

## ГОДІВЛЯ ТВАРИН І ТЕХНОЛОГІЯ КОРМІВ

УДК 577.188:599.323

### ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ БІЛКОВОГО ОБМІНУ У ОРГАНІЗМІ БІЛИХ МИШЕЙ ЗА ВИЗНАЧЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ МОДИФІКОВАНОГО ЖЕЛАТИНУ

**А. Г. ВОВКОГОН**, кандидат сільськогосподарських наук, доцент кафедри  
**Білоцерківський національний аграрний університет**  
E-mail: alinavovk1@ukr.net

*Анотація.* Правила безпечності та якості щодо харчових добавок та харчових продуктів вимагають контролю їх нешкідливості та токсичності. Проведення пероральної токсичності є обов'язковою вимогою за використання нових, в тому числі, видозмінених харчових добавок. Тому, встановлення безпечності одержаного в НДІ харчових технологій та ТППТ Білоцерківського НАУ модифікованого желатину має наукове та практичне значення. Проведення біохімічних досліджень в організмі тварин, на яких вивчали токсичний вплив харчової добавки, розширює дані щодо її дії. Тому, задачею досліджень було вивчення деяких показників білкового обміну у крові та печінці білих мишей, яким внутрішньошлунково вводили високі дози модифікованого желатину. В крові мишей визначали активність амінотрансфераз, вміст загального білка та сечовини і вміст білка і сечової кислоти у печінці.

Встановлено, що внаслідок перорального введення лабораторним тваринам модифікованого желатину у кількості 1000 мг / кг маси тіла вміст сечовини у крові та сечової кислоти у печінці був відповідно на рівні 3,3 ммоль / л та 1,32 мкмоль / г. Ведення від 2000 до 5000 мг модифікованого желатину на кілограм маси тіла тварин не викликало вірогідного підвищення або зменшення вмісту сечовини у крові та сечової кислоти у печінці мишей.

Доведено, що на кінець досліду вміст білка у крові і печінці та активність амінотрансфераз у печінці мишей, яким водили від 1000 до 5000 мг модифікованого желатину на кілограм маси тіла не мали вірогідної різниці між собою.

**Ключові слова:** білковий обмін, білі миші, сечовина, модифікований желатин, сечова кислота, білок, активність амінотрансфераз, печінка, сироватка крові

**Актуальність.** Для охорони здоров'я населення використання нових або модифікованих харчових добавок потребує ретельних досліджень, у тому числі і токсикологічних [1, с. 60–63]. Однією із таких

харчових добавок є модифікований желатин, одержаний в НДІ харчових технологій Білоцерківського національного аграрного університету.

Найпоширенішими токсикологічними дослідженнями є встановлення нешкідливості, гострої токсичності, хронічної токсичності, тератогенності, ембріотоксичності тощо. Встановлення гострої токсичності має важливе значення для оцінки добавок. Біохімічні дослідження під час експериментів щодо гострої токсичності добавок є невід'ємним елементом [2, с. 207–268]. На даний час не встановлені показники білкового обміну у організмі білих мишей за гострої токсичності модифікованого желатину.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Дані щодо первинної токсикологічної характеристики добавок можливо отримати, виконавши гострий експеримент. З цією метою використовують декілька видів тварин. За такого експерименту встановлюють LD50 (доза добавки, за якої гине 50,0 % тварин, яким її вводили). Ця доза характеризує гостру токсичність досліджуваного об'єкта. Чим доза харчової добавки нижча, за якої гинуть тварини, тим гостра токсичність вища. Біохімічні дослідження у організмі дослідних тварин проводять під час експерименту і після його закінчення [2, с. 207–268].

У дослідних тварин за гострої токсичності для встановлення показників білкового обміну вивчають вміст сечовини, сечової кислоти, загального білка, амінокислот, окремих білків, активності амінотрансфераз у сироватці крові та органах [2, с. 207–268].

**Мета дослідження** – вивчення показників білкового обміну у організмі білих мишей за внутрішньошлункового введення модифікованого желатину.

**Матеріали і методи дослідження.** Дослідження щодо гострої токсичності модифікованого желатину було виконано на лінійних білих мишах. Експерименти були проведені із додержанням вимог доклінічних досліджень та правил біоетики щодо поводження із лабораторними тваринами. На першому проводили перевірку рівня токсичності модифікованого желатину, застосовуючи низькі дози досліджуваної харчової добавки. Мишам ввели суспензію модифікованого желатину від 5 мг до 200 мг на кілограм маси тіла.

Під час другого етапу, що описаній в роботі, використовували високі дози модифікованого желатину. Формували групи білих мишей по шість голів, дози введення яким досліджуваного фактора становили 1000, 2000, 3000, 4000 і 5000 мг на кг маси тіла (табл. 1). На матеріалі цих тварин проводили біохімічні дослідження.

### 1. Схема дослідження

Група	Доза введення модифікованого желатину, мг / кг маси тіла
I дослідна	1000
II дослідна	2000
III дослідна	3000
IV дослідна	4000
V дослідна	5000

Суспензію модифікованого желатину готували на 1,0 % розчині крохмалю. За півдобу до введення модифікованого желатину тварин не годували. Внутрішньошлункове введення модифікованого желатину виконували за використання металевого зонду (внутрішній діаметр 1,2 мм). Дози водили одноразово або ділили на двоє, застосовуючи короткий проміжок часу між ними. За дослідними тваринами спостерігали 14 діб. Напування і годівлю мишей під час експерименту проводили згідно стандартних вимог.

Ступінь токсичності харчової добавки встановлювали згідно з ГОСТ 12.1.007-76 [3, с. 6; 4, с. 129–134].

На 15 добу від початку експерименту мишей присипляли і забивали. Відбирали кров та органи для проведення біохімічних досліджень. У сироватці крові та печінці білих мишей досліджували загальний білок, використовуючи методику О. Н. Lowry [5, с. 265–315], активність аланінамінотрансферази і аспартатамінотрансферази у печінці мишей визначали за S. Reitman, S. Frrancel [6, с. 56].

Вміст сечової кислоти у печінці мишей досліджували, застосовуючи інструкцію, викладену у [7, с. 3], масову концентрацію сечовини у сироватці крові визначали згідно з інструкцією [8, с. 2].

**Результати дослідження та їх обговорення.** За введення малих доз суспензії модифікованого желатину від 5 мг до 200 мг на кілограм маси тіла не виявлено змін у поведінці. Не встановлено летальних випадків і за використання досліджуваної харчової добавки у дозах 1000, 2000, 3000, 4000 і 5000 мг / кг маси тіла тварин.

Показники білкового обміну визначали у сироватці крові та печінці мишей, яким вводили високі дози модифікованого желатину. За введення модифікованого желатину у кількості 1000 мг / кг маси тіла уміст сечовини у крові мишей I дослідної групи був на рівні 3,3 ммоль / л. Застосування 2000 та 3000 мг модифікованого желатину на кілограм маси тіла викликало підвищення вмісту сечовини порівняно із тваринами I дослідної групи, але різниця не була вірогідною (табл. 2).

## 2. Білковий обмін у організмі мишей за дії суспензії модифікованого желатину, $M \pm m$ , $n = 6$

Група	Уміст сечовини у крові, ммоль / л	Уміст сечової кислоти у печінці, кмоль / г	Вміст білка	
			в печінці, г / кг	в сироватці крові, г / л
I дослідна	3,3 ± 0,28	1,32 ± 0,320	85,4 ± 2,33	61,9 ± 5,43
II дослідна	4,0 ± 0,47	1,41 ± 0,265	86,5 ± 1,97	65,3 ± 2,89
III дослідна	4,2 ± 0,64	1,32 ± 0,183	83,5 ± 0,67	63,2 ± 2,73
IV дослідна	3,8 ± 0,28	1,19 ± 0,209	87,0 ± 3,25	59,7 ± 5,34
V дослідна	3,7 ± 0,17	1,57 ± 0,176	85,9 ± 4,11	58,3 ± 3,85

Застосування високих доз харчової добавки у IV та V дослідних групах супроводжувалось тенденцією щодо підвищення вмісту сечовини у крові лабораторних мишей у порівнянні із тваринами із I дослідної групи.

Виявлено, що після введення мишам модифікованого желатину у кількості 1000 мг / кг маси тіла уміст сечової кислоти у печінці тварин був на рівні 1,32 мкмоль / г. Використання доз харчової добавки у кількості 2000 мг / кг супроводжувалось зростанням вмісту сечової кислоти у печінці мишей на 6,8 %. Найвищий вміст сечової кислоти був виявлений у печінці тварин із V дослідної групи, проте різниця не мала вірогідного характеру.

На 15 добу експерименту вміст загального білка у печінці мишей I дослідної групи був на рівні 85,4 г / кг. Не встановлено вірогідного зменшення або збільшення вмісту загального білка у печінці тварин за використання модифікованого желатину у II- V дослідних групах. Масова частка білка у сироватці крові мишей, які одержували 1000 мг / кг маси тіла модифікованого желатину становила 61,9 г / л. Збільшення дози досліджуваного фактора сприяло незначному зростанню вмісту білка у II та III і зниженню у IV та VIII дослідних групах. Відхилення у даних випадках не було вірогідним.

Про порушення білкового обміну у печінці тварин можливо судити за активністю амінотрансфераз. Активність аспартатамінотрансферази (АсАт) у печінці мишей (I дослідна група) становила 16,2 мкмоль / год / г. Цей показник не відрізнявся від середньостатистичних даних щодо активності ензиму у фізіологічно здорових тварин (табл. 3).

### 3. Показники активності амінотрансфераз в печінці мишей, $M \pm m$ , $n = 6$

Група	Активність АсАТ, кмоль / год / г	Активність АлАТ, кмоль / год / г
I дослідна	16,2 ± 1,26	20,8 ± 1,07
II дослідна	16,9 ± 0,38	19,9 ± 0,74
III дослідна	15,9 ± 1,09	20,2 ± 0,73
IV дослідна	16,6 ± 0,57	20,7 ± 1,24
V дослідна	15,8 ± 0,68	21,0 ± 1,05

Не виявлено суттєвих змін у активності АсАт у печінці мишей із II дослідної групи, яким вводили 2000 мг / кг маси тіла модифікованого желатину. Різниця із даними у I дослідній групі була лише 4,3 %. Не виявлено вірогідної різниці щодо активності АсАт і у печінці тварин із III- V дослідної групи. Аналогічно не виявлено змін щодо активності аланінамінотрансферази у печінці білих мишей за дії модифікованого желатину.

Таким чином, на 15 добу після ведення білим мишам високих доз модифікованого желатину не виявлено вірогідних порушень щодо білкового обміну у їх організмі.

**Висновки і перспективи.** Встановлено, що на 15 добу після внутрішньошлункового введення мишам від 1000 до 5000 мг модифікованого желатину на кілограм маси тіла вірогідної різниці щодо

вмісту білка у сироватці крові і печінці та сечовини у крові між групами тварин не виявлено.

Використання високих доз модифікованого желатину не викликає вірогідних змін активності амінотрансфераз у печінці мишей.

Подальшим актуальним дослідженням є вивчення здатності модифікованого желатину сорбувати на себе клітини мікроорганізмів заквасок для кисломолочних продуктів.

### Список використаних джерел

1. Смоляр, В. И., Салий, Н. С., Григоренко, С. Н. Влияние новых экзополисахаридов на организм животных. *Вопросы питания*. 1991. №2. С. 60–63.
2. Коцюмбас, І. Я., Малик, О. Г., Патерега, І. П., Тішин, О. Л., Косенко, Ю. М., Чура, Д. О., Коцюмбас, Г. І., П'ятничко, О. М., Брезвин, О. М., Засадна, З. С., Чайковська, О. І. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів. 2006. 207–268.
3. ГОСТ 12.1.007-76.ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. Введ. 01.01.77. - Проверен 01.10.81; Изменен № 1; Переизд 01.12.81. М.: Изд-во стандартов, 1982. 6 с.
4. Diener, W., Schlede E. Acute Toxicity Class Methods: Alternatives to LD / LC50 Tests. *ALTEX*. 1999. №16. P. 129–134.
5. Lowry O. H., Rosenbrough, N. I., Farr, A. L. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951. Vol. 193. P. 265–315.
6. Reitman, S., Frankel, S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Amer. J. Clin. Pthol.* 1957. Vol. 28. P. 56.
7. Інструкція до набору реактивів для визначення сечової кислоти в біологічних рідинах (кат. № НР017.01.). Затверджена Інститутом АМН України від 10 жовтня 2003 року. Київ, 2003. 3 с.
8. Інструкція до набору реактивів для визначення сечовини в біологічних рідинах діацетилмонооксимним методом (кат. № НР018.01.). Затверджена Інститутом АМН України від 10 жовтня 2003 року. Київ, 2003. 2 с.

### References

1. Smolyar, V. I., Saliy, N. S., Grigorenko, S. N. (1991). Vliyanie novykh ekzopolisakharidov na organizm zhivotnykh [Effect of new exopolysaccharides on the organism of animals]. *Nutrition issues*, 2, 60–63.
2. Kotsiumbas, I. Ya., Malyk, O. H., Patereha, I. P., Tishyn, O. L., Kosenko, Yu.M., Chura, D. O., Kotsiumbas, H. I., P'iatnychko, O. M., Brezvyin, O. M., Zasadna, Z. S., Chaikovska, O. I. (2006). Doklinichni doslidzhennia veterynarnykh likarskykh zasobiv [Preclinical studies of veterinary medicinal products]. ..... 207–268.
3. GOST 12.1.007-76.SSBT. Vrednye veshchestva. Klassifikatsiya i obshchie trebovaniya bezopasnosti[SSTC 12.1.007-76.SSBT. Harmful substances. Classification and general safety requirements]. (1982). Enter 01/01/77. Verified on 10/01/81; Revision number 1; Reissue 12/01/81. Moscow: Publishing house of standards, 6.
4. Diener, W., Schlede, E. (1999). Acute Toxicity Class Methods: Alternatives to LD / LC50 Tests. *ALTEX*, 16, 129–134.
5. Lowry, O. H., Rosenbrough, N. I., Farr, A. L. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265–315.

6. Reitman, S., Frankel, S. (1957). A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. Amer. J. Clin. Pthol., 28, 56.

7. Instruktsiia do naboru reaktiviv dlia vyznachennia sechovoi kysloty v biolohichnykh ridynakh (kat. № NR017.01.) [Instructions for a set of reagents for the determination of uric acid in biological fluids (CAT No. HP017.01.)]. (2003). Approved by the Institute of Academy of Medical Sciences of Ukraine on October 10, 2003. Kyiv, 3.

8. Instruktsiia do naboru reaktiviv dlia vyznachennia sechovyny v biolohichnykh ridynakh diatsetylmonooksymnym metodom (kat. № NR018.01.) [Instruction for a set of reagents for the determination of urea in biological fluids using the diacetylmiooxymn method (CAT No. HP018.01.)]. (2003). Approved by the Institute of Academy of Medical Sciences of Ukraine on October 10, 2003. Kyiv, 2.

## **НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ БЕЛКОВОГО ОБМЕНА В ОРГАНИЗМЕ БЕЛЫХ МЫШЕЙ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ МОДИФИЦИРОВАННОГО ЖЕЛАТИНА**

**А. Г. Вовкогон**

***Аннотация.** Правила безопасности и качества в отношении пищевых добавок и пищевых продуктов требуют контроля их безвредности и токсичности. Проведение определения пероральной токсичности является обязательным требованием при использовании новых, в том числе видоизмененных пищевых добавок. Поэтому, установление безопасности полученного в НИИ пищевых технологий и ТППТ Белоцерковского НАУ модифицированного желатина имеет научное и практическое значение. Проведение биохимических исследований в организме животных, на которых изучали токсическое воздействие пищевой добавки, расширяет данные по ее воздействию. Поэтому, задачей исследований было изучение некоторых показателей белкового обмена в крови и печени белых мышей, которым внутрижелудочно вводили высокие дозы модифицированного желатина. В крови мышей определяли активность аминотрансфераз, содержание общего белка и мочевины и содержание белка и мочевой кислоты в печени.*

*Установлено, что в результате введения лабораторным животным модифицированного желатина в количестве 1000 мг/кг массы тела содержащее мочевины в крови и мочевой кислоты в печени было на уровне соответственно 3,3 ммоль/л и 1,32 мкмоль/ч. Введение от 2000 до 5000 мг модифицированного желатина на килограмм массы тела животных не вызывало достоверного увеличения или уменьшения содержания мочевины в крови и мочевой кислоты в печени мышей.*

*Доказано, что на конец опыта содержание белка в крови, печени и активность аминотрансфераз в печени мышей, которым вводили от 1000 до 5000 мг модифицированного желатина на килограмм массы тела, не имели достоверной разницы между собой.*

**Ключевые слова:** белковый обмен, белые мыши, мочеви́на, модифицированный желатин, мочева́я кислота, белок, активность аминотрансфераз, печень, сыворотка крови

## **FOLLOWING PROTEIN METABOLISM INDICATORS IN THE WHITE MICE ORGANISM FOR DETERMINING ACUTE TOXICITY OF MODIFIED GELATIN**

**A. G. Vovkohon**

**Abstract.** *The use of new or modified dietary supplements requires careful research into clean and toxicological issues for public health. One of such dietary supplements is modified gelatin obtained at the Research Institute of Food Technologies of Bila Tserkva National Agrarian University.*

*The most common toxicological studies are the establishment of harmlessness, acute toxicity, chronic toxicity, teratogenicity, embryotoxicity, and others. Establishing acute toxicity is important for evaluating additives. Biochemical studies in experiments on acute toxicity of supplements are an integral part in our research.*

*At present, there are no indicators of protein metabolism in the body of white mice for acute toxicity of modified gelatin.*

*Therefore, the purpose of the study was to study the protein metabolism in an organism of white mice used in the experiments to determine the acute toxicity of modified gelatin.*

*A study on acute toxicity of modified gelatin was performed on linear white mice. The experiments were conducted in accordance with the requirements of preclinical studies and bioethics rules regarding the handling of laboratory animals. In the first stage intragastric animals were fed from 5 mg to 200 mg per kilogram of body weight of the modified gelatin suspension. Subsequent follow up doses of the study factor were 1,000, 2,000, 3,000, 4,000, and 5,000 mg/kg, in which biochemical studies in the white mice were performed. No one animals were fed with modified gelatin for half an hour. A suspension of modified gelatin was prepared in a 1.0 % solution of starch.*

*Applying low doses of the studied food supplement in a mice group consisted of 3 animal. During the second experiment (high doses of modified gelatin) six groups of mice were formed.*

*Intragastric putting of modified gelatin was performed using a metal probe (internal diameter 1.2 mm). Doses were administered once or divided into two using a short time interval between them. Experimental animals were observed for 14 days. Infusion and feeding of mice during the experiment were carried out in accordance with standard requirements.*

*The mice were make drowsy and slaughtered at the 15th days from the beginning of the experiment. Blood and organs were selected for biochemical studies.*

*Changes in behavior were not detected for the management of suspension small doses of modified gelatin from 5 mg to 200 mg per kilogram*

of body weight. There were not lethal cases and for the use of the studied food additive at doses of 1000, 2000, 3000, 4000 and 5000 mg/kg of body weight of animals.

Indicators of protein metabolism were determined in serum of blood and liver of mice that were taken high doses of modified gelatin. The urea content in the mice blood of the experimental group was 3.3 mmol/l for the maintenance of modified gelatin in the amount of 1000 mg/kg of body weight. The use of 2,000 and 3,000 mg of modified gelatin per kilogram of body weight resulted in an increase in urea compared to the animals in the experimental group but the difference was unlikely.

The use of high doses of food supplements in the IV and V experimental groups was accompanied by a tendency to increase the urea content in the blood of laboratory mice compared with animals from Study Group I.

It was found out that after putting of modified gelatin mice in the amount of 1000 mg/kg of body weight, the uric acid content in the liver of animals was 1.32  $\mu\text{mol/g}$ . The use of a dietary supplement of 2000 mg/kg was accompanied by a 6.8 % increase in uric acid in the liver of the mice. The highest content of uric acid was detected in the liver of animals from the experimental group V but the difference was not of a probable nature.

The total protein in the liver of mice in the experimental group was 85.4 g/kg at the 15th day of the experiment. There is no established reduction or increase in the total protein in the liver of animals for the use of modified gelatin in II-V experimental groups. The mass fraction of serum protein in mice receiving 1000 mg/kg body weight of modified gelatin was 61.9 g/L. An increase in the dose of the investigated factor contributed to a slight increase in the protein content in II and III and a decrease in the IV and V III experimental groups. Deviations in these cases were unlikely.

The violation of protein metabolism in the liver of animals can be judged by the activity of aminotransferases. The activity of aspartate aminotransferase (AsAt) in the liver of the mice (Experimental group I) was 16.2  $\mu\text{mol/hr/g}$ . This figure did not differ from the average statistics on enzyme activity in physiologically healthy animals.

Significant changes were not found in the activity of AsAt in the liver of mice from the experimental group II, which carried 2000 mg/kg body weight of modified gelatin. The difference in data in the first study group was only 4.3 %. There was no detectable difference in the activity of AsAt and in the liver of animals from the III-V experimental group. Similarly, no changes were found in the activity of alanine aminotransferase in the liver of white mice following the action of modified gelatin.

Thus probable violations of protein metabolism in their body were not detected at the 15th days after putting of high doses of modified gelatin to white mice.

**Keywords: protein metabolism, white mice, urea, modified gelatin, uric acid, protein, aminotransferase activity, liver, blood serum**