



селеносодержащих препаратов – селенохромена и перхлората селенохромилия. Выявлены антистрессовые свойства этих препаратов по отношению к ионам тяжелых металлов, что открывает перспективность применения их для повышения урожайности культуры и усиления декоративно-эстетических функций цветочных культур на антропогенно-депрессивных территориях.

#### Список литературы

1. Ульяненко Л. Н., Круглов С. В. Влияния загрязнения почв кадмием на его накопление растениями ячменя в онтогенезе //Агрохимия. 2010. № 3. С. 70–74.
2. Серегин И. И., Чурсина Е. В. Влияние препарата циркона на продуктивность яровой пшеницы и содержание тяжелых металлов в продукции при загрязнении почвы цинком, кадмием, свинцом // Агрохимия. 2010. № 9. С. 66–71.
3. Прусакова Л. Д., Кефели В. И. Роль фенольных соединений в растениях //Агрохимия. 2008. № 7. С. 86–89.
4. Запрометов М. Н. Фенольные соединения : распространение, метаболизм и функции в растениях. М., 1993. 272 с.
5. Мельников Н. Н. Важнейшие современные направления химизации растениеводства // Агрохимия. 1999. № 9. С. 5–11.
6. Горвая А. И., Орлов Д. С. Гуминовые вещества. Киев, 1995. С. 249–269.
7. Вихрева В. А., Хрянин В.Н. Адаптогенная роль селена в высших растениях // Вестн. Башкирского ун-та. 2001. № 2 (II). С. 65–66.
8. Ильина Г. В., Ильин Д. Ю., Блинохватов А. Ф. Селен в биосфере. Пенза, 2001. С. 56–95.
9. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. М., 1985. 423 с.
10. Пат. 2325155 Российская Федерация. Средство для лечения и профилактики отравлений соединениями тяжелых металлов / Федотова О. В., Древо Я. Б., Бородулин В. Б., Фомин Н. Ю., Мальченкова А. Н. ; опубл. БИ. 2008. № 15.

УДК 582.28:57.083

## РОСТОВЫЕ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ КСЕНОБИОТИЧЕСКОЙ ОРГАНИЧЕСКОЙ ФОРМЫ СЕЛЕНА В КУЛЬТУРЕ БАЗИДИОМИЦЕТА *LENTINULA EDODES*



А. Н. Панкратов<sup>1</sup>, Е. А. Лощинина<sup>2</sup>, О. М. Цивилева<sup>2</sup>,  
М. М. Бурашникова<sup>1</sup>, И. А. Казаринов<sup>1</sup>,  
Н. Н. Былинкина<sup>1</sup>, В. Е. Никитина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Саратовский государственный университет

E-mail: PankratovAN@info.sgu.ru

E-mail: KazarinovIA@info.sgu.ru

<sup>2</sup>Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

E-mail: tsivileva@ibppm.sgu.ru

Впервые выявлена интенсивно красная пигментация мицелия, обусловленная накоплением элементного селена в результате трансформации селеноорганического соединения высшим грибом *Lentinula edodes* (шиитаке). Исследовано влияние 1,5-дифенил-3-селенпентандиона-1,5 (дицетофенонилселенид, препарат ДАФС-25) на рост съедобного гриба *Lentinula edodes* в условиях жидкофазного и твердофазного культивирования. Обнаруженное явление стимуляции роста мицелия предположительно связано с антиоксидантными свойствами селена, благодаря которым нивелируются негативные последствия истощения питательных компонентов среды. Концентрации ДАФС-25, превышавшие  $5 \cdot 10^{-3}$  моль/л, значительно ингибировали рост мицелия. При начальной концентрации ДАФС-25 в синтетической среде не ниже  $10^{-5}$ – $10^{-4}$  моль/л наблюдали красную пигментацию мицелия *L. edodes*, интенсивность и период возникновения которой зависели от концентрации добавки. Полуколичественная информация о сравнительном содержании селена в образцах мицелия позволила судить о способности глубинной культуры шиитаке к сорбции и/или деструкции ксенобиотика селеноорганической природы. Предстоит количественная характеристика

системы метаболитов – селеносодержащих биологически активных соединений гриба, культивируемого в присутствии ДАФС-25.

**Ключевые слова:** метод рентгеновской флуоресценции, рентгенофазовый анализ, элементный селен, селенит натрия, селенат натрия, 1,5-ди(4-Р-фенил)-3-селенпентандион-1,5, гриб шиитаке.

#### Effects of Xenobiotic Organoselenium Compound on the Growth and Metabolism of Basidiomycete *Lentinula edodes* Culture

A. N. Pankratov, E. A. Loshchinina, O. M. Tsivileva,  
M. M. Burashnikova, I. A. Kazarinov,  
N. N. Bylinkina, V. E. Nikitina

For the first time, the intensive red pigmentation of mycelium caused by the elemental selenium accumulation resulted from the organoselenium compound destruction by the mushroom *Lentinula edodes* (shiitake) has been revealed. The effect of 1,5-diphenyl-3-selenopentanedione-1,5 (diacetophenonyl selenide, preparation DAPS-25) on the growth of edible mushroom *Lentinula edodes* under the



liquid-phase and solid-phase culture conditions has been studied. The phenomenon of mycelial growth stimulation is related obviously to the antioxidant properties of selenium promoting the defensive biopotential against the exhausting nutritive components of the medium. The DAPS-25 concentrations exceeding  $5 \cdot 10^{-3}$  mol/l inhibit the biomass accumulation considerably. At the initial DAPS-25 concentration higher than  $10^{-5}$ – $10^{-4}$  mol/l in the synthetic medium, a red color of *L. edodes* mycelium develops, the intensity and initiation time of which being related to this Se-additive concentration. The semiquantitative data on comparative selenium level in the samples allow us to conclude on the shiitake's submerged culture capability of sorbing and/or destructing a xenobiotic of organoselenium nature. Planned is a quantitative characterization of the metabolic system of selenium-containing biologically active compounds of the mushroom cultured in the presence of DAPS-25.

**Key words:** X-ray fluorescence method, X-ray phase analysis, elemental selenium, sodium selenite, sodium selenate, 1,5-di(4-R-phenyl)-3-selenopentanedione-1,5, shiitake mushroom.

Актуальными являются исследования метаболизма селена в съедобных высших грибах. Достаточно широко изучено влияние солей неорганических кислот селена на рост ряда грибных культур и аккумуляцию селена в мицелии. В съедобных грибах, выращенных на средах с селенитами и селенатами, Se по большей части запасается в виде селенсодержащих аминокислот, поэтому обогащенные этой формой селена плодовые тела могут быть использованы для коррекции дефицита Se в питании человека [1, 2]. В то же время при выращивании гриба шиитаке (*Lentinula edodes*) в присутствии неорганических селенсодержащих соединений селенат в неизменной форме накапливается в мицелии, связываясь с полисахаридами клеточной стенки гиф, а селенит при его неполном превращении в селенометионин представляет опасность ввиду токсичности [3]. Функцию детоксификации Se(IV) выполняет восстановление селенит-аниона до свободного селена.

В литературе имеются единичные сведения о пути биотрансформации грибами неорганических солей, в которых селен входит в состав аниона, с выделением элементарного Se. Именно так протекает процесс восстановления селенита натрия культурой *L. edodes*, впервые описанный J. Turlo с соавт. [4]. Практически не исследованным остается влияние на грибы селенорганических ксенобиотиков, которые благодаря их более низкой токсичности по сравнению с селеном в составе неорганического аниона могут служить лучшим источником селена для грибов. Влияние синтетического селенорганического препарата на мицелий высшего гриба описано лишь на примере *Pleurotus ostreatus* в работе [5].

В настоящей работе мы рассмотрели влияние 1,5-дифенил-3-селенпентандиона-1,5 (он же –

диацетофенонилселенид, ДАФС-25) – препарата, используемого в сельском хозяйстве в качестве кормовой добавки [6] – на рост базидиомицета *L. edodes* F-249, а также впервые установили факт интенсивно-красной пигментации мицелия, связанной с накоплением элементарного селена этим ксилотрофом в присутствии ксенобиотика селенорганической природы. Красная окраска выявлена нами при трансформации не только ДАФС-25, но и взятого для сравнения селенита натрия, в глубинной культуре шиитаке.

#### Материалы и методы исследования

Культура *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler [*Lentinus edodes* (Berk.) Singer], штамм F-249, использованный в работе, был получен из коллекции высших базидиальных грибов кафедры микологии и альгологии Московского государственного университета. При глубинном культивировании *L. edodes* использовали синтетические среды с источником углерода *D*-глюкоза (концентрация 300 ммоль/л по углероду); мольное соотношение углерод : азот в среде составляло 15 : 1 (среда I); пивное сусло, 2° по Баллингу (среда II); среда на основе пшеничной муки (20 г/л) (среда III); среда на основе экстракта дубовых опилок (среда IV). В состав плотных сред того же состава (Ia, IIIa, IVa) и 4°-го агаризованного пивного сусла (IIa) входил дополнительно агар (18 г/л). Мицелий гриба культивировали на указанных средах с добавками соединений селена. При изучении ростовых характеристик добавляли ДАФС-25 ( $10^{-4}$  г/л по селену, или 1.27 мкмоль/л), при изучении условий появления красной пигментации мицелия – ДАФС-25 (0.3 и 1 ммоль/л), а также селенит натрия  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  (0.3 ммоль/л) или селенат натрия  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  (0.3 ммоль/л).

Рентгенофлуоресцентное и рентгенофазовое исследование проводили для образцов, характеристика которых представлена в табл. 1. Для рентгенофлуоресцентного анализа применяли энергодисперсионный рентгеновский спектрометр серии EDX-720 (EDX-720 Energy Dispersive X-Ray Spectrophotometer) производства корпорации Shimadzu. Источником рентгеновского излучения служила родиевая трубка. Качественный и полуколичественный (без использования стандартного образца) анализ проводили по методу фундаментальных параметров (линии селена  $\text{SeK}_\alpha$  при 11.209 кэВ и  $\text{SeK}_\beta$  при 12.496 кэВ).

Полуколичественную оценку массовой доли селена осуществляли с включением в баланс по массе, помимо селена, условной воды.

При рентгенофазовом анализе съемка образцов проводилась на рентгеновском дифрак-



Таблица 1

## Общая характеристика образцов для детектирования элементного селена и (или) соединений селена

Номер образца	Характеристика образца (в скобках указана продолжительность выращивания, сут)	Добавка селенсодержащего соединения к среде выращивания	Наблюдаемая окраска	Массовая доля селена, %, по данным рентгеновской флуоресценции
1	<i>Lentinula edodes</i> F-249 (90)	ДАФС-25, 1.0 ммоль/л	Красная	0.35
2	<i>L. edodes</i> (10)	ДАФС-25, 0.3 ммоль/л	Красная	0.24
3	<i>L. edodes</i> (90)	Селенит натрия Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> , 0.3 ммоль/л	Красная	0.13
4	<i>L. edodes</i> (5)	Селенат натрия Na <sub>2</sub> SeO <sub>4</sub> , 1.0 ммоль/л	Серовато-кремовая*	0.010
5	<i>L. edodes</i> (90)	Селенат натрия Na <sub>2</sub> SeO <sub>4</sub> , 0.3 ммоль/л	Серовато-кремовая*	0.001****
Эталон	Селен элементный (серая модификация)**	–	–	–
Эталон	Селенит натрия Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	–	–	–
Эталон	Селенат натрия Na <sub>2</sub> SeO <sub>4</sub>	–	–	–
Эталон	ДАФС-25***	–	–	–

Примечание. \* Селенат натрия Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> не давал эффекта красного окрашивания мицелия гриба. \*\* Селен элементарный гранулированный 170114, осч 17-3, МРТУ 6-09-638-63, Ленинградский завод «Красный химик», Реахим, партия 7 ОТК VIII-1970 г. \*\*\* 1,5-Дифенил-3-селенпентадион-1,5 (диацетофенилселенид, препарат ДАФС-25). \*\*\*\* Селен практически отсутствует.

тометре ДРОН-3.0 с CuK<sub>α</sub>-излучением (длина волны 1.54173 Å) и следующими параметрами прибора:

- 1) детектор сцинтилляционный с кристаллом NaI, активированным таллием;
- 2) рентгеновская трубка 2.0 БСВ 24 – Cu;
- 3) фильтр никелевый;
- 4) напряжение 25 кВ;
- 5) ток 15 мА;
- 6) ширина ограничивающей щели 2.0 мм;
- 7) щели Соллера 1.5 град.;
- 8) ширина приёмной щели 0.25 мм;
- 9) скорость движения детектора 2 град/мин;
- 10) скорость протяжки ленты 600 мм/ч;
- 11) диапазон интенсивметра 400 имп/с;
- 12) постоянная времени интенсивметра 10 с.

При фазовой расшифровке использовалась порошковая картотека Joint Committee Powder

Diffraction File (JCPDF), Swarthmore, Pennsylvania, USA, 1987.

## Результаты и их обсуждение

1. Влияние ДАФС-25 на рост *Lentinus edodes* в условиях глубинного культивирования

В результате проведенных исследований обнаружено, что для изученных жидких сред характерна в целом положительная реакция мицелия на селеновые добавки. Наблюдаемая в определенные периоды культивирования отрицательная реакция, а также существенная разница в изучаемом аспекте между средами иллюстрируется табл. 2, представляющей данные для I и II. Количественные различия между реакцией на ДАФС-25 для указанных жидких сред, выраженные через скорость роста мицелия, особенно существенны на 7-е сут культивирования и в период после 14-ти сут.

Таблица 2

Скорость роста (мг/сут) мицелия *L. edodes* на жидких питательных средах\*

Время культивирования, сут	Синтетическая среда (I)	Синтетическая среда (I) с ДАФС-25	Сусло (II)	Сусло (II) с ДАФС-25
3	0.93	0.60	1.13	0.07
5	0.20	0.29	0.20	0.97
7	0.02	0.19	0.04	1.46
10	0.34	0.43	0.98	0.92
12	0.60	0.60	0.98	0.94
14	0.76	0.72	0.97	1.02
17	0.81	0.88	0.91	1.28
20	0.64	0.70	0.79	1.20
22	0.45	0.47	0.65	1.11

Примечание. \* Состав сред более подробно указан в тексте.



На II скорость роста резко снижается к 7-м сут в отсутствие препарата, то же происходит и в случае I. Но для последней характерны достаточно близкие значения скорости роста с ДАФС-25 и без селеновой добавки при этом возрасте глубинной культуры, как и при возрасте от 14 сут до конца наблюдений, с доминированием в этом аспекте среды с препаратом. Указанные периоды культивирования на II характеризуются, наоборот, значительными различиями, в отношении исследуемых параметров роста мицелия, вариантов опыта с ДАФС-25 и без препарата. Так, к 7-м сут выращивания скорость роста в присутствии селеновой добавки не снижается, а резко возрастает; аналогичный эффект наблюдается и при возрасте культуры, выращенной с ДАФС-25, составляющем 14–17 сут. Далее в последнем варианте эксперимента скорость роста несколько уменьшается, но остается значительно превышающей соответствующую величину на среде без препарата до конца периода наблюдений. Возраст культуры на I и II, характеризующийся довольно близкими значениями скоростей роста *L. edodes* в присутствии и в отсутствие ДАФС-25 с небольшим преобладанием не обогащенных селеном сред, составляет соответственно 11–15 и 10–13 сут. Продолжительность этого периода несколько больше в случае I, с более заметным при этом «отставанием» по показателю скорости роста.

Скорость роста на II значительно выше, чем на I, и этот относительно быстрорастущий мицелий более подвержен позитивному влиянию селеновой добавки, на что указывает увеличение исследуемой ростовой характеристики после 10 сут культивирования. Возможное объяснение подобного явления стимуляции скорости роста может состоять в том, что благодаря антиоксидантным свойствам селена нивелируются негативные последствия метаболизма в процессе роста культуры при близких к исчерпанию питательных компонентов среды условиях.

## 2. Влияние ДАФС-25 на рост *Lentinula edodes* в условиях культивирования на агаризованных средах

Введение компонента ДАФС-25 в агаризованную среду выращивания в большинстве случаев благотворно повлияло на рост культивируемого мицелия. Установлено, что ответ изучаемой культуры на обогащение питательной среды соединением селена не одинаков на разных средах. В случае Ia наблюдалась тенденция к развитию воздушного мицелия при отсутствии таковой в контроле. Судя по таким параметрам роста, как скорость и ростовой коэффициент, имеет место более или менее заметная стимуляция развития вегетативного мицелия под воздействием ДАФС-25

в отношении изученных сред выращивания Ia, IIIa, IVa (табл. 3). Позитивное влияние этого вещества прослеживается и в случае IIa на 8-е сут культивирования, на что указывает максимальная в данном варианте опыта величина ростового коэффициента (55.6). Также благоприятны добавки ДАФС-25 для мицелия на IIIa и особенно Ia: на 5–6-е сут выращивания ростовые показатели на IIIa приближаются к соответствующим параметрам для среды IIa, считающейся наиболее благоприятной средой для культивирования изучаемого вида [7, 8], а ростовой коэффициент на Ia в результате введения в ее состав препарата даже значительно превосходит соответствующую величину для IIa при возрасте культуры 4–5 сут.

В табл. 3 представлены, наряду со значениями ростовых коэффициентов для изученных сред, величины  $RK_{\text{ДАФС}}/RK$ , где  $RK_{\text{ДАФС}}$  – ростовой коэффициент в присутствии ДАФС-25 как компонента питательной среды,  $RK$  – ростовой коэффициент в отсутствие ДАФС-25. Из табл. 3 видно, что по параметру  $RK_{\text{ДАФС}}/RK$  для всех сред характерна положительная реакция мицелия на селеновые добавки при определенной продолжительности выращивания, однако на Ia эта реакция оказалась более выраженной (наибольшие  $RK_{\text{ДАФС}}/RK$ ). Добавка ДАФС-25 к питательной среде оказалась благоприятной для развития вегетативного мицелия на средах, не обязательно характеризующихся относительно высокими значениями ростовых коэффициентов. Так, отношение  $RK_{\text{ДАФС}}/RK$  составляет около 1.5 не только в случае IIa при ростовом коэффициенте 38.2 на 8-е сут, но и Ia, на которой ростовой коэффициент не превышает 23.4 (5–6-е сут культивирования).

Быстрорастущим культурам присущ интенсивный обмен веществ, следовательно, и высокие уровни накапливающихся в процессе обменных реакций свободных радикалов. От их вредного воздействия, возможно, и спасает клеточные стенки селен, который встраивается в молекулы антиоксидантных ферментов. Исходя из такого предположения, можно заключить, что повышенные концентрации селена в питательной среде обеспечивают более благоприятные условия для развития именно интенсивно растущего мицелия, о чем можно судить по увеличению параметров роста.

## 3. Влияние ДАФС-25 и селенита натрия на появление красной пигментации мицелия (элементного селена) *L. edodes*

После 7 сут роста мицелий гриба, растущего на среде с селенитом, начал приобретать красноватое окрашивание, и к 10 сут мицелий был интенсивно-красного цвета. Предположительно это связано с накоплением элементного красного





Таблица 3

**Скорость роста (мм/сут) и ростовой коэффициент\* *L. edodes* F-249 на агаризованных средах с добавлением ДАФС-25**

Возраст культуры, сут	Среда культивирования**		РК <sub>ДАФС</sub> /РК
	Ia	Ia+ДАФС***	
2	5.90 ± 0.70 [23.6 ± 2.8]	4.35 ± 0.55 [17.4 ± 2.2]	0.74
3.5	5.91 ± 0.54 [25.4 ± 2.3]	6.11 ± 0.51 [36.7 ± 3.1]	1.44
5	5.80 ± 0.44 [23.4 ± 1.8]	5.98 ± 0.42 [35.9 ± 2.5]	1.53
6	5.17 ± 0.38 [21.3 ± 1.6]	5.28 ± 0.35 [31.7 ± 2.1]	1.49
7	5.33 ± 0.37 [23.3 ± 1.6]	6.03 ± 0.36 [24.1 ± 1.4]	1.03
9	6.00 ± 0.36 [26.6 ± 1.6]	6.97 ± 0.33 [27.9 ± 1.3]	1.05
12	⊕	⊕	
	IIa	IIa+ДАФС	
4	6.75 ± 0.58 [27.0 ± 2.3]	6.50 ± 0.65 [26.0 ± 2.6]	0.96
6	8.82 ± 0.55 [35.3 ± 2.2]	7.88 ± 0.57 [31.5 ± 2.3]	0.89
8	9.54 ± 0.49 [38.2 ± 2.0]	9.26 ± 0.54 [55.6 ± 3.2]	1.46
10	⊕	⊕	
	IIIa	IIIa+ДАФС	
4	5.83 ± 0.70 [23.3 ± 2.8]	6.70 ± 0.53 [26.8 ± 2.1]	1.15
6	7.55 ± 0.65 [30.2 ± 2.6]	7.92 ± 0.47 [31.7 ± 1.9]	1.05
8	7.71 ± 0.56 [30.9 ± 2.2]	8.23 ± 0.41 [32.9 ± 1.6]	1.06
10	⊕	⊕	
	IVa	IVa+ДАФС	
2	6.25 ± 0.67 [25.0 ± 2.7]	7.95 ± 0.75 [31.8 ± 3.0]	1.27
3.5	8.83 ± 0.60 [35.3 ± 2.4]	9.80 ± 0.63 [39.2 ± 2.5]	1.11
5	8.78 ± 0.70 [35.1 ± 2.8]	9.30 ± 0.52 [37.2 ± 2.1]	1.06
6	8.60 ± 0.45 [34.4 ± 1.8]	8.92 ± 0.46 [35.6 ± 1.8]	1.03
7	8.96 ± 0.46 [34.4 ± 1.8]	9.56 ± 0.44 [38.2 ± 1.8]	1.11
9	9.30 ± 0.42 [37.2 ± 1.7]	9.71 ± 0.39 [38.8 ± 1.6]	1.04
11	⊕	⊕	

Примечание. \* Значения приведены в квадратных скобках. \*\* Состав сред более подробно указан в тексте. \*\*\* Среда с добавкой ДАФС-25. ⊕ Полное зарастание чашки

селена. Эффект оранжево-красной пигментации получили также, выращивая образцы мицелия шиитаке глубинным способом на синтетической среде ((*D*-глюкоза – 50 ммоль/л, *L*-аспарагин – 10 ммоль/л) при температуре 26 °С в течение 3–28 сут в присутствии диацетофенонилселенида.

Первоначально присутствие элементарного селена в культуральной жидкости и клетках гриба детектировали с использованием теста на восстановление метиленового синего с его обесцвечиванием (Methylene Blue Reduction Test, MBRT) по методике, описанной в работах [9, 10]. Эта качественная реакция основана на каталитическом действии селена на восстановление метиленового синего сульфидами щелочных металлов до лейкосоединения. В качестве контроля брали дистиллированную воду и инокулированные среды с селеновыми добавками. Окрашивание метиленового синего в образцах, содержащих селеновые соединения, исчезало значительно быстрее, чем в контроле с водой, что служит косвенным подтверждением наличия элементарного селена.

Исследование соединений, синтезируемых грибом при его культивировании в присутствии селеноорганического соединения ДАФС-25, а также неорганических форм селена – селенита и селената натрия, проводили методом рентгеновской флуоресценции. Для решения задач этой части работы требовалось получение образцов на основе экстрактов из мицелия, выращенного глубинным способом. Мицелий отделяли от культуральной жидкости фильтрованием и промывали избытком дистиллированной воды. Влажные образцы мицелия, характеристика которых представлена в разделе «Материалы и методы исследования» (см. табл. 1), анализировали методом рентгеновской флуоресценции. Полученные значения не представляют абсолютного содержания селена в том или ином объекте, а показывают относительное изменение содержания селена в серии образцов.

Изученный интервал значений начальной концентрации ДАФС-25 в питательной среде составлял  $10^{-7}$ – $10^{-3}$  моль/л с шагом на один порядок величины. Всего, следовательно, апробированы



5 значений 5-ти концентраций. Визуально заметная пигментация развивалась при  $10^{-5}$  моль/л препарата в среде. В присутствии  $10^{-3}$  моль/л ДАФС-25 мицелий был интенсивно-красного цвета уже через трое суток выращивания, окраска сохранялась визуалью неизменной на протяжении весьма длительного культивирования (образец 1), при этом характерный запах ацетофенона дополнительно свидетельствовал в пользу предположения о деструкции ДАФС грибом с образованием Se(0). Те же эффекты получили при меньших величинах концентрации селеноорганической добавки (0.3 ммоль/л) и возраста культуры (образец 2), однако относительное содержание селена снизилось примерно в полтора раза (см. табл. 1). Еще в 2 раза более низким оказался относительный уровень селена в варианте опыта с селенитом натрия при той же исходной концентрации в пересчете на селен (0.3 ммоль/л, образец 3), хотя красную пигментацию мицелия также наблюдали в течение всего периода выращивания 10–90 сут. ДАФС-25 в концентрации, превышающей  $5 \cdot 10^{-3}$  моль/л, значительно ингибировал рост мицелия, такие системы подробно не изучались.

Взятый для сравнения селенат натрия  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ , послуживший добавкой к питательной среде, пигментирующего действия на мицелий не оказывал ни при 5-суточном, ни при 90-суточном возрастах культуры (образцы 4 и 5 соответственно). Более высокое относительное содержание селена в образце 4 по сравнению с образцом 5 следует, вероятно, объяснить изначально более высоким уровнем добавляемого селената, связывающегося, по данным литературы [3], с полисахаридами клеточной стенки грибных гиф и сохраняющегося при механических манипуляциях с подготавливаемым для анализа образцом.

Нами проведен рентгенофазовый анализ гиф гриба *L. edodes*, выращенного с добавками соединений селена. Фаза, изоструктурная ДАФС-25, выявлена в мицелии при его выращивании в присутствии  $10^{-3}$  моль/л диацетофенонилселенида. В этом же образце возможно присутствие элементного селена. Имеется сигнал, который можно с высокой степенью достоверности отнести к основному рефлексу селена (межплоскостное расстояние 2.998 Å).

Результаты проведенных исследований позволяют сделать вывод, что селеносодержащий препарат ДАФС-25 оказывает заметное действие на процессы жизнедеятельности *L. edodes*, выраженное в изменении ростовых параметров культуры как на жидких, так и на агаризованных средах. Селеновая добавка в наибольшей степени стимулирует рост шиитаке на синтетической агаризованной среде, характеризующейся низкими

значениями ростовых показателей в отсутствие ДАФС-25. При начальной концентрации диацетофенонилселенида в питательной жидкой среде не ниже  $10^{-5}$ – $10^{-4}$  моль/л наблюдается появление красной пигментации мицелия, интенсивность и период возникновения которой зависят от концентрации ДАФС-25.

Основываясь на результатах MBRT, данных рентгенофлуоресцентного и рентгенофазового анализа, можно судить о способности глубинной культуры *L. edodes* к деструкции ксенобиотика селеноорганической природы с образованием красной пигментации мицелия, обусловленной именно элементным селеном. Другие исследователи – J. Turlo с соавт. [4], изучая процесс восстановления  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  культурой шиитаке, а также П. А. Полуобяринов с соавт. [5], изучая влияние диацетофенонилселенида на рост вешенки устричной – утверждают обусловленность красного пигментирования мицелия элементным Se.

Накопление элементного селена в результате трансформации селеноорганического соединения высшим грибом шиитаке выявлено впервые. Элементный селен в красной модификации образуется при деградации диацетофенонилселенида и селенита (но не селената) натрия в глубинной культуре шиитаке. В ходе дальнейших исследований предстоит количественная физико-химическая характеристика мультикомпонентной системы, создаваемой в процессе метаболизма соединения ДАФС-25 культурой гриба.

#### Список литературы

1. Levander O. A. Selenium // Trace Elements in Human and Animal Nutrition. 5 Ed. / W. Mertz, Editor. Orlando : Academic Press, 1986. Vol. 2. P. 209–266.
2. Levander O. A. A Global View of Human Selenium Nutrition // Ann. Rev. Nutr. 1987. Vol. 7. P. 227–250.
3. Yoshida M., Sugihara S., Inoue Y., Chihara Y., Kondo M., Miyamoto S., Sukcharoen B. Composition of Chemical Species of Selenium Contained in Selenium-Enriched Shiitake Mushroom and Vegetables Determined by High Performance Liquid Chromatography with Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry // J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo). 2005. Vol. 51, № 3. P. 194–199.
4. Turlo J., Gutkowska B., Herold F. Effect of Selenium Enrichment on Antioxidant Activities and Chemical composition of *Lentinula edodes* (Berk.) Pegl. mycelial extracts // Food and Chemical Toxicology. 2010. Vol. 48, № 4. P. 1085–1091.
5. Полуобяринов П. А., Вихрева В. А., Леценко П. П., Ариповский А. В., Лихачев А. Н. Образование элементарного селена при распаде молекулы селеноорганического препарата ДАФС-25 под влиянием растущего мицелия грибов // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биология. 2009. Т. 64, № 4. С. 33–37.
6. Пат. 2171110 Российская Федерация, МПК7А61 К 33/04. Средство для лечения и профилактики инфек-



- ционных заболеваний и отравлений / Древо Б. И., Древо Р. И., Антипов В. А., Чернуха Б. А., Яковлев А. Н. ; опубл. 27.07.2001. 16 с. // Изобретения. Полезные модели. Бюл. № 21(II ч.). С. 219.
7. Методы экспериментальной микологии / под ред. В. И. Билай. Киев : Наук. думка, 1982. 550 с.
8. Бухало А. С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. Киев : Наук. думка, 1988. 144 с.
9. Feigl F., West P. W. Test for Selenium Based on a Catalytic Effect // Anal. Chem. 1947. Vol. 19, № 5. P. 351–353.
10. Назаренко И. И., Ермаков А. Н. Аналитическая химия селена и теллура. М. : Наука, 1971. 251 с.

УДК 546.571-386:615.331

## КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ СЕРЕБРА (I) С АМПИЦИЛЛИНОМ, ОКСАЦИЛЛИНОМ, ЦЕФАЗОЛИНОМ И ЦЕФОТАКСИМОМ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ

С. В. Снесарев, Е. Г. Кулапина

Саратовский государственный университет  
E-mail: snesarevsv@rambler.ru

Спектрофотометрическим и рН-потенциометрическим методами в водном растворе на нитратном фоне ( $\text{KNO}_3$ ,  $\mu = 0.1$ ,  $t = 20 \pm 2$  °С) изучены комплексные соединения серебра (I) с ампициллином, оксациллином, цефазолином и цефотаксимом. Установлены области рН формирования и существования комплексов при заданных концентрациях серебра (I) и лиганда, их мольный состав. Показано преимущество образования  $[\text{AgL}_2]^-$  комплексов при изменении рН среды; рассчитаны константы устойчивости комплексов. Определены константы диссоциации ряда  $\beta$ -лактамовых антибиотиков.

**Ключевые слова:** серебро(I),  $\beta$ -лактамовые антибиотики, комплексные соединения, константы устойчивости, спектрофотометрия, рН-потенциометрия.

### Complexes of Silver (I) with Ampicillin, Oxacillin, Cefazolin and Cefotaxime in Aqueous Solutions

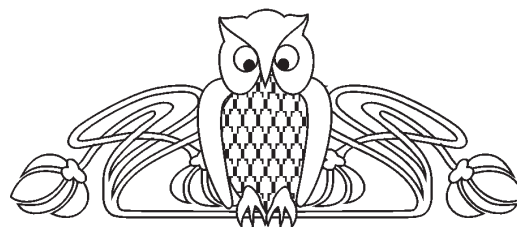
S. V. Snesev, E. G. Kulapina

Spectrophotometric and pH-potentiometric methods in an aqueous solution of nitrate on the background ( $\text{KNO}_3$ ,  $\mu = 0.1$ ,  $t = 20 \pm 2$  °С) studied complex compounds of silver (I) with ampicillin, oxacillin, cefazolin and cefotaxime. Set the pH of formation and existence of the complexes at a given concentration of silver (I) and the ligand, their molar composition. The advantage of the education  $[\text{AgL}_2]^-$  complexes when the pH of the medium, calculated the stability constants of complexes. Determined the dissociation constants of some  $\beta$ -lactam antibiotics.

**Key words:** silver (I),  $\beta$ -lactam antibiotics, complex compounds, stability constants, spectrophotometry, pH-potentiometry.

### Введение

Пенициллины и цефалоспорины – две обширные, химически родственные группы антибиотиков. Молекулы всех пенициллинов и цефалоспоринов содержат четырехчленный  $\beta$ -лактамовый цикл, вследствие чего эти соединения относят к классу  $\beta$ -лактамовых антибиотиков [1,2].



В структуре таких антибиотиков можно выделить карбоксильную, аминную, амидную, лактамную и тиазолидиновую группы, которые могут участвовать в процессе комплексообразования с катионами металлов (табл. 1).

Имеются многочисленные данные по комплексообразованию  $\beta$ -лактамовых антибиотиков с катионами *d*-металлов Zn(II), Fe (III), La(III), Cd(II), Ni(II), Mn(II), Cu(II), Co(II), Pd(II). Обнаружены мономерные комплексы мольного состава 1:1, 1:2, реже 1:3, например,  $\text{CuL}^+$ ,  $\text{CuL}$ ,  $\text{NiL}^+$ ,  $\text{NdL}_2^+$ ,  $\text{CdL}^+$ ,  $\text{CdL}$  и др. [3]. В свою очередь, в литературе имеются единичные работы по комплексообразованию  $\beta$ -лактамовых антибиотиков с катионом серебра (I). Последний имеет крупный размер, что сказывается на способе координации молекул антибиотиков и возможности образования отрицательно заряженных комплексов. Последние могут быть использованы в составе электродно-активных веществ мембран потенциометрических сенсоров, чувствительных к  $\beta$ -лактамовым антибиотикам [4].

Целью данной работы является установление состава и констант устойчивости комплексов серебра(I) с ампициллином, оксациллином, цефазолином и цефотаксимом.

### Материалы и методика исследования

Исследования проводили спектрофотометрическим и рН-потенциометрическими методами. Оптическую плотность растворов измеряли на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 с использованием кюветы с кварцевыми стеклами с толщиной поглощающего слоя 1 см. Относительная погрешность определения оптической плотно-