

## ПОЛИЭТИЛЕНОВАЯ УПАКОВКА С МИКРОЧАСТИЦАМИ СЕРЕБРА И ЦИНКА, И ЕЕ ВЛИЯНИЕ НА КАЧЕСТВО МОЛОКА

Г.В. Родионов, А.П. Олесюк, Е.Я. Колтинова, В.В. Егоров, Н.А. Малофеева, М.С. Ощепков

Геннадий Владимирович Родионов, Анна Петровна Олесюк

Кафедра молочного и мясного скотоводства, Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия им. К.А. Тимирязева, Тимирязевская ул., 49, Москва, Российская Федерация, 127550  
E-mail: grodionov@rgau-msha.ru

Елена Яковлевна Колтинова \*

Кафедра биотехнологии и технологии продуктов биоорганического синтеза, Московский государственный университет пищевых производств, Волоколамское ш., 11, Москва, Российская Федерация, 125080  
E-mail: koltinovaalena@gmail.com \*

Владислав Викторович Егоров

Кафедра химии имени проф. С.И. Афонского и А.Г. Малахова, Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА им. К.И. Скрябина, ул. Академика Скрябина, 23, Москва, Российская Федерация, 109472  
E-mail: egoroffvlad1@gmail.com

Наталья Анатольевна Малофеева

Кафедра паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы, Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА им. К.И. Скрябина, ул. Академика Скрябина, 23, Москва, Российская Федерация, 109472  
E-mail: sbs-com07@mail.ru

Максим Сергеевич Ощепков

Научный центр «Малотоннажная химия», ул. Краснобогатырская 42 стр.1 Москва, Российская Федерация, 107564  
E-mail: maxim.os@mail.ru

*Защита молока и молочной продукции от воздействия микроорганизмов и поверхностной порчи введением в упаковочные материалы антимикробных добавок является актуальным и перспективным методом. Данная публикация посвящена получению модифицированной микрочастицами препарата ЭКОС (соли серебра и оксид) полиэтиленовой упаковки, исследованию ее свойств и влияния на состав молока. Изучены основные физико-химические и микробиологические показатели молока при хранении, а также возможная миграция микрочастиц в молоко и модельные жидкости методами элементного анализа, сканирующей электронной микроскопии, лазерного динамического светорассеяния. Найдено, что такие показатели как содержание жира, белков, лактозы, сухих веществ остаются неизменными в пределах погрешности эксперимента для исходного молока, молока, выдержанного в течение 24 ч в стеклянной таре, и в контакте с модифицированным полиэтиленом. При хранении в стеклянной посуде при комнатной температуре (24 °С) показатель количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов через сутки составил  $8,1 \cdot 10^6$  КОЕ/см<sup>3</sup>, в то время как в упаковке с препаратом ЭКОС количество бактерий было в 6 раз меньше. Установлено, что содержание серебра в молоке, контактировавшем с модифицированным полиэтиленом, незначительно. Количество цинка повышается в течение 24 ч на 10%, что не является критичным с точки зрения показателей качества молока. Показано, что хранение молока в полимерной упаковке, изготовленной с добавлением консервантов ЭКОС, позволяет подавить развитие микроорганизмов в молоке коров, не приводит к сколько-нибудь существенному изменению его состава и не влияет на качество.*

**Ключевые слова:** микрочастицы, серебро, упаковочные материалы, миграция, молоко, КМА-ФАнМ

## POLYETHYLENE PACKAGING WITH SILVER AND ZINC MICROPARTICLES AND ITS INFLUENCE ON MILK QUALITY

G.V. Rodionov, A.P. Olesyuk, E.Ya. Koltinova, V.V. Egorov, N.A. Malofeeva, M.S. Oshchepkov

Gennady V. Rodionov, Anna P. Olesyuk

Department of Dairy and Beef Cattle Breeding, Russian State Agrarian University - Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev, Timiryazevskaya st., 49, Moscow, 127550, Russia  
E-mail: grodionov@rgau-msha.ru

Elena Ya. Koltinova \*

Department of Biotechnology and Technology of Products of Bioorganic Synthesis, Moscow State University of Food Production, Volokolamskoye sh., 11, Moscow, 125080, Russia  
E-mail: koltinovaalena@gmail.com \*

Vladislav V. Egorov

Department of Chemistry named after professors S.I. Athos, A.G. Malakhova, Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology - MBA named after K.I. Scriabin, Academician Scriabin st., 23, Moscow, 109472, Russia  
E-mail: egoroffvlad1@gmail.com

Natalya A. Malofeeva

Department of Parasitology and Veterinary Sanitary Expertise, Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology - MVA named after K.I. Scriabin, Academician Scriabin st., 23, Moscow, 109472, Russia  
E-mail: sbs-com07@mail.ru

Maxim S. Oshchepkov

Scientific Center "Low-tonnage chemistry", Krasnobogatyrskaya st., 42, bld. 1, Moscow, 107564, Russia  
E-mail: maxim.os@mail.ru

*Protection of milk and dairy products from the effects of microorganisms and surface spoilage by the introduction of antimicrobial additives into packaging materials is a relevant and promising method. This publication is devoted to the preparation of a microparticle-modified ECOS preparation (silver salts and oxide) of a polyethylene package, the study of its properties and effects on the composition of milk. The basic physicochemical and microbiological parameters of milk during storage, as well as the possible migration of microparticles into milk and model liquids were studied by the methods of elemental analysis, scanning electron microscopy, and laser dynamic light scattering. It was found that such indicators as the content of fat, protein, lactose, dry substances remain unchanged within the experimental error for the initial milk, milk aged for 24 h in a glass container, and in contact with the modified polyethylene. When stored in glassware at room temperature (24 °C), the number of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms in a day amounted to  $8.1 \cdot 10^6$  CFU/cm<sup>3</sup>, while the number of bacteria in the package with ECOS was 6 times less. It was found that the silver content in milk in contact with the modified polyethylene is negligible. The amount of zinc increases within 24 h by 10%, which is not critical in terms of milk quality indicators. It is shown that storing milk in a polymer package made with ECOS preservatives allows to suppress the development of microorganisms in cow milk, does not lead to any significant change in its composition and does not affect the quality.*

**Key words:** microparticles, silver, packing materials, migration, milk, CMAFAnM

### Для цитирования:

Родионов Г.В., Олесюк А.П., Колтинова Е.Я., Егоров В.В., Малофеева Н.А., Ощепков М.С. Полиэтиленовая упаковка с микрочастицами серебра и цинка, и ее влияние на качество молока. *Изв. вузов. Химия и хим. технология*. 2021. Т. 64. Вып. 3. С. 82–91

### For citation:

Rodionov G.V., Olesyuk A.P., Koltinova E.Ya., Egorov V.V., Malofeeva N.A., Oshchepkov M.S. Polyethylene packaging with silver and zinc microparticles and its influence on milk quality. *Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.* [ChemChemTech]. 2021. V. 64. N 3. P. 82–91

## ВВЕДЕНИЕ

Одним из приоритетных направлений молочной отрасли является производство молока, соответствующего санитарно-гигиеническим нормам [1, 2]. В связи с этим в настоящее время крупные перерабатывающие предприятия уделяют особое внимание роли упаковки [3]. Тип упаковки и ее санитарное состояние признаны одними из основных факторов, влияющих на качество и продолжительность хранения расфасованной молочной продукции [4, 5]. Весьма перспективным способом защиты продуктов питания от воздействия микроорганизмов и поверхностной порчи является введение в упаковочные материалы антимикробных добавок [6-8], в частности – наносеребра [8-10]. Исследования в данном направлении ведутся чрезвычайно интенсивно [11-15].

Однако современные данные показывают, что наносеребро далеко не безопасно [16]. В связи с этим, значительные усилия прикладываются к оценке рисков, связанных с миграцией наносеребра и других наноматериалов из упаковки в пищевые продукты [10, 17-21], и к разработке методов его детектирования в пищевых матриксах [23-27]. В Российской Федерации разработаны нормативные документы, регулирующие процесс оценки степени миграции наночастиц из упаковки в пищевую продукцию [28].

В данной работе был исследован новый материал – полиэтилен, произведенный компанией АО «ЭКОС-1», который модифицирован микрочастицами солей серебра и оксида цинка. Целями данной работы являлись: изучение влияния модифицированной микрочастицами полиэтиленовой упаковки на состав молока, на его стабильность при хранении, а также возможной миграции серебра в молоко.

## МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В настоящей работе вводили консервирующую добавку, разработанную АО «ЭКОС-1» и имеющую название ЭКОС, в состав полиэтиленовой пленки. В составе добавки в качестве действующих веществ используются неорганические соединения цинка и серебра. Упаковочную пленку получали на экструдере ПНД/ПВД XQ1-800. В расплав полиэтилена высокого давления вводили 1 масс.% консервирующей добавки, далее масса поступала в экструдер и выдувалась в потоке воздуха в виде пленки толщиной 100-300 мкм. Содержание элементов в пленке: серебро – 38 мг/кг, цинк – 1020 мг/кг. На рис. 1 представлены изображения пленки, полученные на сканирующем электронном микроскопе.

В качестве объекта исследования использовали сборное молоко 25 коров черно-пестрой породы 2 и 3 лактации, содержащихся на зоостанции ФГБОУ ВО РГАУ МСХА им К.А. Тимирязева.

Оценку молока и молочных продуктов проводили по стандартным методикам определения физико-химических, технологических и микробиологических показателей. Показатели такие как: массовая доля жира и общего белка, лактозы, соматических клеток, исследовались при помощи комбинированной системы анализаторов молока Bentley 2000 и Somacount 300. Идентификацию белкового состава молочного сырья проводили по небелковому азоту (ГОСТ Р 55246-2012). Содержание мочевины в молоке определяли на узкоспециализированном автоматическом анализаторе ChemSpec 150. Органолептические показатели молока оценивались по ГОСТ 31449-2013 «Молоко коровье сырое. Технические условия».

Физико-химические и технологические показатели свойств молока определяли в соответствии с требованиями ГОСТ: плотность при температуре молока ( $20 \pm 5$ ) °С – ареометрическим методом (ГОСТ Р 54758-2011), кислотность – титриметрическим методом (ГОСТ 3624-92), термоустойчивость – по алкогольной пробе (ГОСТ 25228-82), сычужную свертываемость – по сычужно-бродильной пробе (ГОСТ 32901-2014).

Чистоту молока-сырья определяли на приборе ОЧМ-М с диаметром фильтрующей поверхности 30 мм по ГОСТ 8218-89. Данный метод основывается на отделении механической примеси из дозированной пробы молока ( $250 \text{ см}^3$ ) путем процеживания через фильтр и визуального сравнения наличия механической примеси на фильтре с образцом сравнения.

Микробиологические показатели молока исследовались в соответствии с ГОСТ 32901-2014 «Молоко и молочная продукция. Методы микробиологического анализа» и ГОСТ 26669-85 «Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов». Ввиду того, что численность микроорганизмов в исследуемом образце продукта обычно велика, для получения достоверного результата и подсчета изолированных колоний готовили ряд последовательных разведений молока.

С помощью экспресс-анализа на тест-платинах 3M™ Petrifilm™ проводили подсчет следующих микроорганизмов: КМАФАнМ, молочнокислые бактерии, колиформные бактерии (БГКП), условно-патогенные (*S. Aureus*) и патогенные мик-

роорганизмы (в т.ч. сальмонелла), дрожжи и плесневые грибы. Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в 1 см<sup>3</sup> продукта определяли для подсчета общей бактериальной обсемененности (КМАФАнМ), для этого применяли готовые тест-пластины 3М<sup>TM</sup> Petrifilm<sup>TM</sup> тип «Petrifilm® Aerobic Count Plate (AC)». Данные тест-пластины имеют стерильную питательную среду, гелеобразующий агент и тетразолиевый индикатор (ТТХ), окрашивающий колонии в красный цвет и облегчающий их подсчет.

Наличие колиформных бактерий (БГКП) из семейства Enterobacteriaceae родов *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* устанавливали с помощью тест-пластин 3М<sup>TM</sup> Petrifilm<sup>TM</sup> тип «Petrifilm® E.coli/Coliform Count (EC)», которые содержали готовую питательную среду с желчью, лактозой, гелеобразующим агентом, хромогенным субстратом (5-бром-4-хлор-3-индолил-бета-D-галактопиранозид для выявления специфического фермента, продуцируемого *E.coli*, – бета-глюкуронидазы) и индикатором тетразолиевым красным.

При определении золотистого стафилококка использовали тест-пластины 3М<sup>TM</sup> Petrifilm<sup>TM</sup> тип «Petrifilm® Staph Express Count Plate (STX)». Петрифильмы STX содержали модифицированную хромогенную среду на основе среды Брайрд-Паркера. Для определения количества дрожжей и плесневых грибов применяли тип петрифильма «Petrifilm® Yeast and Mold Count Plate (YM)» с питательной средой, которая содержала антибактериальный антибиотик и индикатор для облегчения подсчета их колоний.

Для обнаружения и подсчета молочнокислых бактерий применяли тест-пластины 3М<sup>TM</sup> Petrifilm<sup>TM</sup> (LAB) или «3М Petrifilm Lactic Acid Bacteria Count Plate» с питательной средой, содержащей удаляющие кислород соединения, которые создают анаэробную среду для восстановления гомо- и гетероферментативных молочнокислых бактерий. На тест-пластинах 3М<sup>TM</sup> Petrifilm<sup>TM</sup> LAB гомоферментативные молочнокислые бактерии имели вид красных колоний без газа, колонии гетероферментативных бактерий имели вид красных колоний с соответствующими пузырьками газа.

Для определения численности микроорганизмов молока, заквасок и кисломолочных продуктов в динамике использовался метод импедансного анализа (прямое измерение импеданса) на микробиологическом анализаторе БакТрак 4300. Достоверность результатов исследований была проанализирована с помощью метода вариационной статистики, а также с использованием программы Excel.

Бактерицидные свойства пленки определяли методом диффузии в агар по МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам». В качестве контроля использовали пищевую пленку, предназначенную для хранения продуктов.

Для выращивания колоний использовали питательный агар и стандартный инокулюм, соответствующий по плотности 0,5 по стандарту МакФарланда и содержащий примерно  $1,5 \cdot 10^8$  КОЕ/мл. Стерильный ватный тампон погружали в стандартную суспензию микроорганизмов. Инокуляцию проводили штриховыми движениями в трех направлениях, поворачивая чашку Петри на 60°. Через 15 мин на поверхность питательной среды наносили образцы. Чашки Петри помещали в термостат вверх дном и инкубировали при температуре 35 °С в течение 24 ч.

Для выявления микробной загрязненности с поверхности пленок забирали смывы стерильным ватным тампоном на палочках, вмонтированных в пробирки. Для увлажнения тампонов в пробирки наливали по 2,0 мл стерильного физиологического раствора. Выделение бактерий рода *Salmonella* проводили по МУ 4.2.2723-10 («Лабораторная диагностика сальмонеллезов, обнаружение сальмонелл в пищевых продуктах и объектах окружающей среды»), бактерий группы кишечной палочки (*E.coli*) и *S. aureus* по МУ по санитарно-бактериологическому контролю на предприятиях общественного питания и торговли пищевыми продуктами. Для выявления и выделения сальмонелл после высева смывов на среду Кесслера смывную жидкость заливали 5 мл среды Раппапорт-Вассилиадис и помещали в термостат при 37 °С на 18-20 ч. После инкубации делали высев на среду Эндо и висмут-сульфит агар.

Для выявления и выделения бактерий группы кишечных палочек производили посев на среду Раппапорт-Вассилиадис. Через сутки инкубирования при 37 °С делали пересев на среду Эндо. Подозрительные колонии на среде Эндо микроскопировали и пересевали на 2-ую бродильную пробу – среду Гисса с глюкозой. Среду выдерживали 24 ч при 43 °С. Для выявления и выделения стафилококков делали посев на желточно-солевой агар и выдерживали в термостате при температуре 37 °С 42 ч.

Для определения элементного состава молока использовался оптический эмиссионный спектрометр с индуктивно-связанной плазмой iCar 6300 Duo, Thermo Scientific, USA.

Эксперименты по изучению миграции производных цинка и серебра из упаковочной пленки

проводили в соответствии с методическими рекомендациями МУ 1.2.2637-10 [28]. В качестве модельной среды, предназначенной для тестирования миграции наночастиц из упаковочных материалов в отдельные пищевые продукты, применяли 3 %-ный раствор молочной кислоты в дистиллированной воде [28].

Изображения поверхности полиэтиленовой пленки, модифицированной частицами серебра и цинка, получены на сканирующем электронном микроскопе Hitachi Tabletop Microscope TM-3030, Hitachi, Japan.

Полуколичественное определение элементного состава поверхности плёнки проводили энергодисперсионным методом с помощью приставки Energy Dispersive X-ray Spectrometer Quantax 75, Bruker Nano GmbH (Germany) на базе сканирующего электронного микроскопа.

Распределение взвешенных частиц в жидкой фазе по размерам определяли методом лазерного динамического светорассеяния (на приборе Malvern Nano ZS instrument,  $\lambda = 633 \text{ nm}$ ,  $4 \text{ mW}$ ,  $\Theta = 173^\circ$ ).

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на высокую эффективность по сохранению химического состава молока и подавлению развития микроорганизмов, использование консервантов при производстве пищевого молока и молочных продуктов запрещено [2, 4, 6, 14]. В связи с этим нами были проведены исследования по применению консерванта в составе полимерных материалов, используемых для хранения молочных продуктов. В качестве такового был использован препарат ЭКОС с микрочастицами соединений серебра и оксида цинка.

##### *Характеристика модифицированной пленки*

На рис. 1 представлены микрофотографии полиэтилена высокого давления, содержащего микрочастицы солей серебра и оксида цинка.

На основании десяти точечных замеров было установлено, что на поверхности находится от 0,72 до 2,28 масс. % цинка. Содержание серебра столь мало, что этим методом его достоверно определить не удается.

##### *Влияние модифицированной пленки на качество молока*

Несмотря на неравномерное распределение и невысокое содержание консервантов в поверхностном слое полиэтилена, они оказались достаточно эффективными в плане бактерицидных свойств (табл. 1).

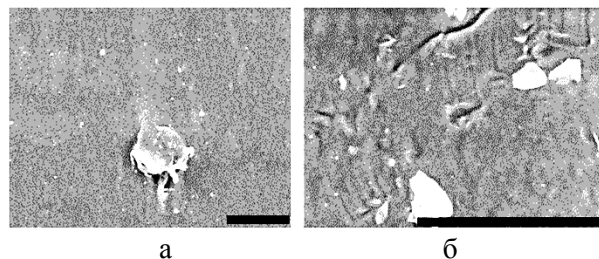


Рис.1. Изображения полиэтилена высокого давления, содержащего соединения цинка и серебра, полученные на сканирующем электронном микроскопе. Увеличение в 300 (а) и 1000 (б) раз. Индикатор масштаба соответствует 100 мкм  
Fig.1. Images of high-pressure polyethylene containing zinc and silver compounds obtained using a scanning electron microscope. A magnification is 300 (a) and 1000 (b) times. The scale indicator corresponds to 100  $\mu\text{m}$

Как видно на фотографиях, поверхность пленки не является однородной: на ней заметны небольшие включения (1-5 мкм). Эти включения обусловлены введением в ее состав добавок солей серебра и оксида цинка. Дополнительное исследование поверхности на химический состав с помощью энергодисперсионной приставки к сканирующему электронному микроскопу (рис. 2) подтвердило наличие примесей цинка и серебра в поверхностном слое полиэтилена.

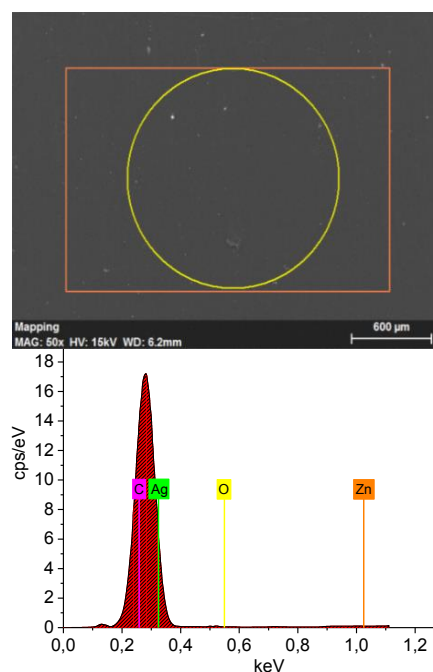


Рис.2. Характерный результат точечного зондового определения химического состава поверхности модифицированного полиэтилена методом энергодисперсионного анализа (Energy Dispersive X-ray Spectrometer Quantax 75)  
Fig.2. A characteristic result of a point probe determination of the chemical composition of the surface of modified polyethylene by the method of energy dispersive analysis (Energy Dispersive X-ray Spectrometer Quantax 75)

Таблица 1

**Физико-химические показатели исходного молока и образца, хранившегося в полимерной упаковке с добавлением в ее состав консервантов при времени хранения 24 ч при разной температуре**  
**Table 1. Physico-chemical characteristics of the initial milk and the sample stored in a polymer package with the addition of preservatives in its composition during a storage time of 24 h at different temperatures**

Показатель	Требования ГОСТ 31449-2013	Исходный продукт	Контроль в стеклянной упаковке	В полимерной упаковке с добавлением в ее состав консерванта
Температура хранения 10 °С				
Жир, %	≥ 2,8	3,57±0,08	3,57±0,08	3,45±0,07
Белок, %	≥ 2,8	2,99±0,06	3,00±0,08	3,02±0,08
Лактоза, %	Не норм.	4,75±0,08	4,76±0,08	4,78±0,08
Сухое вещество (СОМО), %	≥ 8,2	12,3±0,1	12,3±0,1	12,2±0,1
Кислотность, °Т	16-21	16	16	16
Соматические клетки, тыс./см <sup>3</sup>	≤ 400	134±6	142±7	122±8
Точка заморзания, °С	≤ -0,52	-0,6±0,1	-0,6±0,1	-0,6±0,1
КМАФАнМ*, КОЕ/см <sup>3</sup>	≤ 100000	230000±11000	880000±12000	540000±11000
Температура хранения 24°С				
Жир, %	≥2,8	3,57±0,08	3,62±0,08	3,44±0,09
Белок, %	≥2,8	2,99±0,06	3,19±0,09	3,10±0,08
Лактоза, %	Не норм.	4,75±0,08	4,55±0,08	4,67±0,09
Сухое вещество, %	≥ 8,2	12,3±0,1	12,3±0,1	12,3±0,1
Кислотность, °Т	16-21	16	30	23
Соматические клетки, тыс./см <sup>3</sup>	≤ 400	134±6	148±6	131±6
Точка заморзания, °С	≤ -0,52	-0,6±0,1	-0,6±0,1	-0,6±0,1
КМАФАнМ*, КОЕ/см <sup>3</sup>	≤ 100000	230000±10000	8100000±120000	1400000±120000

Примечание: \* КМАФАнМ - Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

Note: \* КМАФАнМ - The number of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms

Установлено, что при хранении молока при температуре 10 °С не произошло существенного изменения его химического состава и свойств независимо от условий хранения. Характеристики молока, такие как содержание жира, кислотность, сухих веществ, белка, лактозы в пределах погрешности эксперимента остаются неизменными для исходного молока, молока, выдержанного в течение 24 ч в стеклянной таре, и находившегося 24 ч в контакте с модифицированным полиэтиленом. Примечательно, что число соматических клеток также не изменялось. Но по показателю КМАФАнМ, порча молока происходила в обеих тарах в стеклянной и модифицированной полиэтиленовой. В то же время, по показателю КМАФАнМ молоко, которое хранилось в полимерной упаковке с использованием консервантов ЭКОС, имело лучшие показатели на 38% по сравнению с молоком, хранившимся в стекле (табл. 1).

По истечении суток при температуре 24 °С, в молоке произошли значительные изменения его химического и биологического состава. Наиболее

существенные изменения произошли по показателю КМАФАнМ. При хранении в стеклянной посуде количество бактерий выросло через сутки до  $8,1 \cdot 10^6$  КОЕ/см<sup>3</sup>, в то время как в упаковке с препаратом ЭКОС количество бактерий было в 6 раз меньше. Показатель кислотности в стекле вырос почти в 2 раза, тогда как в модифицированном полиэтилене – только в полтора раза. В пределах погрешности остаются неизменными следующие показатели: содержание лактозы, жира, сухих веществ, белков для исходного молока, молока, выдержанного в течение 24 ч в стеклянной таре, и в контакте с модифицированным полиэтиленом. Таким образом, не изменяя основных характеристик молока, модифицированный соединениями серебра и цинка полиэтилен позволяет существенно продлить сроки его хранения.

*Исследование бактерицидных свойств пленок*

Бактерицидные свойства пленок определяли по ширине зон задержки роста трех культур *E.coli*, *S.aureus* и *Salm.typhimurium*, рис. 3.

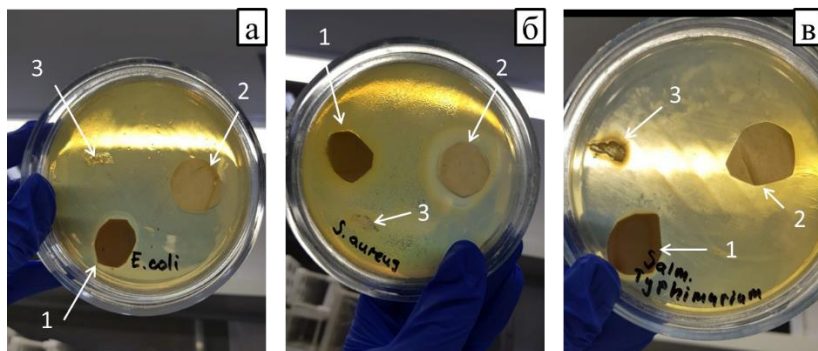


Рис. 3. Фотографии чашек Петри после инкубации культур *E. coli* (а), *S. aureus* (б) и *Salm. typhimurium* (в) в присутствии образцов полиэтиленовой плёнки, содержащей серебро и цинк (2), а также контрольных образцов пищевой плёнки (3) и молочной упаковки (1)

Fig.3. Photos of Petri dishes after incubation of cultures of *E. coli* (a), *S. aureus* (б) and *Salm. typhimurium* (в) in the presence of samples of a polyethylene film containing silver and zinc (2), as well as control samples of a food film (3) and milk packaging (1)

В случае *E. coli* наблюдалась хорошо выраженная зона задержки роста культуры в виде светлого гало шириной ( $3 \pm 1$ ) мм (а). Для *S. aureus* зона гало составляла ( $8 \pm 1$ ) мм (б). У *Salm. typhimurium* (в), как и у всех контрольных образцов, такое гало не наблюдалось. Таким образом, полиэтиленовая пленка, содержащая серебро и цинк, обладает бактериостатическим эффектом в отношении *E. coli*. и *S. aureus*.

При микробиологическом исследовании смывов с поверхности полиэтиленовой пленки, содержащей серебро и цинк, и пищевой пленки (контроль) колонии сальмонелл, бактерий группы кишечной палочки и стафилококков выделено не было, что говорит об их стерильности.

*Миграция серебра и цинка из пленки в тестовую жидкость и в молоко*

В связи с жесткими ограничениями на наличие любых консервантов, включая инженерные наночастицы, в пищевой продукции [28-30] в рамках данного исследования решалась также задача изучения возможной миграции консервантов из упаковки в молоко. Соответственно, были проведены измерения микроэлементного состава молока и тестовой жидкости, контактировавших с модифицированной упаковкой (табл. 2), а также были получены результаты по миграции цинка и серебра в модельную жидкость в соответствии с протоколом [28] и в молоко. Определение концентрации элементов в молоке проводилось методом ИСП-АЭС. Для этого в качестве контрольного образца было использовано молоко, полученное в результате контакта с обычной полиэтиленовой пленкой,

а в качестве исследуемого – молоко, контактировавшее с модифицированной пленкой, содержащей добавку серебро/цинк (табл. 3).

Как видно из данных табл. 2, содержание таких элементов как кальций и калий в молоке практически не изменяется. Несколько повышается относительное содержание железа, меди, хрома и алюминия. Однако оно не превышает допустимых пределов. Согласно полученным данным, присутствие серебра и цинка в пленке практически не сказывается на элементном составе молока.

**Таблица 2**  
Результаты определения методом ИСП-АС содержания макро- и микроэлементов в молоке, мг/кг (Инкубация 10 сут. при комнатной температуре)  
**Table 2. Results of ICP-AS determination of the content of macro- and microelements in milk, mg/kg (10 days incubation at room temperature)**

Элемент	После контакта с модифицированным полиэтиленом	После контакта с немодифицированным полиэтиленом
Алюминий (Al)	0,27±0,02	0,11±0,02
Кальций (Ca)	958±14	929±11
Хром (Cr)	0,35±0,07	0,03±0,01
Медь (Cu)	0,05±0,01	0,03±0,01
Железо (Fe)	0,31±0,03	0,22±0,01
Калий (K)	1118±26	1101±19
Магний (Mg)	89±5	87±2

В качестве модельного раствора применяли 3 %-ный раствор молочной кислоты в дистиллированной воде. Образцы пленок инкубировали в модельном растворе в течение 10 сут. [28]. Установлено, что по прошествии трех сут. миграция серебра и цинка в модельный раствор составила 0,16 мг/л и 3,7 мг/л соответственно. В последующие 7 сут. инкубации миграция увеличилась менее значительно.

В то же время эксперименты по оценке степени миграции серебра и цинка в молоко показали, что она существенно ниже, чем в модельной жидкости. Найдено, что серебро в исходном молоке отсутствует, а в молоке, контактировавшем с модифицированным полиэтиленом, его содержание незначительно - на уровне границы определения данным методом 0,5ppb. Что касается цинка, то его содержание повышается с ( $2,68 \pm 0,04$ ) до ( $3,06 \pm 0,04$ ) мг/л, т.е. на 10%, что не является критичным с точки зрения показателей качества молока [30].

Таблица 3

Результаты определения методом ИСП-АС миграции цинка и серебра из модифицированной упаковки в модельную жидкость и в молоко, мг/л в течение 10 сут., при комнатной температуре  
 Table 3. Results of ICP-AS determination of the migration of zinc and silver from a modified package into a model liquid and into milk, mg/l for 10 days, at room temperature

Элемент	Миграция в модельную жидкость по методике [28]		Миграция в молоко*	
	Содержание в исходной модельной жидкости, мг/л	Содержание в модельной жидкости после контакта с упаковкой, мг/л	Содержание в исходном молоке, мг/л	Содержание в молоке после контакта с упаковкой, мг/л
Цинк	0,019±0,001	3,23±0,07	2,68±0,04	3,06±0,04
Серебро	0,0009±0,0001	0,0230±0,0010	0,0000	0,0004±0,0001

Примечание: \*Инкубация 10 сут. при комнатной температуре; объем молока 1 л; площадь поверхности пленки 750 см<sup>2</sup>  
 Note: \* Incubation for 10 days at room temperature; milk volume is 1 l; film surface area is 750 cm<sup>2</sup>

При этом фоновый состав взвешенных частиц согласно данным лазерного динамического светорассеяния (ДЛС) практически не изменяется (рис. 4), что вполне понятно ввиду малой степени миграции цинка и серебра в жидкую фазу и не способности их инициировать агрегации частиц молока. Использовать ДЛС для детектирования модифицирующих (взвешенных) частиц в молоке не представлялось возможным ввиду высокого содержания натуральных собственных микрочастиц жиров и белка молока [27].

#### ВЫВОДЫ

На основании исследования можно сделать вывод, что хранение молока в полимерной упаковке, изготовленной с добавлением консервантов ЭКОС, позволяет подавить развитие микроорганизмов в молоке коров, не приводит к сколько-нибудь существенному изменению его состава и не влияет на качество. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о возможности миграции цинка и серебра из модифицированного этими элементами полиэтилена в пищевые продукты согласно тесту [28]. Однако, миграция указанных металлов в молоко в данной модификации полиэтилена существенно меньше, чем в модельном эксперименте.

Таким образом, композиция на основе солей серебра и оксида цинка в составе полимерной упаковки представляется перспективным материа-

лом для увеличения сроков хранения пищевой продукции.

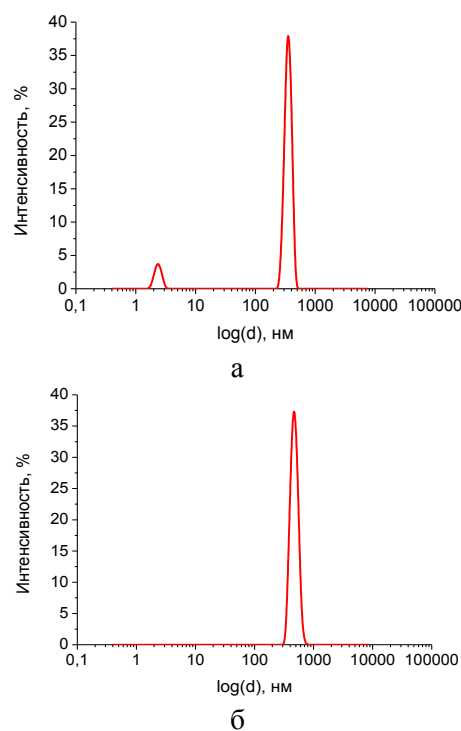


Рис. 4. Распределение частиц по размерам в модельной жидкости до контакта с модифицированным полиэтиленом (упаковкой) (а) и после контакта (б) по данным лазерного динамического светорассеяния

Fig.4. Particle size distribution in the model liquid before contact with modified polyethylene (packaging) (a) and after contact (b) according to laser dynamic light scattering data

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Родионов Г.В., Белоухов С.Л., Маннапова Р.Т., Дряхлых О.Г. Регулирование численности микроорганизмов в молоке-сырью. *Изв. Тимирязев. сельскохоз. академии*. 2013. № 1. С. 111-119.
2. Родионов Г.В., Акинина Н.А., Ермошина Е.В., Ананьева Т.В. Контроль ингибирующих веществ в молоке. *Молочная пром-ть*. 2008. № 2. С. 17-18.

#### REFERENCES

1. Rodionov G.V., Belopukhov S.L., Mannapova R.T., Dryahlyh O.G. Regulation of the number of microorganisms in raw milk. *Izv. Timiryazev. Selskokhoz. Akadem.* 2013. N 1. P. 111-119 (in Russian).
2. Rodionov G.V., Akinina N.A., Ermoshina E.V., Ananyeva T.V. Control of inhibitory substances in milk. *Molochnaya Prom.* 2008. N. 2. P. 17-18(in Russian).



3. **Родионов Г.В.** Методические рекомендации по технологическому проектированию при кредитовании предприятий скотоводства; М-во сельского хоз-ва Российской Федерации, ФГУП "ГВЦ Минсельхоза России". Москва. 2007.
4. **Федотова О.Б.** Упаковка для молока и молочных продуктов. Качество и безопасность. М.: Изд-во Россельхозакадемии. 2007. 96 с.
5. **Федотова О.Б., Мяленко Д.М.** Разработка инновационной тары для молочной продукции. *Переработка молока*. 2016. № 12 (206). С. 54-57.
6. **Мяленко Д.М., Федотова О.Б.** Новые направления в упаковке молочной продукции. *Молочная пром-ть*. 2013. № 1. С. 8-9.
7. **Федотова О.Б., Нагорный М.Ю., Мяленко Д.М.** Разработка модифицированного упаковочного материала. *Переработка молока*. 2014. № 1 (172). С. 6-7.
8. **Попов К.И., Филиппов А.Н., Хуршудян С.А.** Пищевые нанотехнологии. *Рос. хим. журн.* 2009. Т. 53. № 2. С. 86-97.
9. **Попов К.И., Красноярова О.В.** Пищевые нанотехнологии: упаковка. *Масложировая пром-ть*. 2010. № 1. С. 15-17.
10. **Гмошинский И.В., Шипелин В.А., Хотимченко С.А.** Наноматериалы в пищевой продукции и ее упаковке: сравнительный анализ рисков и преимуществ. *Анализ риска здоровью*. 2018. № 4. С. 134-142. DOI: 10.21668/health.risk/2018.4.16.
11. **Wu Zhengguo, Huang Xiujie, Li Yi-Chen, Xiao Hanzhen, Wang Xiaoying.** Novel chitosan films with laponite immobilized Ag nanoparticles for active food packaging. *Carbohydr. Polymers*. 2018. V. 199. P. 210-218. DOI: 10.1016/j.carbpol.2018.07.030.
12. **Sarwar M.S., Niazi M.B.K., Jahan Z., Ahmad T., Hussain A.** Preparation and characterization of PVA/nanocellulose/Ag nanocomposite films for antimicrobial food packaging. *Carbohydr. Polymers*. 2018. V. 184. P. 453-464. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.12.068.
13. **Deng Zilong, Jung Jooyeoun, Zhao Yanyun.** Development, characterization, and validation of chitosan adsorbed cellulose nanofiber (CNF) films as water resistant and antibacterial food contact packaging. *LWT-Food Sci. Technol.* 2017. V.83. P. 132-140. DOI: 10.1016/j.lwt.2017.05.013.
14. **Benhacine F., Ouargli A., Hadj-Hamou A.S.** Preparation and Characterization of Novel Food Packaging Materials Based on Biodegradable PCL/Ag-Kaolinite Nanocomposites with Controlled Release Properties. *Polymer-Plastics Technol. Mater.* 2019. V. 58. P. 328-340. DOI: 10.1080/03602559.2018.1471714.
15. **Vasile C., Rapa M., Stefan M., Stan M., Macavei S., Darie-Nita R.N., Barbu-Tudoran L., Vodnar D.C., Popa E.E., Stefan R.** New PLA/ZnO:Cu/Ag bionanocomposites for food packaging. *Express Polym. Lett.* 2017. V. 11. P. 531-544. DOI: 10.3144/expresspolymlett.2017.51.
16. **Шипелин В.А., Згода В.Г., Гмошинский И.В., Хотимченко С.А.** Наночастицы серебра вызывают изменения в протеоме печени. *Вопросы питания*. 2018. Т. 87. № S5. С. 48-49.
17. **Fan Chunli, Cui Rui, Lu Wangwei, Chen Haiyan, Yuan Minglong, Qin Yuyue.** Effect of high pressure treatment on properties and nano-Ag migration of PLA-based food packaging film. *Polym. Testing*. 2019. V. 76. P. 73-81. DOI: 10.1016/j.polymertesting.2019.03.005.
3. **Rodionov G.V.** Methodological recommendations for technological design when lending to livestock enterprises; M-in the agricultural household of the Russian Federation, FSUE "GVC Ministry of Agriculture of Russia". Moscow. 2007 (in Russian).
4. **Fedotova O.B.** Packaging for milk and dairy products. Quality and safety. M.: Izd-vo Rossel'khozakademii. 2007. 96 p. (in Russian).
5. **Fedotova O.B., Myalenko D.M.** Development of innovative packaging for dairy products. *Pererabotka moloka*. 2016. N. 12 (206). P. 54-57 (in Russian).
6. **Myalenko D.M., Fedotova O.B.** New directions in the packaging of dairy products. *Molochnaya Prom.* 2013. N 1. P. 8-9 (in Russian).
7. **Fedotova O.B., Nagorny M.Yu., Myalenko D.M.** Development of modified packaging material. *Pererabotka Moloka*. 2014. N 1 (172). P. 6-7 (in Russian).
8. **Popov K.I., Filippov A.N., Khurshudyan S.A.** Food nanotechnology. *Ros. Khim. Zhurn.* 2009. V. 53. N 2. P. 86-97 (in Russian).
9. **Popov K.I., Krasnoyarova O.V.** Food nanotechnology: packaging. *Maslozhirovaya Prom.* 2010. N 1. P. 15-17 (in Russian).
10. **Gmshinsky I.V., Shipelin V.A., Khotimchenko S.A.** Nanomaterials in food products and their packaging: a comparative analysis of risks and benefits. *Analiz Riska Zdorov'yu*. 2018. N 4. P. 134-142 (in Russian). DOI: 10.21668/health.risk/2018.4.16.
11. **Wu Zhengguo, Huang Xiujie, Li Yi-Chen, Xiao Hanzhen, Wang Xiaoying.** Novel chitosan films with laponite immobilized Ag nanoparticles for active food packaging. *Carbohydr. Polymers*. 2018. V. 199. P. 210-218. DOI: 10.1016/j.carbpol.2018.07.030.
12. **Sarwar M.S., Niazi M.B.K., Jahan Z., Ahmad T., Hussain A.** Preparation and characterization of PVA/nanocellulose/Ag nanocomposite films for antimicrobial food packaging. *Carbohydr. Polymers*. 2018. V. 184. P. 453-464. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.12.068.
13. **Deng Zilong, Jung Jooyeoun, Zhao Yanyun.** Development, characterization, and validation of chitosan adsorbed cellulose nanofiber (CNF) films as water resistant and antibacterial food contact packaging. *LWT-Food Sci. Technol.* 2017. V.83. P. 132-140. DOI: 10.1016/j.lwt.2017.05.013.
14. **Benhacine F., Ouargli A., Hadj-Hamou A.S.** Preparation and Characterization of Novel Food Packaging Materials Based on Biodegradable PCL/Ag-Kaolinite Nanocomposites with Controlled Release Properties. *Polymer-Plastics Technol. Mater.* 2019. V. 58. P. 328-340. DOI: 10.1080/03602559.2018.1471714.
15. **Vasile C., Rapa M., Stefan M., Stan M., Macavei S., Darie-Nita R.N., Barbu-Tudoran L., Vodnar D.C., Popa E.E., Stefan R.** New PLA/ZnO:Cu/Ag bionanocomposites for food packaging. *Express Polym. Lett.* 2017. V. 11. P. 531-544. DOI: 10.3144/expresspolymlett.2017.51.
16. **Shipelin V.A., Zgoda V.G., Gmshinsky I.V., Khotimchenko S.A.** Silver nanoparticles cause changes in the liver proteome. *Voprosy Pitaniya*. 2018.V. 87. N S5. P. 48-49 (in Russian).
17. **Fan Chunli, Cui Rui, Lu Wangwei, Chen Haiyan, Yuan Minglong, Qin Yuyue.** Effect of high pressure treatment on properties and nano-Ag migration of PLA-based food packaging film. *Polym. Testing*. 2019. V. 76. P. 73-81. DOI: 10.1016/j.polymertesting.2019.03.005.

18. **Смирнова В.В., Красноярова О.В., Придворова С.М., Жердев А.В., Гмошинский И.В., Казыдуб Г.В., Попов К.И., Хотимченко С.А.** Характеристика миграции наночастиц серебра из упаковочных материалов, предназначенных для контакта с пищевыми продуктами. *Вопр. питания*. 2012. Т. 81. № 2. С. 34-39.
19. **Hannon J.C., Kerry, J. P.; Cruz-Romero, M.; Azlin-Hasim, S.; Morris, M.; Cummins, E.** Kinetic desorption models for the release of nanosilver from an experimental nanosilver coating on polystyrene food packaging. *Inn. Food Sci. Emerg. Technol.* 2017. V. 44. P. 149-158. DOI: 10.1016/j.ifset.2017.07.001.
20. **Федотова О.Б.** Роль миграции в процессах взаимодействия упаковки с продуктом. *Переработка молока*. 2016. № 12. С.14-17.
21. ISO/TR 13121:2011 Nanotechnologies-nanomaterial risk evaluation.
22. **Taylor M.R.** Assuring the Safety of Nanomaterials in Food Packaging: the Regulatory Process and Key Issues. Woodrow Wilson International Center for Scholars. Project on Emerging nanotechnologies. 2008. 100 p.
23. **Tiede K., Boxall A.B.A., Tear S.P., Lewis J., David H., Hasselov M.** Detection and characterization of engineered nanoparticles in food and the environment. *Food Add. Contam. A.* 2008. V. 25. P. 795-821. DOI: 10.1080/02652030802007553.
24. **Попов К.И., Котова Н.Н., Осташенкова Н.В., Красноярова О.В., Шапагин А.В., Матвеев В.В., Чалых А.Е.** Методические аспекты анализа наночастиц серебра в молоке методом просвечивающей электронной микроскопии. *Пищевая пром-ть*. 2010. № 9. С. 36-38.
25. **Linsinger T.P.J., Chaudhry Q., Dehalu V., Delahaut P., Dudkiewicz A., Grombe R., von der Kammer F., Larsen E.H., Legros S., Loeschner K.** Validation of methods for the detection and quantification of engineered nanoparticles in food. *Food Chem.* 2013. V. 138. P. 1959-1966. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.11.074.
26. **Распопов Р.В., Гмошинский И.В., Попов К.И., Красноярова О.В., Хотимченко С.А.** Методы контроля наночастиц в пищевых продуктах и биологических объектах. Сообщение 1. Применение микроскопических и хроматографических методов исследования. *Вопр. питания*. 2012. Т. 81. № 2. С. 4-11.
27. **Рыхтик О.В., Панферов В.Г., Котова Н.Н., Попов К.И.** Детектирование наночастиц серебра в молоке методом лазерного динамического светорассеяния. *Хранение и переработка сельхозсырья*. 2013. № 6. С. 43-46.
28. Порядок и методы проведения контроля миграции наночастиц из упаковочных материалов. Методические указания (МУ 1.2.2637-10). М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. 2010. 35 с. Введены в действие с 24 мая 2010 г.
29. Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 23 июля 2007 года № 54 «О надзоре за продукцией, полученной с использованием нанотехнологий и содержащих наноматериалы».
30. Предельно допустимые концентрации тяжелых металлов и мышьяка в продовольственном сырье и пищевых продуктах. Утв. Главным государственным санитарным врачом СССР 31 марта 1986 г. N 4089-86.
18. **Smirnova V.V., Krasnoyarova O.V., Pridvorova S.M., Zherdev A.V., Gmoshinsky I.V., Kazydub G.V., Popov K.I., Khotimchenko S.A.** Characterization of the migration of silver nanoparticles from packaging materials intended for contact with food products. *Voprosy Pitaniya*. 2012. V. 81. N. 2. P. 34-39 (in Russian).
19. **Hannon J.C., Kerry, J. P.; Cruz-Romero, M.; Azlin-Hasim, S.; Morris, M.; Cummins, E.** Kinetic desorption models for the release of nanosilver from an experimental nanosilver coating on polystyrene food packaging. *Inn. Food Sci. Emerg. Technol.* 2017. V. 44. P. 149-158. DOI: 10.1016/j.ifset.2017.07.001.
20. **Fedotova O.B.** The role of migration in the processes of interaction of packaging with the product. *Pererabotka Moloka*. 2016. N 12. P. 14-17 (in Russian).
21. ISO/TR 13121:2011 Nanotechnologies-nanomaterial risk evaluation.
22. **Taylor M.R.** Assuring the Safety of Nanomaterials in Food Packaging: the Regulatory Process and Key Issues. Woodrow Wilson International Center for Scholars. Project on Emerging nanotechnologies. 2008. 100 p.
23. **Tiede K., Boxall A.B.A., Tear S.P., Lewis J., David H., Hasselov M.** Detection and characterization of engineered nanoparticles in food and the environment. *Food Add. Contam. A.* 2008. V. 25. P. 795-821. DOI: 10.1080/02652030802007553.
24. **Popov K.I., Kotova N.N., Ostashenkova N.V., Krasnoyarova O.V., Shapagin A.V., Matveev V.V., Chalykh A.E.** Methodological aspects of the analysis of silver nanoparticles in milk by transmission electron microscopy. *Pishchevaya Prom.* 2010. N 9. P. 36-38 (in Russian).
25. **Linsinger T.P.J., Chaudhry Q., Dehalu V., Delahaut P., Dudkiewicz A., Grombe R., von der Kammer F., Larsen E.H., Legros S., Loeschner K.** Validation of methods for the detection and quantification of engineered nanoparticles in food. *Food Chem.* 2013. V. 138. P. 1959-1966. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.11.074.
26. **Rasopov R.V., Gmoshinsky I.V., Popov K.I., Krasnoyarova O.V., Khotimchenko S.A.** Methods of control of nanoparticles in food products and biological objects. Communication 1. The use of microscopic and chromatographic research methods. *Voprosy Pitaniya*. 2012. V. 81. N 2. P. 4-11 (in Russian).
27. **Rykhtik O.V., Panferov V.G., Kotova N.N., Popov K.I.** Detection of silver nanoparticles in milk by laser dynamic light scattering. *Khranenie Pererabotka Selkhozsyrya*. 2013. N 6. P. 43-46 (in Russian).
28. The procedure and methods for monitoring the migration of nanoparticles from packaging materials. Guidelines (MU 1.2.2637-10). М.: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor. 2010. 35 p. Effective May 24, 2010 (in Russian).
29. Resolution of the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation of July 23, 2007. N 54 "On the supervision of products obtained using nanotechnologies and containing nanomaterials" (in Russian).
30. The maximum permissible concentration of heavy metals and arsenic in food raw materials and food products. Approved The chief state sanitary doctor of the USSR on March 31. 1986 N 4089-86 (in Russian).

Поступила в редакцию (Received) 27.07.2020  
 Принята к опубликованию (Accepted) 10.12.2020