

Оригинальная статья / Original article

УДК 615, 614.35, 547.9, 57.044, 57.083.1, 543.95, 543.55, 543.424

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-4-590-602>



Методика электрохимического биотестирования в применении к сравнительному анализу антибиотических свойств растительных экстрактов, получаемых с помощью сжиженного CO₂

© В.С. Сибирцев, У.Ю. Нечипоренко, В.Л. Кабанов,
О.В. Буханцев

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок –
филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН,
г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Резюме: Описана методика биотестирования, предусматривающая периодическую (через каждые 2 ч) регистрацию изменений pH, редокс-потенциала и электропроводности жидкой питательной среды, инкубируемой в присутствии и в отсутствие жизнеспособных тестовых микроорганизмов и тестируемых образцов. Представлены результаты проведенного с применением данной методики сравнительного анализа про- и антибиотической активности в отношении *Lactobacillus acidophilus* и других тестовых микроорганизмов, таких как *Chlorella vulgaris* и *Rhodotorula glutinis*, различных концентраций цельных докритических экстрактов, полученных с помощью сжиженного CO₂ из 10 разных видов растительного сырья. Показано, что с помощью представленной методики можно более экспрессно, объективно и информативно, а также менее материало- и трудоёмко, чем при использовании стандартных визуальных методов микробиологического тестирования, оценивать влияние образцов различной фармацевтической, пищевой и иной продукции на динамику жизненной активности тестовых микроорганизмов. Среди исследованных нами растительных экстрактов наиболее активные пролонгированные антибиотические свойства проявили экстракты из корней чистотела большого (*Chelidonium majus*) и цветков календулы лекарственной (*Calendula officinalis*) в концентрациях от 3% об. и выше, в то время как наиболее активные пролонгированные пробиотические свойства проявили экстракты из побегов омелы белой (*Viscum album*) и листьев грецкого ореха (*Juglans regia*) в концентрации 0,2% об. Начальная про- и антибиотическая активность протестированных экстрактов в большинстве случаев была больше их пролонгированной активности. В то же время среднесрочная (по времени взаимодействия протестированных экстрактов с тестовыми микроорганизмами) про- и антибиотическая активность протестированных экстрактов, как правило, была промежуточной по величине между их начальной и пролонгированной активностью. При этом с уменьшением концентрации протестированных экстрактов в тестовой среде их антибиотическая активность монотонно уменьшалась, тогда как пробиотическая активность увеличивалась. Таким образом, очевидно, что про- и антибиотическая активность фармацевтической, пищевой и иной продукции, в том числе включающей различные растительные экстракты, в значительной мере определяется выбором не только сырья и способа экстрагирования из него биологически активных веществ, но и концентрацией экстракта в продукции, временем ее взаимодействия с микробиотой и другими живыми организмами, а также множеством других факторов. Причем точный характер этих зависимостей в большинстве случаев может быть установлен лишь с помощью значительного числа тестовых испытаний, которые удобно проводить с помощью представленной в этой работе методики.

Ключевые слова: антибиотические свойства, микробиологическое тестирование, электрохимические методы, растительные экстракты, биологически активные вещества

Для цитирования: Сибирцев В.С., Нечипоренко У.Ю., Кабанов В.Л., Буханцев О.В. Методика электрохимического биотестирования в применении к сравнительному анализу антибиотических свойств растительных экстрактов, получаемых с помощью сжиженного CO₂. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2020. Т. 10. N 4. С. 590–602. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-4-590-602>

Use of an electrochemical biotesting technique for comparing the antibiotic properties of plant extracts obtained using liquefied CO₂

Vladimir S. Sibirtsev, Uliana Yu. Nechiporenko, Vladimir L. Kabanov,
Oleg V. Bukhantsev

All-Russia Research Institute for Food Additives –
Branch of V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS,
St. Petersburg, Russian Federation

Abstract: We present a biotesting technique that allows periodic (every 2 hours) recording of changes in the pH, redox potential and electrical conductivity of a liquid nutrient medium incubated in the presence or absence of viable test microorganisms and test samples. This technique was used to compare the pro- and antibiotic activity of various concentrations of subcritical whole extracts obtained from 10 plant species using liquefied CO₂ against *Lactobacillus acidophilus* and other test microorganisms, such as *Chlorella vulgaris* and *Rhodotorula glutinis*. It was established that the proposed technique provides for a quicker, more objective and informative, as well as less material-consuming and labour-intensive, microbiological testing compared to conventional visual methods aimed at assessing effects of pharmaceutical, food and other products on the activity of test microorganisms. Among the studied plant varieties, extracts from celandine roots (*Chelidonium majus*) and calendula officinalis flowers (*Calendula officinalis*) at a concentration of 3% vol. and above demonstrated the most active prolonged antibiotic properties. Extracts from mistletoe shoots (*Viscum album*) and walnut leaves (*Juglans regia*) at a concentration of 0.2% vol. showed the most active prolonged probiotic properties. The initial pro- and antibiotic activity of the tested extracts was in most cases greater than their prolonged activity. At the same time, the medium-term (with respect to the period of interaction of the extracts and microorganisms) pro- and antibiotic activity of the tested extracts showed intermediate values between their initial and prolonged activity. It is noteworthy that a decrease in the concentration of the tested extracts in the test environment led to a steady decrease in their antibiotic activity, at the same time as increasing their probiotic activity. Thus, it is clear that the pro- and antibiotic activity of pharmaceutical, food and other products, including various plant extracts, is determined not only by the choice of raw materials and the method for extracting biologically active substances, but also by the concentration of extracts, the time of their interaction with microbiota and other living organisms, as well as by a variety of other factors. The exact nature of these dependencies can only be established through multiple tests, which can conveniently be carried out using the methodology presented in this work.

Keywords: antibiotic properties, microbiological testing, electrochemical methods, plant extracts, biologically active substances

For citation: Sibirtsev VS, Nechiporenko UYu, Kabanov VL, Bukhantsev OV. Use of an electrochemical biotesting technique for comparing the antibiotic properties of plant extracts obtained using liquefied CO₂. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2020;10(4):590–602. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-4-590-602>

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время в фармацевтической, пищевой и многих других отраслях народного хозяйства все более актуальной становится проблема разработки достаточно объективных и в то же время экспрессных и доступных для широкого применения способов оценки влияния различных химических соединений как синтетического, так и природного происхождения на динамику жизнедеятельности разных видов и штаммов микроорганизмов, которые могут входить в состав естественной микробиоты человека и других многоклеточных живых организмов, вызывать различные инфекционные заболевания,

токсикозы, аллергические реакции, способствовать порче пищевой и иной продукции, участвовать в различных биотехнологических процессах и т.д.

Однако принятые в настоящее время в качестве стандартных при микробиологическом тестировании процедуры визуальной оценки общей выживаемости микроорганизмов либо величины зоны задержки роста их колоний требуют для своего проведения значительных затрат материалов, времени и труда квалифицированного персонала, давая в результате лишь весьма неполную, субъективную и «статичную» информацию о нарушениях жизнедеятельности тестовых

организмов [1–5]. Таким образом, перспективным представляется использование в микробиологическом тестировании инструментальных технологий, среди которых наиболее простыми в исполнении, достоверными и универсальными являются различные оптические и электрохимические методы.

Кроме того, в последнее время в фармацевтической, косметической, пищевой, кормовой и других видах продукции, производимой и потребляемой человеческим обществом, ощущается все больший недостаток биологически активных веществ (БАВ) природного происхождения, способствующих нормальному развитию и функционированию как самого человеческого организма (ослабленного стрессами, загрязненной окружающей средой, недостатком природного освещения и физической активности, контактами с многочисленной посторонней микробиотой и т.п.), так и симбиотически связанной с ним полезной микробиоты, либо угнетению жизнедеятельности вредной для человека микробиоты.

Производство концентрированных синтетических аналогов БАВ при современном уровне развития технологий часто является затратным с экономической точки зрения, а также малоэффективным вследствие сложности достижения нужной степени чистоты, стереоспецифичности и других параметров, способных обеспечить достаточно высокую степень биологической активности таких соединений. Кроме того, растительные экстракты (РЭ) по сравнению с синтетическими средствами, как правило, обладают существенно меньшими по широте спектра и интенсивности действия на человеческий и другие живые организмы побочными эффектами.

В результате этого РЭ в настоящее время являются одним из наиболее приемлемых и распространенных источников БАВ. В свою очередь из РЭ до настоящего времени наиболее широко применялись «эфирные масла» (ЭМ), промышленно либо лабораторно получаемые из различного растительного сырья разными физико-химическими способами (холодный или горячий отжим, дистилляция, экстрагирование при нормальных либо повышенных давлении и/или температуре с помощью различных органических растворителей с последующим удалением этих растворителей при дополнительно повышенной температуре либо под вакуумом и т.п.) [6]. Получаемые таким образом ЭМ позволяют достичь существенно большей и стабильной во времени биологической активности конечного продукта по сравнению с водными, спиртовыми и иными РЭ, получаемыми без удаления экстрагентов. Благодаря этому ЭМ широко применяются в пищевой, фармацевтической, косметической и других отраслях промышленности в

качестве добавок, обладающих избирательным либо малоспецифическим про- либо антимикробным действием; добавок, обладающих различными видами нормализующего действия (используемого, в том числе, при лечении различных нервных, сердечно-сосудистых, диабетических, пищеварительных и иных заболеваний); а также консервирующих, антиоксидантных, ароматизирующих, вкусовых и иных видов добавок [1–3, 6–15]. Кроме того, ЭМ используются в качестве антисептиков, экологически безопасных инсектицидов и пестицидов, добавок к различным зуботерапевтическим, ранозаживляющим и другим медицинским и упаковочным материалам и т.п. [16–21].

Однако в последнее время наряду с ЭМ все большее применение находят экстракты, получаемые из аналогичного растительного сырья с использованием в качестве экстрагента сжиженного углекислого газа (CO_2), который затем полностью удаляется из конечного продукта путем изменения его температуры и давления [22–28]. Состав таких экстрактов характеризуется, как правило, более широким спектром БАВ, чем у ЭМ. При этом, если экстрагирование проводится при давлении выше 7,6 МПа и температуре ниже 31 °С, то такие экстракты называются «докритическими». В противном случае экстракты, получаемые по описанной выше технологии, называются «сверхкритическими» (поскольку CO_2 в них, находясь в сверхкритическом состоянии, проявляет свойства как жидкости, так и газа). Кроме того экстракты, получаемые с помощью сжиженного CO_2 , делятся на «селективные» (получаемые при низких давлениях CO_2 и имеющие состав, близкий к ЭМ) и «цельные» (получаемые при высоких давлениях CO_2 и имеющие в своем составе помимо летучих компонентов, обычных для ЭМ, более тяжелые растительные смолы, парафины, пигменты и т.д.).

В связи с вышесказанным нашей целью являлась разработка экспрессной и доступной для широкого применения методики инструментального микробиологического тестирования и оценка с ее помощью про- и антибиотических свойств экстрактов, получаемых из различного растительного сырья с использованием сжиженного CO_2 .

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве объекта исследования были взяты цельные докритические экстракты, произведенные ООО «Казанский завод экстрактов»¹ (г. Казань, Россия) с помощью сжиженного CO_2 при температуре 20 °С и давлении 72 атм из следующих видов растительного сырья: корни солодки голой (*Glycyrrhiza glabra*) (№ 1), цветки мальвы лесной (*Malva sylvestris*) (№ 2), цветки календулы лекарственной (ноготки лекарственные, *Calendula officinalis*) (№ 3), листья и стебли бессмертника песчаного (*Helichrysum arenarium*)

¹Этот завод был выбран потому, что он является в настоящее время крупнейшим в России производителем растительных экстрактов, получаемых с помощью сжиженного CO_2 .

(№ 4), корни чистотела большого (*Chelidonium majus*) (№ 5), листья березы повислой (*Betula pendula*) (№ 6), листья грецкого ореха (*Juglans regia*) (№ 7), молодые побеги омеги белой (*Viscum album*) (№ 8), плоды облепихи крушиновидной (*Hippophae rhamnoides*) (№ 9), семена перца черного (*Piper nigrum*) (№ 10).

Для анализа влияния различных концентраций тестируемых экстрактов (ТЭ) на динамику жизнедеятельности микроорганизмов, исходя из результатов уже имевшихся авторских работ по различным способам инструментального биотестирования [29–41], была разработана следующая методика.

Для каждой партии ТЭ проводилось по 4 серии измерений, перед началом каждой из которых готовилась питательная среда, представлявшая собой стерильный водный раствор с $pH = 7,2 \pm 0,2$, содержащий 5 г/л глюкозы, 20 г/л белкового гидролизата и 2 г/л NaCl. Затем эта питательная среда засеивалась 10% об. суспензии, содержащей 10^7 кл/мл тестовых биообъектов, в качестве которых использовались одноклеточные водоросли *Chlorella vulgaris* ATCC 9765, дрожжеподобные грибки *Rhodotorula glutinis* ATCC 10659 и бактерии *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. Все эти биообъекты являются типичными представителями широко распространенных в естественных условиях видов микроорганизмов, активно участвующих в деструкции различных биополимеров, принадлежа при этом к существенно отличающимся друг от друга таксономическим группам. Кроме того, *L. Acidophilus* являются нормальным представителем кишечной микробиоты человека и теплокровных животных, а также обладают высокой антагонистической активностью по отношению к гнилостной, условно-патогенной и патогенной микробиоте.

При культивировании представителей разных таксономических групп питательная среда одинакового состава использовалась для того, чтобы обеспечить единообразие общей методики измерения динамики жизненной активности разных тестовых микроорганизмов, а также потому, что белковый гидролизат в сочетании со стерилизованной природной, а не дистиллированной водой, использовавшейся для приготовления упомянутой питательной среды, содержит весь необходимый набор макро- и микроэлементов, обеспечивающих нормальное (хотя, возможно, и не оптимальное в каждом отдельном случае) развитие большинства микроорганизмов. При этом наличие глюкозы ускоряло начальное развитие тестовых микроорганизмов, обеспечивая большую экспрессность предлагаемой методики.

Затем тестовые организмы инкубировались при $37 \pm 0,1$ °C до содержания в питательной среде клеток в пределах $5 \cdot 10^6$ кл./мл (что удостове-

рялось нефелометрическим способом по стандарту мутности). Полученная тестовая среда разливалась по измерительным емкостям (ИЕ), в каждую по 5 мл, представлявшим собой стандартные стеклянные конические пробирки объемом 10 мл, в каждую из которых (за исключением трех контрольных) предварительно добавлялось (по 3 ИЕ в параллель) количество тестируемого объекта (в качестве которого в описываемом исследовании выступали цельные докритические экстракты, получаемые с помощью сжиженного CO₂ из различного растительного сырья), необходимое для достижения заданной его концентрации в тестовой среде.

Затем как тестовые, так и контрольные ИЕ (содержащие ту же среду, что и тестовые ИЕ, но без добавления ТЭ) инкубировали при $37 \pm 0,1$ °C в течение 6 ч. У сред, содержащихся в каждой из ИЕ, последовательно, с интервалом 2 ч регистрировали pH, редокс-потенциал (E , мВ) и удельную линейную низкочастотную электропроводность (X , мСм/см). При этом pH и E регистрировали с помощью иономера Эксперт-001 (Россия) с комбинированными электродами ЭСК-10601/7 и ЭРП-105 соответственно, а X регистрировали с помощью кондуктометра Эксперт-002 (Россия) с датчиком УЭП-П-С, работающим на частоте 1,6 кГц.

После этого общие степени активирования (+) либо ингибирования (–) жизнедеятельности тестовых микроорганизмов заданными концентрациями ТЭ после k часов их совместного инкубирования в жидкой тестовой среде ($\epsilon_{V,k}$, %) рассчитывались по формуле

$$\epsilon_{V,k} = (\epsilon_{pH,k} + 0,7\epsilon_{E,k} + 0,7\epsilon_{X,k}) / 2,4. \quad (1)$$

Величины $\epsilon_{pH,k}$, $\epsilon_{E,k}$ и $\epsilon_{X,k}$ определялись отдельно по результатам измерений pH, E и X у тестовых сред, содержащихся в ИЕ, по формуле:

$$\epsilon_{i,k} = 100 \times (\Delta Y_{i,k} - \Delta Y_{C,i,k}) / \Delta Y_{C,i,k}. \quad (2)$$

Индекс i показывал, по какому параметру (pH, E или X), учитывались измерения в формуле 2, (например $\epsilon_{pH,k} = 100 \times (\Delta Y_{pH,k} - \Delta Y_{C,pH,k}) / \Delta Y_{C,pH,k}$).

Величины $\Delta Y_{i,k}$ и $\Delta Y_{C,i,k}$ определялись как усредненные по выборке из N образцов с одинаковыми концентрациями экстрактов, приготовленных одинаковым способом из одного вида сырья (в нашем случае $N = 3 \cdot 4 = 12$), изменения значений i -параметра тестовой среды (pH, E или X), произошедшие за k часов от начала инкубирования этой среды в присутствии заданной концентрации ТЭ (ΔY_t , наблюдаемое в тестовых ИЕ) либо в отсутствие ТЭ (ΔY_c , наблюдаемое в контрольных ИЕ, тестовые среды в которых содержали жизнеспособные микроорганизмы, но не содержали ТЭ). Например, $\Delta Y_{pH,2} = pH_{T,2} - pH_{T,0}$, $\Delta Y_{E,4} = E_{C,4} - E_{C,0}$ и т.д. (где $pH_{T,0}$ – значение pH среды в тестовой ИЕ в начале ее инкубирования, $pH_{T,2}$ – значение pH среды в тестовой

ИЕ через 2 ч после начала ее инкубирования, $E_{C,0}$ – значение E среды в контрольной ИЕ в начале ее инкубирования, $E_{C,4}$ – значение E среды в контрольной ИЕ через 4 ч после начала ее инкубирования).

Таким образом, величина $\varepsilon_{V,k}$ показывала, на сколько процентов по отношению к контролю ускорялось либо замедлялось преобразование жизнеспособными микроорганизмами, присутствующими в тестовой среде, катаболитов, присутствующих в той же среде, в анаболиты после k часов их инкубации при заданной температуре в присутствии заданной концентрации ТЭ по сравнению с теми же процессами, осуществляемыми теми же микроорганизмами в той же тестовой среде в отсутствие ТЭ.

При этом ошибки определения каждой из усредненных величин $\varepsilon_{pH,k}$, $\varepsilon_{E,k}$ и $\varepsilon_{X,k}$ рассчитывались стандартным образом² [42, 43], как $\Delta\varepsilon_{i,k} = t_{\alpha, N-1} \sigma_{i,k}$ с использованием критерия Стьюдента ($t_{\alpha, N-1}$ для уровня достоверности $\alpha = 0,95$ и числа степеней свободы $N-1$), математического ожидания ($\theta_{i,k} = \sum \varepsilon_{i,k,j} / N$) и его дисперсии ($\sigma_{i,k} = [\sum_j (\varepsilon_{i,k,j} - \theta_{i,k})^2 / (N-1)]^{1/2}$). После чего ошибка определения величины $\Delta\varepsilon_{V,k}$ рассчитывалась по формуле $\Delta\varepsilon_{V,k} = (\Delta\varepsilon_{pH,k} + 0,7\Delta\varepsilon_{E,k} + 0,7\Delta\varepsilon_{X,k}) / 2,4$.

Параметры pH, E и X были выбраны для оценки общей степени активирования либо ингибирования жизнедеятельности тестовых микроорганизмов заданными концентрациями ТЭ потому, что они наиболее надежно измеряются инструментально и при этом чувствительно связаны с тем, насколько ускорялось либо замедлялось преобразование жизнеспособными микроорганизмами, присутствующими в тестовой среде, катаболитов, присутствующих в той же среде, в анаболиты (имеющие иные, чем у катаболитов кислотность, электропроводность и электрохимический окислительно-восстановительный потенциал).

Правомерность объединения в ε_V трех таких величин, как ε_{pH} , ε_E и ε_X , можно объяснить тем, что каждая из этих величин независимо нормировалась на контрольные значения определяющего ее показателя и, таким образом, единообразно (в процентах по отношению к контролю) отражала изменение метаболизма тестовых микроорганизмов в присутствии ТЭ, в то же время несколько по-разному характеризуя это изменение (поскольку изменение pH, E и X тестовой среды обуславливали разные метаболические процессы, осуществляемые присутствующими там жизнеспособными микроорганизмами). В результате чего суммарная величина ε_V более информативно и адекватно характеризовала изменения метаболической активности тестовых микроорганизмов, чем каждая из величин ε_{pH} , ε_E и ε_X по отдельности.

Коэффициенты при $\varepsilon_{i,k}$, указанные в формуле

(1), были рассчитаны методами факторного анализа (аналогично тому, как описано в работах [42, 43]) по значениям, полученным нами для $\varepsilon_{pH,k}$, $\varepsilon_{E,k}$ и $\varepsilon_{X,k}$ в результате применения представленной здесь методики к оценке антибактериальной активности в отношении *L. acidophilus* разных концентраций таких известных антисептиков и антибиотиков широкого спектра действия, как хлоргексидина биклюконат, фурацилин и левомицетин.

Вышесказанное обеспечило 90% достоверную корреляцию величин ε_V , полученных с помощью разработанной нами инструментальной методики биотестирования после 6 ч инкубации тестовых сред с *L. acidophilus* в присутствии и в отсутствие 3% об. ТЭ, с величинами ε_S , полученными для той же концентрации тех же ТЭ с помощью стандартной методики микробиологического тестирования [1–5]. Последняя предусматривает визуальный подсчет колоний *L. Acidophilus*, выросших после 24 ч их инкубации при $37 \pm 0,1$ °C на плотной питательной среде (имеющей тот же состав, что и использовавшаяся нами жидкая питательная среда, но с добавлением 20 г/л микробиологического агар-агара) в присутствии и в отсутствие 3% об. ТЭ с последующим расчетом величины ε_S по формуле (2). При этом высеивание проводилось для нескольких последовательных разведений тестовой среды – каждое в несколько параллельных чашек Петри. После чего отбирались те разведения, при использовании которых на одной чашке Петри выросло не менее 10 и не более 50 колоний тестовых микроорганизмов. Данные по этим разведениям соответствующим образом статистически обрабатывались.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Наиболее интересные данные, полученные описанным выше способом, представлены в табл. 1 и 2, а также на рисунке, где по оси ординат отложены значения ε_V (%), определявшиеся для ТЭ по результатам измерений pH, редокс-потенциала и электропроводности жидких питательных сред с *L. acidophilus* через 2, 4 и 6 ч инкубирования по формулам (1) и (2), по оси абсцисс – номера сырья, из которого получали ТЭ (см. табл. 1).

На основании представленных данных можно сделать следующие выводы. Как видно из табл. 1, наиболее пролонгированно чувствительными к присутствию высоких концентраций ТЭ из всех исследованных биообъектов оказались *L. acidophilus*. Поэтому они и были выбраны в качестве тестовых микроорганизмов для дальнейшего более детального исследования про- и антибиотических свойств ТЭ (см. табл. 2).

²Korn G.A., Korn T.M. Mathematical handbook for scientists and engineers. definitions, theorems, and formulas for reference and revie. McGraw Hill Book Company. 1968.

Таблица 1. Степень ингибирования жизнедеятельности тестовых микроорганизмов после 6 ч их инкубирования в присутствии 3% об. тестируемых экстрактов ($\epsilon_{V,6}$, %) **Table 1.** Inhibition degree of test microorganisms vital activity after 6 hours incubation in the presence of 3% vol. tested extracts ($\epsilon_{V,6}$, %)

Тестовые микроорганизмы	Тестируемые экстракты									
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7	№ 8	№ 9	№ 10
<i>C. vulgaris</i>	-37±5	-33±5	-45±6	-41±7	-51±8	-43±6	-42±6	-24±4	-38±5	-34±5
<i>R. glutinis</i>	-33±5	-30±4	-40±6	-36±6	-46±8	-38±6	-38±5	-22±4	-34±5	-30±5
<i>L. acidophilus</i>	-41±7	-37±6	-50±7	-45±6	-57±9	-48±7	-47±7	-27±4	-42±6	-38±6

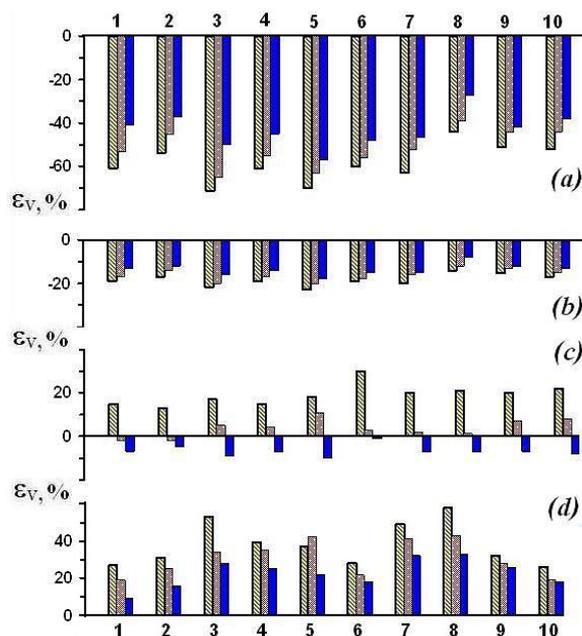
Примечание. Номера цельных докритических экстрактов, произведенных ООО «Казанский завод экстрактов» с помощью сжиженного CO₂ при давлении 7,3 МПа и температуре 20°C, соответствуют следующему растительному сырью, из которого их получали: 1 – корни *Glycyrrhiza glabra*; 2 – цветки *Malva sylvestris*; 3 – цветки *Calendula officinalis*; 4 – трава *Helichrysum arenarium*; 5 – корни *Chelidonium majus*; 6 – листья *Betula pendula*; 7 – листья *Juglans regia*; 8 – молодые побеги *Viscum album*; 9 – плоды *Hipporhae rhamnoides*; 10 – семена *Piper nigrum*. Методику определения ϵ_V см. в разделе «Экспериментальная часть».

Таблица 2. Степени активирования (+) либо ингибирования (-) жизнедеятельности *Lactobacillus acidophilus* (ϵ_V , %) при разной продолжительности их инкубирования в присутствии различных количеств исследуемых растительных экстрактов

Table 2. Activation (+) or inhibition (-) degrees of *Lactobacillus acidophilus* vital activity (ϵ_V , %) at various incubation time in the presence of different plant extracts

C _{TE}	k	Тестируемые экстракты									
		№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7	№ 8	№ 9	№ 10
3	2	-61±9	-54±7	-71±9	-61±8	-70±9	-60±8	-63±9	-44±7	-51±7	-52±7
	4	-53±7	-45±7	-65±9	-55±8	-63±8	-56±8	-52±7	-39±6	-44±7	-44±6
	6	-41±7	-37±6	-50±7	-45±6	-57±9	-48±7	-47±7	-27±4	-42±6	-38±6
1,5	2	-19±3	-17±2	-22±3	-19±3	-23±3	-19±3	-20±3	-14±2	-15±2	-17±3
	4	-17±3	-14±2	-20±3	-17±3	-20±3	-18±3	-16±2	-12±2	-13±2	-15±2
	6	-13±2	-12±2	-16±2	-14±2	-18±3	-15±2	-15±2	-8±1	-12±2	-13±2
0,5	2	15±2	13±2	17±3	15±2	18±3	30±4	20±3	21±3	20±3	22±3
	4	-2±0,3	-2±0,3	5±1	4±0,7	11±2	3±0,5	2±0,3	1±0,2	7±1	8±1
	6	-7±1	-5±1	-9±1	-7±1	-10±2	-1±0,2	-7±1	-7±1	-7±1	-8±1
0,2	2	27±4	31±4	53±6	39±5	37±5	28±4	49±6	58±7	32±4	26±4
	4	19±3	25±4	34±5	35±5	42±6	22±4	41±6	43±6	28±4	19±3
	6	9±1	16±2	28±4	25±4	22±3	18±3	32±5	33±5	26±4	18±3

Примечание. C_{TE} – концентрация РЭ в тестовой среде, % об.; k – продолжительность инкубирования тестовой среды, ч. Тестируемые экстракты те же, что и в табл. 1.



Биологическая активность тестируемых экстрактов в отношении *L.acidophilus* при разных концентрациях ТЭ в тестовой среде, % об.: а – 3; б – 1,5; в – 0,5; д – 0,2.

Comparative biological activity of tested extracts (TE) against *L.acidophilus* at different TE concentrations in the test medium, % vol.: a – 3; b – 1.5; c – 0.5; d – 0.2

Из рисунка и табл. 2 видно, что с изменением концентрации ТЭ в тестовой среде довольно существенно может меняться и характер их биологической активности относительно других ТЭ. Причем особенно отчетливо это видно на примере концентраций ТЭ в тестовой среде (C_{TE}) меньших 1,5% об.

Также разную биологическую активность имели ТЭ, полученные из разных частей разных растений. Так, например, при $C_{TE} = 3\%$ об. пролонгированная антибиотическая активность (количественно характеризуемая в табл. 2 величиной $\epsilon_{V,6}$, определяемой через 6 ч инкубации тестовых микроорганизмов в присутствии ТЭ) экстракта, полученного из корней чистотела большого ($\epsilon_{V,6} = -57 \pm 9\%$, см. № 5 в табл. 2), с 95%-й достоверностью превышала активность экстрактов, полученных из побегов омеги белой и семян перца черного ($\epsilon_{V,6} = -27 \pm 4$ и $-38 \pm 6\%$ соответственно, см. экстракты № 8 и № 10 в табл. 2). В то же время при $C_{TE} = 0,2\%$ об. пробиотическая пролонгированная активность экстракта, полученного из побегов омеги белой ($\epsilon_{V,6} = 33 \pm 5\%$), с 95%-й достоверностью превышала активность экстрактов, полученных из корней чистотела большого и семян перца черного ($\epsilon_{V,6} = 22 \pm 3$ и $18 \pm 3\%$ соответственно). Последние в свою очередь с 95%-й достоверностью превышали пролонгированную пробиотическую активность экстракта, полученного из корней солодки голой ($\epsilon_{V,6} = 9 \pm 1\%$, см. № 1 в табл. 2).

В целом же среди исследованных экстрактов наиболее активные пролонгированные (долгострочные) антибиотические свойства в отношении тестовых микроорганизмов проявили экстракты из корней чистотела большого (№ 5) и цветков календулы лекарственной (№ 3) при $C_{TE} \geq 3\%$ об., в то время как наиболее активные пролонгированные пробиотические свойства проявили экстракты из побегов омеги белой (№ 8) и листьев грецкого ореха (№ 7) при $C_{TE} = 0,2\%$ об.

Краткосрочная (начальная) про- либо антибиотическая активность ТЭ (количественно характеризуемая в табл. 2 величиной $\epsilon_{V,2}$, определяемой через 2 ч инкубации тестовых биобъектов в присутствии ТЭ) в большинстве случаев была существенно больше их долгострочной активности (как уже говорилось, характеризуемой нами величиной $\epsilon_{V,6}$; см. табл. 2). Это объясняется, вероятно, как адаптацией тестовых биобъектов к присутствию ТЭ, так и уменьшением с течением времени активности и общего количества БАВ, содержащихся в ТЭ, приходящегося на один биобъект. Последнее является следствием того, что общее количество биобъектов во время инкубации содержащей их тестовой среды увеличивалось, в то время как активность и общее количество БАВ, содержащихся в ТЭ, в ходе инкубации содержащей их тестовой среды уменьшалось вследствие биохимической и физико-химической

денатурации и деструкции этих БАВ.

Среднесрочная (по времени взаимодействия ТЭ с тестовыми биобъектами) про- либо антибиотическая активность ТЭ (количественно характеризуемая в табл. 2 величиной $\epsilon_{V,4}$, определяемой через 4 ч инкубации тестовых сред с ТЭ) в большинстве случаев была промежуточной между $\epsilon_{V,2}$ и $\epsilon_{V,6}$ (см. табл. 2).

И наконец, с уменьшением концентрации ТЭ в тестовой среде их антибиотическая активность в отношении тестовых микроорганизмов монотонно уменьшалась, а пробиотическая активность, наоборот, увеличивалась. Так, например, при $C_{TE} = 3, 1,5$ и $0,2\%$ об. значения $\epsilon_{V,6}$ для экстракта из травы бессмертника песчаного были равны $-45 \pm 6, -14 \pm 2$ и $25 \pm 4\%$ соответственно; а значения $\epsilon_{V,6}$ для экстракта из корней чистотела большого были равны $-57 \pm 9, -18 \pm 3$ и $22 \pm 3\%$ соответственно (см. табл. 2 для экстрактов № 4 и № 5).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, мы убедились, что с помощью представленной в настоящей работе методики можно более экспрессно, объективно и информативно, чем при использовании стандартных визуальных методов микробиологического тестирования, оценивать влияние различных образцов фармацевтической, косметической, пищевой и другой продукции (такой, например, как растительные экстракты) на динамику жизненной активности разных микроорганизмов. Кроме того, представленная методика менее материало- и трудоемка, а также дает гораздо больше возможностей для автоматизации процесса анализа. При этом экспрессность представляемой методики достигается за счет ее большей чувствительности к начальным изменениям метаболической активности тестовых микроорганизмов в присутствии тестируемых образцов (обуславливаемой, в частности, заменой визуальных методов измерений на инструментальные). А более высокая объективность и информативность представляемой методики по сравнению со стандартными микробиологическими методами достигается за счет того, что эта методика дает возможность оценивать динамику изменения жизненной активности микроорганизмов на множестве произвольно выбираемых временных отрезков, в отличие от большинства ранее использовавшихся методик микробиологического тестирования, где измерения производятся лишь один раз в конце периода инкубации тестируемых образцов. Кроме того, представляемая методика предполагает оценку изменения жизненной активности микроорганизмов сразу по нескольким независимым показателям (таким как pH, редокс-потенциал и электропроводность тестовой среды с жизнеспособными микроорганизмами), а не только по одному (мутности тестовой среды, числу колоний микроорганизмов

или величине зоны задержки их роста), как в случае большинства ранее использовавшихся микробиологических методик.

Вышеперечисленное делает представленную методику доступной для более широкого применения, чем ранее используемые методы микробиологического тестирования. А это в свою очередь является весьма актуальным в свете того, что одним из важных условий обеспечения должного уровня безопасности и качества жизни людей является не только своевременное и качественное тестирование новой фармацевтической, пищевой и иной продукции, а также отдельных ингредиентов и добавок к ней (таких например, как различные растительные экстракты); но и постоянный широкий мониторинг про- и антибиотических свойств уже допущенной к массовому употреблению продукции с целью выявления недоброкачественных, либо успевших до окончательной реализации испортиться или претерпеть химическое или биологическое заражение ее образцов.

В отношении же собственно исследованных нами растительных экстрактов следует отметить следующее. Среди исследованных экстрактов наиболее активные пролонгированные антибиотические свойства проявили экстракты из корней чистотела большого и цветков календулы лекарственной при их концентрации в тестовой среде 3% об. и выше. Наиболее активные пролонгированные пробиотические свойства проявили экстракты из побегов омелы белой и листьев грецкого ореха при их концентрации в тестовой среде

0,2% об. (см. табл. 2).

Краткосрочная (начальная) про- и антибиотическая активность протестированных экстрактов в большинстве случаев была достоверно выше их долгосрочной (продолжительной) активностью, в то время как среднесрочная (по времени взаимодействия протестированных экстрактов с тестовыми микроорганизмами) про- и антибиотическая активность протестированных экстрактов, как правило, была промежуточной по величине между их долгосрочной и краткосрочной активностью. При этом с уменьшением концентрации протестированных экстрактов в тестовой среде их антибиотическая активность монотонно и, как правило, достоверно уменьшалась, тогда как пробиотическая активность увеличивалась (см. табл. 2).

Таким образом, очевидно, что характер про- и антибиотической активности фармацевтической, пищевой и иной продукции, в том числе включающей различные растительные экстракты, в значительной мере определяется выбором не только сырья и способа экстрагирования из него биологически активных веществ, но и концентрацией экстракта в продукции, временем ее взаимодействия с микробиотой человека или иными живыми организмами и т.п. Причем точный характер этих зависимостей в большинстве случаев может быть установлен лишь с помощью значительного числа тестовых испытаний, которые удобно проводить с помощью представленной в данной работе методики.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Sutherland J., Miles M., Hedderley D., Li J., Devoy S., Sutton K., Lauren D. *In vitro* effects of food extracts on selected probiotic and pathogenic bacteria // International Journal of Food Sciences and Nutrition. 2009. Vol. 60. issue 8. P. 717–727. <https://doi.org/10.3109/09637480802165650>
2. Das S., Anjeza C., Mandal S. Synergistic or additive antimicrobial activities of *Indian spice* and herbal extracts against pathogenic, probiotic and food-spoiler microorganisms // International Food Research Journal. 2012. Vol. 19. Issue 3. P. 1185–1191.
3. Al-Zubairi A. S., Al-Mamary M. A., Al-Ghasani E. The antibacterial, antifungal and antioxidant activities of essential oil from different aromatic plants // Global Advanced Research Journal of Medicine and Medical Sciences. 2017. Vol. 6. Issue 9. P. 224–233.
4. Zhuravlev O.E., Voronchikhina L.I. Synthesis and antimicrobial activity of n-decylpyridinium salts with inorganic anions // Pharmaceutical Chemistry Journal. 2018. Vol. 52. Issue 4. P. 312–315. <https://doi.org/10.1007/s11094-018-1813-6>
5. Luzhnova S.A., Tyrkov A.G., Gabitova N.M., Yurtaeva E.A. Synthesis and antimicrobial activity of 5-(arylmethylidene)-2,4,6-pyrimidine-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triones // Pharmaceutical Chemistry Journal. 2018. Vol. 52. Issue 6. P. 506–509. <https://doi.org/10.1007/s11094-018-1849-7>
6. Rodino S., Butu M. Herbal extracts – new trends in functional and medicinal beverages. In: Grumezescu A.M., Holban A.M. (ed.). *Functional and Medicinal Beverages*. Vol. 11: The Science of Beverages. Chapter 3. Academic Press. 2019. P. 73–108. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816397-9.00003-0>
7. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review // International Journal of Food Microbiology. 2004. Vol. 94. Issue 3. P. 223–253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
8. Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. Biological effects of essential oils – a review // Food and Chemical Toxicology. 2008. Vol. 46. Issue 2. P. 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
9. Tripathi A.K., Bhojar P.K., Baheti J.R., Biyani D.M., Khalique M., Kothmire M.S., et al. Herbal anti-diabetics: a review // International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences. 2011. Vol. 2.

Issue 1. P. 30–37.

10. Fatima A., Alok S., Agarwal P., Singh P.P., Verma A. Benefits of herbal extracts in cosmetics: a review // International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 2013. Vol. 4. Issue 10. P. 3746–3760. [https://doi.org/10.13040/ijpsr.0975-8232.4\(10\).3746-60](https://doi.org/10.13040/ijpsr.0975-8232.4(10).3746-60)
11. Alok S., Jain S.K., Verma A., Kumar M., Mahor A., Sabharwal M. Herbal antioxidant in clinical practice: a review // Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2014. Vol. 4. Issue 1. P. 78–84. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(14\)60213-6](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(14)60213-6)
12. Radice M., Manfredini S., Ziosi P., Dissette V., Buso P., Fallacara A., et al. Herbal extracts, lichens and biomolecules as natural photo-protection alternatives to synthetic UV filters. A systematic review // Fitoterapia. 2016. Vol. 114. P. 144–162. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2016.09.003>
13. Merghni A., Marzouki H., Hentati H., Aouni M., Mastouri M. Antibacterial and antibiofilm activities of *Laurus nobilis* L. essential oil against *Staphylococcus aureus* strains associated with oral infections // Current Research in Translational Medicine. 2016. Vol. 64. Issue 1. P. 29–34. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2015.10.003>
14. Fani M., Kohanteb J. *In vitro* antimicrobial activity of thymus vulgaris essential oil against major oral pathogens // Journal of Evidence-based Complementary & Alternative Medicine. 2017. Vol. 22. Issue 4. P. 660–666. <https://doi.org/10.1177/2156587217700772>
15. Kokina M.S., Frioui M., Shamtsyan M., Sibirtsev V.S., Krasnikova L.V., Konusova V.G., et al. Influence of pleurotus ostreatus β -glucans on the growth and activity of certain lactic acid bacteria // Scientific Study and Research: Chemistry and Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry. 2018. Vol. 19. Issue 4. P. 465–471.
16. Atarés L., Chiralt A. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging // Trends in Food Science & Technology. 2016. Vol. 48. P. 51–62. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.12.001>
17. Ribeiro-Santos R., Andrade M., Melo N.R., Sanches-Silva A. Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends // Trends in Food Science & Technology. 2017. Vol. 61. P. 132–140. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.11.021>
18. Ju J., Xie Y., Guo Y., Cheng Y., Qian H., Yao W. Application of edible coating with essential oil in food preservation // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2019. Vol. 59. Issue 15. P. 2467–2480. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1456402>
19. Yuan G.-F., Chen X., Li D. Chitosan films and coatings containing essential oils: The antioxidant and antimicrobial activity, and application in food systems // Food Research International. 2016. Vol. 89. Part 1. P. 117–128. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.10.004>
20. Donsì F., Ferrari G. Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food // Journal of Biotechnology. 2016. Vol. 233. P. 106–120. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.07.005>
21. Pavela R., Benelli G. Essential Oils as Eco-friendly Biopesticides? Challenges and Constraints // Trends in Plant Science. 2016. Vol. 21. Issue 12. P. 1000–1007. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.10.005>
22. Rout P.K., Naik S.N., Rao Y.R. Subcritical CO₂ extraction of floral fragrance from *Quisqualis indica* // Journal of Supercritical Fluids. 2008. Vol. 45. Issue 2. P. 200–205. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2008.02.011>
23. Sahena F., Zaidul I.S.M., Jinap S., Karim A.A., Abbas K.A., Norulaini N.A.N., et al. Application of supercritical CO₂ in lipid extraction – a review // Journal of Food Engineering. 2009. Vol. 95. Issue 2. P. 240–253. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.06.026>
24. Ibadullaeva G.S., Pichkhadze G.M., Ustenova G.O., Dil'barkhanov R., Tikhonova S.A., Grud'ko V.A., et al. Chemical composition of the CO₂-extract of *Acorus Calamus* obtained under subcritical conditions // Pharmaceutical Chemistry Journal. 2015. Vol. 49. Issue 6. P. 388–392. <https://doi.org/10.1007/s11094-015-1290-0>
25. Valle Jr.D.L., Cabrera E.C., Puzon J.J.M., Rivera W.L. Antimicrobial activities of methanol, ethanol and supercritical CO₂ extracts of Philippine *Piper betle* L. on clinical isolates of gram positive and gram negative bacteria with transferable multiple drug resistance // PLoS ONE. 2016. Vol. 11. Issue 1. Article e0146349. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146349>
26. Lazarotto M., Valério A., Boligon A., Tres M.V., Scapinello J., Dal Magro J., et al. Chemical composition and antibacterial activity of bergamot peel oil from supercritical CO₂ and compressed propane extraction // Open Food Science Journal. 2018. Vol. 10. Issue 1. P. 16–23. <https://doi.org/10.2174/1874256401810010016>
27. Vieitez I., Maceiras L., Jachmanián I., Alborés S. Antioxidant and antibacterial activity of different extracts from herbs obtained by maceration or supercritical technology // Journal of Supercritical Fluids. 2018. Vol. 133. P. 58–64. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.09.025>
28. Coelho J., Veiga J., Karmali A., Nicolai M., Pinto Reis C., Nobre B., et al. Supercritical CO₂ extracts and volatile oil of basil (*Ocimum basilicum* L.) comparison with conventional methods // Separations. 2018. Vol. 5. Issue 2. P. 21–33. <https://doi.org/10.3390/separations5020021>
29. Sibirtsev V.S., Garabadzhiu A.V., Ivanov S.D. Spectral properties of bisbenzimidazole dyes upon interaction with DNA // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. 1997. Vol. 23. Issue 12. P. 857–866.

30. Иванов С.Д., Коваленко А.Л., Кованько Е.Г., Ямшанов В.А., Акимов А.А., Забежинский М.А. [и др.]. Применение циклоферона при экспериментальной лучевой терапии опухолей // Вопросы онкологии. 1999. Т. 45. N 3. С. 292–297.

31. Sibirtsev V.S., Glibin E.N., Ivanov S.D. Variation of spectral properties of actinocin derivatives due to equilibrium transformations // Russian Journal of Organic Chemistry. 2000. Vol. 36. Issue 12. P. 1812–1818.

32. Sibirtsev V.S., Garabadzhiu A.V., Ivanov S.D. Comparative study of DNA-specific dyes of the indole and benzimidazole series // Russian Journal of Organic Chemistry. 2001. Vol. 27. Issue 1. P. 54–73. <https://doi.org/10.1023/A:1009535320077>

33. Sibirtsev V.S., Tolmachev A.Yu., Suslov V.V., Garabadzhiu A.V., Traven' V.F. Dependence of fluorescence properties of compounds from psoralen, angelicin, and carbazole series on the character of their terminal substituents // Russian Journal of Organic Chemistry. 2003. Vol. 39. Issue 6. P. 881–889. <https://doi.org/10.1023/B:RUJO.0000003169.96393.1d>

34. Sibirtsev V.S. Study of applicability of the bifunctional system "Ethidium bromide + Hoechst-33258" for DNA analysis // Biochemistry (Moscow). 2005. Vol. 70. Issue 4. P. 449–457. <https://doi.org/10.1007/s10541-005-0136-x>

35. Sibirtsev V.S., Tolmachev A.Yu., Kovaleva M.V., Garabadzhiu A.V., Traven V.F. Spectral study of interactions of 4,8,4'-trimethylpsoralen and 4,4'-dimethylangelicin dyes with DNA // Biochemistry (Moscow). 2005. Vol. 70. Issue 7. P. 822–832. <http://doi.org/10.1007/s10541-005-0190-4>

36. Sibirtsev V.S. Fluorescent DNA probes: study of mechanisms of changes in spectral properties and features of practical application // Biochem-

istry (Moscow). 2007. Vol. 72. Issue 8. P. 887–900. <https://doi.org/10.1134/S0006297907080111>

37. Sibirtsev V.S., Garabadzhiu A.V. Spectral study of the interaction of DNA with benzothiazolylbenzo-a-chromene // Biochemistry (Moscow). 2007. Vol. 72. Issue 8. P. 901–909. <https://doi.org/10.1134/S0006297907080123>

38. Sibirtsev V.S., Naumov I.A., Kuprina E.E., Olekhovich R.O. Use of impedance biotesting to assess the actions of pharmaceutical compounds on the growth of microorganisms // Pharmaceutical Chemistry Journal. 2016. Vol. 50. Issue 7. P. 481–485. <https://doi.org/10.1007/s11094-016-1473-3>

39. Сибирцев В.С., Маслова А.Ю. Комплексное исследование динамики жизнедеятельности *E. coli* в присутствии ионов переходных металлов // Научно-технический вестник информационных технологий, механики и оптики. 2019. Т. 19. N 2. С. 236–241. <https://doi.org/10.17586/2226-1494-2019-19-2-236-241>

40. Sibirtsev V.S., Uspenskaya M.V., Garabadzhiu A.V., Shvets V.I. An integrated method of instrumental microbiotesting of environmental safety of various products, wastes, and territories // Doklady Biological Sciences. 2019. Vol. 485. Issue 1. P. 59–61. <https://doi.org/10.1134/S001249661902011X>

41. Сибирцев В.С., Гарабаджиу А.В., Швец В.И. Новая методика комплексного фотофлуоресцентного микробиотестирования // Доклады Академии наук. 2019. Т. 489. N 6. С. 641–645. <https://doi.org/10.31857/S0869-56524896641-645>

42. Johnson K.J. Numerical methods in chemistry. New York: Taylor & Francis, 1980. 503 p.

43. Sibirtsev V.S. Analysis of benzo[a]pyrene deactivation mechanisms in rats // Biochemistry (Moscow). 2006. Vol. 71. Issue 1. P. 90–98. <https://doi.org/10.1134/S0006297906010147>

REFERENCES

1. Sutherland J, Miles M, Hedderley D, Li J, Devoy S, Sutton K, Lauren D. *In vitro* effects of food extracts on selected probiotic and pathogenic bacteria. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2009;60(8):717–727. <http://doi.org/10.3109/09637480802165650>

2. Das S, Anjeza C, Mandal S. Synergistic or additive antimicrobial activities of *Indian spice* and herbal extracts against pathogenic, probiotic and food-spoiler microorganisms. *International Food Research Journal*. 2012;19(3):1185–1191.

3. Al-Zubairi AS, Al-Mamary MA, Al-Ghasani E. The antibacterial, antifungal and antioxidant activities of essential oil from different aromatic plants. *Global Advanced Research Journal of Medicine and Medical Sciences*. 2017;6(9):224–233.

4. Zhuravlev OE, Voronchikhina LI. Synthesis and antimicrobial activity of n-decylpyridinium salts with inorganic anions. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2018;52(4):312–315. <https://doi.org/10.1007/s11094-018-1813-6>

5. Luzhnova SA, Tyrkov AG, Gabitova NM, Yurtaeva EA. Synthesis and antimicrobial activity of 5-(arylmethylidene)-2,4,6-pyrimidine-2,4,6-(1*H*,3*H*,5*H*)-triones. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2018; 52(6):506–509. <https://doi.org/10.1007/s11094-018-1849-7>

6. Rodino S, Butu M. Herbal extracts – new trends in functional and medicinal beverages. In: Grumezescu AM, Holban AM. (eds.) *Functional and Medicinal Beverages*. Vol. 11: The Science of Beverages. Chapter 3. Academic Press; 2019. p. 73–108. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816397-9.00003-0>

7. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food Microbiology*. 2004;94(3):223–253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>

8. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils – a review. *Food and Chemical Toxicology*. 2008;46(2):446–

475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
9. Tripathi AK, Bhojar PK, Baheti JR, Biyani DM, Khalique M, Kothmire MS, et al. Herbal antidiabetics: a review. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*. 2011;2(1):30–37.
10. Fatima A, Alok S, Agarwal P, Singh PP, Verma A. Benefits of herbal extracts in cosmetics: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2013;4(10):3746–3760. [https://doi.org/10.13040/ijpsr.0975-8232.4\(10\).3746-60](https://doi.org/10.13040/ijpsr.0975-8232.4(10).3746-60)
11. Alok S, Jain SK, Verma A, Kumar M, Mahor A, Sabharwal M. Herbal antioxidant in clinical practice: a review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2014;4(1):78–84. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(14\)60213-6](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(14)60213-6)
12. Radice M, Manfredini S, Ziosi P, Dissette V, Buso P, Fallacara A, et al. Herbal extracts, lichens and biomolecules as natural photo-protection alternatives to synthetic UV filters. A systematic review. *Fitoterapia*. 2016;114:144–162. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2016.09.003>
13. Merghni A, Marzouki H, Hentati H, Aouni M, Mastouri M. Antibacterial and antibiofilm activities of *Laurus nobilis* L. essential oil against *Staphylococcus aureus* strains associated with oral infections. *Current Research in Translational Medicine*. 2016;64(1):29–34. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2015.10.003>
14. Fani M, Kohanteb J. *In vitro* antimicrobial activity of thymus vulgaris essential oil against major oral pathogens. *Journal of Evidence-based Complementary & Alternative Medicine*. 2017;22(4):660–666. <https://doi.org/10.1177/2156587217700772>
15. Kokina MS, Frioui M, Shamtsyan M, Sibirtsev VS, Krasnikova LV, Konusova VG, et al. Influence of pleurotus ostreatus beta-glucans on the growth and activity of certain lactic acid bacteria. *Scientific Study and Research: Chemistry and Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*. 2018;19(4):465–471.
16. Atarés L, Chiralt A. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. *Trends in Food Science & Technology*. 2016;48:51–62. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.12.001>
17. Ribeiro-Santos R, Andrade M, Melo NR, Sanches-Silva A. Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends. *Trends in Food Science & Technology*. 2017;61:132–140. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.11.021>
18. Ju J, Xie Y, Guo Y, Cheng Y, Qian H, Yao W. Application of edible coating with essential oil in food preservation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2019;59(15):2467–2480. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1456402>
19. Yuan G, Chen X, Li D. Chitosan films and coatings containing essential oils: The antioxidant and antimicrobial activity, and application in food systems. *Food Research International*. 2016; 89:117–128. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.10.004>
20. Donsì F, Ferrari G. Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food. *Journal of Biotechnology*. 2016;233:106–120. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.07.005>
21. Pavela R, Benelli G. Essential Oils as Eco-friendly Biopesticides? Challenges and Constraints. *Trends in Plant Science*. 2016;21(12):1000–1007. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.10.005>
22. Rout PK, Naik SN, Rao YR. Subcritical CO₂ extraction of floral fragrance from *Quisqualis indica*. *Journal of Supercritical Fluids*. 2008;45(2):200–205. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2008.02.011>
23. Sahena F, Zaidul ISM, Jinap S, Karim AA, Abbas KA, Norulaini NAN, et al. Application of supercritical CO₂ in lipid extraction – a review. *Journal of Food Engineering*. 2009;95(2):240–253. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.06.026>
24. Ibadullaeva GS, Pichkhadze GM, Ustenova GO, Dil'barkhanov R, Tikhonova SA, Grud'ko VA, et al. Chemical composition of the CO₂-extract of *Acorus Calamus* obtained under subcritical conditions. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2015;49(6):388–392. <https://doi.org/10.1007/s11094-015-1290-0>
25. Valle JrDL, Cabrera EC, Puzon JJM, Rivera WL. Antimicrobial activities of methanol, ethanol and supercritical CO₂ extracts of Philippine *Piper betle* L. on clinical isolates of gram positive and gram negative bacteria with transferable multiple drug resistance. *PLoS ONE*. 2016;11(1). Article e0146349. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146349>
26. Lazarotto M, Valério A, Boligon A, Tres MV, Scapinello J, Dal Magro J, et al. Chemical composition and antibacterial activity of bergamot peel oil from supercritical CO₂ and compressed propane extraction. *Open Food Science Journal*. 2018;10(1):16–23. <https://doi.org/10.2174/1874256401810010016>
27. Vieitez I, Maceiras L, Jachmanián I, Alborés S. Antioxidant and antibacterial activity of different extracts from herbs obtained by maceration or supercritical technology. *Journal of Supercritical Fluids*. 2018;133:58–64. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.09.025>
28. Coelho J, Veiga J, Karmali A, Nicolai M, Pinto Reis C, Nobre B, et al. Supercritical CO₂ extracts and volatile oil of basil (*Ocimum basilicum* L.) comparison with conventional methods. *Separations*. 2018;5(2):21–33. <https://doi.org/10.3390/separations5020021>
29. Sibirtsev VS, Garabadzhiu AV, Ivanov SD. Spectral properties of bisbenzimidazole dyes upon interaction with DNA. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 1997;23(12):857–866.
30. Ivanov SD, Kovalenko AL, Kovan'ko EG, Jamschanov VA, Akimov AA, Zabezhinskii MA, et al. The use of cycloferon in experimental radiation therapy of tumors. *Voprosy onkologii = Problems in Oncology*. 1999;45(3):292–297. (In Russian)
31. Sibirtsev VS, Glibin EN, Ivanov SD. Variation of spectral properties of actinocin derivatives

due to equilibrium transformations. *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2000;36(12):1812–1818.

32. Sibirtsev VS, Garabadzhiu AV, Ivanov SD. Comparative study of DNA-specific dyes of the indole and benzimidazole series. *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2001;27(1):54–73. <https://doi.org/10.1023/A:1009535320077>

33. Sibirtsev VS, Tolmachev AYu, Suslov VV, Garabadzhiu AV, Traven' VF. Dependence of fluorescence properties of compounds from psoralen, angelicin, and carbazole series on the character of their terminal substituents. *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2003;39(6):881–889. <https://doi.org/10.1023/B:RUJO.0000003169.96393.1d>

34. Sibirtsev VS. Study of applicability of the bifunctional system "Ethidium bromide + Hoechst-33258" for DNA analysis. *Biochemistry (Moscow)*. 2005;70(4):449–457. <https://doi.org/10.1007/s10541-005-0136-x>

35. Sibirtsev VS, Tolmachev AYu, Kovaleva MV, Garabadzhiu AV, Traven VF. Spectral study of interactions of 4,8,4'-trimethylpsoralen and 4,4'-dimethylangelicin dyes with DNA. *Biochemistry (Moscow)*. 2005;70(7):822–832. <http://doi.org/10.1007/s10541-005-0190-4>

36. Sibirtsev VS Fluorescent DNA probes: study of mechanisms of changes in spectral properties and features of practical application. *Biochemistry (Moscow)*. 2007;72(8):887–900. <https://doi.org/10.1134/S0006297907080111>

37. Sibirtsev VS, Garabadzhiu AV. Spectral study of the interaction of DNA with benzothiazolyl-benz-a-chromene. *Biochemistry (Moscow)*. 2007;

72(8):901–909. <https://doi.org/10.1134/S0006297907080123>

38. Sibirtsev VS, Naumov IA, Kuprina EE, Olekhovich RO. Use of impedance biotesting to assess the actions of pharmaceutical compounds on the growth of microorganisms. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2016;50(7):481–485. <https://doi.org/10.1007/s11094-016-1473-3>

39. Sibirtsev VS, Maslova AYu. Complex research of *E. coli* vital activity dynamics in presence of transition metal ions. *Nauchno-tekhnicheskii vestnik informacionnykh tekhnologii, me-khaniki i optiki = Scientific and Technical Journal of Information Technologies, Mechanics and Optics*. 2019;19(2):236–241. (In Russian) <https://doi.org/10.17586/2226-1494-2019-19-2-236-241>

40. Sibirtsev VS, Uspenskaya MV, Garabadzhiu AV, Shvets VI. An integrated method of instrumental microbiotesting of environmental safety of various products, wastes, and territories. *Doklady Biological Sciences*. 2019;485(1):59–61. <https://doi.org/10.1134/S001249661902011X>

41. Sibirtsev VS, Garabadzhiu AV, Shvets VI. New method of complex photo-fluorescent microbiotesting. *Doklady Akademii nauk*. 2019;489(6):196–199. (In Russian) <https://doi.org/10.1134/S0012496619060103>

42. Johnson KJ. *Numerical methods in chemistry*. New York: Taylor & Francis; 1980. 503 p.

43. Sibirtsev VS. Analysis of benzo[a]pyrene deactivation mechanisms in rats. *Biochemistry (Moscow)*. 2006;71(1):90–98. <https://doi.org/10.1134/S0006297906010147>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Сибирцев Владимир Станиславович,
к.х.н., доцент, заведующий лабораторией
технологии переработки продуктов
биосинтеза,
ВНИИ пищевых добавок – филиал
Федерального научного центра пищевых
систем им. В.М. Горбатова РАН,
191014, г. Санкт-Петербург, Литейный пр-т, 55,
Российская Федерация,
✉ e-mail: vs1969r@mail.ru

Нечипоренко Ульяна Юрьевна,
младший научный сотрудник,
ВНИИ пищевых добавок – филиал
Федерального научного центра пищевых
систем им. В.М. Горбатова РАН,
191014, г. Санкт-Петербург, Литейный пр-т, 55,
Российская Федерация,
e-mail: unechiporenko@yandex.ru

Кабанов Владимир Леонидович,
младший научный сотрудник,
ВНИИ пищевых добавок – филиал
Федерального научного центра пищевых

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Vladimir S. Sibirtsev,
Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Head of the Laboratory of Technology
for Processing Biosynthesis Products,
All-Russia Research Institute for Food Additives –
branch of V.M. Gorbатов Federal Research
Center for Food Systems of RAS,
55, Liteiny Ave., St. Petersburg, 191014,
Russian Federation,
✉ e-mail: vs1969r@mail.ru

Ulyana Yu. Nechiporenko,
Junior Researcher,
All-Russia Research Institute for Food Additives –
Branch of V.M. Gorbатов Federal Research
Center for food systems of RAS,
55, Liteiny Ave., St. Petersburg, 191014,
e-mail: unechiporenko@yandex.ru

Vladimir L. Kabanov,
Junior Researcher,
All-Russia Research Institute for Food Additives –
Branch of V.M. Gorbатов Federal Research

систем им. В.М. Горбатова РАН,
191014, г. Санкт-Петербург, Литейный пр-т, 55,
Российская Федерация,
e-mail: kabanof_v@yahoo.com

Буханцев Олег Васильевич,
к.б.н., заместитель директора по инновациям,
ВНИИ пищевых добавок – филиал
Федерального научного центра пищевых
систем им. В.М. Горбатова РАН,
191014, г. Санкт-Петербург, Литейный пр-т, 55,
Российская Федерация,
e-mail: bukhantsev_ov@yandex.ru

Заявленный вклад авторов

Сибирцев В.С. – концепция исследования;
написание текста статьи; итоговые выводы;
Нечипоренко У.Ю. и Кабанов В.Л. – участие в
проведении экспериментов;
Буханцев О.В. – участие в сборе материалов
для исследования и обсуждении результатов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили оконча-
тельный вариант рукописи.*

*Статья поступила в редакцию 16.03.2020;
одобрена после рецензирования 30.09.2020;
принята к публикации 30.11.2020.*

Center for food systems of RAS,
55, Liteiny Ave., St. Petersburg, 191014,
e-mail: kabanof_v@yahoo.com

Oleg V. Bukhantsev,
Cand. Sci. (Biology),
Deputy Director for Innovation,
All-Russia Research Institute for Food Additives –
branch of V.M. Gorbатов Federal Research
Center for Food Systems of RAS,
55, Liteiny Ave., St. Petersburg, 191014,
e-mail: bukhantsev_ov@yandex.ru

Contribution of the authors

Sibirtsev V.S. – research concept, writing the text
of the article final conclusions;
Nechiporenko U.Yu. and Kabanov V.L. – partici-
pation in experiments;
Bukhantsev O.V. – participation in the collection
of materials for research and discussion of the
results.

Conflict interests

The authors declare no conflict of interests re-
garding the publication of this article.

*The final manuscript has been read and approved
by all the co-authors.*

*The article was submitted 16.03.2020;
approved after reviewing 30.09.2020;
accepted for publication 30.11.2020.*