

УДК 615.076, 57.083.1, 543.95, 543.55

EDN: UUOPLW

© В. С. Сибирцев, Ю. И. Уткина, В. В. Шерстнёв,
А. Ю. Зайцева, С. Н. Глебов, В. В. Романова, 2026

МЕТОДИКА СРАВНИТЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОГО МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА СВОЙСТВ РАЗЛИЧНЫХ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ

В этой статье описана вновь разработанная методика мультисенсорного потенциометрического микробиологического тестирования. Методика предусматривает периодическую (в данном случае, через 0, 40, 80 и 120 мин) регистрацию изменений pH, а также разностей потенциалов между хлорсеребряным электродом сравнения и индикаторными стальным и латунным электродами "1-го рода", характерных для жидкой питательной среды, инкубируемой в присутствии и в отсутствие тестируемых образцов (ТО) и жизнеспособных тестовых микроорганизмов (ТМ). Разработаны два принципиально новых потенциометрических датчика. В качестве ТМ в этой работе использовались молочнокислые бактерии. Получаемые данные подвергались математической обработке. С помощью этой методики нами был проведен сравнительный анализ биологической активности промышленно производимых углекислотных экстрактов в зависимости как от вида растительного сырья, из которого эти экстракты были получены, так и от их концентрации, а также от времени воздействия этих экстрактов на ТМ. Нами введен новый параметр, учитывающий динамику изменения биологической активности ТО в ходе их взаимодействия с ТМ. Это исследование подтвердило более высокую экспрессность, информативность и экономичность представленной в данной работе методики по сравнению как с "классическими визуальными", так и с ранее использовавшимися нами инструментальными микробиологическими методами, применяемыми как при контроле качества уже существующей, так и при разработке новой фармацевтической и иной продукции, а также ингредиентов и добавок к ней.

Ключевые слова: потенциометрическое биотестирование, микробиологическое тестирование, контроль качества, эфирные масла, биологическая активность

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время все более актуальной становится проблема контроля качества различной фармацевтической, пищевой и иной продукции, в системе которого важную роль играет оценка биологической активности такой продукции. Такая оценка чаще всего осуществляется с применением многоклеточных либо одноклеточных тестовых живых организмов. Причем они используются не только как экспрессная, дешевая, доступная и статистически значимая (в силу многочисленности тестовых клеток и короткого времени их жизни) модель человеческого организма (пусть и достаточно далекая от полной ему адекватности), но и как модель полезной микробиоты человека, а также природной микрофлоры, способной вызывать различные заболевания, способствовать порче продукции и т.д. [1–5].

Однако большинство методов микробиологического тестирования, принятых в настоящее время в качестве стандартных, включают в себя лишь визуальную оценку выживаемости тестовых мик-

роорганизмов (либо величины зоны задержки роста колоний этих микроорганизмов после 1–3 суток их инкубирования при заданной температуре на поверхности плотной агаризованной тестовой среды) и требуют для своего проведения значительных затрат материалов, а также времени и труда квалифицированного персонала, давая в результате лишь достаточно субъективную, "статичную" и вариативную информацию о летальных нарушениях жизнедеятельности тестовых микроорганизмов (ТМ) [1–13]. В то время как инструментальные методы микробиологического тестирования (оптические, электрохимические и т.п.) позволяют получать существенно более объективные и детальные данные о биологической активности анализируемых образцов, а также сократить время тестирования (до нескольких часов, вместо суток) [14–22].

В свою очередь, из объектов такого тестирования все больший интерес в последнее время вызывают различные растительные экстракты (РЭ), являющиеся одним из наиболее приемлемых и распространенных источников биологически актив-

ных веществ (БАВ) природного происхождения, способствующих нормальному развитию и функционированию как самого человеческого организма, так и симбиотически связанной с ним полезной микробиоты либо угнетению вредной для человека микрофлоры, обладая при этом существенно меньшими по интенсивности и широте спектра воздействия на человеческий и иные многоклеточные живые организмы побочными эффектами [2, 3, 8, 10, 13, 23, 24].

При этом среди РЭ в последнее время все большее применение находят эфирные масла (ЭфМ), получаемые из различного растительного сырья такими методами, как холодный или горячий отжим, дистилляция, экстрагирование и т.п. [25]. При этом дистилляция с водяным паром является на сегодняшний день наиболее распространенным методом получения ЭфМ. В то время как холодный отжим, хотя и дает наименьший выход конечного продукта, обеспечивает наибольшую биологическую активность БАВ, извлекаемых из исходного сырья (лучше всего сохраняя первичную и пространственную структуру этих соединений). При этом большинство ЭфМ содержат БАВ в значительно больших количествах, нежели иные виды растительных экстрактов. Вследствие чего многие ЭфМ обладают ярко выраженными пребиотическими, антимикробными, консервирующими, антиоксидантными, ароматизирующими, вкусовыми и другими свойствами. Что позволяет использовать такие ЭфМ в качестве не только добавок различной функциональности, но и нередко основных активных ингредиентов, входящих в состав различной фармацевтической, пищевой и иной продукции [3, 6, 8, 25–43].

ЦЕЛИ ИССЛЕДОВАНИЯ

В связи с вышесказанным, целью настоящего исследования стала разработка новой экспрессной и доступной для широкого применения методики инструментальной оценки биологической активности образцов различной фармацевтической, пищевой и иной продукции. А также последующее апробирование этой методики в ходе сравнительного анализа с ее помощью влияния на динамику жизнедеятельности типичных представителей микробиоты

человека эфирных масел, промышленно получаемых из разных частей разных растений, в зависимости от концентрации этих масел, а также времени их воздействия на ТМ.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы

В качестве объектов исследования в этой работе были взяты образцы ЭфМ, промышленно получаемых крупным российским производителем ООО "Мирролла" (Россия, <https://mirrolla.ru>) из следующих видов растительного сырья, применимого в фармацевтической, косметической, пищевой и иных отраслях народного хозяйства:

- 1) корни бадана толстолистного (камнеломка, *Bergenia crassifolia*);
- 2) листья и стебли полыни таврической (*Artemisia taurica*);
- 3) корни чистотела большого (*Chelidonium majus*);
- 4) листья эвкалипта шаровидного (*Eucalyptus globulus Labill.*);
- 5) трава фиалки трехцветной (*Viola tricolor*);
- 6) семена льна обыкновенного (*Linum usitatissimum*);
- 7) трава череды трехраздельной (*Bidens tripartita*);
- 8) плоды расторопши пятнистой (*Silybum marianum*);
- 9) корни лопуха большого (*Arctium lappa*).

Стандартизацию ЭфМ под приведенными номерами осуществляли методом дифференциальной спектрофотометрии (как описано, в частности, в работах [23, 24]) по содержанию в этих ЭфМ флавоноидов в пересчете на рутин (см. табл. 1).

Для анализа влияния разных концентраций тестируемых ЭфМ на динамику жизнедеятельности ТМ, исходя из результатов уже имевшихся авторских наработок по различным способам инструментального биотестирования [14–18, 20, 44–56], была разработана следующая методика мульти-сенсорного потенциометрического микробиологического тестирования.

Табл. 1. Содержание флавоноидов (в пересчете на рутин) в исследуемых эфирных маслах (ЭфМ), масс. %

Номер ЭфМ								
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1.45	1.40	1.47	1.34	1.27	1.31	1.07	1.37	1.33

Примечание. Относительная ошибка определения всех указанных в таблице значений находилась в диапазоне от 10 до 20%.

Методика измерений

Для каждой партии тестируемых ЭФМ выполняли по три серии измерений. Перед началом каждой из них готовили питательную среду (ПС), представлявшую собой стерильный водный раствор с $\text{pH } 7.2 \pm 0.2$, содержащий 20 г/л белкового гидролизата, 2 г/л NaCl, 10 г/л сахарозы, 5 г/л глюкозы и 1 г/л лецитина.¹

Затем указанную ПС засеивали *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 (являющимися типичными представителями микробиоты человека) и инкубировали без перемешивания при 40 °С до тех пор, пока содержание в этой среде жизнеспособных микроорганизмов не достигало 10^7 кл/мл [клеток/мл] (что оценивали по уменьшению pH среды и увеличению ее светорассеяния).

После этого полученную тестовую среду (ТС) разбавляли в 5 раз стерильной ПС, доводили до $\text{pH } 8.0 \pm 0.1$ (добавлением необходимого количества 2 М водного раствора КОН) и разливали по измерительным емкостям (ИЕ), в каждую из которых (за исключением трех "контрольных" ИЕ) предварительно добавляли необходимое количество одного из тестируемых ЭФМ — по одному в 3 ИЕ в параллель. При этом в качестве ИЕ использовали стандартные стеклянные цилиндрические 15 мл пробирки.

Далее все упомянутые ИЕ инкубировали без перемешивания при 40 ± 0.1 °С в течение еще 2 ч. И во время этого инкубирования у ТС, содержащихся в каждой из ИЕ, с интервалом 40 мин регистрировали pH, а также разности потенциалов между хлорсеребряным электродом сравнения и индикаторными железным E_{Fe} [мВ] и латунным E_{CuZn} [мВ] электродами "1-го рода".

При этом pH регистрировали с помощью комбинированного электрода "ЭСК-10601/7" (Россия), подсоединенного к одному из 4 измерительных каналов иономера "Эксперт-001-4.0.4" (Россия). Тогда как E_{Fe} и E_{CuZn} регистрировали с помощью подсоединяемых к еще 2 измерительным каналам того же иономера специально изготовленных авторами этой статьи датчиков, подобных комбинированному редокс-электроду "ЭРП-105" (Россия), в котором платинированная проволока,

входящая в состав индикаторного электрода, заменялась на проволоку, изготовленную из "стали 30" (содержащей 98.75% Fe, 0.5% Mn, 0.2% Cr, 0.25% Si и 0.3% C) либо из латуни "Л63" (содержащей 65% Cu и 38% Zn) (см. рис.).

После этого степень активирования (+) либо ингибирования (–) жизнедеятельности ТМ заданными концентрациями тестируемых ЭФМ после k мин совместного инкубирования исследуемых ТМ и ЭФМ в жидкой ТС — $\varepsilon_{V,k}$, [%] — рассчитывали по формуле:

$$\varepsilon_{V,k} = (0.86 \varepsilon_{\text{pH},k} + \varepsilon_{\text{CuZn},k} + 0.69 \varepsilon_{\text{Fe},k}) / 2.55, \quad (1)$$

в которой значения величин $\varepsilon_{\text{pH},k}$, $\varepsilon_{\text{CuZn},k}$ и $\varepsilon_{\text{Fe},k}$ определялись отдельно по результатам измерений pH, E_{CuZn} и E_{Fe} для ТС, содержащихся в инкубируемых ИЕ, по формуле:

$$\varepsilon_{i,k} = 100 (\Delta Y_{i,k} / \Delta Y_{c,i,k} - 1), \quad (2)$$

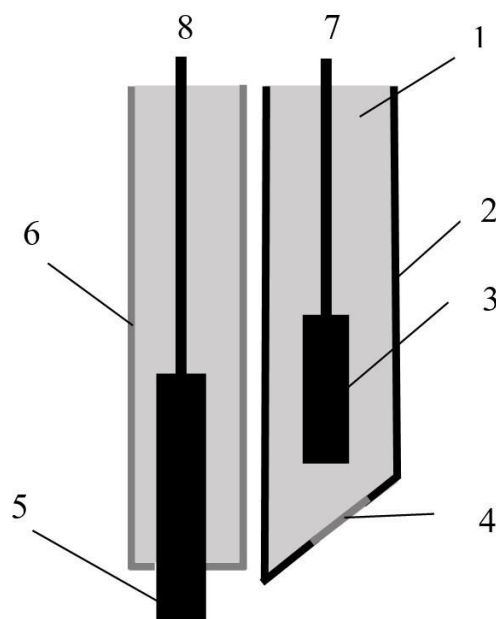


Рис. Схема датчика для измерения разности потенциалов между хлорсеребряным электродом сравнения и индикаторным электродом "1-го рода".

1 — водный раствор 2 М KCl; 2 — корпус хлорсеребряного электрода сравнения; 3 — серебряная проволока, покрытая AgCl; 4 — "электролитический ключ"; 5 — погружаемая в анализируемый раствор часть стальной или латунной проволоки, составляющей индикаторный электрод; 6 — внешняя изолирующая оболочка индикаторного электрода; 7, 8 — внешние выводы электрода сравнения и индикаторного электрода, подключаемые через стандартный разъем к милливольтметру, входящему в состав иономера или иного измерительного устройства.

¹ Использование пастеризованного молока 1.5% жирности в качестве альтернативы вышеупомянутой ПС упростило бы приготовление среды и повысило чувствительность анализа. Однако это увеличило бы вариативность ПС, а следовательно, и ошибку результатов анализа (несмотря на нормировку на контроль); а также потребовало бы регулярной закупки свежей ПС или хранения ее в больших объемах в замороженном виде вместо сухого порошка при пониженной температуре хранения.

где индекс "i" указывает на параметр, по которому проводились измерения (pH, E_{CuZn} или E_{Fe}), а значения величин $\Delta Y_{i,k}$ и $\Delta Y_{c,i,k}$ определялись как изменения значений этого параметра ТС (pH, E_{CuZn} или E_{Fe}), усредненные по выборке из N образцов с одинаковыми концентрациями одного и того же ЭФМ, произошедшие за k мин от начала инкубирования, для образцов в "тестовых" (ΔY) либо "контрольных" (ΔY_c) ИЕ.

Кроме того, по формулам:

$$\varepsilon_V^* = 0.47 \varepsilon_{V,40} + 0.35 \varepsilon_{V,80} + 0.18 \varepsilon_{V,120}, \quad (3)$$

$$\varepsilon_{\text{pH}}^* = 0.49 \varepsilon_{\text{pH},40} + 0.36 \varepsilon_{\text{pH},80} + 0.15 \varepsilon_{\text{pH},120}, \quad (4)$$

$$\varepsilon_{\text{CuZn}}^* = 0.52 \varepsilon_{\text{CuZn},40} + 0.28 \varepsilon_{\text{CuZn},80} + 0.20 \varepsilon_{\text{CuZn},120}. \quad (5)$$

определяли средневзвешенные по времени инкубирования ИЕ степени активирования (+) либо ингибирования (–) жизнедеятельности *L.acidophilus* заданными концентрациями тестируемых ЭФМ, учитывающие динамику изменения биологической активности тестируемых образцов (ТО) в ходе их взаимодействия с ТМ.

При этом ошибки определения каждой из величин $\varepsilon_{\text{pH},k}$, $\varepsilon_{\text{CuZn},k}$ и $\varepsilon_{\text{Fe},k}$ рассчитывались стандартным образом (как описано, в частности, в работах [57–59]) по формулам

$$\Delta \varepsilon_{i,k} = t_{\alpha, N-1} \sigma_{i,k},$$

где $t_{\alpha, N-1}$ — критерий Стьюдента для уровня достоверности $\alpha = 0.95$ и числа степеней свободы $N-1$ (в нашем случае $N = 3 \times 3 = 9$),

$$\sigma_{i,k} = [\sum_j (\varepsilon_{i,kj} - \theta_{i,k})^2 / (N-1)]^{1/2}$$

$$\text{и } \theta_{i,k} = \sum_j \varepsilon_{i,kj} / N$$

дисперсия и математическое ожидание $\varepsilon_{i,k}$. После чего ошибки определения ε_V рассчитывались по формуле:

$$\Delta \varepsilon_{V,k} = (0.86 \Delta \varepsilon_{\text{pH},k} + \Delta \varepsilon_{\text{CuZn},k} + 0.69 \Delta \varepsilon_{\text{Fe},k}) / 2.55.$$

Параметры pH, E_{CuZn} и E_{Fe} были выбраны нами для оценки степени активирования либо ингибирования жизнедеятельности ТМ заданными концентрациями ЭФМ, потому что, во-первых, значения этих параметров малокритичны как к прозрачности ТС², так и к ионной силе ТС³. Во-вторых, pH, E_{CuZn} и E_{Fe} достаточно легко и быстро могут быть измерены с помощью всего лишь одного прибора. И в-третьих, значения величин E_{CuZn} и E_{Fe} характеризуют не только редокс-потенциал ТС (измерявшийся нами, в частности, в работах [49–51, 53–

55]), но и наличие в ТС разных видов ионов, не участвующих непосредственно в окислительно-восстановительных взаимодействиях в основной жидкой фазе ТС.⁴ Так, в частности, по результатам наших предварительных исследований стальной Fe-электрод был чувствителен к ионам Al^{3+} , Fe^{3+} , Ni^{2+} и Cu^{2+} , малочувствителен к ионам Ca^{2+} и Mg^{2+} и нечувствителен к ионам H^+ , NH_4^+ , Na^+ , K^+ и Zn^{2+} . Тогда как латунный CuZn-электрод был чувствителен к ионам NH_4^+ , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} и Cu^{2+} и малочувствителен к ионам H^+ , Al^{3+} , Fe^{3+} и Ni^{2+} . При этом следует отметить, что, хотя в "классической" потенциометрии стремятся достичь наибольшей селективности измерительного электрода в отношении конкретных видов ионов, при биотестировании аналитика, в первую очередь, интересует изменение общего химического состава ТС (вследствие осуществления там жизнедеятельности ТМ), а не содержания в ТС каких-либо конкретных видов ионов. Вследствие чего при биотестировании излишняя селективность сенсоров является фактором, негативно сказывающимся на адекватности результатов анализа.

Коэффициенты при $\varepsilon_{i,k}$, указанные в формулах (1)–(4), были рассчитаны на основании исходной матрицы значений $\varepsilon_{i,k}$ "методом главных компонент", позволяющим свести данные, полученные для нескольких "независимых переменных" (в нашем случае $\varepsilon_{\text{pH},k}$, $\varepsilon_{\text{CuZn},k}$ и $\varepsilon_{\text{Fe},k}$), к одной переменной (в нашем случае ε_V) с потерей менее 10% исходной информационной нагрузки, аналогично тому, как это делалось нами ранее в работе [60].

Кроме того, для верификации разработанного нами и представленного в этой работе метода мультисенсорного динамического потенциометрического микробиологического тестирования мы для каждого из тестируемых ЭФМ аналогично величинам ε_V определяли также величину ε_S с применением стандартной методики [1–13], предусматривающей визуальный подсчет колоний *L.acidophilus*, выросших после 24 ч инкубации ТМ при 37 ± 0.1 °C на плотной ПС в отсутствие и в присутствии поочередно каждого из тестируемых ЭФМ. При этом высевание ТМ на ПС проводилось для нескольких последовательных разведений ТС (каждое в несколько параллельных чашек Петри). И после инкубации отбирались те из упомянутых разведений, при использовании которых на одной чашке Петри выросло не менее 10 и не более 50 колоний ТМ. После чего полученные данные статистически обрабатывались так, как описано, в частности, в работе [57]. А затем

² В отличие от интенсивности упругого светорассеяния, а также большинства других оптических характеристик ТС, измерявшихся нами, в частности, в работах [14, 15, 17, 44, 45, 47–52, 54, 56].

³ В отличие от электропроводности, измерявшейся нами для ТС, в частности, в работах [16, 51–56].

⁴ Таких, например, как $\text{Fe}^{3+}_{\text{ж}} + e \rightarrow \text{Fe}^{2+}_{\text{ж}}$, в отличие от гетерофазных аналогов таких взаимодействий типа $\text{Fe}^{3+}_{\text{ж}} + 3e \rightarrow \text{Fe}^0_{\text{ТВ}}$, где индексы "ж" и "ТВ" обозначают соответственно жидкую и твердую фазы.

на основании этих данных производился расчет значений величин ε_S по формуле:

$$\varepsilon_S = 100 (N_c \cdot \Sigma Kt_i) / (N_t \cdot \Sigma Kc_i) - 100, \quad (6)$$

где Kt_i и Kc_i — количества колоний ТМ, выросших в i -й "тестовой" и "контрольной" чашках Петри, а N_t и N_c — общие количества усредняемых "тестовых" и "контрольных" чашек Петри.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Наиболее интересные, на наш взгляд, данные, полученные описанным выше способом, представлены в табл. 2 и 3. Из них видно, что с изменением концентраций ЭфМ в ТС — C_{TE} — достаточно существенно может меняться и характер их биологической активности. Кроме того, разную биологическую активность имели экстракты, полученные

из разных частей разных растений. В частности, это видно на примере сравнения антимикробной активности ЭфМ, полученных из семян аниса обыкновенного (*Pimpinella anisum*) и кожуры плодов лайма (*Citrus aurantiifolia*), для которых при их концентрации в ТС (C_{TE}), равной 1 об.%, значения ε_V^* составили -79 ± 11 и $-61 \pm 9\%$ соответственно (табл. 2, ЭфМ 1 и 6).

При этом среди исследованных ЭфМ наиболее активные антимикробные свойства проявили ЭфМ, полученные из цветов гвоздичного дерева (*Syzygium aromaticum*), тогда как наименее активные антимикробные свойства проявили ЭфМ, полученные из листьев эстрагона (*Artemisia dracuncululus*), для которых при $C_{TE} = 1$ об.% значения ε_V^* составили -83 ± 13 и $-52 \pm 8\%$ соответственно (табл. 2, ЭфМ 3 и 7).

Табл. 2. Степени ингибирования жизнедеятельности *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4356) при разной продолжительности их инкубирования в присутствии разных количеств ЭфМ, определявшиеся по "стандартной визуальной" (ε_S , %) и разработанной потенциометрической (ε_V , %) методикам микробиологического тестирования

Концентрация ЭфМ C_{TE} , об.%	Степень ингибирования ε , %	Номер ЭфМ								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	$\varepsilon_{V,40}$	-87	-84	-89	-79	-63	-66	-57	-73	-68
	$\varepsilon_{V,80}$	-74	-72	-76	-68	-52	-56	-47	-63	-58
	$\varepsilon_{V,120}$	-64	-64	-67	-60	-44	-45	-40	-55	-47
	ε_V^*	-79	-78	-83	-73	-58	-61	-52	-67	-62
0.5	$\varepsilon_{V,40}$	-50	-44	-48	-41	-26	-31	-23	-38	-32
	$\varepsilon_{V,80}$	-41	-36	-38	-33	-18	-24	-16	-30	-24
	$\varepsilon_{V,120}$	-35	-29	-32	-27	-14	-19	-13	-25	-20
	ε_V^*	-47	-40	-42	-37	-21	-26	-19	-34	-27
	ε_S	-42	-36	-38	-33	-19	-24	-17	-30	-24
0.1	$\varepsilon_{V,40}$	-37	-32	-34	-29	-14	-20	-13	-27	-20
	$\varepsilon_{V,80}$	-31	-25	-26	-24	-11	-16	-10	-22	-17
	$\varepsilon_{V,120}$	-27	-21	-22	-21	-9	-14	-8	-19	-14
	ε_V^*	-34	-28	-30	-26	-12	-18	-11	-24	-19

Примечание. Методику определения значений параметров ε_S , ε_V^* и $\varepsilon_{V,k}$ (где k — продолжительность инкубирования тестовой среды в минутах), как и соответствие номеров ЭфМ конкретным видам растительного сырья, использованного для их приготовления, см. в разделе "Экспериментальная часть". C_{TE} (об.%) — исходная концентрация ЭфМ в тестовой среде с жизнеспособными микроорганизмами. Относительная ошибка определения степени ингибирования для всех, указанных в табл. 2 значений, находилась в диапазоне от 50 до 70% (для ε_S) либо от 10 до 20% (для ε_V^*).

Табл. 3. Достоверность (р, %) корреляции между данными, полученными с помощью "стандартной визуальной" (ε_s) и разработанных потенциометрических методик определения ε для всех тестируемых ЭфМ при $C_{TE} = 0.5$ об. %

Достоверность	Показатели изменения биоактивности ТС								
	$\varepsilon_{V,40}$	$\varepsilon_{V,80}$	$\varepsilon_{V,120}$	$\varepsilon_{pH,120}$	$\varepsilon_{CuZn,120}$	$\varepsilon_{Fe,120}$	ε_{pH}^*	ε_{CuZn}^*	ε_V^*
р, %	80	85	90	80	80	70	85	85	95

При этом следует отметить что, во-первых, как и следовало ожидать, с уменьшением концентраций исследуемых ЭфМ в тестовой среде уменьшалась и их антимикробная активность. Так, например, значения ε_V^* у ЭфМ из семян кардамона зеленого (*Elettaria cardamotum*) и побегов можжевельника обыкновенного (*Juniperus communis*) составили: -78 ± 11 и $-62 \pm 9\%$ (при $C_{TE} = 1$ об. %), -40 ± 6 и $-27 \pm 4\%$ (при $C_{TE} = 0.5$ об. %), -28 ± 5 и $-19 \pm 3\%$ (при $C_{TE} = 0.1$ об. %) соответственно (табл. 2, ЭфМ 2 и 9).

Во-вторых, биологическая активность исследуемых ЭфМ существенно уменьшалась также с увеличением времени их взаимодействия с тестовыми микроорганизмами (см. в табл. 2 значения величин $\varepsilon_{V,40}$, $\varepsilon_{V,80}$ и $\varepsilon_{V,120}$ для одних и тех же ЭфМ при одних и тех же C_{TE}), что объясняется, вероятно, как адаптацией тестовых микроорганизмов к присутствию ЭфМ, так и уменьшением с течением времени активности и общего количества БАВ, содержащихся в исследуемых ЭфМ, приходящих на один тестовый микроорганизм.⁵ Таким образом, краткосрочная оценка биологической активности тестируемых объектов (по соотношению значений $\varepsilon_{V,40}$) способствовала повышению не только экспрессности анализа, но и его чувствительности, тогда как долгосрочные значения аналогичных величин ($\varepsilon_{V,120}$) в большей степени коррелировали с результатами анализа биологической активности тех же тестируемых объектов с помощью "стандартной визуальной" методики их микробиологического тестирования (см. в табл. 3 достоверность р величин $\varepsilon_{V,40}$, $\varepsilon_{V,80}$ и $\varepsilon_{V,120}$). Исходя из чего, чтобы обеспечить высокие как чувствительность, так и достоверность микробиологического тестирования рассматриваемым в этой работе методом, мы для оценки биологической активности тестируемых объектов предложили использовать величину ε_V^* , учитывающую общую временную динамику изменения показаний трех разных потенциометрических датчиков, по раз-

ному оценивающих физико-химический состав тестовой среды (см. формулы (1)–(5) из раздела "Экспериментальная часть" и табл. 3).

В-третьих, все тестируемые в этой работе экстракты проявляли существенный антимикробный эффект (с $\varepsilon_V^* < -50\%$) при их концентрации в тестовой среде больше 1 об. % (см. табл. 2). В то время как такой, например, широко используемый синтетический антисептик широкого спектра действия, как хлоргексидин биглюконат (ХГБГ), при тестировании его по методике, аналогичной описанной выше в разделе "Экспериментальная часть", уже при концентрациях ХГБГ в тестовой среде, равных 0.0001 и 0.001 об. %, демонстрировал в отношении *L.acidophilus* значения ε_V^* , равные $-41 \pm 8\%$ и $-89 \pm 13\%$ (чего, впрочем, и следовало ожидать, поскольку ХГБГ не предназначен для внутреннего применения). Исходя из чего, можно заключить, что представленная в этой работе методика мультисенсорного потенциометрического микробиологического тестирования может быть использована для оценки биологической активности не только растительных экстрактов, но и многих других препаратов и материалов (в том числе искусственно синтезированных).

ВЫВОДЫ

Таким образом, мы убедились, что представленный в этой работе метод мультисенсорного потенциометрического микробиологического тестирования с последующей математической обработкой получаемых данных позволяет существенно более экспрессно, объективно и информативно, чем при использовании "стандартных визуальных" методов микробиологического тестирования, оценивать влияние на динамику жизненной активности выбранных микроорганизмов различных химических соединений (включая БАВ, экстрагируемые из различного растительного сырья).

Кроме того, представленная здесь методика по сравнению со стандартными методами микробиологического тестирования существенно менее материалоемка и трудоемка, а также предоставляет больше возможностей для автоматизации процесса анализа.

⁵ Причем последнее имело место потому, что общее количество клеток микроорганизмов во время инкубации содержащей их тестовой среды увеличивалось, тогда как активность и общее количество БАВ, содержащихся в исследуемых ЭфМ, в ходе инкубации содержащей их тестовой среды уменьшались.

Помимо этого, предложенный в этой работе метод мультисенсорного потенциометрического микробиологического тестирования даже по сравнению с последними из ранее разработанных нами инструментальных методов микробиологического тестирования, описанных в работах [54–56], позволил повысить экспрессность, чувствительность и достоверность анализа (2 ч на один анализ вместо от 3 до 6 ч ранее и 95% достоверность вместо от 80 до 90% ранее), а также упростить и удешевить анализ за счет возможности его осуществления с использованием всего одного измерительного блока иономера.

Все это делает представленную в этой работе методику более доступной для широкого применения в сравнении с ранее используемыми микробиологическими методами. Причем не только в плане тестирования биологической активности новой фармацевтической, пищевой и иной продукции, но и в плане мониторинга аналогичной продукции, уже допущенной к массовому применению, с целью выявления недоброкачественных, либо успевших испортиться ее образцов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Sutherland J., Miles M., Hedderley D., Li J., Devoy S., Sutton K., Lauren D. In vitro effects of food extracts on selected probiotic and pathogenic bacteria // *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2009. Vol. 60, no. 8. P. 717–727. DOI: 10.3109/09637480802165650
2. Das S., Anjeza C., Mandal S. Synergistic or additive antimicrobial activities of Indian spice and herbal extracts against pathogenic, probiotic, and food-spoiler microorganisms // *International Food Research Journal*. 2012. Vol. 19, no. 3. P. 1185–1191. URL: [http://www.ifrj.upm.edu.my/19%20\(03\)%202012/\(54\)%20IFRJ%2019%20\(03\)%202012%20Das%20India%20final.pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/19%20(03)%202012/(54)%20IFRJ%2019%20(03)%202012%20Das%20India%20final.pdf)
3. Al-Zubairi A., Al-Mamary M.A., Al-Ghasani E. The antibacterial, antifungal, and antioxidant activities of essential oil from different aromatic plants // *Global Advanced Research Journal of Medicine and Medical Sciences*. 2017. Vol. 6, no. 9. P. 224–233. URL: <https://garj.org/articles/4629437203102017>
4. Markosyan A.I., Baghdasaryan A.S., Ayvazyan A.S., Gabrielyan S.H., Danghyan M.Yu., Arsenyan F.H., Avakimyan J.A. Synthesis and antibacterial and antitumor properties of derivatives of 5,5-dimethyl-3-iso-propyl-2-thioxo-2,3,5,6-tetrahydrobenzo[h]quinazoline-4(1h)-one // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2023. Vol. 57, no. 9. P. 1367–1371. DOI: 10.1007/s11094-023-02999-7
5. Roshchina M.V., Gunar O.V., Sakhno N.G. Microbiological Monitoring in Analysis of Drug Quality // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2024. Vol. 57, no. 11. P. 1822–1826. DOI: 10.1007/s11094-024-03084-3
6. Shapoval O.G., Sheremeteyeva A.S., Dumova N.A., Mukhamadiev N.Q., Rabbimova G.T., Nazirbekov M.H. Antimicrobial activity of *Thymus serpyllum* L. and *Thymus marschallianus* Willd. essential oils against *Candida albicans* // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2023. Vol. 57, no. 9. P. 1449–1453. DOI: 10.1007/s11094-023-03009-6
7. Yamashkin S.A., Stepanenko I.S., Kiryutina A.I., Platova T.N. Chloroacetates of substituted 1H-indol-5-,6-,7-ylamines and their antimicrobial activity // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2024. Vol. 57, no. 10. P. 1546–1551. DOI: 10.1007/s11094-024-03047-8
8. Маслова В.Д., Колпакова С.Д., Куркин В.А. Сравнительное исследование антимикробной активности водных и водно-спиртовых извлечений и эфирного масла листьев мирта обыкновенного // *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2025. Т. 24, № 3. С. 210–221. DOI: 10.37903/vsgma.2025.3.27
9. Maataoui J., Kchikich A., Akoh R., Abdelfattah B., Mrabet A., Khaddor M. Gamma irradiation-induced modulation of the chemical profile, antimicrobial activity, and antioxidant potential of *Myrtus communis* // *Russian Journal of Plant Physiology*. 2025. Vol. 72, no. 6. P. 1–12. DOI: 10.1134/S102144372560494X
10. Климович А.А., Игнатовец О.С. Антимикробные свойства эфирного масла и водно-спиртовых извлечений из лекарственного растения пупавки благородной (*Chamaemelum nobile*) // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2025. Т. 28, № 6. С. 61–67. DOI: 10.29296/25877313-2025-06-08
11. Ибрагимов А.А., Мамажонов И.Р., Бобакулов Х.М., Эшбоев Ф., Азимова Ш.С. Компонентный состав и антимикробная активность фракции летучих веществ *Prunus cerasus* L. (*Rosaceae*), культивируемой в Узбекистане // *Химия растительного сырья*. 2025. № 1. С. 177–187. DOI: 10.14258/jcprm.20250114483
12. Giang T.V., Huyen T.T., Huyen L.T.T., Lan V.N. Effect of zinc and copper on the growth characteristics, yield, essential oil composition, and antimicrobial properties of thai basil (*Ocimum basilicum* var. *thyrsiflora*) cultivated in Vietnam // *Proceedings on applied botany, genetics and breeding*. 2025. Vol. 186, no. 1. P. 17–26. DOI: 10.30901/2227-8834-2025-1-17-26
13. Nguyen H.V., Chen Sh., Huynh An.N.T., Tran T.H.N., Vo N.L.H., Le T.T., Nguyen H.Q., Van T.H., Nguyen An.N., Nguyen H.T.D., Pham V.T. Chemical composition and antimicrobial activities of *Boesenbergia xiphostachya* // *Research Results in Biomedicine*. 2025. Vol. 11, no. 4. P. 643–653. DOI: 10.18413/2658-6533-2025-11-4-0-4
14. Sibirtsev V.S., Glibin E.N., Ivanov S.D. Variation of spectral properties of actinocin derivatives due to equilibrium transformations // *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2000. Vol. 36, no. 12. P. 1812–1818. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=13347603>
15. Sibirtsev V.S., Tolmachev A.Yu., Kovaleva M.V., Garabadzhiu A.V., Traven V.F. Spectral study of interactions of 4,8,4'-trimethylpsoralen and 4,4'-dimethylangelicin dyes with DNA // *Biochemistry (Moscow)*. 2005. Vol. 70, no. 7. P. 822–832. DOI: 10.1007/s10541-005-0190-4
16. Sibirtsev V.S., Naumov I.A., Kuprina E.E., Olekhovich R.O. Use of impedance biotesting to assess the actions of pharmaceutical compounds on the growth of

- microorganisms // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2016. Vol. 50, no. 7. P. 481–485. DOI: 10.1007/s11094-016-1473-3
17. *Sibirtsev V.S.* Biological test methods based on fluorometric genome analysis // *Journal of Optical Technology*. 2017. Vol. 84, no. 11. P. 787–791. DOI: 10.1364/JOT.84.000787
 18. *Sibirtsev V.S., Olekhovich R.O., Samuylova E.O.* Assessment of integral toxicity of water resources by instrumental methods of analysis // *SGEM Conference Proceedings*. 2017. Vol. 17, no. 61. P. 507–514. URL: <https://www.sgem.org/index.php/elibrary-research-areas?view=publication&task=show&id=4415>
 19. *Kokina M.S., Frioui M., Shamtsyan M., Krasnikova L.V., Konusova V.G., Simbirtsev A.S.* Influence of pleurotus ostreatus beta-glucans on the growth and activity of certain lactic acid bacteria // *Scientific Study and Research: Chemistry and Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*. 2018. Vol. 19, no. 4. P. 465–471. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=38656457>
 20. *Sibirtsev V.S., Uspenskaya M.V., Garabadgiu A.V., Shvets V.I.* An integrated method of instrumental microbiotesting of environmental safety of various products, wastes, and territories // *Doklady Biological Sciences*. 2019. Vol. 485, no. 6. P. 59–61. DOI: 10.1134/S001249661902011X
 21. *Anan'eva E.P., Bogdanova O.Yu., Gurina S.V.* Using a conductometric method in microbiological control of natural excipients // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2022. Vol. 56, no. 6. P. 872–876. DOI: 10.1007/s11094-022-02721-z
 22. *Anan'eva E.P., Bogdanova O.Yu., Gurina S.V.* Application of impedance technology to the determination of microbial contamination of medicinal plant raw materials // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2023. Vol. 57, no. 6. P. 913–917. DOI: 10.1007/s11094-023-02967-1
 23. *Fedotova V.V., Konovalov D.A.* Research and development of solidago caucasica herbal dry extract // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2018. Vol. 52, no. 3. P. 216–219. DOI: 10.1007/s11094-018-1794-5
 24. *Kornopol'tseva T.V., Botoeva E.A., Aseeva T.A., Zhashinamzhilov Zh.B.* New herbal preparation pancfit and its antiinflammatory efficacy // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2018. Vol. 52, no. 6. P. 536–538. DOI: 10.1007/s11094-018-1855-9
 25. *Rodino S., Butu M.* 3 - Herbal Extracts — New Trends in Functional and Medicinal Beverages // *Functional and Medicinal Beverages*. Academic Press, 2019. Vol. 11: The Science of Beverages. P. 73–108. DOI: 10.1016/B978-0-12-816397-9.00003-0
 26. *Burt S.* Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review // *International Journal of Food Microbiology*. 2004. Vol. 94, no. 3. P. 223–253. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022
 27. *Bakkali F., Aeverbeck S., Aeverbeck D., Idaomar M.* Biological effects of essential oils – a review // *Food and Chemical Toxicology*. 2008. Vol. 46, no. 2. P. 446–475. DOI: 10.1016/j.ftc.2007.09.106
 28. *Donsi F., Ferrari G.* Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food // *Journal of Biotechnology*. 2016. Vol. 233. P. 106–120. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2016.07.005
 29. *Atarés L., Chiralt A.* Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging // *Trends in Food Science & Technology*. 2016. Vol. 48. P. 51–62. DOI: 10.1016/j.tifs.2015.12.001
 30. *Merghni A., Marzouki H., Hentati H., Aouni M., Mastouri M.* Antibacterial and antibiofilm activities of *Laurus nobilis* L. essential oil against *Staphylococcus aureus* strains associated with oral infections // *Current Research in Translational Medicine*. 2016. Vol. 64, no. 1. P. 29–34. DOI: 10.1016/j.patbio.2015.10.003
 31. *Pavela R., Benelli G.* Essential Oils as Ecofriendly Biopesticides? Challenges and Constraints // *Trends in Plant Science*. 2016. Vol. 21, no. 12. P. 1000–1007. DOI: 10.1016/j.tplants.2016.10.005
 32. *Yuan G., Chen X., Li D.* Chitosan films and coatings containing essential oils: The antioxidant and antimicrobial activity, and application in food systems // *Food Research International*. 2016. Vol. 89. P. 117–128. DOI: 10.1016/j.foodres.2016.10.004
 33. *Fani M., Kohanteb J.* In vitro antimicrobial activity of thymus vulgaris essential oil against major oral pathogens // *Journal of evidence-based complementary & alternative medicine*. 2017. Vol. 22, no. 4. P. 660–666. DOI: 10.1177/2156587217700772
 34. *Ribeiro-Santos R., Andrade M., Melo N.R., Sanches-Silva A.* Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends // *Trends in Food Science & Technology*. 2017. Vol. 61. P. 132–140. DOI: 10.1016/j.tifs.2016.11.021
 35. *Ju J., Xie Y., Guo Y., Cheng Y., Qian H., Yao W.* Application of edible coating with essential oil in food preservation // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2019. Vol. 59, no. 15. P. 2467–2480. DOI: 10.1080/10408398.2018.1456402
 36. *Abers M., Schroeder S., Goelz L., Sulser A., St. Rose T., Puchalski K., Langland J.* Oral magnesium supplementation for insomnia in older adults: a systematic review and meta-analysis // *BMC Complementary Medicine and Therapies*. 2021. Vol. 21. Id. 125. DOI: 10.1186/s12906-021-03297-z
 37. *Khodaei N., Nguyen M.M., Mdimagh A., Bayen S., Karboune S.* Compositional diversity and antioxidant properties of essential oils: Predictive models // *LWT*. 2021. Vol. 138. Id. 110684. DOI: 10.1016/j.lwt.2020.110684
 38. *Bolouri P., Salami R., Kouhi S., Kordi M., et al.* Applications of essential oils and plant extracts in different industries // *Molecules*. 2022. Vol. 27, no. 24. Id. 8999. DOI: 10.3390/molecules27248999
 39. *Ботиров Э.Х., Усманова Н.К., Нарбутаева Д.А., Абдурахманов Б.А.* Химический состав и биологическая активность метаболитов *Melilotus officinalis* // *Химия растительного сырья*. 2025. № 3. С. 23–42. DOI: 10.14258/jcprm.20250315700
 40. *Tabar F.M., Fathi S., Shameh S., Alirezalu A.* Phytochemicals and antioxidant activity of *Mentha longifolia* ecotypes // *Russian Journal of Plant Physiology*. 2025. Vol. 72, no. 3. P. 1–15. DOI: 10.1134/S1021443724610553

41. Попков Н.С., Замыслова В.Д., Повыдыш М.Н. Дурнишник обыкновенный (*Xanthium strumarium* L.): химические компоненты и биологическая активность (обзор) // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2025. Т. 14, № 3. С. 60–70. DOI: 10.33380/2305-2066-2025-14-3-2024
42. Matbo A., Ghanbari M.M., Sekhavatizadeh S.S., Nikkah M. Stabilizing fish oil during storage with *Satureja bachtiarica bunge* // Foods and Raw Materials. 2025. Vol. 13, no. 2. P. 254–263. DOI: 10.21603/2308-4057-2025-2-645
43. Atsatan K., Diler A. Survival, Growth, and antioxidant response in vaccinated *Oncorhynchus mykiss* fed *Hypericum* // Biology Bulletin. 2025. Vol. 52, no. 6. Id. 240. P. 1–11. <https://doi.org/10.1134/S106235902560970X>
44. Сибирцев В.С., Гарабаджиу А.В., Иванов С.Д. Механизмы изменения флуоресцентных свойств бисбензи-мидазольных красителей // Биоорганическая химия. 1995. Т. 21, № 9. С. 731–736. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=18915687>
45. Сибирцев В.С., Гарабаджиу А.В. Спектральное исследование взаимодействия с ДНК бензтиазолил-бенз- α -хромена // Биохимия. 2007. Т. 72, № 8. С. 901–909. DOI: 10.1134/S0006297907080123
46. Сибирцев В.С., Кулаков А.Ю., Строев С.А. Кондуктометрическое биотестирование в применении к оценке про- и антибактериальных свойств католиков и анолитов // Научно-технический вестник информационных технологий, механики и оптики. 2016. Т. 16, № 3. С. 573–576. DOI: 10.17586/2226-1494-2016-16-3-573-576
47. Sibirtsev V.S. Investigation of mechanisms of change in spectral properties during interaction of benzazole, indole, and phenanthridium compounds with DNA // Journal of Optical Technology. 2017. Vol. 84, no. 5. P. 294–301. DOI: 10.1364/JOT.84.000294
48. Sibirtsev V.S., Garabadiu A.V., Shvets V.I. New technique for integrated photofluorescence micro-biotesting // Doklady Biological Sciences. 2019. Vol. 489, no. 6. P. 196–199. DOI: 10.1134/S0012496619060103
49. Сибирцев В.С., Строев С.А. Оптико-электрохимическая микробиотестовая система оценки токсической безопасности нефтепродуктов // Научно-технический вестник информационных технологий, механики и оптики. 2019. Т. 19, № 1. С. 74–81. DOI: 10.17586/2226-1494-2019-19-1-74-81
50. Сибирцев В.С., Маслова А.Ю. Комплексное исследование динамики жизнедеятельности *E.coli* в присутствии ионов переходных металлов // Научно-технический вестник информационных технологий, механики и оптики. 2019. Т. 19, № 2. С. 236–241. DOI: 10.17586/2226-1494-2019-19-2-236-241
51. Sibirtsev V.S., Nechiporenko U.Yu. Method of electrochemical biotesting for comparative analysis of probiotic and antibiotic properties of various plant extracts // Fine Chemical Technologies (Tonkie Khimicheskie Tekhnologii). 2020. Vol. 15, no. 6. P. 34–43. DOI: 10.32362/2410-6593-2020-15-6-34-43
52. Сибирцев В.С., Нечипоренко У.Ю., Кабанов В.Л., Кукин М.Ю. Методика оптико-электрохимического микробиологического тестирования в применении к сравнительному анализу свойств эфирных масел // Техника и Технология Пищевых Производств. 2020. Т. 50, № 4. С. 650–659. DOI: 10.21603/2074-9414-2020-4-650-659
53. Сибирцев В.С., Нечипоренко У.Ю., Кабанов В.Л., Кукин М.Ю., Маслова А.Ю., Радин М.А. Оценка влияния растительных экстрактов на активность золотистого стафилококка методом электрохимического биотестирования. // Научно-Технический Вестник Информационных Технологий, Механики и Оптики. 2020. Т. 20, № 6. С. 791–801. DOI: 10.17586/2226-1494-2020-20-6-791-801
54. Сибирцев В.С., Нечипоренко У.Ю., Маслова А.Ю. Методика комплексного электрохимического биотестирования в применении к оценке про- и антибиотических свойств различных растительных экстрактов. // Химико-Фармацевтический журнал. 2021. Т. 55, № 4. С. 49–55. DOI: 10.30906/0023-1134-2021-55-4-49-55
55. Сибирцев В.С., Нечипоренко У.Ю., Кабанов В.Л., Кукин М.Ю., Радин М.А. Методика электрохимического микробиологического тестирования в применении к сравнительному анализу свойств различных растительных экстрактов // Журнал Сибирского Федерального Университета. Серия: Биология. 2023. Т. 16, № 1. С. 109–124. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=50440390>
56. Sibirtsev V.S., Nechiporenko U.Yu. An Optical-Electrochemical Microbiological Test Method Applied to Assessment of the Properties of Various Essential Oils // Pharmaceutical Chemistry Journal. 2024. Vol. 58, no. 7. P. 1170–1175. DOI: 10.1007/s11094-024-03256-1
57. Sibirtsev V.S. Analysis of benzo[a]pyrene deactivation mechanisms at rats // Biochemistry (Moscow). 2006. Vol. 71, no. 1. P. 90–98. DOI: 10.1134/s0006297906010147
58. Korn G., Korn T. Mathematical Handbook for Scientists and Engineers. Definitions, Theorems and Formulas for Reference and Review. McGraw-Hill Book Company, 1968. 1160 p.
59. Johnson K., Jeffi V. Numerical Methods in Chemistry. Cambridge University Press, 1980. 503 p.
60. Сибирцев В.С., Кузьмин А.Г., Титов Ю.А., Зайцева А.Ю., Шерстнев В.В. Газовый масс-спектрометрический анализ промышленных йогуртов с различными добавками // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54, № 2. С. 285–297. DOI: 10.21603/2074-9414-2024-2-2507

Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, Санкт-Петербург
(Сибирцев В.С., Уткина Ю.И., Шерстнёв В.В.)

Контакты: Сибирцев Владимир Станиславович,
vs1969r@mail.ru

Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург (Зайцева А.Ю., Глебов С.Н., Романова В.В.)

Материал поступил в редакцию 06.03.2026

METHOD OF COMPARATIVE POTENTIOMETRIC MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF THE PROPERTIES OF VARIOUS ESSENTIAL OILS

V. S. Sibirtsev^{1,2}, Yu. I. Utkina¹, V. V. Sherstnev¹,
A. Yu. Zaitseva², S. N. Glebov², V.V. Romanova²

¹*Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia*

²*Institute for Analytical Instrumentation of RAS, Saint Petersburg, Russia*

The paper describes a novel method of potentiometric microbiological testing, which involves periodic (in this case, every 40 minutes) recording of changes in pH, as well as potential differences between the silver chloride reference electrode and the indicator iron and brass "first-kind" electrodes (for which we have developed two fundamentally new potentiometric sensors), characteristic of the liquid nutrient medium incubated in the presence and absence of the test samples and viable test microorganisms (TM, as which in this work we used lactic acid bacteria, which are typical representatives of human and natural microflora) followed by mathematical processing of the obtained data. Using this method, we conducted a comparative analysis of the biological activity of industrially produced carbon dioxide extracts, depending on both the type of plant material from which these extracts were obtained and concentrations of these extracts, as well as the time of their exposure to TM (for which, among other things, we introduced a new parameter that takes into account the dynamics of changes in the biological activity of the tested samples during their interaction with TM). This study confirmed the higher expressivity, information content and cost-effectiveness of the method presented in this work in comparison with both classical "visual" and previously used instrumental microbiological methods, applied both in quality control of existing and in the development of new pharmaceutical and other products, as well as ingredients and additives to it.

Keywords: potentiometric biotesting, microbiological testing, quality control, essential oils, biological activity

REFERENCES

1. Sutherland J., Miles M., Hedderley D., Li J., Devoy S., Sutton K., Lauren D. In vitro effects of food extracts on selected probiotic and pathogenic bacteria. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2009, vol. 60, no. 8, pp. 717–727. DOI: 10.3109/09637480802165650
2. Das S., Anjeza C., Mandal S. Synergistic or additive antimicrobial activities of Indian spice and herbal extracts against pathogenic, probiotic, and food-spoiler microorganisms. *International Food Research Journal*, 2012, vol. 19, no. 3, pp. 1185–1191. URL: [http://www.ifrj.upm.edu.my/19%20\(03\)%202012/\(54\)%20IFRJ%2019%20\(03\)%202012%20Das%20India%20final.pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/19%20(03)%202012/(54)%20IFRJ%2019%20(03)%202012%20Das%20India%20final.pdf)
3. Al-Zubairi A., Al-Mamary M.A., Al-Ghasani E. The antibacterial, antifungal, and antioxidant activities of essential oil from different aromatic plants. *Global Advanced Research Journal of Medicine and Medical Sciences*, 2017, vol. 6, no. 9, pp. 224–233. URL: <https://garj.org/articles/4629437203102017>
4. Markosyan A.I., Baghdasaryan A.S., Ayvazyan A.S., Gabrielyan S.H., Danghyan M.Yu., Arsenyan F.H., Avakimyan J.A. Synthesis and antibacterial and antitumor properties of derivatives of 5,5-dimethyl-3-iso-propyl-2-thioxo-2,3,5,6-tetrahydrobenzo[h]quinazoline-4(1h)-one. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2023, vol. 57, no. 9, pp. 1367–1371. DOI: 10.1007/s11094-023-02999-7

5. Roshchina M.V., Gunar O.V., Sakhno N.G. Microbiological Monitoring in Analysis of Drug Quality. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2024, vol. 57, no. 11, pp. 1822–1826. DOI: 10.1007/s11094-024-03084-3
6. Shapoval O.G., Sheremetyeva A.S., Dumova N.A., Mukhamadiev N.Q., Rabbimova G.T., Nazirbekov M.H. Antimicrobial activity of *Thymus serpyllum* L. and *Thymus marschallianus* Willd. essential oils against *Candida albicans*. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2023, vol. 57, no. 9, pp. 1449–1453. DOI: 10.1007/s11094-023-03009-6
7. Yamashkin S.A., Stepanenko I.S., Kiryutina A.I., Platova T.N. Chloroacetates of substituted 1*H*-indol-5-, 6-, 7-ylamines and their antimicrobial activity. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2024, vol. 57, no. 10, pp. 1546–1551. DOI: 10.1007/s11094-024-03047-8
8. Maslova V.D., Kolpakova S.D., Kurkin V.A., Mubinov A.R., Kondratenko O.V., Bakova N.N., Bakova E.Y. [Comparative research of *Myrtus communis* L. Leaves aqueous and aqueous-alcoholic extracts and essential oil antimicrobial activity]. *Vestnik Smolenskoï gosudarstvennoï meditsinskoi akademii* [Vestnik of the Smolensk state Medical Academy], 2025, vol. 24, no. 3, pp. 210–221. DOI: 10.37903/vsgma.2025.3.27
9. Maataoui J., Kchikich A., Akoh R., Abdelfattah B., Mrabet A., Khaddor M. Gamma irradiation-induced modulation of the chemical profile, antimicrobial activity, and antioxidant potential of *Myrtus communis*. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2025, vol. 72, no. 6, Id 229. DOI: 10.1134/S102144372560494X
10. Klimovich A.A., Ignatovets O.S. [Antimicrobial properties of essential oil and water-ethanolic extracts from the medicinal plant of *anthemis nobilis* (Chamaemelum nobile)]. *Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii* [Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry], 2025, vol. 28, no. 6, pp. 61–67. DOI: 10.29296/25877313-2025-06-08 (In Russ.).
11. Ibragimov A.A., Mamajonova I.R., Bobakulov K.M., Eshboev F., Azimova S.S. [Component composition and antimicrobial activity of the volatile substance fraction of *Prunus cerasus* L. (Rosaceae), cultivated in Uzbekistan]. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya* [Chemistry of plant raw material], 2025, no. 1, pp. 177–187. DOI: 10.14258/jcpm.20250114483 (In Russ.).
12. Giang T.V., Huyen T.T., Huyen L.T.T., Lan V.N. [Effect of zinc and copper on the growth characteristics, yield, essential oil composition, and antimicrobial properties of thai basil (*Ocimum basilicum* var. *thyrsoflora*) cultivated in Vietnam]. *Trudy po prikladnoi botanike, genetike i selektsii* [Proceedings on applied botany, genetics and breeding], 2025, vol. 186, no. 1, pp. 17–26. DOI: 10.30901/2227-8834-2025-1-17-26
13. Nguyen H.V., Chen Sh., Huynh An.N.T., Tran T.H.N., Vo N.L.H., Le T.T., Nguyen H.Q., Van T.H., Nguyen An.N., Nguyen H.T.D., Pham V.T. Chemical composition and antimicrobial activities of *Boesenbergia xiphostachya*. *Research Results in Biomedicine*, 2025, vol. 11, no. 4, pp. 643–653. DOI: 10.18413/2658-6533-2025-11-4-0-4
14. Sibirtsev V.S., Glibin E.N., Ivanov S.D. Variation of spectral properties of actinocin derivatives due to equilibrium transformations. *Russian Journal of Organic Chemistry*, 2000, vol. 36, no. 12, pp. 1812–1818. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=13347603>
15. Sibirtsev V.S., Tolmachev A.Yu., Kovaleva M.V., Garabadzhiu A.V., Traven V.F. Spectral study of interactions of 4,8,4'-trimethylpsoralen and 4,4'-dimethylangelicin dyes with DNA. *Biochemistry (Moscow)*, 2005, vol. 70, no. 7, pp. 822–832. DOI: 10.1007/s10541-005-0190-4
16. Sibirtsev V.S., Naumov I.A., Kuprina E.E., Olekhnovich R.O. Use of impedance biotesting to assess the actions of pharmaceutical compounds on the growth of microorganisms. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2016, vol. 50, no. 7, pp. 481–485. DOI: 10.1007/s11094-016-1473-3
17. Sibirtsev V.S. Biological test methods based on fluorometric genome analysis. *Journal of Optical Technology*, 2017, vol. 84, no. 11, pp. 787–791. DOI: 10.1364/JOT.84.000787
18. Sibirtsev V.S., Olekhnovich R.O., Samuylova E.O. Assessment of integral toxicity of water resources by instrumental methods of analysis. *SGEM Conference Proceedings*, 2017, vol. 17, no. 61, pp. 507–514. URL: <https://www.sgem.org/index.php/elibrary-research-areas?view=publication&task=show&id=4415>
19. Kokina M.S., Frioui M., Shamtsyan M., Krasnikova L.V., Konusova V.G., Simbirtsev A.S. Influence of pleurotus ostreatus beta-glucans on the growth and activity of certain lactic acid bacteria. *Scientific Study and Research: Chemistry and Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*, 2018, vol. 19, no. 4, pp. 465–471. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=38656457>
20. Sibirtsev V.S., Uspenskaya M.V., Garabadgiu A.V., Shvets V.I. An integrated method of instrumental microbiotesting of environmental safety of various products, wastes, and territories. *Doklady Biological Sciences*, 2019, vol. 485, no. 6, pp. 59–61. DOI: 10.1134/S001249661902011X
21. Anan'eva E.P., Bogdanova O.Yu., Gurina S.V. Using a conductometric method in microbiological control of natural excipients. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2022, vol. 56, no. 6, pp. 872–876. DOI: 10.1007/s11094-022-02721-z
22. Anan'eva E.P., Bogdanova O.Yu., Gurina S.V. Application of impedance technology to the determination of microbial contamination of medicinal plant raw materials. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2023, vol. 57, no. 6, pp. 913–917. DOI: 10.1007/s11094-023-02967-1
23. Fedotova V.V., Kononov D.A. Research and development of solidago caucasica herbal dry extract. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2018, vol. 52, no. 3, pp. 216–219. DOI: 10.1007/s11094-018-1794-5
24. Kornopol'tseva T.V., Botoeva E.A., Aseeva T.A., Zhashinamzhilov Zh.B. New herbal preparation pancafit and its antiinflammatory efficacy. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2018, vol. 52, no. 6, pp. 536–538. DOI: 10.1007/s11094-018-1855-9
25. Rodino S., Butu M. 3 - Herbal Extracts — New Trends in Functional and Medicinal Beverages. *Functional and Medicinal Beverages*, Academic Press, 2019, vol. 11: The Science of Beverages, pp. 73–108. DOI: 10.1016/B978-0-12-816397-9.00003-0

26. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food Microbiology*, 2004, vol. 94, no. 3, pp. 223–253. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022
27. Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. Biological effects of essential oils – a review. *Food and Chemical Toxicology*, 2008, vol. 46, no. 2, pp. 446–475. DOI: 10.1016/j.fct.2007.09.106
28. Donsi F., Ferrari G. Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food. *Journal of Biotechnology*, 2016, vol. 233, pp. 106–120. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2016.07.005
29. Atarés L., Chiralt A. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 2016, vol. 48, pp. 51–62. DOI: 10.1016/j.tifs.2015.12.001
30. Merghni A., Marzouki H., Hentati H., Aouni M., Mastouri M. Antibacterial and antibiofilm activities of *Laurus nobilis* L. essential oil against *Staphylococcus aureus* strains associated with oral infections. *Current Research in Translational Medicine*, 2016, vol. 64, no. 1, pp. 29–34. DOI: 10.1016/j.patbio.2015.10.003
31. Pavela R., Benelli G. Essential Oils as Ecofriendly Biopesticides? Challenges and Constraints. *Trends in Plant Science*, 2016, vol. 21, no. 12, pp. 1000–1007. DOI: 10.1016/j.tplants.2016.10.005
32. Yuan G., Chen X., Li D. Chitosan films and coatings containing essential oils: The antioxidant and antimicrobial activity, and application in food systems. *Food Research International*, 2016, vol. 89-1, pp. 117–128. DOI: 10.1016/j.foodres.2016.10.004
33. Fani M., Kohanteb J. In vitro antimicrobial activity of *Thymus vulgaris* essential oil against major oral pathogens. *Journal of evidence-based complementary & alternative medicine*, 2017, vol. 22, no. 4, pp. 660–666. DOI: 10.1177/2156587217700772
34. Ribeiro-Santos R., Andrade M., Melo N.R., Sanches-Silva A. Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends. *Trends in Food Science & Technology*, 2017, vol. 61, pp. 132–140. DOI: 10.1016/j.tifs.2016.11.021
35. Ju J., Xie Y., Guo Y., Cheng Y., Qian H., Yao W. Application of edible coating with essential oil in food preservation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2019, vol. 59, no. 15, pp. 2467–2480. DOI: 10.1080/10408398.2018.1456402
36. Mah J., Pitre T. Oral magnesium supplementation for insomnia in older adults: a systematic review and meta-analysis. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 2021, vol. 21, Id. 125. DOI: 10.1186/s12906-021-03297-z
37. Khodaei N., Nguyen M.M., Mdimagh A., Bayen S., Karboune S. Compositional diversity and antioxidant properties of essential oils: Predictive models. *LWT*, 2021, vol. 138, Id. 110684. DOI: 10.1016/j.lwt.2020.110684
38. Bolouri P., Salami R., Kouhi S., Kordi M. et al. Applications of essential oils and plant extracts in different industries. *Molecules*, 2022, vol. 27, no. 24, Id. 8999. DOI: 10.3390/molecules27248999
39. Botirov E.K., Usmanova N.K., Narbutaeva D.A., Abdurakhmanov B.A. [Chemical composition and biological activity of metabolites of *Melilotus officinalis*]. *Khimija Rastitel'nogo syrja* [Chemistry of plant raw material], 2025, no. 3, pp. 23–42. DOI: 10.14258/jcprm.20250315700 (In Russ.).
40. Tabar F.M., Fathi S., Shameh S., Alirezalu A. Phytochemicals and antioxidant activity of *Mentha longifolia* ecotypes. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2025, vol. 72, no. 3, Id 80. DOI: 10.1134/S1021443724610553
41. Popkov N.S., Zamyslova V.D., Povydysh M.N. [*Xanthium strumarium* L.: chemical components and biological activity (review)]. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv* [Drug development & registration], 2025, vol. 14, no. 3, pp. 60–70. (In Russ.). DOI: 10.33380/2305-2066-2025-14-3-2024
42. Matbo A., Ghanbari M.M., Sekhavatizadeh S.S., Nikkah M. Stabilizing fish oil during storage with *Satureja bachtarica bunge*. *Foods and Raw Materials*, 2025, vol. 13, no. 2, pp. 254–263. DOI: 10.21603/2308-4057-2025-2-645
43. Atsatan K., Diler A. Survival, Growth, and antioxidant response in vaccinated *Oncorhynchus mykiss* fed *Hypericum*. *Biology Bulletin*, 2025, vol. 52, no. 6, Id. 240. DOI: 10.1134/S106235902560970X
44. Sibirtsev V.S., Garabadzhiu A.V., Ivanov S.D. [Mechanisms of changes in the fluorescent properties of bisbenzimidazole dyes]. *Bioorganicheskaya khimiya* [Russian Journal of Bioorganic Chemistry], 1995, vol. 21, no. 9, pp. 731–736. (In Russ.). URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=18915687>
45. Sibirtsev V.S., Garabadzhiu A.V. Spectral study of the interaction of DNA with benzothiazolyl-benz- α -chromene. *Biochemistry (Moscow)*, 2007, vol. 72, no. 8, pp. 901–909. DOI: 10.1134/S0006297907080123 (In Russ.).
46. Sibirtsev V.S., Kulakov A.Y., Stroev S.A. [Conductometry biotesting as applied to valuation of the pro- and antibacterial properties of catolites and anolites]. *Nauchno-tekhnicheskii vestnik informatsionnykh tekhnologii, mekhaniki i optiki* [Scientific and Technical Journal of Information Technologies, Mechanics and Optics], 2016, vol. 16, no. 3, pp. 573–576. DOI: 10.17586/2226-1494-2016-16-3-573-576 (In Russ.).
47. Sibirtsev V.S. Investigation of mechanisms of change in spectral properties during interaction of benzazole, indole, and phenanthridium compounds with DNA. *Journal of Optical Technology*, 2017, vol. 84, no. 5, pp. 294–301. DOI: 10.1364/JOT.84.000294
48. Sibirtsev V.S., Garabadgiu A.V., Shvets V.I. New Method of Integrated Photofluorescence Microbiotesting. *Doklady Biological Sciences*, 2020, vol. 489, no. 6, pp. 196–199. DOI: 10.1134/S0012496619060103
49. Sibirtsev V.S., Stroev S.A. [New optical-electrochemical microbiotesting system for valuation of oil products toxicosafety]. *Nauchno-tekhnicheskii vestnik informatsionnykh tekhnologii, mekhaniki i optiki* [Scientific and Technical Journal of Information Technologies, Mechanics and Optics], 2019, vol. 19, no. 1, pp. 74–81. (In Russ.). DOI: 10.17586/2226-1494-2019-19-1-74-81
50. Sibirtsev V.S., Maslova A.Y. [Complex research of *E.coli* vital activity dynamics in presence of transition

- metal ions]. *Nauchno-tekhnicheskii vestnik informatsionnykh tekhnologii, mekhaniki i optiki* [Scientific and Technical Journal of Information Technologies, Mechanics and Optics], 2019, vol. 19, no. 2, pp. 236–241. (In Russ.). DOI: 10.17586/2226-1494-2019-19-2-236-241
51. Sibirtsev V.S., Nechiporenko U.Yu. Method of electrochemical biotesting for comparative analysis of probiotic and antibiotic properties of various plant extracts. *Fine Chemical Technologies (Tonkie Khimicheskie Tekhnologii)*, 2020, vol. 15, no. 6, pp. 34–43. DOI: 10.32362/2410-6593-2020-15-6-34-43
52. Sibirtsev V.S., Nechiporenko U.Yu., Kabanov V.L., Kuzkin M.Yu. [Electrochemical and Optical Microbiological Testing: a Comparative Study on Properties of Essential Oils]. *Tekhnika i Tekhnologiya Pishchevykh Proizvodstv* [Food Processing: Techniques and Technology], 2020, vol. 50, no. 4, pp. 650–659. DOI: 10.21603/2074-9414-2020-4-650-659 (In Russ.).
53. Sibirtsev V.S., Nechiporenko U.Y., Kabanov V.L., Kuzkin M.Y., Maslova A.Y., Radin M.A. [Effect of plant extracts on activity of staphylococcus aureus by electrochemical biotesting]. *Nauchno-tekhnicheskii vestnik informatsionnykh tekhnologii, mekhaniki i optiki* [Scientific and Technical Journal of Information Technologies, Mechanics and Optics], 2020, vol. 20, no. 6, pp. 791–801. (In Russ.). DOI: 10.17586/2226-1494-2020-20-6-791-801
54. Sibirtsev V.S., Nechiporenko U.Yu., Maslova A.Y. [Complex Electrochemical Biotesting of the Pro- and Antibiotic Properties of Various Plant Extracts]. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal* [Pharmaceutical Chemistry Journal], 2021, vol. 55, no. 4, pp. 49–55. (In Russ.). DOI: 10.30906/0023-1134-2021-55-4-49-55
55. Sibirtsev V.S., Nechiporenko U.Yu., Kabanov V.L., Kuzkin M.Yu., Radin M.A. [The procedure of electrochemical microbiological assay for comparative analysis of the properties of various plant extracts]. *Zhurnal Sibirskogo Federal'nogo Universiteta. Seriya: Biologiya* [Journal of Siberian Federal University. Biology], 2023, vol. 16, no. 1, pp. 109–124. (In Russ.). URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=50440390>
56. Sibirtsev V.S., Nechiporenko U.Yu. An Optical-Electrochemical Microbiological Test Method Applied to Assessment of the Properties of Various Essential Oils. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2024, vol. 58, no. 7, pp. 1170–1175. DOI: 10.1007/s11094-024-03256-1
57. Sibirtsev V.S. Analysis of benzo[a]pyrene deactivation mechanisms at rats. *Biochemistry (Moscow)*, 2006, vol. 71, no. 1, pp. 90–98. DOI: 10.1134/s0006297906010147
58. Korn G., Korn T. *Mathematical Handbook for Scientists and Engineers. Definitions, Theorems and Formulas for Reference and Review*. McGraw-Hill Book Company, 1968. 1160 p.
59. Johnson K., Jeffri V. *Numerical Methods in Chemistry*. Cambridge University Press, 1980. 503 p.
60. Sibirtsev V.S., Kuzmin A.G., Titov Yu.A., Zaitseva A.Yu., Sherstnev V.V. [Gas Mass Spectrometry of Industrial Yogurts]. *Tekhnika i Tekhnologiya Pishchevykh Proizvodstv* [Food Processing: Techniques and Technology], 2024, vol. 54, no. 2, pp. 285–297. (In Russ.). DOI: 10.21603/2074-9414-2024-2-2507

Contacts: *Sibirzev Vladimir Stanislavovich*,
vs1969r@mail.ru

Article received by the editorial office on 06.03.2026

INTRODUCTION

Recently, the problem of quality control of various pharmaceutical, food, and other products has become increasingly pressing. In this system, assessing the biological activity of such products plays a crucial role. Such assessment is most often carried out using multicellular or single-cell test organisms. They are used not only as a rapid, inexpensive, accessible, and statistically significant (due to the large number of test cells and their short lifespan) model of the human body (albeit far from fully adequate), but also as a model of beneficial human microbiota, as well as natural microflora capable of causing various diseases, contributing to product spoilage, etc. [1–5].

However, most microbiological testing methods currently accepted as standard involve only a visual assessment of the viability of test microorganisms (or the size of the growth inhibition zone of colonies of these microorganisms after 1–3 days of incubation at a given temperature on the surface of a dense agar test medium) and require significant expenditure of materials, as well as the time and labor of qualified personnel, resulting in only fairly subjective, "static," and variable information on lethal disruptions in the vital activity of test microorganisms (TM) [1–13]. Instrumental methods of microbiological testing (optical, electrochemical, etc.) allow for the acquisition of significantly more objective and detailed data on the biological activity of analyzed samples, as well as a reduction in testing time (to several hours instead of a day) [14–22].

In turn, among the objects of such testing, various plant extracts (PE) have recently attracted increasing interest. They are one of the most acceptable and widespread sources of biologically active substances (BAS) of natural origin, promoting the normal development and functioning of both the human body itself and the beneficial microbiota symbiotically associated with it, or the suppression of microflora harmful to humans, while having significantly lower side effects in intensity and breadth of the spectrum of impact on humans and other multicellular living organisms [2, 3, 8, 10, 13, 23, 24].

Among REs, essential oils (EOs) obtained from various plant materials using methods such as cold or hot pressing, distillation, extraction, etc. have recently found increasing use [25]. Steam distillation is currently the most common method for obtaining EOs. Cold pressing, while yielding the lowest amount of the final product, ensures the highest biological activity of the biologically active substances extracted from the source material (best preserving the primary and spatial structure of these compounds). Most EOs contain significantly higher quantities of biologically active substances than other types of plant extracts. As a result, many EOs possess pronounced prebiotic, an-

timicrobial, preservative, antioxidant, aromatic, flavoring, and other properties. This allows such essential oils to be used not only as additives having various functionalities, but also often as the main active ingredients in various pharmaceutical, food, and other products [3, 6, 8, 25–43].

RESEARCH OBJECTIVES

In light of the above, the aim of this study was to develop a new, rapid, and widely applicable instrumental method for assessing the biological activity of samples of various pharmaceutical, food, and other products. This method was also subsequently tested through a comparative analysis of the effect of essential oils, industrially obtained from different parts of various plants, on the vital activity dynamics of typical representatives of the human microbiota, depending on the concentration of these oils and the time of their exposure to TM.

EXPERIMENTAL SECTION

Materials

The subjects of this study were samples of EOs industrially produced by a major Russian manufacturer, Mirrolla LLC (Russia, <https://mirrolla.ru>) from the following types of plant materials used in the pharmaceutical, cosmetic, food, and other industries:

- 1) *bergenia crassifolia* roots (saxifrage, *Bergénia crassifolia*);
- 2) *Artemisia taurica* leaves and stems;
- 3) *Chelidonium majus* roots;
- 4) eucalyptus globulus leaves (*Eucalyptus globulus* Labill.);
- 5) wild pansy herb (*Viola tricolor*);
- 6) flaxseed herb (*Linum usitatissimum*);
- 7) three-part Bidens herb (*Bidens tripartita*);
- 8) milk thistle fruits (*Silybum marianum*);
- 9) burdock roots (*Arctium lappa*).

Standardization of the EOs under the given numbers was carried out by differential spectrophotometry (as described, in particular, in [23, 24]) based on the flavonoid content in these EOs, calculated as rutin (see Tab. 1).

Tab. 1. Content of flavonoids (in terms of rutin) in the studied essential oils (Eo), wt.%.

Note: The relative error in determining all values indicated in the table was in the range from 10 to 20%

To analyze the influence of tested EOs various concentrations on the dynamics of the TM vital activity, according to the results of the author's existing

developments in various methods of instrumental biotesting [14–18, 20, 44–56], the following methodology of multisensory potentiometric microbiological testing was developed.

Measurement methodology

Three series of measurements were performed for each batch of tested EOs. Before each series, a nutrient medium (NM) was prepared. This nutrient medium consisted of a sterile aqueous solution with a pH of 7.2 ± 0.2 , containing 20 g/L protein hydrolysate, 2 g/L NaCl, 10 g/L sucrose, 5 g/L glucose, and 1 g/L lecithin.¹

The NM was then inoculated with *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 (typical representatives of the human microbiota) and incubated without stirring at 40 °C until the viable microbial count reached 10^7 cells/mL (as assessed by a decrease in the pH of the medium and an increase in its light scattering).

The resulting test medium (TMed) was then diluted 5-fold with sterile NM, adjusted to a pH of 8.0 ± 0.1 (by adding the required amount of 2 M aqueous potassium hydroxide solution), and poured into measuring containers (MCs). Each of these (except for the three "reference" MCs) was pre-mixed with the required amount of one of the tested EOs—one per 3 MCs in parallel. Standard 15 ml glass cylindrical tubes were used as MCs.

All of the aforementioned MCs were then incubated without stirring at 40 ± 0.1 °C for another 2 hours. During this incubation, the pH of the TM contained in each MC was recorded at 40-minute intervals, as well as the potential difference between the silver chloride reference electrode and the indicator iron (E_{Fe} [mV]) and brass (E_{CuZn} [mV]) electrodes of the "first type".

The pH was recorded using an ESK-10601/7 combination electrode (Russia), connected to one of the 4 measuring channels of an Expert-001-4.0.4 ion meter (Russia). While E_{Fe} and E_{CuZn} were recorded using sensors specially made by the authors of this article. The sensors were similar to the combined redox electrode "ERP-105" (Russia), connected to two more measuring channels of the same ion meter, in which the platinized wire included in the indicator electrode was replaced by a wire made of steel 30 (containing

98.75% Fe, 0.5% Mn, 0.2% Cr, 0.25% Si and 0.3% C) or brass L63 (containing 65% Cu and 38% Zn) (see Fig.).

Fig. Layout of a sensor for measuring the potential difference between a silver chloride reference electrode and a type 1 indicator electrode.

1 — 2 M KCl aqueous solution; 2 — silver chloride reference electrode body; 3 — AgCl-coated silver wire; 4 — "electrolytic key"; 5 — immersed in the solution section of the steel or brass wire that constitutes the indicator electrode; 6 — outer insulating shell of the indicator electrode; 7, 8 — external terminals of the reference and indicator electrodes, connected via a standard connector to a millivoltmeter included in the ion meter or other measuring device

After this, the degree of activation (+) or inhibition (–) of the vital activity of TM by given concentrations of the tested EOs after k min of combined incubation of the studied TM and EO in a liquid TM — $\varepsilon_{V,k}$, [%] — was calculated using the formula:

$$\varepsilon_{V,k} = (0.86 \varepsilon_{pH,k} + \varepsilon_{CuZn,k} + 0.69 \varepsilon_{Fe,k}) / 2.55, \quad (1)$$

in which the values of $\varepsilon_{pH,k}$, $\varepsilon_{CuZn,k}$ and $\varepsilon_{Fe,k}$ were determined separately based on the results of measurements of pH, E_{CuZn} and E_{Fe} for the TMed contained in the incubated MC, using the formula:

$$\varepsilon_{i,k} = 100 (\Delta Y_{i,k} / \Delta Y_{c,i,k} - 1), \quad (2)$$

where the index i indicates the parameter according to which measurements were taken (pH, E_{CuZn} or E_{Fe}), and the values of $\Delta Y_{i,k}$ and $\Delta Y_{c,i,k}$ were determined as changes in the TM parameter values (pH, E_{CuZn} or E_{Fe}), averaged over a set of N samples with the same concentrations of the same EOs, which occurred within k minutes from the start of incubation, for samples in the "test" (ΔY_t) or "reference" (ΔY_c) MC.

In addition, according to the formulas:

$$\varepsilon_V^* = 0.47 \varepsilon_{V,40} + 0.35 \varepsilon_{V,80} + 0.18 \varepsilon_{V,120}, \quad (3)$$

$$\varepsilon_{pH}^* = 0.49 \varepsilon_{pH,40} + 0.36 \varepsilon_{pH,80} + 0.15 \varepsilon_{pH,120}, \quad (4)$$

$$\varepsilon_{CuZn}^* = 0.52 \varepsilon_{CuZn,40} + 0.28 \varepsilon_{CuZn,80} + 0.20 \varepsilon_{CuZn,120}. \quad (5)$$

the MC average incubation time-weighted degrees of activation (+) or inhibition (–) of *L. acidophilus* activity using given concentrations of the tested EfMs were determined, taking into account the dynamics of changes in the biological activity of the tested samples (TS) during their interaction with the TM.

In this case, the errors in determining each of the quantities $\varepsilon_{pH,k}$, $\varepsilon_{CuZn,k}$ and $\varepsilon_{Fe,k}$ were calculated in a standard manner (as described, in particular, in [57–59]) using the formulas

$$\Delta \varepsilon_{i,k} = t_{\alpha, N-1} \sigma_{i,k},$$

¹ Using pasteurized milk with 1.5% fat as an alternative to the aforementioned NM would simplify the medium preparation and increase the sensitivity of the assay. However, this would increase the variability of the NM and, consequently, the error in the assay results (despite normalization to the control). It would also require regular procurement of fresh pasteurized milk or storing it in large quantities frozen instead of as a dry powder at a lower storage temperature.

where $t_{\alpha, N-1}$ is the Student's t-test for a confidence level of $\alpha = 0.95$ and the number of degrees of freedom $N - 1$ (in our case, $N = 3 \times 3 = 9$),

$$\sigma_{i,k} = [\sum_j (\varepsilon_{i,k,j} - \theta_{i,k})^2 / (N - 1)]^{1/2}$$

$$\theta_{i,k} = \sum_j \varepsilon_{i,k,j} / N$$

the variance and mathematical expectation $\varepsilon_{i,k}$. The errors in ε_V determination were then calculated using the formula:

$$\Delta \varepsilon_{V,k} = (0.86 \Delta \varepsilon_{pH,k} + \Delta \varepsilon_{CuZn,k} + 0.69 \Delta \varepsilon_{Fe,k}) / 2.55.$$

We chose the pH, E_{CuZn} , and E_{Fe} parameters to assess the degree of activation or inhibition of TM activity by given EO concentrations because, firstly, the values of these parameters are relatively uncritical to both the transparency of the TMed² and the ionic strength of the TMed³. Secondly, pH, E_{CuZn} , and E_{Fe} can be measured quickly and easily using just one device. Thirdly, the values of E_{CuZn} and E_{Fe} characterize not only the redox potential of the TMed (measured by us, in particular, in [49–51, 53–55]), but also the presence of various types of ions in the TMed that are not directly involved in the redox interactions in the main liquid phase of the TMed.⁴ Thus, in particular, according to the results of our preliminary studies, the steel Fe electrode was sensitive to Al^{3+} , Fe^{3+} , Ni^{2+} , and Cu^{2+} ions, insensitive to Ca^{2+} and Mg^{2+} ions and insensitive to H^+ , NH_4^+ , Na^+ , K^+ and Zn^{2+} ions. The brass CuZn electrode was sensitive to NH_4^+ , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , and Cu^{2+} ions and insensitive to H^+ , Al^{3+} , Fe^{3+} , and Ni^{2+} ions. It should be noted that, although "classical" potentiometry strives to achieve the highest selectivity of the measuring electrode with respect to specific ion types, in bioassays, the analyst is primarily interested in changes in the overall chemical composition of the TMed (due to the activity of the TM there), rather than the content of any specific ion types in the TMed. Therefore, in bioassays, excessive sensor selectivity is a factor that negatively impacts the validity of analytical results.

The coefficients for $\varepsilon_{i,k}$, indicated in formulas (1)–(4), were calculated on the basis of the initial matrix of values of $\varepsilon_{i,k}$ using the principal component analysis, which allows us to reduce the data obtained for several "independent variables" (in our case $\varepsilon_{pH,k}$, $\varepsilon_{CuZn,k}$ and $\varepsilon_{Fe,k}$) to one variable (in our case ε_V) with a

loss of less than 10% of the initial information load, similar to how we did this earlier in [60].

In addition, to verify the multisensory dynamic potentiometric microbiological testing method developed by us and presented in this work, we determined the ε_S value for each of the tested EOs, similar to the ε_V values, using a standard technique [1–13]. This involves visually counting *L. acidophilus* colonies that grew after 24 h of incubation of TM at 37 ± 0.1 °C on a dense NM in the absence and presence of each of the tested EO, in turn. In this case, TMs were seeded on the NM for several successive dilutions of the TMed (each in several parallel Petri dishes). After incubation, those dilutions were selected that yielded at least 10 and no more than 50 TM colonies growing on a single Petri dish. The obtained data were then statistically processed as described, in particular, in [57]. Then, based on these data, the ε_S values were calculated using the formula:

$$\varepsilon_S = 100 (N_c \cdot \sum K t_i) / (N_t \cdot \sum K c_i) - 100, \quad (6)$$

where $K t_i$ and $K c_i$ are the numbers of TM colonies grown in the i -th "test" and reference Petri dishes, and N_t and N_c are the total numbers of the averaged "test" and "reference" Petri dishes.

RESULTS AND DISCUSSION

In our opinion, the most interesting data obtained using the method described above are presented in Tabs. 2 and 3. These tables demonstrate that the nature of biological activity can change significantly with changes in the concentration of essential minerals C_{TE} in the TMed.

Tab. 2. Determined by the "standard visual" (ε_S , %) and developed potentiometric (ε_V , %) methods of microbiological testing degrees of inhibition of the vital activity of *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4356) at different durations of their incubation in the presence of different amounts of EO,

Note: The methodology for determining the values of the parameters ε_S , ε_V^* , and $\varepsilon_{V,k}$ (where k is the test medium incubation time in minutes), and the correspondence of the EO numbers to the specific types of plant material used for their preparation, are given in the Experimental section. C_{TE} (vol.%) is the initial concentration of EO in the test medium with viable microorganisms. The relative error in determining the degree of inhibition for all values indicated in Tab. 2 ranged from 50 to 70% (for ε_S) or from 10 to 20% (for ε_V^*).

² In contrast to the intensity of elastic light scattering, as well as most other optical characteristics of the vehicle, measured by us, in particular, in the works [14, 15, 17, 44, 45, 47–52, 54, 56].

³ In contrast to the electrical conductivity measured by us for TMed, in particular, in works [16, 51–56].

⁴ Such as, for example, $Fe^{3+}_{ж} + e \rightarrow Fe^{2+}_{ж}$, in contrast to heterophase analogs of such interactions like $Fe^{3+}_{ж} + 3e \rightarrow Fe^0_{TB}$, where the indices "ж" and "TB" denote the liquid and solid phases, respectively.

Furthermore, extracts obtained from different parts of different plants had different biological activities. This is particularly evident in the comparison of the

antimicrobial activity of essential minerals obtained from anise seeds (*Pimpinella anisum*) and lime peel (*Citrus aurantiifolia*). At a concentration of 1 vol% in the TMed (C_{TE}), the ε_V^* values were -79 ± 11 and $-61 \pm 9\%$, respectively (Tab. 2, EOs 1 and 6).

Tab. 3. Reliability (p, %) of the correlation between the data obtained using the "standard visual" (ε_S) and the developed potentiometric methods for determining ε for all tested EO at $C_{TE} = 0.5$ vol.%

Moreover, among the studied EOs, the most active antimicrobial properties were shown by EOs obtained from clove tree flowers (*Syzygium aromaticum*), while the least active antimicrobial properties were shown by EOs obtained from the leaves of tarragon (*Artemisia dracunculus*), for which the ε_V^* values were -83 ± 13 and $-52 \pm 8\%$, respectively at $C_{TE} = 1$ vol.% (Tab. 2, EOs 3 and 7).

It should be noted that, firstly, as expected, with decreasing concentrations of the studied EOs in the test medium, their antimicrobial activity also decreased. For example, the ε_V^* values for EOs from green cardamom (*Elettaria cardamomum*) seeds and common juniper (*Juniperus communis*) shoots were: -78 ± 11 and $-62 \pm 9\%$ (at $C_{TE} = 1$ vol.%), -40 ± 6 and $-27 \pm 4\%$ (at $C_{TE} = 0.5$ vol.%), -28 ± 5 and $-19 \pm 3\%$ (at $C_{TE} = 0.1$ vol.%), respectively (Tab. 2, EOs 2 and 9).

Secondly, the biological activity of the studied EOs also significantly decreased with an increase in the time of their interaction with the test microorganisms (see Tab. 2 for the values of $\varepsilon_{V,40}$, $\varepsilon_{V,80}$, and $\varepsilon_{V,120}$ for the same EOs at the same C_{TE}), which is likely explained by both the adaptation of the test microorganisms to the presence of the EOs and a decrease in the activity and total amount of biologically active substances contained in the studied EOs per test microorganism over time.⁵ Thus, the short-term assessment of the biological activity of the test objects (based on the ratio of $\varepsilon_{V,40}$ values) contributed to an increase not only in the rapidity of the analysis but also in its sensitivity, whereas the long-term values of similar quantities ($\varepsilon_{V,120}\varepsilon$) correlated to a greater extent with the results of the analysis of the biological activity of the same test objects using the "standard visual" method of their microbiological testing (see Tab. 3 for the reliability of the p values of $\varepsilon_{V,40}$, $\varepsilon_{V,80}$ and $\varepsilon_{V,120}$). Therefore, to ensure both high sensitivity and reliability of microbiological testing using the method considered

in this study, we proposed utilizing the ε_V^* value to assess the biological activity of the test objects. This value takes into account the overall time dynamics of changes in the readings of three different potentiometric sensors, which evaluate the physicochemical composition of the test medium differently (see formulas (1)–(5) in the Experimental section and Tab. 3).

Thirdly, all extracts tested in this study exhibited a significant antimicrobial effect (with $\varepsilon_V^* < -50\%$) at concentrations in the test medium greater than 1 vol.% (see Tab. 2). While such a widely used synthetic broad-spectrum antiseptic as chlorhexidine bigluconate (CHG), when tested using a method similar to that described above in the Experimental section, already at CHG concentrations in the test medium equal to 0.0001 and 0.001 vol.%, demonstrated ε_V^* values of -41 ± 8 and $-89 \pm 13\%$ against *L. acidophilus* (which, however, was to be expected, since CHG is not intended for internal use). Based on this, it can be concluded that the multisensory potentiometric microbiological testing method presented in this work can be used to evaluate the biological activity of not only plant extracts, but also many other preparations and materials (including artificially synthesized ones).

CONCLUSIONS

Thus, we have established that the presented method of multisensory potentiometric microbiological testing, followed by mathematical processing of the obtained data, allows for a significantly more rapid, objective, and informative assessment of the impact of various chemical compounds (including biologically active substances extracted from various plant materials) on the dynamics of vital activity of selected microorganisms than when using "standard visual" microbiological testing methods.

Furthermore, the methodology presented here is significantly less material- and labor-intensive than standard microbiological testing methods and also offers greater opportunities for automating the analysis process.

The multisensor potentiometric microbiological testing method proposed in this work, even in comparison with the latest instrumental microbiological testing methods developed by us previously, described in [54–56], allowed us to increase the speed, sensitivity, and reliability of the analysis (2 h per analysis instead of 3 to 6 h previously, and 95% reliability instead of 80 to 90% previously), as well as simplify and reduce the cost of the analysis due to the possibility of its implementation using only a single ion meter measuring unit.

All this makes the method presented in this work more accessible for widespread use compared to previously employed microbiological methods. Not only for testing the biological activity of new pharmaceuti-

⁵ Moreover, the latter took place because the total number of microorganism cells increased during the incubation of the test medium containing them, while the activity and total number of BASs contained in the studied EOs decreased during the incubation of the test medium containing them.

cal, food, and other products but also for monitoring similar products already approved for mass use to

achieve the goal of identifying substandard or spoiled samples.