

Я. А. Клап, О. С. Яремкевич, В. Г. Червецова, Н. Л. Заярнюк, В. П. Новіков
 Національний університет “Львівська політехніка”,
 кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ЕЛЕКТРОМАГНІТНИХ, ПОСТІЙНИХ МАГНІТНИХ ТА АКУСТИЧНИХ ПОЛІВ НА МІКРООРГАНІЗМИ

© Клап Я. А., Яремкевич О. С., Червецова В. Г., Заярнюк Н. Л., Новіков В. П., 2016

Досліджено вплив акустичного поля (АП) та двох типів магнітних полів – електромагнітного поля (ЕМП) та постійного магнітного поля (ПМП) – на ріст та розмноження бактерій *Escherichia coli* та *Staphylococcus aureus*, а також дріжджоподібних грибів *Candida tenuis*. Встановлено, що бактерії і гриби по-різному реагують на дію ЕМП та ПМП, що, очевидно, зумовлено особливостями їх будови, хімічного складу та метаболізму. На *E. coli* ЕМП та ПМП мають тимчасово пригнічувальний вплив, що проявлявся тільки у першу добу після опромінення. Дріжджі *C. tenuis* виявились чутливішими до дії цих полів. Встановлено також, що АП звукового діапазону здатні впливати на бактерії, стимулюючи процеси росту, які проявляється тільки на другий день у бактерій як *E. Coli*, так і *St. aureus*.

Ключові слова: акустичні поля, електромагнітні поля, постійні магнітні поля, мікроорганізми, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida tenuis*.

Y. A. Klap, O. S. Yaremkevych, V. G. Chervetsova, N. L. Zayarnyuk, V. P. Novikov

STUDY OF ELECTROMAGNETIC, CONSTANT MAGNETIC AND ACOUSTIC FIELD ON MICROORGANISMS

© Klap Y. A., Yaremkevych O. S., Chervetsova V. G., Zayarnyuk N. L., Novikov V. P., 2016

The influence of the sound field (SF) and two types of magnetic fields – electromagnetic fields (EMF) and constant magnetic field (CMF) on the growth and reproduction of bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, also yeast *Candida tenuis*, were investigated. It was proven that bacteria and fungi react differently to the effect of EMF and the CMF, that is caused by specific features of their structures, chemical composition and metabolism. EMF and CMF have temporary depressing effect on *E. coli*, which was detected only on the first days after exposure. Yeast *C. tenuis* were more sensitive to the both fields. It was also established that sound range of SF can effect on bacteria (*E. coli* and *St. aureus*) by stimulating the growth, which occurs only on the second day.

Key words: acoustic fields, electromagnetic fields, static magnetic field, microorganisms, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida tenuis*.

Постановка проблеми та її зв'язок з важливими науковими завданнями. У процесі еволюційного розвитку біооб'єктів на формування їх біологічних властивостей впливали різні абіотичні чинники, зокрема, природні фізичні поля та опромінення. Останнім часом у зв'язку зі збільшенням антропогенного та техногенного навантаження значно підвищився рівень абіотичних опромінь та їх вплив на організми. Сутність і природу цього впливу до кінця не вивчено. Тому у сучасній біології актуальним є дослідження особливостей і механізмів дії цих чинників на біохімічні процеси, що відбуваються у мікроорганізмах, а також пов'язані з цими впливами

фенотипічні та генетичні зміни, з метою їх подальшого використання для розв'язання прикладних задач і впровадження нових технологій у медицині та біотехнології.

Аналіз попередніх досліджень і публікацій. Численними біологічними дослідженнями показано, що організми різних видів – від одноклітинних до людини – чутливі до постійного магнітного поля (ПМП), електромагнітного поля (ЕМП) та акустичного поля (АП) різних частот [1]. Сьогодні зібрано багато даних, які демонструють стимулювальну, інгібувальну або руйнівну дію цих полів на мікробіологічні об'єкти. На думку багатьох науковців, біологічний вплив як ЕМП, так і АП зумовлені впливом на молекули води, розчинені в ній речовини та стан клітинних мембран.

Біологічні ефекти дії ЕМП вивчають переважно на прикладі вузьких діапазонів частот: крайньовисокочастотних (КВЧ), надвисокочастотних (НВЧ), наднизькочастотних та слабкіших випромінювань. Доволі часто в експериментальних роботах розглядають дію лише магнітних полів (з частотами до 100 Гц), припускаючи, що електрична складова не здатна впливати на результат експерименту. З невідомих причин достатньо часто слабкі поля (з частотами до 500 Гц) порівняно із високочастотними (на рівні кГц та ГГц) випромінюваннями є ефективнішими щодо пригнічення різних внутрішньоклітинних процесів. Однак, властивість інгібувати розвиток мікроорганізмів мають усі типи ЕМП – відносно слабкі, майже статичні та більш енергомісткі випромінювання. Сьогодні зібрано доволі багато даних, які демонструють мутагенний характер дії ЕМП: одноланцюгові розриви ДНК та збільшення хромосомних аберацій. Показано також значне пригнічення синтезу та репараційних процесів ДНК під дією слабких електромагнітних полів (50–100 Гц).

Поряд із дією інгібувального характеру є приклади стимулювання певних процесів життєдіяльності мікроорганізмів. Так, ПМП низької інтенсивності (0,1–1,0 мТл) здатне стимулювати ріст та метаболізм *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus albus* і *Aspergillus niger* як у твердих, так і в рідких поживних середовищах. Електромагнітне опромінення в міліметровому частотному діапазоні індукує утворення активних внутрішньоклітинних метаболітів. Є дані, що ЕМП мікрохвильового діапазону (900 МГц) не проявляють мутагенних ефектів на дріжджі *Saccharomyces cerevisiae*, а більш високочастотні поля в діапазоні 50–55 ГГц навіть мають стимулювальну дію [1].

Біологічну дію акустичних хвиль пов'язують великою мірою з явищем кавітації. Імпульси, що виникають при стисканні кавітаційних каверн, здатні руйнувати рідкі, тверді тіла та біооб'єкти, зокрема мікроорганізми [1, 24, 311]. Встановлено, що у водних розчинах за дії АП (приблизно 1 кГц) відбуваються біохімічні зміни, зокрема генеруються електричні потенціали, що призводять до зміни властивостей клітинних мембран та втрати провідності іонних каналів і, відповідно, концентрації речовин у цитоплазмі [1, 24, 311]. Вплив на біооб'єкти залежить від інтенсивності АП, а саме при інтенсивності звуку до 2–3 Вт/см² при частоті 105–106 Гц частинки біологічного об'єкта здійснюють мікроколивання [17, 26].

Ефекти, під дією яких перебувають мікроорганізми, зазвичай зумовлені спільною дією декількох факторів. Вирішення завдань, пов'язаних із практичним застосуванням ЕМП, ПМП та АП у медицині та біотехнології, потребує їх подальшого вивчення. У зв'язку з цим великого значення для з'ясування шляхів та механізмів впливу цих полів на мікроорганізми набувають дослідження на різних мікробіологічних об'єктах.

Метою нашої роботи було вивчення деяких аспектів реакції мікроорганізмів на дію ЕМП, ПМП та АП.

Експериментальна частина. Об'єктами дослідження було вибрано бактерії *E. coli* та *St. aureus* і дріжджоподібні гриби *Candida tenuis*. Як поживні середовища використовувались м'ясопептонний бульон (МПБ) для культивування бактерій та пивне сусло (ПС) для дріжджів. Мікроорганізми розводили на стерильному фізіологічному розчині до концентрації 10⁶ КУО/мл. Готову суспензію мікроорганізмів у кількості 0,5 мл вносили у пробірки з 4,5 мл стерильного

середовища та піддавали опроміненню, паралельно проводили контрольний дослід. Перед опроміненням проводили початкові заміри контролів на пропускання світла порівняно з середовищами, вимірювання здійснювали на колориметрі фотоелектричному КФК-2 при $\lambda = 670$ нм для *E. coli* та *St. aureus* та $\lambda = 750$ нм для *C. tenuis* порівняно з середовищем (МПБ) для бактерій та сушлом для *C. tenuis*. У дослідях використовували два типи магнітних полів: ЕМП з частотою 51 МГц та ПМП напруженістю 790 ка/м (10 000 ерстед), а також АП частотою 100–500 Гц та інтенсивністю звуку 160 дБ. Опромінення ЕМП проводили протягом 3, 5, 10 хв, опромінення ПМП здійснювали 5, 10 та 15 хв, опромінення АП – протягом 1, 2 та 3 хв. Після опромінення дослідні пробірки і контроль розміщували в термостаті за температури 37 °С для бактерій та 30 °С для дріжджів на чотири доби. Кожну добу знімали показники світлопропускання (Т) всіх зразків. Результати вимірювань поглинання світла (1-Т) наведено в табл. 1–3.

Таблиця 1

Поглинання світла мікроорганізмами після впливу ЕМП

Вид мікроорганізмів	Значення поглинання світла (100-Т), %; оптична густина D (в дужках)							
	Час опромінення						Контроль	Контроль
	3 хв		5 хв		10 хв			
	1 доба	2 доба	1 доба	2 доба	1 доба	2 доба	1 доба	2 доба
<i>E. coli</i>	68 (0,57)	77 (0,65)	54 (0,35)	74 (0,6)	45 (0,27)	77 (0,65)	54 (0,35)	79 (0,69)
	3 доба	5 доба	3 доба	5 доба	3 доба	5 доба	3 доба	5 доба
<i>C. tenuis</i>	немає даних	10 (0,11)	30 (0,2)	40 (0,24)	30 (0,2)	20 (0,12)	60 (0,5)	60 (0,5)

Таблиця 2

Поглинання світла мікроорганізмами після впливу ПМП

Вид бактерій	Значення поглинання світла (100-Т), %; оптична густина D (в дужках)							
	Час опромінення (напруженість магнітного поля 3 000 ерстед (25 А, 25 мм))						Контроль	Контроль
	5 хв		10 хв		15 хв			
	1 доба	2 доба	1 доба	2 доба	1 доба	2 доба	1 доба	2 доба
<i>E. coli</i>	51 (0,32)	72 (0,56)	49 (0,3)	74 (0,6)	48 (0,29)	69 (0,52)	70 (0,52)	81 (0,74)
	3 доба	5 доба	3 доба	5 доба	3 доба	5 доба	3 доба	5 доба
<i>C. tenuis</i>	5 (0,025)	7 (0,035)	2 (0,012)	2 (0,01)	6 (0,03)	4 (0,02)	3 (0,02)	3 (0,02)

Таблиця 3

Поглинання світла бактеріями після впливу акустичного опромінювання

Вид бактерій	Оптична густина, D							
	Час опромінення						Контроль	Контроль
	1 хв		2 хв		3 хв			
	1 доба	2 доба	1 доба	2 доба	1 доба	2 доба	1 доба	2 доба
<i>E. coli</i>	0,447	0,56	0,452	0,565	0,446	0,485	0,454	0,488
<i>St. aureus</i>	0,41	0,429	0,411	0,456	0,408	0,457	0,407	0,446

Результати та обговорення. Результати спостережень дають можливість стверджувати, що бактерії та плісеневі гриби не однаково реагують на дію ЕМП та ПМП, що зумовлено різними механізмами їхнього метаболізму. Як показано на рис. 1, дія ЕМП на *E. coli* має незначний тимчасово пригнічувальний характер, що проявляється тільки за добу після опромінення. Хоча короткочасна дія (3 хв) цього поля, навпаки, запускає невідомі нам механізми прискорення поділу клітин, що пізніше нівелюється. Всі ці незначні зміни росту культури *E. coli* вирівнюються

порівняно з контролем. Протилежним є вплив цих полів на культуру дріжджових грибів *S. tenuis* (рис. 2), де спостерігається очевидна пригнічувальна дія як через три, так і через п'ять діб після опромінення. Тут вплив найменшою тривалістю (3 хв) спричиняє найбільший ефект, що свідчить про чутливість цієї культури до зовнішніх впливів.

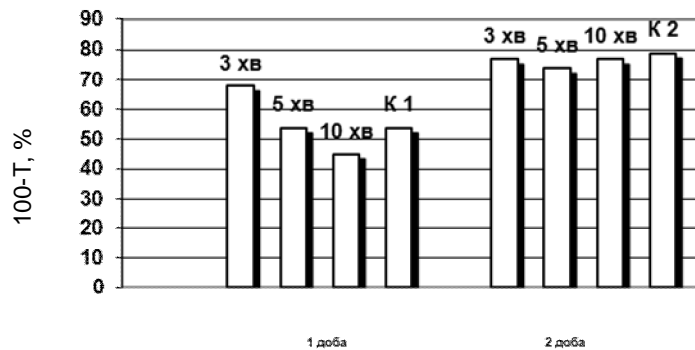


Рис. 1. Залежність показників поглинання світла (100-T, %) від росту *E. coli* за першу і другу добу після впливу ЕМП

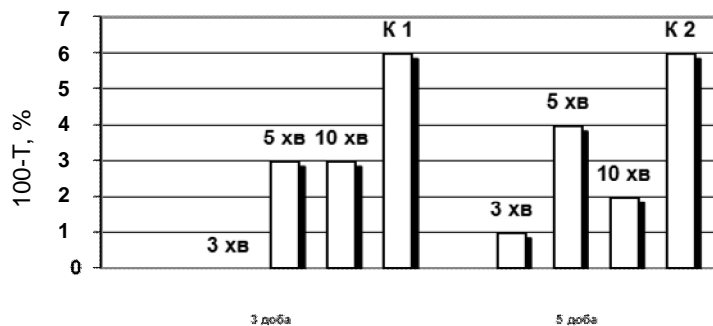


Рис. 2. Залежність показників поглинання світла (100-T, %) від росту *S. tenuis* через три та п'ять діб після впливу ЕМП

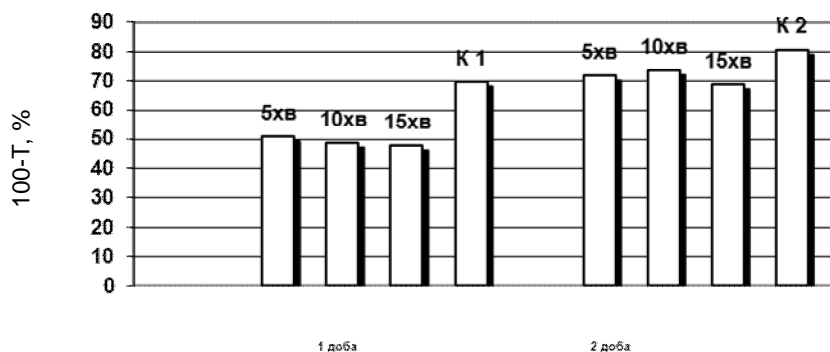


Рис. 3. Залежність показників поглинання світла (100-T, %) від росту *E. coli* за першу і другу добу після впливу ПМП напруженістю $H=790$ ка/м

Постійне магнітне поле напруженістю $H=790$ ка/м на *E. coli* мають також слабо виражений пригнічувальний характер, а також дія різною тривалістю (5, 10, 15 хв) є практично однаковою, що зумовлено самою природою цього поля (рис. 3). Інші дані ми отримали для *S. tenuis* (рис. 4). Тут ПМП мали стимулювальний ефект порівняно з контролем, і його вплив тривалістю 5 хв показав найбільший ріст мікроорганізмів як за три доби, так і за п'ять діб.

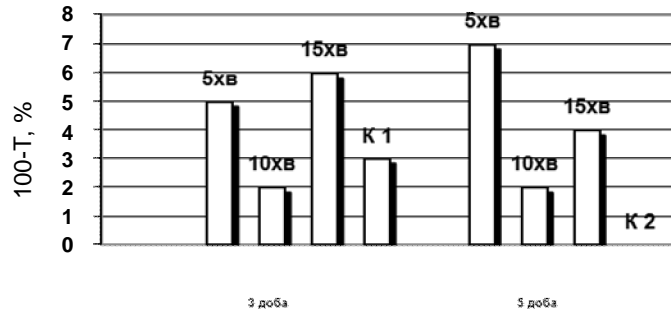


Рис. 4. Залежність показників поглинання світла (100-T, %) від росту *C. tenuis* за три та п'ять діб після впливу ЕМП

Встановлено також, що суттєвих змін АП звукового діапазону не спричиняють. Хоча у *E. coli* на другий день після 1 хв та 2 хв опромінення спостерігається очевидне збільшення росту порівняно з контролем (рис. 5). З отриманих результатів ми можемо припустити, що все таки акустичні хвилі (переважно її частотна складова) здатні впливати на бактерії, стимулюючи процеси росту, які проявляються тільки на другий день – у бактерій як *E. coli*, так і *St. aureus* (рис. 6).

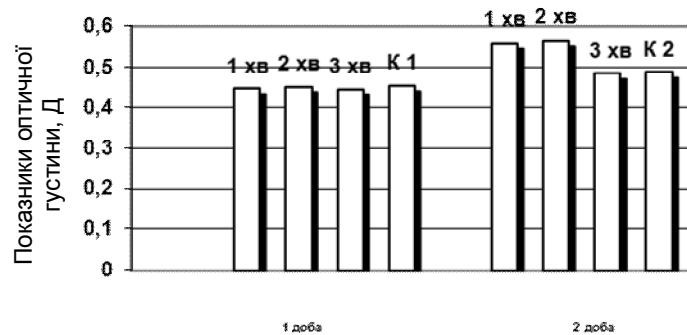


Рис. 5. Залежність показників оптичної густини від росту *E. coli* за першу і другу добу за різної тривалості акустичного опромінювання

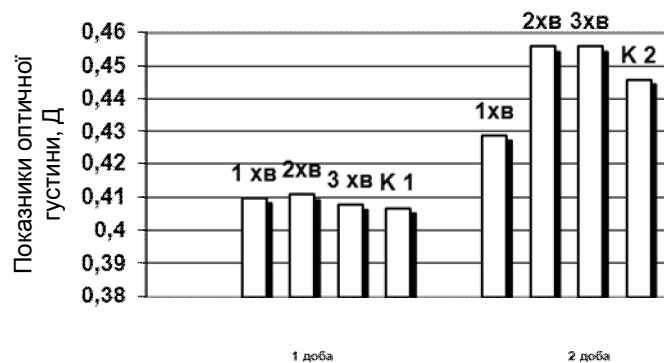


Рис. 6. Залежність показників оптичної густини від росту *St. aureus* за першу і другу добу за різної тривалості акустичного опромінювання

З діаграм росту видно, що дія вищевказаних магнітних полів на бактерії і гриби є різною, що зумовлено різними механізмами їх метаболізму, а саме дія ЕМП на *E. coli* має незначний тимчасовий пригнічувальний характер, що проявляється тільки за добу після опромінення. Хоча короточасна дія (3 хв) цього поля, навпаки, запускає невідомі нам прискорювальні реакції поділу клітин, що пізніше нормалізується. Тобто всі ці незначні зміни в рості цього виду мікроорганізмів вирівнюються порівняно з контролем, чого не можна сказати про дію цих полів на дріжджові

гриби *C. tenuis*. Їх пригнічувальна дія очевидна і спостерігається як за три, так і за п'ять діб після опромінення. Дія найменшою тривалістю (3 хв) спричиняє найбільший вплив, що підтверджує чутливість цієї культури до цього типу зовнішніх впливів.

Постійні магнітні поля досліджуваної напруженості на *E. coli* мають також слабо виражений пригнічувальний характер, а також дія різною тривалістю (5, 10, 15 хв) не приводить до суттєвих змін, що зумовлено самою природою цього поля. Інші дані ми отримали для кандіди. Тут постійні магнітні поля мали стимулювальний ефект порівняно з контролем, а його вплив тривалістю 5 хв показав найбільший ріст мікроорганізмів як за три доби, так і за п'ять.

Висновки. Результати досліджень показали, що бактерії і гриби по-різному реагують на дію ЕМП та ПМП, що, очевидно, зумовлено особливостями їх будови, хімічного складу та метаболізму. На *E. coli* ЕМП та ПМП мають тимчасово пригнічувальний вплив, що з'являється тільки у першу добу після опромінення. Дріжджі *C. tenuis* виявились чутливішими до дії цих полів, причому ЕМП пригнічували ріст цих мікроорганізмів, а ПМП, навпаки, мали невеликий стимулювальний ефект порівняно з контролем, і його вплив тривалістю 5 хв показав найбільший ріст мікроорганізмів як за три доби, так і за п'ять. Встановлено також, що АП звукового діапазону здатні впливати на бактерії, стимулюючи процеси росту, які проявляється тільки на другий день у бактерій як *E. coli*, так і *St. aureus*. Для кращого розуміння впливу акустичних хвиль вказаного діапазону частоти та інтенсивності на мікроорганізми доцільно розширити спектр досліджуваних об'єктів, додатково вибравши грибові та цвільові мікроорганізми.

1. Пресман А. С. . *Электромагнитные поля и живая природа*. – М.: Наука, 1968. – 112 с.
2. Сорока С. А. *Влияние акустических колебаний на биологические объекты // Вибрация в технике и технологиях*. – 2005. – № 1. – С. 39–41.
3. *Физические основы применения ультразвука в медицине экологии: учебно-методическое пособие / Под общ. ред. проф. С. П. Кундаса*. Минск: МГЭУ им. А. Д. Сахарова, 2009. – 110 с.
4. Акопян В. Б. *Основы взаимодействия ультразвука с биологическими объектами: Ультразвук в медицине, ветеринарии и экспериментальной биологии*. – М.: МГТУ им. Н. Э. Баумана, 2005. – 224 с.
5. Лошицкий П. П. *Влияние электромагнитного излучения на молочнокислые бактерии / П. П. Лошицкий, Л. О. Косоголова, Я. В. Дем'янова, К. М. Яблонська*. – К.: Проблемы екологічної біотехнології, 2014. – № 1.
6. Malyapa Robert S. *Measurement of DNA damage after exposure to 2450 MHz electromagnetic radiation / Malyapa Robert S., Ahern Eric W., Straube William L., Moras Eduardo G., Pickard William F., Roti Roti Joseph L. // Radiat. Res.* – 1997, No. 6. – P. 608–617.
7. Нижельская А. И., Якунов А. В. *Оптимизация экспериментальных исследований резонансной реакции Saccharomyces cerevisiae на воздействие ЭМИ миллиметрового диапазона. Физика живого*. 2004, (1), 53–62.
8. Yakunov A. V. *Influence of Processing of Yeast Saccharomyces cerevisiae with Millimeter Waves on Fermentation Indices in Technology of Bioethanol Production / A. V. Yakunov, A. I. Nizhelska, L. V. Marinchenko, V. A. Marinchenko, V. A. Makara // Surface Engineering and Applied Electrochemistry*. – 2015. – 51, No.2. – P. 156–161.