УДК 611.019
<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-351-7-8-41-44>
Краткий обзор/Brief review

**Зирук И.В.,
Рысмукхамбетова Г.Е.,
Белоглазова К.Е.,
Фролов В.В.**

ФГБОУ ВО Саратовский государственный
аграрный университет имени Н. И. Вавилова,
г. Саратов, Театральная площадь, 1.
E-mail: iziruk@yandex.ru

Ключевые слова: ксантан, карбоксиметил-
целлюлоза, пленочное покрытие, биодегра-
дабельность, кровь, гемоглобин, крысы

Для цитирования: Зирук И.В., Рысмукхам-
бетова Г.Е., Белоглазова К.Е., Фролов В.В.
Определение биологической безопасности
применения биodeградеable пленочных
покрытий на организм лабораторных живот-
ных. Аграрная наука. 2021; 351 (7-8): 41–44.

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-351-7-8-41-44>

Конфликт интересов отсутствует

**Irina V. Ziruk,
Gulsara E. Rysmukhambetova,
Kristina E. Beloglazova,
Vladimir V. Frolov**

Saratov State Agrarian University named after
N.I. Vavilov, Saratov, Theater sq., 1.
E-mail: iziruk@yandex.ru

Key words: xanthan, carboxymethylcellulose,
film coating, biodegradability, blood,
hemoglobin, rats

For citation: Ziruk I.V., Rysmukhambetova G.E.,
Beloglazova K.E., Frolov V.V. Determination of
the biological safety of the use of biodegradable
film coatings on the organism of laboratory
animals. Agrarian Science. 2021; 351 (7-8):
41–44. (In Russ.)

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-351-7-8-41-44>

There is no conflict of interests

Определение биологической безопасности применения биodeградеable пленочных покрытий на организм лабораторных животных

РЕЗЮМЕ

В работе изучена биологическая безопасность применения биodeградеable пленочных покрытий для организма лабораторных животных. Для разных спосо-
бов нанесения был разработан разный состав полисахаридов (ПС) (%) — ксантана
и карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ): распыление (0,60:2,73); кистью (0,90:2,05);
оборачивание (1,61:1,38) соответственно. Для разных продуктов питания были
подобраны разные способы нанесения пленочных покрытий. Данное пленочное
покрытие не оказывает негативного влияния на организм лабораторных животных.

Determination of the biological safety of the use of biodegradable film coatings on the organism of laboratory animals

ABSTRACT

The work studied the biological safety of the use of biodegradable film coatings for the
organism of laboratory animals. For different application methods a different composition
of polysaccharides (PS) (%) was developed — xanthan and carboxymethyl-
cellulose (CMC): spraying (0.60:2.73); by brush (0.90:2.05); wrapping (1.61:1.38) respectively.
Different film coating methods were selected for different foodstuffs. This film coating
does not have a negative effect on the organism of laboratory animals.

Поступила: 4 июня
После доработки: 15 июня
Принята к публикации: 10 августа

Received: 4 June
Revised: 15 June
Accepted: 10 August

Введение

В настоящее время исследования, касающиеся создания биodeградибельных покрытий на основе природных полимеров — полисахаридов — являются перспективным направлением в биотехнологии. Большинство разработок построены на использовании производных крахмала и целлюлозы, так как они обладают пленкообразующими свойствами. Кроме того, их применение в качестве загустителей в сельскохозяйственном сырье позволяет получать пастообразную молочную, кондитерскую и плодоовощную продукцию [10].

Известно, что покрытия, имеющие в своем составе карбоксиметилцеллюлозу или модифицированный крахмал, способны уменьшить потери массы продуктов, а также замедлить процессы окисления и их порчи. В то же время на основании литературных данных было выяснено, что покрытия на основе полисахаридов обладают положительным физиологическим влиянием, так как способны адсорбировать и выводить ионы металлов, радионуклидов и другие вредные вещества. Введение ароматизаторов и красителей в съедобные покрытия позволяет иметь широкий ассортимент пленочных упаковок с разными вкусо-ароматическими свойствами.

При производстве продуктов питания использование такой съедобной оболочки открывает новые перспективы, так как появляется возможность изменить сенсорное восприятие потребителя и обогатить сельскохозяйственное сырье минеральными веществами [8].

Пищевые пленки получили наибольшее распространение как средство упаковки вследствие невысокой стоимости и возможности ручной упаковки без использования дополнительных устройств.

Целью работы явилось изучение биологической безопасности использования биodeградибельных пленочных покрытий для лабораторных животных — крыс.

Материалы и методы

Изучаемое пленочное покрытие было создано по методу [5]. В состав пленочного покрытия вошли ксантан («Родежил», Франция), КМЦ («Fluca», Швейцария), лецитин («Lecigran, Cargil», Германия), глицерин и дистиллированная вода.

Ксантановая камедь — это внеклеточный полисахарид, являющийся продуктом особого вида брожения бактерии рода *Xanthomonas campestris*. Данный полисахарид относят к группе стабилизаторов. Пищевая добавка (E415) карбоксиметилцеллюлоза — растительный полисахарид, продукт модификации целлюлозы, относится к пищевым добавкам (E469, E466), в пищевой промышленности в основном применяется как стабилизатор системы. Лецитин — пищевая добавка (E322), природный эмульгатор. Глицерин (Glycerol) в европейской кодификации пищевых добавок зарегистрирован под индексом E422. Органическое соединение, трехатомный спирт [5].

Безопасность пленочных покрытий определяли на лабораторных животных (крысы) в соответствии с требованиями Федерального закона [9]. Исследовали клинически здоровых животных, 10 самцов крыс весом 175–180 г. Лабораторные животные находились в виварии при одинаковых условиях содержания и кормления [4]. До постановки эксперимента был выдержан период карантина — 21 день. Контрольную группу животных кормили согласно общепринятой рецептуре полнорационных комбикормов для крыс, находящихся в краткосрочных экспериментах [1]. В рацион опытной группы животных добавляли пленочное покрытие, разработанное по патенту «Биоразлагаемое пищевое пленочное покрытие» (№ 2662008, 27.07.2018. Бюл. № 21). Для этого пленочное покрытие распыляли на готовую сухую смесь и подсушивали в течение 55–70 минут [2].

На 30-й день эксперимента была проведена эвтаназия методом транслокации шейных позвонков, с применением газового наркоза (изофлуран), а также морфологическое исследование крови. Лабораторные исследования крови выполняли на базе ЦКП «Молекулярная биология» ФГБОУ ВО «Саратовский ГАУ». Взятие крови производили из хвостовой вены. Биохимические исследования сыворотки крови крыс проводили на биохимическом анализаторе «BioChem SA». Для проверки и подтверждения правильности и точности определения биохимических показателей использовали контрольную сыворотку для биохимических исследований по ТУ 9398-022-09807247-2009, ООО «HOSPITEX DIAGNOSTICS». Исследование морфологического состава периферической крови проводили на гематологическом анализаторе MicroCC 20 vet [4]. Статистическую обработку полученных результатов

Таблица 1. Концентрация полисахаридов в пленочных покрытиях в зависимости от способа нанесения

Table 1. Concentration of polysaccharides in film coatings depending on the method of application

Компоненты	Образец 3	Образец 5	Образец 10
Ксантан, %	0,60±0,02	0,90±0,01	1,61±0,01
КМЦ, %	2,73±0,02	2,05±0,01	1,38±0,01
Лецитин, %	2,40±0,01	2,40±0,01	2,40±0,02
Глицерин, %	5,00±0,01	5,00±0,02	5,00±0,02
Вода, %	90,47±0,01	90,85±0,02	90,81±0,02
Способ нанесения			
	распыление	кисть	оборачивание

Таблица 2. Рацион кормления для крыс, находящихся в краткосрочных экспериментах, %

Table 2. Feeding ration for rats in short-term experiments, %

Ингредиент	Контрольная группа	Опытная группа
Ячмень	40,0	40,0
Пшеница	42,6	42,6
Дрожжи кормовые	6	6
Мясокостная мука	3	3
Костная мука	1,2	1,2
Травяная мука	4	4
Мел	1,7	1,7
Соль поваренная	0,5	0,5
Премикс	1	1
Раствор пленочного покрытия	–	3–5

Рис. 1. Масса животных контрольных и опытных групп**Fig. 1.** The mass of animals in the control and experimental groups **Рис. 2.** Среднесуточный прирост живой массы лабораторных животных опытной группы**Fig. 2.** Average daily gain in live weight of laboratory animals in the experimental group

татов проводили с помощью программного приложения Microsoft Excel 2010, а также пакета статистического анализа данных StatPlus 2009.

Результаты

На основании литературных данных было выяснено, что во всем мире распространенными компонентами для создания пленок являются такие полисахариды, как ксантан, КМЦ, хитозан, пектин, гуаран. Разработанное пленочное покрытие включало полисахариды — ксантан и КМЦ. В зависимости концентрации компонентов пленки получались разной структуры и консистенции для разного нанесения пленочного покрытия (табл. 1).

Каждый из компонентов пленочного покрытия создает структуру пленки, в зависимости от концентрации каждого из веществ возможно изменение структурно-механических показателей самого пленочного покрытия. В ходе исследований определяли безопасность пленочных покрытий для организма лабораторных животных (крыс).

Рацион кормления для крыс, находящихся в краткосрочных экспериментах, представлен в таблице 2.

За время проведения эксперимента отклонения в поведении крыс во всех подопытных группах не выявлены. Животные сохраняли активность, не было заметно каких-либо изменений на кожных покровах. Динамика изменения массы тела животных в опытной и контрольной группах была в целом одинаковой, хотя отмечалось более плавное увеличение массы у животных, получавших в корме пленочное покрытие (рис. 1).

Как видно из рисунка, у крыс опытной группы отмечалось плавное изменение массы, в отличие от контрольной. В ходе эксперимента наблюдали изменение массы тела опытных лабораторных животных, полученные данные представлены на рисунке 2.

На рисунке 2 видно, что у опытной группы животных, питающихся кормом с нанесенным пленочным покрытием, потеря веса наблюдалась в течение трех дней. Кроме того, группа животных, питающаяся кормом с нанесенным пленочным покрытием, за счет благотворного влияния полисахаридов на органы желудочно-кишечного тракта, в структуре тела имела больше мышечной ткани, в отличие от группы животных, питающихся кормом без нанесения пленочного покрытия.

Результаты проведенных опытов по исследованию биохимических показателей крови крыс контрольной и опытной групп приводятся в сводной таблице 3.

Проводя анализ активности показателей аспаратаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) нами установлено, что их значение во всех изучаемых группах находилось относительно на нестабильном уровне.

В начале эксперимента количество мочевины в сыворотке крови животных контрольной и опытной групп составляло 6,70 ммоль/л. К концу исследований количество мочевины в контрольной группе увеличилось до 7,10 ммоль/л и в опытной группе — до 7,20 ммоль/л.

В начале опыта количество общего белка в контрольной группе составило 71,50 г/л, а в опытной — 73,40 г/л. К концу исследований содержание общего белка у контрольной группы увеличилось на 23,6%, а у опытной — на 24,1%. Полученные данные (рисунок 3) позволяют предположить, что крысы опытной группы обладали большими иммунными свойствами к различным заболеваниям.

На начало опытного периода содержание альбуминов у контрольной группы составило 23,70 г/л, а у опытной группы — 26,20 г/л. Как видно из таблицы 3, в опытной группе уровень альбуминов был выше на 34,5%, чем в контрольной группе. Далее в конце эксперимента тенденция данного показателя возрастала у контрольной группы на 24%, в опытной группе — на 23,6%.

Показатели креатинина у контрольной и опытной группы на начало эксперимента составляли 50,20 и 56,10 ммоль/л соответственно. На конец эксперимента у контрольной и опытной группы данный показатель составил 71,80 и 71,40 ммоль/л, что находится в пределах их физиологической нормы (44–85 ммоль/л) согласно их возрасту.

Использование пленочных покрытий на основе полисахаридов не оказывает негативного воздействия на организм, а, наоборот, имеет положительное влияние на организм, что говорит о безопасности применения таких покрытий вместе с продуктами питания.

Таблица 3. Биохимические показатели крови крыс
Table 3. Biochemical parameters of rat blood

Наим. показателя	Ед. изм.	Норма	1-е сутки		30-е сутки	
			контроль	опыт	контроль	опыт
АЛТ	Е/л	34–76	60,90±4,12	58,70±4,18	76,90±5,28	75,10±4,90
АСТ	Е/л	60–223	152,40±9,76	148,60±9,18	182,20±21,08	183,40±18,34
Щелочная фосфатаза	Е/л	61–287	187,90±26,91	188,60±22,51	222,10±17,63	228,30±16,31*
Мочевина	ммоль/л	3–7,8	6,70±0,69	6,70±0,71	7,10±0,94	7,20±0,81
Креатинин	моль/л	44–85	50,20±6,87	56,10±6,12*	71,80±7,82	71,40±6,83
Общ. белок	г/л	59–82	71,50±3,45	73,40±3,18*	81,40±3,12	82,20±3,71
Альбумин	г/л	25–38	23,70±1,56	26,20±1,18*	32,80±1,94	31,20±1,32
Глюкоза	моль/л	3–13	5,70±0,97	6,80±0,68	7,50±0,34	7,70±0,27

Примечание: n = 5, *P₁ ≤ 0,05.

Выводы

В результате исследования было доказано, что пленочное покрытие не имеет вкуса, запаха и цвета, легко разжевывается. Разработанное пленочное покрытие можно использовать в качестве тонкой пленки, выполняющей барьерные функции, которое позволяет сохранять органолептические показатели продукции. Использование разработанного пленочного покрытия на лабораторных животных (крысах) не оказывает негативного воздействия на исследуемые биохимические показатели крови, все показатели были в пределах нормы, что свидетельствует о биологической безопасности применения пленочных покрытий для лабораторных животных. Таким образом, полученные данные позволяют говорить о том, что разработанные пленочные покрытия, созданные на основе полисахаридов, экологически и биологически безопасны.

ЛИТЕРАТУРА

1. Башенина, Н.В. Руководство по содержанию и разведению новых в лабораторной практике видов мелких грызунов / Н.В. Башенина. – М.: Изд. – во Московского ун – та, 1975. – 166 с.

2. ГОСТ 31986-2012. Услуги общественного питания. Метод органолептической оценки качества продукции общественного питания (Переиздание). – Введ. 2015-01-01. М.: Стандартинформ, 2019. – 12 с.

3. Кудрякова, Г.Х. Съедобная упаковка: состояние и перспективы / Г.Х. Кудрякова, Л.С. Кузнецова, М.Н. Нагула [и др.] // Упаковка и логистика. – 2007. – № 6. – С.24–25.

4. Луговская, С.А. Гематологический атлас / С.А. Луговская, М.Е. Почтарь // М.: Медицина, 2001. – 214 с.

5. Пат. 2662008 Российская Федерация, МПК C08L 5/00. Биоразлагаемое пищевое пленочное покрытие / К.Е. Белоглазова, А.А. Ульянин, А.Д. Горневская [и др.]; патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова». – № 2017142702; заявл. 12.07.2017; опубл. 23.07.2018, Бюл. № 21. – 8 с.

6. Паско, М.В. Влияние микробных экзополисахаридов на морфологическое строение внутренних органов мышей / Паско М.В., Миллер Е.А., Зирук И.В., Рысмукхамбетова Г.Е. // В сборнике: Материалы конференции по итогам научно-исследовательской и производственной работы студентов. Саратов. – 2010. – С. 150-151.

7. Рысмукхамбетова, Г.Е. Выделение и очистка экзополисахаридов из ксантомонад / Рысмукхамбетова Г.Е., Карпунина Л.В., Бухарова Е.Н., Жемеричкин Д.А. // Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова. – 2008. – № 4. – С. 42-45.

8. Савицкая, Т.А. Съедобные полимерные пленки и покрытия: история вопроса и современное состояние (обзор) / Т.А. Савицкая // Полимерные материалы и технологии. – 2016. – Т. 2, № 2. – С. 6-36.

9. Федеральный закон от 01.01.1997 № 97802163-2 «О защите животных от жестокого обращения» // Собрание законодательства РФ. – 9 с.

10. Shen, Z. Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils / Z. Shen, D.P. Kamdem // International Journal of Biological Macromolecules. – 2015. – Vol. 74. – P. 289–296. REFERENCES

Рис. 3. Концентрация общего белка в сыворотке крови крыс исследуемых групп, г/л

Fig. 3. The concentration of total protein in the blood serum of rats of the studied groups, g/l

REFERENCES

1. Bashenina, N.V. Guidelines for the maintenance and breeding of new species of small rodents in laboratory practice / N.V. Bashenina. – M.: Publishing house of Moscow University, 1975. – 166 p.

2. GOST 31986-2012. Catering services. The method of organoleptic assessment of the quality of public catering products (Reprinted). – Introduction. 2015-01-01. M.: Standartinform, 2019. – 12 p.

3. Kudryakova, G.Kh. Edible packaging: state and prospects / G.Kh. Kudryakova, L.S. Kuznetsova, M.N. Foraging [and others] // Packaging and logistics. – 2007. – No. 6. – P.24–25.

4. Lugovskaya, S.A. Hematological atlas / S.A. Lugovskaya, M.E. Postman // M.: Medicine, 2001. – 214 p.

5. Pat. 2662008 Russian Federation, IPC C08L 5/00. Biodegradable food film coating / K.E. Beloglazova, A.A. Ulyanin, A.D. Gornevskaya [and others]; patentee Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov". – No. 2017142702; app. 07/12/2017; publ. 07/23/2018, Bul. No. 21. – 8 p.

6. Pasko, M.V. Influence of microbial exopolysaccharides on the morphological structure of the internal organs of mice / Pasko M.V., Miller E.A., Ziruk I.V., Rysmukhambetova G.E. // In the collection: Materials of the conference on the results of research and production work of students. Saratov. – 2010, pp. 150-151.

7. Rysmukhambetova, G.E. Isolation and purification of exopolysaccharides from xanthomonads / Rysmukhambetova G.E., Karpunina L.V., Bukharova E.N., Zhemerichkin D.A. // Bulletin of the Saratov State Agrarian University. N.I. Vavilov. 2008. No. 4. S. 42-45.

8. Savitskaya, T.A. Edible polymer films and coatings: history and current state (review) / T.A. Savitskaya // Polymer materials and technologies. – 2016. – T. 2, No. 2. – S. 6-36.

9. Federal Law of 01.01.1997 No. 97802163-2 "On the Protection of Animals from Cruelty" // Collected Legislation of the Russian Federation. – 9 p.

10. Shen, Z. Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils / Z. Shen, D.P. Kamdem // International Journal of Biological Macromolecules. – 2015. – Vol. 74. – P. 289–296.