

УДК 579.22+57.044+577.344+577.343

ПРОТИВОГРИБКОВАЯ АКТИВНОСТЬ СУБМИКРОННЫХ ЧАСТИЦ СЛОЖНЫХ ОКСИДОВ МЕТАЛЛОВ, ОБЛАДАЮЩИХ ФОТОКАТАЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

© 2024 г. А. Ю. Шишкин^а, В. Ф. Смирнов^{а, *}, И. А. Шалагинова^б, П. В. Корниенко^б,
О. Н. Смирнова^а, Н. А. Аникина^а, А. В. Корягин^а, Е. В. Сулейманов^а

^аНижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, 603022, Россия

^бАО «Научно-исследовательский институт химии и технологии полимеров
имени академика В.А. Каргина с опытным заводом», Дзержинск, 606000, Россия

*e-mail: biodeg@mail.ru

Поступила в редакцию 13.10.2023 г.

После исправления 25.12.2023 г.

Принята к опубликованию 25.12.2023 г.

Исследована противогрибковая активность новых субмикронных частиц сложного оксида металлов CsTeMoO₆. Показано, что они способны оказывать ингибирующее действие на споры микромицетов — активных деструкторов промышленных материалов в условиях воздействия света и темноты. При действии света фунгицидность исследуемых соединений усиливалась, что связано с наличием у них фотокаталитической активности. Впервые были получены композиции ряда полимерных материалов, обладающие устойчивостью к действию микроскопических грибов за счет введения в их состав сложных оксидов металлов CsTeMoO₆ и RbTe_{1.5}W_{0.5}O₆. Установлено, что ранее неустойчивые к действию микромицетов материалы проявили свойства стойкости к грибным поражениям в условиях воздействия света и темноты. При воздействии света противогрибковый эффект был выражен в большей степени.

Ключевые слова: сложные оксиды металлов, грибостойкие полимерные композиции, микроскопические грибы, фотокаталитическая активность, противогрибковая активность

DOI: 10.31857/S0026365624040136

Различные промышленные материалы и изделия из них в процессе эксплуатации, транспортировки и длительного хранения способны подвергаться процессам микробиологических повреждений и разрушений. Основными агентами биоповреждений являются микроскопические грибы. Лабильность и разнообразие метаболизма позволяет этой группе живых организмов использовать в качестве источника питания самые разнообразные субстраты, как природного, так и синтетического происхождения (Shah et al., 2008; Folino et al., 2020). Основным способом защиты промышленных материалов от биоповреждений, вызываемых грибами, является введение в состав композиций различных биоцидных присадок. Учитывая высокие адаптационные способности грибов, арсенал биоцидных соединений все время обновляется. В последнее время в качестве средств защиты материалов от биоповреждений используются оксиды металлов (WO₃, TiO₂, Al₂O₃ и т.д.) (Svetlakova et al., 2021; Tan et al., 2021). Интерес к этим соединениям вызван тем, что

многие из них в форме нано- и субмикронных частиц способны проявлять фотокаталитическую активность, и их биоцидный эффект возрастает в условиях действия света. Это связано с образованием под действием света активных форм кислорода, которые негативно влияют на жизнедеятельность микроорганизмов, и общая антимикробная активность возрастает (т.е. работает в этом случае два механизма подавления жизнедеятельности микроорганизмов: темновой и световой) (Sichel et al., 2007; Ye et al., 2010). Такой эффект позволяет рассматривать использование исследуемых соединений в качестве средств защиты промышленных материалов от микробиологических повреждений с учетом возрастания их биоцидного действия на свету.

Биоцидный эффект фотокаталитически активных микрочастиц оксидов металлов зависит от ряда факторов: размера и формы частиц, их концентрации, волнового спектра и интенсивности источника света, природы металлов, вида биологического объекта.

Недостатком простых оксидов металлов является то, что их фотокаталитическая активность проявляется в условиях воздействия ультрафиолета. В связи с этим в НИИХ ННГУ были разработаны новые сложные оксиды металлов, проявляющие данную активность в спектре солнечного света.

Целью настоящей работы было изучение противогрибкового действия новых сложных оксидов тяжелых металлов и использование их для получения полимерных композиций (ранее не грибоустойчивых), устойчивых к биоповреждениям, вызываемых микроскопическими грибами.

В качестве объекта исследований использовали сложные оксиды CsTeMoO_6 со средним диаметром частиц 670 нм и $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ со средним диаметром частиц 736 нм. Соединения CsTeMoO_6 и $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ были получены и описаны ранее (Fukina et al., 2021; 2022a; 2022b).

В качестве источника света использовали светодиодный прожектор JAZZWAY PFL-C3 мощностью 50 Вт. Поверхностная плотность потока излучения светодиодного прожектора, воздействующая на поверхность образцов соединений, составляла 524 Вт/м².

В качестве тест-культур микроорганизмов для оценки противогрибковой активности субмикронных частиц сложных оксидов металлов использовали штаммы *Aspergillus niger* van Tieghem VKMF-1119, *Penicillium chrysogenum* Thom VKM F-245. Для оценки грибоустойчивости полимерных композиций в качестве тест-культур были выбраны штаммы, которые наиболее часто используются в исследованиях при оценке устойчивости к действию микроскопических грибов промышленных и строительных материалов: *A. niger* van Tieghem VKMF-1119, *A. terreus* Thom VKM F-1025, *Alternaria alternata* Keissler VKM F-1120, *P. chrysogenum* Thom VKM F-245, *P. cyclopium* Westling VKM F-265, *P. funiculosum* Thom VKM F-1115, *Fusarium moniliforme* Sheklon VKM F-136. Все культуры получены из Всероссийской коллекции микроорганизмов (ИБФМ РАН, Пушкино).

Для оценки действия света на противомикробную активность исследуемых соединений готовили суспензию спор грибов (с титром 1×10^4 кл./мл) в стерильной дистиллированной воде. Опытные варианты с исследуемыми соединениями (концентрация частиц 2 мг/мл) помещали в стеклянные бюксы с 10 мл суспензии микроорганизмов на орбитальные шейкеры при 150 об./мин и часть из них подвергали воздействию света, а другие выдерживали в условиях темноты. Время экспозиции составляло 60, 120 и 180 мин. Контрольными служили варианты эксперимента без исследуемого соединения. Антимикробное действие препаратов на споры грибов оценивали по изменению титра микроорганизмов по истечении времени

экспозиции, которое определяли чашечным методом (метод Коха) путем посева 0.1 мл суспензии грибов на агаризованную среду Чапека–Докса с последующим учетом количества выросших колоний грибов.

Соединения CsTeMoO_6 и $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ в концентрации 0.5% масс. были введены в состав водных акриловых эмульсий марок Лакротэн Э–21, Лакротэн Э–31, в водоэмульсионную краску ВДАК, а также в органическое стекло на основе полиметилметакрилата (ПММА).

Для оценки устойчивости к действию мицелиальных грибов образцы твердых полимерных композиций (пластины размером 30 × 30 мм) и жидких в количестве 3 мл как с введенными присадками, так и без них помещали на дно чашки Петри, контаминировали водной суспензией спор грибов с титром 1×10^6 кл./мл и размещали в климатических камерах на 28 сут в условиях, оптимальных для их роста (влажность более 90%, температура 28°C). Грибоустойчивость оценивалась по интенсивности развития грибов на образцах по 6-балльной шкале ГОСТ 9.048-89: 0 баллов – под микроскопом прорастания спор и конидий не обнаружено; 1 балл – под микроскопом видны проросшие споры и незначительно развитый мицелий; 2 балла – под микроскопом виден развитый мицелий, возможно спороношение; 3 балла – невооруженным глазом мицелий и (или) спороношение едва видны, но отчетливо видны под микроскопом; 4 балла – невооруженным глазом отчетливо видно развитие грибов, покрывающих менее 25% испытуемой поверхности; 5 баллов – невооруженным глазом отчетливо видно развитие грибов, покрывающих более 25% испытуемой поверхности (Smirnov et al., 2018). Грибоустойчивыми считаются образцы, получившие оценку 1–2 балла. Контрольные образцы (без биоцидных добавок) и часть образцов с введенными биоцидными добавками находились в условиях темноты, другая часть исследуемых образцов с введенными добавками в течение всего срока эксперимента в течение 12 ч в сутки подвергалась воздействию света (характеристики источника света указаны выше).

Все экспериментальные результаты обрабатывались с применением непараметрического критерия “U” (Манна–Уилтн) с поправкой Холма.

На первом этапе для оценки влияния микрочастиц фотокаталитически активного оксида тяжелых металлов CsTeMoO_6 в условиях темноты и при воздействии светового излучения на споры грибов в качестве тест-культур использовали *P. chrysogenum* и *A. niger* (рис. 1). Для сравнительного анализа влияния природы металла в оксидах на их антимикробные свойства на рис. 1б приведены результаты ранее проведенных нами аналогичных исследований сложного оксида $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ (Smirnov et al., 2022).

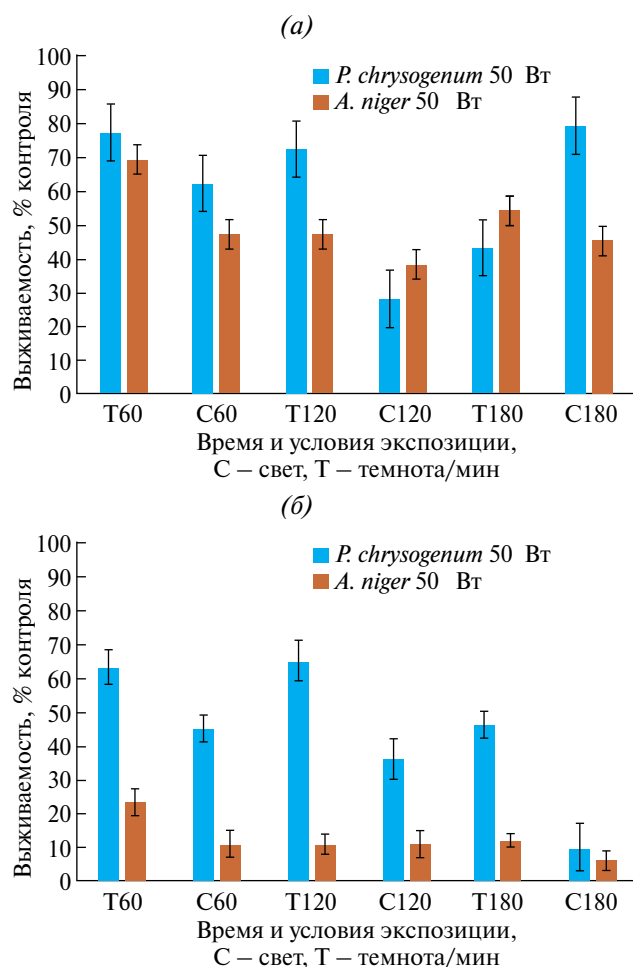


Рис. 1. Выживаемость спор грибов *P. chrysogenum* и *A. niger* в присутствии CsTeMoO_6 (а) и $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ (б) в условиях темноты (Т) и при воздействии источника света (С) в % по отношению к контролю.

Представленные сложные оксиды металлов отличались тем, что вместе с Те, присутствующим в обоих соединениях, в состав первого входили Сs и Мо, а в состав второго – Rb и W.

Показано, что в условиях темноты соединения CsTeMoO_6 и $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ способны подавлять выживаемость спор грибов *P. chrysogenum* и *A. niger*.

Однако можно отметить, что влияние на споры гриба *A. niger* обоих соединений без воздействия света более выраженное по сравнению с *P. chrysogenum*. Под воздействием света противогрибковая активность исследуемых оксидов металлов по отношению к спорам грибов увеличивалась. Сравнивая антимикробную активность двух сложных оксидов тяжелых металлов, можно отметить, что соединение $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ обладает более выраженной способностью подавлять выживаемость спор грибов как в условиях темноты, так и под воздействием света.

Известно, что без воздействия света нано- и субмикронные частицы тяжелых металлов могут вызывать гибель микроорганизмов, т.е. проявлять антимикробный эффект. Нано- и субмикронные частицы могут не только приводить к разрушению клеточной стенки микроорганизмов за счет электростатических взаимодействий с ней, но и, проникая затем внутрь клетки, повреждать органеллы (митохондрии и рибосомы), а вызывая конденсацию и маргинацию хроматина, приводить к апоптотической гибели клетки. Также наночастицы, проникшие в клетку микроорганизмов и связавшиеся с транспортными белками, нарушают работу протонных насосов, инактивацию фосфор- и серосодержащих ферментов и ДНК. Большую роль наночастицы играют в ингибировании АТФ и в уменьшении количества копий гена бактериальной 16S рДНК. Токсичность ряда нано- и субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов, в том числе по отношению к мицелиальным грибам, возрастает на свету, что связано с их фотокаталитической активностью, в результате чего образуются активные формы кислорода (АФК), способные ингибировать жизнедеятельность микроорганизмов (Meraat et al., 2016; Xia et al., 2016; Yu et al., 2020).

В связи с тем, что исследуемые оксиды тяжелых металлов проявили антимикробные свойства, представляло интерес исследовать возможность их использования в качестве биоцидных присадок для защиты полимерных композиций от микробиологических повреждений. Учитывая, что наиболее активными агентами биоповреждений являются микроскопические грибы, нами оценивалась грибостойкость полимерных композиций.

Таблица 1. Природная грибостойкость (без введенных биоцидных присадок) ряда полимерных материалов на основе акрилатов

Материал	Грибостойкость, балл (по ГОСТ 9.048)						
	<i>A. niger</i>	<i>A. terreus</i>	<i>Alt. alernata</i>	<i>F. moniliforme</i>	<i>P. chrysogenum</i>	<i>P. cyclopium</i>	<i>P. funiculosum</i>
Лакротэн Э-21	2	3	4	5	2	3	5
Лакротэн Э-31	2	3	2	5	2	3	5
ПММА	3	3	2	3	3	2	2
ВДАК	2	3	2	3	2	2	2

Таблица 2. Грибостойкость материалов с введенными в их состав микрочастицами $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 в темноте и в условиях воздействия светового излучения

Материал	Сложный оксид (0.5% масс.)	Условия экспозиции	Грибостойкость, балл (по ГОСТ 9.048)		
			<i>F. moniliforme</i>	<i>A. terreus</i>	<i>P. funiculosum</i>
Лакротэн Э-21	—	—	5	3	5
	RbTe _{1.5} W _{0.5} O ₆	Свет	3	0	2
		Темнота	4	2	4
	CsTeMoO ₆	Свет	3	1	1
		Темнота	4	1	1
Лакротэн Э-31	—	—	5	3	5
	RbTe _{1.5} W _{0.5} O ₆	Свет	3	0	3
		Темнота	4	2	2
	CsTeMoO ₆	Свет	3	1	1
		Темнота	4	1	1
ПММА	—	—	3	3	2
	RbTe _{1.5} W _{0.5} O ₆	Свет	1	0	0
		Темнота	2	2	1
	CsTeMoO ₆	Свет	0	0	0
		Темнота	2	1	0
ВДАК	—	—	3	3	2
	RbTe _{1.5} W _{0.5} O ₆	Свет	1	0	0
		Темнота	2	2	1
	CsTeMoO ₆	Свет	0	0	0
		Темнота	2	1	2

С этой целью нами были выбраны различные группы полимерных материалов, у которых была оценена природная грибостойкость, т.е. возможность их использования грибами в качестве единственного источника питания (табл. 1).

Согласно результатам этой серии экспериментов установлено, что все исследованные материалы являются негрибостойкими и в неодинаковой степени могут использоваться в качестве источника питания разными грибами. Анализ данных показал, что грибы-биодеструкторы *A. niger*, *P. chrysogenum*, используемые нами ранее в экспериментах, не вызывают наиболее интенсивное биоповреждение. В связи с этим при оценке устойчивости к действию микромицетов материалов с введенными в их состав субмикронными частицами были использованы иные тест-культуры, которые проявили наиболее интенсивный рост на исследуемых материалах, а именно *F. moniliforme*, *A. terreus*, *P. funiculosum*.

В табл. 2 представлены результаты исследования устойчивости различных полимерных композиций с введенными в их состав сложными оксидами тяжелых металлов ($\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$, CsTeMoO_6) к действию трех видов мицелиальных грибов — активных биодегрантов.

Результаты показали, что введение исследуемых соединений в состав полимерных композиций

придавало ранее негрибостойким материалам свойства грибостойкости как в темноте, так и на свету. Отмечено, что при воздействии света устойчивость к действию грибов всех полимерных композиций увеличивалась.

Таким образом, исследуемые нами сложные оксиды металлов могут быть использованы в качестве биоцидных добавок, придающих устойчивость к действию грибов полимерным композициям с учетом возрастания их противогрибковой активности при действии света.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (базовая часть Госзадания, проект FSWR-2023-0024) с использованием оборудования ЦКП “Новые материалы и ресурсосберегающие технологии” (ННГУ им. Н.И. Лобачевского).

СОБЛЮДЕНИЕ
ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит результатов исследований с использованием животных в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Folino A., Karageorgiou A., Calabrò P.S., Komilis D.* Biodegradation of wasted bioplastics in natural and industrial environments: a review // *Sustainability*. 2020. V. 12. Art. 6030.
- Fukina D.G., Suleimanov E.V., Boryakov A.V., Zubkov S.Y., Koryagin A.V., Volkova N.S., Gorshkov A.P.* Structure analysis and electronic properties of $\text{ATe}^{4+}_{0.5}\text{Te}^{6+}_{1.5-x}\text{M}^{6+}_x\text{O}_6$ ($\text{A} = \text{Rb}, \text{Cs}$, $\text{M}^{6+} = \text{Mo}, \text{W}$) solid solutions with β -pyrochlore structure // *J. Solid State Chem.* 2021. V. 293. Art. 121787.
- Fukina D.G., Koryagin A.V., Koroleva A.V., Zhizhin E.V., Suleimanov E.V., Volkova N.S., Kirillova N.I.* The role of surface and electronic structure features of the CsTeMoO_6 β -pyrochlore compound during the photooxidation dyes process // *J. Solid State Chem.* 2022 (a). V. 308. Art. 122939.
- Fukina D.G., Koryagin A.V., Volkova N.S., Suleimanov E.V., Kuzmichev V.V., Mitin A.V.* Features of the electronic structure and photocatalytic properties under visible light irradiation for $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ with β -pyrochlore structure // *Solid State Sci.* 2022 (b). V. 126. Art. 106858.
- Meraat R., Ziabari A.A., Issazadeh K., Shadan N., Jalaali K.M.* Synthesis and characterization of the antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles against *Salmonella typhi* // *Acta Metallurgica Sinica (English Letters)*. 2016. V. 29. P. 601–608.
- Shah A.A., Hasan F., Hameed A., Ahmed S.* Biological degradation of plastics: a comprehensive review // *Biotechnol. Adv.* 2008. V. 26. P. 246–265.
- Sichel C., de Cara M., Tello J., Blanco J., Fernández-Ibáñez P.* Solar photocatalytic disinfection of agricultural pathogenic fungi: *Fusarium* species // *Appl. Catal. B: Environ.* 2007. V. 74. P. 152–160.
- Smirnov V.F., Glagoleva A.A., Mochalova A.E., Smirnova L.A., Anikina N.A.* The influence of factors of a biological and physical nature on the biodegradation and physicochemical properties of composites based on polyvinyl chloride and natural polymers // *Int. Polymer Sci. Technol.* 2018. V. 6. P. 283–288.
- Smirnov V.F., Smirnova O.N., Shishkin A. Yu., Anikina N.A., Fukina D.G., Koryagin A.V., Suleimanov E.V.* Effect of light on the antifungal activity of submicron particles based on tungsten oxide // *Nanobiotechnol. Rep.* 2022. V. 17. P. 444–456.
- Svetlakova A.V., Mendez M.S., Tuchin E.S., Khodan A.N., Traore M., Azouani R., Kanaev A., Tuchin V.V.* Study of the photocatalytic antimicrobial activity of nanocomposites based on $\text{TiO}_2\text{--Al}_2\text{O}_3$ under action of LED radiation (405 nm) on staphylococci // *Opt. Spectrosc.* 2021. V. 129. P. 846–850.
- Tan G., Tang D., Dastan D., Jafari A., Shi Z., Chu Q., Silva J.P., Yin X.* Structures, morphological control, and antibacterial performance of tungsten oxide thin films // *Ceramics Int.* 2021. V. 47. P. 17153–17160.
- Xia Z.K., Maa Q., Lia S., Zhanga D., Conga L., Tiana Y., Yang R.* The antifungal effect of silver nanoparticles on *Trichosporon asahii* // *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 2016. V. 49. P. 182–188.
- Ye S., Fan M., Song X., Luo S.* Enhanced photocatalytic disinfection of *P. expansum* in cold storage using a TiO_2/ACF film // *Int. J. Food Microbiol.* 2010. V. 136. P. 332–339.
- Yu Z., Li Q., Wang J., Yu Y., Wang Y., Zhou Q., Li P.* Reactive oxygen species-related nanoparticle toxicity in the biomedical field // *Nanoscale Res. Lett.* 2020. V. 15. Art. 115.

SHORT COMMUNICATIONS

Antifungal Activity of Submicrometer Particles of Complex Metal Oxides with Photocatalytic Activity

A. Yu. Shishkin¹, V. F. Smirnov^{1, *}, I. A. Shalaginova², P. V. Kornienko²,
O. N. Smirnova¹, N. A. Anikina¹, A. V. Koryagin¹, and E. V. Suleimanov¹

¹National Research Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod, Nizhni Novgorod, 603022 Russia

²Kargin Scientific Research Institute of Chemistry and Technology of Polymers with a Pilot-Production Plant,
Dzerzhinsk, 606000 Russia

*e-mail: biodeg@mail.ru

Received October 13, 2023; revised December 25, 2023; accepted December 25, 2023

Abstract. Antifungal activity of newly synthesized submicrometer particles of the CsTeMoO₆ complex metal oxide was studied. They were found to inhibit spore germination of active micromycete degraders of industrial materials both in the dark and under illumination. Illumination increased the fungicidal activity of the studied compounds due to their photocatalytic activity. This is the first report on production of micromycete-resistant compositions of a number of polymers containing the complex metal oxides CsTeMoO₆ and RbTe_{1.5}W_{0.5}O₆. Upon addition of the studied complex oxides into the composition of the previously micromycete-sensitive materials, the latter were found to exhibit micromycete resistance both in the dark and under illumination. Treatment with light resulted in a more pronounced antifungal effect.

Keywords: complex metal oxides, fungi-resistant polymer composites, microscopic fungi, photocatalytic activity, antifungal activity