

Климова Т.А., Барышева Е.С., Сизенцов А.Н.
Оренбургский государственный университет, г. Оренбург, Россия
E-mail: klimovat91@mail.ru

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ АНИОННЫХ КОМПОНЕНТОВ ЖЕЛЕЗА НА БИТОКСИЧНОСТЬ В ОТНОШЕНИИ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ШТАММОВ

Металлы имеют способность к биоаккумуляции. Микроорганизмы могут извлекать и концентрировать металлы. Данной способностью обладают микроорганизмы, которые входят в состав пробиотических препаратов, в частности бактерии рода *Bacillus*. Очень важным является то, что входящие в состав пробиотических препаратов микроорганизмы рода *Bacillus*, являются самоэлеминирующимися антагонистами. Бактерии рода *Bacillus*, входящие в состав пробиотических препаратов, способны оказывать антитоксическое действие, которое проявляется в активном выведении токсичных веществ из организма, а также тяжелых металлов. Целью нашей работы стало изучить влияние анионных компонентов железа на биотоксичность пробиотических штаммов. В качестве пробиотических штаммов выступали, входящие в состав пробиотических препаратов: *B. subtilis* 534, *B. cereus* 5832, *B. subtilis* 10641, *B. amyloliquefaciens* 10642, *B. amyloliquefaciens* 10643. Полученные данные свидетельствуют о значительной биотоксичности анионных компонентов железа в отношении пробиотических штаммов. Наиболее чувствительными оказались при воздействии анионных компонентов хлорида железа (III) *B. cereus* 5832 и *B. amyloliquefaciens* 10642, при воздействии анионных компонентов нитрата железа (II) *B. subtilis* 10641, при воздействии анионных компонентов сульфата железа (II) *B. amyloliquefaciens* 10642. Также было установлено, что высокие концентрации анионных компонентов железа оказывают значительный токсический эффект в отношении всех исследуемых пробиотических штаммов, что связано с анионным компонентом и как следствие уровнем диссоциации молекул исследуемых соединений.

Ключевые слова: железо, пробиотические штаммы, биотоксичность.

Железо является незаменимым микроэлементом. Железо участвует в основных жизненно важных функциях организма, таких как, образовании железосодержащих молекул (например, гемоглобин и миоглобин) и нормальном функционировании железозависимых реакций (например, продукции интерлейкинов, Т-киллеров, Т-супрессоров, металлоферментов и др.) [1].

Рассматривая вопрос об избыточном содержании железа в организме человека, стоит сказать и об экологическом состоянии Оренбургской области непосредственно по загрязнению железом. На территории Оренбургской области на 01.01.2013 г. зарегистрировано 61 месторождение, из них 33 месторождения распределенного фонда. ФГУ «Оренбургский областной центр по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды» проводятся наблюдения за загрязнением атмосферного воздуха в 5 городах региона (Оренбург, Орск, Новотроицк, Медногорск, Кувандык, Гай) на 13 стационарных постах по 14 загрязняющим примесям [2], [3].

По результатам эколого-геохимического мониторинга, выявлено что превышение ПДК железа наблюдается в Гайском, Новотроицком, Кувандыкском и Медногорском районах. Районы с незначительным ПДК железа: Илецкий,

Бузулукский, Орский и Сакмарский районы [4], [5].

Известно, что металлы по сравнению с другими элементами имеют способность к биоаккумуляции. Микроорганизмы способны извлекать и концентрировать металлы. Данной способностью обладают микроорганизмы, которые входят в состав пробиотических препаратов, в частности бактерии рода *Bacillus*. Очень важным является то, что входящие в состав пробиотических препаратов микроорганизмы рода *Bacillus*, являются самоэлеминирующимися антагонистами. Они способны оказывать антитоксическое действие, которое проявляется в активном выведении токсичных веществ из организма, а также тяжелых металлов [6], [7], [8].

На основании вышеизложенных данных перед нами была поставлена следующая цель: изучить влияние анионных компонентов железа на биотоксичность пробиотических штаммов.

Материалы и методы исследования.

Для проведения эксперимента были выбраны пробиотические препараты: «Споробактерин» (основа препарата *B. subtilis* 534, производитель – ООО «Бакорен», г. Оренбург (Россия),

«Бактисубтил» (основа препарата *B. cereus* 5832, производитель – «Marion Merrel», Франция), «Ветом 1.1» (основа препарата *B. subtilis* штамм ВКПМ В-10641, производитель – НПФ «Исследовательский центр» ООО (Россия), «Ветом 3» (основа препарата *B. amyloliquefaciens* штамм ВКПМ В-10642 (DSM 24614), производитель – НПФ «Исследовательский центр» ООО (Россия), «Ветом 4» (основа препарата основа препарата *B. amyloliquefaciens* штамм ВКПМ В-10643 (DSM 24615), производитель – НПФ «Исследовательский центр» ООО (Россия) [9].

В качестве токсикантов использовались соли железа: сульфат железа (II), нитрат железа (II), хлорид железа (III).

Используемый метод – метод агаровых лунок: пробиотический штамм высевали сплошным «газоном» на поверхность агаровой пластинки в чашке Петри. После этого, пробочным сверлом (диаметр 8 мм) вырезали агаровые блочки в количестве 7 штук на одной чашке Петри, в которые вносят исследуемые концентрации веществ для оценки их ингибирующего действия. Чашки помещали в термостат на 24 часа при температуре 37 °С с последующим учетом роста и визуальной оценки влияния исследуемого соединения на рост и морфологию тест организма [10], [11].

За результат анализа по каждому соединению солей принималось среднее значение серии измерений [12].

Результаты исследования.

Полученные в ходе исследования данные свидетельствуют о выраженном токсическом влиянии всех исследуемых солей железа не зависимо от анионного компонента в отношении изучаемых пробиотических штаммов (табл. 1) [13].

Однако следует отметить, что наиболее выраженным токсическим эффектом в отношении исследуемых микроорганизмов обладает сульфат железа значения зон подавления роста, которого, превысили значения хлорида и нитрата железа для *B. cereus* 5832 на 44,3% и 28,6%, *B. subtilis* 10641 46,2% и 9,5%, *B. amyloliquefaciens* 10642 29,5% и 19,4%, *B. amyloliquefaciens* 10643 45,1% и 5,6%, соответственно. Исключение составил штамм *B. subtilis* 534 для которого более токсичным оказался нитрат железа.

Также в ходе выполненных исследований было установлено, что в отношении хлорида железа (III) наименее резистентными оказались штаммы *B. cereus* 5832 и *B. amyloliquefaciens* 10642, а по отношению к нитрату железа (II) и сульфата железа (II) сульфату железа (II)

Таблица 1 – Оценка биотоксичности анионных компонентов железа в отношении пробиотических штаммов на основании зон подавления роста (мм)

Исследуемые микроорганизмы	Степень разведения хлорида железа (III) (ммоль/л)						
	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	0,0312	0,0156
<i>B. subtilis</i> 534	12,3±0,3	10,0	8,3±0,9	5,3±0,3	-	-	-
<i>B. cereus</i> 5832	11,7±0,9	10,0	8,7±0,9	5,3±0,3	1,3±0,7	-	-
<i>B. subtilis</i> 10641	11,3±0,3	10,3±0,3	8,3±0,9	5,0	-	-	-
<i>B. amyloliquefaciens</i> 10642	16,0±1,5	10,7±0,3	9,0±0,5	6,3±0,9	0,7±0,7	-	-
<i>B. amyloliquefaciens</i> 10643	11,7±0,3	9,7±0,3	7,3±0,7	4,0±1,0	-	-	-
Исследуемые микроорганизмы	Степень разведения нитрата железа (II) (ммоль/л)						
	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	0,0312	0,0156
<i>B. subtilis</i> 534	21,0	17,0	13,7±0,7	10,7±0,7	8,0±1,5	-	-
<i>B. cereus</i> 5832	15,0±1,0	10,7±0,3	7,0	6,0±0,5	5,7±0,3	-	-
<i>B. subtilis</i> 10641	19,0±0,5	15,0±1,5	13,0	11,7±0,3	9,7±1,8	7,0±1,5	-
<i>B. amyloliquefaciens</i> 10642	18,3±0,9	15,7±0,7	11,7±0,9	5,7±0,7	5,0	-	-
<i>B. amyloliquefaciens</i> 10643	20,3±1,7	15,7±0,3	12,3±0,3	9,3±0,7	6,0	-	-
Исследуемые микроорганизмы	Степень разведения сульфата железа (II) (ммоль/л)						
	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	0,0312	0,0156
<i>B. subtilis</i> 534	20,0	18,7±0,9	14,3±0,7	10,0	5,0	-	-
<i>B. cereus</i> 5832	21,0±0,5	18,0±1,0	13,7±0,9	10,0	6,7±1,7	-	-
<i>B. subtilis</i> 10641	21,0±1,0	17,7±1,4	13,7±0,7	11,0±1,0	5,0	-	-
<i>B. amyloliquefaciens</i> 10642	22,7±1,4	18,3±0,9	11,3±3,1	8,3±1,7	5,0±1,7	2,6±2,6	-
<i>B. amyloliquefaciens</i> 10643	21,3±0,3	18,3±0,8	14,7±1,4	10,0	3,7±1,8	-	-

B. subtilis 10641 и *B. amyloliquefaciens* 10642, соответственно.

Обобщая и интерпретируя полученные результаты можно сделать следующие выводы:

– несмотря на то, что железо относится к эссенциальным элементам его высокие кон-

центрации оказывают выраженный бактерицидный эффект;

– токсичность различных солей железа напрямую связана с анионным компонентом и как следствие уровнем диссоциации молекул изучаемых соединений [14], [15].

16.06.2017

Список литературы:

1. Госдоклад «О состоянии и об охране окружающей среды Оренбургской области в 2013 году».
2. Сизенцов, А. Н. Оценка эффективности применения пробиотических препаратов на основе бактерий рода *Bacillus* при интоксикации железом / А. Н. Сизенцов, О. В. Кван, Т. А. Гальченко // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – №5. – С. 503.
3. Фармакологические аспекты применения пробиотиков [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.zoovet.ru>. – Ветеринарный центр «ЗООВЕТ». – Москва: ZOOVET.RU, 2006. (Дата обращения: 11.12.2011).
4. Эффективность применения пробиотических препаратов на основе бактерий рода *Bacillus* в системе доставки железа / А. Н. Сизенцов [и др.] // Вестник восстановительной медицины: изд-во Объединение специалистов восстановительной медицины. – Москва. – 2014. – №2. – С. 66-75.
5. Costa A.C., Duta F.P. Bioaccumulation of copper, zinc, cadmium and lead by *Bacillus* sp., *B. cereus*, *B. sphaericus* and *B. subtilis*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2005, no. 1, pp. 159-175.
6. Khanafari A., Eshghdoost S., Mashinchian A. Removal of lead and chromium from aqueous solution by *Bacillus circulans*. *Iranian Journal of environmental health, science and engineering*, 2008, V. 5, no. 3, pp. 195-200.
7. Никитина, Ю. Е. Исследование влияния микроэлементов и макроэлементов на организм человека и биоаккумуляции некоторых ионов тяжелых металлов микроорганизмами / Ю. Е. Никитина // VIII Международная студенческая электронная научная конференция «Студенческий научный форум – 2016», 2016. – С. 27-28.
8. Fuller R. Probiotics: prospects of use in opportunistic infections. *N. Y.*, 2005, no. 3, pp. 150-165.
9. Sioutas C., Delfino R.J., Singh M. Exposure assessment for atmospheric Ultrafine Particles (UFPs) and implications in epidemiologic research. *Environmental Health Perspectives*, 2005, V. 113, pp. 947-955.
10. Stone V., Shaw J., Brown D.M., Macnee W., Faux S.P., Donaldson K. The role of oxidative stress in the prolonged inhibitory effect of ultrafine carbon black on epithelial cell function. *Toxicology in Vitro*, 1998, V. 12, pp. 649-659.
11. Ашмарин, И. П. Статистические методы в микробиологии / И. П. Ашмарин, А. А. Воробьев. – Л.: Гос. изд. мед. лит., 1962. – 177 с.
12. Hentze M.W., Muckenthaler M.U., Andrews N.C. Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism. *Cell*, 2004, V. 117, pp. 285-297.
13. Rafie-Kolpin M., Chefalo P.J., Hussain Z. Two heme-binding domains of heme-regulated eukaryotic initiation factor-26-kinase. *J. Biol. Chem.*, 2007, V. 275, pp. 5171-5178.
14. Сизенцов, А. Н. Эффективность применения пробиотических препаратов при интоксикации цинком / А. Н. Сизенцов // Вестник Ветеринарии: изд-во Энтропос. – Ставрополь. – 2013. – №2. – С. 34-36.
15. Сизенцов, А. Н. Биоаккумуляция тяжелых металлов микроорганизмами, входящими в состав пробиотических препаратов в условиях *in vitro* / А. Н. Сизенцов, С. А. Пешков // Вестник Оренбургского Государственного Университета: изд-во Оренбургский Государственный Университет. – Оренбург. – 2013. – №10. – С. 142-144.

Сведения об авторах:

Климова Татьяна Андреевна, аспирант кафедры биохимии

и микробиологии химико-биологического факультета Оренбургского государственного университета
460018, г. Оренбург, пр-т Победы, 13, e-mail: klimovat91@mail.ru

Барышева Елена Сергеевна, заведующий кафедрой биохимии

и микробиологии химико-биологического факультета Оренбургского государственного университета,
доктор медицинских наук, доцент
460018, г. Оренбург, пр-т Победы, 13, e-mail: baryshevae@mail.ru

Сизенцов Алексей Николаевич, доцент кафедры биохимии и микробиологии

химико-биологического факультета Оренбургского государственного университета,
кандидат биологических наук, доцент
460018, г. Оренбург, пр-т Победы, 13, e-mail: asizen@mail.ru