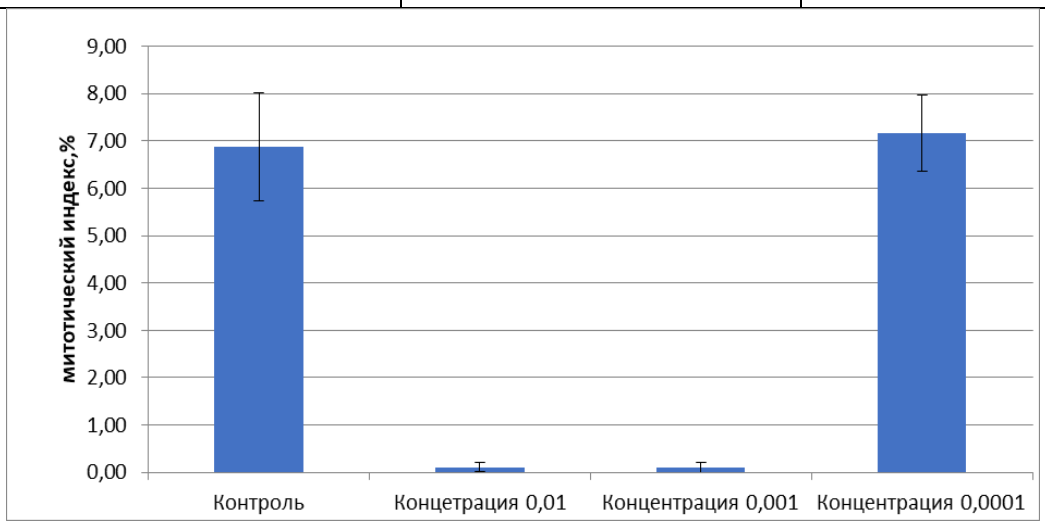


Рис. 2. Митотический индекс в меристеме *Allium cepa* при воздействии раствора энергетика.

Значение митотического индекса в контроле составило 6,87±1,14%. Воздействие раствора энергетика в концентрации 0,01 и 0,001 приводит к полному угнетению деления клеток. При воздействии раствора энергетика в концентрации 0,0001 митотический индекс достоверно не отличается от контроля.

Таким образом, раствор энергетика в концентрациях 0,01и 0,001приводит к изменению митотического индекса в меристеме Allium cepa по сравнению с контрольным уровнем, следовательно, обладают

митотоксическим эффектом. Энергетик в концентрации 0,0001 не оказывает гентоксического влияния на меристему.

Митотоксический эффект свидетельствует о генотоксической активности данного фактора, следовательно, энергетик обладает генотоксическим эффектом. К генотоксикантам относятся: во-первых, факторы, способные нарушать структуру ДНК, то есть вызывать мутации (генные, хромосомные, геномные), во-вторых, генотоксическими событиями считаются процессы, косвенно влияющие на выход мутаций (генетическая репарация, кроссинговер, протекание митоза, нарушение центромер и митотического аппарата и др.).

Вхождение клеток в митоз, продолжительность митоза, соотношение отдельных фаз митоза зависят от большого количества причин, как генетических, так и негенетических. Однако цитогенетические нарушения относят к группе генотоксических эффектов, так как, во-первых, в нарушении прохождения митоза большую роль играет генетическая компонента. Во-вторых, изменения митоза (нарушения формирования веретена деления, поведения хромосом на веретене, цитокинез и др.) могут изменять выход мутаций.

3.3. Изучение влияния раствора энергетика «Flash» на индексы фаз митоза в меристеме корней *Allium cepa*

Результаты изучения индексов фаз митоза при воздействии различных концентраций энергетика представлены в таблице 5 на рис. 3.

Таблица 5

Индексы фаз митоза в меристеме корней Allium cepa при воздействии различных концентраций энергетика

вариант опыта	Индекс профаз	t-критерий Стьюдента	Индекс метафаз	t-критерий Стьюдента	Индекс ана-телофаз	t-критерий Стьюдента
Контроль	55,56±5,64		21,53±3,94		22,91±9,05	
Концентрация 0,0001	59,57±4,67	0,30	18,05±3,47	0,35	22,39±3,11	0,04

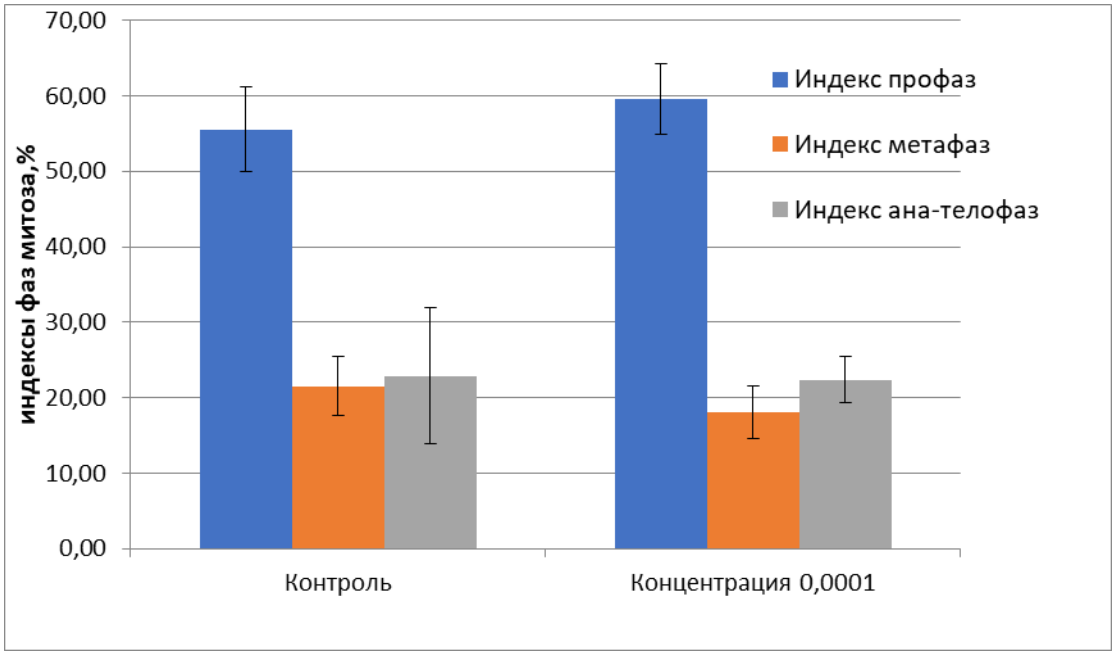


Рис. 3. Индексы фаз митоза в меристеме корней Allium cepa при воздействии различных концентраций энергетика

Оценку индексов фаз митоза при воздействии энергетика в концентрациях 0,01 и 0,001 провести не представляется возможным, так как происходит полное угнетение деления, выявлены единичные клетки на стадии профазы.

Индексы фаз митоза при воздействии на меристему энергетика в концентрации 0,0001 достоверно не отличаются от контрольного уровня. Таким образом, изучение индексов фаз митоза подтверждает данные об отсутствии генотоксического эффекта энергетика в концентрации 0,0001.

Выводы

1. Воздействие раствора энергетика в концентрациях 0,01, 0,001 и 0,0001 приводит к достоверному снижению длины корней *Allium cepa* по сравнению с контрольным уровнем, следовательно, в данных концентрациях энергетик «Flash» обладает сильным токсическим эффектом.
2. Токсический эффект усиливает с повышением концентрации энергетика и достигает максимума для концентрации 0,01.

3. Воздействие энергетика «Flash» в концентрациях 0,01 и 0,001 полностью угнетает митотические деления в меристеме, следовательно, в данных концентрациях энергетик обладает сильным генотоксическим эффектом.
4. В концентрации 0,0001 митотический индекс и индексы фаз митоза в меристеме *Allium cepa* достоверно не отличаются от контрольного уровня, что свидетельствует об отсутствии генотоксического эффекта энергетика в данной концентрации.

Список использованной литературы

1. Шалыгин Л.Д., Еганян Р.А. Энергетические напитки — реальная опасность для здоровья детей, подростков, молодежи и взрослого населения. М.: Профилактическая медицина, 2016. 56-63 с.

2. Прохорова И.М., Ковалева М.И., Фомичева А.Н. Генетическая токсикология. Лабораторный практикум. - Ярославль: ЯрГУ, 2005. 66 с.

3. Костырева Е.А., Борисенков Н.С. ALLIUM-ТЕСТ КАК МЕТОД БИОТЕСТИРОВАНИЯ // Материалы IX Международной студенческой научной конференции «Студенческий научный форум» URL: <a href="https://scienceforum.ru/2017/article/2017032204">https://scienceforum.ru/2017/article/2017032204

4. Лачугина Д.А. Энергетические напитки. Их состав и влияние на организм человека // Материалы XI Международной студенческой научной конференции «Студенческий научный форум» URL: <a href="https://scienceforum.ru/2019/article/2018011212">https://scienceforum.ru/2019/article/2018011212

Глава I. Обзор литературы

1.1. Классификация и химический состав энергетиков

Резкий выброс адреналина, усиление психологической активности, после короткого времени ведет к спаду сил. После употребления энергетического напитка необходимо дать организму время восстановиться и вывести кофеин. Передозировка кофеина приводит к нервозности, раздражительности, отсутствию сна и аппетита. При длительном регулярном употреблении кофеина появляются судороги, боли в желудке, ухудшение работы нервной системы. Смертельной дозой для среднестатистического человека может стать всего 10-15 г. Это 100 – 150 чашек кофе день.[3]

В состав энергетических напитков также входят:

Сахароза – обычный сахар. Высококалорийный компонент многих пищевых продуктов используется для подслащения напитков, кондитерских изделий и т.п.[4]

Глюкоза – самый распространенный сахар в реакциях метаболизма человека, основное питательное вещество, доставляемое кровью к органам и тканям (всем известный анализ крови на сахар – определение концентрации глюкозы). Поступает в организм с пищей как продукт переваривания сахарозы, крахмала, гликогена и других углеводов. Может синтезироваться из других органических веществ.

---

[3] Шалыгин Л.Д., Еганян Р.А. Энергетические напитки — реальная опасность для здоровья детей, подростков, молодежи и взрослого населения. М.: Профилактическая медицина, 2016. 56-63 с.

[4] Лачугина Д.А. Энергетические напитки. Их состав и влияние на организм человека // Материалы XI Международной студенческой научной конференции «Студенческий научный форум» URL: <a href="https://scienceforum.ru/2019/article/2018011212">https://scienceforum.ru/2019/article/2018011212

Кофеин – распространенный психостимулятор, содержится в чае, кофе, мате, гуаране, орехах кола и некоторых других растениях. Уменьшает чувство усталости и сонливости, повышает умственную работоспособность, ускоряет пульс, обладает легким мочегонным эффектом. Период стимуляции сменяется усталостью, требующей адекватного отдыха. Действие средней дозы кофеина продолжается около 3 часов, однако выводится он гораздо медленнее, поэтому при повторном употреблении возможна передозировка. Она может проявляться возбуждением, бессонницей, нервозностью, раздражительностью, судорогами, болью в животе, ускоренным и нерегулярным сердечным ритмом, а при очень высоких дозах – психозом, повреждением мышц, аритмией и смертью (смертельная доза для человека – 10-15 грамм кофеина, или 100-150 чашек кофе). Систематическое употребление больших количеств кофеина приводит к развитию наркотической зависимости – кофеинизма.

Теобромин – вещество, схожее по строению и действию с кофеином, но обладающее примерно в 10 раз меньшим психостимулирующим эффектом. Содержится в какао и какао-продуктах, например, в шоколаде.

Таурин – производное аминокислоты цистеина. Один из основных компонентов желчи, в небольших количествах содержится в различных тканях животных и человека, в основном в мышечной. Необходим для нормального функционирования нервной, иммунной и некоторых других систем, участвует в регуляции обмена жиров и кальция. В достаточном количестве синтезируется в организме. Опыты на мышах показали, что таурин может уменьшать мышечную усталость при длительных нагрузках; на людях подобные исследования не проводились. Эффекты больших доз этого вещества, содержащихся в энергетических напитках, не исследованы.

Глюкуронолактон – один из продуктов расщепления глюкозы в человеческом организме. Содержится также в крупах, красном вине, некоторых растительных смолах. Важный компонент соединительной ткани.

Никакими «энергетическими» свойствами не обладает, несколько улучшает выведение из организма токсичных продуктов обмена веществ. В энергетических напитках содержится в количестве, превышающем естественную суточную выработку в 250-500 раз. Эффект таких доз, равно как и взаимодействие с другими компонентами напитков, не изучен.

L-карнитин – вещество, которое синтезируется в организме из аминокислот. Содержится в мясных и молочных продуктах, орехах, некоторых фруктах и овощах. Необходим для нормального усвоения и распада жиров. Организм человека не нуждается в дополнительном источнике L-карнитина помимо собственной выработки и поступления с пищей. Действие высоких доз этого вещества неизвестно.

D-рибоза – сахар, входящий в состав РНК, АФТ и некоторых других важных биологических молекул. Вырабатывается в организме человека. Его способность стимулировать энергетический обмен явно преувеличена.

Витамины группы В – необходимые организму вещества, необходимые для многих биохимических реакций. В обычном рационе современного человека содержатся в достаточных количествах. Не обладают «энергетическими» свойствами.

Гуарана – тропическое растение, распространенное в Бразилии, используется как природный психостимулятор. Содержит множество органических веществ, основное из которых – кофеин, который и обусловливает стимулирующее действие.

Женьшень – природный стимулятор разностороннего действия. В обычных дозах снижает чувство усталости, повышает психическую и физическую активность. Чрезмерное употребление чревато тревожностью, бессонницей и подъемом артериального давления.

1.2. Влияние энергетиков на здоровье человека

Энерготоники помогают взбодриться или активизировать работу мозга.

Напиток можно найти соответственно своим потребностям. Энерготоники делятся на группы для людей с разными потребностями: в одних больше кофеина, в других — витаминов и углеводов. Напитки с повышенным содержанием кофеина подходят для трудоголиков и студентов, которые работают или занимаются по ночам, а «витаминно-углеводные» — активным людям, предпочитающим проводить свободное время в спортзале.

В энергетических напитках содержится комплекс витаминов и глюкоза. Польза витаминов известна. Глюкоза быстро всасывается в кровь, включается в окислительные процессы и доставляет энергию к мышцам, мозгу и другим жизненно важным органам.

Эффект от принятия кофе действует 1-2 часа, от энергетических напитков – 3-4. Кроме того, почти все энерготоники газированные, что ускоряет их воздействие.

Упаковка позволяет употреблять энергетические напитки в любых ситуациях (танцпол, автомобиль), что не всегда возможно с тем же кофе или чаем.

Кофеин, содержащийся в энерготониках, как и всякий стимулирующий препарат, истощает нервную систему. Эффект от него длится в среднем от трех до пяти часов – после чего организму требуется передышка. Кроме того, кофеин вызывает привыкание.

Энерготоник, как напиток, содержащий сахар и кофеин, небезопасен для молодого организма.

Многие энергетические напитки содержат в большом количестве витамин В, который способен вызывать учащенное сердцебиение и дрожь в руках и ногах.

Любителям фитнеса стоит запомнить, что кофеин - хорошее мочегонное средство. А значит, употреблять напиток после тренировки, во время которой теряется вода, нельзя.

В случае передозировки возможны побочные эффекты: тахикардия, психомоторное возбуждение, нервозность, депрессивное состояние.

Тоники содержат таурин и глюкуронолактон. Содержание таурина в несколько раз выше, чем во всех остальных продуктах, количество глюкуронолактона, содержащееся в двух банках, может почти в 500 раз превышать дневную дозу этого вещества. До сих пор не выяснено как эти компоненты работают в таких дозах в организме человека и неизвестно как они взаимодействуют и с кофеином. Именно поэтому эксперты Научного комитета по пище Европейского союза официально заявляют, что безопасность использования в таких дозах таурина и глюкуронолактона не установлена и для этого необходимы дальнейшие изучения.

Энергетические напитки иногда смешивают с алкоголем. Энерготоники выполняют стимулирующую функцию, в то время как алкоголь – угнетающую. Вред такого сочетания заключается в способности энерготоника замаскировать влияние алкоголя. Алкоголь в больших дозах вызывает естественную усталость, но стимулирующий эффект энергетических напитков способен перебить его. Распространённое смешивание энергетиков с водкой и другим алкоголем привело к возникновению заранее приготовленных коктейлей, известных под названием «alcopops», нередко включающих в свой состав таурин; или же экстракт гуараны для придания напитку специфического аромата.[5]

[5] Лачугина Д.А. Энергетические напитки. Их состав и влияние на организм человека // Материалы XI Международной студенческой научной конференции «Студенческий научный форум»

Таким образом, отрицательных сторон употребления энергетических напитков больше, чем положительных. Если у человека появляется необходимость выпить энергетоник – употреблять его можно только в исключительных случаях и обязательно после ознакомления с правилами употребления энерготоников, помогающими не нанести вред организму.