

УДК 5579.852.11:579.62

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИНИМАЛЬНЫХ ПОДАВЛЯЮЩИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ СОЛЕЙ ЦИНКА НА РОСТ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ РОДА BACILLUS

**Королькова Д.С., Русяева М.Л., Коробова И.В.**  
*ФГБОУ ВО Оренбургский государственный университет,  
Оренбург, e-mail: korolkova\_1997@mail.ru*

В статье представлены данные свидетельствующие о достаточно выраженном токсическом влиянии всех исследуемых солей цинка не зависимо от анионного компонента в отношении изучаемых пробиотических штаммов. Но следует отметить, что наиболее выраженным токсическим эффектом в отношении исследуемых микроорганизмов обладает ацетат цинка, однако значения зон подавления роста, которого, несущественно превысили значения сульфата, хлорида и нитрата цинка для изучаемых пробиотических штаммов. Также было установлено, что в отношении нитрата цинка наиболее устойчивым оказался штамм *B. cereus* 5832, по отношению к сульфату цинка *B. subtilis* 10641, к ацетату цинка и к хлориду цинка *B. cereus* 5832.

**Ключевые слова:** *Bacillus*, цинк, минимальные подавляющие концентрации.

## DETERMINATION OF MINIMAL SUPPRESSION CONCENTRATIONS OF ZINC SALTS ON THE GROWTH OF PROBIOTIC BACTERIUM STAMPS OF THE GENUS BACILLUS

**Korolkova D.S., Rusyaeva M.L., Korobova I.V.**  
*FGBOU V Orenburg State University, Orenburg, e-mail: korolkova\_1997@mail.ru*

In the article, data are presented indicating a rather pronounced toxic effect of all the zinc salts studied, regardless of the anion component with respect to probiotic strains studied. But it should be noted that zinc acetate has the most pronounced toxic effect on the microorganisms under study, but the values of the growth inhibition zones, which slightly exceeded the values of sulfate, chloride and zinc nitrate for the studied probiotic strains. It was also found that, for zinc nitrate, the most resistant strain was *B. cereus* 5832, with respect to zinc sulphate *B. subtilis* 10641, zinc acetate and zinc chloride, *B. cereus* 5832.

**Keywords:** *Bacillus*, zinc, minimal inhibitory concentrations.

Биологическая роль цинка многообразна. Он необходим для роста и деления клеток, развития костной ткани, процессов регенерации, репродуктивной функции, развития мозга и поведения. Являясь компонентом более 300 энзимов, цинк принимает участие во всех видах обмена, входит в состав генетического аппарата клетки, представляя около 100 цинксодержащих нуклеопротеидов. Цинк принимает активное участие в процессах регенерации, поскольку необходим для синтеза и стабилизации ДНК.

Как и в случае с медью, несмотря на то что цинк является биогенным (эссенциальным) элементом его избыточное содержание в окружающей среде может приводить к различным патологиям как у человека, так и у животных.

Металлический цинк и его соединения в производственных условиях поступают в организм главным образом через органы дыхания и частично через пищеварительный тракт в результате заглывания пыли. Более всего изучено токсическое действие паров цинка и мелкодисперсного аэрозоля, которые образуются в процессе плавления

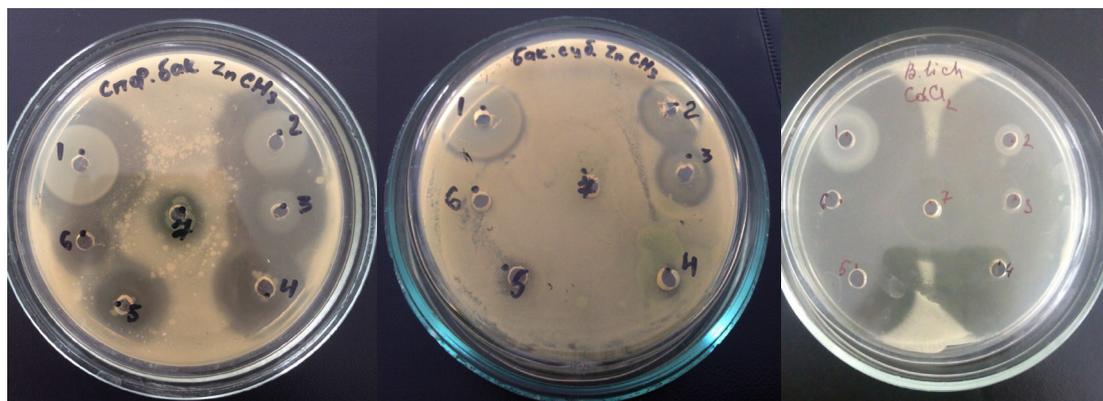
металла оксида цинка. При их вдыхании в значительных концентрациях может возникать проф. заболевание – так называемая цинковая, или литейная лихорадка. При хроническом отравлении оксидом цинка могут развиваться атрофические и субатрофические изменения слизистой оболочки верхних дыхательных путей, гипохромная анемия, желудочно-кишечные расстройства, нарушения сна, повышенная утомляемость, шум в ушах, снижение остроты слуха. При длительном воздействии пыли оксида цинка на организм человека возможно развитие медленно прогрессирующего пневмоконоиоза. При длительном вдыхании пыли оксида цинка в значительных концентрациях развиваются умеренные явления пневмосклероза и эмфиземы легких, реже – мелкопятнистая диссеминация в связи с отложением рентгеноконтрастной пыли оксида цинка в легких; возможна уробилинурия и порфиринурия. Раздражающим действием обладают также сульфат и стеарат цинка. Сухой сульфат цинка и его концентрированные растворы вызывают изъязвления кожи кистей рук, особенно их тыльной поверхности, по типу так назы-

ваемых птичьих глазков. Получены экспериментальные данные об онкогенном действии цинка и его соединений. Острое отравление соединениями цинка отмечали при вдыхании оксида цинка в высоких концентрациях (например, при нагревании металлического цинка выше температуры его плавления). У пострадавших появляется сладковатый привкус во рту, через 1-5 часов возникает сильная жажда, болезненное стеснение в груди, сухой кашель, озноб и другие признаки легкой лихорадки. При вдыхании аэрозоля хлорида цинка может развиваться отек легких. При отравлении растворимыми солями цинка через рот у пострадавших также отмечают металлический вкус во рту, наблюдается тошнота, слюнотечение. развивается ожог слизистой оболочки рта, пищевода, желудка, появляются рвота с примесью крови, боль в животе, понос, резкое возбуждение, непроизвольные подергивания отдельных групп мышц, судороги икроножных мышц, возможен коллапс и шок. При более длительном течении отравления развивается острая почечная недостаточность [1, 2, 3].

Значительные концентрации увеличения цинка наблюдаются в восточной части Оренбуржья, что напрямую связано с развитой горнодобывающей и металлургической промышленностью. При этом в ряде районов его содержание превышено в десятки раз по отношению к предельно допустимым концентрациям [4, 5].

Выше изложенное является критерием для изучения влияния свинца на рост микроорганизмов входящих в состав почв и пробиотических препаратов (см. рис.).

Для реализации поставленной задачи в качестве объектов исследования нами были использованы 6 пробиотических препаратов на основе бактерий рода *Bacillus*: Споробактерин (*B. subtilis* 534), Бактисубтил (*B. cereus* IP 5832), Ветом 1.1 (*B. subtilis* 10641), Ветом 2 (*B. licheniformis* 7038), Ветом 3 (*B. amyloliquefaciens* 10642), Ветом 4 (*B. amyloliquefaciens* 10643). В качестве регулирующих факторов в работе использовались различные соли (нитраты, хлориды, ацетаты и оксиды) свинца.



1  
2  
3  
Влияние  $Zn(CH_3COO)_2$  на рост исследуемых микроорганизмов: 1 – *B. subtilis* 534, 2 – *B. cereus* IP 5832, 3 – *B. subtilis* 10641

Для выполнения данного этапа работы использовали метод агаровых лунок, выбор данного метода объясняется тем, что он позволяет не только визуально, но и качественно оценить влияние тяжелых металлов на рост исследуемых микроорганизмов.

Методика выполнения заключается в следующем: изучаемый микроорганизм высевали сплошным «газоном» на поверхность агаровой пластинки (1,5% МПА) в чашке Петри. После этого, пробочным

сверлом (диаметр 5 мм) вырезали агаровые блочки, при этом на одной чашке Петри можно разместить до 7 агаровых лунок в которые в последующем вносили исследуемые концентрации веществ для оценки их ингибирующего и субингибирующего эффекта. Чашки помещали в термостат на 24 часа при температуре 37 °С (благоприятной для развития исследуемого тест-организма). После инкубирования производили визуальную оценку действия исследуемого металла на рост популяции.

Отсутствие зон подавления роста свидетельствовало о отсутствии влияния либо соли в целом (как правило данное явление отмечалось у солей с низки уровнем диссоциации), либо определенной концентрации (именно такие концентрации в дальнейшем использовались в качестве рабочих). В том случае если исследуемое вещество обладало высокой активностью в отношении исследуемого микроорганизма регистрировали значительные зоны подавления роста вокруг лунки.

Данные, представленные на рисунке, свидетельствуют о том, что избыточные концентрации катионов цинка не оказывают выраженного бактерицидного эффекта в отношении исследуемых микроорганизмов, однако по мере удаления от лунки наблюдается отсутствие роста популяции бактерии, что в свою очередь свидетельствует о ингибирующем эффекте низких концентраций цинка. Обобщенные данные по изучению влияния катионов цинка на исследуемые микроорганизмы представлены в таблице.

Оценка влияния солей цинка на рост бактерий рода *Bacillus*

	<i>B. licheniformis</i> 7048				
	1 Моль	0,5 Моль	0,25 Моль	0,125 Моль	0,063 Моль
ZnSO <sub>4</sub>	33,0±0,00	29,7±1,85	25,3±1,20	24,0±1,53	16,0±1,52
Zn(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	33,7±1,86	30,0±0,00	26,7±1,67	23,3±1,67	21,0±1,00
ZnCl <sub>2</sub>	28,3±1,67	30,0±0,00	25,0±0,00	23,3±1,67	18,3±1,67
Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	30,3±1,70	28,3±1,33	24,3±1,67	21,7±1,20	15,3±2,03
	<i>B. cereus</i> 5832				
ZnSO <sub>4</sub>	28,0±1,15	22,7±0,88	18,7±0,88	13,3±1,33	8,0±1,06
Zn(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	25,0±0,00	17,3±1,20	13,0±1,73	10,3±0,33	6,0±1,00
ZnCl <sub>2</sub>	24,0±0,58	17,3±1,20	12,3±1,45	8,3±1,67	4,0±1,08
Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	16,0±2,08	11,7±1,90	8,0±1,00	5,7±1,18	–
	<i>B. subtilis</i> 534				
ZnSO <sub>4</sub>	30,0±1,33	29,0±1,02	24,3±2,74	22,7±1,88	19,7±1,33
Zn(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	34,3±2,33	32,3±2,33	28,0±1,53	25,0±0,00	22,3±1,45
ZnCl <sub>2</sub>	33,0±1,52	30,0±0,00	28,7±1,33	27,0±1,00	22,3±1,45
Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	31,7±1,33	29,7±1,83	25,0±2,50	23,3±1,21	19,7±1,88
	<i>B. amyloliquefaciens</i> 10642				
ZnSO <sub>4</sub>	31,3±1,68	27,7±2,94	25,7±1,88	23,3±0,84	20,7±1,36
Zn(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	37,0±1,53	36,0±1,00	30,0±2,08	24,7±2,67	21,3±1,33
ZnCl <sub>2</sub>	32,7±2,67	29,3±0,67	28,0±0,00	25,3±1,36	21,3±1,67
Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	33,0±1,68	31,0±1,61	26,3±2,21	17,0±1,51	15,7±0,90
	<i>B. subtilis</i> 10641				
ZnSO <sub>4</sub>	34,0±1,69	33,3±0,56	20,3±1,98	12,3±1,18	1,5±1,33
Zn(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	34,8±0,69	31,3±1,33	26,0±1,00	24,3±1,96	19,7±1,33
ZnCl <sub>2</sub>	25,7±1,85	19,7±2,60	12,0±0,66	10,7±1,33	7,4±2,88
Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	35,0±1,59	32,9±0,20	30,6±2,06	22,3±1,17	19,0±2,66
	<i>B. amyloliquefaciens</i> 10643				
ZnSO <sub>4</sub>	34,7±1,84	29,3±2,20	21,3±1,75	13,3±1,69	12,3±1,17
Zn(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	34,0±1,00	31,0±2,00	29,3±0,67	25,6±2,33	19,0±1,00
ZnCl <sub>2</sub>	33,0±1,53	30,7±0,66	28,3±2,67	25,0±0,58	22,7±2,85
Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	33,3±1,67	28,0±1,00	25,7±1,88	21,0±2,54	18,6±1,36

При исследовании влияния анионных компонентов цинка на пробиотические штаммы были получены следующие результаты. Исследования показывают о достаточно выраженном токсическом влиянии всех исследуемых солей цинка не зависимо от анионного компонента в отношении изучаемых пробиотических штаммов. Но следует отметить, что наиболее выраженным токсическим эффектом в отношении исследуемых микроорганизмов обладает ацетат цинка, однако значения зон подавления роста, которого, незначительно превысили значения сульфата, хлорида и нитрата цинка для изучаемых пробиотических штаммов.

Также было установлено, что в отношении нитрата цинка наиболее устойчивым оказался штамм *B. cereus* 5832, по отношению к сульфату цинка *B. subtilis* 10641, к ацетату цинка и к хлориду цинка *B. cereus* 5832.

#### Список литературы

1. Скальный А.В., Рудаков И.А. Биоэлементы в медицине. Учебное пособие, Издательство: Оникс 21 век, Мир. 2004 г. , 272 с
2. Станцо В.В., Черненко М.Б. Популярная библиотека химических элементов. М.: Издательство «Наука», 1983.- 573 с
3. Сизенцов, А.Н. Влияние пробиотических препаратов на основе бактерий рода *Bacillus* на показатели неспецифического иммунитета при интоксикации цинком / Сизенцов А.Н., Афонина Е.Ю., Егорова К.И., Ефремова А.В. // Российский иммунологический журнал, 2016, том 10 (19), № 2 (1) С. 459-461
4. Скальный, А.В. Изучение взаимосвязи биоаккумуляции цинка в продуктах питания и организме человека на территории Оренбургской области / А.В. Скальный, Е.В. Сальникова, О.В. Кван, А.Н. Сизенцов, И.А. Сальников // Вестник Оренбургского государственного университета. 2016. № 10
5. Sizentsov, A. The use of probiotic preparations on basis of bacteria of a genus *Bacillus* during intoxication of lead and zinc / A. Sizentsov, O. Kvan, A. Vishnyakov, A. Babushkina, E. Drozdova // Life Science Journal 2014; 11 (10). <http://www.lifesciencesite.com>