

НАНОГЛИНЫ В ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ: ПОЛЬЗА И ВОЗМОЖНЫЕ РИСКИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

И.В. Гмошинский¹, О.В. Багрянцева^{1,2}, О.В. Арнаутов³, С.А. Хотимченко^{1,2}

¹Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи, Россия, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, 2/14

²Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Россия, 119991, г. Москва, уд. Большая Пироговская, 2, стр. 2

³Евразийская экономическая комиссия, Россия, 115114, г. Москва, ул. Летниковская, 2, стр. 1, стр. 2.

Наноглины (НГ) представлены алюмосиликатами, слогаемыми слоями (нанопластинами) толщиной 1–2 нм и диаметром более 1 мкм, нанотрубками и нанодисками. Благодаря такой структуре и наличию ионообменных, сорбционных свойств и слабой газопроницаемости НГ широко применяются в промышленности, сельском хозяйстве и медицине. При производстве газобарьерных композитных упаковочных материалов используются гидрофобные НГ, модифицированные катионоактивными поверхностно-активными веществами. Пероральная экспозиция человека НГ возможна вследствие их миграции из упаковочных материалов в пищевые продукты и напитки, при использовании НГ в медицине в качестве энтеросорбентов и антибактериальных средств, с пищевыми добавками, остаточными количествами технологических вспомогательных средств, а также при непреднамеренной контаминации глинами сельскохозяйственного сырья и пищевой продукции. В многочисленных исследованиях в модельных системах *in vitro* НГ проявляли цитотоксичность для клеток различных типов, более высокую у гидрофобных НГ по сравнению с их немодифицированными аналогами. Действующая концентрация НГ в различных тестах *in vitro* составляла от 0,001 до 1 мг/мл. Исследования токсичности НГ *in vivo* дали частично противоречивые результаты. Хотя НГ не проявили заметной острой токсичности (IV класс опасности, $LD_{50} > 5000$ мг/кг), результаты подострых и субхронических экспериментов продолжительностью до 196 суток и единичных клинических наблюдений указали на ряд как токсических, так и нетоксических эффектов. Органические модификаторы НГ были высокотоксичны *in vivo*. Помимо этого НГ обладают антимикробным действием, что создает возможность развития дисбиотических нарушений при их пероральном поступлении. В модельных экспериментах показана возможность миграции НГ и их органических модификаторов из упаковочных материалов в пищевую продукцию. НГ способны высвобождать кремний и алюминий, которые частично биодоступны. Вклад НГ, содержащихся в упаковочных материалах, в общую экспозицию населения токсичным элементом алюминием заслуживает тщательной оценки в связи с неблагоприятным положением, создающимся из-за поступления глинистых минералов в организм человека в составе пищевых добавок. Оценка уровней потребления алюминия с рационами населением РФ и ряда зарубежных стран показала необходимость исключения алюмосиликатов калия и кальция, бентонита и каолина (E555, E556, E558 и E559) из перечня разрешенных для использования в пищевой промышленности.

Ключевые слова: наноглины, алюминий, пищевая добавка, экспозиция, биодоступность, токсичность, кишечный микробиоценоз, риски.

© Гмошинский И.В., Багрянцева О.В., Арнаутов О.В., Хотимченко С.А., 2020

Гмошинский Иван Всеволодович – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий (e-mail: gmosh@ion.ru; тел.: 8 (495) 698-53-71; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3671-6508>).

Багрянцева Ольга Викторовна – доктор биологических наук, профессор (Республика Казахстан), ведущий научный сотрудник лаборатории пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий (e-mail: bagryantseva@ion.ru; тел.: 8 (495) 698-54-05; RCID: <https://orcid.org/0000-0003-3174-2675>).

Арнаутов Олег Вячеславович – помощник члена Коллегии (министра) по промышленности и агропромышленному комплексу (e-mail: arnautov@eecommission.org; тел.: 8 (985) 787-91-25; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3309-0308>).

Хотимченко Сергей Анатольевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий (e-mail: hotimchenko@ion.ru; тел.: 8 (495) 698-52-35; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5340-9649>).

Современная пищевая промышленность характеризуется массовым внедрением в производство пищевых добавок, технологических вспомогательных средств и инновационных упаковочных материалов. Достигаемые при этом функциональные и экономические преимущества пищевой продукции оправдывают применение при ее изготовлении пищевых добавок и технологических вспомогательных средств при условии обеспечения ее безопасности для здоровья ныне живущего и будущих поколений. В связи с этим большой интерес для технологов и гигиенистов представляет использование в пищевых производствах глинистых минералов, включая немодифицированные и химически модифицированные **наноглины** (НГ, nanoclays) различных видов. Присутствие в составе подавляющего большинства глинистых минералов металла алюминия, обладающего общетоксическим и нейротоксическим действием, делает актуальной проблему рисков, обусловленных миграцией этого элемента в съедобную часть пищевой продукции [1]. Помимо этого, ряд вопросов возникает в связи с гипотетическим токсическим действием глин как наноматериалов, обусловленным малым размером и особыми физико-химическими свойствами слагающих их частиц (так называемый феномен «нанотоксичности») [2, 3]. Наконец, особой проблемой является гигиеническая оценка применяемых при производстве некоторых сортов НГ синтетических органических модификаторов.

Целью исследования является анализ и обобщение данных об областях применения НГ, их воздействии на биологические системы, включая организм человека и микроорганизмы, а также о возможных рисках, связанных с использованием НГ в пищевых производствах.

Материалы и методы. Методом исследования явился поиск, отбор и анализ источников (статей в рецензируемых научных журналах, тезисов и монографий, отчетов международных организаций) с использованием открытых баз данных, включая PubMed, Scopus, Google Scholar и РИНЦ, за период с 1993 по 2019 г.

Классификация и структура глин. Глинистые минералы широко распространены в верхних слоях земной литосферы, в почвах и донных отложениях и представляют собой продукты длительной физико-химической и биотической трансформации изверженных вулканических горных пород [4]. Разновидностями глины как осадочной горной породы являются бентонит, каолин и т.д., содержащие, помимо глинистых минералов, значительные примеси кварца, кристобалита, кальцита (мел, мрамор), рутила и других минералов. По своему составу глинистые минералы подразделяются на алюмосиликаты и силикаты (сложные соли кремневой кислоты). Последние наиболее широко распространены среди глинистых минералов, схематическая классификация которых представлена на рис. 1 [5].

С точки зрения технологических свойств наибольший интерес представляют филлосиликаты, образованные слоистыми алюмосиликатными структурами и, особенно, входящие в эту группу смектиты, в которых эти слои сравнительно слабо связаны между собой и подвижны. Данное обстоятельство определяет физико-химические свойства смектитов, а именно их высокую гидрофильность, набухаемость в воде, нелинейные реологические характеристики (тиксотропия), высокую адсорбционную способность к различным молекулам и ионам. Среди смектитов выделяется наиболее

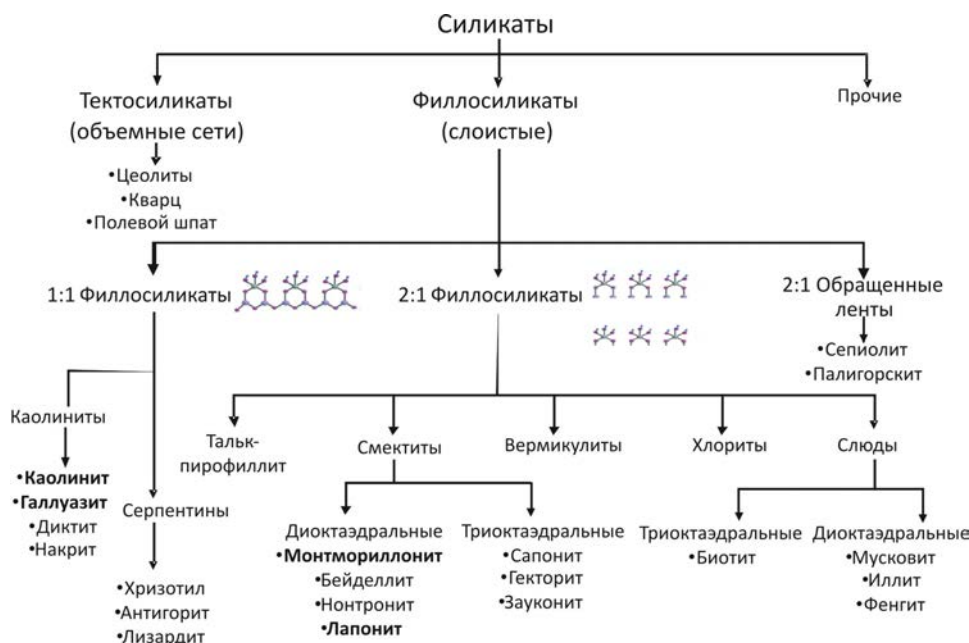


Рис. 1. Классификация силикатов (по данным статьи [5])

широко распространенный в природных бентонитовых глинах минерал **монтмориллонит** (ММТ), химическое строение которого изображено на рис. 2, а. ММТ образован слоями (пластинами) диаметром, как правило, в 1–10 мкм и толщиной (в зависимости от свойств среды и по данным различных методов измерения) в пределах 1–2 нм. Пластина ММТ представлена трехслойной структурой, образованной двумя слоями конъюгированных кремний-кислородных тетраэдров, между которыми располагается слой ионов алюминия, октаэдрически координированных атомами кислорода силикатных тетраэдров и ионами гидроксила. Наружный слой пластины состоит из молекул воды, удерживаемых водородными связями. Межплоскостное расстояние между слоями ММТ значительно превосходит толщину слоя и составляет в сухом ММТ порядка 7 нм [6, 7].

Часть ионов Al^{3+} в ММТ способна к изоморфному замещению на неопределенное число двухвалентных катионов (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+}), из-за чего трехслойная структура в целом приобретает отрицательный заряд. Он компенсируется электростатическим связыванием в пределах сольватной оболочки пластины одновалентных катионов (обычно Na^+). Эти катионы способны сравнительно легко обмениваться на другие поло-

жительно заряженные частицы, чем определяет наличие у ММТ катионообменных свойств. Его эмпирическая брутто-формула может быть представлена как $(M^+_x \cdot nH_2O) \cdot [Al_{2-x}Z_x] Si_4O_{10}(OH)_2$, где M^+ – одновалентный катион (натрий), Z – двухвалентный катион (магний, кальций, железо), $x < 0,5$. Получаемый из природного бентонита ММТ, как правило, содержит незначительные примеси кварцевого песка, слюды, может включать в следовых количествах токсичные элементы, такие как Pb, Cd, Be, Ba, Sr, Ni и другие.

При технологической обработке (гидрофобизации) производится замена натрия в ММТ на ионы катионоактивных поверхностно-активных веществ (ПАВ) – алифатических аминов или четвертичных аммониевых оснований, то есть веществ состава $R_1R_2R_3CH_3N^+Na\Gamma$, где R_i – алифатические (от C1 до C16) или ароматические радикалы, либо водород, а $Na\Gamma$ – анион хлора или брома (рис. 2, б) [7–9]. Связываясь в межплоскостном пространстве ММТ, молекулы ПАВ вытесняют оттуда воду, заменяя слабые водородные связи между слоями еще более слабыми гидрофобными взаимодействиями, ввиду чего происходит самопроизвольная эксфолиация (расщепление) ММТ на отдельные пластины с образованием собственно органомодифицированной НГ [7, 10]. Подобная эксфолиация возможна и в нативном

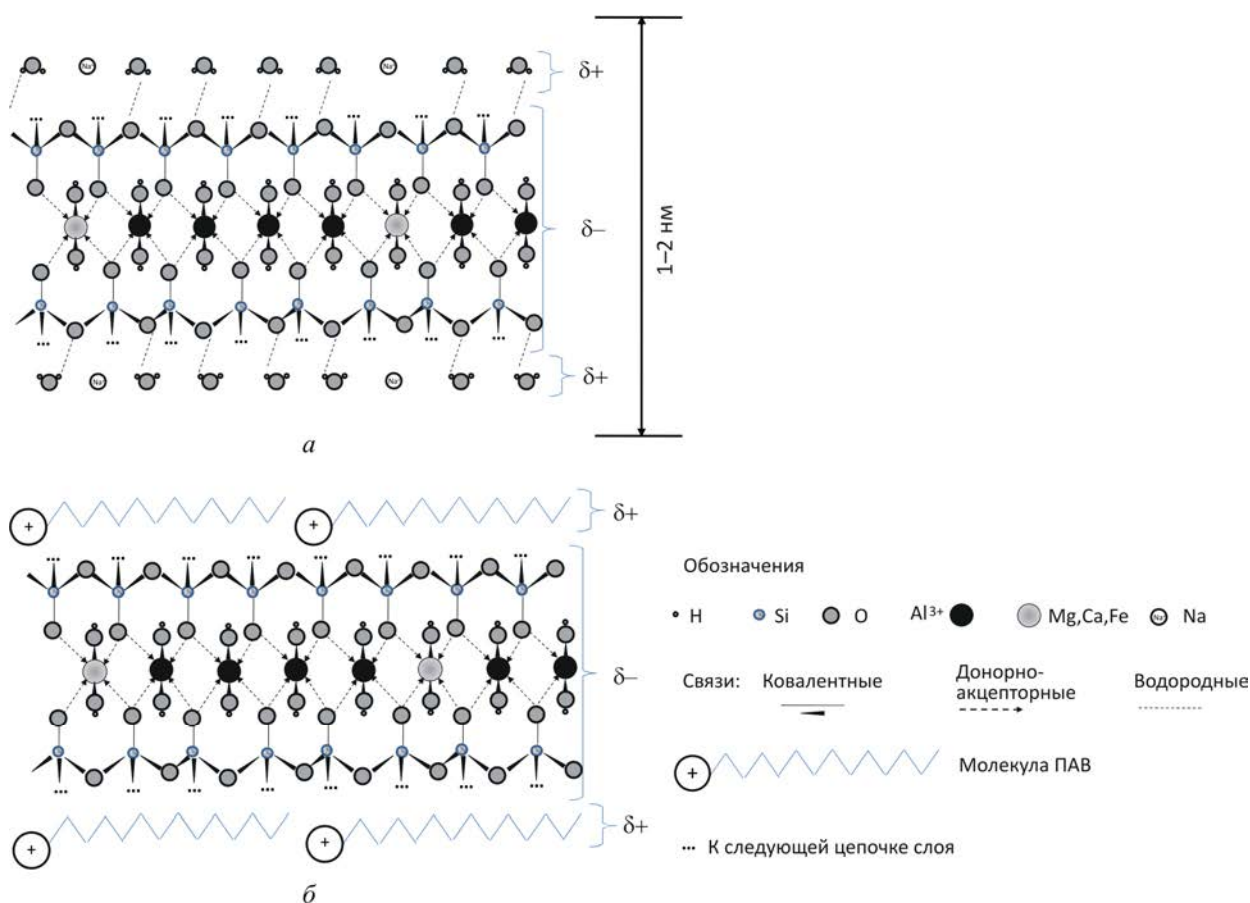


Рис. 2. Схема химического строения монтмориллонитовой наноглины (а) и ее органомодифицированной формы (б)

обводненном ММТ, однако только в условиях интенсивного внешнего механического воздействия (ультразвук).

Гидрофобизированные органомодифицированные НГ являются основным сырьем при производстве нанокомпозитов с органическими полимерами, применяемыми в упаковочных материалах для пищевой продукции [5].

Из других глинистых минералов, находящихся применение в пищевом производстве, заслуживают внимание следующие. **Каолинит** – филлосиликат, близкий по структуре к ММТ и отличающийся наличием не трех-, а двухслойной структуры (один кремнийоксидный и один алюмооксидный слой). В роли внешнего катиона в каолините, в отличие от ММТ, преобладает не натрий, а калий. Из-за стерических напряжений в структуре пластин каолинита они склонны изгибаться в цилиндр, предельным случаем чего является формирование нанотрубки. Такими алюмосиликатными нанотрубкам представлен минерал **галлуазит**. В отличие от углеродных нанотрубок, нанотрубки галлуазита не замкнуты, а представляют собой слои каолинита, свернутые в рулоны (рис. 3). Типичный диаметр таких нанотрубок составляет 20–50 нм, длина – более 1 мкм. Еще одним представителем филлосиликатов является **лапонит**, который близок по химическому строению к ММТ, но образован наночастицами (нанодисками) небольшого диаметра (обычно 25–30 нм) и толщиной 1 нм, склонен к набуханию и образованию тиксотропных гелей.

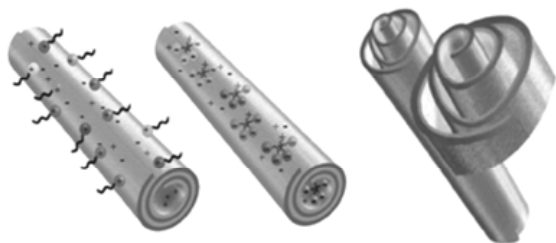


Рис. 3. Структура нанотрубок галлуазита

Другие разновидности глинистых минералов, представленные на рис. 1, имеют незначительное практическое использование в пищевых производствах.

В научной литературе имеются данные о возможности практического применения так называемых

«анионных» глин, являющихся искусственными слоистыми минеральными материалами, в построении которых, однако, вместо кремния участвует другой неметалл (обычно углерод) или анион хлорида [11]. Проблемы, связанные с биологическими свойствами этих искусственных материалов, не являются предметом обсуждения в настоящем обзоре.

Применение глин при производстве пищевой продукции. ММТ и некоторые другие филлосиликаты широко используются в различных отраслях промышленности: имеются сведения о более чем 100 областях практического использования глин [5, 12].

НГ ввиду своей высокой удельной площади поверхности и ионообменных свойств обладают значительной адсорбционной емкостью, из-за чего между их слоями возможно встраивание (интеркаляция) органических молекул, а органомодифицированные НГ легко внедряются в объем гидрофобных органических полимеров с образованием планарных структур (нанокомпозитов) [13]. Одним из наиболее важных свойств глинистых нанокомпозитов является непроницаемость пластин НГ для молекул газов (кислорода, двуокиси углерода), а также воды, в силу чего значительно удлиняется проходимый данными молекулами путь в процессе диффузии через полимер [14] (рис. 4). С одной стороны, для нанокомпозитов, помимо барьерной функции, характерно значительное улучшение прочности, жесткости, термической стабильности, стойкости к набуханию [15–18]. С другой стороны, имеются разработки, позволяющие получить глинистые нанокомпозиты с природными биополимерами (белки, полисахариды), способные к легкой биодegradации и, следовательно, «дружественные» по отношению к окружающей среде [19, 20]. Путем комбинации растительных полисахаридов, НГ и природных эфирных масел были получены биоразлагаемые нанокомпозиты с антимикробными свойствами [21, 22]. Сообщается о получении бионанокомпозита монтмориллонитовой глины с антиоксидантными свойствами, содержащего экстракт расторопши (силибин) [23]. Барьерные свойства нанокомпозитов широко применяются при производстве пленочных упаковочных материалов и тары, способных предотвратить высыхание, окислительную порчу упакованных пищевых продуктов, дегазацию газированных напитков [16, 24, 25]. Нано-

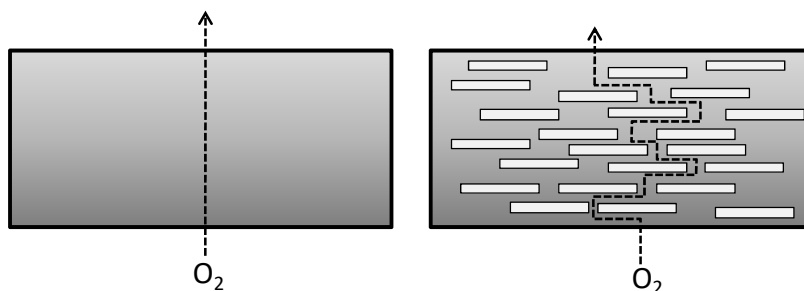


Рис. 4. Схема, объясняющая проявление газобарьерных свойств композитом наноглины

композиты глины с низином рассматриваются как полезный компромисс в использовании этого консерванта при предохранении от порчи пищевой продукции с учетом низкой степени миграции низина из наноматериала в объем пищевого продукта [26, 27].

В целом эффект от использования НГ и их модифицированных форм в упаковочных материалах состоит в повышении качества и безопасности пищевой продукции [28]. Направление, связанное с использованием НГ в упаковке пищевой продукции, быстро развивается. По данным [29], рынок нанокompозитов, применяемых в пищевой упаковке в США, характеризовался объемом 4,13 млрд долларов в 2008 г. и более 7 млрд долларов в 2014 г. Большую часть этой продукции составляют композиты на основе глин [30].

Использование НГ как носителей лекарственных препаратов обсуждается в обзорной статье [31]. А.М. Akbari et al. показали возможности использования монтмориллонитовой глины как носителя для витамина В₁₂ [32].

В числе других областей применения глин в пищевых производствах следует указать на их использование в качестве вспомогательных технологических средств (фильтрующих сред, адсорбентов, флокулянтов) при производстве растительных масел, пива, безалкогольных напитков. Эффективность использования глин, особенно в наноформе, в этой области определяется их высокой адсорбционной способностью в отношении различных ионов и полярных органических молекул [33, 34]. Следует отметить, что вспомогательные технологические средства в процессе производства должны полностью удаляться из готовой к употреблению пищевой продукции. В отличие от этого, пищевые добавки на основе алюмосиликатных глин, выполняющие функции носителей и антиислеживающих агентов, могут постоянно присутствовать в отдельных видах пищевой продукции. По состоянию на 2019 г. в России и странах ЕАЭС разрешено использование в качестве пищевых добавок алюмосиликатов натрия, калия и кальция (E554-E556), бентонита (E558) и каолина (E559)¹. Нормируемое содержание указанных пищевых добавок (по отдельности или в комбинации) в пряностях и продуктах, плотно обернутых фольгой, составляет не более 30 г/кг, для сахарной пудры – 15 г/кг, сыров и их заменителей – 10 г/кг, соли – 10 г/кг. Использование алюмосиликатных пищевых добавок при производстве таблетированной пищевой продукции и биологически активных добавок к пище (БАД), сахаристых кондитерских изделий, кроме шоколадных (для обработки поверхности), регламентируется в соответствии

с нормативно-технической документацией производителя (то есть в количествах, обеспечивающих технологическое действие).

Использование глинистых минералов (ММТ, каолинита) как кормовых добавок подразумевает наличие у этих веществ энтеросорбентных свойств, что позволяет успешно противодействовать развитию у животных фузариотоксикозов, ацидоза, способствует снижению в сыворотке крови активностей печеночных аминотрансфераз, уровней лактата, биогенных аминов (гистамина и спермина) [35, 36].

Следует упомянуть и об использовании в питании человека так называемых «съедобных» глин. Поедание минеральных субстанций почвы (геофагия или так называемый феномен риса) свойственно для некоторых племен Африки и Азии, находящихся на низкой ступени социально-экономического и культурного развития [37]. Считается, что этим достигается получение дополнительных количеств некоторых минеральных веществ, представленных в глинах в частично биодоступной форме (калия, магния, железа) [38]. Кроме того, выраженные энтеросорбентные свойства глин могут способствовать профилактике энтеральных инфекций и афлатоксикозов [39]. Потребление с пищей бентонита способствовало выведению из организма населения Ганы афлатоксинов и Т2-токсина [40]. Интересно, что и в современных африканских странах (Нигерия, Камерун, Гана, Того, ЮАР и др.), а также в США и Западной Европе на рынке представлены специально подготовленные (и имеющие сертификаты безопасности) традиционные пищевые продукты на основе «съедобной» африканской глины [37]. В России и странах ЕАЭС, как можно понять из имеющейся литературы, данный феномен не имеет сколько-нибудь значимого распространения.

Токсичность НГ для живых организмов. Хотя благоприятный технологический эффект от перечисленных способов использования НГ очевиден, возможные токсические эффекты как модифицированных, так и немодифицированных НГ в отношении человека и объектов окружающей среды являются источником потенциальных рисков [41].

Данные экспериментов *in vitro*. Эксперименты *in vitro*, проводимые, как правило, с использованием в качестве тест-объектов культур клеток человека и животных (как первичных культур нормальных клеток, так и трансформированных), позволяют получить информацию о наличии у таких наноматериалов, как НГ, цитотоксических свойств, осуществить скрининг предположительно наиболее токсичных из рассматриваемой группы наноматериалов и составить представление о возможных механизмах нанотоксичности [5, 42].

¹ ТР ТС 029/2012. Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств (с изменениями на 18 сентября 2014 года): технический регламент Таможенного союза. Приложение 2 [Электронный ресурс] // Кодекс: электронный фонд правовой и нормативно-технической документации. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/902359401> (дата обращения: 14.02.2020).

В документе ВОЗ [4] представлен обзор данных ранних работ (за 1969–1996 гг.), свидетельствующих о различных эффектах, проявляемых частицами ММТ, каолинита и других глин в системах *in vitro*.

В ряде исследований было показано, что нативный ММТ проявлял цитотоксичность. Четыре вида силикатов характеризовались токсичностью для клеток эндотелия пупочной вены человека (HUVE) при воздействии в течение 6–24 ч в концентрациях от 0,01 до 0,1 мг/мл, убывающей в последовательности: ММТ > природный бентонит > каолинит > цеолит [43]. Каолинит и цеолит вызывали дозозависимое усиление выделения жирных кислот и лизис клеток. Две другие линии клеток – нейробластомы N1E-115 и олигодендроглиальных клеток ROC были резистентны к действию глин.

Немодифицированный ММТ в концентрации 1 мг/мл в течение 24 ч снижал выживаемость клеток яичника хомяка линии CHO [44]. Аналогичные результаты были получены на кишечных клетках линии INT-407 [45]. Немодифицированный ММТ марки Cloisite Na не проявлял признаков цитотоксичности для трансформированных клеток кишечного эпителия Caco-2 после 24 ч экспозиции в концентрации 0,17 мг/мл, не вызывал в них разрывов ДНК по данным комет-теста и не был мутагенным для *Salmonella spp.* в тесте Эймса [46]. По данным работы Gao et al. [47], каолин проявлял цитотоксичность в первичной культуре легочных макрофагов крысы, сравнимую с цитотоксичностью кварца, хотя и вызывал меньшее повреждение ДНК. Наряду с нанопластинками, данные получены и для нанотрубок нативных глин. Verma et al. [48] с использованием трансформированных клеток легочного эпителия A549 показали, что тубулярные структуры глины менее токсичны, чем нанопластинки. Проблема в интерпретации этих данных связана с различным химизмом обоих наноматериалов, а именно нанопластины были представлены ММТ, а нанотрубки – галуазитом. Следует отметить также, что, согласно Vergaro et al. [49], нативные нанотрубки галуазита проявили цитотоксичность для HeLa- и MCF-7-клеток в концентрации свыше 0,075 мг/мл. Кроме того, в работе Lai et al. [50] токсичность нанотрубок галуазита для клеток кишечного эпителия не была выявлена в интервале концентраций 0–0,1 мг/мл.

Rawat et al. [51] сопоставили цитотоксичность ММТ природного происхождения и синтетического лапонита для клеток линии HEK (эмбриональные клетки почки человека) и SiHa (карцинома шейки матки), а также действие на культуру *E.coli*. При этом было показано, что нанодиски глины (лапонит) оказывают более выраженное цитотоксическое и антимикробное действие, чем протяженные нанопластины (ММТ).

При введении в состав НГ гидрофобизирующего органического модификатора, состоящего из катионоактивных ПАВ, цитотоксичность наноматериала может значительно изменяться. Это связано

как с изменением физико-химических свойств НГ как таковой (ее гидрофобности, дзета-потенциала, агрегативной стабильности), так, предположительно, и с воздействием самого модификатора, мигрирующего из состава НГ в биологические среды. Так, органомодифицированный ММТ марки Cloisite 30B, в отличие от своего нативного прекурсора, был генотоксичен для клеток Caco2 и мутагенен для *Salmonella spp.* [46]. Аналогичное действие показал и не содержащий глину фильтрат Cloisite 30B через мембрану 0,2 мкм, из чего следовало, что вызванные эффекты, скорее всего, обусловлены мигрирующим модификатором. Цитотоксичность органомодифицированной НГ марки Cloisite 93A была выше, чем у нативного ММТ в культуре трансформированных клеток печени HepG2 при 24 ч экспозиции [52].

Усиление цитотоксичности органомодифицированных НГ зависело от природы модификатора. Так, применение диэтилбензилдиалкиламмония, полученного на основе жирных кислот животного жира (tallow), приводило к большей токсичности модифицированного ММТ для ряда клеточных линий (лимфома Беркитта Ramos, аденокарцинома легкого A-549, колоректальная карцинома HCT116, меланома SK-MEL 28, гепатоклеточная карцинома HepG2 и эндотелий пупочной вены HUVEC), чем если использовалось диметилдиалкиламмониевое основание [53]. Эти данные согласовались с цитотоксическим действием самих этих модификаторов для используемых клеточных линий. Концентрация 50%-ного ингибирования (LC_{50}) дидецилдиметиламмония сахарината в тесте с использованием солей тетразолия (МТТ-тест) для ряда линий клеток человека находилась в интервале от 1,44 до 5,47 мМ [54]. В экспериментах на клетках HepG-2 и Caco-2 нативный ММТ демонстрировал меньшую токсичность, чем органомодифицированный (Cloisite 30B) [55, 56]. Пороговая токсическая концентрация двух марок органомодифицированных НГ, отличающихся составом модификатора, составляла от 8 до 30 мкг/мл. В концентрации от 30 мкг/мл модифицированные НГ вызывали фрагментацию ДНК в клетках обеих линий и истощение запасов восстановленного глутатиона в HepG2-клетках. Действующие концентрации различных гидрофобных модификаторов НГ различались и по данным работ [7, 55–58].

В результате «активации» бентонита путем его обработки серной кислотой наблюдалось повышение цитотоксичности для В-лимфоцитов человека [59, 60]. Наряду со снижением выживаемости клеток отмечали возрастание продукции оксидантов и повреждения ДНК. Водные вытяжки из препаратов глины не демонстрировали в этих экспериментах какого-либо генотоксического действия.

Кроме того, имеются данные, что при некоторых видах модификации глин их цитотоксичность, во всяком случае, не увеличивается. Так, Han et al. [61] сообщили об отсутствии повреждения мембран и снижения выживаемости клеток четырех линий

при контакте с органомодифицированными кальциевыми и магниевыми филлосиликатами. Нативные и функционализированные нанотрубки галуазита проявляли равную цитотоксичность в отношении HeLa- и MCF-7-клеток в концентрации свыше 0,075 мг/мл [49].

Оценки цитотоксичности композитов НГ в литературе сравнительно немногочисленны. Встраивание ММТ в олигосополимер стирола с акрилонитрилом приводило к снижению его цитотоксичности [62]. Те же авторы показали [63], что композит нанотрубок галуазита с хитозаном не был цитотоксичен для фибробластов линии NIH3T3 и показал хорошую биосовместимость, сравнимую с пленками чистого хитозана. Фибробласты L-929 демонстрировали более высокую адгезию и рост на хитозане без глины, по сравнению с содержащим ММТ в количестве от 1 до 8 % [64].

Kevadiya et al. [65] сообщили о способности глинистых композитов быть резервуарами цитотоксических лекарств, причем их побочные токсические эффекты в отношении нормальных клеток могут снижаться, а эффективность доставки – повышаться.

Различия в цитотоксичности нанокompозитов могут быть обусловлены количествами мигрирующих из них НГ и органических модификаторов. В частности, НГ марки Cloisite 30 В, содержащая четвертичное аммониевое основание, может выделяться из биополимерного нанокompозита на основе полисахарида сои [66]. НГ Cloisite 30 В была цитотоксична для клеток линий Hep 2, C26 и НТС в концентрациях от 39,1 до 90,17 мкг/мл. Частицы Cloisite 30 В мигрировали из упаковочной пленки в жидкие среды в значимых количествах. Был сделан вывод, что нанокompозит указанного состава мог быть использован при упаковке только сухих пищевых продуктов и защищал их в некоторой степени от бактериальной, но не от плесневой контаминации.

Определенную озабоченность вызывает возможность воздействия на человека аэрозолей, образующихся при сжигании отходов упаковки, содержащих НГ, на мусороперерабатывающих заводах. A. Wagner et al. [67] в экспериментах на культуре клеток эпителия легкого человека BEAS-2В показали, что прокаливание при 900 °С существенно не влияло на цитотоксичность нативного ММТ и резко снижало цитотоксичность органомодифицированной НГ Cloisite 30В, что соответствовало наблюдавшемуся выгоранию органического компонента. В последующей работе этих же авторов [68] аналогичным образом изучали цитотоксичность твердых продуктов сгорания полимерного нанокompозита, содержащего органомодифицированные НГ трех марок. Показано, что продукты сгорания, представленные порошкообразными или губчатыми структурами с размером частиц значительно больше 100 нм, не проявляли выраженного цитотоксического действия в концентрации до 0,3 мг/мл. Вывод, сделанный авторами, состоит в том, что хотя цитотоксичность

органомодифицированной НГ намного выше, чем у нативной, но при сжигании упаковочных материалов она в значительной степени снижается в связи с выгоранием модификатора.

Полученные в *in vitro* тестах данные позволяют высказывать предположения относительно механизмов цитотоксического действия при непосредственном контакте НГ с клетками. Так, в клетках HUVE, экспонированных ММТ, бентонитом и каолинитом, был отмечен лизис при 24 ч экспозиции [43]. При кратковременной (60 мин) экспозиции ММТ и бентонит вызывали полный лизис нейрональных клеток [69]. Клетки HepG2 и Caco-2, экспонированные в течение 24–48 ч органомодифицированной НГ марки Cloisite 93А в количестве от 0,05 до 1,0 мг/мл, демонстрировали морфологические изменения, состоящие в повреждении митохондрий, ядер и эндоплазматического ретикулаума [55]. Дегенерация митохондрий в HepG2- и Caco-2-клетках, обработанных органомодифицированными НГ, согласуется с данными, полученными в МТТ-тесте для многих типов клеток, подвергнутых действию как модифицированных, так и нативных НГ и нанотрубок галуазита [44, 45, 49, 50, 52, 55–58, 63]. Наличие жировых включений в клетках HepG2 и Caco-2, культивируемых в присутствии С30В, свидетельствует о нарушении липидного метаболизма [43]. Перечисленное позволяет предположить, что при непосредственном контакте немодифицированного ММТ с клетками разных типов в ходе их повреждения преобладают явления развития оксидантного стресса, обусловленного каталитическим синтезом свободных радикалов на межфазных границах, в то время как главным фактором токсичности органомодифицированных глинистых композитов является органический компонент (модификатор), проявляющий мембранотропное действие [5].

Таким образом, по данным большого числа работ негативное воздействие НГ на клетки различных типов не вызывает сомнения. Однако решение вопроса о значимости этих эффектов для токсического действия НГ на организм человека невозможно без получения информации о сценариях экспозиции, величинах миграции наноматериалов из продукции и способности НГ к преодолению биологических барьеров.

Данные экспериментов *in vivo*. Исследования токсичности глинистых минералов *in vivo* менее многочисленны в сравнении с данными на системах *in vitro*, и полученные результаты трудно сопоставимы из-за различия экспериментальных моделей и тестируемых объектов. Обзор ранних данных по токсичности глинистых минералов представлен в статьях [4, 70].

Экспонирование глинистыми материалами вообще способно приводить как к токсическому, так и нетоксическому ответу. Последний может быть связан с благоприятным действием глинистых сорбентов, снижающих нагрузку на организм поступающих с пищей афлатоксинов, тяжелых метал-

лов и микробных метаболитов, антацидным действием, а также получением некоторых дополнительных количеств эссенциальных микроэлементов [5, 71, 72]. Большинство ранних исследований показали, что глины не вызывают общетоксических и гистопатологических изменений, как при однократном введении в остром опыте [45, 73, 74], так и в условиях подострого эксперимента продолжительностью до 196 суток [75–78] на грызунах. Например, Baek et al. [45] оценили LD₅₀ немодифицированного ММТ для мышей величиной 41 000 мг/кг массы тела. Wiles et al. [79] сообщали об отсутствии токсичности или очень низкой токсичности ММТ для беременных самок крыс Sprague–Dawley, причем также не была выявлена и эмбриотоксичность. Однако ранее в работе Patterson and Staszak (1977), цит. по [5], были выявлены эффекты репродуктивной токсичности, состоящие в появлении анемии у самок и снижении массы тела новорожденного потомства после экспонирования каолином в количестве 20 % по массе корма.

В последние 10 лет *in vivo* токсичность глинистых минералов исследовалась мало. С одной стороны, сообщалось о подозрительном случае отравления бентонитом у кошек, которые глотали бентонитосодержащий кошачий наполнитель, с симптомами гипокалиемии и гипохромной анемии, летаргии и мышечной слабости. При пероральном поступлении бентонит снижал включение кальция в костную ткань коз. У цыплят-бройлеров с алиментарной недостаточностью нутриентов бентонит не компенсировал уменьшение кальция в больших берцовых костях. У трехлетней девочки, получавшей перорально и ректально бентонит в качестве домашнего средства, возникла тяжелая гипокалиемия [40].

С другой стороны, Maisanaba et al. [78] не выявили повышения уровней липоперексидов, изменениями активностей супероксиддисмутазы (SOD), глутатионпероксидазы (GPx) и глутатион-S-трансферазы (GST) в печени и почках крыс, экспонированных в течение 40 дней органомодифицированным ММТ, хотя активность каталазы, содержание ее белка и экспрессия гена в почках увеличивались. EFSA [76] приводит данные о том, что у крыс, получавших бентонит в течение 15 сут, были выявлены хромосомные aberrации. Однако, Sharma et al. [80] не наблюдали разрывов цепей ДНК в клетках и воспалительного ответа в толстой кишке, печени и почках крыс Wistar, получавших через зонд органомодифицированную глину Cloisite 30B двукратно в дозе 250–1000 мг/кг массы тела. Этот результат согласуется с данными Hsu et al. [81], полученными на крысах Sprague–Dawley, которым подкожно вводили суспензию нанопластин ММТ.

В работе В.В. Смирновой и др. [82] самцы крыс получали немодифицированную гидрофильную НГ Nanoclay Nanomer PGV в течение 28 дней внутрижелудочно через зонд в дозе 1,0 или 100,0 мг/кг массы тела. Анализ большого числа биохимических и гема-

тологических показателей не выявил у животных опытных групп изменений, которые могли бы быть интерпретированы как неблагоприятные. Более того, при потреблении НГ отмечены эффекты, свидетельствующие о повышении активности системы антиоксидантной защиты (снижение уровня диеновых конъюгатов в плазме, увеличение активности глутатионпероксидазы). Потребление глины не усиливало апоптоз клеток печени и проницаемость кишечной стенки для макромолекул.

В экспериментальной модели гиперкреатинемии у мышей монтмориллонит снижал уровень креатинина в сыворотке крови и ускорял его выведение из кишечника. У животных с почечной недостаточностью потребление бентонита способствовало диффузии мочевины из кровеносных сосудов в кишечник и ингибировало реабсорбцию мочевины в кишечнике [40]. У мышей с гипертиреозом монтмориллонит снижал уровень тироксина и трийодтиронина, увеличивал время сна, улучшал переносимость гипоксии и уменьшал спонтанную двигательную активность [40].

Некоторые исследователи аргументируют отсутствие токсических эффектов НГ тем, что они практически не биодоступны при энтеральном поступлении [80]. Однако Baek et al. [45], хотя и не наблюдали токсических эффектов вплоть до дозы ММТ в 1000 мг/кг массы тела, но сообщили, что глинистые минералы могут всасываться в организме в течение двух часов с аккумуляцией маркерных элементов (кремния, алюминия) в определенных органах. Mascolo et al. [74] наблюдали возрастающее накопление маркерных элементов НГ в моче и тканях крыс, причем органы по степени накопления расположились следующим образом: почки > печень > сердце > головной мозг. Reichardt et al. [83] показали, что каолин способен к диссоциации в просвете кишки, и выделяющиеся ионы алюминия могут всасываться. Частицы органомодифицированной НГ Cloisite 30B могут захватываться клетками эпителия пищевода крыс [66]. Однако Sharma et al. [70] не выявили накопления алюминия в печени и почках крыс, получавших через зонд органомодифицированную НГ марки Cloisite 30B в дозе 1000 мг/кг массы тела. Эксперты EFSA [76] считают, что бентонит и сепиолит не всасываются в ЖКТ в значимых количествах.

Органические модификаторы НГ, которые могут диссоциировать из комплекса с ММТ как в составе продукции, так и при поступлении в организм, обладают собственной токсичностью. В частности, Melin et al. [84] установили, что четвертичные аммониевые основания значительно нарушают репродуктивное здоровье у мышей. В эксперименте на крысах внутрижелудочное зондовое введение дидецил-диметиламмония сахарината в дозе 2000 мг/кг массы тела привело к гибели всех животных [54].

Всего в трех исследованиях была оценена токсичность глинистых нанокомпозитов. Так, на отсутствие токсичности *in vivo* и высокую биосовместимость

мость композитов НГ с полууретаном и хитозаном указывают данные работы [64]. Нанокompозит ММТ/хитозан обладал большей биосовместимостью *in vivo*, чем простой хитозан [81]. Maisanaba et al. [85] воздействовали на крыс веществами, экстрагированными из композита органомодифицированной НГ с поли-L-лактитом в модельный напиток, и не выявили каких-либо гистопатологических и биохимических признаков токсичности.

Взаимодействие с химическими токсикантами. Имеющиеся в литературе данные позволяют предположить, что при поступлении совместно с химическими токсикантами НГ способны понижать их токсичность, выступая в качестве энтеросорбентов. В ранних работах [35, 86] сообщается об эффективности добавления немодифицированных глин в корм сельскохозяйственных животных (цыплята, свиньи) в дозах 0,1–0,5 % по массе рациона для профилактики вредного действия афлатоксинов группы В, содержащихся в кормах. Одновременно было показано, что НГ в указанных дозировках не ухудшают биодоступность витаминов В₂, А, фосфора и марганца, хотя при дозе 1 % (что выше рекомендуемой профилактической дозировки) наблюдалось небольшое снижение биодоступности цинка. Особенно эффективное при афлатоксикозах детоксицирующее действие глин было достигнуто при их сочетанном использовании с антиоксидантами селеном, метионином и витамином Е.

Afryie-Gyawu et al. [39] на клиническом материале из регионов, эндемичных по развитию афлатоксикозов у людей, показали, что использование НГ NovaSil в качестве энтеросорбента эффективно и не создает рисков, связанных со снижением биодоступности витаминов А, Е и минеральных веществ. На способность органомодифицированной НГ адсорбировать афлатоксины, фумонизин и зеараленон указывают данные работы Abdel-Wahhab et al. [34].

El-Nekeety et al. [87] подвергали крыс Sprague Dawley затравке фумонизином В₁ и/или зеараленоном в течение трех недель на фоне контрольного рациона или рациона с добавлением 0,5 % по массе ММТ. Определение показателей азотистого и липидного обмена в плазме крови, содержания продуктов ПОЛ в печени и почках, активности антиоксидантных ферментов, уровней раковоэмбрионального антигена (СЕА), альфа-фетопротеина и IL-6, а также морфологии печени и почек выявило благоприятный терапевтический эффект ММТ. В группе животных, получавших только ММТ в указанной дозировке, каких-либо проявлений токсичности по этим показателям не было.

Таким образом, высокая активность НГ как энтеросорбентов для различных классов токсических веществ определяет перспективы использования НГ при лечении и профилактике различных отравлений у человека и животных. Это создает дополнительные источники экспозиции как нативными, так и модифицированными НГ.

Антимикробная активность. Некоторые природные глины использовались для лечения ран с древности, прежде того, как их антимикробные свойства были признаны медицинской наукой [88]. Механизм антимикробного действия глин может быть связан как с физическими взаимодействиями с микробными клетками, так и с эмиссией различных химических компонентов. Предполагается, что физический антимикробный эффект обусловлен адгезией бактерий к частицам глины, вследствие чего у микроорганизмов нарушается всасывание необходимых нутриентов, выброс метаболитов и происходит нарушение клеточных оболочек (Ferris et al., 1987, цит по [5]). При этом глины оказывают не столько бактерицидное, сколько бактериостатическое действие [89].

С антимикробным эффектом НГ может быть связана их способность вызывать дисбиотические нарушения при пероральном приеме. Так, в работе В.В. Смирновой и др. [82] у крыс Wistar, получавших немодифицированный ММТ, выявлено снижение функциональной активности симбиотической бифидофлоры, сопровождаемое многократным (на три порядка величины) усилением роста дрожжевой флоры слепой кишки.

При оценке возможных химических антибактериальных эффектов НГ следует иметь в виду, что хотя частицы алюмосиликата мало растворимы в воде, но в биологическом окружении, в присутствии органических молекул, проявляющих свойства комплексонов, они могут высвобождать ионы металлов (в частности алюминия, железа), способных оказывать антимикробное действие [88]. Wang et al. [90] выявили антимикробную активность в отношении *S. aureus* и *E. coli*, у эксфолиированных НГ, их форм, модифицированных катионоактивными, анионоактивными и неионогенными ПАВ, а также нанокompозитов с полиуретаном.

Композитные пленки на основе клейковины семян шалфея *Salvia macrosiphon* и органомодифицированной НГ Cloisite 15A в дисковых тестах на агаре показали антимикробные свойства в отношении *E. coli* и *S. aureus* [91]. У композита, образованного отрицательно заряженными слоями бентонитовой НГ и мономолекулярными слоями хитозана, выявлена антимикробная активность в отношении бактерии *Pseudomonas syringe pv. tomato* и плесневого гриба *Fusarium solani f. sp. eumartii*, вызывающих порчу сельскохозяйственной продукции [92]. Считается, что такой нанокompозит может обладать свойствами так называемого элиситора, то есть вещества, неспецифически повышающего сопротивляемость растений к вредителям и патогенам.

Антимикробное действие глинистых минералов получило разнообразное клиническое использование. Так, у пациентов с диареей различной этиологии (вирусная инфекция, пищевая аллергия, спастический колит, слизистый колит и пищевое отравление) перорально введенный бентонит в 97 %

случаев оказывал положительное клиническое воздействие [93]. Абсорбент «Диосмектит», состоящий из натуральной алюмосиликатно-магниево-глины, широко используется в лечебной практике для лечения диареи и синдрома раздраженного кишечника. Показано, что препарат способствовал нормализации консистенции стула за счет абсорбции токсинов, бактерий и вирусов, укрепления барьера слизистой оболочки кишки, уменьшения проникновения люминальных антигенов через слой слизи и снижения воспаления. Он также препятствовал адсорбции на мембранах клеток бактерий, энтеротоксинов, вирусов и других потенциально диареогенных веществ [94]. «Диосмектит» также показан для профилактики при лучевой и химиотерапии, а также синдроме приобретенного иммунодефицита, связанном с хронической диареей [95]. При назначении больным бентонита в дозе 3 г/сут в течение восьми недель снижалась выраженность проявления синдрома раздраженного кишечника по сравнению с плацебо [40].

В клинических исследованиях выявлены и возможные побочные действия препаратов на основе глин. При приеме диосмектина (смекты) в редких случаях отмечался запор, который проходил после коррекции дозы препарата, аллергические реакции (крапивница, сыпь, зуд, отек Квинке). Противопоказаниями к применению глин как энтеросорбентов являются кишечная непроходимость, непереносимость фруктозы, синдром нарушенного всасывания глюкозы-галактозы, недостаточность сахаразы-изомальтазы [95].

Таким образом, многочисленные данные об антимикробной активности НГ и их композитов не только являются обоснованием их применения при производстве изделий медицинского назначения и лекарственных препаратов, но и проливают дополнительный свет на возможность проявления их биологического действия за счет взаимодействия с компонентами кишечного микробиоценоза при пероральном поступлении в организм.

Миграция из упаковочных материалов. Важную роль в оценке возможных рисков НГ для здоровья человека играет количественное определение миграции этих наноматериалов и их органических модификаторов из упаковочных материалов [96, 97]. При этом были получены неоднозначные результаты. Schmidt et al. [98] не выявили в пределах чувствительности анализа миграцию глины из поли-L-лактита в 95%-ный этанол, а Bott et al. [99] – миграцию лапонита из полиэтилена низкой плотности в раствор ПАВ. Xia et al. [100] обнаружили миграцию только следовых количеств глины (3–6 мкг/л) из полипропиленовых и полиамидных пленок в этанол. Согласно теоретическим расчетам Simon et al. [101], частицы диаметром более 1 нм вообще не должны мигрировать из полимерных фаз ввиду их очень высокой вязкости. Однако это не относится к частицам, расположенным на межфазной поверхности или близко к ней, а также к ситуации разрушения

полимера. Возможно по этой причине Avella et al. [19] установили повышение концентрации кремния в овощах, контактирующих с нанокомпозитом. Интерпретация этих данных, однако, затруднена тем, что использованный в этой работе упаковочный материал был биodeградируемым. Farhoodi et al. [101] показали, что алюминий и кремний могут мигрировать из ПЕТ-бутылок в кислой среде при 25° и 45 °С. В других исследованиях выявлено, что как алюминий, так и кремний могут мигрировать из нанокомпозитов в водные и водно-этанольные среды [103].

Echegoyen et al. [96] изучили миграцию алюминия из контейнеров, состоящих из двух видов композита полиэтилена с органомодифицированными НГ. Испытания проводили в соответствии с директивой EC Regulation 10/2011/EU, что подразумевало использование 10%-ного этанола и 3%-ной уксусной кислоты в качестве модельных сред при температуре 70 °С в течение 2 ч или 40 °С и 10 сут. В этих условиях миграция Al из образцов составила от 2 до 51 нг с см² поверхности; с помощью электронной микроскопии в использованных модельных средах были выявлены нанопластины глины, состав которых был дополнительно подтвержден методом энергодисперсионной спектроскопии. В работе Xia et al. [100] изучали миграцию частиц глины, Si, Al и органических модификаторов (четвертичных аммониевых оснований) из нанокомпозитов полипропилена (PP) и полиамида 6 (PA6) с органомодифицированным ММТ в этанол при температуре 70 °С. Показано, что большее количество частиц глины выделялось из PP-, нежели из PA6-пленок (0,15 и 0,10 мг/л соответственно), возможно, вследствие менее прочного взаимодействия органомодифицированной НГ с первым из полимеров. Количество модификаторов, выделившихся в этанол, составило 3,5 мг/л из PP-пленок и 16,2 мг/л – из PA6. Обработка этанолом сопровождалась изменением ультраструктуры нанокомпозита. Миграция алюминия из нанокомпозита полиэтилена в 3%-ную уксусную кислоту достигала 5,16 мкг/см³ [96], а выделение алюминия из нанокомпозита на основе PET составило в эту же среду 0,34 мг/кг, а кремния – 9,5 мг/кг [102]. Биополимерные пленки из глютенa пшеницы характеризовались эмиссией до 1 мг/кг алюминия и до 4,5 мг/кг кремния в воду, 3%-ную уксусную кислоту, 15%-ный этанол и растительное масло [104].

Миграция НГ из упаковочных материалов возможна не только под воздействием среды пищевого продукта, но и вследствие выветривания [105]. Для оценки этого фактора модельные глинистые нанокомпозиты обрабатывали УФ-излучением или озоном при 40 °С. В течение первых 130 ч обработки физико-химические свойства композитов и миграция глин изменялись медленно, после чего быстро наступала быстрая и полная деградация. Внедренные НГ увеличивали стабильность и прочностные характеристики исходного композита, однако одновременно они ускоряли его деградацию под дейст-

вием УФ-излучения. Размер наночастиц, выделявшихся из нанокмпозитов при выветривании, составлял 2–8 нм. Их концентрация возрастала со временем обработки материалов.

Таким образом, неоднозначность данных о миграции НГ и их компонентов из упаковочных материалов указывает на необходимость индивидуального подхода к оценке их безопасности с учетом состава применяемого нанокмпозита, условий его эксплуатации и свойств упакованного продукта.

Экспозиция и возможные риски. Экспонирование человека глинами в той или иной степени происходило всегда в его истории как вида [106], однако в последние два десятилетия оно, по-видимому, усилилось в связи с широким использованием глинистых минералов в технологии и медицине. Наиболее значимым путем экспозиции является ингаляция, далее следуют поступление через ЖКТ и кожная экспозиция [107, 108].

Профессиональная ингаляционная экспозиция глинами происходит преимущественно при добыче полезных ископаемых, в сельском хозяйстве и металлургической (глиноземной) промышленности [5, 109]. Подробное рассмотрение данного пути экспозиции не входит в задачи настоящего обзора.

Данные о пероральной экспозиции человеческой популяции ММТ, каолинитом и другими глинами противоречивы [4]. Введение глин в полимерные материалы может приводить к непреднамеренной экспозиции потребителя, что требует оценки миграции как микрочастиц, так и наноструктурированной глины из упаковочного материала в пищевую продукцию [41]. Кроме этого, значительные количества НГ могут поступать в окружающую среду в ходе жизненного цикла продукции, например, при сжигании отходов упаковки на мусоросжигательных заводах [110].

Другими важными источниками перорального поступления глин в развитых странах являются пищевые добавки и фармацевтические препараты [111, 112]. В их числе следует указать бентонит, монтмориллонит, каолинит и палигорскит, которые используются как антациды и антидиарейные средства [113]. Некоторые виды глин применяются для профилактики микотоксикозов и афлатоксикозов у людей в регионах высокого эндемического риска [39, 114].

Наиболее актуальной, с позиции анализа возможных рисков, является оценка экспозиции населения алюмосиликатными пищевыми добавками как источниками поступления в организм токсичного элемента алюминия. По оценке EFSA, в зависимости от сценария, потребление пяти алюминийсодержащих пищевых добавок, из которых три должны рассматриваться как глины; алюмосиликат натрия (E554); алюмосиликат кальция (E556); алюмосиликат каолин (E559)), населением различных возрастных групп (дети младшего возраста, дети, подростки, взрослое население, пожилые люди) составляет в пересчете на алюминий от 2,3 до

76,9 мг/кг массы тела за неделю в среднем и от 7,4 до 145,9 мг/кг массы тела за неделю для 95 % населения [1]. В соответствии с альтернативным сценарием, предусматривающим большее потребление пищевых продуктов, в состав которых входят алюминийсодержащие пищевые добавки, среднее потребление составило 18,6–156,2 мг/кг массы тела за неделю; потребление для 95 % выборки населения – 5,3–286,8 мг/кг массы тела за неделю. Тем самым поступление алюминия в составе пищевых добавок в различных возрастных группах намного превышает безопасный уровень его поступления из всех источников (TWI = 1 мг/кг массы тела), установленный EFSA [123], а также условно-переносимый уровень потребления алюминия за неделю (PTWI = 0–2,0 мг/кг массы тела), установленный JECFA [1, 116].

Полученные другими авторами результаты подтверждают факт того, что дети, как правило, потребляют большее количество алюминия с пищей в расчете на массу тела, чем взрослые, хотя эти данные несколько отличаются от полученных EFSA оценок. В соответствии с этим во Франции возможное потребление алюминия детьми в возрасте 3–15 лет составило не менее 0,7 мг/кг массы тела в неделю в 97,5 % случаев. Для дошкольников (1,5–4,5 года) это значение равнялось 2,3 мг/кг массы тела в неделю. В Великобритании в 1988 г. потребление алюминия детьми 4–18 лет составило 1,7 мг/кг массы тела в неделю. В Германии 10 % детей в возрасте 5–8 лет получали алюминий с пищей в количестве большем, чем 0,38 мг/кг массы тела в неделю. Потенциальное потребление алюминия детьми в возрасте 0–3, 4–6, 7–9 и 10–12 месяцев в составе специализированных пищевых продуктов составляет 0,1, 0,2, 0,43 и 0,78 мг/кг массы тела в неделю соответственно [115, 117]. Исследования в Китае показали, что средний уровень потребления алюминия для детей в провинции Шэньчжэнь составил 3,272 мг/кг массы тела в неделю, что выше установленного для взрослых людей значения PTWI = 2 мг/кг массы тела за неделю [118].

Согласно [119], содержание алюминия в различных продуктах, предназначенных для питания детей от 0 до 12 месяцев жизни, колебалось от 224 до 592 мкг/л/сут. С учетом максимального рекомендованного потребления этих продуктов, уровень потребления алюминия для детей с 6 месяцев жизни оказывается неприемлемо высоким.

Проведенные в Испании исследования показали, что содержание алюминия в детских смесях на молочной основе составило 0,24–0,69 мг/л, а на основе сои – 0,93 мг/л [120]. Полученные данные явились основанием для проведения дополнительной оценки потребления алюминия с этими пищевыми продуктами, которая составила для трехмесячных детей 0,2–0,6 мг/кг массы тела в неделю при использовании продуктов на молочной основе и 0,75 мг/кг массы тела в неделю – при использовании продуктов на основе сои. В случае высокого уровня по-

требления данные значения составили 0,3–0,9 и 1,1 мг/кг массы тела в неделю соответственно [121]. Полученные данные о повышенном содержании алюминия в пищевых продуктах для детей (молочных продуктах, печенье, сухих зерновых завтраках, десертах, рыбе, фруктовом пюре, мясе, макаронных изделиях, сухарях, овощах) подтверждены целым рядом исследований [113, 122, 123].

Следует отметить, что алюминийсодержащие пищевые добавки не входят в перечень разрешенных для использования в пищевых продуктах для детей в соответствии с ТР ТС 029/2012 «Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств», стандартом комиссии Codex Alimentarius «Общий стандарт на пищевые добавки» Codex Stan № 192–1995, Постановлением ЕС № 1333/2008 относительно использования пищевых добавок. Кроме того, Постановлением ЕС № 1333/2008 запрещено использование алюминийсодержащих пищевых добавок при изготовлении ингредиентов для питания детей. Тем не менее, как показывают данные аналитических исследований, алюминий выявляется в продуктах для питания детей, в которые он может попасть в результате «транзита» из пищевого сырья (например, из порошкообразного молока), а также миграции из упаковочных материалов.

Имеющиеся данные о токсичности алюминия и уровнях его потребления с пищевыми продуктами явились основанием для исключения из перечня пищевых добавок, приведенного в «Общем стандарте по пищевым добавкам» (Codex Stan 192–1995), алюмосиликата калия E555 и бентонита E558. Однако вопрос о возможности превышения максимального допустимого уровня потребления алюминия при использовании пищевых добавок остался открытым. Поэтому на 46-й сессии Комитета экспертов ФАО-ВОЗ по пищевым добавкам – CCFA46 (Гонконг, Китай, 17–21 марта 2014 г.) Российской Федерацией был поднят вопрос о необходимости пересмотра использования алюминийсодержащих пищевых добавок, входящих в перечень разрешенных для использования в пищевой промышленности. CCFA46 поддержал это предложение [124].

Постановлением № 1333/2008 в редакции 2019 г. из перечня разрешенных в ЕС для использования в пищевой промышленности пищевых добавок исключены такие виды глин, как алюмосиликат натрия (Sodium aluminosilicate) E554, алюмосиликат калия (Potassium aluminium silicate) E555, алюмосиликат кальция (Calcium aluminium silicate) E556, бентонит

(Bentonite) E558 и алюмосиликат каолин (Aluminium silicate (Kaolin)) E559 [125, 126].

Оценка уровней потребления алюминия с рационами населением РФ показала существенное превышение условно-допустимого уровня поступления алюминия в организм человека за неделю (0–2,0 мг/кг массы тела для всех возрастных групп населения): в 2–8 раз – при минимальном и в 30–95 раз – при максимальном расчетном уровне потребления алюминийсодержащих пищевых добавок. С учетом этого была обоснована необходимость исключения из перечня разрешенных для использования в пищевой промышленности ЕАЭС следующих пищевых добавок: алюмосиликата натрия (E554), алюмосиликата калия (E555), алюмосиликата кальция (E556), бентонита (E558), алюмосиликата (каолина) (E559)². Однако в соответствии с решением рабочей группы по внесению изменений в технический регламент таможенного совета «Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств» из перечня разрешенных для использования в пищевой промышленности пищевых добавок исключаются не пять, а четыре пищевые добавки на основе глин – E555, E556, E558, E559.

Выводы. НГ представляют собой наноматериалы, образованные слоями (пластинами) и, в отдельных случаях, нанотрубками и нанодисками алюмосиликатов. Структура НГ, в частности, наличие в них слабо связанных слоев нанометровой толщины, а также ионообменных и сорбционных свойств и слабая газопроницаемость, определяет разнообразные области их использования в промышленности, сельском хозяйстве и медицине. При производстве композитных упаковочных материалов используются гидрофобизированные органомодифицированные НГ.

Пероральная экспозиция человека частицами НГ возможна вследствие их миграции из упаковочных материалов в пищевые продукты и напитки, при использовании НГ в медицине в качестве энтеросорбентов, с пищевыми добавками и остаточными количествами технологических вспомогательных средств, а также при непреднамеренной контаминации глинами сельскохозяйственного сырья и пищевой продукции. В многочисленных исследованиях в модельных системах *in vitro* выявлено цитотоксическое действие НГ для клеток различных типов, а также наличие мутагенного потенциала для микроорганизмов. Органомодифицированные НГ проявили, как правило, большую цитотоксичность, чем их немодифицированные аналоги. Действие НГ на клетки сопровождается признаками оксидантного

² ТР ТС 029/2012. «Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств» (с изменениями на 18 сентября 2014 года): технический регламент Таможенного союза. Приложение 2 [Электронный ресурс] // Кодекс: электронный фонд правовой и нормативно-технической документации. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/902359401> (дата обращения: 14.02.2020); О внесении изменений № 2 в технический регламент Таможенного союза «Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств» (ТР ТС 029/2012): проект решения Совета ЕЭК [Электронный ресурс] / Евразийский экономический союз. – URL: https://docs.eaunion.org/pd/ru-ru/0103370/pd_17122018 (дата обращения: 14.02.2020).

стресса, истощением запасов восстановленного глутатиона, нарушением клеточной ультраструктуры (набухание митохондрий, изменение эндоплазматического ретикулаума), протеомными и метаболомными сдвигами, некрозом и лизисом клеток. В качестве предполагаемого механизма цитотоксичности НГ рассматривается генерация реакционноспособных форм кислорода на межфазных границах, а также мембранотропное действие мигрирующих из органомодифицированных глин катионоактивных ПАВ. При этом, как правило, упускают из внимания и еще один потенциально значимый механизм, состоящий в миграции из НГ ионов токсичного металла алюминия. Действующая концентрация НГ в различных системах *in vitro* составляет от 0,001 до 1 мг/мл; при этом крайне сомнительно, чтобы такая концентрация НГ могла создаваться в органах и тканях при системном воздействии (за исключением, по-видимому, накопления частиц НГ в альвеолах легких при хронической ингаляции).

Исследования по токсичности НГ *in vivo* дали частично противоречивые результаты. Практически во всех проведенных работах НГ не проявили заметной острой токсичности для грызунов. Результаты подострых и субхронических экспериментов продолжительностью до 196 суток и единичных клинических наблюдений не были столь однозначными. В отличие от собственно НГ, их органические модификаторы при введении животным в свободном виде были высокотоксичны; однако возможность их миграции *in vivo* или *in vitro* из органомодифицированных глин остается дискуссионной. Несмотря на низкую токсичность, НГ способны, по-видимому, высвобождать *in vivo* микроэлементы кремний и алюминий, которые частично биодоступны. Многие виды НГ обладают антимикробным действием, что указывает на возможность развития дисбиотических нарушений при их пероральном поступлении.

Помимо токсических, НГ способны оказывать на организм и различные нетоксические воздействия, связанные с эффектом энтеросорбции. В числе этого – защита от вредного действия афлатоксинов и, возможно, других химических контаминантов пищевой продукции. По имеющимся данным, НГ,

вводимые перорально, не влияют существенным образом на витаминную обеспеченность организма, хотя и способны в отдельных случаях снижать обеспеченность микроэлементами (такими, как цинк).

В оценке токсичности и рисков НГ в настоящее время имеется значительное число пробелов, требующих заполнения в эксперименте. Так, действие НГ в системах *in vivo* охарактеризовано в недостаточно большом интервале доз, что не позволяет исключить наличия эффектов, парадоксальным образом проявляемых не при высоких, а при низких дозах (как это было неоднократно показано, в частности на примере углеродных нанотрубок). Недостаточно исследовано местное действие НГ в желудочно-кишечном тракте по таким показателям, как морфологические изменения в слизистой оболочке кишки, состояние микробиоты, продукция цитокинов лимфоидной тканью кишечника. Практически не изучено влияние НГ на микроэлементный статус организма по большому числу показателей (за исключением «маркерных» элементов кремния и алюминия).

Вклад НГ, содержащихся в упаковочных материалах, в общую экспозицию населения токсичным элементом алюминием заслуживает тщательной оценки в связи с и так уже неблагоприятным положением, создающимся из-за поступления глинистых минералов в организм человека в составе пищевых добавок. Оценка уровней потребления алюминия с рационами населением РФ показала необходимость исключения из перечня разрешенных для использования в пищевой промышленности пищевых добавок алюмосиликата калия (E555), алюмосиликата кальция (E556), бентонита (E558), алюмосиликата (каолина) (E559).

Финансирование. Работа проведена за счет средств субсидии на выполнение государственного задания в рамках программы фундаментальных научных исследований (тема Минобрнауки России № 0529-2019-0057 «Разработка системы качества и безопасности пищевой продукции, в том числе пищевых добавок и спиртосодержащих напитков, полученных биотехнологическими методами»).

Конфликт интересов. Авторы статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Алюминий: оценка риска для здоровья потребителей при поступлении с пищевыми продуктами / О.В. Багрянцева, Г.Н. Шатров, С.А. Хотимченко, В.В. Бессонов, О.В. Арнаутов // Анализ риска здоровью. – 2016. – № 1. – С. 58–67. DOI: 10.21668/health.risk/2016.1.07
2. Онищенко Г.Г., Тутельян В.А. О концепции токсикологических исследований, методологии оценки риска, методов идентификации и количественного определения наноматериалов // Вопросы питания. – 2007. – Т. 76, № 6. – С. 4–8.
3. Maynard A.D. Nanotechnology: assessing the risks // Nano today. – 2006. – Vol. 1, № 2. – P. 22–33. DOI: 10.1016/S1748-0132(06)70045-7
4. Bentonite, kaolin, and selected clay minerals: Environmental Health Criteria 231 [Электронный ресурс]. – Geneva: World Health Organization, 2005. – P. 1–158. – URL: https://www.who.int/ipcs/publications/ehc/ehc_231.pdf (дата обращения: 22.08.2019).
5. Toxicological evaluation of clay minerals and derived nanocomposites: a review / S. Maisanaba, S. Pichardo, M. Puerto, D. Gutiérrez-Praena, A.M. Cameán, A. Jos // Environ. Res. – 2015. – Vol. 138. – P. 233–254. DOI: 10.1016/j.envres.2014.12.024
6. Processed biopolymer films filled with modified montmorillonite for food packaging applications / M. Jordá-Beneyto, J. Alonso, J. Salas, M. Gallur, S. Aucejo, F. Clegg, C. Breen // Proceedings of the Polymer Processing Society 24th Annual Meeting, PPS-24. – Italy: Salerno, 2008. – P. 15–19.

7. Use of nanoclay platelets in food packaging materials: technical and cytotoxicity approach / M. Jordá-Beneyto, N. Ortuño, A. Devis, S. Aucejo, M. Puerto, D. Gutiérrez-Praena, J. Houtman, S. Pichardo [et al.] // *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control. Expo. Risk. Assess.* – 2014. – Vol. 31, № 3. – P. 354–364. DOI: 10.1080/19440049.2013.874045
8. Lai M., Kim J.K. Effects of epoxy treatment of organoclay on structure, thermo-mechanical and transport properties of poly (ethylene terephthalate-co-ethylene naphthalate) / organoclay nanocomposites // *Polymer.* – 2005. – Vol. 46. – P. 4722–4734. DOI: 10.1016/j.polymer.2005.03.062
9. Pal R., Murthy H.N.N., Rai K.S., Krishna M. Influence of organomodified nanoclay on the mechanical behavior of vinyl ester/glass nanocomposites // *Int. J. Chem. Tech. Res.* – 2014. – Vol. 6. – P. 916–928.
10. Betega de Paiva L., Morales A.R., Valenzuela Díaz F.R. Organoclays: properties, preparation and applications // *Appl. Clay Sci.* – 2008. – Vol. 42. – P. 8–24. DOI: 10.1016/j.clay.2008.02.006
11. Physicochemical properties affecting the potential in vitro cytotoxicity of inorganic layered nanoparticles / J. Yu, M. Baek, H.E. Chung, S.J. Choi // *Toxicol. Environ. Health. Sci.* – 2010. – Vol. 2. – P. 149–152.
12. Murray H.H. Traditional and new applications for kaolin, smectite, and palygorskite: a general overview // *Appl. Clay Sci.* – 2000. – Vol. 17. – P. 207–221. DOI: 10.1016/S0169-1317(00)00016-8
13. Recent advances in clay/polymer nanocomposites / N. Bitinis, M. Hernández, R. Verdejo, J.M. Kenn, M.A. López-Machado // *Adv. Mater.* – 2011. – Vol. 23. – P. 5229–5236. DOI: 10.1002/adma.201101948
14. Tayeb A.H., Tajvidi M. Sustainable barrier system via self-assembly of colloidal montmorillonite and cross-linking resins on nanocellulose interfaces // *ACS Appl. Mater. Interfaces.* – 2019. – Vol. 11, № 1. – P. 1604–1615. DOI: 10.1021/acsami.8b16659.
15. De Azeredo H.M.C. Nanocomposites for food packaging applications // *Food. Res. Int.* – 2009. – Vol. 42, № 11. – P. 1240–1253. DOI: 10.1016/j.foodres.2009.03.019
16. Duncan T.V. Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: barrier materials, antimicrobials and sensors // *J. Colloid. Interf. Sci.* – 2011. – Vol. 363, № 1. – P. 1–24. DOI: 10.1016/j.jcis.2011.07.017
17. Hatzigrigoriou N.B., Pasparydes C.D. Nanotechnology in plastic food-contact materials // *J. Appl. Polym. Sci.* – 2011. – Vol. 122, № 6. – P. 3720–3729. DOI: 10.1002/app.34786
18. Hetzer M., De Kee D. Wood/polymer/nanoclay composites, environmentally friendly sustainable technologies: a review // *Chem. Eng. Res. Des.* – 2008. – Vol. 86, № 10. – P. 1083–1093. DOI: 10.1016/j.cherd.2008.05.003
19. Biodegradable starch/clay nanocomposite films for food packaging applications / M. Avella, J.J. De Vlieger, M.E. Errico, S. Fischer, P. Vacca, M.G. Volpe // *Food Chem.* – 2005. – Vol. 93, № 3. – P. 467–474. DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.10.024
20. Eco-friendly soluble soybean polysaccharide/nanoclay Na⁺bionanocomposite: Properties and characterization / D. Salarbashi, M.S. Noghabi, B.S.F. Bazzaz, I. Shahabi-Ghahfarrokhi, B. Jafari, R. Ahmadi // *Carbohydrate Polymers.* – 2017. – Vol. 169. – P. 524–532. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.04.011
21. Reinforced cassava starch based edible film incorporated with essential oil and sodium bentonite nanoclay as food packaging material / B. Iamareerat, M. Singh, M.B. Sadiq, A.K. Anal // *J. Food Sci. Technol.* – 2018. – Vol. 55, № 5. – P. 1953–1959. DOI: 10.1007/s13197-018-3100-7
22. Chitosan-based bionanocomposite films prepared by emulsion technique for food preservation / E. Butnaru, E. Stoleru, M.A. Brebu, R.N. Darie-Nita, A. Bargan, C. Vasile // *Materials (Basel).* – 2019. – Vol. 12, № 3. – P. E373. DOI: 10.3390/ma12030373
23. Beigzadeh Ghelejlu S., Esmaili M., Almasi H. Characterization of chitosan-nanoclay bionanocomposite active films containing milk thistle extract // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2016. – Vol. 86. – P. 613–621. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.02.012
24. Brody A.L. Nano and food packaging technologies converge // *Food Technol.* – 2006. – Vol. 60, № 3. – P. 92–94.
25. The potential use of polymer-clay nanocomposites in food packaging / S. Ray, S.Y. Quek, A. Eastal, X.D. Chen // *Int. J. Food Eng.* – 2006. – Vol. 2, № 4. – P. 22–25. DOI: 10.2202/1556-3758.1149
26. Boelter J.F., Brandelli A. Innovative bionanocomposite films of edible proteins containing liposome-encapsulated nisin and halloysite nanoclay // *Colloids Surf. B Biointerfaces.* – 2016. – Vol. 145. – P. 740–747. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2016.05.080
27. Meira S.M., Jardim A.I., Brandelli A. Adsorption of nisin and pediocin on nanoclays // *Food Chem.* – 2015. – Vol. 188. – P. 161–169. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.04.136
28. Lagaron J.M. Higher barriers and better performance // *Food Eng. Ingredients.* – 2006. – Vol. 31, № 2. – P. 50–51.
29. Echegoyen Y. Nanodevelopments in food packaging and labelling applications / M. Rai, C. Ribeiro, L. Mattoso, N. Duran eds. // *Nanotechnologies in Food and Agriculture.* – Switzerland: Springer, 2015. – P. 141–166.
30. Investigation of thermal, rheological, and physical properties of amorphous poly (ethylene terephthalate) / organoclay nanocomposite films / T. Gokkurt, A. Durmus, V. Sariboga, M.A.F. Oksuzomer // *J. Appl. Polym. Sci.* – 2013. – Vol. 129, № 5. – P. 2490–2501. DOI: 10.1002/app.38982
31. The systems containing clays and clay minerals from modified drug release: a review / L.A. Rodrigues, A. Figueiras, F. Veiga, R.M. De Freitas, L.C. Nunes, E.C. Da Silva Filho, C.M. Da Silva Leite // *Colloids Surf. B Biointerfaces.* – 2013. – Vol. 103. – P. 642–651. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2012.10.068
32. Akbari Alavijeh M., Sarvi M.N., Ramazani Afarani Z. Properties of adsorption of vitamin B₁₂ on nanoclay as a versatile carrier // *Food Chem.* – 2017. – Vol. 219. – P. 207–214. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.09.140
33. Adsorption of inorganic and organic arsenic from aqueous solutions by polymeric Al/Fe modified montmorillonite / A. Ramesh, H. Hasegawa, T. Maki, K. Ueda // *Separation and Purification Technol.* – 2007. – Vol. 56. – P. 90–100. DOI: 10.1016/j.seppur.2007.01.025
34. Preparation and characterization of organo-modified nano montmorillonite and evaluation of its ability to adsorb aflatoxins, fumonisins and zearalenone from aqueous solution / M.A. Abdel-Wahhab, A.A. El-Nekeety, A.S. Hathout, B.A. Sabery, M.I. Ibrahim, R.A. Gado, M.F. Zawrah, S.E. Aly // *Nano Sci. Tech. Open Lib.* – 2015. – Vol. 1, № 1. – P. 27–34.
35. Comparison of two hydrated sodium calcium aluminosilicates compounds to experimentally protect growing barrows from aflatoxicosis / R.B. Harvey, L.F. Kubena, M.H. Elissalde, D.E. Corrier, T.D. Phillips // *J. Vet. Diagn. Investig.* – 1994. – Vol. 6, № 1. – P. 88–92. DOI: 10.1177/104063879400600115
36. Supplementation of a clay mineral-based product modulates plasma metabolomic profile and liver enzymes in cattle fed grain-rich diets / E. Humer, I. Kröger, V. Neubauer, N. Reisinger, Q. Zebeli // *Animal.* – 2019. – Vol. 13, № 6. – P. 1214–1223. DOI: 10.1017/S1751731118002665

37. Human geophagia, calabash chalk and undongo: mineral element nutritional implications / P.W. Abrahams, T.C. Davies, A.O. Solomon, A.J. Trow, J. Wragg // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8, № 1. – P. e53304. DOI: 10.1371/journal.pone.0053304
38. Tayie F.A., Koduah G., Mork S.A.P. Geophagia clay soil as a source of mineral nutrients and toxicants // *African J. Food Agric. Nutr. Develop.* – 2013. – Vol. 13, № 1. – P. 8. DOI: 10.18697/ajfand.56.12580
39. NovaSil clay does not affect the concentrations of vitamins A and E and nu-rient minerals in serum samples from Ghanaians at high risk for aflatoxicosis / E Afriyie-Gyawu., Z. Wang, N.A. Ankrah, L. Xu, N.M. Johnson, L. Tang, H. Guan, H.J. Huebner, P.E. Jolly, W.O. Ellis, R. Taylor, B. Brattin, D. Ofori-Adjei, J.H. Williams, J.S. Wang, T.D. Phillips // *Food Addit. Contam. Part A*. – 2008. – Vol. 25. – P. 872–884. DOI: 10.1080/02652030701854758
40. Moosavi M. Bentonite clay as a natural remedy: a brief review // *Iran J. Public Health*. – 2017. – Vol. 46, № 9. – P. 1176–1183.
41. EFSA. European Food Safety Authority. Scientific opinion guidance on the risk assessment of the application of nanoscience and nanotechnologies in the food and feed chain // *EFSA J*. – 2011. – Vol. 9, № 5. – P. 1–36. DOI: 10.2903/j.efsa.2011.2156
42. Methods of *in vitro* toxicology / G. Eisenbrand, B. Pool-Zobel, V. Baker, B.J. Balls, B.J. Blaauboer, A. Boobis, A. Carere, S. Kevekordes, J.C. Lhuguenot, R. Pieters, J. Kleiner // *Food Chem. Toxicol.* – 2002. – Vol. 40, № 2–3. – P. 193–236.
43. Murphy E.J., Roberts E., Horrocks L.A. Aluminum silicate toxicity in cell cultures // *Neuroscience*. – 1993. – Vol. 55, № 2. – P. 597–605.
44. Evaluation on cytotoxicity and genotoxicity of the exfoliated silicate nanoclay / P.R. Li, J.C. Wei, Y.F. Chiu, H.L. Su, F.C. Peng, J.J. Lin // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. – 2010. – Vol. 2. – P. 1608–1613. DOI: 10.1021/am1001162
45. Baek M., Lee J.-A., Choi S.-J. Toxicological effects of a cationic clay, montmorillonite *in vitro* and *in vivo* // *Mol. Cell. Toxicol.* – 2012. – Vol. 8, № 1. – P. 95–101. DOI: 10.1007/s13273-012-0012-x
46. Ge-nototoxicity of unmodified and organo-modified montmorillonite / A.K. Sharma, B. Schmidt, H. Frandsen, N.R. Jacobsen, E.H. Larsen, M.L. Binderup // *Mutation Res.* – 2010. – Vol. 700, № 1–2. – P. 18–25. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2010.04.021
47. Effects of simulated pulmonary surfactant on the cytotoxicity and DNA-damaging activity of respirable quartz and kaolin / N. Gao, M.J. Keane, T. Ong, W.E. Wallace // *J. Toxicol. Environ. Health A*. – 2000. – Vol. 60, № 3. – P. 153–167.
48. Cytotoxicity evaluation of nanoclays in human epithelial cell line A549 using high content screening and real-time impedance analysis / N.K. Verma, E. Moore, W. Blau, Y. Volkov, P.R. Babu // *J. Nanopart. Res.* – 2012. – Vol. 14, № 9. – P. 1137–1148. DOI: 10.1007/s11051-012-1137-5
49. Cytocompatibility and uptake of halloysite clay nanotubes / V. Vergaro, E., Lvov Y.M. Abdullayev, A. Zeitoun, R. Cingolani, R. Rinaldi, S. Leporatti // *Biomacromolecules*. – 2010. – Vol. 11, № 3. – P. 820–826. DOI: 10.1021/bm9014446
50. Pro-teomic profiling of halloysite clay nanotube exposure in intestinal cell co-culture / X. Lai, M. Agarwal, Y.M. Lvov, C. Pachpande, K. Varahramyan, F.A. Witzmann // *J. Appl. Toxicol.* – 2013. – Vol. 33, № 11. – P. 1316–1329. DOI: 10.1002/jat.2858
51. Aspect ratio dependent cytotoxicity and antimicrobial properties of nanoclay / K. Rawat, S. Agarwal, A. Tyagi, A.K. Verma, H.B. Bohidar // *Appl. Biochem. Biotechnol.* – 2014. – Vol. 174, № 3. – P. 936–944. DOI: 10.1007/s12010-014-0983-2
52. Lordan S., Kennedy J.E., Higginbotham C.L. Cytotoxic effects induced by unmodified and organically modified nanoclays in the human hepatic HepG2 cell line // *J. Appl. Toxicol.* – 2011. – Vol. 31, № 1. – P. 27–35. DOI: 10.1002/jat.1564
53. *In vitro* toxicity of functionalised nanoclays is mainly driven by the presence of organic modifiers / G. Janer, E. Fernández-Rosas, E. Mas del Molino, D. González-Gálvez, G. Vilar, C. López-Iglesias, V. Ermini, S. Vázquez-Campos // *Nanotoxicology*. – 2014. – Vol. 8, № 3. – P. 279–294. DOI: 10.3109/17435390.2013.776123
54. Cytotoxicity, acute and sub-chronic toxicity of ionic liquid, didecyldimethylammonium saccharinate in rats / J. Jodynis-Liebert, M. Nowicki, M. Murias, T. Adamska, M. Ewertowska, M. Kujawska, H. Piotrowska, A. Konwerska, D. Ostalska-Nowicka, J. Pernak // *Regul. Toxicol. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 57, № 2–3. – P. 266–273. DOI: 10.1016/j.yrtph.2010.03.006
55. *In vitro* toxicological assessment of clays for their use in food packaging applications / S. Maisanaba, M. Puerto, S. Pichardo, M. Jordá, F.J. Moreno, S. Aucejo, Á. Jos // *Food Chem. Toxicol.* – 2013. – Vol. 57, № 6. – P. 266–275. DOI: 10.1016/j.fct.2013.03.043
56. Houtman J., Maisanaba S., Puerto M., Gutiérrez-Praena D., Jordá M., Aucejo S., Jos A. Toxicity assessment of organomodified clays used in food contact materials on human target cell lines // *Appl. Clay Sci.* – 2014. – Vol. 90. – P. 150–158. DOI: 10.1016/j.clay.2014.01.009
57. Cytotoxicity and mutagenicity studies on migration extracts from nanocomposites with potential use in food packaging / S. Maisanaba, S. Pichardo, M. Jordá-Beneyto, S. Aucejo, A.M. Cameán, A. Jos // *Food Chem. Toxicol.* – 2014. – Vol. 66. – P. 366–372. DOI: 10.1016/j.fct.2014.02.011
58. Cytotoxicity and mutagenicity assessment of organomodified clays potentially used in food packaging / S. Maisanaba, A. Prieto, S. Pichardo, M. Jordá-Beneyto, S. Aucejo, A. Jos // *Toxicol. in vitro*. – 2015. – Vol. 29, № 6. – P. 1222–1230. DOI: 10.1016/j.tiv.2015.03.010
59. Studying the genotoxic effects induced by two kinds of bentonite particles on human B lymphoblast cells *in vitro* / M. Zhang, X. Li, Y. Lu, X. Fang, Q. Chen, M. Xing, J. He // *Mutation Res.* – 2011. – Vol. 720. – P. 62–66. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2010.12.009
60. Studying the cytotoxicity and oxidative stress induced by two kinds of bentonite particles on human B lymphoblast cells *in vitro* / M. Zhang, Y. Lu, X. Li, Q. Chen, L. Lu., M. Xing, H. Zou, J. He // *Chem. Biol. Interact.* – 2010. – Vol. 183, № 3. – P. 390–396. DOI: 10.1016/j.cbi.2009.11.023
61. Magnesium and calcium organophyllosilicates: synthesis and *in vitro* cytotoxicity study / H.K. Han, Y.C. Lee, M.Y. Lee, A.J. Patil, H.J. Shin // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. – 2011. – Vol. 3, № 7. – P. 2564–2572. DOI: 10.1021/am200406k
62. Apoptosis and cytotoxicity of oligo(styrene-co-acrylonitrile)-modified montmorillonite / Q. Liu, Y. Liu, S. Xiang, X. Mo, S. Su, J. Zhang // *Appl. Clay Sci.* – 2011. – Vol. 51. – P. 214–219. DOI: 10.1016/j.clay.2010.11.019
63. Chitosan/halloysite nanotubes bionanocomposites: structure, mechanical properties and biocompatibility / M. Liu, Y. Zhang, C. Wu, S. Xiong, C. Zhou // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2012. – Vol. 51, № 4. – P. 566–575. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2012.06.022

64. Cytotoxicity and mechanical behavior of chitin-bentonite clay based polyurethane bio-nanocomposites / K.M. Zia, M. Zuber, M. Barikani, R. Hussain, T. Jamil, S. Anjum // *Int J. Biol. Macromol.* – 2011. – Vol. 49, № 5. – P. 1131–1136. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2011.09.010
65. Evaluation of clay/poly (L-lactide) microcomposites as anticancer drug 6-mercaptopurine reservoir through *in vitro* cytotoxicity, oxidative stress markers and *in vivo* pharmacokinetics / B.D. Kevadiya, S.S. Chettiar, S. Rajkumar, H.C. Bajaj, K.A. Gosai., H. Brahmabhatt // *Colloids Surf. B Biointerfaces.* – 2013. – Vol. 112. – P. 400–407. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2013.07.008
66. Characterization of a green nanocomposite prepared from soluble soy bean polysaccharide/Cloisite 30B and evaluation of its toxicity / D. Salarbashi, M. Tafaghodi, B.S.F. Bazzaz, S. Mohammad Aboutorabzade Birjand, J. Bazeli // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2018. – Vol. 120, Pt A. – P. 109–118. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.07.183
67. Toxicity evaluations of nanoclays and thermally degraded byproducts through spectroscopical and microscopical approaches / A. Wagner, R. Eldawud, A. White, S. Agarwal, T.A. Stueckle, K.A. Sierros, Y. Rojanasakul, R.K. Gupta, C.Z. Dinu // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2017. – Vol. 1861, № 1, Pt A. – P. 3406–3415. DOI: 10.1016/j.bbagen.2016.09.003
68. Early assessment and correlations of nanoclay's toxicity to their physical and chemical properties / A. Wagner, A.P. White, T.A. Stueckle, D. Banerjee, K.A. Sierros, Y. Rojanasakul, S. Agarwal, R.K. Gupta, C.Z. Dinu // *ACS Appl. Mater. Interfaces.* – 2017. – Vol. 9, № 37. – P. 32323–32335. DOI: 10.1021/acsami.7b06657
69. Cytotoxicity of aluminium silicates in primary neuronal cultures / E.J. Murphy, E. Roberts, D.K. Anderson, L.A. Horrocks // *Neuroscience.* – 1993. – Vol. 57. – P. 483–490.
70. Elmore A.R. Final report on the safety assessment of aluminum silicate, calcium silicate, magnesium aluminum silicate, magnesium silicate, magnesium trisilicate, sodium magnesium silicate, zirconium silicate, attapulgite, bentonite, Fuller's earth, hectorite, kaolin, lithium magnesium silicate, lithium magnesium sodium silicate, montmorillonite, pyrophyllite, and zeolite // *Int. J. Toxicol.* – 2003. – Vol. 22, Suppl. 1. – P. 37–102.
71. Clay minerals in animal nutrition / R. Slamova, M. Trckova, H. Vondruskova, Z. Zraly, I. Pavlik // *Appl. Clay Sci.* – 2011. – Vol. 51, № 4. – P. 395–398. DOI: 10.1016/j.clay.2011.01.005
72. Wilson M.J. Clay mineralogical and related characteristics of geophagic materials // *J. Chem. Ecol.* – 2003. – Vol. 29, № 7. – P. 1525–1547.
73. Toxicity assessment of montmorillonite as a drug carrier for pharmaceutical applications: yeast and rats model / Y.H. Lee, T.F. Kuo, B.Y. Chen, Y.K. Feng, Y.R. Wen, W.C. Lin, F.H. Lin // *Biomed. Eng. Appl. Basis Commun.* – 2005. – Vol. 17. – P. 72–78. DOI: 10.4015/S1016237205000111
74. Mascolo N., Summa V., Tateo F. *In vivo* experimental data on the mobility of hazardous chemical elements from clays // *Appl. Clay Sci.* – 2004. – Vol. 25, № 1–2. – P. 23–28. DOI: 10.1016/j.clay.2003.07.001
75. Chronic toxicological evaluation of dietary NovaSil clay in Sprague–Dawley rats / E. Afriyie-Gyawu, J. Mackie, B. Dash, M. Wiles, J. Taylor, H. Huebner, L. Tang, H. Guan., J.S. Wang, T. Phillips // *Food Addit. Contam.* – 2005. – Vol. 22, № 3. – P. 259–269. DOI: 10.1080/02652030500110758
76. EFSA. European Food Safety Authority. Scientific opinion on the safety and efficacy of a preparation of bentonite and sepiolite (Toxfin Dry) as feed additive for all species // *EFSA J.* – 2013. – Vol. 11, № 4. – P. 1–21. DOI: 10.2903/j.efsa.2013.3179
77. Effects of the subchronic exposure to organomodified clay for food packaging applications on Wistar rats / S. Maisanaba, D. Gutiérrez-Praena, M. Puerto, R. Moyano, A. Blanco, M. Jordá, A.M. Cameán, S. Aucejo, A. Jos // *Appl. Clay Sci.* – 2014. – Vol. 95. – P. 37–40. DOI: 10.1016/j.clay.2014.04.006
78. *In vivo* evaluation of activities and expression of antioxidant enzymes in Wistar rats exposed for 90 days to a modified clay / S. Maisanaba, M. Puerto, D. Gutiérrez-Praena, M. Llana-Ruiz-Cabello, S. Pichardo, A. Mate, M. Jordá-Beneyto, A.M. Cameán, S. Aucejo, A. Jos // *J. Toxicol. Environ. Health A.* – 2014. – Vol. 77, № 8. – P. 456–466. DOI: 10.1080/15287394.2013.876696
79. Toxicological evaluation and metal bioavailability in pregnant rats following exposure to clay minerals in the diet / M.W. Wiles, H.J. Huebner, E. Afriyie-Gyawu, R.J. Taylor, G.R. Bratton, T.D. Phillips // *J. Toxicol. Environ. Health A.* – 2004. – Vol. 67, № 11. – P. 863–874. DOI: 10.1080/15287390490425777
80. *In vivo* study of genotoxic and inflammatory effects of the organo-modified Montmorillonite Cloisite 30B / A.K. Sharma, A. Mortensen, B. Schmidt, H. Frandsen, N. Hadrup, E.H. Larsen, M.L. Binderup // *Mutation Res.* – 2014. – Vol. 770. – P. 66–71. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2014.04.023
81. Hsu S., Wang M., Lin J. Biocompatibility and antimicrobial evaluation of montmorillonite/chitosan nanocomposites // *Appl. Clay Sci.* – 2012. – Vol. 56. – P. 53–62. DOI: 10.1016/j.clay.2011.09.016
82. Токсиколого-гигиеническая характеристика наноструктурированной бентонитовой глины / В.В. Смирнова, О.Н. Тананова, А.А. Шумакова, Э.Н. Трушина, Л.И. Авреньева, И.Б. Быкова, Л.П. Минаева, С.Х. Сого, Н.В. Лашнева, И.В. Гмошинский, С.А. Хотимченко // *Гигиена и санитария.* – 2012. – № 3. – С. 76–78.
83. Clay complementation in rat diet: chronic effect of kaolin on the intestinal lining / F. Reichardt, H. Oudart, A. Ackermann, L. Sabatier, J. Lignot, C. Habold, A. Boos, A. Ha-gege, H.N. Liewig // *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* – 2007. – Vol. 146, № 4. – P. S186–S187. DOI: 10.1016/j.cbpa.2007.01.408
84. Exposure to common quaternary ammonium disinfectants decreases fertility in mice / V.E. Melin, H. Potinini, P. Hunt, J. Griswold, B. Siems, S.R. Were, T.C. Hrubec // *Reprod. Toxicol.* – 2014. – Vol. 50. – P. 163–170. DOI: 10.1016/j.reprotox.2014.07.071
85. *In vivo* toxicity evaluation of the migration extract of an organomodified clay–poly (lactic) acid nanocomposite / S. Maisanaba, D. Gutiérrez-Praena, M. Puerto, M. Llana-Ruiz-Cabello, S. Pichardo, R. Moyano, A. Blanco, M. Jordá-Beneyto, A. Jos // *J. Toxicol. Environ. Health A.* – 2014. – Vol. 77, № 13. – P. 731–746. DOI: 10.1080/15287394.2014.890987
86. Phillips T.D. Dietary clay in the chemoprevention of aflatoxin-induced disease // *Toxicol. Sci.* – 1999. – Vol. 52, Suppl. 2. – P. 118–126. DOI: 10.1093/toxsci/52.suppl_1.118
87. Reduction of individual or combined toxicity of fumonisin B1 and zearalenone via dietary inclusion of organo-modified nano-montmorillonite in rats / A.A. El-Nekeety, A.A. El-Kady, K.G. Abdel-Wahhab, N.S. Hassan, M.A. Abdel-Wahhab // *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* – 2017. – Vol. 24, № 25. – P. 20770–20783. DOI: 10.1007/s11356-017-9721-y

88. What makes a natural clay antibacterial? / L.B. Williams, D.W. Metge, D.D. Eberl, R.W. Harvey, A.G. Turner, P. Prapaipong, A.T. Poret-Peterson // *Environ. Sci. Technol.* – 2011. – Vol. 45, № 8. – P. 3768–3773. DOI: 10.1021/es1040688
89. Williams L.B., Haydel S.E. Evaluation of the medicinal use of clay minerals as antibacterial agents // *Int. Geol. Rev.* – 2010. – Vol. 52, № 7–8. – P. 745–770. DOI: 10.1080/00206811003679737
90. Characterization, antimicrobial activities and biocompatibility of organically modified clays and their nanocomposites with polyurethane / M.C. Wang, J.J. Lin, H.J. Tseng, S.H. Hsu // *Appl. Mater. Interfaces.* – 2012. – Vol. 4, № 1. – P. 338–350. DOI: 10.1021/am2014103
91. Davachi S.M., Shekarabi A.S. Preparation and characterization of antibacterial, eco-friendly edible nanocomposite films containing *Salvia macrosiphon* and nanoclay // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2018. – Vol. 113. – P. 66–72. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.02.106
92. Preparation, characterization, and *in vitro* testing of nanoclay antimicrobial activities and elicitor capacity / D. Merino, A.Y. Mansilla, C.A. Casalagué, V.A. Alvarez // *J. Agric. Food Chem.* – 2018. – Vol. 66, № 12. – P. 3101–3109. DOI: 10.1021/acs.jafc.8b00049
93. Lee K.J. Pharmacologic agents for chronic diarrhea // *Intest. Res.* – 2015. – Vol. 13. – P. 306–312. DOI: 10.5217/ir.2015.13.4.306
94. Chang F.-Y. Irritable bowel syndrome: The evolution of multi-dimensional looking and multidisciplinary treatments // *World J. Gastroenterol.* – 2014. – Vol. 20, № 10. – P. 2499–2514. DOI: 10.3748/wjg.v20.i10.2499
95. Smectite for acute infectious diarrhoea in children / G. Pérez-Gaxiola, C.A. Cuello-García, I.D. Florez, V.M. Pérez-Pico // *Cochrane Database of Systematic Reviews.* – 2018. – Issue 4. – P. CD011526. DOI: 10.1002/14651858.CD011526.pub2
96. Echegoyen Y., Rodríguez S., Nerín C. Nanoclay migration from food packaging materials // *Food Addit. Contam. Part A.* – 2016. – Vol. 33, № 3. – P. 530–539. DOI: 10.1080/19440049.2015.1136844
97. Xia Y., Rubino M., Auras R. Interaction of nanoclay-reinforced packaging nanocomposites with food simulants and compost environments // *Adv. Food Nutr. Res.* – 2019. – Vol. 88. – P. 275–298. DOI: 10.1016/bs.afnr.2019.02.001
98. Combining asymmetrical flow field-flow fractionation with light scattering and inductively coupled plasma mass spectrometric detection for characterization of nanoclay used in bio-polymer nanocomposites / B. Schmidt, J.H. Petersen, C. Bender Koch, D. Plackett, N.R. Johansen, V. Katiyar, E.H. Larsen // *Food Addit. Contam.* – 2009. – Vol. 26, № 12. – P. 1619–1627. DOI: 10.1080/02652030903225740
99. Bott J., Franz R. Investigation into the potential migration of nanoparticles from laponite-polymer nanocomposites // *Nanomaterials (Basel).* – 2018. – Vol. 8, № 9. – P. E723. DOI: 10.3390/nano8090723
100. Xia Y., Rubino M., Auras R. Release of nanoclay and surfactant from polymer-clay nanocomposites into a food simulant // *Environ. Sci. Technol.* – 2014. – Vol. 48, № 23. – P. 13617–13624. DOI: 10.1021/es502622c
101. Simon P., Chaudhry Q., Bakos D. Migration of engineered nanoparticles from polymer packaging to food – a physicochemical view // *J. Food Nutr. Res.* – 2008. – Vol. 47, № 3. – P. 105–113.
102. Migration of aluminum and silicon from PET/clay nanocomposite bottles into acidic food simulant / M. Farhoodi, S.M. Mousavi, R. Sotudeh-Gharebagh, Z. Emam-Djomeh, A. Oromiehie // *Packaging Technology and Science.* – 2013. – Vol. 27, № 2. – P. 161–168. DOI: 10.1002/pts.2017
103. Fluorescent labeling and tracking of nanoclay / C.A. Diaz, Y. Xia, M. Rubino, R. Auras, K. Jayaraman, J. Hotchkiss // *Nanoscale.* – 2013. – Vol. 5, № 1. – P. 164–168. DOI: 10.1039/c2nr32978f
104. Wheat gluten nanocomposite films as food-contact materials: Migration tests and impact of a novel food stabilization technology (high pressure) / M. Mauricio-Iglesias, S. Peyron, V. Guillard, N. Gontard // *J. Appl. Polymer Sci.* – 2010. – Vol. 116, № 5. – P. 2526–2535. DOI: 10.1002/app.31647
105. Evaluating weathering of food packaging polyethylene-nanoclay composites: release of nanoparticles and their impacts / C. Han, A. Zhao, E. Varughese, E. Sahle-Demessie // *NanoImpact.* – 2018. – Vol. 9. – P. 61–71. DOI: 10.1016/j.impact.2017.10.005
106. López-Galindo A., Viseras C., Cerezo P. Compositional, technical and safety specifications of clays to be used as pharmaceutical and cosmetic products // *Appl. Clay Sci.* – 2007. – Vol. 36, № 1–3. – P. 51–63. DOI: 10.1016/j.clay.2006.06.016
107. Silvestre C., Duraccio D., Cimmino S. Food packaging based on polymer nanomaterials // *Prog. Polym. Sci.* – 2011. – Vol. 36, № 12. – P. 1766–1782. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2011.02.003
108. Zhao J., Castranova V. Toxicology of nanomaterials used in nanomedicine // *J. Toxicol. Env. Health B.* – 2011. – Vol. 14, № 8. – P. 593–632. DOI: 10.1080/10937404.2011.615113
109. Zhu H., Njuguna J. Nanolayered silicate/clay minerals uses and effects on health // *Health and Environmental Safety of Nanomaterials / J. Njuguna, K. Pielichowski, H. Zhu (Eds.). – The Netherlands: Woodhead Publishing, Elsevier, 2014. – P. 133–146.*
110. Incineration of nanoclay composites leads to byproducts with reduced cellular reactivity / A. Wagner, A.P. White, M.C. Tang, S. Agarwal, T.A. Stueckle, Y. Rojanasakul, R.K. Gupta, C.Z. Dinu // *Sci. Rep.* – 2018. – Vol. 8, № 1. – P. 10709. DOI: 10.1038/s41598-018-28884-y
111. Carretero M.I. Clay minerals and their beneficial effects upon human health. A review // *Appl. Clay Sci.* – 2002. – Vol. 21, № 3–4. – P. 155–163. DOI: 10.1016/S0169-1317(01)00085-0
112. Droy-Lefaix M.T., Tateo F. Clays and clay minerals as drugs // *Handbook of Clay Science / F. Bergaya, B.K.G. Theng, G. Lagaly (Eds.). – The Netherlands, Elsevier, 2006. – Vol. 1. – P. 743–752. ISBN: 9780080441832*
113. Carretero M.I., Gomes C.S.F., Tateo T. Clays and human health // *Handbook of Clay Science / F. Bergaya, B.K.G. Theng, L. Lagaly (Eds.). – The Netherlands, Elsevier, 2006. – Vol. 1. – P. 717–741.*
114. Reducing human exposure to aflatoxin through the use of clay: a review / T.D. Phillips, E., Afriyie-Gyawu J. Williams, H. Huebner, N.A. Ankras, D. Ofori-Adjei, P. Jolly, N. Johnson, J. Taylor, A. Marroquin-Cardona, L. Xu, L. Tang, J.S. Wang // *Food Addit. Contam. A.* – 2008. – Vol. 25, № 2. – P. 134–145. DOI: 10.1080/02652030701567467
115. Safety of aluminium from dietary intake. Scientific Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Food Contact Materials (AFC) / F. Aguilar, H. Autrup, S. Barlow [et al.] // *EFSA J.* – 2008. – Vol. 754. – P. 1–34. DOI: 10.2903/j.efsa.2008.754

116. EFSA. European Food Safety Authority. Dietary exposure to aluminium-containing food additives. Supporting Publications 2013: EN-411 [Электронный ресурс]. – URL: <http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/en-411> (дата обращения: 14.02.2020).
117. Evaluation of certain food additives and contaminants: sixty-seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report. – 2007. – Series 940. – P. 33–48. – URL: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43592/WHO_TRS_940_eng.pdf;jsessionid=22993D369D427464DB04531CA7049498?sequence=1 (дата обращения: 14.02.2020).
118. Aluminium in food. Risk Assessment. Studies Report No. 35. Chemical Hazard Evaluation [Электронный ресурс] // Centre for Food Safety Food and Environmental Hygiene Department. The Government of the Hong Kong Special Administrative Region, 2009. – 45 p. – URL: https://www.cfs.gov.hk/english/programme/programme_rafs/files/RA35_Aluminium_in_Food_e.pdf (дата обращения: 14.02.2020).
119. Burrell S.-A.M, Exley C. There is (still) too much aluminium in infant formulas // BMC Pediatrics. – 2010. – № 10. – P. 63–67. DOI: 10.1186/1471-2431-10-63
120. Navarro-Blasco I., Alvarez-Galindo J.I. Aluminum content of Spanish infant formula // Food Addit. Contam. – 2003. – Vol. 20, № 5. – P. 470–481. DOI: 10.1080/0265203031000098704
121. EMA. European Medicines Agency. Studies to evaluate the safety of residues of veterinary drugs in human food: general approach to establish a microbiological ADI [Электронный ресурс]. – London, 2012. – URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/vich-gl36r-studies-evaluate-safety-residues-veterinary-drugs-human-food-general-approach-establish_en.pdf (дата обращения: 14.02.2020).
122. Aluminum and silica in drinking water and the risk of Alzheimer's disease or cognitive decline: findings from 15-year follow-up of the PAQUID cohort / V. Rondeau, H. Jacqmin-Gadda, D. Commenges, C. Helmer, J.F. Dartigues // Am. J. Epidemiol. – 2009. – Vol. 169, № 4. – P. 489–496. DOI: 10.1093/aje/kwn348
123. Aluminum exposure in neonatal patients using the least contaminated parenteral nutrition solution products / R.L. Poole, K.P. Pieroni, S. Gaskari, T. Dixon, J.A. Kerner // Nutrients. – 2012. – Vol. 4, № 11. – P. 1566–1574. DOI: 10.3390/nu4111566
124. Report of the forty-sixth session of the codex committee on food additives [Электронный ресурс]. – China: Hong Kong, 2014. – REP14/FA. – 116 p. – URL: <http://www.jhnfa.org/k149.pdf> (дата обращения: 14.02.2020).
125. Regulation (EU) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives [Электронный ресурс] // Official Journal of the European Union. – L 354/16. – URL: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex%3A32008R1333> (дата обращения: 14.02.2020).
126. Commission regulation (EU) No 380/2012 of 3 May 2012 amending Annex II to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council as regards the conditions of use and the use levels for aluminium-containing food additives // Official Journal of the European Union. – 2012. – Vol. 119. – P. 14–38.

Гмошинский И.В., Багрянцева О.В., Арнаутков О.В., Хотимченко С.А. Наноглины в пищевой продукции: польза и возможные риски (Обзор литературы) // Анализ риска здоровью. – 2020. – № 1. – С. 142–164. DOI: 10.21668/health.risk/2020.1.16

UDC 546.[62+284]: 552.524: 613.2
DOI: 10.21668/health.risk/2020.1.16.eng

Read
online



NANOCCLAYS IN FOOD PRODUCTS: BENEFITS AND POSSIBLE RISKS (LITERATURE REVIEW)

I.V. Gmshinski¹, O.V. Bagryantseva^{1,2}, O.V. Arnautov³, S.A. Khotimchenko^{1,2}

¹Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14 Ust'inskiy lane, Moscow, 109240, Russian Federation

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Bld. 2, 2 Bolshaya Pirogovskaya Str., Moscow, 119991, Russian Federation

³Eurasian Economic Commission, Bld.1/2, 2 Letnikovskaya St., Moscow, 115114, Russian Federation

Nanoclays (NC) are aluminosilicates that consist of layers (nano-plates) being 1–2 nanometers thick and having a diameter over 1 μm, nanotubes, and nano-disks. Due to such structure and their ion-exchange and sorption properties as well as gas permeability NC are widely used in industries, agriculture, and medicine. Gas-barrier composite packages are made from hydrophobic NC modified with cation-active surface-active substances. A person can be orally exposed to NC due to their migration from packages into food products and drinks, when NC are applied in medicine as enteric sorbents and anti-bacterial preparations, they can be introduced with food additives and residual quantities of technological auxiliaries as well as in case when food products and agricultural raw materials are accidentally contaminated with clays. Multiple re-

search works dwell on experiments with NC performed with model systems in vitro when NC turned out to be cytotoxic for various cell types, and it was more apparent for hydrophobic NC than for their non-modified analogues. Minimum effective NC dose varied from 0.001 to 1 mg/ml in various in vitro tests. In vitro research on NC toxicity yielded somewhat contradictory results. Though NC didn't seem to have apparent acute toxicity (IV hazard category, $LD_{50} > 5,000$ mg/kg), results obtained via sub-acute and chronic experiments with their duration being up to 196 days and single clinical observations revealed a number of both toxic and non-toxic effects. Organic NC modifiers were highly toxic in vitro. Besides, NC produce anti-microbe effects and it may result in dysbiotic disorders when they are introduced orally. Model experiments revealed that NC and their organic modifiers could possibly migrate from packages into food products. NC are able to free silicon and aluminum that are partly biologically available. A contribution made by NC that are contained in packages into overall exposure to toxic aluminum should be examined profoundly given an adverse situation caused by clay minerals being introduced into a human body as components contained in food additives. Assessment of aluminum consumption with food rations in Russia and several foreign countries revealed it was necessary to exclude potassium and calcium aluminosilicates, bentonite, and kaolin (E555, E556, E558, and E559) from the list of additives that are permitted for use in food industry.

Key words: nanoclays, aluminum, food additive, exposure, biological availability, toxicity, intestinal microbiocenose, risks.

References

1. Bagryantseva O.V., Shatrov G.N., Khotimchenko S.A., Bessonov V.V., Arnautov O.V. Aluminium: Food-related health risk assessment of the consumers. *HealthRiskAnalysis*, 2016, no. 1, pp. 59–68. DOI: 10.21668/health.risk/2016.1.07.eng
2. Onishchenko G.G., Tutelyan V.A. On concept of toxicological studies, methodology of risk assessment, methods of identification and quantity determining of nanomaterials. *Voprosy pitaniya*, 2007, vol. 76, no. 6, pp. 4–8. (in Russian).
3. Maynard A.D. Nanotechnology: assessing the risks. *Nano today*, 2006, vol. 1, no. 2, pp. 22–33. DOI: 10.1016/S1748-0132(06)70045-7
4. Bentonite, kaolin, and selected clay minerals: Environmental Health Criteria 231. Geneva, World Health Organization, 2005, pp. 1–158. Available at: https://www.who.int/ipcs/publications/ehc/ehc_231.pdf (22.08.2019).
5. Maisanaba S., Pichardo S., Puerto M., Gutiérrez-Praena D., Cameán A.M., Jos A. Toxicological evaluation of clay minerals and derived nanocomposites: a review. *Environ. Res.*, 2015, vol. 138, pp. 233–254. DOI: 10.1016/j.envres.2014.12.024
6. Jordá-Beneyto M., Alonso J., Salas J., Gallur M., Aucejo S., Clegg F., Breen C. Processed biopolymer films filled with modified montmorillonite for food packaging applications. Proceedings of the Polymer Processing Society 24th Annual Meeting, PPS-24, June 15–19, 2008, Salerno (Italy), pp. 15–19.
7. Jordá-Beneyto M., Ortuño N., Devis A., Aucejo S., Puerto M., Gutiérrez-Praena D., Houtman J., Pichardo S., Maisanaba S., Jos A., Use of nanoclay platelets in food packaging materials: technical and cytotoxicity approach. *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control. Expo. Risk. Assess*, 2014, vol. 31, no. 3, pp. 354–364. DOI: 10.1080/19440049.2013.874045
8. Lai M., Kim J.K., Effects of epoxy treatment of organoclay on structure, thermo-mechanical and transport properties of poly(ethylene terephthalate-co-ethylene naphthalate)/organoclay nanocomposites. *Polymer*, 2005, vol. 46, pp. 4722–4734. DOI: 10.1016/j.polymer.2005.03.062
9. Pal R., Murthy H.N.N., Rai K.S., Krishna M., Influence of organomodified nanoclay on the mechanical behavior of vinyl ester/glass nanocomposites. *Int. J. Chem. Tech. Res.*, 2014, vol. 6, pp. 916–928.
10. Betega de Paiva L., Morales A.R., Valenzuela Díaz F.R., Organoclays: properties, preparation and applications. *Appl. Clay. Sci.*, 2008, Vol. 42, pp. 8–24. DOI: 10.1016/j.clay.2008.02.006
11. Yu J., Baek M., Chung H.E., Choi S.J. Physicochemical properties affecting the potential in vitro cytotoxicity of inorganic layered nanoparticles. *Toxicol. Environ. Health. Sci.*, 2010, vol. 2, pp. 149–152.
12. Murray H.H., Traditional and new applications for kaolin, smectite, and palygorskite: a general overview. *Appl. Clay. Sci.*, 2000, vol. 17, pp. 207–221. DOI: 10.1016/S0169-1317(00)00016-8
13. Bitinis N., Hernández M., Verdejo R., Kenn, J.M., López-Machado M.A. Recent advances in clay/polymer nanocomposites. *Adv. Mater.*, 2011, vol. 23, pp. 5229–5236.
14. Tayeb A.H., Tajvidi M. Sustainable barrier system via self-assembly of colloidal montmorillonite and cross-linking resins on nanocellulose interfaces. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2019, vol. 11, no. 1, pp. 1604–1615. DOI: 10.1021/acsami.8b16659
15. De Azeredo H.M.C. Nanocomposites for food packaging applications. *Food. Res. Int.*, 2009, vol. 42, no. 11, pp. 1240–1253. DOI: 10.1016/j.foodres.2009.03.019
16. Duncan T.V. Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: barrier materials, antimicrobials and sensors. *J. Colloid. Interf. Sci.*, 2011, vol. 363, no. 1, pp. 1–24. DOI: 10.1016/j.jcis.2011.07.017

© Gmshinski I.V., Bagryantseva O.V., Arnautov O.V., Khotimchenko S.A., 2020

Ivan V. Gmshinski – Doctor of Biological Sciences, leading researcher at the Laboratory for Food Toxicity and Nanotechnologies Safety Assessment (e-mail: gmsh@ion.ru; tel.: +7 (495) 698-53-71; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3671-6508>).

Olgav V. Bagryantseva – Doctor of Medical Sciences, Professor (Republic of Kazakhstan), leading researcher at the Laboratory for Food Toxicity and Nanotechnologies Safety Assessment (e-mail: bagryantseva@ion.ru; tel.: +7 (495) 698-54-05; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3174-2675>).

Oleg V. Arnautov – assistant member of the Board (Minister) for industry and agro-industrial complex of the Eurasian economic Commission (e-mail: arnautov@eeccommission.org; tel.: +7 (985) 787-91-25; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3309-0308>).

Sergey A. Khotimchenko – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Laboratory for Food Toxicity and Nanotechnologies Safety Assessment (e-mail: hotimchenko@ion.ru; tel.: +7 (495) 698-54-05; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5340-9649>).

17. Hatzigrigoriou N.B., Pasparydes C.D. Nanotechnology in plastic food-contact materials. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2011, vol. 122, no. 6, pp. 3720–3729. DOI: 10.1002/app.34786
18. Hetzer M., De Kee D., Wood/polymer/nanoclay composites, environmentally friendly sustainable technologies: a review. *Chem. Eng. Res. Des.*, 2008, vol. 86, no. 10, pp. 1083–1093. DOI: 10.1016/j.cherd.2008.05.003
19. Avella M., De Vlieger J.J., Errico M.E., Fischer S., Vacca P., Volpe M.G. Biodegradable starch/clay nanocomposite films for food packaging applications. *Food Chem.*, 2005, vol. 93, no. 3, pp. 467–474. DOI:10.1016/j.foodchem.2004.10.024
20. Salarbashi D., Noghabi M.S., Bazzaz B.S.F., Shahabi-Ghahfarrokhi I., Jafari B., Ahmadi R. Eco-friendly soluble soybean polysaccharide/nanoclay Na+bionanocomposite: Properties and characterization. *Carbohydrate Polymers*, 2017, vol.169, pp. 524–532. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.04.011
21. Iamareerat B., Singh M., Sadiq M.B., Anal A.K. Reinforced cassava starch based edible film incorporated with essential oil and sodium bentonite nanoclay as food packaging material. *J. Food Sci. Technol.*, 2018, vol. 55, no. 5, pp. 1953–1959. DOI: 10.1007/s13197-018-3100-7
22. Butnaru E., Stoleru E., Brebu M.A., Darie-Nita R.N., Bargan A., Vasile C. Chitosan-based bionanocomposite films prepared by emulsion technique for food preservation. *Materials (Basel)*, 2019, vol. 12, no. 3, pp. E373. DOI: 10.3390/ma12030373
23. Beigzadeh Ghelejlou S., Esmaili M., Almasi H. Characterization of chitosan-nanoclay bionanocomposite active films containing milk thistle extract. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2016, vol. 86, pp. 613–621. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.02.012
24. Brody A.L. Nano and food packaging technologies converge. *Food Technol.*, 2006, vol. 60, no. 3, pp. 92–94.
25. Ray S., Quek S.Y., Eastale A., Chen X.D. The potential use of polymer–clay nanocomposites in food packaging. *Int. J. Food Eng.*, 2006, vol. 2, no. 4, pp. 22–25. DOI: 10.2202/1556-3758.1149
26. Boelter J.F., Brandelli A. Innovative bionanocomposite films of edible proteins containing liposome-encapsulated nisin and halloysite nanoclay. *Colloids Surf. B. Biointerfaces*, 2016, vol. 145, pp. 740–747. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2016.05.080
27. Meira S.M., Jardim A.I., Brandelli A. Adsorption of nisin and pediocin on nanoclays. *Food Chem.*, 2015, vol. 188, pp. 161–169. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.04.136
28. Lagaron J.M. Higher barriers and better performance. *Food Eng. Ingredients*, 2006, vol. 31, no. 2, pp. 50–51.
29. Echegoyen Y. Nanodevelopments in food packaging and labelling applications. In: Rai M., Ribeiro C., Mattoso L., Duran N., eds. *Nanotechnologies in Food and Agriculture*. Switzerland, Springer, 2015, pp. 141–166.
30. Gokkurt T., Durmus A., Sariboga V., Oksuzomer M.A.F. Investigation of thermal, rheological, and physical properties of amorphous poly(ethylene terephthalate) / organoclay nanocomposite films. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2013, vol. 129, no. 5, pp. 2490–2501. DOI: 10.1002/app.38982
31. Rodrigues L.A., Figueiras A., Veiga F., de Freitas R.M., Nunes L.C., da Silva Filho E.C., da Silva Leite C.M. The systems containing clays and clay minerals from modified drug release: a review. *Colloids Surf. B Biointerfaces*, 2013, vol. 103, pp. 642–651. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2012.10.068
32. Akbari Alavijeh M., Sarvi M.N., Ramazani Afarani Z. Properties of adsorption of vitamin B₁₂ on nanoclay as a versatile carrier. *Food Chem.*, 2017, vol. 219, pp. 207–214. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.09.140
33. Ramesh A., Hasegawa H., Maki T., Ueda K. Adsorption of inorganic and organic arsenic from aqueous solutions by polymeric Al/Fe modified montmorillonite. *Separation and Purification Technol.*, 2007, vol. 56, pp. 90–100. DOI:10.1016/j.seppur.2007.01.025
34. Abdel-Wahhab M.A., El-Nekeety A.A., Hathout A.S., Sabery B.A., Ibrahim M.I., Gado R.A., Zawrah M.F., Aly S.E. Preparation and characterization of organo-modified nano montmorillonite and evaluation of its ability to adsorb aflatoxins, fumonisins and zearalenone from aqueous solution. *Nano Sci. Tech. Open Lib.*, 2015, vol. 1, no. 1, pp.27–34.
35. Harvey R.B., Kubena L.F., Elissalde M.H., Corrier D.E., Phillips T.D. Comparison of two hydrated sodium calcium aluminosilicates compounds to experimentally protect growing barrows from aflatoxicosis. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 1994, vol. 6, no. 1, pp. 88–92. DOI:10.1177/104063879400600115
36. Humer E., Kröger I., Neubauer V., Reisinger N., Zebeli Q. Supplementation of a clay mineral-based product modulates plasma metabolomic profile and liver enzymes in cattle fed grain-rich diets. *Animal*, 2019, vol. 13, no. 6, pp. 1214–1223. DOI: 10.1017/S1751731118002665
37. Abrahams P.W., Davies T.C., Solomon A.O., Trow A.J., Wragg J. Human geophagia, calabash chalk and undongo: mineral element nutritional implications. *PLoS One*, 2013, vol. 8, no. 1, pp. e53304. DOI:10.1371/journal.pone.005330
38. Tayie F.A., Koduah G., Mork S.A. Geophagia clay soil as a source of mineral nutrients and toxicants. *African J. Food Agric. Nutr. Develop.*, 2013, vol.13, no. 1, pp.8. DOI: 10.18697/ajfand.56.12580
39. Afriyie-Gyawu E., Wang Z., Ankrah N.A., Xu L., Johnson N.M., Tang L., Guan H., Huebner H.J., Jolly P.E., Ellis W.O., Taylor R., Brattin B., Ofori-Adjei D., Williams J.H., Wang J.S., Phillips T.D. NovaSil clay does not affect the concentrations of vitamins A and E and nutrient minerals in serum samples from Ghanaians at high risk for aflatoxicosis. *Food Addit. Contam. Part A.*, 2008, vol. 25, pp. 872–884. DOI: 10.1080/02652030701854758
40. Moosavi M. Bentonite clay as a natural remedy: a brief review. *Iran J. Public Health*, 2017, vol. 46, no. 9, pp. 1176–1183.
41. EFSA. European Food Safety Authority. Scientific opinion guidance on the risk assessment of the application of nanoscience and nanotechnologies in the food and feed chain. *EFSA J.*, 2011, vol 9, no. 5, pp. 1–36. DOI:10.2903/j.efsa.2011.2156
42. Eisenbrand G., Pool-Zobel B., Baker V., Balls B.J., Blauboer B.J., Boobis A., Carere A., Kevekordes S., Lhuguenot J.C., Pieters R., Kleiner J. Methods of *in vitro* toxicology. *Food Chem. Toxicol.*, 2002, vol. 40, no. 2–3, pp. 193–236.
43. Murphy E.J., Roberts E., Horrocks L.A. Aluminum silicate toxicity in cell cultures. *Neuroscience*, 1993, vol. 55, no. 2, pp. 597–605.
44. Li P.R., Wei J.C., Chiu Y.F., Su H.L., Peng F.C., Lin J.J. Evaluation on cytotoxicity and genotoxicity of the exfoliated silicate nanoclay. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2010, vol. 2, pp. 1608–1613. DOI: 10.1021/am1001162
45. Baek M., Lee J.-A., Choi S.-J. Toxicological effects of a cationic clay, montmorillonite *in vitro* and *in vivo*. *Mol. Cell Toxicol.*, 2012, vol. 8, no. 1, pp. 95–101. DOI: 10.1007/s13273-012-0012-x
46. Sharma A.K., Schmidt B., Frandsen H., Jacobsen N.R., Larsen E.H., Binderup M.L. Ge-notoxicity of unmodified and organo-modified montmorillonite. *Mutation Res.*, 2010, vol. 700, no. 1–2, pp. 18–25. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2010.04.021

47. Gao N., Keane M.J., Ong T., Wallace W.E. Effects of simulated pulmonary surfactant on the cytotoxicity and DNA-damaging activity of respirable quartz and kaolin. *J. Toxicol. Environ. Health A.*, 2000, vol. 60, no. 3, pp.153–167.
48. Verma N.K., Moore E., Blau W., Volkov Y., Babu P.R., Cytotoxicity evaluation of na-noclays in human epithelial cell line A549 using high content screening and real-time impedance analysis. *J. Nanopart. Res.*, 2012, vol. 14, no. 9, pp. 1137–1148. DOI: 10.1007/s11051-012-1137-5.
49. Vergaro V., Abdullayev E., Lvov Y.M., Zeitoun A., Cingolani R., Rinaldi R., Leporatti S. Cytocompatibility and uptake of halloysite clay nanotubes. *Biomacromolecules*, 2010, vol. 11, no. 3, pp. 820–826. DOI: 10.1021/bm9014446
50. Lai X., Agarwal M., Lvov Y.M., Pachpande C., Varahramyan K., Witzmann F.A. Proteomic profiling of halloysite clay nanotube exposure in intestinal cell co-culture. *J. Appl. Toxicol.*, 2013, vol. 33, no. 11, pp. 1316–1329. DOI: 10.1002/jat.2858
51. Rawat K., Agarwal S., Tyagi A., Verma A.K., Bohidar H.B. Aspect ratio dependent cytotoxicity and antimicrobial properties of nanoclay. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 2014, vol.174, no. 3, pp.936–944. DOI: 10.1007/s12010-014-0983-2
52. Lordan S., Kennedy J.E., Higginbotham C.L. Cytotoxic effects induced by unmodified and organically modified nanoclays in the human hepatic HepG2 cell line. *J. Appl. Toxicol.*, 2011, vol. 31, no. 1, pp. 27–35. DOI: 10.1002/jat.1564
53. Janer G., Fernández-Rosas E., Mas del Molino E., González-Gálvez D., Vilar G., López-Iglesias C., Ermini V., Vázquez-Campos S. *In vitro* toxicity of functionalised nanoclays is mainly driven by the presence of organic modifiers. *Nanotoxicology*, 2014, vol. 8, no. 3, pp. 279–294. DOI: 10.3109/17435390.2013.776123
54. Jodynis-Liebert J., Nowicki M., Murias M., Adamska T., Ewertowska M., Kujawska M., Piotrowska H., Konwerska A., Ostalska-Nowicka D., Pernak J. Cytotoxicity, acute and sub-chronic toxicity of ionic liquid, didecyldimethylammonium saccharinate in rats. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 2010, vol. 57, no. 2–3, pp. 266–273. DOI: 10.1016/j.yrtph.2010.03.006
55. Maisanaba S., Puerto M., Pichardo S., Jordá M., Moreno F.J., Aucejo S., Jos Á. *In vitro* toxicological assessment of clays for their use in food packaging applications. *Food Chem. Toxicol.*, 2013, vol. 57, no. 6, pp. 266–275. DOI: 10.1016/j.fct.2013.03.043
56. Houtman J., Maisanaba S., Puerto M., Gutiérrez-Praena D., Jordá M., Aucejo S., Jos A. Toxicity assessment of organo-modified clays used in food contact materials on human target cell lines. *Appl. Clay Sci.*, 2014, vol. 90, pp. 150–158. DOI: 10.1016/j.clay.2014.01.009
57. Maisanaba S., Pichardo S., Jordá-Beneyto M., Aucejo S., Cameán A.M., Jos A. Cytotoxicity and mutagenicity studies on migration extracts from nanocomposites with potential use in food packaging. *Food Chem. Toxicol.*, 2014, vol. 66, pp. 366–372. DOI: 10.1016/j.fct.2014.02.011
58. Maisanaba S., Prieto A., Pichardo S., Jordá-Beneyto M., Aucejo S., Jos A. Cytotoxicity and mutagenicity assessment of organomodified clays potentially used in food packaging. *Toxicol. in vitro*, 2015, vol. 29, no. 6, pp. 1222–1230. DOI: 10.1016/j.tiv.2015.03.010
59. Zhang M., Li X., Lu Y., Fang X., Chen Q., Xing M., He J. Studying the genotoxic effects induced by two kinds of bentonite particles on human B lymphoblast cells *in vitro*. *Mutation Res.*, 2011, vol. 720, pp. 62–66. DOI:10.1016/j.mrgentox.2010.12.009
60. Zhang M., Lu Y., Li X., Chen Q., Lu L., Xing M., Zou H., He J. Studying the cytotoxicity and oxidative stress induced by two kinds of bentonite particles on human B lymphoblast cells *in vitro*. *Chem. Biol. Interact.*, 2010, vol. 183, no. 3, pp. 390–396. DOI: 10.1016/j.cbi.2009.11.023
61. Han H.K., Lee Y.C., Lee M.Y., Patil A.J., Shin H.J. Magnesium and calcium organophyllosilicates: synthesis and *in vitro* cytotoxicity study. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2011, vol. 3, no. 7, pp. 2564–2572. DOI: 10.1021/am200406k
62. Liu Q., Liu Y., Xiang S., Mo X., Su S., Zhang J. Apoptosis and cytotoxicity of oligo(styrene-co-acrylonitrile)-modified montmorillonite. *Appl. Clay Sci.*, 2011, vol. 51, pp. 214–219. DOI: 10.1016/j.clay.2010.11.019
63. Liu M., Zhang Y., Wu C., Xiong S., Zhou C. Chitosan/halloysite nanotubes bionanocomposites: structure, mechanical properties and biocompatibility. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2012, vol. 51, no. 4, pp. 566–575. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2012.06.022
64. Zia K.M., Zuber M., Barikani M., Hussain R., Jamil T., Anjum S. Cytotoxicity and mechanical behavior of chitin-bentonite clay based polyurethane bio-nanocomposites. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2011, vol. 49, no. 5, pp. 1131–1136. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2011.09.010
65. Kevadiya B.D., Chettiar S.S., Rajkumar S., Bajaj H.C., Gosai K.A., Brahmabhatt H. Evaluation of clay/poly (L-lactide) microcomposites as anticancer drug 6-mercaptopurine reservoir through *in vitro* cytotoxicity, oxidative stress markers and *in vivo* pharmacokinetics. *Colloids Surf. B Biointerfaces*, 2013, vol. 112, pp. 400–407. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2013.07.008
66. Salarbashi D., Tafaghodi M., Bazzaz B.S.F., Mohammad Aboutorabzade Birjand S., Ba-zeli J. Characterization of a green nanocomposite prepared from soluble soy bean polysaccharide/Cloisite 30B and evaluation of its toxicity. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2018, vol.120, pt A, pp. 109–118. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.07.183.
67. Wagner A., Eldawud R., White A., Agarwal S., Stueckle T.A., Sierros K.A., Rojanasakul Y., Gupta R.K., Dinu C.Z. Toxicity evaluations of nanoclays and thermally degraded byproducts through spectroscopical and microscopical approaches. *Biochim. Biophys. Acta*, 2017, vol. 1861, no. 1, pt A, pp. 3406–3415. DOI: 10.1016/j.bbagen.2016.09.003
68. Wagner A., White A.P., Stueckle T.A., Banerjee D., Sierros K.A., Rojanasakul Y., Agarwal S., Gupta R.K., Dinu C.Z. Early assessment and correlations of nanoclay's toxicity to their physical and chemical properties. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2017, vol. 9, no. 37, pp. 32323–32335. DOI:10.1021/acsami.7b06657
69. Murphy E.J., Roberts E., Anderson D.K., Horrocks L.A. Cytotoxicity of aluminium silicates in primary neuronal cultures. *Neuroscience*, 1993, vol. 57, pp. 483–490.
70. Elmore A.R. Final report on the safety assessment of aluminum silicate, calcium silicate, magnesium aluminum silicate, magnesium silicate, magnesium trisilicate, sodium magnesium silicate, zirconium silicate, attapulgite, bentonite, Fuller's earth, hectorite, kaolin, lithium magnesium silicate, lithium magnesium sodium silicate, montmorillonite, pyrophyllite, and zeolite. *Int. J. Toxicol.*, 2003, vol. 22, suppl. 1, pp. 37–102.
71. Slamova R., Trckova M., Vondruskova H., Zraly Z., Pavlik I. Clay minerals in animal nutrition. *Appl. Clay Sci.*, 2011, vol. 51, no. 4, pp. 395–398. DOI: 10.1016/j.clay.2011.01.005
72. Wilson M.J. Clay mineralogical and related characteristics of geophagic materials. *J. Chem. Ecol.*, 2003, vol. 29, no. 7, pp. 1525–1547.

73. Lee Y.H., Kuo T.F., Chen B.Y., Feng Y.K., Wen Y.R., Lin W.C., Lin F.H. Toxicity assessment of montmorillonite as a drug carrier for pharmaceutical applications: yeast and rats model. *Biomed. Eng. Appl. Basis Commun.*, 2005, vol. 17, pp. 72–78. DOI: 10.4015/S1016237205000111
74. Mascolo N., Summa V., Tateo F. In vivo experimental data on the mobility of hazardous chemical elements from clays. *Appl. Clay Sci.*, 2004, vol. 25, no. 1–2, pp. 23–28. DOI: 10.1016/j.clay.2003.07.001
75. Afriyie-Gyawu E., Mackie J., Dash B., Wiles M., Taylor J., Huebner H., Tang L., Guan H., Wang J.S., Phillips T. Chronic toxicological evaluation of dietary NovaSil clay in Sprague–Dawley rats. *Food Addit. Contam.*, 2005, vol. 22, no. 3, pp. 259–269. DOI: 10.1080/02652030500110758
76. EFSA. European Food Safety Authority. Scientific opinion on the safety and efficacy of a preparation of bentonite and sepiolite (Toxfin Dry) as feed additive for all species. *EFSA J.*, 2013, vol. 11, no. 4, pp. 1–21. DOI: 10.2903/j.efsa.2013.3179
77. Maisanaba S., Gutiérrez-Praena D., Puerto M., Moyano R., Blanco A., Jordá M., Cameán A.M., Aucejo S., Jos A. Effects of the subchronic exposure to organomodified clay for food packaging applications on Wistar rats. *Appl. Clay Sci.*, 2014, vol. 95, pp. 37–40. DOI: 10.1016/j.clay.2014.04.006
78. Maisanaba S., Puerto M., Gutiérrez-Praena D., Llana-Ruiz-Cabello M., Pichardo S., Mate A., Jordá-Beneyto M., Cameán A.M., Aucejo S., Jos A. In vivo evaluation of activities and expression of antioxidant enzymes in Wistar rats exposed for 90 days to a modified clay. *J. Toxicol. Environ. Health A.*, 2014, vol. 77, no. 8, pp. 456–466. DOI: 10.1080/15287394.2013.876696
79. Wiles M.W., Huebner H.J., Afriyie-Gyawu E., Taylor R.J., Bratton G.R., Phillips T.D. Toxicological evaluation and metal bioavailability in pregnant rats following exposure to clay minerals in the diet. *J. Toxicol. Environ. Health A.*, 2004, vol. 67, no. 11, pp. 863–874. DOI: 10.1080/15287390490425777
80. Sharma A.K., Mortensen A., Schmidt B., Frandsen H., Hadrup N., Larsen E.H., Binderup M.L. In vivo study of genotoxic and inflammatory effects of the organo-modified Montmorillonite Cloisite 30B. *Mutation Res.*, 2014, vol. 770, pp. 66–71. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2014.04.023
81. Hsu S., Wang M., Lin J. Biocompatibility and antimicrobial evaluation of montmorillonite/chitosan nanocomposites. *Appl. Clay Sci.*, 2012, vol. 56, pp. 53–62. DOI: 10.1016/j.clay.2011.09.016
82. Smirnova V.V., Tananova O.N., Shumakova A.A., Trushina E.N., Avren'yeva L.I., Bykova I.B., Minayeva L.P., Soto S.KH., Lashneva N.V., Gmshinski I.V., Khotimchenko S.A. Toxicological and sanitary characterization of bentonite nanoclay. *Gigiyena i sanitariya*, 2012, no. 3, pp. 76–78. (in Russian).
83. Reichardt F., Oudart H., Ackermann A., Sabatier L., Lignot J., Habold C., Boos A., Ha-gege A., Liewig H.N. Clay complementation in rat diet: chronic effect of kaolin on the intestinal lining. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, 2007, vol. 146, no. 4, pp. S186–S187. DOI: 10.1016/j.cbpa.2007.01.408
84. Melin V.E., Potinini H., Hunt P., Griswold J., Siems B., Were S.R., Hrubec T.C. Exposure to common quaternary ammonium disinfectants decreases fertility in mice. *Reprod. Toxicol.*, 2014, vol. 50, pp. 163–170. DOI: 10.1016/j.reprotox.2014.07.071
85. Maisanaba S., Gutiérrez-Praena D., Puerto M., Llana-Ruiz-Cabello M., Pichardo S., Moyano R., Blanco A., Jordá-Beneyto M., Jos A. In vivo toxicity evaluation of the migration extract of an organomodified clay–poly(lactic) acid nanocomposite. *J. Toxicol. Environ. Health A.*, 2014, vol. 77, no. 13, pp. 731–746. DOI: 10.1080/15287394.2014.890987
86. Phillips T.D. Dietary clay in the chemoprevention of aflatoxin-induced disease. *Toxicol. Sci.*, 1999, vol. 52, suppl. 2, pp. 118–126. DOI: 10.1093/toxsci/52.suppl_1.118
87. El-Nekeety A.A., El-Kady A.A., Abdel-Wahhab K.G., Hassan N.S., Abdel-Wahhab M.A. Reduction of individual or combined toxicity of fumonisin B1 and zearalenone via dietary inclusion of organo-modified nano-montmorillonite in rats. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, 2017, vol. 24, no. 25, pp. 20770–20783. DOI: 10.1007/s11356-017-9721-y
88. Williams L.B., Metge D.W., Eberl D.D., Harvey R.W., Turner A.G., Prapaipong P., Poret-Peterson A.T. What makes a natural clay antibacterial? *Environ. Sci. Technol.*, 2011, vol. 45, no. 8, pp. 3768–3773. DOI: 10.1021/es1040688
89. Williams L.B., Haydel S.E. Evaluation of the medicinal use of clay minerals as antibacterial agents. *Int. Geol. Rev.*, 2010, vol. 52, no. 7–8, pp. 745–770. DOI: 10.1080/00206811003679737
90. Wang M.C., Lin J.J., Tseng H.J., Hsu S.H. Characterization, antimicrobial activities and biocompatibility of organically modified clays and their nanocomposites with polyurethane. *Appl. Mater. Interfaces*, 2012, vol. 4, no. 1, pp. 338–350. DOI: 10.1021/am2014103
91. Davachi S.M., Shekarabi A.S. Preparation and characterization of antibacterial, eco-friendly edible nanocomposite films containing *Salvia macrosiphon* and nanoclay. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2018, vol. 113, pp. 66–72. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.02.106
92. Merino D., Mansilla A.Y., Casalongué C.A., Alvarez V.A. Preparation, characterization, and *in vitro* testing of nanoclay antimicrobial activities and elicitor capacity. *J. Agric. Food Chem.*, 2018, vol. 66, no. 12, pp. 3101–3109. DOI: 10.1021/acs.jafc.8b00049
93. Lee K.J. Pharmacologic agents for chronic diarrhea. *Intest. Res.*, 2015, vol. 13, pp. 306–312. DOI: 10.5217/ir.2015.13.4.306
94. Chang F.-Y. Irritable bowel syndrome: The evolution of multi-dimensional looking and multidisciplinary treatments. *World J. Gastroenterol.*, 2014, vol. 20, no. 10, pp. 2499–2514. DOI: 10.3748/wjg.v20.i10.2499
95. Pérez-Gaxiola G., Cuello-García C.A., Florez I.D., Pérez-Pico V.M. Smectite for acute infectious diarrhoea in children. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2018, Issue 4, Art. pp. CD011526. DOI: 10.1002/14651858.CD011526.pub2
96. Echevoyen Y., Rodríguez S., Nerin C. Nanoclay migration from food packaging materials. *Food Addit. Contam. Part A*, 2016, vol. 33, no. 3, pp. 530–539. DOI: 10.1080/19440049.2015.1136844
97. Xia Y., Rubino M., Auras R. Interaction of nanoclay-reinforced packaging nanocomposites with food simulants and compost environments. *Adv. Food Nutr. Res.*, 2019, vol. 88, pp. 275–298. DOI: 10.1016/bs.afnr.2019.02.001
98. Schmidt B., Petersen J.H., Bender Koch C., Plackett D., Johansen N.R., Katiyar V., Larsen E.H. Combining asymmetrical flow field-fractionation with light scattering and inductively coupled plasma mass spectrometric detection for characterization of nanoclay used in biopolymer nanocomposites. *Food Addit. Contam.*, 2009, vol. 26, no. 12, pp. 1619–1627. DOI: 10.1080/02652030903225740
99. Bott J., Franz R. Investigation into the potential migration of nanoparticles from laponite-polymer nanocomposites. *Nanomaterials (Basel)*, 2018, vol. 8, no. 9, pp. E723. DOI: 10.3390/nano8090723
100. Xia Y., Rubino M., Auras R. Release of nanoclay and surfactant from polymer-clay nanocomposites into a food simulant. *Environ. Sci. Technol.*, 2014, vol. 48, no. 23, pp. 13617–13624. DOI: 10.1021/es502622c
101. Simon P., Chaudhry Q., Bakos D. Migration of engineered nanoparticles from polymer packaging to food – a physico-chemical view. *J. Food Nutr. Res.*, 2008, vol. 47, no. 3, pp. 105–113.

102. Farhoodi M., Mousavi S. M., Sotudeh-Gharebagh R., Emam-Djomeh Z., Oromiehie A. Migration of aluminum and silicon from PET/clay nanocomposite bottles into acidic food simulant. *Packaging Technology and Science*, 2013, vol. 27, no. 2, pp. 161–168. DOI:10.1002/pts.2017.
103. Diaz C.A., Xia Y., Rubino M., Auras R., Jayaraman K., Hotchkiss J. Fluorescent labeling and tracking of nanoclay. *Nanoscale*, 2013, vol. 5, no. 1, pp.164–168. DOI: 10.1039/c2nr32978f
104. Mauricio-Iglesias M., Peyron S., Guillard V., Gontard N. Wheat gluten nanocomposite films as food-contact materials: Migration tests and impact of a novel food stabilization technology (high pressure). *J. Appl. Polymer Sci.*, 2010, vol. 116, no. 5, pp. 2526–2535. DOI: 10.1002/app.31647
105. Han C., Zhao A., Varughese E., Sahle-Demessie E. Evaluating weathering of food pack-aging polyethylene-nanoclay composites: release of nanoparticles and their impacts. *Nanolm-pact*, 2018, vol. 9, pp. 61–71. DOI: 10.1016/j.impact.2017.10.005
106. López-Galindo A., Viseras C., Cerezo P. Compositional, technical and safety specifications of clays to be used as pharmaceutical and cosmetic products. *Appl. Clay Sci.*, 2007, vol. 36, no. 1–3, pp. 51–63. DOI: 10.1016/j.clay.2006.06.016
107. Silvestre C., Duraccio D., Cimmino S. Food packaging based on polymer nanomaterials. *Prog. Polym. Sci.*, 2011, vol. 36, no. 12, pp. 1766–1782. DOI:10.1016/j.progpolymsci. 2011.02.003
108. Zhao J., Castranova V. Toxicology of nanomaterials used in nanomedicine. *J. Toxicol. Env. Health B.*, 2011, vol. 14, no. 8, pp. 593–632. DOI: 10.1080/10937404.2011.615113
109. Zhu H., Njuguna J. Nanolayered silicate/clay minerals uses and effects on health. Health and Environmental Safety of Nanomaterials. In: JNjuguna, K. Pielichowski, H. Zhu, eds. The Netherlands Woodhead Publishing, Elsevier, 2014, pp. 133–146.
110. Wagner A., White A.P., Tang M.C., Agarwal S., Stueckle T.A., Rojanasakul Y., Gupta R.K., Dinu C.Z. Incineration of nanoclay composites leads to byproducts with reduced cellular reactivity. *Sci. Rep.*, 2018, vol. 8, no. 1, pp.10709. DOI: 10.1038/s41598-018-28884-y
111. Carretero M.I. Clay minerals and their beneficial effects upon human health. A review. *Appl. Clay Sci.*, 2002, vol. 21, no. 3–4, pp. 155–163. DOI:10.1016/S0169-1317(01)00085-0
112. Droy-Lefaix M.T., Tateo F. Clays and clay minerals as drugs. Handbook of Clay Science, vol. 1. In: F. Bergaya, B.K.G.Theng, G. Lagaly, eds. The Netherlands, Elsevier, 2006, pp. 743–752.
113. Carretero M.I., Gomes C.S.F., Tateo T. Clays and human health. Handbook of Clay Science, vol. 1. In: F. Bergaya, B.K.G.Theng, L. Lagaly, eds. The Netherlands, Elsevier, 2006, pp. 717–741.
114. Phillips T.D., Afriyie-Gyawu E., Williams J., Huebner H., Ankrah N.A., Ofori-Adjei D., Jolly P., Johnson N., Taylor J., Marroquin-Cardona A., Xu L., Tang L. Wang J.S. Reducing human exposure to aflatoxin through the use of clay: a review. *Food Addit. Contam. A*, 2008, vol. 25, no. 2, pp. 134–145. DOI: 10.1080/02652030701567467
115. Aguilar F., Autrup H., Barlow S. et al. Safety of aluminium from dietary intake. Scientific Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Food Contact Materials (AFC). *EFSA J.*, 2008, vol. 754, pp. 1–34. DOI: 10.2903/j.efsa.2008.754
116. EFSA. European Food Safety Authority. Dietary exposure to aluminium-containing food additives. Supporting Publications 2013:EN-411. 17 p. Available at: <http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/en-411> (14.02.2020).
117. Evaluation of certain food additives and contaminants: sixty-seventh report of the Joint FAO / WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report, 2007. Series 940, pp.33–48. Available at: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43592/WHO_TRS_940_eng.pdf?jsessionid=22993D369D427464DB04531CA7049498?sequence=1 (14.02.2020).
118. Aluminium in food. Risk Assessment. Studies Report No. 35. Chemical Hazard Evaluation. Centre for Food Safety Food and Environmental Hygiene Department. The Government of the Hong Kong Special Administrative Region, 2009. 45 p. Available at https://www.cfs.gov.hk/english/programme/programme_rafs/files/RA35_Aluminium_in_Food_e.pdf (14.02.2020).
119. Burrell S.-A.M., Exley C. There is (still) too much aluminium in infant formulas. *BMC Pediatrics*, 2010, no. 10, pp. 63–67. DOI: 10.1186/1471-2431-10-63
120. Navarro-Blasco I., Alvarez-Galindo J.I. Aluminum content of Spanish infant formula. *Food Addit. Contam.*, 2003, vol. 20, no. 5, pp. 470–481. DOI: 10.1080/0265203031000098704
121. EMA. European Medicines Agency. Studies to evaluate the safety of residues of veterinary drugs in human food: general approach to establish a microbiological ADI. London, 2012. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/vich-gl36r-studies-evaluate-safety-residues-veterinary-drugs-human-food-general-approach-establish_en.pdf (14.02.2020).
122. Rondeau V., Jacqmin-Gadda H., Commenges D., Helmer C., Dartigues J.F. Aluminum and silica in drinking water and the risk of Alzheimer's disease or cognitive decline: findings from 15-year follow-up of the PAQUID cohort. *Am. J. Epidemiol.*, 2009, vol. 169, no. 4, pp. 489–496. DOI: 10.1093/aje/kwn348
123. Poole R.L., Pieroni K.P., Gaskari S., Dixon T., Kerner J.A. Aluminum exposure in neonatal patients using the least contaminated parenteral nutrition solution products. *Nutrients*, 2012, vol. 4, no. 11, pp. 1566–1574. DOI: 10.3390/nu4111566
124. Report of the forty-sixth session of the codex committee on food additives. Hong Kong, China 17–21 March 2014, REP14/FA, 116 pp. Available at: <http://www.jhnfa.org/k149.pdf> (14.02.2020).
125. Regulation (EU) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives. Official Journal of the European Union, L 354/16. Available at: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex%3A32008R1333> (14.02.2020).
126. Commission regulation (EU) No 380/2012 of 3 May 2012 amending Annex II to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council as regards the conditions of use and the use levels for aluminium-containing food additives. *Official Journal of the European Union*, 2012, vol. 119, pp.14–38.

Gmshinski I.V., Bagryantseva O.V., Arnautov O.V., Khotimchenko S.A. Nanoclays in food products: benefits and possible risks (literature review). *Health Risk Analysis*, 2020, no. 1, pp. 142–164. DOI: 10.21668/health.risk/2020.1.16.eng

Получена: 17.02.2019

Принята: 18.03.2020

Опубликована: 30.03.2020