

Valery D. Bogdanov,
ScD (Doctor in Technics), professor;

Svetlana N. Maksimova,
ScD (Doctor in Technics), Professor;

Nikolay G. Tungusov,
ScD, associate professor;

Ekaterina V. Shadrina,
Post-graduate student;

Ekaterina M. Panchishina,
Laboratory head,
FGBOU VPO "Dalrybvtuz"

Biotesting of the Sea Stars *Patiria Pectinifera* and *Evasterias Echinosa* of the Japanese Sea and the Methods of Their Detoxication

Key words: *sea stars, biotesting, toxicity, toksigennost, methods of the detoxication.*

Annotation: *article contains materials of research work on establishment of influence of a way of processing of *patiria pectinifera* and *evasterias echinosoma* on decrease in toxicity of separate types of fabrics. During the done work it is established that the most effective ways of processing are the scalding and spirit extraction.*

Интерес к морским звездам как к объекту промышленной переработки продиктован, прежде всего, большим их количеством в Японском море. Скопление морских звезд на участках по выращиванию марикультуры (морского гребешка) ФГБОУ ВПО «Дальрыбвтуз» в бухте Северная достигает в среднем около 150 особей на 1 м². Морские звезды наносят ущерб морскому хозяйству, скапливаясь на морских плантациях и поедая урожай. Химический состав этих водных биологических ресурсов, характеризующийся наличием достаточно большого количества белка и минеральных веществ обуславливает целесообразность рассмотрения морских звезд как объекта промышленной переработки.

Исследование видового состава морских звезд в бухте Северная залива Петра Великого Японского моря показало наличие в указанном регионе следующих видов морских звезд: патирии гребешковой (*Patiria pectinifera*), дистоластерии японской (*Distolasterias nipon*), астерии аргонавта (*Asterias argonauta*), эвастерии колючей (*Evasterias echinosoma*). Наиболее многочисленными из перечисленных звезд являются эвастерия колючая (51,5%) и патирия гребешковая (30,5%).

Известно, что морские звезды - хищники, содержащие ядовитые вещества. Среди биологически активных веществ морских звезд наиболее изучены сапонины,

астеросапонины и гликозиды, которые в определенном количестве могут способствовать токсичности изучаемых объектов (Маляренко, 2012).

Токсичность некоторых объектов может быть обусловлена наличием в них посторонних химических (пестицидов, тяжелых металлов, красителей и др.) или естественных (ингибиторов ферментов или гормонов, синильной кислоты и т.д.) веществ, вызывающих в организме животных или человека интоксикацию (Позняковский, 1999). На токсичность водных биологических ресурсов влияет также наличие в них биологических ядов и токсинов, которые имеют микробное происхождение (бактерии, грибы, вирусы и др.) и характеризуются токсигенностью (Новикова и др., 2001).

Цель настоящих исследований состояла в оценке токсичности морских звезд бухты Северная залива Петра Великого Японского моря методом биотестирования в зависимости от их видового и анатомического состава и исследовании способов их детоксикации для последующей промышленной их переработки.

Для исследования использовали свежевывловленные морские звезды: эвастерия колючая (*Evasterias echinosoma*), патирия гребешковая (*Patiria pectinifera*). Для подготовки средних проб морские звезды отчищали от загрязнений, промывали водой и разделяли на следующие составные части: внутренности, гонады (икра), покровная ткань. Отобранные пробы гомогенизировали и направляли на исследование.

В работе использовали ускоренный метод биотестирования исследуемого объекта путем оценки токсичности на биологическую тест-систему (инфузории). Метод оценки биологической безопасности на инфузориях имеет ряд существенных преимуществ по сравнению с исследованиями на кроликах и белых мышах. Его достоинства заключаются в оперативности (токсичность определяется в течение 1,5 ч), низкой затратности и простоте культивирования (Землякова и др. 2008). Несмотря на разнообразие экспресс-методик, наибольшее распространение получили методы с использованием тест-объекта реснитчатых инфузорий *Tetrahymena pyriformis* (Игнатъев, Шаблий, 1978; Беленький, 1990).

Определение токсичности осуществляли следующим образом: навеску гомогенизированной средней пробы исследуемого образца помещали в ступку, добавляли среду УСД (улеводно-солевая дрожжевая среда) в количестве, обеспечивающем содержание 0,6 мг азота в 2 мл, растирали пестиком в течение 1-2 мин. В первый ряд пробирок, содержащих по 2 мл среды УСД, вносили по 1 мл подготовленной непрогретой пробы. Для инактивации биологического яда или токсина другие пробы до внесения в пробирки прогревали на водяной бане при температуре 80 °С в течение 20 мин.

В каждую пробирку вносили по 0,2 мл 3-6-суточной культуры инфузорий *Tetrahymena pyriformis*. Посевы оставляли при температуре 25 °С в защищенном от прямых солнечных лучей месте. Эффект биопробы учитывали через 5 мин, 30 мин, 2, 24 и 48 ч. Для этого на предметное стекло наносили среду с инфузориями, помещали на предметный столик микроскопа и вели наблюдение при общем увеличении в 100 раз. В камере Фукса-Розенталя параллельно проводили подсчет количества клеток инфузорий, фиксируя их каплей 5%-ного спиртового раствора йода.

При тестировании учитывали, что определение токсичности испытуемых объектов осуществляется по следующим основным показателям: поведение и характер роста клеток. Угнетение подвижности, замедление роста, незначительные деформации инфузорий, а также их гибель свидетельствуют о токсичности и наличии фактора токсигенности исследуемого объекта (Шульгин и др., 2006).

Состав образцов и условия проведения эксперимента планировали в зависимости от поставленных задач (табл.1).

Таблица 1- Состав образцов и способ их подготовки для исследования

Обозначение образца	Наименование образца	Подготовка образца
Э ₁	Эвастерия колючая (внутренности)	Непрогретая
Э ₁ /t		Прогретая
Э ₂	Эвастерия колючая (гонады)	Непрогретая
Э ₂ /t		Прогретая
Э ₃	Эвастерия колючая (покровная ткань)	Непрогретая
Э ₃ /t		Прогретая
П ₁	Патирия гребешковая (внутренности)	Непрогретая
П ₁ /t		Прогретая
П ₂	Патирия гребешковая (гонады)	Непрогретая
П ₂ /t		Прогретая
П ₃	Патирия гребешковая (покровная ткань)	Непрогретая
П ₃ /t		Прогретая

Оценку степени токсичности и токсигенности исследуемого продукта проводили в соответствии с рекомендациями Шульгина Ю.П. и др. (2006, с.101-104) и методическими указаниями по диагностике алиментарных токсикозов у рыб № 13-4-2/175507.10.99г.

Результаты биотестирования, характеризующие зависимость токсичности морских звезд от видового и анатомического состава исследуемых объектов, представлены в табл.2.

Таблица 2 - Изменение количества единиц инфузорий на средах с исследуемыми образцами

Образец	Продолжительность экспозиции				Оценка токсичности образца
	5 мин	2 ч	24 ч	48 ч	
Э ₁	3,7	30,0	—	—	Умеренно токсичный
Э ₁ /t	6,3	17,3	45,0	42,6	Нетоксичный
Э ₂	—	—	—	—	Сильно токсичный
Э ₂ /t	2,0	—	—	—	То же
Э ₃	1,5	4,8	3,0	-	Токсичный
Э ₃ /t	2,8	7,3	61,3	9,0	Нетоксичный
П ₁	—	—	—	—	Сильно токсичный

П ₁ /t	2,5	2,6	—	—	Токсичный
П ₂	—	—	—	—	Сильно токсичный
П ₂ /t	—	—	—	—	То же
П ₃	2,5	2,7	82,0	76,8	Умерено токсичный
П ₃ /t	2,3	4,7	135,0	170,0	Нетоксичный

«—» - гибель клеток

Результаты наблюдений показали полную гибель клеток инфузорий на прогретых средах, содержащих икру (образцы Э₂/t и П₂/t), что свидетельствует о высокой степени токсичности исследуемой анатомической части морских звезд, обусловленной присутствием в икре эвастерии и патирии токсинов химического или естественного происхождения.

Как видно из приведенных данных, термическая обработка образцов при температуре 80°C в течение 20 мин обеспечивает детоксикацию только отдельных частей тела: внутренностей (Э₁) и покровной ткани (Э₃).

Токсичность образцов Э₁ и Э₃ обусловлена наличием фактора токсигенности, так как в исследуемых прогретых пробах (Э₁/t и Э₃/t) рост клеток инфузорий не угнетен. На наш взгляд, токсигенность свойственна для исследуемых видов тканей, т.к. именно они наиболее обсеменены микроорганизмами, и соответственно в них происходит накопление продуктов метаболизма. Анализ данных табл.2 свидетельствует о том, что данное явление характерно только для образцов тканей эвастерии колючей, чего нельзя сказать о тканях патирии гребешковой. Так, внутренности патирии (П₁) сохраняют токсичность даже в прогретой пробе (П₁/t).

Следует так же отметить, что, несмотря на отсутствие гибели и угнетения роста клеток, покровная ткань патирии (П₃) оценена как умерено токсичная из-за отклонений в развитии клеток, характеризующихся снижением подвижности, а в некоторых случаях полной фиксацией особей. После термической обработки покровная ткань (П₃/t) характеризуется как нетоксичная.

Выявленная токсичность отдельных частей тела морских звезд, подтверждающая имеющиеся в литературе отрывочные данные о дифференциации уровня токсичности различных частей тела звезды, обосновывает целесообразность разработки и применения технологических способов детоксикации этих биологических объектов для их промышленной переработки.

В данной работе с целью детоксикации использовали следующие технологические приемы: промывание в холодной воде (температура 10±2 °С), ошпаривание водой (температура 98±2 °С) в течение 2-3 сек, сушка при температуре 60±2 °С в течение двух суток и экстракция 96 % спиртом при температуре 25 °С в течение 4 часов.

Исследование влияния способов технологической обработки морских звезд на их безопасность осуществляли путем биотестирования эвастерии колючей, являющейся наиболее массовым объектом по объему добычи в Японском море. Средняя проба исследуемого объекта содержала все анатомические части тела в природном соотношении: покровная ткань/ икра/внутренности.

Влияние способов технологической обработки исследуемых образцов морских звезд на их токсичность проиллюстрировано в табл.3.

Таблица 3- Изменение количества единиц инфузорий и их поведение в зависимости от способов обработки тканей эвастерии колючей

Способ обработки	Продолжительность экспозиции				Результаты наблюдений	Оценка токсичности
	5 мин	2 ч	24 ч	48 ч		
Холодная вода 10±2 °С	3,2	6,0	8,0	–	Рост угнетен, гибель клеток	Токсичный
Ошпаривание водой 98±2 °С	7,0	9,0	16,0	20,0	Снижение подвижности, фиксация клеток, без гибели особей	Умеренно токсичный
Сушка 60±2 °С в течение двух суток	2,0	2,0	3,0	5,0	Снижение подвижности, гибель единичных особей	Токсичный
Экстракция спиртом	10,0	38,0	76,0	82,0	Гибели клеток нет	Нетоксичный

Анализ полученных результатов показал, что промывание холодной водой и сушка при 60±2 °С не способствуют снижению уровня токсичности морских звезд до полной их детоксикации. Тогда как ошпаривание водой позволяет достичь снижение токсичности до умеренного уровня, однако при этом наблюдается отклонение в развитии клеток инфузорий от нормального, характеризующееся снижением подвижности и фиксацией клеток без гибели особей.

При этом результаты исследования образцов морских звезд путем биотестирования свидетельствуют о том, что инфузория успешно развивается на средах, содержащих пробы, подвергшиеся спиртовой экстракции. Вероятно, токсичность тканей эвастерии колючей обусловлена токсином, который переходит в спиртовой экстракт. Это подтверждается результатом исследования токсичности экстракта после удаления спирта, который показал полную гибель клеток инфузорий *Tetrahymena pyriformis*.

Таким образом, результаты биотестирования различных частей тела морских звезд эвастерии колючей и патирии гребешковой, выловленных в бухте Северная залива Петра Великого Японского моря, показали, что токсичность исследуемых объектов не зависит от их вида. Однако отдельные составные части тела морских звезд характеризуются разной степенью токсичности и токсигенности. Предположительно исследуемые образцы могут содержать в себе токсины как микробиологического происхождения (это касается внутренностей и покровной ткани), так и токсины, продуцируемые морскими звездами (гонады).

Снижение токсичности отдельных видов тканей морских звезд может быть достигнуто применением специальных технологических приемов. Наибольший эффект в рамках эксперимента получен при использовании спиртовой экстракции, в результате которой ткани морских звезд были оценены как нетоксичные Альтернативным, но

менее эффективным способом обработки морских звезд с целью их детоксикации может рассматриваться ошпаривание водой, имеющей температуру 98 ± 2 °С.

На основании полученных результатов можно сделать заключение о возможности использования морских звезд в промышленной переработке и целесообразности разработки технологии кормовых продуктов из них с учетом предложенных способов детоксикации.

References:

1. Belen'kiy MB. *Use of an express method of a biological assessment of products and forages.* Moscow, VASHNIL, 1990; 10.
2. Zemlyakova ES, Potapov PP, Mezenova OYa. *Test-object for determination of toxicity.* Rybprom, No. 3 - 4/2008; 32-33.
3. Ignatyev AD, Shably VYa. *Use of an infusorian of a tetrakhimena periformis as object at biological researches in agriculture.* Moscow, VNIITEISH, 1978; 52.
4. Malyarenko TV. *Studying of structure and biological activity of asterosaponin and other polar steroid connections of starfishes: Abstract.* Vladivostok, 2012.
5. *MU on diagnosis of alimentary toxicoses at fishes No. 13-4-2/1755 07.10.99.* UTV. Ministry of Agriculture and Food Production of the Russian Federation.
6. Novikova AM, Golubkina TS, Nikiforova NS, etc. *Merchandizing and the organization of trade in foodstuff.* Moscow, Profobrizdat, 2001; 480.
7. Poznyakovsky VM. *Hygienic bases of food, safety and examination of foodstuff: Textbook, 2nd prod., corrected and additional.* Novosibirsk, Publishing house Novosib. Un-ta, 1999; 448.
8. Shulgin YuP, Shulgin LV, Petrov VA. *Uskorennaya biotis an assessment of quality and safety of raw materials and products from water bioresources.* Vladivostok, Publishing house of TGEU, 2006; 124.