

НОВЫЕ МАТЕРИАЛЫ И НАНОТЕХНОЛОГИИ

MATERIAL SCIENCE AND NANOTECHNOLOGIES

УДК 615, 614.35, 547.9, 57.044,
57.083.1, 543.95, 543.55, 543.4

doi: 10.17586/2226-1494-2020-20-6-791-801

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ НА АКТИВНОСТЬ ЗОЛОТИСТОГО СТАФИЛОКОККА МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО БИОТЕСТИРОВАНИЯ

В.С. Сибирцев^a, У.Ю. Нечипоренко^a, В.Л. Кабанов^a, М.Ю. Кукин^a,
А.Ю. Маслова^b, М.А. Радин^c

^a Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, 191014, Санкт-Петербург, Российская Федерация

^b Университет ИТМО, Санкт-Петербург, 197101, Российская Федерация

^c Санкт-Петербургский университет промышленных технологий и дизайна, 191186, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Адрес для переписки: vs1969r@mail.ru

Информация о статье

Поступила в редакцию 24.09.20, принята к печати 25.10.20

Язык статьи — русский

Ссылка для цитирования: Сибирцев В.С., Нечипоренко У.Ю., Кабанов В.Л., Кукин М.Ю., Маслова А.Ю., Радин М.А. Оценка влияния растительных экстрактов на активность золотистого стафилококка методом электрохимического биотестирования // Научно-технический вестник информационных технологий, механики и оптики. 2020. Т. 20. № 6. С. 791–801. doi: 10.17586/2226-1494-2020-20-6-791-801

Аннотация

Предмет исследования. Разработана методика экспрессной инструментальной оценки микробной обсемененности, а также про- и антибиотических свойств фармакологической, пищевой и иной продукции. **Метод.** Разработанная методика заключается в периодической инструментальной регистрации изменений рН, редокс потенциала и удельной электрической проводимости жидкой питательной среды, инкубируемой в присутствии и в отсутствие жизнеспособных тестовых микроорганизмов и тестируемых образцов. Выполнен сравнительный анализ про- и антибиотической активности золотистого стафилококка при различных концентрациях целевых докритических экстрактов, полученных из десяти различных видов растительного сырья с использованием в качестве экстрагента сжиженного углекислого газа. **Основные результаты.** Проведенные исследования подтвердили, что представленная методика, в сравнении со стандартными, позволяет более оперативно, объективно и информативно оценивать исходную микробную обсемененность, а также влияние на динамику жизненной активности микроорганизмов различных образцов фармацевтической, пищевой и иной продукции. Показано, что среди исследованных образцов наиболее активные пролонгированные антибиотические свойства проявили экстракты из плодов бузины черной и шиповника коричневого, а также зеленых листьев чайного куста при их концентрациях в тестовой среде от 3 об.% и выше. А наиболее активные пролонгированные пробиотические свойства выявлены у экстрактов из травы зверобоя продырявленного и зеленых листьев чайного куста при их концентрациях в тестовой среде равных 0,2 об.%. При этом биологическая активность тестируемых образцов в отношении тестовых микроорганизмов в большинстве случаев монотонно уменьшалась с увеличением времени взаимодействия упомянутых микроорганизмов и образцов. **Практическая значимость.** Результаты проведенного исследования могут найти применение при разработке составов и оценке свойств новой фармацевтической, пищевой и иной продукции, включающей в себя различные растительные экстракты. Кроме того, предложенная методика инструментального микробиологического тестирования может быть использована при контроле микробной обсемененности, а также про- и антибиотических свойств различных образцов уже принятой к применению продукции, а также отдельных ингредиентов и добавок к этой продукции.

Ключевые слова

микробиологическое тестирование, антибиотические свойства, экстракты растительные, микробная обсемененность

EFFECT OF PLANT EXTRACTS ON ACTIVITY OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* BY ELECTROCHEMICAL BIOTESTING

V.S. Sibirtsev^a, U.Yu. Nechiporenko^a, V.L. Kabanov^a, M.Yu. Kukin^a, A.Yu. Maslova^b, M.A. Radin^c

^a All-Russian Research Institute for Food Additives – Branch of V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS, Saint Petersburg, 191014, Russian Federation

^b ITMO University, Saint Petersburg, 197101, Russian Federation

^c Saint Petersburg State University of Industrial Technologies and Design, Saint Petersburg, 191186, Russian Federation

Corresponding author: vs1969r@mail.ru

Article info

Received 24.09.20, accepted 25.10.20

Article in Russian

For citation: Sibirtsev V.S., Nechiporenko U.Yu., Kabanov V.L., Kukin M.Yu., Maslova A.Yu., Radin M.A. Effect of plant extracts on activity of *Staphylococcus aureus* by electrochemical biotesting. *Scientific and Technical Journal of Information Technologies, Mechanics and Optics*, 2020, vol. 20, no. 6, pp. 791-801 (in Russian). doi: 10.17586/2226-1494-2020-20-6-791-801

Abstract

Subject of Research. The paper presents a developed method for rapid instrumental assessment of microbial contamination, as well as pro- and antibiotic properties of pharmacological, food and other products. **Method.** The developed technique consisted in periodic instrumental registration of changes in pH, redox potential, and electrolytic conductivity of a liquid nutrient medium incubated in the presence and absence of viable test microorganisms and test samples. A comparative analysis of the pro- and antibiotic activity of *Staphylococcus aureus* was carried out at various concentrations of whole subcritical extracts obtained from ten different types of plant raw materials using liquefied carbon dioxide as an extractant. **Main Results.** The studies carried out have confirmed that the presented method makes it possible to assess the initial microbial contamination more speedily, objectively and informatively in comparison with the standard one as well as the effect of various samples of pharmaceutical, food and other products on the dynamics of the microorganisms' vital activity. Among the studied samples, the most active prolonged antibiotic properties have been exhibited by extracts from the fruits of *Sambucus nigra* and *Rosa cinnamomea*, as well as green leaves of *Camellia sinensis* at their concentrations in the test medium from 3 vol.% and higher. The most active prolonged probiotic properties have been found in extracts from the *Hypericum perforatum* herb and green leaves of *Camellia sinensis* at their concentrations in the test medium equal to 0.2 vol.%. In this case, the biological activity of the tested samples with respect to test microorganisms in the most cases have monotonically decreased with an increase in the interaction time of the mentioned microorganisms and samples. **Practical Relevance.** The results of this study can find application in the composition development and assessment of the properties of new pharmaceutical, food and other products, including various plant extracts. In addition, the proposed method of instrumental microbiological testing can be applicable for control of microbial contamination, as well as pro- and antibiotic properties of various samples of products already accepted for the usage, and individual ingredients and additives to them.

Keywords

microbiological biotesting, antibiotic properties, plant extracts, microbial contamination

Введение

В последнее время в фармацевтической, косметической, пищевой, кормовой и других отраслях народного хозяйства все более актуальной становится проблема разработки достаточно объективных и в то же время экспрессных и доступных для широкого применения методов количественной оценки исходной микробной обсемененности, а также про- и антибиотических свойств большого количества образцов как новой, так и уже допущенной к применению продукции. Вышеупомянутые методы являются одной из важных составляющих системы мониторинга качества и безопасности продукции. При их реализации применяются как многоклеточные, так и одноклеточные тестовые живые организмы. Причем последние используются не только как наиболее дешевая, доступная и статистически достоверная модель живых организмов в целом; но и как модель полезной естественной микробиоты человека, а также природной микробиоты, способной 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 времени, материалов и труда квалифицированного персонала, давая в результате лишь весьма неполную, субъективную и «статичную» информацию о нарушениях жизнедеятельности тестовых организмов [1–3]. Таким образом, перспективным представляется использование в микробиологическом тестировании инструментальных технологий, среди которых наиболее простыми в исполнении, достоверными и универсальными являются сейчас различные оптические и электрохимические методы.

Кроме того, в последнее время в фармацевтической, косметической, пищевой, кормовой и иной 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, наличием различных физико-химических факторов загрязнения окружающей

среды, недостатком природного освещения и физической активности, контактами с многочисленной постоянной 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 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 экстракты из различного растительного сырья в настоящее время являются одним из наиболее приемлемых и распространенных источников БАВ, используемых в качестве функциональных добавок к фармацевтической, косметической, пищевой, кормовой и другой продукции. А из различных видов растительных экстрактов наиболее широкое распространение в настоящее время получили так называемые «эфирные масла», промышленно либо лабораторно получаемые из различного растительного сырья разными физико-химическими способами (такими как холодный или горячий отжим, дистилляция, экстрагирование при нормальных либо повышенных давлениях и/или температуре с помощью различных органических растворителей с последующим удалением этих растворителей при дополнительно повышенной температуре либо под вакуумом и т. п.) [4]. Эфирные масла, получаемые таким образом, позволяют достичь существенно большей и стабильной во времени биологической активности конечного продукта по сравнению с водными, спиртовыми и иными растительными экстрактами, получаемыми без удаления экстрагентов. Причем, как уже говорилось, эфирные масла, получаемые «холодными» методами (особенно, такими как отжим), как правило богаче по составу и биологической активности экстрагируемых в них растительных БАВ (поскольку дистилляция позволяет извлекать из сырья только достаточно летучие и термостабильные вещества, а экстракция – только вещества, достаточно хорошо растворимые в используемом экстрагенте), но содержат меньшие концентрации БАВ, более критичны к сырью и дают, как правило, слишком малый выход из сырья конечного продукта. Вследствие этого, эфирные масла в настоящее время наиболее широко среди других видов растительных экстрактов применяются в пищевой, фармацевтической, косметической и других отраслях промышленности в качестве добавок, обладающих избирательным либо малоспецифическим про- или антимикробным действием; либо добавок, обладающих различными видами нормализующего действия (используемого, в том числе при лечении различных нервных, сердечно-сосудистых, диабетических, пищеварительных и иных заболеваний); либо консервирующих,

антиоксидантных, ароматизирующих, вкусовых и иных видов добавок [3, 4–13]. Кроме того, эфирные масла используются в качестве антисептиков, экологически безопасных инсектицидов и пестицидов, добавок к различным зуботерапевтическим, ранозаживляющим и другим медицинским и упаковочным материалам (съедобным, биоразлагаемым, обладающим выраженным антимикробным действием и т. п.) [5, 14–19].

Помимо этого, в последнее время в пищевой, кормовой, фармацевтической и иных отраслях промышленности все большее применение вместо эфирных масел находят экстракты, получаемые из аналогичного растительного сырья, но с использованием в качестве экстрагента сжиженного углекислого газа ($\text{CO}_2\text{РЭ}$), который затем за счет изменения давления и температуры конечного продукта полностью удаляется из последнего [20–26]. Так, например, ООО «Биоцевтика», (Российская Федерация (РФ), Московская обл., г. Дедовск, <https://biozevтика.ru>) к настоящему времени уже не только разработала, но и внедрила в производство с последующей достаточно широкой реализацией целую линейку йогуртов, майонезов, растительных и сливочных масел, пряных смесей (сухие, жиро- либо водорастворимые), соков, лимонадов и т. п. с добавками различных $\text{CO}_2\text{РЭ}$ (производимых этой же компанией).

При этом, как правило, такие $\text{CO}_2\text{РЭ}$ характеризуются, по сравнению с эфирными маслами, существенно большим разнообразием входящих в их состав БАВ. Если экстрагирование проводится при давлении выше 7,6 МПа и температуре углекислого газа (CO_2) ниже 31 °С — то такие экстракты называются «докритическими» (поскольку CO_2 в них, находясь в докритическом состоянии, проявляет свойства «обычной» жидкости). 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, $\text{CO}_2\text{РЭ}$ делятся на «селективные» (получаемые при низких давлениях CO_2 и имеющие состав, близкий к эфирным маслам) и «цельные» (получаемые при высоких давлениях CO_2). Причем наиболее богаты различными БАВ цельные докритические $\text{CO}_2\text{РЭ}$, имеющие в своем составе помимо летучих компонентов, обычных для эфирных масел, также более тяжелые растительные смолы, парафины, пигменты и т. п. Они, как правило, обладают более вязкой пастообразной консистенцией, чем эфирные масла, но легко растворяются как эфирами, так и растительными маслами (хотя в ряде случаев для их растворения требуется небольшое нагревание).

В связи с вышесказанным целью настоящего исследования стала разработка экспрессной и объективной инструментальной методики оценки как микробной обсемененности, так и про- и антибиотических свойств различных образцов фармацевтической, косметической, пищевой, кормовой и другой продукции, а также отдельных ингредиентов и добавок к ним; с последующим сравнительным анализом с помощью разработанной методики влияния на динамику жизнедеятельности микробиоты человека различных растительных экстрактов.

Объекты исследования

В качестве объекта исследования в настоящей работе выбраны цельные докритические экстракты, произведенные ООО «Казанский завод экстрактов» (РФ, г. Казань) с помощью сжиженного CO_2 при его давлении в 7,3 МПа и температуре 20 °С из следующих видов растительного сырья:

- 1) сырые зерна арабийского кофейного дерева (*Coffea arabica*);
- 2) зеленые листья чайного куста (*Camellia sinensis*);
- 3) плоды шиповника коричного (*Rosa cinnamomea*);
- 4) цветки ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla*);
- 5) трава зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum*);
- 6) семена тмина обыкновенного (тмин зеленый, *Carum carvi*);
- 7) семена аниса обыкновенного (*Pimpinella anisum*);
- 8) соплодия хмеля вьющегося (*Humulus lupulus*);
- 9) плоды бузины черной (*Sambucus nigra*);
- 10) плоды калины красной (*Viburnum opulus*).

Этот завод является в настоящее время крупнейшим в России производителем CO_2 РЭ. Сырье видов 1 и 2 было получено с юга Китая, сырье видов 6 и 7 — из Турции, остальное сырье — из России (средняя полоса).

Методика биотестирования

Для анализа влияния различных концентраций тестируемых экстрактов на динамику жизнедеятельности микроорганизмов, исходя из результатов уже имевшихся авторских работ по различным способам инструментального микробиологического тестирования [27–34], была разработана следующая методика.

Для каждой партии тестируемых экстрактов проводилось по четыре серии измерений, перед началом каждой из которых готовилась питательная среда, представлявшая собой стерильный водный раствор с рН $7,2 \pm 0,2$, содержащий 5 г/л глюкозы, 20 г/л белкового гидролизата и 2 г/л NaCl. Затем эта питательная среда засеивалась золотистым стафилококком (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213), который был выбран в качестве типичного представителя условно-патогенной микробиоты человека. После этого данная питательная среда с тестовыми микроорганизмами инкубировалась при $37 \pm 0,1$ °С, пока содержание жизнеспособных микроорганизмов в ней не достигало примерно 5×10^6 кл/мл (что удостоверялось нефелометрическим способом по бактериальному стандарту мутности).

Далее полученная тестовая среда разливалась по тестовым измерительным емкостям (ИЕ), в каждую из которых предварительно добавлялось (по три ИЕ в параллель) количество тестируемого экстракта, необходимое для достижения заданной его концентрации в тестовой среде. Аналогичным образом необходимое количество тестируемого экстракта добавлялось также в три «контрольных-2» ИЕ, содержащих стерильную питательную среду. В то время как три «контрольных-1» ИЕ, содержали тестовую среду с жизнеспособными микроорганизмами без тестируемых экстрактов.

Затем как тестовые, так и все контрольные ИЕ инкубировались при $37 \pm 0,1$ °С в течение еще 6 ч. При этом у тестовых сред, содержащихся в каждой из ИЕ, последовательно, с интервалом 2 ч регистрировались: рН; редокс потенциал (E , мВ); удельная, линейная, низкочастотная электрическая проводимость (X , мСм/см). Причем рН и E регистрировались с помощью иономера «Эксперт-001» (РФ) с комбинированными электродами «ЭСК-10601/7» и «ЭРП-105». А X регистрировалась с помощью кондуктометра «Эксперт-002» (РФ) с датчиком «УЭП-П-С», работающим на частоте 1,6 кГц.

Исходя из полученных данных, общие степени активирования (+) либо ингибирования (–) жизнедеятельности тестовых микроорганизмов заданными концентрациями тестируемых образцов после k часов их совместного инкубирования в жидкой тестовой среде (ε_k , %) рассчитывались по формуле

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

При этом величины $\varepsilon_{\text{pH},k}$, $\varepsilon_{E,k}$ и $\varepsilon_{X,k}$ (частные степени активирования либо ингибирования жизнедеятельности тестовых микроорганизмов заданными концентрациями тестируемых образцов после k часов их совместного инкубирования в жидкой тестовой среде) определялись отдельно по результатам измерений рН, E и X у тестовых сред, содержащихся в ИЕ, в ходе инкубации этих ИЕ по формуле

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

Индекс k показывает, через сколько часов инкубации содержащихся в ИЕ тестовых сред с жизнеспособными микроорганизмами в них производились измерения рН, E и X . Индекс i показывает измерения, по какому параметру (рН, E или X) учитывались в формуле (2) (например, $\varepsilon_{\text{pH},k} = 100 \times (\Delta Y_{\text{pH},k} - \Delta Y_{c,\text{pH},k})/\Delta Y_{c,\text{pH},k}$).

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 данном случае $N = 3 \times 4 = 12$) изменения значений i -параметра тестовой среды (рН, E или X), произошедшие за k часов от начала инкубирования этой среды в присутствии заданной концентрации тестируемого экстракта (ΔY_t , наблюдаемое в тестовых ИЕ) либо в отсутствие тестируемых экстрактов (ΔY_c , наблюдаемое в «контрольных-1» ИЕ, тестовые среды в которых содержали жизнеспособные микроорганизмы, но не содержали тестируемых экстрактов).

Например:

$$\Delta Y_{\text{pH},2} = \text{pH}_{\text{T},2} - \text{pH}_{\text{T},0}, \Delta Y_{X,4} = X_{C,4} - X_{C,0},$$

где $\text{pH}_{\text{T},0}$ — значение рН среды в тестовой ИЕ в начале инкубирования; $\text{pH}_{\text{T},2}$ — значение рН среды в тестовой ИЕ через 2 ч после начала инкубирования; $X_{C,0}$ — значение X среды в «контрольной-1» ИЕ в начале инкубирования; $X_{C,4}$ — значение X среды в «контрольной-1» ИЕ через 4 ч после начала инкубирования) и т. д.

Ошибка определения каждой из усредненных величин $\varepsilon_{\text{pH},k}$, $\varepsilon_{E,k}$ и $\varepsilon_{X,k}$ рассчитывалась стандартным образом [35–37], как $\Delta \varepsilon_Y = t_{\alpha, N-1} \sigma_Y$, с использованием

критерия Стьюдента ($t_{\alpha, N-1}$ для уровня достоверности $\alpha = 0,95$ и числа степеней свободы $N - 1$), математического ожидания ($\varepsilon_{Y,S} = \sum \varepsilon_{Y,i} / N$) и его дисперсии ($\sigma_Y = [\sum (\varepsilon_{Y,i} - \varepsilon_{Y,S})^2 / (N - 1)]^{1/2}$). После чего полученные значения $\Delta \varepsilon_{pH,k}$, $\Delta \varepsilon_{E,k}$ и $\Delta \varepsilon_{X,k}$ суммировались для величины ε_k по стандартной формуле [35–37], исходя из которой $\Delta \varepsilon_k = (\Delta \varepsilon_{pH,k} + 0,7 \Delta \varepsilon_{E,k} + 0,7 \Delta \varepsilon_{X,k}) / 2,4$.

Параметры рН, E и X были выбраны для оценки общей степени активирования или ингибирования жизнедеятельности тестовых микроорганизмов заданными концентрациями тестируемых экстрактов так как:

- 1) они наиболее надежно измеряются инструментально;
- 2) эти параметры достаточно чувствительно связаны с тем, на сколько процентов по отношению к контролю ускоряется или замедляется 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 заданного тестируемого экстракта по сравнению с теми же процессами, осуществляемыми теми же микроорганизмами в той же среде в отсутствие тестируемых экстрактов.

Последнее имеет место вследствие того, что преобразование микроорганизмами катаболитов в анаболиты существенно изменяет кислотность, электрохимический окислительно-восстановительный потенциал и электрическую проводимость последних.

Правомерность объединения в один параметр ε 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 тестируемого экстракта, в то же время несколько по-разному характеризуя это изменение (поскольку изменение рН, E и X в тестовой среде обуславливали разные метаболические процессы, осуществляемые присутствующими там жизнеспособными микроорганизмами). В результате суммарная величина ε более информативно и адекватно характеризует изменения метаболической активности тестовых микроорганизмов, чем каждая из величин ε_{pH} , ε_E и ε_X по отдельности.

Последнее подтверждается тем, что для ε имела место 90 % достоверная корреляция с изменением количества колонии образующих единиц (КОЕ) тестовых микроорганизмов, определяемым с применением стандартной методики [1–3, 38, 39]. Последняя предусматривала визуальный подсчет колоний тестовых микроорганизмов, выросших после 24 ч инкубации их при 37 °С на плотной питательной среде (имеющей тот же состав, что и использовавшаяся авторами жидкая питательная среда, но с добавлением 20 г/л микробиологического агара-агара) в присутствии и в отсутствие заданного количества какого-либо из тестируемых экстрактов. При этом высевание 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. И данные по этим разведениям соответствующим образом статистически обрабатывались.

Микробная обсемененность (C_M) тестируемых образцов могла быть рассчитана по формулам, аналогичным (1) и (2), но где ΔYt определялось не для тестовых, а для «контрольных-1» ИЕ (содержащих те же микроорганизмы в той же среде, что и тестовые ИЕ, но в отсутствие тестируемых экстрактов), в то время как ΔYc определялось для «контрольных-2» ИЕ (содержащих какой-либо из тестируемых экстрактов в стерильной питательной среде). Полученное значение C_M^* домножалось на калибровочный коэффициент, определяемый предварительно на основании сравнения результатов, полученных с помощью описанной выше методики, с результатами, полученными для тех же концентраций тех же тестируемых экстрактов с помощью вышеупомянутой стандартной методики микробиологического тестирования. При этом C_M показывало, сколько жизнеспособных микроорганизмов исходно присутствовало в тестируемом образце. Причем, если вместо «общенакопительной» питательной среды, использованной в этой работе, тестируемый образец инкубировать в селективных питательных средах, то указанным выше способом можно определять микробную обсемененность тестируемого образца не только общую, но и применительно к отдельным видам и штаммам микроорганизмов.

Результаты апробации методики биотестирования

Основные данные, полученные описанным выше способом применительно к объектам настоящего исследования, представлены в таблице и на рисунке. При этом на последнем по оси ординат отложены значения ε , определявшиеся для тестируемых экстрактов по результатам измерений рН, редокс потенциала и электрической проводимости жидких питательных сред с тестовыми микроорганизмами через 2, 4 и 6 ч их инкубирования по формулам (1) и (2). По оси абсцисс отложены номера сырья, из которого получали тестируемые экстракты, обозначенные так же, как в таблице и в разделе «Объекты исследования».

Из рисунка видно, что с изменением концентраций тестируемых экстрактов в тестовой среде может достаточно существенно меняться и характер их как про-, так и антибиотической активности относительно других тестируемых экстрактов.

Также разную как про-, так и антибиотическую активность имели тестируемые экстракты, полученные из разных частей разных растений. В частности, отчетливо это видно на примере сравнения антибиотической активности экстрактов, полученных из семян тмина обыкновенного (*Carum carvi*), а также плодов бузины черной (*Sambucus nigra*) и калины красной (*Viburnum opulus*), для которых при их концентрации в тестовой среде (C_{TE}) равной 3 об.% величины ε_6 (определяемые через 6 ч инкубации тестовых микроорганизмов в присутствии тестируемых экстрактов) составили -22 ± 3 ,

Таблица. Общая степень активирования (+) либо ингибирования (–) *Staphylococcus aureus* (ϵ , %) при различной продолжительности их инкубирования в жидкой питательной среде при различных концентрациях тестируемых экстрактов из разного растительного сырья

C_{TE}	τ , ч	Номер экстракта									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
3	2	–45	–89	–92	–49	–64	–42	–44	–64	–87	–67
	4	–37	–91	–84	–40	–49	–37	–36	–45	–90	–60
	6	–30	–78	–79	–32	–43	–22	–26	–36	–80	–44
1,5	2	–16	–30	–31	–17	–22	–15	–16	–22	–30	–23
	4	–13	–31	–29	–14	–17	–13	–13	–16	–31	–21
	6	–10	–26	–26	–10	–15	–7	–9	–13	–28	–16
0,5	2	43	28	20	25	35	31	24	17	35	24
	4	10	–2	–3	–1	8	18	7	3	5	2
	6	–8	–13	–9	–7	–6	5	–5	–9	–8	–3
0,2	2	46	52	33	50	58	50	43	26	40	42
	4	36	45	25	37	48	37	29	18	31	28
	6	25	40	15	28	41	19	20	9	23	15

Примечание. Номера цельных докритических тестируемых экстрактов, получаемых с помощью сжиженного углекислого газа ($CO_2TЭ$) соответствуют следующему растительному сырью, из которого их получали: 1 — *Coffea arabica*, 2 — *Camellia sinensis*, 3 — *Rosa cinnamomea*, 4 — *Matricaria chamomilla*, 5 — *Hypericum perforatum*, 6 — *Carum carvi*, 7 — *Pimpinella anisum*, 8 — *Humulus lupulus*, 9 — *Sambucus nigra*, 10 — *Viburnum opulus*. Значения ϵ для $CO_2TЭ$ определялись по формуле (1), как описано в разделе «Методика биотестирования». C_{TE} (об. %) — концентрация $CO_2TЭ$ в тестовой среде; τ (ч) — продолжительность инкубирования тестовой среды. Относительная ошибка определения ϵ составляет 10–20 %.

–80 ± 9 и –44 ± 6 % соответственно (таблица, экстракты 6, 9 и 10). Либо на примере сравнения пробиотической активности тех же экстрактов и экстракта, полученного из травы зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum*) (таблица, экстракт 5), для которых при C_{TE} равной 0,2 об. % величины ϵ_6 составили 19 ± 2, 23 ± 3, 15 ± 2 и 41 ± 5 % соответственно.

В целом среди исследованных экстрактов наиболее активные пролонгированные (долгосрочные) антибиотические свойства (количественно характеризуемые в таблице величиной ϵ_6) проявили экстракты из плодов бузины черной (*Sambucus nigra*) и шиповника коричневого (*Rosa cinnamomea*), а также зеленых листьев чайного куста (*Camellia sinensis*) при их концентрациях в тестовой среде от 3 об. % и выше (таблица, экстракты 9, 3 и 2). В то время как наиболее активные пролонгированные пробиотические свойства проявили экстракты из травы зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum*) и зеленых листьев чайного куста (*Camellia sinensis*) при их концентрациях в тестовой среде равных 0,2 об. % (таблица, экстракты 5 и 2).

Начальная (краткосрочная) биологическая активность тестируемых экстрактов (количественно характеризуемая в таблице величиной ϵ_2 , определяемой через 2 ч инкубации тестовых микроорганизмов в присутствии тестируемых экстрактов) в большинстве случаев была достоверно больше их долгосрочной активности (количественно характеризуемой в таблице величиной ϵ_6). Это объясняется как адаптацией тестовых микроорганизмов к присутствию тестируемых экстрактов, так и уменьшением с течением времени активности и общего количества БАВ, содержащихся в тестируемых экстрак-

тах, приходящегося на один тестовый микроорганизм. Причем последнее имело место потому, что общее количество клеток микроорганизмов во время инкубации содержащей их тестовой среды увеличивалось, тогда как активность и общее количество БАВ, содержащихся в тестируемых экстрактах, в ходе инкубации содержащей их тестовой среды уменьшались, вследствие биохимической и физико-химической денатурации и деструкции упомянутых БАВ.

Среднесрочная (по времени взаимодействия тестируемых экстрактов с тестовыми микроорганизмами) биологическая активность тестируемых экстрактов (количественно характеризуемая в таблице величиной ϵ_4 , определяемой через 4 ч инкубации тестовых сред с тестируемыми экстрактами) в большинстве случаев была промежуточной по величине между ϵ_2 и ϵ_6 и лишь иногда превышала как ϵ_2 , так и ϵ_6 тех же экстрактов (таблица и рисунок).

При этом с уменьшением концентраций тестируемых экстрактов в тестовой среде их антибиотическая активность в отношении тестовых микроорганизмов достоверно и монотонно уменьшалась, а пробиотическая активность, наоборот, увеличивалась. Так, например, при C_{TE} равной 3, 1,5 и 0,2 об. % пролонгированная биологическая активность (как уже говорилось, количественно характеризуемая в таблице величиной ϵ_6) у экстракта из зеленых листьев чайного куста (*Camellia sinensis*) была равна –78 ± 9, –26 ± 4, и 40 ± 5 %. А величина ϵ_6 у экстракта из травы зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum*) при тех же C_{TE} была равна –43 ± 6, –15 ± 2 и 41 ± 5 % соответственно (таблица, экстракты 2 и 5).

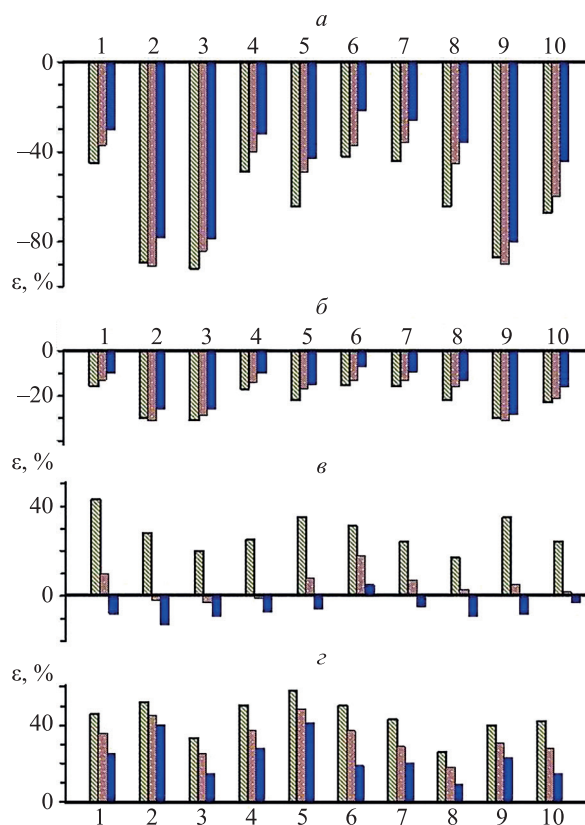


Рисунок. Сравнительная биологическая активность тестированных экстрактов в отношении *Staphylococcus aureus* при концентрациях этих экстрактов в тестовой среде: 3 об.% (а); 1,5 об.% (б); 0,5 об.% (в); 0,2 об.% (г)

Зеленым, коричневым и синим цветами обозначены значения ϵ , определявшиеся по формулам (1) и (2) через 2, 4 и 6 ч совместного инкубирования тестированных экстрактов с тестовыми микроорганизмами

Указанные действующие концентрации тестируемых экстрактов оказались существенно большими, чем, например, у такого широко используемого синтетического антисептика широкого спектра действия, как хлоргексидин биглюконат, который уже при его концентрациях в тестовой среде равных 0,0001 и 0,001 об.% демонстрировал в отношении *S. aureus* величины ϵ_6 равные -45 ± 5 и -91 ± 3 % соответственно. Однако хлоргексидин биглюконат не предназначен для внутреннего применения. А преимущества растительных экстрактов перед антибиотиками уже были рассмотрены в разделе «Введение». Кроме того, исходя из этих данных, видно, что методика микробиологического тестирования, представляемая в данной работе, может быть успешно использована для оценки про- и антибиотических свойств не только растительных экстрактов, но и многих других препаратов и материалов (в том числе искусственно синтезированных).

Заключение

С помощью представленной в настоящей работе методики можно существенно более оперативно (в течение нескольких часов, а не суток), объективно и ин-

формативно, чем при использовании стандартных методов, оценивать исходную микробную обсемененность, а также влияние на динамику жизненной активности тестовых микроорганизмов образцов различной продукции (такой например, как растительные экстракты). При этом микробную обсемененность тестируемых образцов, при необходимости, можно оценивать не только общую, но и применительно к отдельным видам и штаммам микроорганизмов. Более высокая оперативность представляемой методики достигается за счет ее большей чувствительности к начальным изменениям метаболической активности тестовых микроорганизмов в присутствии тестируемых образцов (поскольку инструментальные способы измерения чувствительней визуальных, применяемых в стандартных методах микробиологического тестирования). Более высокая объективность представляемой методики достигается за счет уменьшения роли субъективного человеческого фактора при замене в процессе измерений визуальных методов на инструментальные. А более высокая информативность представляемой методики достигается за счет того, что, во-первых, эта методика дает возможность оценивать динамику изменения жизненной активности микроорганизмов на множестве произвольно выбираемых временных отрезков (в отличие от стандартных методик микробиологического тестирования, где измерения производятся лишь один раз, в конце периода инкубации тестируемых образцов). И во-вторых, представляемая методика предполагает оценку изменения жизненной активности микроорганизмов сразу по нескольким независимым показателям (таким как pH, редокс потенциал и электрическая проводимость 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 применения стандартных методик. Кроме того, представленная в работе методика существенно менее материалоемка и трудоемка по сравнению с аналогичными стандартными методами, а также дает гораздо больше возможностей для автоматизации всего процесса анализа.

Все это делает представленную методику существенно более доступной для массового применения, чем ранее используемые стандартные методы микробиологического тестирования и оценки микробной обсемененности образцов различной продукции. Последнее весьма актуально в свете того, что одним из важных условий обеспечения должного уровня безопасности и качества жизни людей является не только своевременное и качественное тестирование про- и антибиотических свойств новой фармацевтической, пищевой и другой продукции, а также отдельных ингредиентов и добавок к этой продукции (ассортимент которых все увеличивается, а сроки появления сокращаются); но и постоянный широкий мониторинг микробной обсемененности, а также 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 исследованных авторами растительных экстрактов следует отметить, что из разных частей разных растений разными способами можно экстрагировать разные БАВ. С изменением концентраций растительных экстрактов может меняться в некоторой степени и характер их биологической активности относительно других экстрактов. Среди исследованных экстрактов наиболее активные пролонгированные (долгосрочные) антибиотические свойства проявили экстракты из плодов бузины черной (*Sambucus nigra*) и шиповника коричневого (*Rosa cinnamomea*), а также зеленых листьев чайного куста (*Camellia sinensis*) при их концентрациях в тестовой среде от 3 об.% и выше. А наиболее активные долгосрочные пробиотические свойства проявили экстракты из травы зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum*) и зеленых листьев чайного куста (*Camellia sinensis*) при их концентрациях в тестовой среде равных 0,2 об.%.

Начальная биологическая активность тестируемых экстрактов в большинстве случаев была достоверно больше их пролонгированной активности. В то время как среднесрочная (по времени взаимодействия тестируемых экстрактов с тестовыми микроорганизмами) биологическая активность тестируемых экстрактов, как правило, была промежуточной по величине и лишь иногда превышала не только пролонгированную, но и

начальную биологическую активность тех же экстрактов. При этом с уменьшением концентраций тестируемых экстрактов в тестовой среде их антибиотическая активность монотонно уменьшалась, а пробиотическая активность увеличивалась.

Исходя из вышесказанного очевидно, что характер биологической активности фармакологической, пищевой и другой продукции, а также отдельных ингредиентов и добавок к этой продукции (таких например, как растительные экстракты) в значительной степени определяется не только составом присутствующих в тестируемых образцах биологически активных веществ, но и их концентрацией, а также временем взаимодействия с живыми организмами (такими как сам человек, его микробиота и т. п.). Причем точный характер этих зависимостей в большинстве случаев может быть установлен лишь эмпирически, с помощью значительного числа тестовых испытаний. А последние удобно проводить с помощью представленной в этой работе методики, которая позволяет существенно более оперативно, объективно и информативно, а также существенно менее трудоемко и материалоемко, чем при использовании стандартных визуальных микробиологических методов, оценивать влияние на динамику жизненной активности микроорганизмов различных тестируемых образцов.

Литература

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. V. 60. N 8. P. 717–727. doi: 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 micro-organisms // *International Food Research Journal*. 2012. V. 19. N 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. V. 6. N 9. P. 224–233.
4. Rodino S., Butu M. Herbal extracts-new trends in functional and medicinal beverages // *Functional and Medicinal Beverages. Volume 11: The Science of Beverages*. 2019. P. 73–108. doi: 10.1016/B978-0-12-816397-9.00003-0
5. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review // *International Journal of Food Microbiology*. 2004. V. 94. N 3. P. 223–253. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022
6. Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. Biological effects of essential oils – a review // *Food and Chemical Toxicology*. 2008. V. 46. N 2. P. 446–475. doi: 10.1016/j.fct.2007.09.106
7. Tripathi A.K., Bhojar P.K., Baheti J.R., Biyani D.M., Khalique M., Kothmire M.S., Amgaonkar Y.M., Bhanarkar A.B. Herbal antidiabetics: a review // *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*. 2011. V. 2. N 1. P. 30–37.
8. 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. V. 4. N 10. P. 3746–3760. doi: 10.13040/ijpsr.0975-8232.4(10).3746-60
9. 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. V. 4. N 1. P. 78–84. doi: 10.1016/S2221-1691(14)60213-6
10. Radice M., Manfredini S., Ziosi P., Dissette V., Buso P., Fallacara A., Vertuani S. Herbal extracts, lichens and biomolecules as natural photo-protection alternatives to synthetic UV filters. A systematic

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, vol. 60, no. 8, pp. 717–727. doi: 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 micro-organisms. *International Food Research Journal*, 2012, vol. 19, no. 3, pp. 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, no. 9, pp. 224–233.
4. Rodino S., Butu M. Herbal extracts-new trends in functional and medicinal beverages. *Functional and Medicinal Beverages. Volume 11: The Science of Beverages*, 2019, pp. 73–108. doi: 10.1016/B978-0-12-816397-9.00003-0
5. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods — a review. *International Journal of Food Microbiology*, 2004, vol. 94, no. 3, pp. 223–253. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022
6. Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. Biological effects of essential oils — a review. *Food and Chemical Toxicology*, 2008, vol. 46, no. 2, pp. 446–475. doi: 10.1016/j.fct.2007.09.106
7. Tripathi A.K., Bhojar P.K., Baheti J.R., Biyani D.M., Khalique M., Kothmire M.S., Amgaonkar Y.M., Bhanarkar A.B. Herbal antidiabetics: a review. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 2011, vol. 2, no. 1, pp. 30–37.
8. 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, no. 10, pp. 3746–3760. doi: 10.13040/ijpsr.0975-8232.4(10).3746-60
9. 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, no. 1, pp. 78–84. doi: 10.1016/S2221-1691(14)60213-6
10. Radice M., Manfredini S., Ziosi P., Dissette V., Buso P., Fallacara A., Vertuani S. Herbal extracts, lichens and biomolecules as natural photo-protection alternatives to synthetic UV filters. A systematic

- review // *Fitoterapia*. 2016. V. 114. P. 144–162. doi: 10.1016/j.fitote.2016.09.003
11. 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. V. 64. N 1. P. 29–34. doi: 10.1016/j.patbio.2015.10.003
 12. Fani M., Kohanteb J. In vitro antimicrobial activity of *Thymus vulgaris* essential oil against major oral pathogens // *Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2017. V. 22. N 4. P. 660–666. doi: 10.1177/2156587217700772
 13. Kokina M.S., Frioui M., Shamtsyan M., Sibirtsev V.S., Krasnikova L.V., Konusova V.G., Simbirtsev A.S. 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. V. 19. N 4. P. 465–471.
 14. Atarés L., Chiralt A. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging // *Trends in Food Science & Technology*. 2016. V. 48. P. 51–62. doi: 10.1016/j.tifs.2015.12.001
 15. 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. V. 61. P. 132–140. doi: 10.1016/j.tifs.2016.11.021
 16. 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. V. 59. N 15. P. 2467–2480. doi: 10.1080/10408398.2018.1456402
 17. 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. V. 89. P. 117–128. doi: 10.1016/j.foodres.2016.10.004
 18. Donsì F., Ferrari G. Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food // *Journal of Biotechnology*. 2016. V. 233. P. 106–120. doi: 10.1016/j.jbiotec.2016.07.005
 19. Pavela R., Benelli G. Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints // *Trends in Plant Science*. 2016. V. 21. N 12. P. 1000–1007. doi: 10.1016/j.tplants.2016.10.005
 20. Rout P.K., Naik S.N., Rao Y.R. Subcritical CO₂ extraction of floral fragrance from *Quisqualis indica* // *Journal of Supercritical Fluids*. 2008. V. 45. N 2. P. 200–205. doi: 10.1016/j.supflu.2008.02.011
 21. Sahena F., Zaidul I.S.M., Jinap S., Karim A.A., Abbas K.A., Norulaini N.A.N., Omar A.K.M. Application of supercritical CO₂ in lipid extraction – A review // *Journal of Food Engineering*. 2009. V. 95. N 2. P. 240–253. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2009.06.026
 22. Ibadullaeva G.S., Pichkhadze G.M., Ustenova G.O., Dil'barbhanov R., Tikhonova S.A., Grud'ko V.A., Bezv N.Yu., Yudina Yu.V. Chemical composition of the CO₂-extract of *Acorus calamus* obtained under subcritical conditions // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2015. V. 49. N 6. P. 388–392. doi: 10.1007/s11094-015-1290-0
 23. Valle D.L., Jr., 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. V. 11. N 1. P. e0146349. doi: 10.1371/journal.pone.0146349
 24. Lazarotto M., Valério A., Boligon A., Tres M.V., Scapinello J., Dal Magro J., Oliveira J.V. Chemical composition and antibacterial activity of bergamot peel oil from supercritical CO₂ and compressed propane extraction // *Open Food Science Journal*. 2018. V. 10. N 1. P. 16–23. doi: 10.2174/1874256401810010016
 25. 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. V. 133. P. 58–64. doi: 10.1016/j.supflu.2017.09.025
 26. Coelho J., Veiga J., Karmali A., Nicolai M., Reis C.P., Nobre B., Palavra A. Supercritical CO₂ extracts and volatile oil of basil (*Ocimum basilicum* L.) comparison with conventional methods // *Separations*. 2018. V. 5. N 2. P. 21. doi: 10.3390/separations5020021
 27. Sibirtsev V.S., Naumov I.A., Kuprina E.E., Olekhnovich R.O. Use of impedance biotesting to assess the actions of pharmaceutical compounds on the growth of microorganisms // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2016. V. 50. N 7. P. 481–485. doi: 10.1007/s11094-016-1473-3
 28. Сибирцев В.С., Игнатьева А.Ф., Шичкова К.А., Чан Тхань Туан, Строев С.А., Радин М.А. Исследование влияния высокочастот-
- review. *Fitoterapia*, 2016, vol. 114, pp. 144–162. doi: 10.1016/j.fitote.2016.09.003
11. 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, no. 1, pp. 29–34. doi: 10.1016/j.patbio.2015.10.003
 12. Fani M., Kohanteb J. In vitro antimicrobial activity of *Thymus vulgaris* essential oil against major oral pathogens. *Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017, vol. 22, no. 4, pp. 660–666. doi: 10.1177/2156587217700772
 13. Kokina M.S., Frioui M., Shamtsyan M., Sibirtsev V.S., Krasnikova L.V., Konusova V.G., Simbirtsev A.S. 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, no. 4, pp. 465–471.
 14. 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, pp. 51–62. doi: 10.1016/j.tifs.2015.12.001
 15. 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, pp. 132–140. doi: 10.1016/j.tifs.2016.11.021
 16. 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, no. 15, pp. 2467–2480. doi: 10.1080/10408398.2018.1456402
 17. 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, vol. 89, pp. 117–128. doi: 10.1016/j.foodres.2016.10.004
 18. Donsì F., Ferrari G. Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food. *Journal of Biotechnology*, 2016, vol. 233, pp. 106–120. doi: 10.1016/j.jbiotec.2016.07.005
 19. Pavela R., Benelli G. Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints. *Trends in Plant Science*, 2016, vol. 21, no. 12, pp. 1000–1007. doi: 10.1016/j.tplants.2016.10.005
 20. 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, no. 2, pp. 200–205. doi: 10.1016/j.supflu.2008.02.011
 21. Sahena F., Zaidul I.S.M., Jinap S., Karim A.A., Abbas K.A., Norulaini N.A.N., Omar A.K.M. Application of supercritical CO₂ in lipid extraction — A review. *Journal of Food Engineering*, 2009, vol. 95, no. 2, pp. 240–253. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2009.06.026
 22. Ibadullaeva G.S., Pichkhadze G.M., Ustenova G.O., Dil'barbhanov R., Tikhonova S.A., Grud'ko V.A., Bezv N.Yu., Yudina Yu.V. Chemical composition of the CO₂-extract of *Acorus calamus* obtained under subcritical conditions. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2015, vol. 49, no. 6, pp. 388–392. doi: 10.1007/s11094-015-1290-0
 23. Valle D.L., Jr., 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, no. 1, pp. e0146349. doi: 10.1371/journal.pone.0146349
 24. Lazarotto M., Valério A., Boligon A., Tres M.V., Scapinello J., Dal Magro J., Oliveira J.V. Chemical composition and antibacterial activity of bergamot peel oil from supercritical CO₂ and compressed propane extraction. *Open Food Science Journal*, 2018, vol. 10, no. 1, pp. 16–23. doi: 10.2174/1874256401810010016
 25. 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, pp. 58–64. doi: 10.1016/j.supflu.2017.09.025
 26. Coelho J., Veiga J., Karmali A., Nicolai M., Reis C.P., Nobre B., Palavra A. Supercritical CO₂ extracts and volatile oil of basil (*Ocimum basilicum* L.) comparison with conventional methods. *Separations*, 2018, vol. 5, no. 2, pp. 21. doi: 10.3390/separations5020021
 27. Sibirtsev V.S., Naumov I.A., Kuprina E.E., Olekhnovich R.O. Use of impedance biotesting to assess the actions of pharmaceutical compounds on the growth of microorganisms. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2016, vol. 50, no. 7, pp. 481–485. doi: 10.1007/s11094-016-1473-3
 28. Sibirtsev V.S., Ignatjeva A.F., Shichkova K.A., Tran Thanh Tuan, Stroeve S.A., Radin M.A. Study of influence of the highfrequency

- ных электрических полей на жизнедеятельность микроорганизмов при различной температуре // Научно-технический вестник информационных технологий, механики и оптики. 2017. Т. 17. № 2. С. 279–286. doi: 10.17586/2226-1494-2017-17-2-279-286
29. Sibirtsev V.S., Olekhovich R.O., Samuylova E.O. Assessment of integral toxicity of water resources by instrumental methods of analysis // Proc. 17th International Multidisciplinary Scientific GeoConference Surveying Geology and Mining Ecology Management (SGEM). 2017. V. 17. N 61. P. 507–514. doi: 10.5593/sgem2017/61/S24.066
30. Sibirtsev V.S. Biological test methods based on fluorometric genome analysis // Journal of Optical Technology. 2017. V. 84. N 11. P. 787–791. doi: 10.1364/JOT.84.000787
31. Sibirtsev V.S., Uspenskaya M.V., Garabadiu A.V., Shvets V.I. An integrated method of instrumental microbiotesting of environmental safety of various products, wastes, and territories // Doklady Biological Sciences. 2019. V. 485. N 1. P. 59–61. doi: 10.1134/S001249661902011X
32. Сибирцев В.С., Строев С.А. Оптико-электрохимическая микробиотестовая система оценки токсической безопасности нефтепродуктов // Научно-технический вестник информационных технологий, механики и оптики. 2019. Т. 19. № 1. С. 74–81. doi: 10.17586/2226-1494-2019-19-1-74-81
33. 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. № 2. С. 236–241. doi: 10.17586/2226-1494-2019-19-2-236-241
34. Sibirtsev V.S., Garabadiu A.V., Shvets V.I. New method of integrated photofluorescence microbiotesting // Doklady Biological Sciences. 2019. V. 489. N 6. P. 196–199. doi: 10.1134/S0012496619060103
35. Korn G.A., Korn T.M. *Mathematical Handbook for Scientists and Engineers. Definitions, Theorems and Formulas for Reference and Review.* McGraw Hill, 1968. 1130 p.
36. Johnson K., Jeffi V. *Numerical Methods in Chemistry.* New York: Cambridge University Press, 1983.
37. Sibirtsev V.S. Analysis of benzo[a]pyrene deactivation mechanisms in rats // Biochemistry (Moscow). 2006. V. 71. N 1. P. 90–98. doi: 10.1134/S0006297906010147
38. Zhuravlev O.E., Voronchikhina L.I. Synthesis and antimicrobial activity of N-decylpyridinium salts with inorganic anions // Pharmaceutical Chemistry Journal. 2018. V. 52. N 4. P. 312–315. doi: 10.1007/s11094-018-1813-6
39. 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-(1H,3H,5H)-triones // Pharmaceutical Chemistry Journal. 2018. V. 52. N 6. P. 506–509. doi: 10.1007/s11094-018-1849-7
- electric fields on microbial vital activity at various temperatures. *Scientific and Technical Journal of Information Technologies, Mechanics and Optics*, 2017, vol. 17, no. 2, pp. 279–286. (in Russian). doi: 10.17586/2226-1494-2017-17-2-279-286
29. Sibirtsev V.S., Olekhovich R.O., Samuylova E.O. Assessment of integral toxicity of water resources by instrumental methods of analysis. *Proc. 17th International Multidisciplinary Scientific GeoConference Surveying Geology and Mining Ecology Management (SGEM)*, 2017, vol. 17, no. 61, pp. 507–514. doi: 10.5593/sgem2017/61/S24.066
30. Sibirtsev V.S. Biological test methods based on fluorometric genome analysis. *Journal of Optical Technology*, 2017, vol. 84, no. 11, pp. 787–791. doi: 10.1364/JOT.84.000787
31. Sibirtsev V.S., Uspenskaya M.V., Garabadiu 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, no. 1, pp. 59–61. doi: 10.1134/S001249661902011X
32. Sibirtsev V.S., Stroeve S.A. New optical-electrochemical microbiotesting system for valuation of oil products toxicsafety. *Scientific and Technical Journal of Information Technologies, Mechanics and Optics*, 2019, vol. 19, no. 1, pp. 74–81. (in Russian). doi: 10.17586/2226-1494-2019-19-1-74-81
33. Sibirtsev V.S., Maslova A.Yu. Complex research of *E.coli* vital activity dynamics in presence of transition metal ions. *Scientific and Technical Journal of Information Technologies, Mechanics and Optics*, 2019, vol. 19, no. 2, pp. 236–241 (in Russian). doi: 10.17586/2226-1494-2019-19-2-236-241
34. Sibirtsev V.S., Garabadiu A.V., Shvets V.I. New method of integrated photofluorescence microbiotesting. *Doklady Biological Sciences*, 2019, vol. 489, no. 6, pp. 196–199. doi: 10.1134/S0012496619060103
35. Korn G.A., Korn T.M. *Mathematical Handbook for Scientists and Engineers. Definitions, Theorems and Formulas for Reference and Review.* McGraw Hill, 1968, 1130 p.
36. Johnson K., Jeffi V. *Numerical Methods in Chemistry.* New York, Cambridge University Press, 1983.
37. Sibirtsev V.S. Analysis of benzo[a]pyrene deactivation mechanisms in rats. *Biochemistry (Moscow)*, 2006, vol. 71, no. 1, pp. 90–98. doi: 10.1134/S0006297906010147
38. Zhuravlev O.E., Voronchikhina L.I. Synthesis and antimicrobial activity of N-decylpyridinium salts with inorganic anions. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2018, vol. 52, no. 4, pp. 312–315. doi: 10.1007/s11094-018-1813-6
39. 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-(1H,3H,5H)-triones. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2018, vol. 52, no. 6, pp. 506–509. doi: 10.1007/s11094-018-1849-7

Авторы

Сибирцев Владимир Станиславович — кандидат химических наук, доцент, заведующий лабораторией, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, 191014, Санкт-Петербург, Российская Федерация, Scopus ID: 6603964394, ORCID: 0000-0003-0829-5213, vs1969r@mail.ru

Нечипоренко Ульяна Юрьевна — младший научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, 191014, Санкт-Петербург, Российская Федерация, ORCID: 0000-0002-4102-1129, unechiporenko@yandex.ru

Кабанов Владимир Леонидович — младший научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, 191014, Санкт-Петербург, Российская Федерация, ORCID: 0000-0001-9085-2984, kabanof_v@yahoo.com

Кукин Михаил Юрьевич — кандидат технических наук, научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, 191014, Санкт-Петербург, Российская Федерация, ORCID: 0000-0003-1722-4644, mk-1980_2@mail.ru

Маслова Александра Юрьевна — студент, Университет ИТМО, Санкт-Петербург, 197101, Российская Федерация, ORCID: 0000-0002-7484-1940, maslova.aleksandra97@gmail.com

Authors

Vladimir S. Sibirtsev — PhD, Associate Professor, Laboratory Head, All-Russian Research Institute for Food Additives – Branch of V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS, Saint Petersburg, 191014, Russian Federation, Scopus ID: 6603964394, ORCID: 0000-0003-0829-5213, vs1969r@mail.ru

Ulyana Yu. Nechiporenko — Junior Researcher, All-Russian Research Institute for Food Additives – Branch of V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS, Saint Petersburg, 191014, Russian Federation, ORCID: 0000-0002-4102-1129, unechiporenko@yandex.ru

Vladimir L. Kabanov — Junior Researcher, All-Russian Research Institute for Food Additives – Branch of V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS, Saint Petersburg, 191014, Russian Federation, ORCID: 0000-0001-9085-2984, kabanof_v@yahoo.com

Mikhail Yu. Kukin — PhD, Researcher, All-Russian Research Institute for Food Additives – Branch of V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS, Saint Petersburg, 191014, Russian Federation, ORCID: 0000-0003-1722-4644, mk-1980_2@mail.ru

Aleksandra Yu. Maslova — Student, ITMO University, Saint Petersburg, 197101, Russian Federation, ORCID: 0000-0002-7484-1940, maslova.aleksandra97@gmail.com

Радин Михаил Александрович — кандидат химических наук, доцент, доцент, Санкт-Петербургский университет промышленных технологий и дизайна, 191186, Санкт-Петербург, Российская Федерация, ORCID: 0000-0003-0839-4223, chem_misha@mail.ru

Mikhail A. Radin — PhD, Associate Professor, Associate Professor, Saint Petersburg State University of Industrial Technologies and Design, Saint Petersburg, 191186, Russian Federation, ORCID: 0000-0003-0839-4223, chem_misha@mail.ru