

**ПРОЯВЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПОЛИСАХАРИДНЫХ ФРАКЦИЙ, ВХОДЯЩИХ В СОСТАВ ФИТОНЦИДОВ PICEA ABIES (L. KARST.) ПО ОТНОШЕНИЮ К МИКРОСКОПИЧЕСКИМ ГРИБАМ**

**Тазинцева Е.Д., студентка 1 курса экологического факультета,**

**направление магистратуры «Биология»**

**Научный руководитель - Климентова Е. Г., к.б.н., доцент кафедры биологии, экологии и природопользования**

**Ключевые слова:** *ель обыкновенная, биологическая активность, полисахаридные фракции, микромицеты.*

*К работе рассматривается влияние полисахаридных фракций отвара шишек и древесной зелени ели обыкновенной и его отдельных фракций в отношении *Aspergillus niger* и *Candida albicans*. Данные исследования микоцидной активности говорят о достаточно высокой активности фракций ВРПК ветвей*

*в шишек. Возможный механизм терапевтического действия пектиновых веществ, связан со способностью закислять реакционную среду до рН 3,0, вызывая кислотное повреждение структур и белков микромицетарной клетки, дополнительно к этому могут протекать и другие процессы.*

**Введение.** По мнению ряда исследователей, в последние годы актуальность проблемы микотоксинов постоянно возрастает и является составной частью глобальной проблемы загрязнения биосферы. Практически во всех продуктах споры грибов могут накапливаться и в течение длительного времени сохраняться. Особенно остро проблема загрязнения продуктов питания микотоксинами возросла в последнее время в связи с повышением антропогенной нагрузки.

и санитарно-гигиенических позиций интерес представляют метаболиты микромицетов – токсины. Большинство микотоксинов относятся к группе экзотоксинов, выделяющихся в процессе жизнедеятельности грибов в окружающую среду, чаще всего непосредственно в субстрат, на котором они растут. Микотоксины долгое время могут оставаться в субстрате, даже после гибели образовавших их грибов.

Актуальными задачами современной прикладной экологии являются анализ состояния природных экосистем, прогнозирование степени их отклонений от нормы и направления их динамики при антропогенных воздействиях различного плана.

Цель — установить количественное содержание полисахаридных фракций, входящих в состав фитонцидов ели обыкновенной и проявление ими биологической активности по отношению к микроскопическим грибам.

**Материалы и методы:**

Биологическую активность полисахаридных фракций отвара шишек и древесной зелени ели обыкновенной и его отдельных фракций определяли дискодиффузионным методом в отношении

*Aspergillus niger* и *Candida albicans*.

Наличие полисахаридов в образцах древесной зелени и шишек ели обыкновенной было доказано с помощью проведения качественных реакций.

Реакции проводили на отваре ели обыкновенной шишек и древесной зелени по методике (ГФ

XI с. 147) [3, с. 199].

1. Реакция осаждения спиртом 96%. К 10 мл извлечения прибавляли 30 мл спирта 96% и перемешивали. Наблюдали появление хлопьевидных сгустков.

2 Реакция с 5% раствором тимола (ГФ XII. С. 385) [2, с. 502] и серной кислоте концентрированной. К 0,5 мл извлечения прибавляли 2-3 капли 5% раствора тимола и осторожно наслаивали 1 мл серной кислоты концентрированной. Наблюдали появление коричневого кольца на границе слоёв жидкости.

3 Реакция с 0,2% раствором антрона в серной кислоте концентрированной. К 0,5 мл извлечения прибавили 2 мл 0,2% раствора антрона в серной кислоте концентрированной. Пробирку встряхивали и оставляли на 15 мин. Наблюдали появление тёмно-синего окрашивания [4, с. 297].

Приготовление раствора 0,2% раствора антрона в серной кислоте концентрированной. Около 0,2 г антрона (ТУ 6-09-081833.ч) (точная масса), перекристаллизованного из бензола (ГОСТ 595575 ч.д.а.), помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли около 1,0 г тиомочевины (ГОСТ 6344-73 ч.д.а.) (точная масса), растворяли в небольшом количестве серной кислоты концентрированной и доводили объем раствора в колбе этим же растворителем до метки.

Перекристаллизация антрона. 10 г антрона растворяли в 90 мл горячего бензола (ГОСТ 5955-75). К полученному раствору медленно, при постоянном перемешивании, по каплям прибавляли 30 мл холодного эфира петролейного. Выпавший осадок (кристаллы светло-зеленого цвета) отфильтровывали.

Проведённые качественные реакции подтвердили наличие полисахаридов в составе частей ели обыкновенной, из которых получалось масло, что показано в таблице 1.

О наличии в сырье полисахаридов свидетельствуют положительные результаты реакций с водными извлечениями древесной зелени и шишек.

Для определения моносахаридного состава, выделенных фракций, проводили их кислотный гидролиз раствором серной кислоты 2М в запаянных ампулах при 105°C в течение 10 часов. Моносахаридный состав гидролизатов определяли с помощью восходящей хроматографии на бумаге

4 тонкослойной хроматографии на пластинах «Силуфол» и «Сорбфил», в системах растворителей: БУВ 4:1:5, этилацетат - уксусная кислота - муравьиная кислота - вода 18:3:1:4.

Таблица 1 - Результаты качественных реакций на полисахариды

Реакции	Эффект реакции	Древесная зелень	Шишки
1	2	3	4
Осаждение спиртом 96%	Хлопьевидный осадок полисахаридов	+	+
С 5%-ным раствором тимола и серной кислоты, концентрированной	Коричневое кольцо на границе слоёв жидкости	+	+
С 0,2% раствором антраона в серной кислоте, концентрированной	Тёмное сине-зелёное окрашивание	+	+

Хроматограммы обрабатывали анилинфталатным реактивом, проявляли в сушильном шкафу при температуре 100-105°C до появления окраски [1, с. 187].

Так же были получены следующие полисахаридные фракции:

и Водорастворимый полисахаридный комплекс (ВРПК);

и Пектиновые вещества (ПВ);

Их содержание в сырье занесено в таблицу 2.

Таблица 2 - Выход полисахаридных фракций

Сырьё	Выход фракции, % к сырью	
	ВРПК	ПВ
1	2	3
Древесная зелень	1,66±0,67	0,92±0,29
Хвоя	1,49±0,24	0,76±0,05

Ветви	0,97±0,12	1,2±0,2
Шишки	2,5±0,54	0,63±0,02

По результатам таблицы для шишек ели обыкновенной установлен наибольший выход водорастворимого полисахаридного комплекса, когда в ветвях ели обыкновенной накапливается больше пектиновых веществ.

Возможный механизм терапевтического действия этих веществ, связан с тем, что, попадая в кишечник, пектины образуют препятствующие прикреплению микроорганизмов к стенке кишечника гели. Механизм микоцидного действия пектинов связан со способностью закислять реакционную среду до pH 3,0, что в свою очередь вызывает кислотное повреждение структур и белков микромицетарной клетки. Параллельно этому могут протекать и дополнительные процессы, например, омыление этерифицированных карбоксильных групп с образованием безвредных для макроорганизма, но губительных для микроорганизмов, соли (натриевой, калиевой, кальциевой и др.) и микроколичеств метилового спирта, [5, с. 40].

За действующую дозу принимали минимальную подавляющую концентрацию (МПК, мкг/мл), задерживающей рост соответствующего тест-гриба. Последняя пробирка с задержкой роста (прозрачная пробирка) соответствует МПК вещества в отношении данного штамма.

Результаты исследования по определению микоцидной активности полисахаридных фракций ели обыкновенной представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Микоцидная активность полисахаридов древесной зелени и шишек ели обыкновенной

Объект исследования	Зона задержки роста, мм	
	Aspergillus niger	Candida albicans
1	2	3
ВРПК шишек	2,8±0,4	2,3±0,3
ВРПК древесной зелени	2,1±, =0,3	1,7±0,2
Пектиновые вещества шишек	1,1±0,1	1,6±0,2
Пектиновые вещества древесной зелени	1,2±0,2	1,3±0,1

Примечание: число повторов  $n=3$

Как итог проведённых исследований можно сказать, что водорастворимый полисахаридный комплекс и пектиновые вещества древесной зелени шишек ели обыкновенной обладают более низкой микоцидной активностью по сравнению с водорастворимым полисахаридным комплексом шишек, чьё микоцидное воздействие на тестовые образцы оказалось более выраженным.

#### **Выводы:**

Выявлено содержание полисахаридных фракций в сырье ели обыкновенной. Для водорастворимого полисахаридного комплекса наибольшее содержание выявлено в шишках -  $2,5 \pm 0,54\%$ , а для пектиновых веществ - в ветвях  $1,2 \pm 0,2\%$ .

Микоцидная активность полисахаридов древесной зелени ели обыкновенной оказалась значительно ниже, чем активность летучих фракций, размеры зоны задержки роста микроскопических грибов варьировали от  $1,7 \pm 0,2$  до  $2,8 \pm 0,4$  мм для водной части, а для пектиновых веществ ещё ниже

— от  $1,1 \pm 0,1$  до  $1,6 \pm 0,2$  мм.

Данные исследования микоцидной активности говорят о достаточно высокой активности фракций ВРПК ветвей и шишек. Возможный механизм терапевтического действия пектиновых веществ, связан с тем, что пектины, попадая в кишечник, образуют гели, препятствующие прикреплению микроорганизмов к стенке кишечника.

Механизм микоцидного действия полисахаридных пектинов связан со способностью закислять реакционную среду до pH 3,0, вызывая кислотное повреждение структур и белков микромицетарной клетки. Дополнительно к этому могут протекать и другие процессы, например, омыление этерифицированных карбоксильных групп с образованием соли (натриевой, калиевой, кальциевой и др.) и микроколичеств метилового спирта, безвредных для макроорганизма, но губительных для микроорганизмов ели обыкновенной показали более высокую микоцидную активность.

#### **Библиографический список:**

1. Головкин, Б.Н. Биологически активные вещества растительного происхождения: Справочник в 3-х томах / Б.Н. Головкин, Р.Н. Руденская, И.А. Трофимова, А.И. Шретер. – М.: Наука, 2001. - 216 с.
2. Государственная фармакопея Российской Федерации XII издания, часть 1. – М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2008. – 704 С.
3. Государственная фармакопея СССР. Вып. 2. /МЗ СССР. - XI изд. - М.: Медицина, 1990. – 400 с., ил.
4. Кисловская Т.П. Биологически активные вещества культур сосны и ели Среднего урала // Лесные биологические вещества: мат. междунар. семинара. Хабаровск, 2001. - С. 296–297.

5. Лазарева Е.Б., Меньшиков Д.Д. Опыт и перспективы использования пектинов в лечебной практике. Антибиотики и химиотер. - 1999. 44(2): 37-40.