

EDN: ZZYKWQ

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

The Procedure of Electrochemical Microbiological Assay for Comparative Analysis of the Properties of Various Plant Extracts

Vladimir S. Sibirtsev^{a*},
Uliana Yu. Nechiporenko^a, Vladimir L. Kabanov^b,
Mikhail Yu. Kukin^c and Mikhail A. Radin^a

^a*Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
Saint Petersburg, Russian Federation*

^b*All-Russia Research Institute for Food Additives
Saint Petersburg, Russian Federation*

^c*Scientific Research Institute of the Bakery Industry
Saint Petersburg, Pushkin, Russian Federation*

Received 19.09.2020, received in revised form 23.10.2022, accepted 11.11.2022

Abstract. Recently, the content of biologically active substances (BAS) of natural origin in food, pharmaceutical, cosmetic, and other products manufactured and consumed by humans has been steadily decreasing. Among the most acceptable and common sources of such BAS are various plant extracts. Moreover, the problem of developing sufficiently objective and at the same time rapid and widely applicable methods for quantitative assessment of pro- and antibiotic properties of a large number of products, both new and already approved for use, is becoming increasingly urgent. Thus, the purpose of this study was 1) to develop a rapid and objective instrumental method for assessing pro- and antibiotic properties of various samples of food, pharmaceutical, cosmetic, and other products and 2) to analyze the influence of various plant extracts on the biochemical activity of typical representatives of human microbiota and pathogenic microflora by using this method. The bioassay procedure has been developed, which includes periodic (every 2 h) recording of changes in pH, redox potential, and electrical conductivity of a liquid nutrient test medium (NTM) inoculated with viable test microorganisms (TM) and incubated in the presence and absence of test samples (TS). This procedure was used to conduct comparative analysis of the pro- and antibiotic activity of different concentrations of subcritical whole extracts prepared from 10 different types of plant raw materials using liquefied CO₂ against *Escherichia coli*, *Lactobacillus*

© Siberian Federal University. All rights reserved

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).

* Corresponding author E-mail address: vs1969r@mail.ru

ORCID: 0000-0003-0829-5213 (Sibirtsev V.); 0000-0002-4102-1129 (Nechiporenko U.); 0000-0001-9085-2984 (Kabanov V.); 0000-0003-1722-4644 (Kukin M.); 0000-0001-9951-7955 (Radin M.)

acidophilus, and *Staphylococcus aureus*. The study shows that among the TS, the most active long-term antibiotic properties are exhibited by extracts of wormwood (*Artemisia taurica*) and wild rosemary (*Ledum palustre*) leaves and marsh calamus (*Acorus calamus*) roots at NTM concentrations of 3 vol.% or higher. The most active long-term probiotic properties were exhibited by extracts of common juniper (*Juniperus communis*) berries, elecampane (*Inula helenium*) roots, calamus (*Acorus calamus*) roots, and yarrow (*Achillea millefolium*) leaves at NTM concentrations of 0.2 vol.%. The initial biological activity of most TS was greater than their long-term activity. At the same time, the mid-term (relative to the TS/TM interaction time) antibiotic activity of most TS was intermediate between their initial and long-term activity. Thus, it is obvious that the biological activity of food and other products containing various plant extracts is determined not only by the BAS composition of the product but also by the concentration of the extract in the product, the time of its interaction with living organisms (humans, their microbiota, etc.), and other factors. Moreover, the exact nature of these relationships in most cases can be established only empirically, by performing a considerable number of tests. These tests can be conveniently carried out using the procedure described in this work, which is less labor- and material-intensive than conventional microbiological methods. This procedure gives much more rapid, objective, and informative assessments of the effects of various samples of food, pharmaceutical, cosmetic, and other products and individual ingredients and additives on the dynamics of the vital activity of microorganisms (which, as shown in the work, reliably correlates with their biochemical activity).

Keywords: microbiological assay, antibiotic properties, plant extracts.

Citation: Sibirtsev V. S., Nechiporenko U. Yu., Kabanov V. L., Kukin M. Yu., Radin M. A. The procedure of electrochemical microbiological assay for comparative analysis of the properties of various plant extracts. J. Sib. Fed. Univ. Biol., 2023, 16(1), 109–124. EDN: ZZYKWQ.



Методика электрохимического микробиологического тестирования в применении к сравнительному анализу свойств различных растительных экстрактов

**В. С. Сибирцев^а, У. Ю. Нечипоренко^а,
В. Л. Кабанов^б, М. Ю. Кукин^в, М. А. Радин^а**

*^аСанкт-Петербургский государственный
химико-фармацевтический университет*

Российская Федерация, Санкт-Петербург

*^бВсероссийский научно-исследовательский институт
пищевых добавок*

Российская Федерация, Санкт-Петербург

^вНИИ хлебопекарной промышленности

Российская Федерация, Санкт-Петербург, Пушкин

Аннотация. В последнее время в пищевой, фармацевтической, косметической и иной продукции, производимой и потребляемой человеческим обществом, ощущается всё больший недостаток биологически активных веществ (БАВ) природного происхождения, одним из наиболее приемлемых и распространённых источников которых являются различные растительные экстракты (РЭ). Кроме того, всё более актуальной становится проблема разработки достаточно объективных и в то же время экспрессных и доступных для широкого применения методов количественной оценки про- и антибиотических свойств большого количества образцов как новой, так и уже допущенной к применению продукции. Целью настоящего исследования стала доработка и апробирование экспрессной и объективной инструментальной методики оценки про- и антибиотических свойств продукции, включающей различные растительные экстракты, с последующим анализом влияния указанных экстрактов на динамику биохимической активности типичных представителей микробиоты и патогенной микрофлоры человека. Предложена методика микробиотестирования, предусматривающая периодическую (через каждые 2 ч) регистрацию изменений pH, редокс-потенциала (Eh) и электропроводности жидкой питательной тестовой среды (ТС), засеянной жизнеспособными тестовыми микроорганизмами (ТМ) и инкубируемой в присутствии и в отсутствие тестируемых образцов (ТО). С помощью указанной методики был проведён сравнительный анализ про- и антибиотической активности в отношении *Escherichia coli*, *Lactobacillus acidophilus* и *Staphylococcus aureus* разных концентраций цельных докритических экстрактов, получаемых с помощью сжиженного CO₂ из 10 разных видов растительного сырья. Проведённые исследования показали, что среди ТО наиболее активные пролонгированные антимикробные свойства проявили экстракты из травы полыни таврической (*Artemisia taurica*) и багульника болотного (*Ledum palustre*), а также корней айра болотного (*Acorus calamus*) при их концентрациях в ТС от 3 об.% и выше; а наиболее активные пролонгированные пребиотические свойства проявили экстракты из ягод можжевельника обыкновенного (*Juniperus communis*), корней девясила высокого (*Inula helenium*) и айра болотного (*Acorus calamus*), а также листьев

тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium*) при их концентрациях в ТС равных 0,2 об.%. Начальная биологическая активность ТО в большинстве случаев была больше их пролонгированной активности. В то время как среднесрочная (по времени взаимодействия ТО с ТМ) антибиотическая активность ТО, как правило, была промежуточной по величине между их начальной и пролонгированной активностью. Таким образом, очевидно, что биологическая активность продукции, включающей РЭ, в значительной степени определяется не только составом присутствующих в этой продукции БАВ, но и их концентрацией, а также временем взаимодействия с живыми организмами (такими, как сам человек, его микробиота и т.п.) и другими факторами. Причем точный характер этих зависимостей в большинстве случаев может быть установлен лишь эмпирически, с помощью значительного числа тестовых испытаний, которые удобно проводить с помощью представленной в этой работе методики, позволяющей более экспрессно, объективно и информативно, а также менее трудоёмко и материалоёмко, чем при использовании стандартных микробиологических методов, оценивать влияние на динамику жизненной активности микроорганизмов (которая, как показано в работе, достоверно коррелирует с их биохимической активностью) различных образцов пищевой, фармацевтической, косметической и иной продукции, а также отдельных ингредиентов и добавок к ней.

Ключевые слова: микробиологическое тестирование, антибиотические свойства, экстракты растительные.

Цитирование: Сибирцев, В.С. Методика электрохимического микробиологического тестирования в применении к сравнительному анализу свойств различных растительных экстрактов / В.С. Сибирцев, У.Ю. Нечипоренко, В.Л. Кабанов, М.Ю. Кукин, М.А. Радин // Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология, 2023. 16(1). С. 109–124. EDN: ZZYKWQ.

Введение

В последнее время в пищевой, фармацевтической, косметической и других отраслях народного хозяйства всё более актуальной становится проблема разработки достаточно объективных и в то же время экспрессных и доступных для широкого применения методов количественной оценки про- и антибиотических свойств большого количества образцов как новой, так и уже допущенной к применению продукции. В последнем случае упомянутые 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 дешёвая, доступная и статистически достоверная модель

живых организмов в целом; но и как модель полезной естественной микробиоты человека, а также природной микрофлоры, способной вызывать различные инфекционные заболевания, токсикозы, аллергические реакции, способствовать порче пищевой и иной продукции и т.д.

Однако принятые в настоящее время в качестве стандартных при микробиологическом тестировании процедуры оценки общей выживаемости микроорганизмов, предусматривающие визуальный подсчёт количества колоний тестовых микроорганизмов (ТМ), выросших после инкубации их на плотной питательной среде (ПС), либо измерение величины зоны задержки роста этих 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 (Sutherland et al., 2009; Das et al., 2012; Al-Zubairi et al., 2017; Luzhnova et al., 2018; Zhuravlev, Voronchikhina, 2018). 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.

Авторы настоящей статьи уже достаточно давно занимаются разработкой подобных методов (Ivanov et al., 1997a, 1997b, 1999; Sibirtsev et al., 1995, 1997, 2000, 2001, 2003, 2005, 2016, 2017, 2019a, 2019b, 2019c; Sibirtsev, 2005, 2007, 2017a, 2017b; Sibirtsev, Stroev, 2019; Sibirtsev, Maslova, 2019). Однако и к настоящему времени они нуждаются в совершенствовании и коррекции под конкретные виды продукции.

В частности, в последнее время в пищевой, фармацевтической, косметической и иной продукции, производимой и потребляемой человеческим обществом, ощущается всё 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 посторонней микрофлорой и т.п.), так и симбиотически связанной с ним полезной микробиоты, либо угнетению жизнедеятельности вредной для человека микрофлоры.

Производство концентрированных синтетических аналогов этих БАВ (с целью использования их в качестве биологически активных добавок к пищевой, фармацевтической, косметической и иной продукции) 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 данной продукции, способных обеспечить достаточно высокую степень её биологической активности. 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 экстракты из различного растительного сырья в настоящее время являются одним из наиболее приемлемых и распространённых источников БАВ. РЭ достаточно широко применяются, в частности, 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 (Burt, 2004; Bakkali et al., 2008; Sutherland et al., 2009; Tripathi et al., 2011; Das et al., 2012; Fatima et al., 2013; Alok et al., 2014; Donsi, Ferrari, 2016; Merghni et al., 2016; Radice et al., 2016; Al-Zubairi et al., 2017; Fani, Kohanteb, 2017; Rodino, Butu, 2019). Кроме того, РЭ в ряде случаев используются в качестве антисептиков, экологически безопасных инсектицидов и пестицидов, добавок к различным зуботерапевтическим, ранозаживляющим и другим медицинским и упаковочным материалам (съедобным, био-разлагаемым, обладающим выраженным антимикробным действием) и т.п. (Burt, 2004; Atarés,

Chiralt, 2016; Pavela, Benelli, 2016; Yuan et al., 2016; Ribeiro-Santos et al., 2017; Ju et al., 2019).

Из различных видов РЭ в последнее время всё более широкое применение находят экстракты, получаемые, после разрушения клеточных стенок растительного сырья, с использованием в качестве экстрагента сжиженного углекислого газа (СО₂РЭ), который затем полностью удаляется из конечного продукта за счёт изменения давления и температуры (Rout et al., 2008; Sahena et al., 2009; Ibadullaeva et al., 2015; Lazarotto et al., 2018; Vicitez et al., 2018; Coelho et al., 2018). Это обусловлено тем, что СО₂РЭ среди других видов РЭ (включая «эфирные масла») характеризуются, как правило, наибольшим разнообразием и концентрированностью входящих в их состав БАВ. Если экстрагирование проводится при давлении и температуре СО₂ выше 75 атмосфер и ниже 31 °С, то такие экстракты называются «докритическими» (поскольку СО₂ в них проявляет свойства «обычной» жидкости). В противном случае экстракты, получаемые по описываемой технологии, называются «сверхкритическими» (поскольку СО₂ в них, находясь в сверхкритическом состоянии, проявляет свойства как жидкости, так и газа). Кроме того, СО₂РЭ делятся на «селективные» и «цельные», получаемые, соответственно, при низких и высоких давлениях СО₂. Причем наиболее богаты различными БАВ «цельные докритические» СО₂РЭ, имеющие в своём составе помимо летучих компонентов (обычных для «эфирных масел») также более тяжёлые растительные смолы, парафины, пигменты и т.п. Такие экстракты, как правило, обладают вязкой пастообразной консистенцией, 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 доработка и апробирование экспрессной и объективной инструменталь-

ной методики оценки про- и антибиотических свойств продукции, включающей различные растительные экстракты, с последующим анализом влияния указанных экстрактов на динамику биохимической активности типичных представителей микробиоты и патогенной микрофлоры человека.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования в настоящей работе были взяты цельные докритические экстракты, произведенные ООО «Казанский завод экстрактов» (РФ, г. Казань) с помощью сжиженного СО₂ при Т = 20 °С и Р = 72 атм из следующих видов растительного сырья: побеги и ягоды можжевельника обыкновенного (*Juniperus communis*) (№ 1 и № 2 соответственно), молодые побеги сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*) (№ 3), листья тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium*) (№ 4), листья и стебли пустырника (*Leonurus cardiaca*) (№ 5), листья и стебли полыни таврической (*Artemisia taurica*) (№ 6), корни аира болотного (*Acorus calamus*) (№ 7), листья, стебли и цветы багульника болотного (*Ledum palustre*) (№ 8), корни дягиля лекарственного (*Angelica archangelica*) (№ 9), корни девясила высокого (*Inula helenium*) (№ 10). Указанный завод был выбран потому, что он является в настоящее время крупнейшим в России производителем СО₂РЭ.

Для анализа влияния различных концентраций указанных экстрактов на динамику биохимической активности типичных представителей микробиоты и патогенной микрофлоры человека использовалась следующая методика. Для каждой партии тестируемых экстрактов (ТЭ) с каждым из ТМ проводилось по 4 серии измерений. Перед началом каждой из таких серий готовилась ПС, представлявшая собой стерильный водный раствор с рН 7,2±0,2, содержащий 5 г/л глюкозы, 20 г/л белкового гидролизата и 2 г/л NaCl. При этом наличие

глюкозы ускоряло начальное развитие ТМ, обеспечивая большую экспрессность анализа. Затем указанная среда засеивалась *Escherichia coli* ATCC 25922, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 либо *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (которые были выбраны в качестве ТМ, поскольку являются типичными представителями микробиоты и патогенной микрофлоры человека) и инкубировалась при $37 \pm 0,1$ °C без перемешивания, пока содержание клеток ТМ в ней не достигало примерно 5×10^6 кл/мл (что удостоверялось нефелометрическим способом по бактериальному стандарту мутности).

Далее полученная тестовая среда (ТС) (отличающаяся от исходной ПС наличием в ней значительного количества жизнеспособных ТМ) разливалась по тестовым измерительным ёмкостям (ИЕ) (представлявшим собой стандартные 10 мл стеклянные пробирки, заполняемые тестовой средой до половины своего объёма), в каждую из которых предварительно добавлялось (по три ИЕ в параллель) количество заданного ТЭ, необходимое для достижения заданной его концентрации в ТС. При этом в качестве контроля использовали ТС без ТЭ, также помещённые в ИЕ в трёх повторностях.

Затем как тестовые, так и контрольные ИЕ инкубировались без перемешивания при $37 \pm 0,1$ °C в течение 6 часов. Во время этого инкубирования с интервалом 2 часа осуществлялась регистрация рН, редокс-потенциала (Еh, мВ) и удельной, линейной, низкочастотной электропроводности (X, мСм/см) ТС, содержащихся в каждой из ИЕ. Значения рН и Еh регистрировались с помощью иономера «Эксперт-001» (РФ) с комбинированными электродами «ЭСК-10601/7» и «ЭРП-105» соответственно. Значения X регистрировались с помощью кондуктометра «Эксперт-002» (РФ) с датчиком «УЭП-П-С», работающим на частоте 1,6 кГц.

Общие степени активирования (+) либо ингибирования (–) биохимической активности

ТМ заданными концентрациями ТЭ после k часов их совместного инкубирования в жидкой ТС ($\varepsilon_{v,k}$, %) рассчитывались по формуле:

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

Величины $\varepsilon_{pH,k}$, $\varepsilon_{Eh,k}$ и $\varepsilon_{X,k}$ определялись отдельно по результатам измерений значений рН, Еh и X у ТС, содержащихся в ИЕ, в ходе инкубации этих ИЕ по формуле:

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

Здесь индекс i показывает измерения по какому параметру (рН, Еh или X) учитываются в формуле 2 (например $\varepsilon_{pH,k} = 100 \times (\Delta Y_{pH,k} - \Delta Y_{c,pH,k}) / \Delta Y_{c,pH,k}$).

Величины $\Delta Y_{i,k}$ и $\Delta Y_{c,i,k}$ определяются как усреднённые по выборке из N образцов с одинаковыми концентрациями экстрактов, приготовленных одинаковым способом из одного вида сырья (в нашем случае $N = 3 \times 4 = 12$) изменения значений i-параметра ТС (рН, Еh или X), произошедшие за k часов от начала инкубирования этой ТС в присутствии заданной концентрации ТЭ (ΔY_t , наблюдаемое в тестовых ИЕ) либо в отсутствие ТЭ (ΔY_c , наблюдаемое в контроле). Например $\Delta Y_{pH,2} = pH_{T,2} - pH_{T,0}$, а $\Delta Y_{X,4} = X_{C,4} - X_{C,0}$ (где $pH_{T,0}$ – значение рН среды в тестовой ИЕ в начале её инкубирования, $pH_{T,2}$ – значение рН среды в тестовой ИЕ через 2 ч после начала её инкубирования, $X_{C,0}$ – значение X среды в контроле в начале инкубирования, $X_{C,4}$ – значение X среды в контроле через 4 ч после начала инкубирования) и т.д.

Коэффициенты при $\varepsilon_{i,k}$, указанные в формуле (1), были рассчитаны методами факторного анализа, аналогично тому, как описано в работах (Johnson, Jeffi, 1983; Korn, Korn, 1968) по значениям, полученным нами для $\varepsilon_{pH,k}$, $\varepsilon_{Eh,k}$ и $\varepsilon_{X,k}$ в результате применения пред-

ставленной здесь методики к оценке антибактериальной активности в отношении *E. coli* разных концентраций таких известных антисептиков и антибиотиков широкого спектра действия, как хлоргексидина биклюконат, фурацилин и левомицетин.

Ошибка определения каждой из усреднённых величин $\varepsilon_{pH, k}$, $\varepsilon_{Eh, k}$ и $\varepsilon_{X, k}$ рассчитывалась стандартным образом (Johnson, Jeffi, 1983; Korn, Korn, 1968; Sibirtsev, 2006), 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, исходя из стандартной формулы $\Delta z(x_i) = \sum_i(\Delta x_i \delta z / \delta x_i)$ (Johnson, Jeffi, 1983; Korn, Korn, 1968; Sibirtsev, 2006), суммарная ошибка определения величины $\varepsilon_{V, k}$ вычислялась как $\Delta\varepsilon_{V, k} = (\Delta\varepsilon_{pH, k} + 0,7\Delta\varepsilon_{Eh, k} + 0,7\Delta\varepsilon_{X, k}) / 2,4$.

Параметры pH, Eh и X были выбраны для оценки общей степени активирования либо ингибирования жизнедеятельности ТМ заданными концентрациями ТЭ потому, что они наиболее надёжно измеряются инструментально и при этом чувствительно связаны с тем, насколько ускоряется либо замедляется преобразование жизнедеятельными микроорганизмами, находящимися в ТС, катаболитов, присутствующих в той же ТС, в анаболиты (имеющие иные, чем у катаболитов кислотность, электропроводность и электрохимический окислительно–восстановительный потенциал).

Однако если рассматривать изменение этих параметров по отдельности, то, в частности, при росте микроорганизмов на глюкозно–белковой среде (подобной используемой в настоящей работе) потребление глюкозы вызывает закисление среды, а потребление аминокислот из белкового гидролизата – защелачивание; одновременно с этим, потре-

бление микроорганизмами кислорода приводит к снижению Eh в область редутивных значений и т.д. В результате чего лишь величина ε_V , учитывающая суммарное изменение pH, Eh и X, достаточно информативно и адекватно могла характеризовать изменения метаболической активности ТМ.

Для верификации представляемой нами методики в табл. 1 приведены значения ε_S , полученные для различных концентраций ТЭ в присутствии *E. coli* с помощью «стандартной» методики микробиологического тестирования (Sutherland et al., 2009; Das et al., 2012; Al-Zubairi et al., 2017; Luzhnova et al., 2018; Zhuravlev, Voronchikhina, 2018). Последняя предусматривала визуальный подсчёт количества колоний ТМ, выросших после 24 ч инкубации их при $37 \pm 0,1$ °C на плотной ПС (имеющей тот же состав, что и использовавшаяся нами жидкая ПС, но с добавлением 20 г/л микробиологического агар–агара) в присутствии и в отсутствие заданных количеств ТЭ с последующим расчётом величины ε_S по формуле (2). При этом высевание проводилось для нескольких последовательных разведений ТС – 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 ТМ. Данные по этим разведениям соответствующим образом статистически обрабатывались (Korn, Korn, 1968; Johnson, Jeffi, 1983; Sibirtsev, 2006).

Результаты и обсуждение

Наиболее интересные данные, полученные описанным выше способом применительно к объектам настоящего исследования, представлены в табл. 1–3. Представленные данные демонстрируют прежде всего то, что экстракты, полученные из разных частей разных растений, могут значительно отли-

Таблица 1. Общая степень активирования (+) либо ингибирования (–) жизнедеятельности *Escherichia coli* ATCC 25922 (ε_s , %), определявшаяся по стандартной методике микробиологического тестирования в присутствии разных количеств различных растительных экстрактов

Table 1. The overall degrees of activation (+) or inhibition (–) of the vital activity of *Escherichia coli* ATCC 25922 (ε_s , %), determined by the standard procedure of microbiological assay, in the presence of different amounts of various plant extracts

C_{TE}	Номер экстракта									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
3	-26	-16	-27	-25	-33	-42	-35	-34	-28	-22
1,5	-9	-6	-8	-9	-12	-13	-14	-12	-9	-7
0,5	-6	1	-6	-2	-7	-8	-5	-6	-4	-3
0,2	12	20	10	14	10	6	16	12	12	17

Примечания. Описание использованной методики тестирования см. в конце раздела «Материалы и методы». Номера РЭ соответствуют сырью, из которого их получали, указанному в начале раздела «Материалы и методы». Условные обозначения: C_{TE} (об.%) – концентрация РЭ в тестовой среде. Относительные ошибки определения величин ε_s для всех указанных в таблице значений находятся в диапазоне от 50 до 60 %.

Таблица 2. Общие степени активирования (+) либо ингибирования (–) биохимической активности *Escherichia coli* ATCC 25922 (ε_v , %), определявшиеся по разработанной инструментальной методике при разной продолжительности инкубирования тестовых микроорганизмов в присутствии разных количеств различных растительных экстрактов

Table 2. The overall degrees of activation (+) or inhibition (–) of the biochemical activity of *Escherichia coli* ATCC 25922 (ε_v , %), determined by the developed instrumental procedure, with different durations of incubation of test microorganisms in the presence of different amounts of various plant extracts

C_{TE}	k	P	Номер экстракта									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
3	2	90	-70	-48	-64	-69	-68	-90	-72	-76	-74	-57
	4	90	-62	-33	-57	-57	-63	-84	-65	-66	-64	-47
	6	95	-48	-29	-54	-46	-57	-77	-59	-62	-54	-40
1,5	2	90	-24	-17	-22	-24	-23	-28	-24	-26	-25	-19
	4	90	-22	-11	-19	-19	-22	-24	-22	-23	-22	-16
	6	95	-17	-10	-18	-16	-19	-23	-20	-22	-18	-13
0,5	2	90	24	32	38	25	29	24	24	24	30	22
	4	90	10	14	-2	5	1	-4	-2	2	10	10
	6	95	-10	2	-13	-4	-11	-14	-7	-11	-5	-6
0,2	2	90	52	61	46	51	33	29	39	25	47	53
	4	90	32	52	30	41	24	16	32	29	40	45
	6	95	21	36	17	26	17	10	26	22	23	30

Примечания. Описание использованной методики тестирования см. в разделе «Материалы и методы». Условные обозначения: k (ч) – продолжительность инкубирования тестовой среды; P (%) – достоверность корреляции значений ε_v с приведёнными в табл. 1 значениями ε_s при той же C_{TE} . Остальные обозначения как в табл. 1. Относительные ошибки определения величин ε_v для всех указанных в таблице значений находятся в диапазоне от 10 до 20 %.

Таблица 3. Общие степени активирования (+) либо ингибирования (–) биохимической активности *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 и *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ($\epsilon_{v,3}$, %), определявшиеся по разработанной инструментальной методике при разной продолжительности инкубирования тестовых микроорганизмов (ТМ) в присутствии разных количеств различных растительных экстрактов

Table 3. The overall degrees of activation (+) or inhibition (–) of the biochemical activity of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 and *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ($\epsilon_{v,3}$, %), determined by the developed instrumental procedure, with different durations of incubation of test microorganisms (ТМ) in the presence of different amounts of various plant extracts

C _{TE}	ТМ	k	Номер экстракта									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
3	<i>L. acidophilus</i>	2	-63	-43	-61	-62	-59	-81	-63	-68	-70	-51
		6	-43	-26	-51	-41	-49	-69	-50	-56	-52	-36
	<i>S. aureus</i>	2	-57	-39	-54	-57	-53	-74	-56	-62	-63	-47
		6	-39	-24	-46	-38	-44	-63	-46	-51	-47	-33
1,5	<i>L. acidophilus</i>	2	-22	-15	-21	-22	-20	-25	-22	-24	-24	-17
		6	-15	-9	-17	-14	-16	-21	-18	-20	-17	-12
	<i>S. aureus</i>	2	-20	-14	-19	-20	-21	-23	-20	-22	-23	-16
		6	-14	-8	-16	-13	-17	-19	-16	-19	-16	-11
0,5	<i>L. acidophilus</i>	2	22	29	36	23	25	22	22	21	28	20
		6	-9	2	-12	-4	-9	-13	-6	-9	-5	-5
	<i>S. aureus</i>	2	20	26	33	21	26	20	20	22	26	18
		6	-8	2	-11	-3	-10	-11	-6	-10	-4	-5
0,2	<i>L. acidophilus</i>	2	47	55	43	46	31	26	36	23	45	48
		6	19	32	16	23	14	9	22	20	22	27
	<i>S. aureus</i>	2	43	50	40	42	29	24	34	21	41	43
		6	17	30	15	21	15	8	23	18	20	25

Примечания. Обозначения как в табл. 2. Относительные ошибки определения величин ϵ_r для всех указанных в таблице значений находятся в диапазоне от 10 до 20 %.

чаться друг от друга по своей биологической активности. В частности, это отчётливо видно на примере сравнения антимикробной активности экстрактов, полученных из побегов и ягод можжевельника обыкновенного, а также травы полыни таврической, для которых при их концентрации в ТС, равной 3 об.%, $\epsilon_{v,6}$ в отношении *E. coli* составили -48 ± 7 , -29 ± 4 и -77 ± 9 % соответственно (см. табл. 2 для экстрактов № 1, № 2 и № 6). Либо на примере сравнения пребиотической активности тех же экстрактов, для которых при их концентрации в ТС, равной 0,2 об.%, $\epsilon_{v,6}$ в отношении *E. coli* составили 21 ± 3 , 36 ± 5 и 10 ± 1 % соответственно.

Также может отличаться и активность одних и тех же экстрактов в отношении различных видов и штаммов микроорганизмов (см. табл. 2 и 3). При этом в отношении исследованных в настоящей работе РЭ наиболее чувствительной из использованных ТМ, как при кратко-, так и при долгосрочном взаимодействии с ТЭ, оказалась *E. coli*.

Кроме того, характер активности ТЭ может достаточно значительно меняться и с изменением концентраций этих экстрактов в ТС (см. табл. 1–3). В частности, у экстрактов, исследованных в настоящей работе, с уменьшением их концентрации в ТС антимикробная активность ТЭ в отношении ТМ достоверно

и монотонно уменьшалась, а пребиотическая активность, наоборот, увеличивалась. Так, например, при концентрациях 3, 1,5 и 0,2 об.% величины $\varepsilon_{v,6}$ в отношении *E. coli* у экстракта из листьев, стеблей и цветов багульника болотного были равны -62 ± 7 , -22 ± 3 , и 22 ± 4 %; а аналогичные величины у экстракта из ягод можжевельника обыкновенного были равны -29 ± 4 , -10 ± 2 и 36 ± 5 % соответственно (см. табл. 2 для экстрактов № 8 и № 2).

В целом же среди исследованных экстрактов наиболее активные пролонгированные (долгосрочные) антимикробные свойства в отношении ТМ (количественно характеризуемые в табл. 2 и 3 величиной $\varepsilon_{v,6}$, определяемой через 6 ч инкубации ТМ в присутствии ТЭ) проявили экстракты из травы полыни таврической (№ 6), листьев, стеблей и цветов багульника болотного (№ 8) и корней аира болотного (№ 7) при их концентрациях в ТС от 3 об.% и выше. В то время как наиболее активные пролонгированные пребиотические свойства проявили экстракты из ягод можжевельника обыкновенного (№ 2), корней девясилы высокого (№ 10), корней аира болотного (№ 7) и листьев тысячелистника обыкновенного (№ 4) при их концентрациях в ТС, равных 0,2 об.%.

Начальная (краткосрочная) микробиологическая активность ТЭ (количественно характеризуемая в табл. 2 и 3 величиной $\varepsilon_{v,2}$, определяемой через 2 ч инкубации ТМ в присутствии ТЭ) в большинстве случаев была достоверно больше их пролонгированной активности. Это объяснялось, вероятно, как адаптацией ТМ к присутствию ТЭ, так и уменьшением с течением времени активности и общего количества БАВ, содержащихся в ТЭ, приходящегося на один ТМ.

Среднесрочная (по времени взаимодействия ТЭ с ТМ) микробиологическая активность ТЭ (количественно характеризуемая

в табл. 2 величиной $\varepsilon_{v,4}$, определяемой через 4 ч инкубации ТС с ТЭ) в большинстве случаев была промежуточной по величине между $\varepsilon_{v,2}$ и $\varepsilon_{v,6}$ и лишь иногда (как, например, в случае экстракта № 8 в концентрации 0,2 об.%) превышала как $\varepsilon_{v,2}$, так и $\varepsilon_{v,6}$ тех же ТЭ.

Кроме того, из сопоставления значений величин ε_s и ε_v , полученных для одинаковых концентраций одних и тех же ТЭ и приведённых в табл. 1 и 2, видно, что представляемый нами инструментальный метод микробиологического тестирования, позволяя получать результаты, с 90–95 % достоверностью коррелирующие с аналогичными результатами, получаемыми с помощью «стандартного» визуального метода микробиологического тестирования (приведёнными в табл. 1), имеет по сравнению с последним существенно меньшую длительность (требуя для своего проведения от 3 до 7 ч вместо 26 ч по «стандартному» методу), материалоёмкость и трудоёмкость (т.к. для проведения «стандартного» метода необходимо большое количество разведений ТС, использование для каждого разведения значительных объёмов плотных ПС, визуальный подсчёт колоний ТМ, выросших на этих средах и т.п.). Кроме того, для величины ε_s , определяемой «стандартным визуальным» методом микробиологического тестирования, характерна значительно большая ошибка измерения, чем для величины ε_v , определяемой представленным здесь инструментальным микробиотестовым методом. Помимо этого, для каждой концентрации каждого из ТЭ представленным здесь инструментальным методом можно было получить как минимум три (а при необходимости, и больше) значения ε_v (отражающие временную динамику изменения ε) вместо всего лишь одного значения ε_s , получаемого «стандартным визуальным» методом микробиологического тестирования. И наконец,

представленная здесь инструментальная методика микробиологического тестирования даёт гораздо больше возможностей для автоматизации всего процесса анализа по сравнению с аналогичными «стандартными визуальными» методами его проведения.

Заключение

Таким образом, мы убедились что с помощью представленной в настоящей работе методики можно значительно более экспрессно (в течение нескольких часов, а не суток), объективно (за счёт уменьшения роли субъективного человеческого фактора при замене в процессе измерений визуальных методов на инструментальные) и информативно, чем при использовании стандартных методов, оценивать влияние на динамику жизненной активности ТМ различных образцов пищевой, фармацевтической, косметической и иной продукции, в том числе включающей РЭ. При этом большая информативность представленной методики достигается за счёт того, что, во-первых, инструментальные способы измерения чувствительней визуальных (применяемых в стандартных микробиологических методах); во-вторых, представленная методика даёт возможность оценивать динамику изменения биохимической активности микроорганизмов на множестве произвольно выбираемых временных отрезков (в отличие от стандартных микробиологических процедур, где измерения производятся лишь один раз, в конце периода инкубации ТО); в-третьих, как видно из сопоставления данных, приведённых в табл. 1 и 2, динамика изменения биохимической активности ТМ, определяемая предлагаемым нами методом, достоверно коррелирует с динамикой изменения скорости размножения тех же микроорганизмов в присутствии тех же концентраций тех же ТО, оцениваемой стандартным мето-

дом; и в-четвертых, представляемая нами методика предполагает оценку изменения активности микроорганизмов сразу по нескольким независимым показателям (таким как pH, редокс-потенциал и электропроводность ТС), а не только по одному (мутности ТС, числу колоний ТМ или величине зоны задержки их роста), как в случае применения стандартных микробиологических методик. Кроме того, представленная здесь методика существенно менее материалоемка и трудоёмка по сравнению с аналогичными стандартными методами, а также даёт гораздо больше возможностей для автоматизации всего процесса анализа.

Всё это делает представленную методику значительно более доступной для массового применения, чем ранее используемые стандартные методы микробиологического тестирования образцов различной продукции. Последнее же 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 про- и антибиотических свойств новой продукции (ассортимент которой всё увеличивается, а сроки появления сокращаются); но и постоянный широкий мониторинг этих свойств у уже допущенной к массовому потреблению продукции с целью выявления недоброкачественных, либо успевших до окончательной реализации испортиться или претерпеть химическое или биологическое заражение её образцов.

В отношении же исследованных нами РЭ следует отметить следующее. Как мы убедились, РЭ, полученные из разных частей разных растений разными способами, могут значительно отличаться друг от друга по своей биологической активности. Кроме того, характер биологической активности РЭ может

значительно изменяться и при изменении их концентрации в ТС, а также времени взаимодействия с живыми организмами, времени и Т хранения РЭ и т.п.

В частности, среди исследованных экстрактов наиболее активные пролонгированные (долгосрочные) антимикробные свойства проявили экстракты из травы полыни таврической, листьев, стеблей и цветов багульника болотного, а также корней айра болотного при их концентрациях в ТС от 3 об.% и выше. В то время как наиболее активные пролонгированные пребиотические свойства проявили экстракты из ягод можжевельника обыкновенного, корней девясила высокого, корней айра болотного и листьев тысячелистника обыкновенного при их концентрациях в ТС, равных 0,2 об.%.

Начальная микробиологическая активность ТЭ в большинстве случаев была достоверно больше их пролонгированной активности. Среднесрочная (по времени взаимодействия ТЭ с ТМ) микробиологическая

активность ТЭ, как правило, была промежуточной по величине и лишь иногда превышала не только пролонгированную, но и начальную активность тех же ТЭ. С уменьшением концентраций ТЭ в ТС их антимикробная активность монотонно уменьшалась, а пребиотическая активность увеличивалась.

Таким образом, очевидно, что характер про- и антибиотической активности пищевой, кормовой, фармацевтической, косметической и иной продукции, включающей РЭ, в значительной степени определяется не только составом присутствующих в этой продукции БАВ, но и их концентрацией, а также временем взаимодействия с живыми организмами (такими, как сам человек, его микробиота и т.п.) и другими факторами. Причем точный характер этих зависимостей в большинстве случаев может быть установлен лишь эмпирически, с помощью значительного числа тестовых испытаний (которые удобно проводить с помощью представленной в этой работе методики).

Список литературы / References

- Alok S., Jain S.K., Verma A., Kumar M., Mahor A., Sabharwal M. (2014) Herbal antioxidant in clinical practice: a review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(1): 78–84
- Al-Zubairi A. S., Al-Mamary M. A., Al-Ghasani E. (2017) The antibacterial, antifungal, and antioxidant activities of essential oil from different aromatic plants. *Global Advanced Research Journal of Medicine and Medical Sciences*, 6(9): 224–233
- Atarés L., Chiralt A. (2016) Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 48: 51–62
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. (2008) Biological effects of essential oils – a review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2): 446–475
- Burt S. (2004) Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3): 223–253
- Coelho J., Veiga J., Karmali A., Nicolai M., Reis C.P., Nobre B., Palavra A. (2018) Supercritical CO₂ extracts and volatile oil of basil (*Ocimum basilicum* L.) comparison with conventional methods. *Separations*, 5(2): 21
- Das S., Anjeza C., Mandal S. (2012) Synergistic or additive antimicrobial activities of Indian spice and herbal extracts against pathogenic, probiotic and food-spoiler micro-organisms. *International Food Research Journal*, 19(3): 1185–1191

Donsi F., Ferrari G. (2016) Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food. *Journal of Biotechnology*, 233: 106–120

Fani M., Kohanteb J. (2017) In vitro antimicrobial activity of *Thymus vulgaris* essential oil against major oral pathogens. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 22(4): 660–666

Fatima A., Alok S., Agarwal P., Singh P.P., Verma A. (2013) Benefits of herbal extracts in cosmetics: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(10): 3746–3760

Ibadullaeva G. S., Pichkhadze G. M., Ustenova G. O., Dil'barkhanov R., Tikhonova S. A., Grud'ko V. A., Bezv N. Yu., Yudina Yu. V. (2015) Chemical composition of the CO₂-extract of *Acorus calamus* obtained under subcritical conditions. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 49(6): 388–392

Ivanov S.D., Korytova L.I., Yamshanov V.A., Ilyn N.V., Sibirtsev V.S. (1997a) Leukopenia prognosis by radiation therapy of patients with Hodgkin's disease. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, 16(2): 183–188

Ivanov S.D., Korytova L.I., Yamshanov V.A., Ilyin N.V., Sibirtsev V.S. (1997b) Leukopenia prognosis during radiation therapy in patients with Hodgkin's disease. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, 16(4): 413–418

Ivanov S.D., Kovalenko A. L., Kovan'ko E. G., Iamshanov V. A., Akimov A. A., Zabezhinskii M. A., Sibirtsev V.S. (1999) The use of cycloferon in experimental radiotherapy of tumors. *Voprosy onkologii*, 45(3): 292–297

Johnson K., Jeffi V. (1983) *Numerical methods in chemistry*. New York, Cambridge University Press, 235 p.

Ju J., Xie Y., Guo Y., Cheng Y., Qian H., Yao W. (2019) Application of edible coating with essential oil in food preservation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(15): 2467–2480

Korn G., Korn T. (1968) *Mathematical handbook for scientists and engineers. Definitions, theorems and formulas for reference and review*. McGraw Hill Book Company, 356 p.

Lazarotto M., Valério A., Boligon A., Tres M. V., Scapinello J., Dal Magro J., Oliveira J. V. (2018) Chemical composition and antibacterial activity of bergamot peel oil from supercritical CO₂ and compressed propane extraction. *Open Food Science Journal*, 10: 16–23

Luzhnova S. A., Tyrkov A. G., Gabitova N. M., Yurtaeva E. A. (2018) Synthesis and antimicrobial activity of 5-(arylmethylidene)-2,4,6-pyrimidine-2,4,6(1H,3H,5H)-triones. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 52(6): 506–509

Merghni A., Marzouki H., Hentati H., Aouni M., Mastouri M. (2016) Antibacterial and antibiofilm activities of *Laurus nobilis* L. essential oil against *Staphylococcus aureus* strains associated with oral infections. *Current Research in Translational Medicine*, 64(1): 29–34

Pavela R., Benelli G. (2016) Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints. *Trends in Plant Science*, 21(12): 1000–1007

Radice M., Manfredini S., Ziosi P., Dissette V., Buso P., Fallacara A., Vertuani S. (2016) Herbal extracts, lichens and biomolecules as natural photo-protection alternatives to synthetic UV filters. A systematic review. *Fitoterapia*, 114: 144–162

Ribeiro-Santos R., Andrade M., de Melo N.R., Sanches-Silva A. (2017) Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends. *Trends in Food Science & Technology*, 61: 132–140

- Rodino S., Butu M. (2019) Herbal extracts-new trends in functional and medicinal beverages. *Functional and medicinal beverages. Volume 11. The science of beverages*. Academic Press, p. 73–108
- Rout P.K., Naik S.N., Rao Y.R. (2008) Subcritical CO₂ extraction of floral fragrance from *Quisqualis indica*. *Journal of Supercritical Fluids*, 45(2): 200–205
- Sahena F., Zaidul I. S. M., Jinap S., Karim A. A., Abbas K. A., Norulaini N. A. N., Omar A. K. M. (2009) Application of supercritical CO₂ in lipid extraction – a review. *Journal of Food Engineering*, 95(2): 240–253
- Sibirtsev V.S., Garabadzhiu A.V., Ivanov S.D. (1995) Mechanisms for changing fluorescent properties of bis-benzimidazole dyes. *Bioorganicheskaya khimiya*, 21(9): 731–736
- Sibirtsev V.S., Garabadzhiu A.V., Ivanov S.D. (1997) Spectral properties of bisbenzimidazole dyes upon interaction with DNA. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 23(12): 857–865
- Sibirtsev V.S., Glibin E.N., Ivanov S.D. (2000) Variation of spectral properties of actinocin derivatives due to equilibrium transformations. *Russian Journal of Organic Chemistry*, 36(12): 1812–1818
- Sibirtsev V.S., Garabadzhiu A.V., Ivanov S.D. (2001) Comparative study of DNA-specific dyes of the indole and benzimidazole series. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 27(1): 57–65
- Sibirtsev V.S., Tolmachev A. Yu., Suslov V.V., Garabadzhiu A.V., Traven' V. F. (2003) Dependence of fluorescence properties of compounds from psoralen, angelicin, and carbazole series on the character of their terminal substituents. *Russian Journal of Organic Chemistry*, 39(6): 881–889
- Sibirtsev V.S. (2005) Study of applicability of the bifunctional system “Ethidium bromide + Hoechst-33258” for DNA analysis. *Biochemistry (Moscow)*, 70(4): 449–457
- Sibirtsev V.S., Tolmachev A. Yu., Kovaleva M.V., Garabadzhiu A.V., Traven V.F. (2005) Spectral study of interactions of 4,8,4'-trimethylpsoralen and 4,4'-dimethylangelicin dyes with DNA. *Biochemistry (Moscow)*, 70(7): 822–832
- Sibirtsev V.S. (2006) Analysis of benzo[a]pyrene deactivation mechanisms at rats. *Biochemistry (Moscow)*, 71(1): 90–98
- Sibirtsev V.S. (2007) Fluorescent DNA probes: study of mechanisms of changes in spectral properties and features of practical application. *Biochemistry (Moscow)*, 72(8): 887–900
- Sibirtsev V.S., Naumov I. A., Kuprina E. E., Olekhovich R. O. (2016) Use of impedance biotesting to assess the actions of pharmaceutical compounds on the growth of microorganisms. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 50(7): 481–485
- Sibirtsev V.S. (2017a) Investigation of mechanisms of change in spectral properties during interaction of benzazole, indole, and phenanthridium compounds with DNA. *Journal of Optical Technology*, 84(5): 294–301
- Sibirtsev V.S. (2017b) Biological test methods based on fluorometric genome analysis. *Journal of Optical Technology*, 84(11): 787–791
- Sibirtsev V.S., Olekhovich R.O., Samuylova E.O. (2017) Assessment of integral toxicity of water resources by instrumental methods of analysis. *International Multidisciplinary Scientific GeoConference Surveying Geology and Mining Ecology Management, SGEM*, 17(61): 507–514
- Sibirtsev V.S., Stroev S.A. (2019) New optical-electrochemical microbiotesting system for valuation of oil products toxicosafety. *Scientific and Technical Journal of Information Technologies, Mechanics and Optics*, 19(1): 74–81 (in Russian)

Sibirtsev V. S., Maslova A. Yu. (2019) Complex research of E.coli vital activity dynamics in presence of transition metal ions. *Scientific and Technical Journal of Information Technologies, Mechanics and Optics*, 19(2): 236–241 (in Russian)

Sibirtsev V. S., Uspenskaya M. V., Garabadgiu A. V., Shvets V. I. (2019a) An integrated method of instrumental microbiotesting of environmental safety of various products, wastes, and territories. *Doklady Biological Sciences*, 485(1): 59–61

Sibirtsev V. S., Garabadgiu A. V., Shvets V. I. (2019b) Fluorescent DNA probes: study of properties and methods of application. *Doklady Biochemistry and Biophysics*, 489(1): 403–406

Sibirtsev V. S., Garabadgiu A. V., Shvets V. I. (2019c) New method of integrated photofluorescence microbiotesting. *Doklady Biological Sciences*, 489(1): 196–199

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

Tripathi A. K., Bhoyar P. K., Baheti J. R., Biyani D. M., Khaliq M., Kothmire M. S., Amgaonkar Y. M., Bhanarkar A. B. (2011) Herbal antidiabetics: a review. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 2(1): 30–37

Vieitez I., Maceiras L., Jachmanián I., Alborés S. (2018) Antioxidant and antibacterial activity of different extracts from herbs obtained by maceration or supercritical technology. *Journal of Supercritical Fluids*, 133: 58–64

Yuan G., Chen X., Li D. (2016) Chitosan films and coatings containing essential oils: The antioxidant and antimicrobial activity, and application in food systems. *Food Research International*, 89: 117–128

Zhuravlev O. E., Voronchikhina L. I. (2018) Synthesis and antimicrobial activity of n-decylpyridinium salts with inorganic anions. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 52(4): 312–315