

УДК 615.32:57.084.1

ТОКСИЧНОСТЬ РОЗОВОГО И ЭРЕМОТЕЦЕВОГО МАСЛА В ОТНОШЕНИИ КУЛЬТУРЫ *PARAMECIUM CAUDATUM*

Величко В. П., Семенова Е. Ф., Стойко Т. Г., Шпичка А. И., Мусеева И. Я.

*Пензенский государственный университет, Пенза, Россия
E-mail: veliechko.v@mail.ru*

Показана возможность сравнительного анализа биологического действия эфирных масел розы крымской и розы болгарской, а также образцов эремотецевого масла с помощью биотеста на токсичность. В качестве тест-организма использовалась культура инфузории *Paramecium caudatum*. Применение экспресс-метода продемонстрировало его высокую информативность, чувствительность и универсальность в отношении масел различного происхождения.

Ключевые слова: *Paramecium caudatum*, эфирное масло, розовое масло, эремотецевое масло, токсичность.

ВВЕДЕНИЕ

На протяжении многих тысячелетий роза эфирномасличная являлась источником получения розового эфирного масла [1], однако плантационное культивирование ее не обеспечивает в настоящее время все возрастающие потребности в сырье, что значительно тормозит развитие ряда отраслей промышленности. Розовое масло и розовая вода применяются в парфюмерно-косметическом, кондитерском, мыловаренном и ликероводочном производствах. Масло служит в качестве корриганта фармацевтических препаратов с целью улучшения их вкуса и запаха. Оно обладает умеренным антибактериальным (бактериостатическим) действием. В настоящее время показана возможность альтернативного получения биотехнологического «розового» эфирного масла на основе штаммов *Eremothecium ashybyi* Guilliermond 1935 и *E. gossypii* Kurtzman 1995, сходного по составу с эфирным маслом из свежих цветков розы. Его основными компонентами являются гераниол, β -фенилэтанол, а также нерол, цитронеллол, нераль, гераниаль и другие соединения [2, 3]. В связи с этим представляется актуальным проведение биотестирования образцов розового и эремотецевого масел различного происхождения для сравнительного анализа их действия на биообъекты.

В качестве тест-культуры достаточно часто используют одноклеточных инфузорий благодаря тому, что они являются наиболее высоко организованными простейшими, способными проявлять разнообразные ярко выраженные реакции на изменения внешней среды [4, 5]. Цель настоящего исследования – оценить влияние масел с запахом розового направления на жизнеспособность *Paramecium caudatum* в динамике культивирования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения биотеста была использована культура *P. caudatum*, выращенная на сенном отваре и находящаяся в фазе стационарного равновесия. Непосредственно перед тестированием была приготовлена рабочая концентрация взвеси клеток (100 клеток/мл).

Оценка токсичности эфирного масла розы различного происхождения (Болгария, Крым), а также образцов эремотецевого масла проводилась методом серийных разведений с использованием 96-ячейкового планшета. В каждую ячейку с помощью автоматического дозатора вносили 0,3 мл взвеси тест-культуры и 0,1 мл испытуемого образца розового и эремотецевого масел. Были исследованы 4 разведения эфирного масла крымского и болгарского происхождения, а также эремотецевого: 1:128 (7400; 7000 мкг/мл), 1:256 (3710; 3440 мкг/мл), 1:512 (1860; 1720 мкг/мл), 1:1024 (930; 860 мкг/мл) соответственно. Конечные разведения и концентрации масел в ячейках были следующими: 1:512 (1860; 1720 мкг/мл), 1:1024 (930; 860 мкг/мл), 1:2048 (460; 430 мкг/мл), 1:4096 (230; 210 мкг/мл) соответственно. В качестве контроля использовали чистую культуру и культуру инфузорий с добавлением растворителя в соответствующем серийном разведении. Реакцию инфузорий наблюдали под стереомикроскопом МСП-1 (ООО «ЛМО», Санкт-Петербург) непосредственно после внесения испытуемого образца разведений масла, через 1, 3 и 24 часа. Жизнеспособность инфузорий определяли методом прямого подсчета погибших особей, выраженного в процентах от общего количества.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Качественный состав крымского и болгарского розовых масел сходен, так же, как и состав эремотецевого масла в разных образцах, но количественное соотношение их компонентов различно (табл. 1).

Таблица 1

Соотношение компонентов эфирных масел различного происхождения

Компоненты эфирных масел	Содержание, %			
	розовые масла		эремотецевые масла	
	крымское	болгарское	образец № 1	образец № 2
фенилэтанол	81,5	3,5	6,2	14,0
цитронеллол	3,5	27,0	2,53	5,8
нерол	2,7	8,5	0,87	–
гераниол	12,1	18,5	20,8	67,1
монотерпенолы	–	–	24,2	72,9

Для определения различий в действии эфирных масел, полученных из цветков розы крымской и болгарской, а также из культуральной жидкости микромицета, с учетом их качественного и количественного состава, был проведен тест на токсичность, основанный на наблюдениях за изменениями подвижности культуры инфузорий *P. caudatum*. В ходе проведенного эксперимента было установлено, что

инфузории весьма чувствительны к компонентам исследуемых эфирных масел: в разведениях 1:128 и 1:256 через одну минуту инфузории скапливались преимущественно на дне, двигались медленно и хаотично, более 50,0 % особей погибали, а через час все инфузории оказались мертвыми (рис. 1, 2). Поведение клеток *P. caudatum* в разведениях эфирных масел 1:256 розы крымской и болгарской мало отличалось от поведения тест-объектов в разведении 1:128.

При сравнении между собой разведений эфирного масла розы крымской и розы болгарской установлено, что эфирное масло розы крымской более токсично для культуры инфузорий: процент погибших инфузорий в разведениях этого масла по прошествии одной минуты эксперимента был выше, чем в разведениях эфирного масла розы болгарской.

В образцах эрмотецевого масла все особи инфузорий после первой минуты исследования погибали. Разведения масел 1:512 и 1:1024 оказались для культуры инфузорий менее токсичными: в течение всего периода исследования инфузории концентрировались на дне, отдельные клетки, сохраняя жизнеспособность, медленно двигались.

Полученные данные сравнительного анализа действия образцов эрмотецевого масла позволяют заключить, что их токсичность для инфузорий составляет 100 % в концентрациях, превышающих 860 мкг/мл. При этом токсическое действие образца № 2 во всех изучаемых разведениях было выражено в большей степени. Сходный характер на динамику жизнеспособности тест-культуры оказали эфирное масло розы крымской и образец № 1 эрмотецевого масла. Болгарское розовое масло и образец № 2 эрмотецевого масла существенно различались по проявлению своей биологической активности в отношении *P. caudatum*: меньшее токсическое действие эфирного масла розы болгарской по сравнению с эрмотецевым маслом обусловлено различием в химическом составе испытуемых образцов.

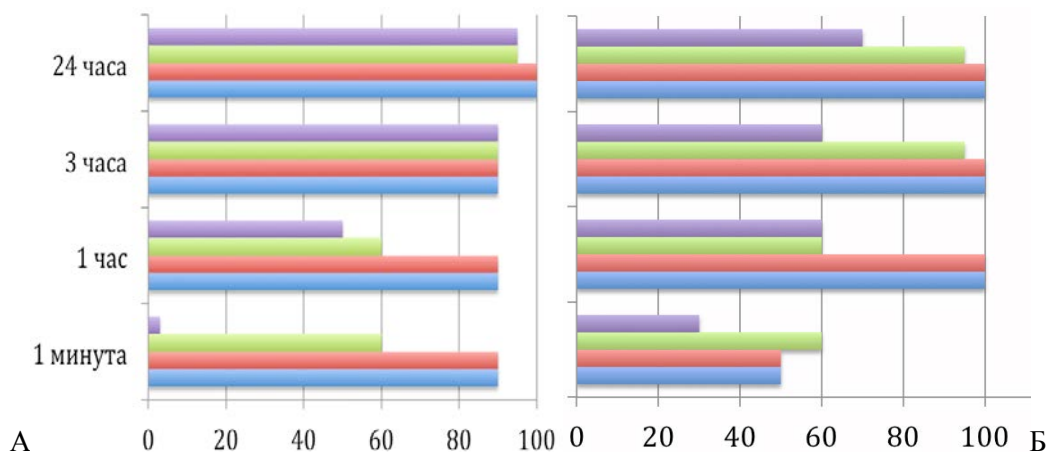


Рис. 1. Влияние эфирных масел розы крымского происхождения (А) и болгарского происхождения (Б) на жизнеспособность *Paramecium caudatum*

(количество погибших особей, %) (концентрации на графике соответствуют конечным разведениям и концентрациям в ячейках):

■ 1:512 (1860 мкг/мл – синий цвет), ■ 1:1024 (930 мкг/мл – красный цвет),
 ■ 1:2048 (460 мкг/мл – зелёный цвет), ■ 1:4096 (230 мкг/мл – фиолетовый цвет).

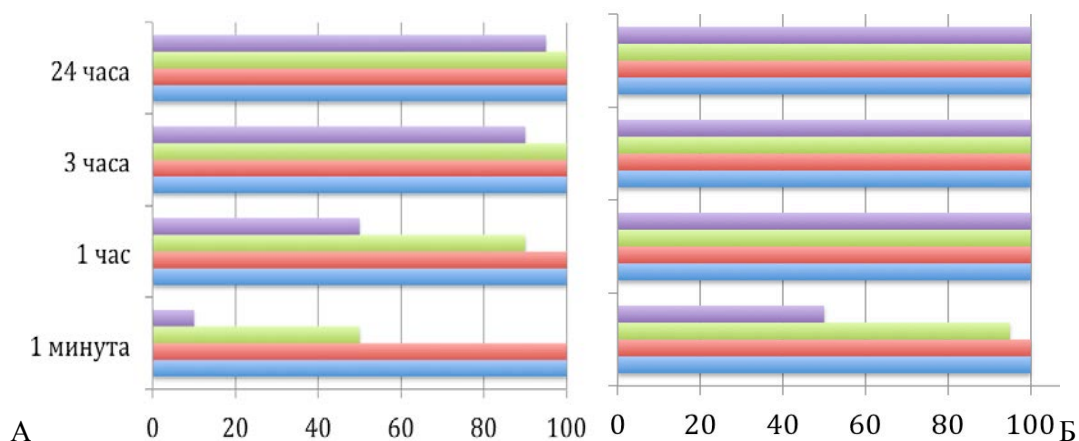


Рис. 2. Влияние эремотецевых масел первого образца (А) и второго образца (Б) на жизнеспособность *Paramecium caudatum* (количество погибших особей, %) (концентрации на графике соответствуют конечным разведениям и концентрациям в ячейках):

■ 1:512 (1720 мкг/мл – синий цвет), ■ 1:1024 (1024 мкг/мл – красный цвет),
 ■ 1:2048 (460 мкг/мл – зелёный цвет), ■ 1:4096 (210 мкг/мл – фиолетовый цвет).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Исследуемые образцы эремотецевого масла обладали более выраженным токсическим эффектом, чем образцы масел розы крымского и болгарского происхождения.
2. Эфирное масло розы крымского происхождения более токсично для *Paramecium caudatum*, чем эфирное масла розы болгарского происхождения, что обусловлено различием в химическом составе испытуемых образцов.
3. Наименьшая токсичность для инфузорий выявлена у эфирного масла розы болгарской: 100 %-ная гибель особей инфузорий через час экспозиции наблюдалась при концентрациях масла, превышающих 930 мкг/мл.
4. Наибольшая токсичность эремотецевого масла, вызывающего мгновенную гибель тест-культуры *P. caudatum*, отмечена в концентрациях, превышающих 860 мкг/мл.

Список литературы

1. Семенова Е.Ф. Анатомо-морфологические особенности лепестков как эфирноносных структур цветков представителей рода *Rosa* / Е.Ф. Семенова, Н.А. Меженная, Е.В. Преснякова // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Серия «Естественные науки» – 2014. – № 3 (7) . – С.5–17.

2. Кокова В.Е. Непропорционально – проточная культура простейших / В.Е. Кокова, Г.М. Лисовский. – Новосибирск: Наука, 1982. – 188 с.
3. Филенко О.Ф. Область применения методов биотестирования / Филенко О.Ф. // Методы биотестирования качества водной среды. М., 1989. – 119 с.
4. Международная научно-практическая конференция «Инфузории в биотестировании». Тезисы докладов. – СПб.: Архив ветеринарных наук, 1998. – 304 с.
5. Простейшие – новые объекты биотехнологии: сб. науч. трудов. [Текст] / АН СССР, Всесоюз. о-во протозоологов. – Л.: Наука, 1989. –145 с.

TOXICITY OF ROSE OIL AND EREMOETHETIUM OIL REGARDING THE CULTURE *PARAMECIUM CAUDATUM*

Velichko V. P., Semenova E. F., Stojko T. G., Spichka A. I., Moiseeva I. Y.

Penza State University, Penza
E-mail: veliechko.v@mail.ru

For many millennia the rose attar is a valuable source of rose essential oil widely used in the world today. Rose oil and rose water are used in perfumery and cosmetics, confectionery, soap and alcoholic beverage industries. The oil serves as korriganta of pharmaceuticals to improve their flavor and odor. It has mild antibacterial (bacteriostatic) action. Rose oil regulates the adrenal glands, has antipyretic, anti-inflammatory, anti-inflammatory, choleric, hepatoprotective effect used in the treatment of stomatitis, periodontal disease, skin and other diseases.

Currently, there is the possibility of an alternative produce of biotechnological "pink" essential oil, based on strains of *Eremothecium ashybyi* Guilliermond 1935 and *E. gossypii* Kurtzman 1995, similar in composition to the essential oil with fresh rose flowers. Its main components are geraniol, β -phenyl ethanol, identified nerol, citronellol, neral, geranial, and other compounds. Therefore, it seems urgent to conduct the biological testing of samples of various origins and the comparative analysis of the actions of pink and eremothecium oils on the bioobject.

The crop *Paramecium caudatum* was used to in order to perform the bioassay, it is grown on hay broth and is in phase of stationary balance. A characteristic feature of infusorium is relatively rapid variability, which allows them to adapt to the variety of conditions. As soon as the archaeal adapt to environmental conditions, all of their vital functions rebuilt, the speed, the rate of reproduction and the ability to absorb the food as well as the shape and size of the body change. But if the environment does not change, the properties of infusorium remain stable, it makes possible to use them as test objects.

According to the study the highest toxicity of infusorium is observed in samples of eremothecium oil in concentrations of at least 860 mcg / mL, causing the instantaneous death of the cells of the test organism. It should be noted that the essential oil of Crimean rose shows more pronounced toxic effect than the Bulgarian rose essential oil, because it has a high content of phenyl ethanol in its composition (81.5%). However, it should be noted that the dynamics of infusorium death depending on the concentration of oil in the samples (serial dilutions) was virtually identical for Crimean samples and samples number 1 obtained by biotechnological means.

Thus, the methods used to estimate the toxicity of oils revealed differences in their effects on the culture of *P. caudatum*, related to the qualitative and quantitative composition of samples of different origin.

Keywords: *Paramecium caudatum*, essential oil, rose oil, eremothecium oil, toxicity.

References

1. Semenova E. F., Mezhennaya N. A., Presnyakov E. V. Anatomical and morphological features as the petals of flowers essential oil structures of the genus *Rosa*, Proceedings of the higher educational institutions. Volga region. Series «Science», 3 (7), 5-17 (2014).
2. Kokova V. E. Lisowski G. M. Disproportionately - flow culture simplest , 188 p. (Novosibirsk: Nauka, 1982).
3. Filenko O. F. Application methods of bioassay methods, Bioassay water quality, 119 p. (Moscow, 1989).
4. International scientific and practical conference "The ciliates in the bioassay." Abstracts, 304 p. (SPb.: Archives of Veterinary Science, 1998).
5. Simple – new facilities of biotechnology: Sat. Scientific. Works, 145 p. (L .: Science, 1989).

Поступила в редакцию 12.10.2015 г.