© Коллектив авторов, 2016 УДК 615.322.014.413

# ДЕЙСТВИЕ СВЧ-ИЗЛУЧЕНИЯ НА МИКРООРГАНИЗМЫ-КОНТАМИНАНТЫ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

**Е.П. Ананьева**<sup>1</sup>, кандидат биологических наук, **М.Г. Ожигова**<sup>1</sup>, кандидат фармацевтических наук, **Л.П. Сигарева**<sup>1\*</sup>, **В.А. Иванов**<sup>2</sup>, кандидат технических наук, **Д.В. Миронов**<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия; Российская Федерация, 197376, Санкт-Петербург, ул. профессора Попова, д. 14, лит. А, <sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет «ЛЭТИ» им. В.И. Ульянова (Ленина);

Российская Федерация, 197376, Санкт-Петербург, ул. профессора Попова, дом 5

**Введение.** Микроорганизмы-контаминанты в избыточном количестве способны вызвать преждевременную порчу сырья и готового продукта, изменить их физико-механические и химические свойства. Для борьбы с контаминантами лекарственного растительного сырья (ЛРС) используют ультрафиолетовое излучение, ионизирующее излучение, ультразвук. Эти методы имеют свои недостатки. Предложен альтернативный способ обработки сырья для снижения содержания в нем микроорганизмов – обработка СВЧ-излучением.

**Цель работы.** Изучение влияния СВЧ-излучения на микроорганизмы-контаминанты при изменении времени нагрева и подбор оптимального режима обработки, при котором достигается деконтаминирующий эффект и сохранение физико-механических и химических свойств сырья.

**Материал и методы.** Для изучения воздействия СВЧ-излучения на микроорганизмы-контаминанты использовали измельченные цветки ромашки аптечной. ЛРС обрабатывали на универсальной микроволновой установке «Родник». Микробиологическую чистоту ЛРС определяли двуслойным агаровым методом; содержание суммы флавоноидов в цветках ромашки – спектрофотометрическим методом.

**Результаты.** Установлена степень воздействия СВЧ-излучения на разные виды микроорганизмов-контаминантов (бактерии, дрожжи, мицелиальные грибы), подобран оптимальный режим обработки для данных материалов, показано отсутствие повреждающего действия СВЧ-излучения на флавоноиды цветков ромашки.

Заключение. СВЧ-излучение губительно действует на микроорганизмы-контаминанты ЛРС. Микроорганизмы обладают разной чувствительностью по отношению к СВЧ-излучению. Установлено оптимальное время обработки и температура нагрева. Ключевые слова: микробиологическая чистота, содержание флавоноидов, СВЧ-излучение, цветки ромашки аптечной.

\*E-mail: sigaryowa@yandex.ru

## **ВВЕЛЕНИЕ**

Спрепаратов зависят во многом от качества используемого сырья, одним из важнейших показателей которого является его микробиологическая чистота. Микроорганизмы-контаминанты в избыточном количестве способны вызвать преждевременную порчу сырья и готового продукта, изменить их физико-механические и химические свойства и привести к ухудшению состояния здоровья пациента.

Существует множество способов борьбы с контаминантами лекарственного растительного сырья (ЛРС), например: применение ультрафиолетового излучения, ионизирующего излучения и ультразвука. Однако данные методы имеют свои недостатки. Ультрафиолетовое излучение характеризуется низкой проникающей способностью. Ионизирующее излучение неэкологично, представляет угрозу здоровью потребителя, требует контроля остаточного

уровня радиации. Данные виды излучений оказывают мутагенное действие, что нередко приводит к появлению мутантных микроорганизмов. Ультразвуковое излучение является малоэффективным методом обработки. Нами предложен альтернативный способ обработки сырья с целью уменьшения содержания в нем микроорганизмов - обработка СВЧ-излучением [1]. Механизм деконтаминирующего действия СВЧ-излучения связан с тем, что небольшие полярные молекулы вещества под действием волн СВЧ-диапазона увеличивают скорость своего движения, в результате чего быстро и равномерно нагревается обрабатываемый материал [5]. Данный способ обработки обладает рядом преимуществ: быстрота, равномерность прогрева облучаемого материала, высокая эффективность в отношении микроорганизмов и экологическая безопасность.

Цель настоящего исследования — изучение влияния СВЧ-излучения на микроорганизмыконтаминанты при изменении времени нагрева и подборе оптимального режима обработки, при котором достигается хороший деконтаминирующий эффект и сохраняются физико-механические и химические свойства сырья.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОЛЫ

Наиболее контаминированными являются природные виды сырья [2]. Поэтому изучение воздействия СВЧ-излучения на микроорганизмыконтаминанты проводили на измельченных цветках ромашки аптечной.

ЛРС обрабатывали на универсальной микроволновой установке «Родник» [3, 4], используя следую-

### Таблица 1

## СОДЕРЖАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ В КОНТРОЛЬНЫХ ОБРАЗЦАХ

	Содержание, КОЕ/г		
ЛРС	бактерии	мицелиальные грибы	дрожжи
Цветки ромашки аптечной	850	250	40

Таблица 2

## ЗАВИСИМОСТЬ ТЕМПЕРАТУРЫ НАГРЕВА ОБРАЗЦОВ ОТ ДЛИТЕЛЬНОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА НИХ СВЧ-ИЗЛУЧЕНИЯ

Температура нагрева, °С	Длительность обработки, с
35	10
43	15
54	20
57	25
86	30
134	35

## Таблица 3

## ЗАВИСИМОСТЬ КОЛИЧЕСТВА МИКРООРГАНИЗМОВ-КОНТАМИНАНТОВ В ЦВЕТКАХ РОМАШКИ АПТЕЧНОЙ ОТ ТЕМПЕРАТУРЫ ОБРАБОТКИ ОТДЕЛЬНЫХ ОБРАЗЦОВ

Температура нагрева, °С	Содержание, КОЕ/г			
	бактерии	мицелиальные грибы	дрожжи	
35	820	250	40	
43	740	100	30	
54	620	60	10	
57	570	30	_	
86	400	10	-	
134	310	-	_	

щие рабочие параметры: установочная мощность —  $25~\mathrm{kBr}$ , рабочая частота —  $2450~\mathrm{MГц}$ , уровень вакуума типовой —  $100~\mathrm{mm}$  рт. ст. Для обработки был предложен следующий режим работы установки: мощность излучения —  $800~\mathrm{Br}$ , вакуум отсутствует, частота излучения —  $2450~\mathrm{MΓц}$ . Начальную температуру образцов и изменение температуры образцов в процессе обработки фиксировали при помощи инфракрасного пирометра.

Для обработки и контроля использовали образцы ЛРС и вспомогательных материалов массой 100 г, упакованные в пакеты из крафт-бумаги.

Анализ обработанных и контрольных образцов по показателю микробиологической чистоты осуществляли при помощи двуслойного агарового метода [6]. Исследовали макро- и микроморфологические признаки микроорганизмов-контаминантов. Содержание суммы флавоноидов в цветках ромашки определяли спектрофотометрическим методом [7]. Результаты анализа обрабатывали статистически с применением критерия Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖЛЕНИЕ

Предварительно была изучена бактериальная контаминация цветков ромашки аптечной, используемых в качестве модельного сырья (табл. 1). Количественное содержание микроорганизмов во всех образцах не превышало максимально допустимого для ЛРС [7]. При этом зависимость температуры материалов от длительности обработки имела нелинейный характер (табл.2). Температура быстро и скачкообразно возрастала при небольшом увеличении времени нагрева: за время обработки ЛРС в течение 35 с температура достигала 134°С.

С увеличением температуры наблюдалось постепенное снижение количества как бактерий, так и грибов (табл. 3). При этом при максимальной температуре обработки во всех образцах были полностью уничтожены все виды грибов-контаминантов. Однако полное уничтожение бактерий не происходило ни в одном из представленных образцов. Наибольшую интенсивность гибели наблюдали среди клеток дрожжевых грибов, наименьшую — среди бактерий. Большую скорость гибели клеток грибов по сравнению с клетками бактерий можно объяснить тем, что грибная клетка больше по размерам и содержит больше влаги, чем бактериальная [8].

Далее было проведено изучение микроморфологии бактерий-контаминантов. Установлено, что наименьшую устойчивость к воздействию СВЧ-излучения проявили грамотрицательные неспорообразующие бактерии. Они полностью погибали при температуре обработки 54°С. Умеренную устойчивость показали грамположительные неспорообразующие бактерии, которые гибли в интервале температур от 57 до 86°С. Наиболее устойчивыми оказались грам-

Таблица 4

## нившие жизнеспособность даже после обработки при максимальной температуре 134°C. Хороший деконтаминирующий эффект для заданной мощности излучения и времени обработки достигался при температурах в интервале от 54°C до 86°C. При этом наблюдали высокую скорость гибели

положительные спорообразую-

## щие бактерии (бациллы), сохравсех видов микроорганизмовконтаминантов. В среднем количество бактерий снизилось в 2-2,5 раза, мицелиальных грибов в 4-7 раз, дрожжи погибли

полностью во всех образцах. Различная чувствительность микроорганизмов к СВЧ-воздействию может быть связана с особенностями строения клеточных стенок бактерий и способностью некоторых видов бактерий образовывать споры [8].

Изучение влияния СВЧ-излучения на сохранность биологически активных веществ в образцах цветков ромашки аптечной проводили на примере определения суммы флавоноидов в обработанных образцах по сравнению с контролем (табл. 4). Полученные результаты показали, что флавоноиды цветков ромашки аптечной устойчивы к воздействию СВЧ-излучения.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Как показали результаты исследования, СВЧизлучение оказывает губительное действие на микроорганизмы-контаминанты ЛРС. Сувеличением времени обработки и температуры нагрева образцов увеличивалась скорость гибели микроорганизмов. Микроорганизмы обладают разной чувствительностью по отношению к СВЧ-излучению. Наиболее устойчивыми оказались споры бацилл, наименее устойчивыми – споры мицелиальных грибов. Обработка образцов цветков ромашки аптечной СВЧизлучением приводила к снижению числа бактерий-

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУММЫ ФЛАВОНОИДОВ В ОБРАЗЦАХ ЦВЕТКОВ РОМАШКИ

№ опыта	Длина волны λ, нм	Оптическая плотность, А	Содержание суммы флавоноидов, %
Контроль	414,5	0,476	1,78
1	423,0	0,488	1,82
2	410,0	0,468	1,75
3	416,5	0,486	1,81
4	410,0	0,432	1,61
5	415,0	0,467	1,74
6	420,0	0,564	2,10

контаминантов в 2-2,5 раза, числа мицелиальных и дрожжевых грибов — в 4—7 раз. Выбран оптимальный режим обработки: температура обработки – 54–86°C, время воздействия – 20–30 с, мощность излучения – 800 Вт, частота излучения — 2450 МГц.

## **ЛИТЕРАТУРА**

- 1. Кудряшов Ю.Б., Перов Ю.Ф., Рубин А.Б. Радиационная биофизика: радиочастотные и микроволновые электромагнитные излучения. М.: Физматлит, 2008; 184 (in Russian).
- 2. Hugo W.B., Russel H.D. Pharmaceutical Microbiology Edited. Boston.: Blackwell Science, 2007; 528.
- 3. Иванов В.А. Патент РФ №: 46567 на полезную модель. МПК: F26В,
- 4. Установка «Родник» (Электронный ресурс). Дата обращения: 28.12.2015. Режим доступа: http://senergys.ru/ru/index/serijnoe-oborudovanie/ustanovka-rodnik.html.
- 5. Диденко А.Н. СВЧ-энергетика: теория и практика. М.: Наука, 2003; 446 (in Russian).
- 6. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд., т. 1. (Электронный ресурс). Дата обращения: 28.12.2015. Режим доступа: http://193.232.7.120/feml/clinical\_ref/pharmacopoeia\_1/HTML/#849/z
- 7. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд., т. 3. (Электронный ресурс). Дата обращения: 28.12.2015. Режим доступа: http://193.232.7.120/feml/clinical\_ref/pharmacopoe-
- 8. Поздеев О.К., Покровский В.И. Медицинская микробиология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010; 765 (in Russian).

Поступила 16 февраля 2016 г.

## MICROWAVE RADIATION EFFECTS ON MICROBIAL CONTAMINANTS IN THE RAW MATERIALS OF BOTANICAL ORIGIN

E.P. Ananyeva<sup>1</sup>, PhD; M.G. Ozhigova<sup>1</sup>, PhD; L.P. Sigareva<sup>1</sup>; V.A. Ivanov<sup>2</sup>, PhD; D.V. Mironov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Saint Petersburg State Chemopharmaceutical Academy; 14, Lit. A, Professor Popov St., Saint Petersburg 197376, Russian Federation:

<sup>2</sup>V.I. Ulyanov (Lenin) Saint Petersburg State Electrotechnical University (LETI); 5, Professor Popov St., Saint Petersburg 197376, Russian Federation

## **SUMMARY**

Introduction, Microbial contaminants in abundant auantities are able to cause premature deterioration of raw materials and a ready-made product and to alter their physicomechanical and chemical properties. Ultraviolet radiation, ionizing radiation, and ultrasound are used to combat contaminants in the raw medicinal plant materials (RMPM). These techniques have their drawbacks. An alternative procedure for processing raw materials, such as microwave radiation, is proposed to lower the amounts of their microorganisms.

**Objective.** To investigate the impact of microwave radiation on microbial contaminants when changing the time of heating and the choice of optimal processing conditions that can achieve a decontaminating effect and preserve the physicomechanical and chemical properties of raw materials.

**Material and methods.** Ground horse gowan (*Matricaria chamomilla*) flowers were used to investigate the impact of microwave radiation on microbial contaminants. RMPM was processed on a universal microwave Rodnik unit. The microbiological purity of RMPM was determined by a double-layer agar technique and the sum of flavonoids in the horse gowan flowers was measured using a spectrophotometric method.

**Results.** The degree of microwave radiation effects on different species of microbial contaminants (bacteria, yeasts, and filamentous fungi) was established; the optimal processing conditions for these materials were chosen; microwave radiation was shown to have no damaging effect on flavonoids in the horse gowan flowers.

**Conclusion.** Microwave radiation is harmful to microbial contaminants in RMRM. The microorganisms are differently susceptible to microwave radiation. The optimal processing time and heating temperature were established.

Key words: microbiological purity, flavonoid levels, microwave radiation, horse gowan (Matricaria chamomilla) flowers.

## **REFERENCES**

- **1.** Kudryashow Yu.B., Perow Yu. F., Rubin A.B. Radiation physics: radiofrequency and microwave electromagnetical radiations. Moscow: Fizmatlit, 2008: 184 (in Russian).
  - 2. Hugo W.B., Russel H.D. Pharmaceutical Microbiology Edited. Boston.: Blackwell Science, 2007; 528.
  - 3. Ivanow W.A. Patent of Russian Federation Nº: 46567 for useful model. IPC: F26B, 2007 (in Russian).
- **4.** Setting «Rodnik» (Electronic resource). Electronic data. Date accessed: 28.12.2015. Access: http://senergys.ru/ru/index/serijnoe-oborudovanie/ustanovka-rodnik.html (in Russian).
  - 5. Didenko A.N. SHF-energetic: theory and practice. Moscow: Nauka, 2003; 226 (in Russian).
- **6.** State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIII ed., vol. 1 (Electronic resource). Electronic data. Date accessed: 28.12.2015. Access: http://193.232.7.120/feml/clinical\_ref/pharmacopoeia\_1/HTML/#849/z (in Russian).
- 7. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIII ed., vol. 3 (Electronic resource). Electronic data. Date accessed: 28.12.2015. Access: http://193.232.7.120/feml/clinical\_ref/pharmacopoeia\_3/HTML/ (in Russian).
  - 8. Pozdeew O.K., Pokrowsky V.I. Medicinal microbiology. Moscow: GEOTAR-Media, 2010; 765 (in Russian).

© Коллектив авторов, 2016 УДК 615.281.015.45:616.155.3-

# INVESTIGATION OF THE EFFECT OF A NEW 1,3-DIAZINON-4 DERIVATIVE DURING ITS LONG-TERM ADMINISTRATION ON LEUKOPOIESIS IN RATS

A.V. Voronkov<sup>1</sup>, MD; S.A. Luzhnova<sup>2</sup>, PhD; S.A. Osychenko<sup>1</sup>; G.N. Genatullina<sup>2</sup>, PhD; Suda Billel<sup>1</sup> (Tunisia)

<sup>1</sup>Pyatigorsk Institute of Medicine and Pharmacy, Branch, Volgograd State Medical University;

11, Kalinin Pr., Pyatigorsk 357500, Russian Federation

<sup>2</sup>Leprosy Research Institute, Ministry of Health of Russia;

3. Nikolay Ostrovsky Passage, Astrakhan 414057, Russian Federation

**Introduction.** Diseases, such as leprosy and tuberculosis, require the long-term administration of antibacterial drugs. Dapsone is the primary drug for their treatment. However, it has a serious side effect on blood. A synthesized drug, a diazinon derivative, showed a high antimycobacterial activity and no toxic effect on blood counts in the experiment.

**Objective:** to investigate the effect of PYATd1 versus Dapsone on leukopoiesis in rats.

**Materials and methods.** An experiment was carried out in 60 Wistar rats of both sexes. Blood taken from the sublingual vein was stabilized with heparin. White blood cell counts were measured with a Mindray BC 2800vetaanalysis system used in veterinary hematology.

**Results.** The long-term use of new 1,3-diazinon-4 derivative versus Dapsone was examined for its impact on white blood cell counts in the rats. The effects of the drugs on the counts of segmented neutrophils and eosinophils, young stab neutrophils and nuclear shift index were considered.

**Conclusion.** No statistically significant changes in the complete blood count of the animals were observed during 90-day administration of the test compound, suggesting that it had no destructive effect on leukopoiesis in the rats.

Key words: dapsone, diazinon derivative, nuclear shift index, neutrophils, eosinophils, stab neutrophils.

## INTRODUCTION

Achievements of modern pharmacology, introduction of new, effective medicines into

medical practice dictate the necessity of detailed studying of their side effect, in particular their influence on blood system. It is especially relevant concerning the