

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ И МИНЕРАЛЬНО-КРИСТАЛЛИЧЕСКОГО ФАКТОРА СРЕДЫ

© 2010 К.С. Голохваст^{1,6}, А.М. Паничев², А.А. Сергиевич³, И.Г. Федотова⁴,
И.Э. Памирский³, И.В. Мишаков⁵, А.А. Ведягин⁵, А.Н. Гульков^{1,7}

¹ Институт нефти и газа Дальневосточного государственного технического университета, Владивосток

² Тихоокеанский институт географии ДВО РАН, Владивосток

³ Амурская государственная медицинская академия, Благовещенск

⁴ Центр эпидемиологии и гигиены в Приморском крае, Владивосток

⁵ Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН, Новосибирск

⁶ Дальневосточный государственный университет, Владивосток

⁷ ЗАО ДВНИПИ нефтегаз, Владивосток

Поступила в редакцию 04.05.2010

В данной статье рассмотрено влияние природных минералов - цеолитов Вангинского, Куликовского и Лютогского месторождения при размере частиц от 1 до 5 мкм на культуры *E. coli* 25922 и *St. aureus* 209-P и 906 в концентрациях 10, 20 и 50 мг/мл.

Ключевые слова: *цеолиты, бактерии, антимикробная активность*

Цеолиты в естественных условиях подаются многими животными [3] и, несомненно, влияют на микробиологический статус макроорганизма. В современной литературе имеется ряд публикаций, касающихся влияния цеолитов на бактерии [4, 5, 13]. В частности, в работе Г.И. Чубенко (2000) отмечается что цеовит (сорбент, изготовленный из цеолитов Сахалина) обладает выраженной антимикробной адсорбционно-элиминирующей и антиоксической активностью *in vitro* и *in vivo* в отношении *Salmonella Kottbus* 5753, *Staphylococcus aureus* 6538-209 p и *Escherichia*

coli O 86 E 990. В работе Vesna L. с соавт. (2004) исследовались пробиотические эффекты биологически активной добавки (БАД) «Мегамин» на рост пробиотических микроорганизмов (*Lactobacillus acidophilus* и *Bifidobacterium bifidum*). Данные четко показывают пробиотический эффект «Мегамина» на оба вида микроорганизмов. Есть сообщения об удалении бактерий с помощью цеолитов из организма и из воды [2, 7, 12]. В литературе имеются данные о том, что цеолиты подавляют рост аэробных бактерий и способствуют росту анаэробов. Сначала это объяснялось только адсорбцией микробов на поверхности цеолита и механической элиминацией. В последнее время исследователи [11] сходятся во мнении, что цеолиты подавляют рост некоторых микроорганизмов за счет образования мощного двойного электрического слоя вследствие гидрофобных взаимодействий на поверхности цеолита. Для повышения антимикробных свойств цеолита ведутся исследования по насыщению этих минералов катионами серебра и цинка [6, 8]. Стоит отметить также данные о наличии у цеолитов свойств, позволяющим им влиять на некоторые метаболические пути бактерий, в частности на синтез белка [10]. Имеются сообщения и об antiviral свойствах цеолита [9].

Голохваст Кирилл Сергеевич, кандидат биологических наук, заместитель директора. E-mail: drooru@mail.ru

Паничев Александр Михайлович, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экологии и охраны животных

Сергиевич Александр Александрович, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры нормальной физиологии

Федотова Ирина Геннадьевна, заведующая лабораторией микробиологии

Памирский Игорь Эдуардович, кандидат биологических наук, ассистент кафедры биологической химии
Мишаков Илья Владимирович, кандидат химических наук, старший научный сотрудник

Ведягин Алексей Анатольевич, кандидат химических наук, старший научный сотрудник

Гульков Александр Нефедович, доктор технических наук, профессор, директор

Материалы и методы. Для определения микробиологической активности цеолитовых туфов Вангинского, Куликовского и Лютогского месторождений были взяты культуры условно-патогенных бактерий *E. coli* 25922, *St. aureus* 209-P и 906, полученные из ГИСК им. Л.А. Тарасевича. Исследования проводились на базе лаборатории микробиологии ФГУЗ «Центр эпидемиологии и гигиены в Приморском крае», Владивосток. В работе использовались стандартные методики и культуральные среды: желточно-солевой агар (ЖСА), мясо-пептонный агар (МПА) и среда Эндо. Подсчет колониеобразующих единиц (КОЕ) велся визуально. Цеолитовые породы применялись как стерильные (обработка в автоклавном шкафу при температуре 180⁰С в течение 3 часов), так и нестерильные. Перед всеми действиями цеолит измельчался (дробилка ВКМД6 (Вибротехник, СССР) и ультразвуковой гомогенизатор Bandelin Sonopulse 3400 (Италия)). В итоге размер частиц цеолитового туфа достигали размера около 1-5 мкм. Концентрация цеолита в туфах всех 3 месторождений составляла около 60-70%. Статистическая обработка осуществлялась с помощью программы Statistica 6.0 и Microsoft Excel. Оценка достоверности различий определяли по t-критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение. В качестве поискового эксперимента мы решили исследовать цеолиты Вангинского месторождения

на наличие антибактериальных свойств. Для этого мы использовали культуры *E. coli* 25922 в разведении 10⁻⁷ и *St. aureus* 209-P в разведениях от 10⁻⁷ до 10⁻⁵. В контроле с *E. coli* на МПА выросло 68 колоний, а при добавлении цеолита в концентрации 10, 20 и 50 мг/мл роста обнаружено не было. Результаты эксперимента со *St. aureus* 209-P на ЖСА приведены ниже в таб. 1, 2 и 3. Контроль всхожести *St. aureus* 906 на ЖСА составил в разведении 10⁻⁴-4,2x10² КОЕ, при разведении 10⁻³-2,8x10³ КОЕ; контроль *E. coli* 25922 на среде Эндо составил в разведении 10⁻⁴-8x10² КОЕ, при разведении 10⁻³-5,2x10³ КОЕ.

Таблица 1. Результаты микробиологического исследования влияния Вангинского цеолита на рост *St. aureus* 209-P, в КОЕ

Концентрация / Разведение	10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵
контроль	роста нет	0,53x10 ²	1,1x10 ³
10 мг/мл	роста нет	1,4x10 ²	2x10 ²
20 мг/мл	роста нет	0,5x10 ²	0,22x10 ²
50 мг/мл	роста нет	роста нет	0,7x10 ²

Таблица 2. Результаты микробиологического исследования влияния цеолита Куликовского месторождения на рост *St. aureus* 906, в КОЕ.

Концентрация / Разведение	стерильный		нестерильный	
	10 ⁻⁴	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻³
10 мг/мл	0,5x10 ²	5x10 ²	1,5x10 ²	1,9x10 ³
20 мг/мл	0,58x10 ²	8,4x10 ²	0,06x10 ²	5,4x10 ²
50 мг/мл	1,26x10 ³	2,2x10 ³	роста нет	2,2x10 ²

Таблица 3. Результаты микробиологического исследования влияния Лютогского цеолита на рост *E. coli* 25922, в КОЕ

Концентрация / Разведение	стерильный		нестерильный	
	10 ⁻⁴	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻³
10 мг/мл	9,7x10 ²	1,8x10 ³	роста нет	0,57x10 ²
20 мг/мл	1,4x10 ²	9,2x10 ²	роста нет	0,3x10 ²
50 мг/мл	1,2x10 ²	1,7x10 ²	роста нет	роста нет

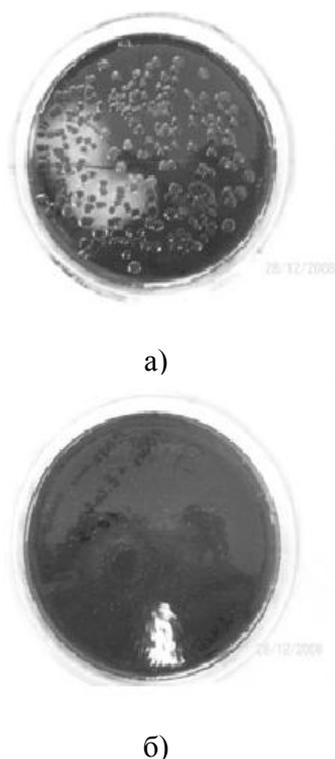


Рис. 1. а) колонии *St. aureus* в разведении 10^{-3} при добавлении нестерильного цеолита Куликовского месторождения в концентрации 50 мг/мл; б) отсутствие роста *St. aureus* в разведении 10^{-3} при добавлении нестерильного цеолита Лютогского месторождения в концентрации 10 мг/мл

При исследовании влияния как стерильного, так и нестерильного цеолита Куликовского месторождения на рост *E. coli* 25922, причем во всех разведениях (от 10^{-8} до 10^{-3}) и при всех концентрациях, мы обнаружили сливной рост колоний – число КОЕ не поддавалось подсчету. Цеолит Лютогского месторождения (как стерильный, так и нестерильный) полностью подавлял рост *St. aureus* 209-Р в разведениях от 10^{-6} до 10^{-3} . Можно лишь отметить незначительный рост ($2,2 \times 10^2$ КОЕ при концентрации 10 мг/мл и $1,4 \times 10^2$ КОЕ при концентрации 20 мг/мл) в разведении 10^{-3} при использовании стерильного цеолита. В качестве интересного факта можно отметить выявленную способность цеолитов Куликовского и Лютогского месторождений изменять окраску среды Эндо с нормальной желтоватой на розово-красную.

Выводы: можно сделать предварительные выводы, что цеолиты Вангинского и Лютогского месторождений в отличие от Куликовского обладают выраженным антибактериальным эффектом при размере частиц от 1 до 5 мкм в отношении *St. aureus* 209-Р и 906, а также - *E. coli* 25922 в концентрации 10, 20 и

50 мг/мл. Антибактериальные свойства цеолитов можно попытаться объяснить наличием на поверхности кристаллической решетки цеолитов специфического электрического заряда [11]. Можно также предположить, что на поверхности некоторых природных цеолитов присутствуют какие-то бактерии, которые могут подавлять рост стафилококка и кишечной палочки. К примеру, на поверхности кристаллов могут присутствовать споры бактерий, или бактерии типа нанобактерий или силикатных бактерий. Предпринятая нами попытка посеять природные цеолиты на среды Эндо и МПА показала, что роста колоний при концентрации цеолитов 10, 20 и 50 мг/мл не происходит. Ранее нами было показано [1], что при измельчении частиц цеолита до размеров от 100 до 500 нм приводит к почти полной потере антимикробных свойств цеолитов тех месторождений, которые при более крупном помоле (1-5 мкм) такими свойствами обладают. Можно сделать предварительный вывод о том, что антимикробная активность цеолитов зависит от величины частиц и меняющихся при этом физико-химических свойств цеолитов. Несомненно, что данный вопрос требует дальнейшего изучения.

Работа выполнена при поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (программа У.М.Н.И.К.), гранта РФФИ 09-04-90781-моб ст, грантов СО РАН ПСО-10 №114 и ДВО РАН 09-И-СО-05-002.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Голохваст, К.С. Токсикологические и антимикробные свойства минеральных наночастиц / К.С. Голохваст, А.М. Паничев, А.Н. Гульков и др. // Известия Самарского научного центра РАН. – 2009. – Т.11, №5(2). – С. 448-451.
2. Дашибалова, Л.Т. Интенсификация биологической очистки хозяйственно-бытовых сточных вод с использованием биосорбционного фильтрования на природных цеолитах: Автореф. дис. канд. техн. наук. - Иркутск, 2000. – 25 с.
3. Паничев, А.М. Литофагия в мире животных и человека. – М.: Наука, 1990. – 224 с.
4. Чубенко, Г.И. Микробиологические, иммунологические и аллергологические аспекты кишечных инфекций у детей и пути их коррекции: Дис. д-ра мед. наук. – Владивосток, 2000. – 391 с.
5. Шурубикова, А.А. Влияние природных цеолитов на *Saccharomyces cerevisiae*: Автореф. дис. канд. биол. наук. – Улан-Удэ, 2004. – 19 с.
6. Concepción-Rosabal, B. Bactericidal action of Cuban natural clinoptilolite containing clusters and nanoparticles of silver / B. Concepción-Rosabal, N. Bogdanchikova, I. De la Rosa et al. // Book of abstracts 7th International Conference on

- the Occurrence, Properties, and Utilization of Natural Zeolites «Zeolite'06», 16-21 July 2006, Socorro, New Mexico, USA. – Socorro, 2006 – P. 88-90.
7. Foglar, L. Nitrate removal with bacterial cells attached to quartz sand and zeolite from salty wastewaters / L. Foglar, L. Sipos, N. Bolf // World Journal of Microbiology & Biotechnology. – 2007. - №23. – P. 1595-1603.
 8. Galeano, B. Inactivation of vegetative cells, but not spores, of *Bacillus anthracis*, *B. cereus*, and *B. subtilis* on stainless steel surfaces coated with an antimicrobial silver- and zinc-containing zeolite formulation / B. Galeano, E. Korff, W.L. Nicholson // Applied and Environmental Microbiology. – 2003. - №69. – P. 4329-4231.
 9. Grce, M. Antiviral properties of clinoptilolite / M. Grce, K. Pavelic // Microporous and Mesoporous Materials. – 2005. – Vol. 79, Issues 1-3, №1. – P. 165-169.
 10. Kim, D.M. Effect of zeolites on protein-synthesis in a cell-free system from *Escherichia Coli* / D.M. Kim, Y.E. Kim, C.Y. Choi // Biotechnology Letters. – 1995. - №17. – P. 1043-1046.
 11. Kubota, M. Selective adsorption of bacterial cells onto zeolites / M. Kubota, T. Nakabayashi, Y. Matsumoto et al. // Colloids and Surfaces B-Biointerfaces. – 2008. - №64. – P. 88-97.
 12. Milan, Z. The removal of bacteria by modified natural zeolites / Z. Milan, C. de Las Pozas, M. Cruz et al. // J. Environ. Sci. Health. – 2001. – Vol. 36, №6. – P. 1073-1087.
 13. Vesna, L. Prebiotic activity of zeolite based products / L. Vesna, S. Ivkovic, T. Vesna // 5-th International Conference and Exhibition on Nutraceuticals and Functional Foods, San Francisco, SAD, 2004. – San Francisco, 2004. – P. 18-19.

ECOLOGICAL FEATURES OF INTERACTION BETWEEN MICROORGANISMS AND MINERAL-CRYSTAL FACTOR OF ENVIRONMENT

© 2010 K.S. Golohvast^{1,6}, A.M. Panichev², A.A. Sergievich³, I.G. Fedotova⁴, I.E. Pamirskiy³, I.V. Mishakov⁵, A.A. Vedyagin⁵, A.N. Gulkov^{1,7}

¹ Institute of Oil and Gas Far East State Technical University, Vladivostok

² Pacific Institute of Geography FEB RAS, Vladivostok

³ Amur State Medical Academy, Blagoveshchensk

⁴ Center of Epidemiology and Hygiene in Primorsky Krai, Vladivostok

⁵ Institute of Catalysis named after G.K. Boreskov SB RAS, Novosibirsk

⁶ Far East State University, Vladivostok

⁷ JSC DVNIPI petrogas, Vladivostok

In given article influence of natural minerals - zeolites from Vanginskoye, Kulikovskoye and Lyutogskoye deposits is examined at the size of particles from 1 up to 5 microns on cultures *E. coli* 25922 and *St. aureus* 209-P and 906 in concentration 10, 20 and 50 mg/ml are examined.

Key words: *zeolites, bacteria, antimicrobial activity*

Kirill Golohvast, Candidate of Biology, Deputy Director.

E-mail: droopy@mail.ru

Alexander Panichev, Doctor of Biology, Leading Research Fellow at the Laboratory of Ecology and Protection of Animals

Alexander Sergievich, Candidate of Biology, Senior Lecturer at the Department of Normal Physiology

Irina Fedotova, Chief of the Microbiology Laboratory

Igor Pamirskiy, Candidate of Biology, Assistant at the Department of Biological Chemistry

Iliya Mishakov, Candidate of Chemistry, Senior Research Fellow

Aleksey Bedyagin, Candidate of Chemistry, Senior Research Fellow

Alexander Gulkov, Doctor of Technical Sciences, Professor, Director