

ВЛИЯНИЕ РОЗОВОГО И ЭРЕМОТЕЦЕВОГО МАСЕЛ НА РОСТ НЕКОТОРЫХ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

Семенова Е.Ф.

к.б.н., ст. науч. сотрудник, профессор, кафедра «Общая и клиническая фармакология»,
Медицинский институт, Пензенский государственный университет
E-mail: sef1957@mail.ru

Бибарсова А.А.

аспирант, кафедра «Физика и химия», Пензенский государственный университет архитектуры и строительства
E-mail: alfiya.bibarsova@mail.ru

Преснякова Е.В.

к.б.н., гл. специалист,
Государственная комиссия Российской Федерации по использованию и охране селекционных достижений (Москва)
E-mail: spl7@mail.ru

Создание пробиотических продуктов с добавлением эфирных масел, оказывающих ценные фармакологические эффекты – это одно из перспективных направлений в технологии производства лекарств. Проведено исследование влияния эфирных масел розы крымской и эремотеция на культуры молочнокислых бактерий. Выявлено их антибактериальное действие: розовое масло проявляло наибольшую активность в отношении *Lactobacillus acidophilus*, а эремотецевое – в отношении *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*.

Ключевые слова: штаммы молочнокислые бактерий, розовое эфирное масло, эремотецевое масло, продукты пробиотического действия.

Для цитирования: Семенова Е.Ф., Бибарсова А.А., Преснякова Е.В. Влияние розового и эремотецевого масел на рост некоторых молочнокислых бактерий. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2018;21(5):22–26.
DOI: 10.29296/25877313-2018-05-04

Одним из перспективных направлений в технологии производства лекарственных препаратов является создание пробиотических продуктов с добавлением эфирных масел, корректирующих органолептические характеристики и оказывающих ценные фармакологические эффекты (противовоспалительный, антибактериальный, противовирусный и др.) [1–3]. Мировой ассортимент такого рода продуктов ограничен и представлен несколькими наименованиями, в частности, «Биофанк розовое масло» болгарского производства. Это пробиотический, низколактозный продукт, в состав которого входят живые клетки *Lactobacillus bulgaricus*. Содержащиеся в нем соединения (натуральное болгарское розовое масло, молочные белки, молочные жиры, углеводы, пектин, минеральные вещества) имеют выраженный противовоспалительный, обезболивающий и спазмолитический эффект для печени, легких и желчного пузыря, повышают тургор кожи. Таким образом, создание пробиотических продуктов с добавлением эфирных масел, обладающих ценными фармакологическими свойствами, является одним из перспективных направлений в технологии производства новых лекарственных

средств, не уступающих по фармакологическому действию импортным аналогам и применяемых по тем же показаниям. На сегодняшний день биотехнологическим способом на основе культуры микроорганизмов *Eremothecium* получено эремотецевое масло, близкое по составу к розовому [4, 5].

Цель исследования – оценка влияния розового и эремотецевого масел на штаммы молочнокислых бактерий в сравнительном аспекте.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектами изучения служили два коллекционных штамма молочнокислых бактерий: *Lactobacillus acidophilus* RCAM 01850 и *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* RCAM 02909 [6, 7]. Штаммы выращивали традиционными методами с последующим определением культурально-морфологических признаков и физиолого-биохимических свойств [8, 9]. В исследование были включены образцы эфирных масел розы крымской и эремотеция в серийных разведениях в 96%-ном этиловом спирте 1:250, 1:1000, 1:4000, что соответствовало содержанию действующих веществ 32, 8, 2 мкг в диске. Розовое масло имело следующий состав главных ком-

понентов: фенилэтиловый спирт 81,5%, гераниол 12,1%, цитронеллол 3,5%, нерол 2,7%. В эрометецевом масле массовая доля основных компонентов составила: фенилэтиловый спирт 14,6%, гераниол 82,7%, цитронеллол 1,9% [10, 11].

Определение чувствительности штамма *L. acidophilus* к эфирным маслам осуществляли на агаре MRS; штамма *L. lactis* spp. *lactis* – на лактоагаре при 35±2 °С. Анализ антибактериального действия розового и эрометецевого масел проводили диско-диффузионным методом (диаметр диска 6 мм). Результаты оценивали через 1–7 суток путем определения диаметра зон задержки (подавления, угнетения) и отсутствия (зоны лизиса) роста культуры [12].

Определение влияния различных концентраций аромапродуктов проводили в сравнении интенсивности роста изучаемых культур в присутствии и в отсутствии эфирных масел. При этом о наличии антибактериального эффекта действующих веществ в указанных разведениях судили по зоне задержки роста тестируемых штаммов более 10 мм. Если зона задержки роста превышала 25 мм, то микроорганизм считался высокочувствительным к изучаемым

нативным веществам; средней чувствительности, если зона задержки роста была от 16 до 25 мм и малочувствительным – от 11 до 15 мм [13].

Экспериментальный материал обрабатывали статистически с применением пакета Statistica [14]. При этом степень варьирования признака до 10% свидетельствовала о низком, 10–30% – об умеренном, 30–100% – о сильном, более 100% – об очень сильном варьировании изучаемого показателя.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные серийные исследования показали, что в отношении культуры *L. acidophilus* розовое масло проявляло более выраженную антибактериальную активность по сравнению с эрометецевым, причем в 33,3% случаях было отмечено его бактерицидное действие. Концентрационная зависимость антибактериальных эффектов была выраженной, коэффициент вариации (CV) зоны задержки роста ацидофильной палочки в концентрации розового масла 32 мкг/диск был достаточно высоким и составил 58,3% (табл. 1).

Таблица 1. Биологическая активность розового (РМ) и эрометецевого (ЭМ) масел в отношении *Lactobacillus acidophilus*

Концентрация эфирного масла, мкг/диск	Показатели зон задержки или отсутствия роста культуры					
	Lim, мм		CV, %		$\bar{x} \pm S_x$, мм	
	ЭМ	РМ	ЭМ	РМ	ЭМ	РМ
32	12–15	7–31	9,5	58,3	13,7±1,3	17,3±10,1
8	8–10	9–11	11,1	10,0	9,0±1,0	10,0±1,0
2	6–11	7–10	29,4	17,6	8,5±2,5	8,5±1,5

Однако к эрометецевому маслу изучаемая культура была малочувствительна при низком или умеренном варьировании активности в эксперименте, что может свидетельствовать о потенциальной возможности использования данного штамма при разработке комбинированного препарата пробиотического действия.

Наибольшая антибактериальная (бактериостатическая) активность в отношении культуры *L. lactis* ssp. *lactis* была обнаружена у эрометецевого масла (табл. 2). Однако в данном случае можно говорить лишь о тенденции, так как достоверная разница в действии изучаемых образцов масел на тест-объекты не была выявлена. Бактериостатиче-

ский эффект наблюдался при содержании эфирного масла не менее 32 мкг в диске. В ряде случаев отсутствовала задержка роста бактерий.

При этом коэффициент вариации антибактериального действия эрометецевого масла составил в среднем 29,7%, а розового масла – 17,9%, что сопряжено с умеренным варьированием значений зон ингибирования культуры (табл. 2).

Различия в выраженности антибактериального действия в отношении ацидофильной палочки и молочного лактококка, возможно, связаны с особенностями их культурально-морфологических признаков и физиолого-биохимических свойств [6–9].

Таблица 2. Биологическая активность розового (РМ) и эремотецевого (ЭМ) масел в отношении *Lactococcus lactis* spp. *lactis*

Концентрация эфирного масла, мкг/диск	Показатели зон задержки или отсутствия роста культуры					
	Lim, мм		CV, %		$\bar{x}+S_x$, мм	
	ЭМ	РМ	ЭМ	РМ	ЭМ	РМ
32	10–20	8–15	26,9	30,4	16,0+4,3	11,5+3,5
8	6–9	6–8	45,5	14,3	7,5+2,5	7,0+1,0
2	6–8	6–7	16,7	9,1	7,0+1,0	6,5+0,5

Сочетания компонентов изучаемых образцов масел, в основном, ароматического (фенилэтилового) и монотерпеновых (гераниол, цитронеллол, нерол) спиртов, определяя механизм действия на бактериальные клетки, по-разному влияли на конкретные штаммы изучаемых видов молочнокислых бактерий.

Анализ действия розового и эремотецевого масла на некоторые молочнокислые бактерии свидетельствует о целесообразности продолжения комплексных скрининговых исследований как по подбору культур, устойчивых к эфирным маслам, так и аромапродуктов с определенным компонентным составом, которые не будут проявлять биологическую активность в отношении пробиотических штаммов. Перспективность такого подхода подтверждают выполненные авторами работы по биотестированию токсичности образцов розового и эремотецевого масел с различным количественным компонентным составом [15–17]. Влияние конкретных стандартизированных ароматических продуктов на определенные бактериальные штаммы необходимо учитывать при оптимизации качественного и количественного состава комбинированных препаратов пробиотического действия.

Выводы

1. Выявлено выраженное антибактериальное действие розового масла в отношении культуры *L. acidophilus*, бактериостатическое – эремотецевого масла в отношении культуры *L. lactis* ssp. *lactis*, что свидетельствует о существенных различиях в проявлении биологической активности масел в отношении штаммов лактобациллы и лактококка.

2. Наибольшие бактерицидные свойства розового масла в отношении *L. acidophilus* были отмечены в концентрациях 32 мкг/диск, наименьшие бактериостатические свойства эремотецевого масла в отношении *L. lactis* spp. *lactis* – в концентрации 2 мкг/диск (период учета – 1 сутки).
3. Различная степень антибактериальной активности масел, возможно, обусловлена химическим составом испытуемых образцов эфирных масел: в крымском розовом масле основная доля приходится на β -фенилэтанол (81,5%), в то время как в эремотецевом – на сумму монотерпеновых спиртов (84,6%).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Войткевич С.А.* Эфирные масла для парфюмерии и ароматерапии. М.: Пищевая промышленность. 1999. 284 с.
2. *Reichling J., Schnitzler P., Suschke U., Saller R.* Essential oils of aromatic plants with antibacterial, antifungal, antiviral, and cytotoxic properties an overview // *Forschende Komplementärmedizin [Research in Complementary Medicine]*. 2009. № 16. P. 79–90.
3. *Семенова Е.Ф., Шпичка А.И., Моисеева И.Я.* Исследование эфирных масел микроорганизмов и их фармакологическое действие на организм человека // *Материалы III Междунар. науч.-практ. конф. «Аромакоррекция психофизического состояния человека»*. Ялта: НБС-ННЦ, 2013. С. 57–63
4. *Семенова Е.Ф.* Биосинтетическая активность и антимикробные свойства *Eremothecium ashbyi* Guill. // *Известия вузов. Поволжский регион*. 2007. Сер. Медицинские науки. № 4. С. 44–50.
5. *Semenova E.F., Shpichka A.I., Moiseeva I.Ya.* About essential oils biotechnology on the base of microbial synthesis // *European Journal of Natural History*. 2012. № 4. P. 29–31.
6. Патент № 2524117 (РФ). Штамм бактерии *Lactobacillus acidophilus* RCAM01850, используемый для приготовления кисломолочного продукта / *А.А. Бибарцова, Е.Ф. Семенова, А.П. Степанова, Л.Б. Ловцова, И.Я. Моисеева*. 2014.

7. Патент № 2588386 (РФ). Штамм бактерий *Lactococcus lactis* RCAM 02909-компонент молочнокислой закваски / А.А. Бибарсова, Е.Ф. Семенова, А.П. Степанова, Л.Б. Ловцова, И.Я. Моисеева. 2016.
8. *Bibarsova A.A., Semenova E.F., Moiseeva I.Y.* Cultural-morphological, physiological and biochemical analysis of cultures collection of lactic acid cocci / Материалы Междунар. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых «Молодежь и наука: модернизация и инновационное развитие страны», Пенза, 15-16 сентября 2011. Ч.1 С. 138–140.
9. *Бибарсова А.А., Семенова Е.Ф., Моисеева И.Я.* Анализ коллекционных культур лактобацилл // Сб. трудов Междунар. науч. интернет-конференции: «Медицина в XXI веке: традиции и перспективы». Казань: Альянс. 2012. С. 27–30.
10. *Семенова Е.Ф., Шпичка А.И., Преснякова Е.В.* Накопление ароматического и монотерпеновых спиртов штаммами *Eremothecium ashbyi* с различным уровнем рибофлавиногенеза // Прикладная биохимия и микробиология, 2017. Т. 53. № 3. С. 333–340.
11. *Шпичка А.И., Семенова Е.Ф.* Сравнительный анализ эфирных масел, синтезируемых в лепестках *Rosa L.* (*Rosaceae*) и мицелии *Eremothecium Kurtzman (Eremotheciaceae)* // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2015. № 7. С. 42–44.
12. *Бибарсова А.А., Семенова Е.Ф., Жученко Е.В.* Изучение влияния современных препаратов антибиотиков на некоторые пробиотические штаммы и их ассоциативную культуру // Вестник Воронежского университета. Сер. Химия. Биология. Фармация. 2015. № 2. С. 101–105.
13. *Дикий И.Л., Сидорчук И.И., Холуляк И.Ю. и др.* Микробиология: Руководство к лабораторным занятиям (для фармацевтических ВУЗов и фармацевтических факультетов медицинских институтов) К.: ИД «Профессионал». 2004. 594 с.
14. *Трухачёва Н.В.* Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2012. 384 с.
15. *Величко В.П., Семенова Е.Ф., Стойко Т.Г., Шпичка А.И., Моисеева И.Я.* О токсичности розового и эрмотецевого масла в отношении культуры *Paramecium caudatum* // Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Сер. Биология, химия. 2015. Т. 1 (67). № 1. С. 10–15.
16. *Semenova E.F., Shpichka A.I., Presniakova E.V., Presniakova V.S., Goncharov M.A., Goncharov D.A.* Development of a novel biotechnological fragrant product, Eremothecium oil // Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research, 2017. V. 51. Issue 3 (Special Issue). P. 136–138.
17. *Янина Е.А., Семенова Е.Ф., Митишев А.В.* Биотестирование *in vitro* токсичности эрмотецевого масла // Сб. статей VI Междунар. науч. конф. «Актуальные проблемы медицинской науки и образования» АПМНО-2017 (г. Пенза, 14-15 сентября 2017 г.) Пенза: Изд-во ПГУ. 2017. С. 146–150.

Поступила после доработки 25 марта 2018 г.

THE INFLUENCE OF ROSE AND EREMOTHECIUM OILS ON THE GROWTH OF SOME LACTIC ACID BACTERIA

© Authors, 2018

E.F. Semenova

Ph.D. (Biol.), Senior Research Scientist, Professor, Medical Institute, Penza State University
E-mail: sef1957@mail.ru

A.A. Bibarsova

Post-graduate Student, Penza State University of Architecture and Construction
E-mail: alfiya.bibarsova@mail.ru

E.V. Presnyakova

Ph.D. (Biol.), Chief Specialist,
the State Commission of the Russian Federation on the Use and Protection of Selection Achievements (Moscow)
E-mail: spl7@mail.ru

The article is devoted to the investigation of the influence of the essential oils of the Crimean rose and Eremothecium on lactic acid bacteria cultures. The objects under study were collection strains *Lactobacillus acidophilus* RCAM 01850 and *Lactococcus lactis* RCAM 02909. The study used samples of the essential oils of the Crimean rose and Eremothecium in serial dilutions in 96% Ethanol 1:250 (I), 1:1000 (II), 1:4000 (III). The content of active substances varied and was 2 µg, 8 µg, and 32 µg per a disk. The analysis of antimicrobial activity of the Rose and Eremothecium oils was carried out by disk-diffusion method (diameter of the disc was 6 mm). The analysis of the results was carried out after 1 ... 7 days by determining the diameter of the delay zones (suppression, inhibition) and the absence (lysed zone) of the culture growth. The influence of different concentrations of aromatic products was determined by comparing with the growth rates of the cultures studied in the presence and absence of essential oils. The experimental material was processed using the Statistica program.

The analysis of the effects of essential oils showed that the highest value of the coefficient of variation of the growth retardation zone *L. acidophilus* under the influence of rose oil was 58.3%, which exceeded the values of the Eremothecium.

Eremothecium acted on the culture of *L. acidophilus* bacteriostatically in all cases. The bactericidal action of Rose oil was detected in 33.3% and bacteriostatic action in 66.7% of cases, which indicates different degrees of antibacterial effects. Both Rose and Eremothecium oils have a bacteriostatic effect but in varying degrees. The variation coefficient of Eremothecium oil an-

tibacterial action was averagely 29,7%, while that of the Rose oil was 17,9%. This is related to the temperate variation of the culture inhibition zones.

Thus, the Rose oil revealed significant antimicrobial activity against the culture *L. acidophilus*, and the Eremothecium one – against the culture *L. lactis* ssp. *lactis*. The results of the analysis show the influence of essential oils on the growth of lactic acid bacteria. The data received should be taken into account in the process of optimization of probiotics contents, and the further study of actions of aroma substances and their different concentrations should be continued for the lactic acid bacteria.

Key words: strains of lactic acid bacteria, rose oil, Eremothecium oil, probiotics.

For citation: Semenova E.F., Bibarsova A.A., Presnyakova E.V. The influence of rose and eremothecium oils on the growth of some lactic acid bacteria. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2018;21(5):22–26.
DOI: 10.29296/25877313-2018-05-04

REFERENCES

- Vojtkevich S.A. Ehfirnye masla dlya parfyumerii i aromaterapii. M.: Pishchevaya promyshlennost'. 1999. 284 s.
- Reichling J., Schnitzler P., Suschke U., Saller R. Essential oils of aromatic plants with antibacterial, antifungal, antiviral, and cytotoxic properties an overview // Forschende Komplementärmedizin [Research in Complementary Medicine]. 2009. № 16. P. 79–90.
- Semenova E.F., Shpichka A.I., Moiseeva I.YA. Issledovanie ehfirnyh masel mikroorganizmov i ih farmakologicheskoe dejstvie na organizm cheloveka // Materialy III Mezhdunar. nauch.-prakt. konf. «Aromakorrekciya psihofizicheskogo sostoyaniya cheloveka». YAlta: NBS-NNC. 2013. S. 57–63
- Semenova E.F. Biosinteticheskaya aktivnost' i antimikrobnnye svoystva Eremothecium ashbyi Guill. // Izvestiya vuzov. Povolzhskij region, 2007. Ser. Medicinskie nauki. № 4. S. 44–50.
- Semenova E.F., Shpichka A.I., Moiseeva I.Ya. About essential oils biotechnology on the base of microbial synthesis // European Journal of Natural History. 2012. № 4. P. 29–31.
- Patent № 2524117 (RF). Shtamm bakterii *Lactobacillus acidophilus* RCAM01850, ispol'zuemyj dlya prigotovleniya kislomolochnogo produkta / A.A. Bibarsova, E.F. Semenova, A.P. Stepanova, L.B. Lovcova, I.YA. Moiseeva. 2014.
- Patent № 2588386 (RF). Shtamm bakterij *Lactococcus lactis* RCAM 02909-komponent molochnokisloj zakvaski / A.A. Bibarsova, E.F. Semenova, A.P. Stepanova, L.B. Lovcova, I.YA. Moiseeva. 2016.
- Bibarsova A.A., Semenova E.F., Moiseeva I.Y. Culturalmorphological, physiological and biochemical analysis of cultures collection of lactic acid cocci / Materialy Mezhdunar. nauch.-prakt. konf. studentov i molodyh uchenyh «Molodezh' i nauka: modernizaciya i innovacionnoe razvitie strany». Penza, 15-16 sentyabrya 2011. CH.1 S. 138–140.
- Bibarsova A.A., Semenova E.F., Moiseeva I.YA. Analiz kollekcionnyh kul'tur laktobacillij // Sb. trudov Mezhdunar. nauch. internet-konferencii: «Medicina v XXI veke: tradicii i perspektivy». Kazan': Al'yans. 2012. S. 27–30.
- Semenova E.F., Shpichka A.I., Presnyakova E.V. Nakoplenie aromatcheskogo i monoterpenovyh spirtov shtammami Eremothecium ashbyi s razlichnym urovnem riboflavinogeneza // Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya, 2017. T. 53. № 3. S. 333–340.
- Shpichka A.I., Semenova E.F. Sravnitel'nyj analiz ehfirnyh masel, sinteziruemyh v lepestkah Rosa L. (Rosaceae) i micelii Eremothecium Kurtzman (Eremotheciaceae) // Voprosy biologicheskoy, medicinskoj i farmacevticheskoy himii. 2015. № 7. S. 42–44.
- Bibarsova A.A., Semenova E.F., Zhuchenko E.V. Izuchenie vliyaniya sovremennyh preparatov antibiotikov na nekotorye probioticheskie shtammy i ih asociativnuyu kul'turu // Vestnik Voronezhskogo universiteta. Ser. Himiya. Biologiya. Farmaciya. 2015. № 2. S. 101–105.
- Dikij I.L., Sidorchuk I.I., Holupyak I.YU. i dr. Mikrobiologiya: Rukovodstvo k laboratornym zanyatiyam (dlya farmacevticheskikh VUZov i farmacevticheskikh fakul'tetov medicinskih institutov) K.: ID «Professional». 2004. 594 s.
- Truhachyova N.V. Matematicheskaya statistika v mediko-biologicheskikh issledovaniyah s primeneniem paketa Statistica. M.: GEHOTAR-Media. 2012. 384 s.
- Velichko V.P., Semenova E.F., Stojko T.G., Shpichka A.I., Moiseeva I.YA. O toksichnosti rozovogo i ehremotecevoogo masla v otnoshenii kul'tury *Paramecium caudatum* // Uchenye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni V.I. Vernadskogo. Ser. Biologiya, himiya. 2015. T. 1 (67), № 1. S. 10–15.
- Semenova E.F., Shpichka A.I., Presnyakova E.V., Presnyakova V.S., Goncharov M.A., Goncharov D.A. Development of a novel biotechnological fragrant product, Eremothecium oil // Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research, 2017. V. 51, Issue 3 (Special Issue). P. 136–138.
- Yanina E.A., Semenova E.F., Mitishev A.V. Biotestirovanie in vitro toksichnosti ehremotecevoogo masla // Sb. statej VI Mezhdunar. nauch. konf. «Aktual'nye problemy medicinskoj nauki i obrazovaniya» APMNO-2017 (g. Penza, 14-15 sentyabrya 2017 g.) Penza: Izd-vo PGU. 2017. S. 146–150.



Лекарственные препараты, разработанные ВИЛАР

Алпизарин (таблетки, мазь), рег. №№ 85/507/2; 85/507/10; 85/507/16 – противовирусное средство, получаемое из травы копеечника альпийского (*Hedysarum alpinum* L.) или копеечника желтеющего (*Hedysarum flavescens* Rerel et Schmalh). По сравнению с ацикловиром обладает более широким спектром действия.

Аммифурин (таблетки, спиртовой раствор), рег. №№ 83/914/9; 70/151/47; 70/151/48 – фотосенсибилизирующее средство, получаемое из плодов амми большой (*Ammi majus* L.).

Тел. контакта: 8(495)388-55-09; 8(495)388-61-09; 8(495)712-10-45

Факс: 8(495)712-09-18;

e-mail: vilarnii.ru; www.vilarnii.ru