

Научная статья

УДК 577.17:635.7

doi:10.33284/2658-3135-105-4-35

### Взаимодействие ультрадисперсных частиц оксида кобальта $\text{Co}_3\text{O}_4$ с экстрактом травы душицы *Origanum vulgare*

Даниил Евгеньевич Шошин<sup>1</sup>, Елена Анатольевна Сизова<sup>2,3</sup>, Айна Маратовна Камирова<sup>4</sup>

<sup>1,2,4</sup>Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, Оренбург, Россия

<sup>3</sup>Оренбургский государственный университет, Оренбург, Россия

<sup>1</sup>daniilshoshin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3086-681X>

<sup>2,3</sup>sizova.178@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5125-5981>

<sup>4</sup>ayna.makaeva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1474-8223>

**Аннотация.** Обозначены перспективы применения фитобиотиков и ультрадисперсных материалов в кормлении сельскохозяйственных животных. Проведена оценка биологической активности ультрадисперсных частиц (УДЧ)  $\text{Co}_3\text{O}_4$  и экстракта *Origanum vulgare* в тесте ингибирования бактериальной люминесценции индивидуально и в комплексе. Полученные результаты свидетельствуют о высоких бактерицидных свойствах УДЧ ( $\text{EC}_{50}$  при  $9,8 \times 10^{-4}$  моль/л) и растительного экстракта. Показано, что применение этих веществ в комплексе нейтрализует негативный эффект. Установлены дозы, рекомендованные к исследованию *in situ* (от  $7,6 \times 10^{-6}$  до  $6,1 \times 10^{-5}$  моль/л для УДЧ, 64-кратное разбавление для экстракта).

**Ключевые слова:** растения, *Origanum vulgare*, люминесценция,  $\text{Co}_3\text{O}_4$ , ультрадисперсные частицы, фитобиотики

**Благодарности:** работа выполнена при поддержке Российского научного Фонда, проект № 22-26-00254.

**Для цитирования:** Шошин Д.Е., Сизова Е.А., Камирова А.М. Взаимодействие ультрадисперсных частиц оксида кобальта  $\text{Co}_3\text{O}_4$  с экстрактом травы душицы *Origanum vulgare* // Животноводство и кормопроизводство. 2022. Т. 105, № 4. С. 35-48. <https://doi.org/10.33284/2658-3135-105-4-35>

Original article

### Interaction of $\text{Co}_3\text{O}_4$ cobalt oxide ultrafine particles with oregano herb extract *Origanum vulgare*

Daniil E Shoshin<sup>1</sup>, Elena A Sizova<sup>2,3</sup>, Ayna M Kamirova<sup>4</sup>

<sup>1,2,4</sup>Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia

<sup>3</sup>Orenburg State University, Orenburg, Russia

<sup>1</sup>daniilshoshin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3086-681X>

<sup>2,3</sup>sizova.178@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5125-5981>

<sup>4</sup>ayna.makaeva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1474-8223>

**Abstract.** Prospects of phytobiotics and ultrafine materials applying in livestock feeding are presented. The biological activity of  $\text{Co}_3\text{O}_4$  ultrafine particles (UFP) and *Origanum vulgare* extract was evaluated in the bacterial luminescence inhibition test individually and in combination. The results obtained indicate high bactericidal properties of UFP ( $\text{EC}_{50}$  at  $9.8 \times 10^{-4}$  mol/L) and plant extract. It was shown that

the applying of these substances in the combination neutralizes the negative effect. The doses recommended for the *in situ* study were established (from  $7.6 \times 10^{-6}$  to  $6.1 \times 10^{-5}$  mol/L for UFP, 64-fold dilution for the extract).

**Keywords:** plants, *Origanum vulgare*, luminescence,  $\text{Co}_3\text{O}_4$ , ultrafine particles, phytobiotics

**Acknowledgments:** the work was supported by the Russian Science Foundation, Project No. 22-26-00254.

**For citation:** Shoshin DE, Sizova EA, Kamirova AM. Interaction of  $\text{Co}_3\text{O}_4$  cobalt oxide ultrafine particles with oregano herb extract *Origanum vulgare*. *Animal Husbandry and Fodder Production*. 2022;105(4):35-48 (In Russ.). <https://doi.org/10.33284/2658-3135-105-4-35>

### **Введение.**

Животноводство, как интенсивно развивающаяся отрасль, нуждается в постоянном повышении рентабельности при увеличении объёмов производства, что достигается за счёт поиска новых способов заготовки кормов и их компонентов, в частности минеральных добавок и пребиотических агентов с высоким потенциалом действия и биодоступностью. Особенно перспективны в данном отношении УДЧ эссенциальных микроэлементов (Сизова Е.А. и др., 2018а) с возможностью модуляции свойств за счёт изменения формы, размеров и концентрации (Singh AK, 2022), а также фитобиотические добавки, эффективность которых как альтернативы антибиотикам – стимуляторам роста неоднократно доказана на широком спектре микроорганизмов. Более того, установлено, что они обладают антиоксидантной, противовоспалительной и антигельминтозной активностью, стимулируют ферментацию рубцового содержимого, азотный обмен, переваривание протеина и клетчатки (Рязанов В.А. и др., 2021).

Однако перед введением в корма подобных веществ в связи с широкой вариабельностью свойств в зависимости от условий синтеза УДЧ (Miroshnikov SA et al., 2019), источника растительных экстрактов и их химической структуры необходимо проведение предварительной оценки биологической активности и стабильности системы УДЧ-фитобиотик, их синергетических или антагонистических эффектов (Сизова Е.А. и др., 2018б). В связи с чем актуальна оценка УДЧ  $\text{Co}_3\text{O}_4$  и экстракта *Origanum vulgare* по отдельности и в комплексе для выявления общего биотического значения.

### **Цель исследования.**

Определить характер взаимодействия УДЧ  $\text{Co}_3\text{O}_4$  и экстракта *Origanum vulgare* в тесте ингибирования бактериальной люминесценции.

### **Материалы и методы исследования.**

**Объект исследования.** Трава душицы (ООО «фирма КИМА»)

**Схема эксперимента.** Эксперимент проводили в два этапа на базе центра «Нанотехнологии в сельском хозяйстве» ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН:

1) Чистые для анализа УДЧ  $\text{Co}_3\text{O}_4$  (99,99 %; Хисамутдинов Р.А., Россия) в количестве 160,4 мг диспергировали ультразвуком частотой 35 кГц в 1 мл дистиллированной воды в течение 30 минут для получения однородной суспензии. Одновременно проводили экстрагирование 20 г травы душицы на водяной бане. После чего готовили серию двукратных разведений полученных компонентов с разбавлениями от двух до  $2 \times 10^6$  крат.

2) Исходя из данных первого этапа, определяли значение эффективных концентраций УДЧ, подавляющих 80, 50, 20 % люминесценции, а также стимулирующих её (NTOX+) и номера разведений растительных экстрактов с негативным и позитивным действием. После чего комбинировали соответствующие суспензии и растворы для выявления взаимного действия.

Биологическую активность оценивали с помощью люминесцентного штамма *Escherichia coli K12 TG1* (коммерческое название «Эколюм», «НВО ИММУНОТЕХ», Россия), несущего гибридную плазмиду *P. leiognathi 54D10* на многофункциональном микропланшетном ридере TECAN Infinite F200. Для графического отображения полученных результатов вычисляли относительное значение биолюминесценции по формуле:

$$A = I_0/I_k \times 100 \%,$$

где  $I_k$  – светимость контрольной пробы,

$I_0$  – светимость опытной пробы.

Метод позволяет определить как интенсифицирующие, так и ингибирующие, субтоксичные дозы и, соответственно, вывести концентрации, рекомендуемые к дальнейшему тестированию на животных. Эффективность доказана в ряде исследований по определению активности микроэлементов в ультрадисперсной форме (Сизова Е.А. и др., 2019; Сизова Е.А. и Мирошников С.А., 2016).

**Оборудование и технические средства.** Исследования выполнены в ЦКП БСТ РАН <http://цкп-бст.рф> и центре «Нанотехнологии в сельском хозяйстве». Многофункциональный микропланшетный ридер TECAN Infinite F200 («Tecan Austria GmbH», Австрия).

#### Результаты исследований.

Относительные значения люминесценции бактериального штамма в среде с УДЧ  $\text{Co}_3\text{O}_4$  изменялись обратно пропорционально его концентрации (табл. 1). Так, суспензии с содержанием  $\text{Co}_3\text{O}_4$   $7,8 \times 10^{-3}$ ;  $9,8 \times 10^{-4}$ ;  $1,5 \times 10^{-5}$  моль/л (здесь и далее указаны молярные концентрации в пересчёте на кобальт) подавляли соответственно свыше 80, 50 и 20 % люминесценции, а  $4,8 \times 10^{-7}$  моль/л вела к кратковременному превышению контрольных значений на 60-90 минуте эксперимента.

Таблица 1. Относительное значение люминесценции бактериального штамма *Escherichia coli* K12 TGI в среде с различным содержанием УДЧ  $\text{Co}_3\text{O}_4$

Table 1. Relative luminescence value of the bacterial strain *Escherichia coli* K12 TGI in an environment with different content of  $\text{Co}_3\text{O}_4$  UFP

Время (мин) / Time (min)	Концентрация (моль/л) / Concentration (mol/L)													
	$5 \times 10^{-1}$	$6,3 \times 10^{-2}$	$3,1 \times 10^{-2}$	$7,8 \times 10^{-3}$	$1,9 \times 10^{-3}$	$9,8 \times 10^{-4}$	$4,9 \times 10^{-4}$	$1,2 \times 10^{-4}$	$6,1 \times 10^{-5}$	$1,5 \times 10^{-5}$	$7,6 \times 10^{-6}$	$9,5 \times 10^{-7}$	$4,8 \times 10^{-7}$	
0	2,7	3,4	6,0	16,1	36,3	52,0	56,0	68,0	75,2	77,3	82,8	83,5	87,7	
30	0,4	4,6	7,9	19,4	39,4	53,5	58,7	68,3	82,6	90,2	96,6	100,9	103,4	
60	0,5	4,8	7,5	19,1	38,4	47,3	47,6	59,1	73,4	90,7	99,8	113,4	115,0	
90	0,6	4,5	6,3	19,2	30,5	44,4	45,9	57,5	66,8	79,5	90,5	102,8	105,4	
120	0,7	3,9	6,4	14,2	30,8	45,7	48,8	57,5	65,7	74,4	87,0	97,0	99,4	
150	0,9	4,0	6,6	14,1	31,9	45,6	49,3	59,2	66,0	72,2	84,3	95,2	96,4	
180	1,0	4,3	6,8	15,2	33,0	48,2	51,0	62,0	68,2	71,9	85,8	95,2	94,2	

Примечание: Числовые значения соответствуют величине относительного значения люминесценции A (%). Цветовая заливка – показателям: ■ - Tox, ■ - EC<sub>80</sub>, ■ - EC<sub>50</sub>, ■ - EC<sub>20</sub>, ■ - NTOX, ■ - NTOX+, то есть концентрациям УДЧ, вызывающим свыше 95, 80, 50 и 20 % тушения биосенсора, а также стимулирующим люминесценцию (95 и свыше 105 %) по сравнению с контролем

Note: Numerical values correspond to the relative luminescence value A (%). Color fill – indicators: ■ - Tox, ■ - EC<sub>80</sub>, ■ - EC<sub>50</sub>, ■ - EC<sub>20</sub>, ■ - NTOX, ■ - NTOX+, that is, the concentration of UFP, causing more than 95, 80, 50 and 20% of biosensor quenching, as well as stimulating luminescence (95 and over 105%) compared to the control

В случае же с экстрактом *Origanum vulgare* ингибирование бактериального свечения наблюдалось лишь при 2-8-кратном разведении на первых минутах эксперимента, после чего относительное значение люминесценции в опытных пробах составляло от 150 до 700 %, достигая максимальных показателей при 64-кратном разведении исходного экстракта (табл. 2).

Таблица 2. Относительное значение люминесценции бактериального штамма *Escherichia coli* K12 TGI в среде с различным содержанием экстракта *Origanum vulgare*Table 2. Relative luminescence value of the bacterial strain *Escherichia coli* K12 TGI in an environment with different content of *Origanum vulgare* extract

Время (мин)/ Time (min)	Концентрация (моль/л) / Concentration (mol/L)											
	2	4	8	16	32	64	$12,8 \times 10^1$	$25,6 \times 10^1$	$51,2 \times 10^1$	$10,2 \times 10^2$	$20,5 \times 10^2$	$40,9 \times 10^2$
0	6,2	13,7	35,7	61,3	89,6	102,9	115,6	119,5	122,6	110,9	106,7	93,1
30	9,4	22,6	56,0	85,5	125,7	149,7	157,1	154,7	167,8	155,3	143,6	95,6
60	23,0	47,7	98,8	141,4	208,7	226,7	222,4	218,4	244,2	150,2	134,3	82,8
90	60,3	105,1	200,7	277,5	343,6	373,3	360,1	353,0	304,7	184,1	164,7	81,8
120	137,7	196,2	342,1	369,5	463,8	520,8	503,7	404,7	323,1	179,9	159,5	91,7
150	276,9	334,8	460,2	427,5	555,1	631,3	592,3	413,7	302,5	143,0	132,0	96,9
180	521,7	521,9	513,6	480,3	638,6	725,0	559,8	352,4	218,2	138,7	130,6	102,9

Примечание: Числовые значения соответствуют величине относительного значения люминесценции А (%). Цветовая заливка – показателям: ■ - EC<sub>80</sub>, ■ - EC<sub>50</sub>, ■ - EC<sub>20</sub>, ■ - NTOX, ■ - NTOX+, ■ - NTOX++, ■ - NTOX+++ , то есть концентрациям экстракта *Origanum vulgare*, вызывающим свыше 80, 50 и 20 % тушения биосенсора, а также стимулирующим люминесценцию (95, более 105, более 150 и более 300 %) по сравнению с контролем

Note: Numerical values correspond to the relative luminescence value A (%). Color fill – indicators: ■ - EC<sub>80</sub>, ■ - EC<sub>50</sub>, ■ - EC<sub>20</sub>, ■ - NTOX, ■ - NTOX+, ■ - NTOX++, ■ - NTOX+++ , that is, the concentration of *Origanum vulgare* extract, causing more than 80, 50 and 20% of biosensor quenching, as well as stimulating luminescence (95, more than 105, more than 150 and more than 300%) compared to the control

При комбинировании УДЧ в концентрациях  $7,8 \times 10^{-3}$  (EC<sub>80</sub>);  $9,8 \times 10^{-4}$  (EC<sub>50</sub>);  $1,5 \times 10^{-5}$  (EC<sub>20</sub>) и  $4,8 \times 10^{-7}$  моль/л (NTOX+) с экстрактом *Origanum vulgare* в 2- и 64-кратном разбавлении установлено снижение токсичности УДЧ Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (табл. 3). Так, обнаруженные ранее показатели EC<sub>80</sub> и EC<sub>50</sub> при контаминации с экстрактом в 2-кратном разведении наблюдались лишь в течение 30-60 минут.

Таблица 3. Относительное значение люминесценции бактериального штамма *Escherichia coli* K12 TGI в среде с различным содержанием экстракта *Origanum vulgare* и УДЧ Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>Table 3. Relative luminescence value of the bacterial strain *Escherichia coli* K12 TGI in an environment with different content of *Origanum vulgare* extract and Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> UFP

Время (мин)/ Time (min)	Концентрация УДЧ / Concentration of UFP (mol/L)							
	$7,8 \times 10^{-3}$ (EC <sub>80</sub> )	$9,8 \times 10^{-4}$ (EC <sub>50</sub> )	$1,5 \times 10^{-5}$ (EC <sub>20</sub> )	$4,8 \times 10^{-7}$ (NTOX+)	$7,8 \times 10^{-3}$ (EC <sub>80</sub> )	$9,8 \times 10^{-4}$ (EC <sub>50</sub> )	$1,5 \times 10^{-5}$ (EC <sub>20</sub> )	$4,8 \times 10^{-7}$ (NTOX+)
	Разведение экстракта (кратность) / Dilution of the extract (multiplicity)							
	×2				×64			
0	17,0	22,5	23,2	24,1	81,2	121,1	137,0	146,9
30	23,3	29,5	30,0	31,3	103,7	150,5	171,6	176,8
60	50,6	64,5	65,0	65,9	143,0	207,0	228,5	228,6
90	109,3	136,7	138,0	140,1	192,3	275,8	299,7	294,5
120	167,5	212,1	215,0	215,5	209,5	301,3	321,3	313,4
150	220,1	272,7	276,0	278,8	210,0	304,1	321,0	310,3
180	259,1	321,6	324,7	334,1	209,5	306,5	321,3	313,0

Примечание: Числовые значения соответствуют величине относительного значения люминесценции А (%). Цветовая заливка – показателям: ■ - EC<sub>80</sub>, ■ - EC<sub>50</sub>, ■ - EC<sub>20</sub>, ■ - NTOX, ■ - NTOX+, ■ - NTOX++, то есть концентрациям УДЧ, вызывающим свыше 80, 50 и 20 % тушения биосенсора, а также стимулирующим люминесценцию (95, более 105 и более 150 %) по сравнению с контролем

Note: Numerical values correspond to the relative luminescence value A (%). Color fill – indicators: ■ - EC<sub>80</sub>, ■ - EC<sub>50</sub>, ■ - EC<sub>20</sub>, ■ - NTOX, ■ - NTOX+, ■ - NTOX++, that is, the concentration of UFP causing more than 80, 50 and 20% of biosensor quenching, as well as stimulating luminescence (95, more than 105 and more than 150%) compared to the control

После чего светимость значительно возрастала, достигая 259,1 % к контролю в пробе EC<sub>80</sub>; 321,6 % – в пробе EC<sub>50</sub>; 324,7 % – в пробе EC<sub>20</sub> и 334,1 % – в NTOX+, превышая при этом анало-

гичные значения светимости в суспензии УДЧ  $\text{Co}_3\text{O}_4$  в 17,0; 6,7; 3,8; 3,3 раза соответственно. Также использование 60-кратного разведения экстракта *Origanum vulgare* позволило полностью устранить негативное воздействие ультрадисперсных частиц.

#### Обсуждение полученных результатов.

Высокая реакционная способность УДЧ, а следовательно, и токсичность, связана в первую очередь с их малыми размерами, возможностью проникать через клеточные мембраны и индуцировать синтез АФК, что сопровождается нарушениями в репарации ДНК, процессах транскрипции и трансляции, и в итоге ведёт к апоптозу клетки (PJ JC et al., 2021), также возможно нарушение функций митохондрий и снижение выработки АТФ (Wang H et al., 2018). При этом наиболее токсичны положительно заряженные частицы, легко пересекающие клеточные барьеры и связывающиеся с ДНК (Pogribna M et al., 2020). В частности, касательно УДЧ  $\text{Co}_3\text{O}_4$ , установлено, например, что контаминированные им чернозёмы характеризуются снижением общей численности бактерий, особенно рода *Azotobacter*, активности каталазы и дегидрогеназ (Колесников С.И. и др., 2020), а у пресноводной микроводоросли *Chlorella minutissima* при аналогичном контакте замедляется рост и синтез хлорофилла в клетках, причём выявленные в этом случае эффективные концентрации  $\text{EC}_{50}$  согласуются с полученными в опыте № 1 и составляют 38,16±1,99 мг/л ( $\approx 4,8 \times 10^{-4}$  моль/л) (Sharan A and Nara S, 2020).

С другой стороны, при правильном подборе дозы УДЧ – это высоко лабильный, биосовместимый источник микроэлементов, необходимых компонентов широкого спектра аксессуарных веществ в организме животных, включая ферменты (Osman D et al., 2021). Так, кобальт является неотъемлемой частью витамина  $\text{B}_{12}$ , и как следствие, коррин-зависимых энзимов – металлоорганических кофакторов, окислительно-восстановительных либо аденозил и метилкобамидов (АДОСВА, МЕСВА) (Kräutler B and Jaun VM, 2022), например, метилмалонил-КоА-мутаза, лейциномутаза и метионинсинтаза, катализирующих соответственно превращение пропионата в сукцинат, L- $\alpha$ -лейцина – в L- $\beta$ -лейцин, гомоцистеина – в метионин (González-Montaña JR et al., 2020). При этом преимущества УДЧ над неорганическими солями подтверждаются рядом исследований с применением УДЧ цинка (Mondal AH et al., 2020), меди (Sawosz E et al., 2018), железа (Afshari A et al., 2021) и кобальта в частности (Makarov PM et al., 2017), что отмечается улучшением роста, ферментативной активности, биохимических параметров сыворотки и иммунных функций. Дополнительно показана возможность использования субтоксичных концентраций  $\text{Co}_3\text{O}_4$  как альтернативы препаратам тетрациклина и гентамицина на модельных организмах *E. coli* и *S. aureus* с эффективными дозами  $\geq 125$  мкг/мл ( $\approx 1,5 \times 10^{-3}$  М) и  $\geq 31,25$  мкг/мл ( $\approx 3,8 \times 10^{-4}$  М) соответственно (Gupta V et al., 2022).

Что касается фитобиотических добавок, они также нашли широкое применение в животноводстве (Kuralkar P and Kuralkar SV, 2021). В зависимости от вида растений, используемого для экстрагирования органа (лист, побег, корень, соцветие), условий произрастания и вида биологически активных веществ (танины, сапонин, флавоноиды, эфирные масла) (Milenković L et al., 2021) они могут быть использованы не только как альтернатива антибиотикам, стимуляторам роста, что показано на примере душицы, тимьяна, гвоздики, корицы и чёрного перца в опыте с пищевыми патогенами *Staphylococcus aureus*, *Listeria* sp, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. (Almeida JM et al., 2022), грибами *Candida* (Постникова О.Н. и др., 2021) и *Fusarium* (Bounar R et al., 2020), но и как антиоксидантные компоненты (Ndomou SCH et al., 2021), что вкупе улучшает показатели роста, воспроизводительные и иммунные функции, снижает выбросы метана и аммиака (Kuralkar P and Kuralkar SV, 2021). Так, применение эфирного масла *Origanum vulgare* в составе кормовой добавки Ориган (Енгашев С.В., 2007) и в комплексе с *Hypericum perforatum*, *Tussilago farfara*, *Tanacetum vulgare* (Полянский М.М., 2010) способствовало сохранности поголовья цыплят-бройлеров, увеличению среднесуточного прироста и улучшению состояния ЖКТ. Вместе с тем у телят под влиянием настоя цветков душицы на 14 сутки после приёма увеличивалась концентрация IgG в крови (Турьспаева Ш.Ж. и др., 2019), а эксперименты *in-vitro*, моделирующие рубцовое пищеварение, свидетельствовали об образовании большего количества микробного белка и снижении метаногенеза (Рязанов В.А. и др., 2022). В то же время душица неоднократно упоминается в аквакультуре как действенное антиоксидантное средство, снижающее уровень тиобарбитуровых кислот в крови (Dinardo FR et al., 2020), наряду с улучшением показателей роста, гепато-почечных функций и кишечной морфометрии у рыб (Abdel-Latif HMR et al., 2020).

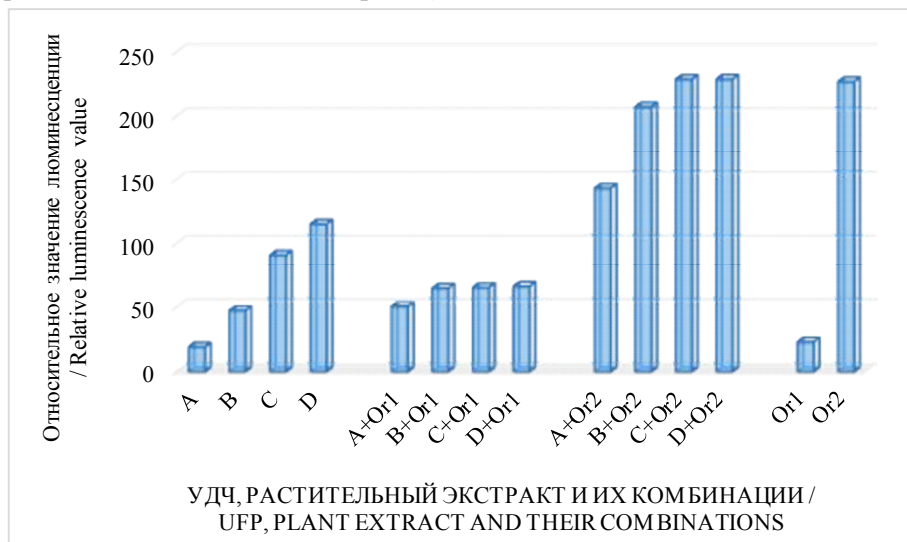
При этом в составе эфирного масла и водных экстрактов *Origanum vulgare* установлено наличие таких веществ, как фенолы (тимол, карвакрол, 4-терпинеол), моноциклические терпены (лимонен), би- и трициклические сесквитерпены ( $\beta$ -кариофиллен), свободные спирты, дубильные и

красящие вещества, аскорбиновая кислота, флавоноиды (Сачивко Т.В. И др., 2020) и сахара (галактоза, глюкоза, арабиноза, ксилоза, рамноза) (Han F et al., 2017). Некоторые из них обладают выраженным антимикробным действием, например, тимол, карвакрол и лимонен подавляют образование биоплёнок *Candida albicans* (Ahmedi S et al., 2022; Miranda-Cadena K et al., 2021), а также размножение возбудителя птичьих энтеритов *Eimeria sp.* (Felici M et al., 2020), 4-терпинеол – развитие *Aspergillus niger* (An P et al., 2019), а  $\beta$ -кариофиллен эффективен как противовирусное и ларвицидное средство (Sobrinho CAN et al., 2021), что согласуется с данными, полученными в опыте № 2, если учесть, что фенолы и терпены – летучие соединения, а опыт проводился в открытом планшете. Цитотоксические эффекты терпенов в первую очередь обусловлены разрушением плазматической мембраны, перекисным окислением липидов, образованием АФК, потерей МТР (*mitochondrial permeability transition pore*, переходная пора проницаемости митохондрий) и нарушением структуры митохондрий.

Одновременно эти же вещества, флавоноиды и танины в низких концентрациях являются антиоксидантами. Показано, что у поросят-отъёмышей, которых кормили смесью карвакрол-тимол, снижается уровень активных форм кислорода (АФК) в корреляции с ростом концентрации глутатиона, что указывает на предотвращение окислительного стресса, параллельно обеспечивается защита клеток от перекиси водорода (Agus НН, 2021). Эффективность флавоноидов и танинов в свою очередь подтверждена в опытах с DPPH, АВТС и гидроксильными радикалами (Huang X et al., 2022; Peng K et al., 2022). В сущности, антиоксидантное действие полифенольных соединений может обеспечиваться за счет трёх механизмов:

- 1) передача атома водорода от функциональной группы на свободный радикал;
- 2) перенос электрона от свободного радикала к полифенолу с образованием катиона радикала и последующим быстрым и обратимым депротонированием в растворе;
- 3) хелатирование металла (Орлова А.А. и Повыдыш М. Н., 2019).

Описанные свойства растительных компонентов объясняют результаты опыта № 3: за счёт связывания высвобождаемых катионов и нейтрализации образуемых радикалов в контаминированной УДЧ  $\text{Co}_3\text{O}_4$  среде экстракт *Origanum vulgare* ингибирует окислительный стресс, причем максимальный эффект наблюдается при использовании малых концентраций фитобиотика, что согласуется с выше приведенными положениями (рис. 1).



Примечание: A, B, C, D – УДЧ  $\text{Co}_3\text{O}_4$  в концентрациях  $7,8 \times 10^{-3}$  ( $\text{EC}_{80}$ );  $9,8 \times 10^{-4}$  ( $\text{EC}_{50}$ );  $1,5 \times 10^{-5}$  ( $\text{EC}_{20}$ ) и  $4,8 \times 10^{-7}$  моль/л соответственно; Or1 и Or2 – экстракт *Origanum vulgare* в 2- и 64-кратном разбавлении

Note: A, B, C, D –  $\text{Co}_3\text{O}_4$  UFP in concentrations  $7,8 \times 10^{-3}$  ( $\text{EC}_{80}$ );  $9,8 \times 10^{-4}$  ( $\text{EC}_{50}$ );  $1,5 \times 10^{-5}$  ( $\text{EC}_{20}$ ) and  $4,8 \times 10^{-7}$  mol/L, respectively; Or1 and Or2 – *Origanum vulgare* extract in 2 and 64 times dilution

**Рис. 1 – Относительное значение люминесценции УДЧ  $\text{Co}_3\text{O}_4$ , экстракта *Origanum vulgare* и их комбинаций на 60-й минуте эксперимента**

**Figure 1 – Relative luminescence value of  $\text{Co}_3\text{O}_4$  UFP, *Origanum vulgare* extract and their combinations at the 60th minute of the experiment**

В свою очередь высокие показатели люминесценции рекомбинантного штамма *Escherichia coli K12 TG1* могут быть вызваны повышенным относительно контроля содержанием в среде сахаров и витаминов. Однако для полного подтверждения представленной гипотезы требуются дополнительные исследования химического состава растительного экстракта и динамики свободных радикалов в исследуемой системе фитобиотик-УДЧ.

#### **Заключение.**

УДЧ  $\text{Co}_3\text{O}_4$  в концентрациях свыше  $9,8 \times 10^{-4}$  моль/л обладают выраженным бактерицидным действием, подавляя более 50 % люминесценции *Escherichia coli K12 TG1*. Они же рекомендованы к тестированию *in situ* как альтернатива антибиотикам стимуляторам роста и источник микроэлемента в дозе от  $7,6 \times 10^{-6}$  до  $6,1 \times 10^{-5}$  моль/л. Водный экстракт *Origanum vulgare* угнетает жизнедеятельность микроорганизмов лишь в исходной концентрации в первые минуты эксперимента, что связано с испарением полифенолов. Он же в 64-кратном разбавлении может быть использован как микрофлоростимулирующий агент. Сочетание небольших концентраций фитобиотика и УДЧ позволяет полностью нивелировать негативный эффект от действия последних.

#### **Список источников**

1. Влияние настоя из цветков душицы обыкновенной (*Origanum vulgare*) на динамику иммуноглобулинов сыворотки крови телят / Ш.Ж. Турыспаева, М.С. Ахметова, Д.С. Оспангали, К.Ж. Умбетжанов // Достижения современной науки: от теории к практике: материалы Междунар. (заочной) науч.-практ. конф., (г. Минск, Беларусь, 28 нояб. 2019 г.) / под общ. ред. А.И. Вострещова. Нефтекамск: НИЦ «Мир науки» (ИП Вострещов А.И), 2019. С. 46-52. [Turyspaeva ShZh, Ahmetova MS, Ospangali DS, Umbetzhanov KZh. Vlijanie nastoja iz cvetkov dushicy obyknovennoj (Origanum vulgare) na dinamiku immunoglobulinov syvorotki krovi teljat. (Conference proceedings) Achievements of modern science: from theory to practice: materialy Mezhdunar. (zaochnoj) nauch.-prakt. konf., (g. Minsk, Belarus', 28 nojab. 2019 g.). pod obshh. red. Vostrecova AI. Neftekamsk: NIC «Mir nauki» (IP Vostrecov AI); 2019:46-52. (In Russ.)].
2. Действие эфирных масел душицы и чабера горного на рост условно-патогенных микроорганизмов / О.Н. Постникова, Л.А. Шевкопляс, Т.А. Кувейда, К.Султанова // Бактериология. 2021. Т. 6. № 3. С. 62. [Postnikova ON, Shevkoplyas LA, Kuevda TA, Sultanova K. Dejstvie jefirnyh masel dushicy i chabera gornogo na rost uslovno-patogennyh mikroorganizmov. Bacteriology. 2021;6(3):62. (In Russ.)].
3. Енгашев С.В. Кормовая добавка для повышения резистентности и продуктивности сельскохозяйственных животных и птицы: пат. 2294648 Рос. Федерация. Заявл. 25.08.2005; опубл. 10.03.2007, Бюл. № 7. 8 с. [Engashev SV. Feed supplement to increase resistance and productivity of livestock and poultry: pat. 2294648 Ros. Federatsiya, Zayavl. 25.08.2005; opubl. 10.03.2007, Byul. № 7:8 p. (In Russ.)].
4. Компонентный и энантиомерный состав эфирных масел душицы обыкновенной / Т.В. Сачивко, Н.А. Коваленко, Г.Н. Супиченко, В.Н. Босак, М.В. Наумов // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы: сб. науч. тр. Гродно: Гродн. гос. аграр. ун-т, 2020. Т. 51. С. 133-140. [Sachyuka TV, Kovalenko NA, Supichenko GN, Bosak VM, Naumov MV. Component composition and enantiomers of essential oils of oregano. Sel'skoe hozjajstvo – problemy i perspektivy: sb. nauch. tr. Grodno: Grodnenskiy gosudarstvennyj agrarnyj universitet. 2020;51:133-140. (In Russ.)].
5. Орлова А.А., Повыдыш М.Н. Обзор методов качественного и количественного анализа танинов в растительном сырье // Химия растительного сырья. 2019. № 4. С. 29-45. [Orlova AA, Povydysh MN. Review of methods for qualitative and quantitative analysis of tannins in plant materials. Khimija Rastitel'nogo Syr'ja. 2019;4:29-45. (In Russ.)]. doi: 10.14258/oskyu2019045459
6. Оценка воздействия фитобиотических препаратов *Salviae folia*, *Scutellaria baicalensis*, *Origanum vulgare* на обменные процессы в модели рубца / В.А. Рязанов, Е.В. Шейда, Г.К. Дускаев, Ш.Г. Рахматуллин, О.В. Кван // Аграрная наука. 2022. № 7-8. С. 86-92. [Ryazanov VA, Sheida EV,

Duskaev GK, Rakhmatullin ShG, Kvan OV. Assessment of the effect of phytobiotic drugs *Salviae folia*, *Scutellaria baicalensis*, *Origanum vulgare* on metabolic processes in the rumen model. *Agrarian Science*. 2022; 7(8): 86-92. (*In Russ.*). doi: 10.32634/0869-8155-2022-361-7-8-86-92

7. Оценка экотоксичности наночастиц оксидов кобальта, меди, никеля и цинка по биологическим показателям состояния чернозёма обыкновенного / С.И. Колесников, В.М. Вардуни, А.Н. Тимошенко, Т.В. Денисова, К.Ш. Казеев, Ю.В. Акименко // Юг России: экология, развитие. 2020. Т. 15. № 1(54). С. 130-136. [Kolesnikov SI, Varduni VM, Timoshenko AN, Denisova TV, Kazeev KSh, Akimenko YV. Estimation of ecotoxicity of nanoparticles of cobalt, copper, nickel and zinc oxides on biological indicators of the state of ordinary chernozem. South of Russia: ecology, development. 2020;15(1-54):130-136. (*In Russ.*). doi: 10.18470/1992-1098-2020-1-130-136

8. Полянский М.М. Кормовая добавка для сельскохозяйственной птицы и животных: пат. 2405374 Рос. Федерация. Заявл. 01.12.2008; опубл. 10.12.2010, Бюл. 34. 8 с. [Poljanskij MM. Feed supplement for farm livestock: pat. 2405374 Ros. Federatsiya, Zayavl. 01.12.2008; opubl. 10.12.2010, Byul. № 34:8 p. (*In Russ.*).

9. Сизова Е.А., Бирюкова М.С., Данилова Ю.С. Эффективность применения наноразмерных форм микроэлементов в кормлении цыплят-бройлеров // Нанотехнологии в сельском хозяйстве: перспективы и риски: материалы междунар. науч.-практ. конф., (г. Оренбург, 26-27 сент. 2018 г.) / под общ. ред. чл.-корр. РАН С.А. Мирошников. Оренбург: Изд-во ФНЦ БСТ РАН, 2018а. С. 145-149. [Sizova EA, Biryukova MS, Danilova YuS. The efficacy of nano forms of trace elements in the feeding of broiler chickens. (Conference proceedings) Nanotehnologii v sel'skom hozjajstve: perspektivy i riski: materialy mezhdunar. nauch.-prakt. konf., (g. Orenburg, 26-27 sent. 2018 g.) pod obshh. red. chl.-korr. RAN Miroshnikova SA. Orenburg: Izd-vo FNC BST RAN; 2018a:145-149. (*In Russ.*).

10. Сизова Е.А., Мирошников С.А. Биоэкологическая оценка различных тест-объектов при контакте с металлами в наноформе // Актуальная биотехнология. 2016. № 3(18). С. 106-108. [Sizova EA, Miroshnikov SA. Bioecological evaluation of different test objects in contact with metals in nanoform. Aktual'naja biotehnologija. 2016;3(18):106-108. (*In Russ.*).

11. Сизова Е.А., Яушева Е.В., Холодилина Т.Н. Биологическая аттестация наночастиц системы CuO на бактериальных моделях // Животноводство и кормопроизводство. 2018б. Т. 101. № 4. С. 15-20. [Sizova EA, Yausheva EV, Kholodilina TN. Biological certification of CuO nanoparticles on bacterial models. *Animal Husbandry and Fodder Production*. 2018b;101(4):15-20. (*In Russ.*).

12. Сравнительная характеристика токсичности ультрадисперсных частиц меди, цинка и их сплавов в тесте ингибирования бактериальной биолюминесценции / Е.А. Сизова, Е.В. Яушева, К.С. Нечитайло, А.П. Иванищева // Животноводство и кормопроизводство. 2019. Т. 102. № 4. С. 10-22. [Sizova EA, Yausheva EV, Nechitailo KS, Ivanisheva AP. Comparative characteristics of the toxicity of ultrafine particles of copper, zinc and their alloys in the test of inhibition of bacterial bioluminescence. *Animal Husbandry and Fodder Production*. 2019;102(4): 10-22. (*In Russ.*). doi: 10.33284/2658-3135-102-4-10

13. Фитобиотики как альтернатива антибиотикам в животноводстве (обзор) / В.А. Рязанов, М.Я. Курилкина, Г.К. Дускаев, В.М. Габидулин // Животноводство и кормопроизводство. 2021. Т. 104. № 4. С. 108-123. [Ryazanov VA, Kurilkina MYa, Duskaev GK, Gabidulin VM. Phytobiotics as an alternative to antibiotics in animal husbandry (review). *Animal Husbandry and Fodder Production*. 2021;104(4):108-123. (*In Russ.*). doi: 10.33284/2658-3135-104-4-108

14. Abdel-Latif HMR, Abdel-Tawwab M, Khafaga AF, Dawood MAO. Dietary oregano essential oil improved the growth performance via enhancing the intestinal morphometry and hepatorenal functions of common carp (*Cyprinus carpio L.*) fingerlings. *Aquaculture*. 2020;526:735432. doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.735432

15. Afshari A, Sourinejad I, Gharaei A, Johari SA, Ghasemi Z. The effects of diet supplementation with inorganic and nanoparticulate iron and copper on growth performance, blood biochemical parameters, antioxidant response and immune function of snow trout *Schizothorax zarudnyi* (Nikolskii, 1897). *Aquaculture*. 2021;539:736638. doi: 10.1016/j.aquaculture.2021.736638



16. Agus HH. Terpene toxicity and oxidative stress. In: Patel VB, Preedy VR, editors. Toxicology. Oxidative Stress and Dietary Antioxidants. Academic Press. 2021;4:33-42. doi: 10.1016/B978-0-12-819092-0.00004-2
17. Ahmedi S, Pant P, Raj N, Manzoor N. Limonene inhibits virulence associated traits in *Candida albicans*: In-vitro and in-silico studies. Phytomedicine Plus. 2022;2(3):100285. doi: 10.1016/j.phyplu.2022.100285
18. Almeida JM, Crippa BL, Souza VVMA, Alonso VPP, Júnior EDMS, Picone CSF, Silva NCC. Antimicrobial action of Oregano, Thyme, Clove, Cinnamon and Black pepper essential oils free and encapsulated against foodborne pathogens. Food Control. 2022;144:109356. doi: 10.1016/j.foodcont.2022.109356
19. An P, Yang X, Yu J, Qi J, Ren X, Kong Q.  $\alpha$ -terpineol and terpene-4-ol, the critical components of tea tree oil, exert antifungal activities in vitro and in vivo against *Aspergillus niger* in grapes by inducing morphous damage and metabolic changes of fungus. Food Control. 2019;98:42-53. doi: 10.1016/j.foodcont.2018.11.013
20. Bounar R, Krimat S, Boureghda H, Dob T. Chemical analyses, antioxidant and antifungal effects of oregano and thyme essential oils alone or in combination against selected Fusarium species. International Food Research Journal. 2020; 27(1): 66-77.
21. Dinardo FR, Deflorio M, Casalino E, Crescenzo G, Centoducati G. Effect of feed supplementation with *Origanum vulgare* L. essential oil on sea bass (*Dicentrarchus labrax*): A preliminary framework on metabolic status and growth performances. Aquaculture Reports. 2020;18:100511. doi: 10.1016/j.aqrep.2020.100511
22. Felici M, Tugnoli B, Ghiselli F, Massi P, Tosi G, Fiorentin, L, Grilli E. In vitro anticoccidial activity of thymol, carvacrol, and saponins. Poultry science. 2020;99(11):5350-5355. doi: 10.1016/j.psj.2020.07.035
23. González-Montaña JR, Escalera-Valente F, Alonso AJ, Lomillos JM, Robles R, Alonso ME. Relationship between vitamin B12 and cobalt metabolism in domestic ruminant: an update. Animals. 2020;10(10):1855. doi: 10.3390/ani10101855
24. Gupta V, Kant V, Sharma AK, Sharma M. Comparative evaluation of antibacterial potentials of nano cobalt oxide with standard antimicrobials. Journal of the Indian Chemical Society. 2022;99(7):100533. doi: 10.1016/j.jics.2022.100533
25. Han F, Ma GQ, Yang M, Yan L, Xiong W, Shu JC, Xu HL. Chemical composition and antioxidant activities of essential oils from different parts of the oregano. Journal of Zhejiang University Science B. 2017;18(1):79-84. doi: 10.1631/jzus.B1600377
26. Huang X, Bian Y, Liu T, Xu Z, Song Z, Wang F, Li T, Li S. Antioxidant potential and in vitro inhibition of starch digestion of flavonoids from *Crataegus pinnatifida*. Heliyon. 2022;8(10):e11058. doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e11058
27. Kräutler B, Jaun BM. Vitamin B<sub>12</sub> and Cofactor F430. In: Brothers PJ, Senge MO, editors. Fundamentals of Porphyrin Chemistry: A 21st Century Approach. 2022;1:777-814. doi: 10.1002/9781119129301.ch18
28. Kuralkar P, Kuralkar SV. Role of herbal products in animal production – An updated review. Journal of Ethnopharmacology. 2021;278:114246. doi: 10.1016/j.jep.2021.114246
29. Makarov PM, Stepanova IA, Nazarova AA, Polishchuk SD, Churilov GI. Physiological and biochemical parameters of holstein heifers when adding to their diet bio-drugs containing cuprum and cobalt nanoparticles. Nano Hybrids and Composites. 2017;13:123-129. doi: 10.4028/www.scientific.net/NHC.13.123
30. Milenković L, Ilić ZS, Šunić L, Tmušić N, Stanojević L, Stanojević J, Cvetković D. Modification of light intensity influence essential oils content, composition and antioxidant activity of thyme, marjoram and oregano. Saudi Journal of Biological Sciences. 2021;28(11):6532-6543. doi: 10.1016/j.sjbs.2021.07.018

31. Miranda-Cadena K, Marcos-Arias C, Mateo E, Aguirre-Urizar JM, Quindós G, Eraso E. In vitro activities of carvacrol, cinnamaldehyde and thymol against *Candida* biofilms. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021;143:112218. doi: 10.1016/j.biopha.2021.112218
32. Miroshnikov S, Sizova E, Yausheva E, Uimin M, Konev A, Minin A, Nikiyan H. Comparative toxicity of CuZn nanoparticles with different physical and chemical characteristics. *Oriental Journal of Chemistry*. 2019;35(3):973-981. doi: 10.13005/ojc/350308
33. Mondal AH, Behera T, Swain P, Das R, Sahoo SN, Mishra SS, Ghosh K. Nano zinc vis-à-vis inorganic Zinc as feed additives: Effects on growth, activity of hepatic enzymes and non-specific immunity in rohu, *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings. *Aquaculture Nutrition*. 2020;26(4):1211-1222. doi: 10.1111/anu.13077
34. Ndomou SCH, Djikeng FT, Teboukeu GB, Doungue HT, Foffe HAK, Tiwo CT, Womeni HM. Nutritional value, phytochemical content, and antioxidant activity of three phytobiotic plants from west Cameroon. *Journal of Agriculture and Food Research*. 2021;3:100105. doi: 10.1016/j.jafr.2021.100105
35. Osman D, Cooke A, Young TR, Deery E, Robinson NJ, Warren MJ. The requirement for cobalt in vitamin B12: A paradigm for protein metalation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. 2021;1868(1):118896. doi: 10.1016/j.bbamcr.2020.118896
36. Peng K, Lv X, Zhao H, Chen B, Chen X, Huang W. Antioxidant and intestinal recovery function of condensed tannins in *Lateolabrax maculatus* responded to in vivo and in vitro oxidative stress. *Aquaculture*. 2022;547:737399. doi: 10.1016/j.aquaculture.2021.737399
37. Jane Cypriyana PJ, Saigeetha S, Angalene J LA, Samrot AV et al. Overview on toxicity of nanoparticles, its mechanism, models used in toxicity studies and disposal methods – A review. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2021;36:102117. doi: 10.1016/j.bcab.2021.102117
38. Pogribna M, Koonce NA, Mathew A, Word B, Patri AK, Lyn-Cook B, Hammons G. Effect of titanium dioxide nanoparticles on DNA methylation in multiple human cell lines. *Nanotoxicology*. 2020;14(4):534-553. doi: <https://doi.org/10.1080/17435390.2020.1723730>
39. Sawosz E, Łukasiewicz M, Łozicki A, Sosnowska M, Jaworski S, Niemiec J, Chwalibog A, et al. Effect of copper nanoparticles on the mineral content of tissues and droppings, and growth of chickens. *Archives of Animal Nutrition*. 2018;72(5):396-406. doi: 10.1080/1745039X.2018.1505146
40. Sharan A, Nara S. Exposure of synthesized Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles to *Chlorella minutissima*: an ecotoxic evaluation in freshwater microalgae. *Aquatic Toxicology*. 2020;224:105498. doi: 10.1016/j.aquatox.2020.105498
41. Singh AK. A review on plant extract-based route for synthesis of cobalt nanoparticles: photocatalytic, electrochemical sensing and antibacterial applications. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*. 2022;5:100270. doi: 10.1016/j.crgsc.2022.100270
42. Sobrinho ACN, de Moraes SM, Marinho MM, de Souza NV, Lima DM. Antiviral activity on the *Zika virus* and larvicidal activity on the *Aedes spp.* of *Lippia alba* essential oil and β-caryophyllene. *Industrial Crops and Products*. 2021;162:113281. doi: 10.1016/j.indcrop.2021.113281
43. Wang H, Ren T, Zhu N, Yu Q, Li M. Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles at sublethal concentrations inhibit cell growth by impairing mitochondrial function. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2018;505(3):775-780. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.10.002

## References

1. Turyspaeva ShZh, Ahmetova MS, Ospangali DS, Umbetzhonov KZh. Effect of infusion from the oregano flowers (*Origanum vulgare*) on the immunoglobulins dynamics in the blood serum of calves. (Conference proceedings) Achievements of modern science: from theory to practice: materials of the international (correspondence) scientific and practical conference (Minsk, Belarus', 28 November 2019) / under the general editorship Vostretsov AI. Neftekamsk: SPC «Mir nauki» (IE Vostretsov AI); 2019:46-52.

2. Postnikova ON, Shevkoplyas LA, Kuevda TA, Sultanova K. The effect of essential oils of oregano and mountain savory on the growth of conditionally pathogenic microorganisms. *Bacteriology*. 2021;6(3):62.
3. Engashev SV. Feed supplement to increase resistance and productivity of livestock and poultry: pat. 2294648 Rus. Federation, Request 25.08.2005; published. 10.03.2007, Bulletin № 7:8 p.
4. Sachyuka TV, Kovalenko NA, Supichenko GN, Bosak VM, Naumov MV. Component composition and enantiomers of essential oils of oregano. *Agriculture - problems and prospects: collection of scientific papers*. Grodno: Grodno State Agricultural University. 2020;51:133-140.
5. Orlova AA, Povydysh MN. Review of methods for qualitative and quantitative analysis of tannins in plant materials. *Chemistry of Plant Raw Material*. 2019;4:29-45. doi: 10.14258/oskyu2019045459
6. Ryazanov VA, Sheida EV, Duskaev GK, Rakhmatullin ShG, Kvan OV. Assessment of the effect of phytobiotic drugs *Salviae folia*, *Scutellaria baicalensis*, *Origanum vulgare* on metabolic processes in the rumen model. *Agrarian Science*. 2022;7(8):86-92. doi: 10.32634/0869-8155-2022-361-7-8-86-92
7. Kolesnikov SI, Varduni VM, Timoshenko AN, Denisova TV, Kazeev KSh, Akimenko YV. Estimation of ecotoxicity of nanoparticles of cobalt, copper, nickel and zinc oxides on biological indicators of the state of ordinary black soil. *South of Russia: ecology, development*. 2020;15(1-54):130-136. doi: 10.18470/1992-1098-2020-1-130-136
8. Polyanskiy MM. Feed supplement for farm livestock: pat. 2405374 Rus. Federation, Request 01.12.2008; published 10.12.2010, Bulletin № 34:8 p.
9. Sizova EA, Biryukova MS, Danilova YuS. The efficacy of nano forms of trace elements in the feeding of broiler chickens. (Conference proceedings) *Nanotechnologies in agriculture: prospects and risks materials of the international scientific and practical conference, (Orenburg, 26-27 September 2018) under the general editorship corresponding member of the RAS Miroshnikov SA*. Orenburg: Publishing house FNC BST RAS; 2018:145-149.
10. Sizova EA, Miroshnikov SA. Bioecological evaluation of different test objects in contact with metals in nanoform. *Actual Biotechnology*. 2016;3(18):106-108.
11. Sizova EA, Yausheva EV, Kholodilina TN. Biological certification of CuO nanoparticles on bacterial models. *Animal Husbandry and Fodder Production*. 2018b;101(4):15-20.
12. Sizova EA, Yausheva EV, Nechitailo KS, Ivanisheva AP. Comparative characteristics of the toxicity of ultrafine particles of copper, zinc and their alloys in the test of inhibition of bacterial bioluminescence. *Animal husbandry and fodder production*. 2019;102(4): 10-22. doi: 10.33284/2658-3135-102-4-10
13. Ryazanov VA, Kurilkina MYa, Duskaev GK, Gabidulin VM. Phytobiotics as an alternative to antibiotics in animal husbandry (review). *Animal Husbandry and Fodder Production*. 2021;104(4):108-123. doi: 10.33284/2658-3135-104-4-108
14. Abdel-Latif HMR, Abdel-Tawwab M, Khafaga AF, Dawood MAO. Dietary oregano essential oil improved the growth performance via enhancing the intestinal morphometry and hepatorenal functions of common carp (*Cyprinus carpio L.*) fingerlings. *Aquaculture*. 2020;526:735432. doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.735432
15. Afshari A, Sourinejad I, Gharaei A, Johari SA, Ghasemi Z. The effects of diet supplementation with inorganic and nanoparticulate iron and copper on growth performance, blood biochemical parameters, antioxidant response and immune function of snow trout *Schizothorax zarudnyi* (Nikolskii, 1897). *Aquaculture*. 2021;539:736638. doi: 10.1016/j.aquaculture.2021.736638
16. Agus HH. Terpene toxicity and oxidative stress. In: Patel VB, Preedy VR, editors. *Toxicology. Oxidative Stress and Dietary Antioxidants*. Academic Press. 2021;4:33-42. doi: 10.1016/B978-0-12-819092-0.00004-2
17. Ahmedi S, Pant P, Raj N, Manzoor N. Limonene inhibits virulence associated traits in *Candida albicans*: In-vitro and in-silico studies. *Phytomedicine Plus*. 2022;2(3):100285. doi: 10.1016/j.phyplu.2022.100285

18. Almeida JM, Crippa BL, Souza VVMA, Alonso VPP, Júnior EDMS, Picone CSF, Silva NCC. Antimicrobial action of Oregano, Thyme, Clove, Cinnamon and Black pepper essential oils free and encapsulated against foodborne pathogens. *Food Control*. 2022;144:109356. doi: 10.1016/j.foodcont.2022.109356
19. An P, Yang X, Yu J, Qi J, Ren X, Kong Q.  $\alpha$ -terpineol and terpene-4-ol, the critical components of tea tree oil, exert antifungal activities in vitro and in vivo against *Aspergillus niger* in grapes by inducing morphous damage and metabolic changes of fungus. *Food Control*. 2019;98:42-53. doi: 10.1016/j.foodcont.2018.11.013
20. Bounar R, Krinat S, Boureghda H, Dob T. Chemical analyses, antioxidant and antifungal effects of oregano and thyme essential oils alone or in combination against selected *Fusarium* species. *International Food Research Journal*. 2020; 27(1): 66-77.
21. Dinardo FR, Deflorio M, Casalino E, Crescenzo G, Centoducati G. Effect of feed supplementation with *Origanum vulgare* L. essential oil on sea bass (*Dicentrarchus labrax*): A preliminary framework on metabolic status and growth performances. *Aquaculture Reports*. 2020;18:100511. doi: 10.1016/j.aqrep.2020.100511
22. Felici M, Tugnoli B, Ghiselli F, Massi P, Tosi G, Fiorentin, L, Grilli E. In vitro anti-coccidial activity of thymol, carvacrol, and saponins. *Poultry science*. 2020;99(11):5350-5355. doi: 10.1016/j.psj.2020.07.035
23. González-Montaña JR, Escalera-Valente F, Alonso AJ, Lomillos JM, Robles R, Alonso ME. Relationship between vitamin B12 and cobalt metabolism in domestic ruminant: an update. *Animals*. 2020;10(10):1855. doi: 10.3390/ani10101855
24. Gupta V, Kant V, Sharma AK, Sharma M. Comparative evaluation of antibacterial potentials of nano cobalt oxide with standard antimicrobials. *Journal of the Indian Chemical Society*. 2022;99(7):100533. doi: 10.1016/j.jics.2022.100533
25. Han F, Ma GQ, Yang M, Yan L, Xiong W, Shu JC, Xu HL. Chemical composition and antioxidant activities of essential oils from different parts of the oregano. *Journal of Zhejiang University Science B*. 2017;18(1):79-84. doi: 10.1631/jzus.B1600377
26. Huang X, Bian Y, Liu T, Xu Z, Song Z, Wang F, Li T, Li S. Antioxidant potential and in vitro inhibition of starch digestion of flavonoids from *Crataegus pinnatifida*. *Heliyon*. 2022;8(10):e11058. doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e11058
27. Kräutler B, Jaun BM. Vitamin B<sub>12</sub> and Cofactor F430. In: Brothers PJ, Senge MO, editors. *Fundamentals of Porphyrin Chemistry: A 21st Century Approach*. 2022;1:777-814. doi: 10.1002/9781119129301.ch18
28. Kuralkar P, Kuralkar SV. Role of herbal products in animal production – An updated review. *Journal of Ethnopharmacology*. 2021;278:114246. doi: 10.1016/j.jep.2021.114246
29. Makarov PM, Stepanova IA, Nazarova AA, Polishchuk SD, Churilov GI. Physiological and biochemical parameters of holstein heifers when adding to their diet bio-drugs containing cuprum and cobalt nanoparticles. *Nano Hybrids and Composites*. 2017;13:123-129. doi: 10.4028/www.scientific.net/NHC.13.123
30. Milenković L, Ilić ZS, Šunić L, Tmušić N, Stanojević L, Stanojević J, Cvetković D. Modification of light intensity influence essential oils content, composition and antioxidant activity of thyme, marjoram and oregano. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2021;28(11):6532-6543. doi: 10.1016/j.sjbs.2021.07.018
31. Miranda-Cadena K, Marcos-Arias C, Mateo E, Aguirre-Urizar JM, Quindós G, Eraso E. In vitro activities of carvacrol, cinnamaldehyde and thymol against *Candida* biofilms. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021;143:112218. doi: 10.1016/j.biopha.2021.112218
32. Miroshnikov S, Sizova E, Yausheva E, Uimin M, Konev A, Minin A, Nikiyan H. Comparative toxicity of CuZn nanoparticles with different physical and chemical characteristics. *Oriental Journal of Chemistry*. 2019;35(3):973-981. doi: 10.13005/ojc/350308

33. Mondal AH, Behera T, Swain P, Das R, Sahoo SN, Mishra SS, Ghosh K. Nano zinc vis-à-vis inorganic Zinc as feed additives: Effects on growth, activity of hepatic enzymes and non-specific immunity in rohu, *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings. *Aquaculture Nutrition*. 2020;26(4):1211-1222. doi: 10.1111/anu.13077
34. Ndomou SCH, Djikeng FT, Teboukeu GB, Doungue HT, Foffe HAK, Tiwo CT, Womeni HM. Nutritional value, phytochemical content, and antioxidant activity of three phytobiotic plants from west Cameroon. *Journal of Agriculture and Food Research*. 2021;3:100105. doi: 10.1016/j.jafr.2021.100105
35. Osman D, Cooke A, Young TR, Deery E, Robinson NJ, Warren MJ. The requirement for cobalt in vitamin B12: A paradigm for protein metalation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. 2021;1868(1):118896. doi: 10.1016/j.bbamcr.2020.118896
36. Peng K, Lv X, Zhao H, Chen B, Chen X, Huang W. Antioxidant and intestinal recovery function of condensed tannins in *Lateolabrax maculatus* responded to in vivo and in vitro oxidative stress. *Aquaculture*. 2022;547:737399. doi: 10.1016/j.aquaculture.2021.737399
37. Jane Cypriana PJ, Saigeetha S, Angalene J LA, Samrot AV et al. Overview on toxicity of nanoparticles, its mechanism, models used in toxicity studies and disposal methods – A review. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2021;36:102117. doi: 10.1016/j.bcab.2021.102117
38. Pogribna M, Koonce NA, Mathew A, Word B, Patri AK, Lyn-Cook B, Hammons G. Effect of titanium dioxide nanoparticles on DNA methylation in multiple human cell lines. *Nanotoxicology*. 2020;14(4):534-553. doi: <https://doi.org/10.1080/17435390.2020.1723730>
39. Sawosz E, Łukasiewicz M, Łozicki A, Sosnowska M, Jaworski S, Niemiec J, Chwalibog A, et al. Effect of copper nanoparticles on the mineral content of tissues and droppings, and growth of chickens. *Archives of Animal Nutrition*. 2018;72(5):396-406. doi: 10.1080/1745039X.2018.1505146
40. Sharan A, Nara S. Exposure of synthesized Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles to *Chlorella minutissima*: an ecotoxic evaluation in freshwater microalgae. *Aquatic Toxicology*. 2020;224:105498. doi: 10.1016/j.aquatox.2020.105498
41. Singh AK. A review on plant extract-based route for synthesis of cobalt nanoparticles: photocatalytic, electrochemical sensing and antibacterial applications. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*. 2022;5:100270. doi: 10.1016/j.crgsc.2022.100270
42. Sobrinho ACN, de Moraes SM, Marinho MM, de Souza NV, Lima DM. Antiviral activity on the *Zika virus* and larvicidal activity on the *Aedes spp.* of *Lippia alba* essential oil and β-caryophyllene. *Industrial Crops and Products*. 2021;162:113281. doi: 10.1016/j.indcrop.2021.113281
43. Wang H, Ren T, Zhu N, Yu Q, Li M. Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles at sublethal concentrations inhibit cell growth by impairing mitochondrial function. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2018;505(3):775-780. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.10.002

#### **Информация об авторах:**

**Даниил Евгеньевич Шошин**, магистр, лаборант-исследователь центра «Нанотехнологии в сельском хозяйстве», Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, д. 29, тел.: 8-965-932-53-67.

**Елена Анатольевна Сизова**, доктор биологических наук, руководитель центра «Нанотехнологии в сельском хозяйстве», Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, д. 29; профессор кафедры биологии и почвоведения, Оренбургский государственный университет, 460018, г. Оренбург, пр. Победы, 13, тел.: 8-912-344-99-07.

**Айна Маратовна Камирова**, кандидат биологических наук, научный сотрудник центра «Нанотехнологии в сельском хозяйстве», Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, д. 29, тел.: 8-922-548-44-89.

**Information about authors:**

**Danil Ye Shoshin**, Master, Laboratory Researcher of the Centre for Nanotechnologies in Agriculture, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29, 9 January St., Orenburg, 460000, tel.: 8-965-932-53-67.

**Elena A Sizova**, Dr. Sci. (Biology), Head of the Centre for Nanotechnologies in Agriculture, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29, 9 January St., Orenburg, 460000; Professor of the Department of Biology and Soil Science, Orenburg State University, 13 Pobedy Ave., Orenburg, 460018, tel.: 8-912-344-99-07.

**Ayna M Kamirova**, Cand. Sci. (Biology), Researcher of the Centre for Nanotechnologies in Agriculture, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29, 9 January St., Orenburg, 460000, tel.: 8-922-548-44-89.

Статья поступила в редакцию 03.11.2022; одобрена после рецензирования 17.11.2022; принята к публикации 12.12.2022.

The article was submitted 03.11.2022; approved after reviewing 17.11.2022; accepted for publication 12.12.2022.