

ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ ВУГЛЕВОДНЕВОГО ОБМІНУ В ОРГАНІЗМІ МИШЕЙ ЗА ДІЇ МОДИФІКОВАНОГО ПЕКТИНУ

А. Г. Вовкогон
alnavovk1@ukr.net

Білоцерківський національний аграрний університет,
пл. Соборна, 8/1, м. Біла Церква, 09117, Україна

Пошук нових і удосконалення перевірених носіїв для біотехнологічних методів і процесів іммобілізації ензимів та клітин мікроорганізмів є актуальним питанням. Пріоритетними є широкодоступні та недорогі носії. Також носії, використовувані в харчовій промисловості, мають бути нетоксичними, метаболізуватися або швидко виводитися з організму. Фізико-хімічні властивості пектину як харчової добавки дозволяють використовувати його як природний носій. Проте для підвищення сорбційних властивостей пектину в НДІ харчових технологій та технологій переробки продукції тваринництва Білоцерківського НАУ було розроблено технологію його модифікації. Вивчено нешкідливість модифікованого пектину на білих мишах на основі відсутності летальних наслідків патологоанатомічних змін та деяких біохімічних показників. Після завершення експерименту щодо нешкідливості проведено визначення деяких показників вуглеводного обміну в організмі мишей за дії різних доз модифікованого пектину. Було створено три групи дослідних тварин масою 19–20 г по 5 особин у кожній. Вміст глюкози, піровиноградної та молочної кислот досліджували у сироватці крові, вміст глікогену — у печінці лінійних мишей. Годівлю, догляд та утримання мишей під час експерименту проводили згідно з сучасними вимогами біоетики. Наприкінці експерименту (11-та доба після внутрішньоблуткового введення 0,3 см³ 5,0 % суспензії модифікованого пектину) у дослідних мишей не встановлено змін щодо вмісту глюкози, піровиноградної і молочної кислот у сироватці крові та глікогену у печінці порівняно з тваринами, яким вводили фізіологічний розчин. Не виявлено вірогідного збільшення вмісту глюкози, піровиноградної і молочної кислот у сироватці крові та глікогену у печінці мишей, яким вводили по 0,3 см³ 10,0 % суспензії модифікованого пектину, порівняно з тваринами контрольної групи. Отже, за одноразового введення 0,3 см³ 5,0 % та 10,0 % суспензій модифікованого пектину порушень вуглеводного обміну в організмі мишей не виявлено, що свідчить про відсутність токсичного впливу досліджуваної речовини на організм білих мишей.

Ключові слова: МОДИФІКОВАНИЙ ПЕКТИН, МИШІ, ГЛЮКОЗА, ПІРОВИНОГРАДНА КИСЛОТА, МОЛОЧНА КИСЛОТА, ГЛІКОГЕН

SOME INDEXES OF CARBOHYDRATE METABOLISM IN MICE UNDER ACTION OF MODIFIED PECTIN

A. Vovkohon
alnavovk1@ukr.net

Bila Tserkva National Agrarian University,
8/1 Soborna sq., Bila Tserkva, Kyiv region, 09117, Ukraine

The search for new and improvement of approved carriers for biotechnological methods and processes of immobilized enzymes and microorganisms' cells is quite actual. The mostly applied are those carriers which are widely available and not expensive. Also, the carriers used in the food industry should be non-toxic and metabolized or quickly excreted from the organism. The physical and chemical properties of pectin as a food additive allow using it as natural carrier. However, to increase the sorption properties of pectin, at the Research Institute of food technologies and technologies of animal products processing of Bila Tserkva national agrarian university a technology of its modification has been developed. The harmlessness indexes of pectin were studied on white mice. After the experiment on the harmlessness ended, some carbohydrate metabolism indexes were defined for the mice body under the action of different doses of modified pectin. Three groups of experimental animals with body weight 19–20 g were created containing 5 animals in each group. The studies on the content of glucose, pyruvic and lactic acids were conducted in the blood serum. The glycogen content was studied in the liver of linear mice. The feeding, maintenance and keeping of mice during experiment were carried out according to the modern bioethics requirements. It has been found out that at the end of experiment (the day 11 after the intragastric infusion of 0.3 cm³ 5.0 % modified pectin suspension), there were no changes as to the glucose, pyruvic and lactic acids in the blood serum

and glycogen in liver compared to the animals infused by the physiological solution. There was no probable increase of glucose, pyruvic and lactic acids in the blood serum and glycogen in the liver of mice infused by 0.3 cm³ 10.0 % of modified pectin suspension compared to the animals of control group. Thus, there was identified no violation of carbohydrate metabolism in the mice bodies after one-time infusion of 0.3 cm³ 5.0 % and 10.0 % modified pectin suspension, indicating that there is no toxic effect of the test substance on the body of white mice.

Keywords: MODIFIED PECTIN, MICE, GLUCOSE, PYRUVIC ACID, LACTIC ACID, GLYCOGEN

В інженерній ензимології, медицині та харчовій промисловості використовуються природні носії органічної і неорганічної природи. Серед природних органічних носіїв поширені вуглеводневі, ліпідні та білкові матриці. До природних вуглеводневих носіїв належить широкодоступний пектин. Фізичні властивості пектину дають змогу застосовувати його як носій для іммобілізації клітин мікроорганізмів та ензимів різного ступеня очищення. На пектин багаті цитрусові (апельсин, мандарин), баштанні (гарбуз, диня), буряки, яблука, ягоди тощо [1, 6, 9, 15, 16].

Для покращення практичного використання пектину як носія необхідно проводити його модифікацію з використанням фізичних, хімічних або біологічних прийомів.

Співробітниками НДІ харчових технологій Білоцерківського НАУ розроблено спосіб модифікації яблучного пектину як носія для використання у харчовій промисловості. Встановлено його нешкідливість на лабораторних лінійних білих мишах. Недослідженими залишаються показники вуглеводневого обміну в організмі білих мишей за дії модифікованого пектину.

В Україні і за кордоном для виробництва пектину застосовують дешеву сировину — вичавки фруктів і овочів, шкірку, жом тощо [1, 2, 4, 5, 9, 10, 12–16]. Одержану харчову добавку застосовують під час приготування кондитерських виробів. Високоетерифікований пектин широко використовують для збитих кондитерських виробів — зокрема цукеркових мас, зефіру, пастили, для виробництва желе-них наповнювачів, мармеладу тощо. Наявність пектину надає консистенції джему та посилює аромат. Наявність у його складі карбоксильних груп і здатність пектину утворювати гелі дозволяють за його допомогою проводити іммобілізацію біомолекул фізичним методом. Перспективність застосування пектину як ма-

триці у харчовій промисловості полягає також в тому, що носій є доступним і належить до натуральних харчових добавок.

Метою досліджень є визначення деяких показників вуглеводневого обміну в організмі білих мишей за дії підвищених доз модифікованого пектину.

Матеріали і методи

Нешкідливість модифікованого пектину перевіряли з використанням біооб'єкту — білих мишей. Для дослідів було сформовано три групи: одну контрольну і дві дослідні.

Фізіологічний розчин у кількості 0,3 см³ вводили мишам контрольної групи. По 0,3 см³ 5,0 % суспензії модифікованого пектину вводили тваринам I дослідної групи. Миші II дослідної групи отримували аналогічну дозу, але суспензія модифікованого пектину була 10 %. Фізіологічний розчин та суспензії із різним відсотком пектину мишам вводили одноразово внутрішньощлунково через зонд (табл. 1).

На 11-ту добу після введення досліджуваних суспензій мишей декапітували за дії ефірного наркозу. Для проведення біохімічних досліджень відбирали кров та печінку. У сироватці крові мишей визначали концентрацію глюкози з використанням орто-толуїдинового реактиву згідно з інструкцією [7]. Вміст глікогену у печінці тварин визначали згідно з методикою [8]. Вміст у сироватці крові мишей молочної кислоти визначали за Баркером та Саммерсоном [3], концентрацію піровиноградної кислоти визначали згідно з методикою [3].

Годівля, догляд та утримання мишей під час експерименту забезпечувались згідно з вимогами «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», прийнятих Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) та «Європейської конвенції щодо захисту хребет-

Таблиця 1

Схема дослід / Scheme of the experiment

Група / Group	Кількість тварин у групі Number of animals in a group	Доза розчину або суспензії, що вводилися мишам The dose of a solution or suspension that is found in mice
Контрольна / Control	5	0,3 см ³ фізіологічного розчину 0.3 cm ³ of physiological solution
I дослідна / I experimental	5	0,3 см ³ 5,0 % суспензії модифікованого пектину 0.3 cm ³ 5.0 % suspension of modified pectin
II дослідна / II experimental	5	0,3 см ³ 10,0 % суспензії модифікованого пектину 0.3 cm ³ 10.0% suspension of modified pectin

них тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985). Визначали середні арифметичні величини (M), відхилення середнього значення (m) та вірогідність різниці між середніми арифметичними величинами (P). Вірогідність різниці між середніми значеннями показників визначали за t -критерієм Стьюдента [11].

Результати й обговорення

За постійного спостереження впродовж десяти діб встановлено, що підвищені дози модифікованого пектину не спричиняли захворювання та загибелі лабораторних мишей.

Вміст глюкози у сироватці крові мишей з контрольної групи був на рівні 3,19 ммоль/л, що відповідало фізіологічним нормам для ссавців. За введення тваринам 0,3 см³ 5,0 % суспензії модифікованого пектину вміст глюкози у сироватці крові був вищим на 8,1 %, проте різниця не була вірогідною. Підвищення вмісту глюкози у крові мишей, яким вводили 0,3 см³ 10,0 % суспензії модифікованого пектину, не було вірогідним.

У мишей контрольної групи вміст піровиноградної кислоти у сироватці крові був на рівні 0,081 ммоль/л. На 11-ту добу після застосування 5,0 % суспензії модифікованого пектину не виявлено змін щодо вмісту піровиноградної кислоти в організмі мишей. Показник був мен-

шим, ніж у контролі, лише на 2,4 %. Різниця була в межах похибки. Введення 10,0 % суспензії модифікованого пектину також не вплинуло на вірогідне підвищення піровиноградної кислоти у сироватці крові лабораторних тварин (табл. 2).

Вміст молочної кислоти у сироватці крові тварин контрольної групи був у межах фізіологічної норми і становив 1,02 ммоль/л. Використання як 5,0 %, так і 10,0 % суспензії досліджуваного модифікованого пектину наприкінці експерименту не мало вірогідного впливу на збільшення або зменшення молочної кислоти у сироватці крові дослідних мишей. Різниця з контролем була у межах похибки.

Отже, одноразове ведення мишам підвищених доз модифікованого пектину не має негативного впливу на вміст глюкози, піровиноградної кислоти та молочної кислоти у сироватці крові тварин.

Глікоген належить до поліцукрів, який в організмі тварин і людини є запасним джерелом енергії. У печінці мишей контрольної групи вміст глікогену становив 3,16 % від маси печінки. За використання 5,0 % суспензії модифікованого пектину вміст глікогену був на 1,5 % вищим у печінці тварин I дослідної групи; різниця була невірогідною (табл. 3).

Введення 10,0 % суспензії модифікованого пектину не викликало вірогідного зростання вмісту глікогену у печінці мишей

Таблиця 2

Показники вуглеводного обміну в сироватці крові мишей за впливу модифікованого пектину ($M \pm m$, $n=5$)
Indicators of hydrocarbon metabolism in blood serum of mice under the action of modified pectin ($M \pm m$, $n=5$)

Група / Group	Вміст глюкози, ммоль/л Glucose content, mmol/l	Вміст піровиноградної кислоти, ммоль/л The content of pyruvic acid, mmol/l	Вміст молочної кислоти, ммоль/л The content of lactic acid, mmol/l
Контрольна / Control	3,19 \pm 0,37	0,081 \pm 0,0043	1,02 \pm 0,164
I дослідна / I experimental	3,45 \pm 0,43	0,079 \pm 0,0027	0,97 \pm 0,172
II дослідна / II experimental	4,01 \pm 0,29	0,085 \pm 0,0018	1,13 \pm 0,097

Таблиця 3

**Показники вмісту глікогену
у печінці мишей (M±m, n=5)**
**Indicators of glycogen content
in the liver of mice (M±m, n=5)**

Група / Group	Вміст глікогену, мг/кг Glycogen content, mg/kg
Контрольна / Control	31569±987,5
I дослідна / I experimental	32067±1089,7
II дослідна / II experimental	33102±1685,4

на 11-ту добу. Таким чином, одноразове введення 5,0 % та 10,0 % суспензій модифікованого пектину не призводить до порушень вуглеводного обміну у організмі мишей.

Висновки

1. На 11-ту добу після внутрішньошлункового ведення 0,3 см³ 5,0 % суспензії модифікованого пектину не виявлено змін щодо вмісту глюкози, піровиноградної, молочної кислоти у сироватці крові та глікогену у печінці білих мишей.

2. Внутрішньошлункове ведення мишам 0,3 см³ 10,0 % суспензії модифікованого пектину не спричиняє порушення вуглеводного обміну в організмі тварин.

Перспективи подальших досліджень.

Актуальним є вивчення гематологічних показників (вміст еритроцитів, лейкоцитів, вміст гемоглобіну в одному еритроциті, гематокрит) мишей для встановлення нешкідливості модифікованого пектину.

1. Bátori V., Jabbari M., Åkesson D., Lennartsson P. R., Taherzadeh M. J., Zamani A. Production of pectin-cellulose biofilms: a new approach for citrus waste recycling. *International Journal of Polymer Science*, 2017, article ID 9732329, 9 p. DOI: 10.1155/2017/9732329.
2. Canteri-Schemin P. M. H., Fertoni H. C. R., Waszczynskyj N., Wosiacki G. Extraction of pectin from apple. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 2005, vol. 48, issue 2, pp. 259–266. DOI: 10.1590/S1516-89132005000200013.
3. Chechyotkin A. V., Voronyanskiy V. I., Pokusay G. G., Kartashov N. I., Doktorovich N. L., Kirichenko I. V. *Workshop on biochemistry of farm animals*. Moscow, Vysshaya shkola, 1980, 303 p. (in Russian)
4. Dinu D. Extraction and characterization of pectins from wheat bran. *Romanian Biotechnology Letter*, 2001, vol. 6, pp. 37–44.
5. Gama W. B. M. V., De Farias Silva C. E., Oliveira Da Silva L. M., Abud A. K. S. Extraction and

Characterization of pectin from citric. *Chemical engineering transactions*, 2015, vol. 44, pp. 259–264. DOI: 10.3303/CET1544044.

6. Herasymenko V., Herasymenko M., Tsvilikhovskiy M. *Biotechnology*. Kyiv, 2006, 647 p. (in Ukrainian)
7. Instructions to the set of reagents for the determination of glucose in biological liquids by the color of the reaction with an ortho-toluidine reagent (cat. no. NR009.01). Approved by the Institute of Surgery and Transplantation, Academy of Medical Sciences of Ukraine, October 10, 2003. Kyiv, 2003, 2 p. (in Ukrainian)
8. Kushnir O. Iu. The influence of melatonin on indices of carbohydrate metabolism in rats with aloxane diabetes. Autoref. diss. For PhD in medical sci., spec. 03.00.04 “biochemistry”. Kyiv, Institute of Gerontology named after D. F. Chebotarov, 2010, 21 p. (in Ukrainian)
9. Miceli-Garcia L. G. Pectin from apple pomace: extraction, characterization, and utilization in encapsulating alpha-tocopherol acetate. *Dissertations, Theses, & Student Research in Food Science and Technology*, 2014, vol. 40, pp. 49–63.
10. Oliveira T. I. S., Rosa M. F., Cavalcante F. L., Pereira P. H. F., Moates G. K., Wellner N., Mazzetto S. E., Waldron K. W., Azeredo H. M. C. Optimization of pectin extraction from banana peels with citric acid by using response surface methodology. *Food Chemistry*, 2016, vol. 198, pp. 113–118. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.08.080.
11. Plohinский N. A. *Biometrics Guide for Livestock Specialists*. Moscow, Kolos, 1969, 256 p. (in Russian)
12. Shan Q. L., Chin N. L., Yusof A. Y. Extraction and Characterization of Pectin from Passion Fruit Peels. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2014, vol. 2, pp. 231–236. DOI: 10.1016/j.aaspro.2014.11.033.
13. Srivastava P., Malviya R. Extraction, characterization and evaluation of orange peel waste derived pectin as a pharmaceutical excipient. *The Natural Products Journal*, 2011, vol. 1, issue 1, pp. 65–70. DOI: 10.2174/2210315511101010065.
14. Sulieman A. M. E., Khodari K. M. Y., Salih Z. A. Extraction of pectin from lemon and orange fruits peels and its utilization in jam making. *International Journal of Food Science and Nutrition Engineering*, 2013, vol. 3, issue 5, pp. 81–84. DOI: 10.5923/j.food.20130305.01.
15. Tang P. Y., Wong C. J., Woo K. K. Optimization of pectin extraction from peel of dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *Asian Journal of Biological Sciences*, 2011, vol. 4, issue 2, pp. 189–195. DOI: 10.3923/ajbs.2011.189.195.
16. Tiwari A. K., Saha S. N., Yadav V. P., Upadhyay U. K., Katiyar D., Vishwavidyalaya T. M. G. G. Extraction and characterization of pectin from orange peels. *International Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 2017, vol. 13, issue 1, pp. 39–47. Available at: https://www.ripublication.com/ijbb17/ijbbv13n1_06.pdf