

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский
государственный университет им. Н.И. Лобачевского» (ННГУ)

На правах рукописи

Шишкин Андрей Юрьевич

**ЭКОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ЗАЩИТЫ
АКРИЛОВЫХ ПОЛИМЕРОВ ОТ БИОДЕГРАДАЦИИ, ВЫЗЫВАЕМОЙ
МИКРОМИЦЕТАМИ, С ПОМОЩЬЮ БИОЦИДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ,
ОБЛАДАЮЩИХ ФОТОКАТАЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ**

1.5.15. Экология (биологические науки)

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук, профессор
Смирнов Василий Филиппович

Нижний Новгород

2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	14
1.1. Экологические и биологические аспекты биоповреждений	14
1.2. Механизмы биодеструкции микромицетами полимеров	18
1.3. Способы защиты полимерных материалов от биоповреждений	23
1.4. Оксиды тяжелых металлов как биоцидные соединения	25
1.5. Другие факторы, влияющие на антимикробную активность оксидов	37
1.6. Механизмы защиты грибов против наночастиц тяжёлых металлов.	38
2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	43
2.1. Объекты исследования	43
2.2. Культивирование микроорганизмов	44
2.3. Характеристика исследуемых субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов	44
2.4. Исследование возможности грибов использовать акриловые полимеры в качестве источников питания	45
2.5. Исследование биodeградации ДМЭГ и ТГМ-3 под воздействием грибов.	47
2.6. Определение антимикробной активности субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов	48
2.7. Исследование влияния оксидов на метаболизм грибов	50
2.8. Статистическая обработка результатов	56
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	58
3.1 Исследование возможности микромицетов использовать акриловые полимеры ДМЭГ и ТГМ-3 в качестве источников питания	58
3.2 Противогрибковая активность компонентов исследуемых полимеров	61
3.3. Последствия биodeградации акриловых полимеров под воздействием грибов	63
3.4. Экофизиологические основы защиты акриловых полимеров от биоповреждений, вызываемых микромицетами, с помощью фотокаталитических оксидов	71

3.5. Исследование воздействия оксидов металлов WO_3 , $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 на метаболизм ряда мицелиальных грибов деструкторов полимерных материалов.....	90
3.6. Исследование возможности защиты от биodeградации микромицетами ряда акриловых полимеров с помощью введения в их состав фотокаталитически активных оксидов тяжелых металлов.....	116
3.7. Антибактериальные свойства композитных материалов на основе исследуемых оксидов.....	120
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	123
ВЫВОДЫ	125
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	127

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АФК – активные формы кислорода

НЧ – наночастицы

СЧ – субмикронные частицы

ОМ – оксиды металлов

ОТМ – оксиды тяжелых металлов

ТГМ-3 – диметакрилат триэтиленгликоля

ПТГМ-3 – поли(диметакрилат триэтиленгликоля)

ДМЭГ – диметакрилат этиленгликоля

ПДМЭГ – поли(диметакрилат этиленгликоля)

ПММА – полиметилметакрилат

КС – клеточная стенка

КЖ – культуральная жидкость

СОД – супероксиддисмутаза

АТФ – аденозинтрифосфат

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Антропогенное влияние человека на окружающую среду весьма многообразно. В частности, создаваемые человеком, синтетические полимерные материалы вносятся им в биосферу. Попадая в окружающую среду, полимеры по-разному взаимодействуют с живыми организмами. Многие остаются нейтральными и не оказывают какого-либо влияния на жизнедеятельность живых организмов. Другие, напротив, способны оказывать токсическое действие, а третьи в различной степени вовлекаются в трофические цепи, иными словами, они становятся источниками питания для различных живых организмов, в основном бактерий и грибов (Ильичев, 1985; Ильичев, Бочаров, 1987; Sutherland et al., 1997; Смирнов и др., 2002; Ерофеев и др., 2010; Мочалова и др., 2016; Anikina et al., 2018; Nyysola, Ahlgren, 2019; Pereira et al., 2019; Смирнов и др., 2021; Huang et al., 2021).

Биоразрушение (биоповреждение и биodeградация) полимерных материалов обусловлено способностью живых организмов, главным образом микроскопических грибов, использовать эти материалы или их компоненты в качестве источников питания. Повреждение и разрушение материалов происходит в основном за счет влияния различных экзометаболитов грибов (ферментов, органических кислот, активных форм кислорода и т.д.), в условиях воздействия различных абиотических факторов (света, влажности и др.). Известно, что разрушение полимеров, обусловленное микроорганизмами, сопровождается ухудшением свойств и технических характеристик материалов, в том числе и на самых ранних стадиях биоповреждения (Ильичев, 1985; Смирнов и др., 1995; Kaushal et al., 2021).

Согласно экологическим основам биodeградации промышленных материалов, которые были разработаны Ильичевым Валерием Дмитриевичем (Ильичев, 1985), факторы внешней среды оказывают влияние на всех участников процессов биоповреждения: живые организмы (возбудители биоповреждений); промышленные материалы (синтетические субстраты);

средства защиты (биоцидные соединения). На сегодняшний день, в меньшей степени, исследовано действие абиотических факторов на средства защиты промышленных материалов от биоповреждений (Кряжев, Смирнов, 2008; Srikanth et al., 2022). Абиотические факторы (свет, влажность, температура и др.) могут нарушать химическую структуру и изменять ряд других свойств биоцидов, что может снижать силу их антимикробного эффекта и сказываться на изменении физиолого-биохимических принципов взаимодействия биоцидов с живыми организмами (Кряжев, Смирнов, 2010). Все это непосредственно будет отражаться на специфических экофизиологических параметрах живых организмов в результате воздействия на них биоцидов.

Биоповреждение полимерных материалов определяет целый ряд экологических проблем. С одной стороны, инициирование биоповреждений позволяет создавать технологии по биоутилизации синтетических материалов по истечении сроков их функциональной эксплуатации (Kaushal et al., 2021), с другой, ингибирование процессов биоповреждения способствует ресурсосбережению, т.к. негативное воздействие микроорганизмов вызывает разрушение и порчу полимерных материалов и изделий из них на стадиях производства, хранения, транспортировки и эксплуатации, что приводит к значительным экономическим издержкам (Lucas et al., 2008; Sivan, 2011). Также среди микромицетов, являющимися активными биодеструкторами полимерных материалов, часто встречаются условно-патогенные штаммы, интенсивное развитие которых может приводить к возникновению заболеваний человека: микозам, микотоксикозам и микоаллергозам, что обозначает еще одну экологическую проблему – влияние грибов деструкторов промышленных материалов на качество среды обитания человека (Ильичев, 1985; Сухаревич и др. 2009; Anikina et al., 2018; Srikanth et al., 2022).

Как было отмечено ранее, одним из важнейших моментов проблемы микробиологической деградации промышленных материалов является изучение различных экофизиологических характеристик микроорганизмов – деструкторов в процессе биоповреждения ими промышленных материалов в

условиях воздействия факторов окружающей среды. Экофизиологические исследования микробных биоповреждений позволяют не только прогнозировать интенсивность биодеструкции полимеров, но и осуществлять научно обоснованный и целенаправленный подбор средств защиты материалов от биоповреждений, а также оценивать влияние новых синтетических материалов и биоцидов на окружающую среду.

Основным способом защиты промышленных материалов от биоповреждений является введение в их состав различных биоцидных добавок, которые призваны снижать аттрактивность материалов для микроорганизмов, использующих их в качестве источников питания. Учитывая высокие адаптационные способности микроорганизмов, арсенал биоцидов необходимо постоянно обновлять (Сухаревич и др., 2009; Мелешко и др., 2020). В последнее время огромное внимание уделяется применению субмикронных и наночастиц оксидов тяжелых металлов в качестве антимикробных средств. Некоторые оксиды (ZnO , TiO_2 , CuO и др.) находят своё применение в различных отраслях: медицине, ветеринарии и сельском хозяйстве, а также в качестве средств защиты промышленных материалов от микробиологических повреждений (Zakharova, Gusev, 2019; Smirnov et al., 2022). Некоторые оксиды обладают фотокаталитической активностью и, в связи с этим, их антимикробные свойства могут усиливаться в условиях воздействия света. Большинство из таких оксидов, например, оксиды титана, цинка и др., проявляют фотокаталитические свойства при воздействии только УФ излучения, поэтому немалая доля работ посвящена созданию сложных оксидов тяжелых металлов, способных воспринимать свет в видимом спектре. Такая группа новых фотокаталитических оксидов впервые создана в НИИ Химии ННГУ. Известно, что антимикробные свойства и способность к фотокатализу вышеуказанных оксидов металлов зависят от целого ряда факторов: волнового спектра и плотности светового потока, времени экспозиции, вида биологического объекта, а также от размера и формы частиц, их концентрации и от некоторых других факторов (Djurisic et al., 2015; Parham

et al., 2016; Zakharova, Gusev, 2019; Fukina et al., 2022a; Fukina et al., 2022b; Smirnov et al., 2022; Mukherjee et al., 2023; Fukina et al., 2024).

В связи с этим **целью данной работы** является выявление экофизиологических механизмов защиты акриловых полимеров от биodeградации, вызываемой микромицетами, путем использования субмикронных частиц сложных оксидов тяжелых металлов, обладающих фотокаталитической активностью.

Задачи исследования.

1. Оценить возможность микромицетов использовать новые акриловые полимеры ДМЭГ и ТГМ-3 в качестве источников питания. Установить штаммы грибов, наиболее активных микодеструкторов исследуемых акриловых полимеров.

2. Выявить степень вовлечения в трофические цепи акриловых полимеров ДМЭГ и ТГМ-3 в зависимости от их состава и структуры (пористости). Оценить изменение физико-механических свойств исследуемых материалов в процессе биоповреждения.

3. Исследовать воздействие света на выживаемость спор и прирост биомассы вегетативного мицелия грибов - активных деструкторов полимерных материалов в присутствии субмикронных частиц сложных оксидов $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 .

4. Установить зависимость силы антимикробной активности данных соединений от вида биологического объекта, времени экспозиции, мощности источника освещения и его волнового потока, природы металлов, входящих в состав частиц.

5. Исследовать воздействие фотокаталитических оксидов на активность эндо- и экзооксидоредуктаз грибов, способных участвовать в деструкции полимерных материалов, в условиях воздействия светового излучения.

6. Исследовать влияние оксидов тяжелых металлов на содержание меланина в мицелии грибов - активных деструкторов полимерных материалов.

7. На основе экофизиологических исследований изучить возможность защиты акриловых полимеров от биodeградации, вызываемой микромицетами, путем введения в их состав материалов субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов, обладающих фотокаталитической активностью.

Научная новизна работы. Впервые исследована возможность мицелиальных грибов использовать новые акриловые полимеры ДМЭГ и ТГМ-3 в качестве источников питания. Показано влияние состава полимеров и степени их пористости на интенсивность процесса биodeградации данных материалов. Выявлены штаммы грибов, являющимися наиболее активными деструкторами вышеуказанных акриловых полимеров. Установлено влияние микромицетов на физико-механические свойства и структуру акриловых полимеров ДМЭГ и ТГМ-3 как при непосредственном росте грибов на материалах, так и при воздействии только их метаболитов. Впервые исследованы экофизиологические характеристики грибов - активных деструкторов ДМЭГ и ТГМ-3 (рост и развитие, активность некоторых оксидоредуктаз, содержание меланина в мицелии и продукцию органических кислот) в присутствии субмикронных частиц фотокаталитически активных оксидов тяжелых металлов $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 , в условиях воздействия на них светового излучения видимого спектра. Экофизиологические исследования позволили обосновать возможность использования субмикронных частиц $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 в качестве средств защиты акриловых полимеров от биodeградации, вызываемой микромицетами.

Теоретическая значимость работы. Теоретическая значимость работы обусловлена получением новых знаний в области биodeградации микроскопическими грибами вновь синтезированных акриловых полимеров ДМЭГ и ТГМ-3. Исследована антимикробная активность субмикронных частиц новых сложных оксидов $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 в условиях воздействия света видимого спектра. Показано, что антимикробная активность этих соединений зависит от металлов, входящих в состав частиц, интенсивности светового излучения, времени экспозиции и вида

биологического объекта. За счет исследования ряда экофизиологических характеристик грибов определено и обосновано их антимикробное действие на споры и вегетативный мицелий грибов в условиях света и темноты. Исследованы некоторые механизмы ингибирующего действия фотокаталитически активных оксидов металлов на метаболизм грибов – активных биодеструкторов акриловых полимеров. На основе экофизиологического подхода теоретически обоснованы механизмы защиты акриловых полимеров от биоповреждения, вызываемого мицелиальными грибами, с помощью оксидов тяжелых металлов, обладающих фотокаталитической активностью.

Практическая значимость. Установлены виды микромицетов – активных биодеструкторов ДМЭГ и ТГМ-3. Показано, что с помощью введения субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 в состав некоторых акриловых полимеров можно снизить аттрактивность этих материалов для микромицетов, использующих их в качестве источников питания. В связи с этим были получены лабораторные и промышленные образцы акриловых полимеров со сниженной аттрактивностью (грибостойкие) для грибов, использующих данные материалы в качестве источников питания.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Способность грибов использовать новые акриловые полимеры в качестве источников питания определяется не только степенью грибостойкости ингредиентов, но и их составом и пористостью.

2. Экзометаболиты грибов, образующиеся за счет внешних загрязнений, а не за счет биодеструкции полимерных материалов, также способны влиять на изменение их физико-механических свойств и приводить к их деструкции.

3. В условиях воздействия света биоцидная активность субмикронных частиц фотокаталитически активных оксидов тяжелых металлов $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 определяется главным образом природой металлов в их составе.

4. Подавление аттрактивности акриловых полимеров для использования их в качестве источника питания микромицетами может осуществляться за счет введения в состав материалов субмикронных частиц фотокаталитически активных сложных оксидов тяжелых металлов $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 .

Соответствие паспорту научной специальности. Результаты исследования соответствуют шифру специальности 1.5.15 Экология (биологические науки), направлению исследований: 1. Закономерности влияния абиотических и биотических факторов на организмы. Экофизиология (факториальная экология).

Апробация работы и публикации. Материалы диссертационного исследования были представлены на международных и всероссийских научно-практических конференциях: 73-я Всероссийская с международным участием школа-конференция молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление», Нижний Новгород, 2020; Ежегодная научная конференция МГУ "Ломоносовские чтения - 2020", Москва, 2020; XVII Международная научно-практическая конференция «Новые полимерные композиционные материалы. Микитаевские чтения», Нальчик, 2021; 3-й Российский микробиологический конгресс, Псков, 2021; 74-я всероссийская с международным участием школа-конференция молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление», посвященная памяти проф. А.П. Веселова, Нижний Новгород, 2021; Международный молодежный научный форум «Ломоносов-2021», Москва, 2021; Международная научная конференция «Interphotonics2022. Laser Technologies», Research and Application Center, Kocaeli, Turkey, 2022; 75-я Всероссийская с международным участием школа-конференция молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление», Нижний Новгород, 2022; Олигомеры-2022, Суздаль, 2022; XIX международная научно-практическая конференция «Новые полимерные композиционные материалы. Микитаевские чтения», Нальчик, 2023; 4-й Российский Микробиологический конгресс, Томск, 2023); X Съезд Российского фотобиологического общества.

Конференция «Современные проблемы фотобиологии», Пушкино, 2023; Современные проблемы естественных наук и фармации. Йошкар-Ола: Марийский гос. ун-т, Йошкар-Ола, 2023; 76-я Всероссийская школа-конференция молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление», Нижний Новгород, 2023; 77-я Международная школа-конференция молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление», Нижний Новгород, 2024; 78-я Всероссийская с международным участием школа-конференция молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление», Нижний Новгород, 2025; Мемориальная конференция по микологии, Москва, 2025.

Публикации. По материалам диссертации опубликована 31 научная работа, из них 8 научных статей: 7 статей в журналах индексируемых аналитическими базами Web of Science и Scopus и 1 статья в журнале рекомендованном ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, 14 работ и тезисов в материалах международных конференций, 7 работ и тезисов в материалах всероссийских конференций, а также 1 монография и 1 секрет производства (ноу-хау).

Обоснованность и степень достоверности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации, обеспечена применением современного поверенного высокоточного аналитического оборудования и большим объёмом исследований. Выводы, сделанные автором, адекватны полученным результатам.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации. Автору принадлежит решающая роль в постановке задач, выборе способов их решения, обработке экспериментальных данных, интерпретации и обобщении полученных результатов, а также оформлении результатов в виде научных статей. Экспериментальная часть диссертации выполнена в лаборатории микробиологического анализа ОХБИ НИИ химии ННГУ им. Н.И. Лобачевского и в лаборатории фотополимеризации и

полимерных материалов ИМХ им. Г.А. Разуваева РАН лично автором, при содействии или под его руководством.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, 3 глав, выводов и списка цитируемой литературы, включающего 159 источников, в том числе 126 – на иностранных языках. Работа изложена на 146 страницах, включает 52 рисунка и 7 таблиц.

Благодарности. Автор выражает благодарность и признательность научному руководителю профессору, д.б.н. В.Ф. Смирнову за помощь в подготовке диссертации, за консультации и советы на всех этапах работы, за ценные замечания, совместное обсуждение и обобщение материала, а также сотрудникам лаборатории микробиологического анализа НИИ Химии ННГУ. Автор выражает отдельную благодарность доценту кафедры химии твердого тела химического факультета ННГУ, с.н.с., к.х.н. Д.Г. Фукиной за консультации по свойствам оксидов тяжелых металлов. Автор выражает благодарность к.х.н., с.н.с. лаборатории фотополимеризации и полимерных материалов ИМХ им. Г.А. Разуваева РАН Р.С. Ковылину за предоставление образцов полимерных материалов. Автор признателен сотрудникам кафедры биохимии и биотехнологии ИББМ ННГУ и лично заведующей кафедрой с.н.с., к.б.н. А.А. Брилкиной.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (базовая часть госзадания, проект FSWR-2023-0024). Для проведения исследований использовано оборудование Центра коллективного пользования "Новые материалы и ресурсосберегающие технологии" (ННГУ им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород).

Часть работы выполнена с использованием оборудования центра коллективного пользования "Аналитический центр ИОМЦ РАН" (ИМХ академика им. Г.А. Разуваева, г. Нижний Новгород). Работа поддержана стипендиями имени академика Г.А. Разуваева и Ученого Совета ННГУ им. Н.И. Лобачевского.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Экологические и биологические аспекты биоповреждений

С разрушительным воздействием живых организмов человечество столкнулось еще в начале своего становления. Так, например, с зарождением и развитием труда и хозяйственной деятельности, человек сталкивался с вредителями меха, шерсти и кожи, с разрушительной деятельностью термитов, грызунов, плесневых грибов и т.д. Вплоть до середины XX в. человек не связывал между собой различные проявления способности живых организмов к биоповреждениям. С появлением синтетических полимеров, их повсеместным применением и поступлением в биосферу, человечество сталкивается с такими глобальными экологическими проблемами как, например, различное воздействие материалов антропогенного происхождения на окружающую среду (Ильичев, 1985).

Синтетические полимеры и материалы способны оказывать различное влияние на живой мир. Позитивное влияние заключается в том, что некоторые микроорганизмы могут использовать их в качестве источников питания. К негативному воздействию можно отнести тот факт, что некоторые материалы способны вызывать гибель живых организмов или нарушение гомеостаза на клеточном или организменном уровне. Некоторые материалы, однако, могут оставаться нейтральными по отношению к биосфере, а также, синтетические материалы способны накапливаться в окружающей среде. Другой важной экологической проблемой, с которой сталкивается человечество, является биоповреждение, или другими словами различные изменения технических характеристик сырья, материалов, изделий и сооружений, вызываемые жизнедеятельностью бактерий, водорослей, растений, насекомых, животных. Под биodeградацией подразумевают процесс расщепления (разложения) сложных веществ под действием живых организмов, преимущественно микроорганизмов (Ильичев, 1985; Sapna et al., 2020).

Микроскопические грибы (микромикеты), являясь редуцентами, играют важную роль в круговороте веществ и энергии в биосфере. Микромикеты

способны разрушать сложные органические вещества, вызывать коррозию металлов, способствовать почвообразованию и т.д. Многие штаммы микроскопических грибов имеют полезные для человека свойства и используются в промышленности, биотехнологии, медицине и в других областях человеческой деятельности. Однако, несмотря на их полезные свойства, микроскопические грибы способны нанести серьезный ущерб человечеству, поскольку они являются наиболее распространенными источниками факторов биоповреждения промышленных материалов, технических изделий, зданий и сооружений. В результате деятельности грибов материалы теряют свои физические, механические и химические свойства, и, как следствие, их биоповреждение приводит к сокращению сроков эксплуатации материалов и изделий и, в конечном итоге, к большим экономическим издержкам. Более того, многие грибы-биодеструкторы относятся к условно-патогенным микроорганизмам, которые вызывают различные заболевания человека (микозы, микотоксикозы и микоаллергозы), а также болезни сельскохозяйственных растений и животных (Ильичев, 1985; Сухаревич и др., 2009).

Микроскопические грибы, или микромицеты, являются наиболее активными биодеструкторами различных промышленных материалов, как природного, например древесины, так и синтетического происхождения, особенно полимеров и композитных материалов, и способны использовать многие из них в качестве источников питания (Огарков, 2011). Высокая энергия размножения, устойчивость к экстремальным условиям окружающей среды, особенности строения и метаболизма определяют способность грибов заселять всевозможные экологические ниши и использовать поступающие в биосферу полимерные материалы в качестве источников питания (Ильичев, 1985; Огарков и др., 2011, Огарков и др., 2013, Сухаревич и др., 2009).

Грибы размножаются многочисленными спорами, которые образует вегетативный мицелий. Споры настолько малы и масса их так незначительна, что они способны переноситься на огромные расстояния с воздухом, водой,

животными и человеком. Благодаря этому грибы присутствуют практически повсеместно. В благоприятных условиях, прикрепившись к поверхности материалов, споры начинают свое развитие и образуют вегетативный мицелий. Мицелий является одной из наиболее важных биологических особенностей микромицетов, определяющих специфику их взаимодействия с окружающей средой и с субстратом. Мицелий способен захватывать большие площади и поры, а за счет тургорной силы гиф способен проникать внутрь материала и оказывать на них механическое воздействие. Развитие на поверхности промышленных материалов культур микромицетов способствует конденсации из атмосферы воды и скоплению влаги, что приводит к изменению физико-химических и электрофизических свойств в результате набухания и растрескивания полимерного материала (Пехташева и др., 2012).

Помимо механического воздействия (обрастание мицелием, прорастание гиф в толщу материала), плесневые грибы вызывают химическое повреждение материалов за счет воздействия внеклеточных метаболитов. Основными химическими продуктами метаболизма грибов, оказывающими разрушающее действие на полимеры, являются внеклеточные ферменты, органические кислоты, пероксид водорода и др. Действие метаболитов способствует прохождению в основном двух процессов, приводящих к биодеградации: гидролизу и окислению (Крутько и др., 2014).

Под влиянием продуктов метаболизма у материалов, как и в случае с механическим биоповреждением, могут меняться физико-механические свойства и химический состав. После воздействия грибов у полимеров можно наблюдать пигментацию, снижение прочности, гибкости, электроизоляционных свойств и т.д. (Пехташева и др., 2012).

Устойчивость грибов к воздействию факторов окружающей среды играет значительную роль в биоповреждениях промышленных материалов. Например, споры грибов устойчивы к высушиванию. Известны случаи, когда они выдерживали экстремально низкую влажность в течение длительного времени. Значительная часть грибных спор переносит низкие температуры без

потери биохимической активности (Пехташева и др., 2012). Грибы устойчивы к воздействию физических, химических и биологических факторов, за счет прочной клеточной стенки, различных вторичных метаболитов, например, меланина (Toledo et al., 2017).

Факторы окружающей среды, однако, способны влиять и на процессы биоповреждения. Так повышенная влажность, положительная температура и органические загрязнения являются основными причинами возникновения биоповреждений промышленных материалов, так как при этом создаются оптимальные условия для роста и развития грибов (Огарков и др., 2013). Процессы биодеструкции полимерных материалов тесно связаны с факторами окружающей среды, с влажностью, температурой, светом, УФ-излучением, значениями pH среды, а также технологическими факторами: уровень санитарии производств и степень соблюдения условий хранения, транспортировки и эксплуатации изделий, материалов и др. (Ильичев и др., 1985).

Биоповреждения происходят в основном за счет микромицетов, и обуславливается их способностью заселять различные субстраты и использовать материалы в качестве источников питания. Однако, некоторые бактерии также могут принимать участие в биоповреждениях, например, бактерии, разрушающие нефть и нефтепродукты, топлива, смазочно-охлаждающие жидкости и др. Биodeградация и биоповреждения полимеров могут происходить при их производстве, транспортировки, хранении и эксплуатации и тесно связаны с условиями окружающей среды (Андреева, Фахрутдинов, 2013; Сухаревич и др., 2009).

Анализ научных литературных источников по проблеме биоповреждения показал, что с одной стороны, существует потребность создавать биоразлагаемые синтетические материалы, которые не наносили бы вред окружающей среде и биоразнообразию, с другой, важно обеспечивать защиту промышленных материалов, изделий, зданий и сооружений от негативного воздействия живых организмов (в основном микромицетов и

бактерий), защищая, тем самым, условия обитания человека от патогенных штаммов микроорганизмов. Самым эффективным способом защиты промышленных материалов от биоповреждений является введение в их состав различных антимикробных химических соединений биоцидов, в частности, противогрибковых (фунгицидов) (Сухаревич и др., 2009). Существует огромное количество фунгицидов, оказывающих негативное воздействие на рост, развитие и метаболизм микроскопических грибов, например, гетероциклические азотные соединения, полигексаметиленгуанидин и многие другие. В связи с невероятными способностями микроорганизмов приспосабливаться к воздействию химических факторов, арсенал биоцидных соединений необходимо постоянно пополнять. Так, в настоящее время перспективными биоцидными добавками могут стать наночастицы (НЧ) оксидов тяжёлых металлов (Zakharova, Gusev, 2019).

В связи с вышеизложенным, внедрение в эксплуатацию новых синтетических материалов и биоцидных химических соединений должно включать в себя комплексный подход по исследованию их воздействия на окружающую среду. Таким образом, биоповреждение полимерных материалов является экологической и антропогенно-технологической проблемой (Сухаревич и др., 2009).

1.2. Механизмы биодеструкции микромицетами полимеров

Процесс биодеструкции микромицетами полимерных материалов можно разделить на несколько стадий:

- 1) транспорт и попадание микромицетов биодеструкторов (спор, клеток, фрагментов мицелия) к материалу;
- 2) биозагрязнение (биозасорение) т.е. адгезия биодеструкторов на поверхности материала;
- 3) рост биодеструкторов за счет использования в качестве источника питания самого материала или внешних загрязнений;
- 4) биоповреждение материала (частичная потеря свойств полимера) или биоразрушение (полная потеря свойств материала).

Третья стадия характеризуется механическим и химическим воздействием грибов-деструкторов на полимер, которое обуславливается ростом мицелия грибов и выделением им в окружающую среду метаболитов (ферментов, органических кислот, пероксида водорода и др.). Среди таких метаболитов наиболее важными являются ферменты, выделяющиеся из клеток наружу (экстрацеллюлярные или экзоферменты), которые воздействуют на субстраты. Среди внеклеточных ферментов наибольшее значение для деградации и деструкции полимерных материалов представляют классы оксидоредуктаз и гидролаз. Оксидоредуктазы представляют класс ферментов, которые катализируют окислительно-восстановительные реакции с участием кислорода, а также переносят электроны и атомы водорода с одних молекул на другие. Гидролазы присоединяют воду по месту разрыва связи и катализируют реакции гидролиза. Часто для расщепления одного полимера необходимы ферменты разных классов. Например, ферменты дегидрогеназы или оксидазы сначала разрушают углерод-углеродные связи в поливиниловом спирте, превращая его в поливинилкетон, а затем гидролазы превращают его в соединение с карбоксильной группой (Смирнов и др., 2021; Banerjee et al., 2014; La Fuente et al., 2023; Yang et al., 2014).

Как было сказано ранее, разрушение полимерных материалов в процессе биоповреждения осуществляется за счет действия внеклеточных ферментов (экзоферментов). У грибов процесс выделения внеклеточных ферментов происходит в апексе гифы, где отсутствует клеточная стенка, и нет препятствия для их экзоцитоза. Экзоферменты вовлекают в метаболизм полимеры и превращают в низкомолекулярные продукты, способные транспортироваться внутрь гифы, где они подвергаются действию внутриклеточных ферментов и служат источниками питания (La Fuente et al., 2023).

Различные химические реакции декарбоксилирования, этерификации, гидролиза, а также окислительно-восстановительные, катализируемые экзоферментами, разрушают полимерные молекулы. Особенно активное

разрушающее действие на большинство материалов оказывают оксидоредуктазы, гидролазы и лиазы (Смирнов и др., 2021).

В числе оксидоредуктаз важную роль в разрушении многих промышленных материалов играют оксигеназы. В первую очередь, действию таких ферментов подвергаются различные гидрофобные неполярные вещества типа углеводов, а также материалов, образованных ароматическими соединениями. Такие реакции являются обычно первым этапом разрушения многих чужеродных веществ в живой клетке (Пехташева и др., 2012). Липооксигеназы грибов катализируют гидроксилирование производных фенолов, окисление метильных групп в кольцах углеводов. Монооксигеназы окисляют парафины в присутствии молекулярного кислорода, а образующиеся, впоследствии, алифатические спирты преобразуются по пути бетта-окисления жирных кислот (Смирнов и др., 2021).

Дегидрогеназы и оксидазы также принимают участие в процессах биоповреждения. Дегидрогеназы окисляют гидроксильные группы в молекулах до альдегидных и далее до карбоксильных (Пехташева и др., 2012). Термином "оксидаза" обозначаются ферменты, участвующие в реакциях, где акцептором водорода служит кислород (Nyysola, Ahlgren, 2019).

Среди оксидоредуктаз грибов специфическим характером действия отличаются пероксидаза, каталаза и фенолоксидаза. Пероксидаза катализирует окисление перекисью водорода различных органических соединений - фенолов, аминов, гетероциклических соединений, которые в том числе могут встречаться в полимерах в качестве различных добавок (биоциды, пигменты, инициаторы полимеризаций и др.). У мицелиальных грибов значительной пероксидазной активностью обладают представители родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium* и т.д. Каталаза катализирует реакцию разложения перекиси водорода на воду и молекулярный кислород и окисление перекисями различных спиртов и других соединений. Активными продуцентами каталазы являются некоторые виды грибов рода *Penicillium*. Фенолоксидаза катализирует окисление полифенолов с участием кислорода

воздуха как акцептора водорода. Таким образом, данные ферменты участвуют не только в разрушении промышленных материалов, но и входят в антиоксидантную систему клетки гриба (Касатова, 2011).

Микроскопические грибы могут синтезировать эндогенные и экзогенные формы пероксида водорода, используя для этого различные ферменты. В частности, внутри клетки работают эндоферменты, такие как супероксиддисмутаза, глюкозооксидаза и некоторые другие. При этом образующийся H_2O_2 может выделяться в окружающую среду. Образование внеклеточного пероксида водорода может катализироваться некоторыми экзоферментами. В частности, существует внеклеточная изоформа глюкозооксидазы, использующая глюкозу, которая образуется при гидролизе сахарозы, содержащейся в среде культивирования, при помощи внеклеточной инвертазы (Dzambi, Mangoyi, 2020; Martínez-Ruiz et al., 2022). Некоторые микромицеты-биодеструкторы, выделяя во внеклеточное пространство специальные ферменты, продуцирующие пероксид водорода, обеспечивают ряд оксидоредуктаз, играющих большую роль в биодеструкции различных материалов, в частности пероксидазы, одним из субстратов для их работы. Более того, почвенные грибы способны одновременно выделять H_2O_2 и катализатор, что приводит к образованию гидроксильных радикалов в окружающей среде. Такие грибы участвуют в разрушении столь химически инертных соединений как лигнин, ДДТ (4,4 – дихлордифенилтрихлорметилметан) (Hernández-Ortega, Ferreira, Martínez, 2012; Daou, Faulds, 2017).

Пероксид водорода, хотя и является довольно токсичным АФК, используется многими организмами, в частности, некоторыми микромицетами для различных целей (Zhanquan et al., 2020). Как было описано выше, одним из его применений является участие в биодеструкции материалов посредством обеспечения одним из субстратов для реакций, катализируемых указанными выше ферментами. В работе М.В. Челноковой и ее коллег (2012) показано, что сам пероксид водорода способен оказывать негативное действие на различные

вещества, в частности он вызывает коррозию некоторых металлов за счет разложения H_2O_2 при акцептировании электрона из объема металла с образованием гидроксильных радикалов и анионов. Таким образом, могут индуцироваться биоповреждения металлов, смежных с полимерами материалов, которые находятся в составе сложных изделий.

В работе (Zhang et al., 2019) указано, что многие грибы способны использовать некоторые ферменты, например, NADPH-оксидазы, продуцирующие внеклеточный пероксид водорода, для участия в процессах конкуренции и антагонизма с другими грибами, в частности родственными. Кроме того, в работе М.Е. Барсуковой, И.А. Веселовой И.А., Т.Н. Шеховцовой (2019) раскрыта роль пероксида водорода в регуляции различных сигнальных ферментов и транскрипционных факторов, участии в клеточной пролиферации, дифференцировке, миграции и апоптозе, что в целом обеспечивает поддержание гомеостаза целого организма.

1.2.1. Участие органических кислот в биодеструкции полимеров

Грибы, превращая субстраты, выделяют в окружающую среду большое количество органических кислот, которые могут участвовать в процессах биоповреждения. Кислоты, накапливаясь, закисляют среду, обеспечивая оптимум pH для работы экзоферментов, участвующих в процессах биоповреждения, а также сами по себе способны ухудшать физико-химические и товарные свойства материалов, например, вызывая биокоррозию и кислотный катализ в различных реакциях расщепления. Органические кислоты – агрессивные метаболиты микромицетов, которые вызывают деструкцию различных материалов, в том числе и полимерных. Если полиэтилен, полиизобутилен, фенопласты и фурановые смолы наиболее устойчивы к воздействию органических кислот грибов, то менее стойкими являются такие полимеры, как поливинилхлорид, полиметилметакрилат и полиамидные смолы (Смирнов, 2021).

Органическим кислотам принадлежит ведущая роль в разрушении лакокрасочных покрытий. Сильными разрушителями лакокрасочных

покрытий являются пировиноградная, глюконовая, уксусная, щавелевая кислоты (Аникина, 2016). Уксусная и щавелевая кислота разрушают лакокрасочные материалы даже в низких концентрациях. Наиболее выраженным повреждающим эффектом для лакокрасочных покрытий является глюконовая кислота.

В связи с вышеизложенным актуальным является вопрос защиты полимерных материалов от разрушительного воздействия микроорганизмов.

1.3. Способы защиты полимерных материалов от биоповреждений

Среди различных методов защиты полимерных материалов от биоповреждений микроорганизмами можно выделить несколько основных.

В качестве механических способов защиты применяются бактерицидные фильтры, с помощью которых очищают от микроорганизмов жидкие материалы (топливо, различные смазки, жидкие мономеры и компоненты полимеров и т.д.). Очистка жидкостей от микрофлоры может производиться с помощью ионообменных смол. К механическим способам защиты также относят герметичные пыле- влаго- и воздухо непроницаемые системы, препятствующие проникновению микроорганизмов к различным материалам и изделиям. Механические способы защиты материалов от биоповреждающих агентов просты и экономичны, однако они приемлемы лишь для небольшого числа материалов (Зарубина, 2015).

Среди физических методов защиты различных полимерных материалов от биоповреждений можно выделить использование электромагнитного, радиационного и УФ облучения, ультразвука, гидрофобизацию материала, вакуум, биоцидная газовая среда и др. Эти методы широко применяются в оптике, электронике и т.д. Гамма-излучения эффективно используются для стерилизации интегральных микросхем, изделий медицинского назначения. Однако, химический способ защиты является наиболее эффективным способом защиты полимерных материалов от биodeградации. Суть его заключается в введении в состав материалов различных химических соединений, обладающих биоцидной активностью (Пехташева и др., 2012).

Биоциды, применяемые для защиты различных материалов от биоповреждений, способны ингибировать различные реакции метаболизма микроорганизмов и нарушать их клеточные структуры. Биоцид первоначально взаимодействует с клеточной оболочкой и мембраной, проникает через них и затем уже вступает во взаимодействие с компонентами клетки. Биоциды, уничтожающие грибные клетки, называются фунгицидами. Нарушение гомеостаза клетки микромицетов происходит в ответ на проникновение биоцидов в их клетки и выражается в нарушении значительного количества биохимических реакций (экспрессия генов, синтез белка, ферменты и т.д.). Например, наиболее уязвимой группой белков является тиоловая (сульфгидрильная), поэтому трехмерная конформация молекул белков, следовательно, и их биологическая активность во многом зависят от наличия и расположения в молекуле тиоловых групп. Другими важными акцепторами биоцидов в клетке являются аминогруппы. Они, наряду с тиоловыми, определяют структуру и биологическую активность белков. Фунгициды взаимодействуют в клетке также с теми веществами, в молекуле которых есть карбоксильные, альдегидные и спиртовые группы (Пехташева и др., 2012).

Взаимодействие биоцидов с различными группами биомолекул может происходить несколькими путями – замещением, окислительно-восстановительными реакциями, образованием хелатных комплексов и т.д. В настоящее время описано несколько тысяч биоцидов, относящихся к различным классам химических соединений, среди которых, особый интерес представляют фунгициды с коротким сроком действия, так как с истечением срока эксплуатации изделия материалы должны быть утилизированы и не должны наносить вред окружающей среде. Эти фунгициды можно разделить на четыре группы: 1) различные неорганические соединения типа оксидов и солей (ZnO , CuSO_4 , NaF , NH_4BF_4 , $\text{Ca}(\text{CN})_2$). Например, установлено, что оксид железа в составе композиционных полимерных материалов стимулирует рост микроорганизмов, диоксид титана – инертен, а оксид цинка замедляет его. (Крутько и др., 2014); 2) органические соединения (производные фенола,

фосфорсодержащие соединения, амины, гетероциклические соединения и др.). Среди таких соединений эффективными являются гетероциклы азота СМІТ/МІТ; 3) металлоорганические соединения, содержащие ртуть, свинец, олово, натрий, серебро. Ионы тяжелых металлов способны в большей степени воздействуют на белки; 4) полифункциональные добавки – синтетические биологически активные соединения, регулирующие срок биоразложения благодаря снижению внутренних напряжений за счет реализации мезоморфного надмолекулярного уровня организации, способствующего участию в адгезионно-когезионном взаимодействии наибольшего числа активных функциональных групп, их регулярному локальному распределению в системе (Крутько и др., 2014).

В связи с высокой устойчивостью и адаптационной способностью грибов к действию различных химических соединений арсенал биоцидных добавок необходимо постоянно пополнять.

1.4. Оксиды тяжелых металлов как биоцидные соединения

В последнее время оксиды тяжелых металлов (ОТМ), а именно их мелкодисперсные формы в виде субмикронных (СЧ) и наноразмерных (НЧ) частиц привлекают все большее внимание со стороны исследователей всего мира (Zakharova, Gusev, 2019; He et al., 2011). Так СЧ и НЧ оксидов, например, ZnO, TiO₂, CuO и др., в настоящее время находят широкое применение в тяжелой и лёгкой промышленности, в микроэлектронике, медицине, ветеринарии, сельском хозяйстве в качестве пигментов, активаторов вулканизации, катализаторов, а также, что особенно интересно, в качестве антимикробных химических соединений, способных подавлять жизнедеятельность вирусов, бактерий и грибов. Нередко в научных работах упоминается, что такие химические соединения можно использовать как средства защиты промышленных материалов от биоповреждений и биообрастания (Мелешко и др., 2020; Огарков, 2011).

Оксиды тяжелых металлов с антимикробными свойствами могут найти широкое применение в различных областях человеческой деятельности и

помочь эффективно бороться с патогенными микроорганизмами, особенно в условиях постоянного роста их резистентности к химическим факторам (Cruz-Luna et al., 2021, Yael et al., 2022, Wahab et al., 2023, Semenychева et al., 2024).

Согласно номенклатуре Международного союза теоретической и прикладной химии (IUPAC) субмикронных частица (СЧ) – это частица размером от 10^{-7} до 10^{-4} м (Vert et al., 2012). НЧ характеризуются размерами меньше 0,1 мкм или 100 нм. При таком размере частиц некоторые физико-химические свойства оксидов существенно изменяются или же приобретаются новые уникальные качества (Grunwald, 2010).

Так, например, НЧ и СЧ оксидов тяжелых металлов могут быть более токсичными, чем их более объемные аналоги. Поскольку НЧ и СЧ имеют небольшой размер, они могут легко преодолевать биологические барьеры, нарушать целостность клеточных стенок и мембран, разрушать белки, ДНК, АТФ и другие молекулы, что в дальнейшем может привести к нарушению гомеостаза в живых системах (Wahab et al., 2023).

Уменьшение размеров СЧ и НЧ позволяет усиливать их реакционные способности и антимикробные свойства. Различные технологии модификации НЧ и СЧ, например, создание на их основе нанокомпозитов, рассматриваются в качестве перспективных способы усиления их антибактериальных и фунгицидных свойств. Ряд исследователей отмечают существование синергетического эффекта от комплекса различных НЧ и СЧ, что приводит к усилению антимикробных и других свойств подобных материалов (Мелешко и др., 2020).

Одной из самых интересных особенностей некоторых СЧ и НЧ оксидов является их способность взаимодействовать со светом различного спектрального диапазона. При взаимодействии таких частиц со светом провоцируется фотогенерируемый катализ, активность которого зависит от способности оксида создавать пары электрон-дырка. В результате таких фотохимических реакций образуются свободные радикалы, способные вступать во вторичные реакции. Для многих ОТМ отмечена

фотокаталитическая активность, однако большинство из них проявляют ее только при воздействии УФ-излучения, которое само обладает антимикробной активностью. Поэтому научный интерес представляет создание сложных оксидов тяжелых металлов, которые способны воспринимать свет видимого спектра, в связи с тем, что в процессе фотокатализа происходит образование АФК и тем самым, их антимикробные свойства могут быть усилены (Zakharova, Gusev, 2019; Mitoray et al., 2007; Thabet et al., 2014; Ibarra-Laclette et al., 2022, Wahab et al., 2023, Аникина и др., 2024). АФК способствует липопероксидации, повреждению клеточных мембран и органелл, нарушению экспрессии генов и активации генов апоптоза, а также нарушению синтеза ряда клеточных белков и ферментов (Seroev et al., 2023).

Биоцидное действие фотокаталитически активных субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов зависит от ряда факторов и параметров: размера частиц, их концентрации и морфологии, волнового спектра, интенсивности источника света, природы металла и вида биологического объекта (Zakharova, Gusev, 2019; Yamamoto, 2001; Adams et al., 2006). Хорошо известно, что эти упомянутые факторы можно изменять и контролировать с помощью методов синтеза (Cruz-Luna et al., 2021).

Исследования воздействия света на фотокаталитические оксиды в контексте воздействия их на грибы – биодеструкторы позволят создать новое поколение антимикробных средств с регулируемым антимикробным эффектом, как в плане интенсивности биоцидного действия, так и в плане избирательности по отношению к видам микроорганизмов (Zakharova, Gusev, 2019).

1.4.1. Основные механизмы противогрибкового действия оксидов

1.4.1.1. Механизм действия наночастиц на клеточную стенку грибов

Клеточная стенка (КС) грибов имеет большое значение для их роста, развития, превращения субстратов и защиты от неблагоприятных факторов окружающей среды. КС играет важную роль для патогенных микромицетов, обеспечивая инвазию и устойчивость гриба к защитным механизмам хозяина.

Однако характерная структура делает её хорошей мишенью для противогрибковых препаратов (Yael et al., 2022). В частности, СЧ и НЧ оксидов способны повреждать клеточные стенки и мембраны (рисунок 1).

КС грибов имеют отрицательно заряженные группы, которые привлекают положительно заряженные частицы оксидов к своей поверхности путем электростатических взаимодействий. Частицы оксидов и ионы металлов устанавливают прочную связь с КС и мембранами, что приводит к разрушению и увеличению их проницаемости. Структурные повреждения биологических барьеров приводят к накоплению частиц внутри клеток и к повреждению их содержимого, а также к утечкам цитоплазмы. На примере ZnO было показано, что частицы оксидов способны взаимодействовать с мембранными липидами и тиоловыми (–SH) группами белков, которые также важны для трансмембранного и внутриклеточного транспорта. Проникая внутрь клетки, частицы ZnO могут разрушать ДНК, ферменты, рибосомы, снижать уровень АТФ. Происходит нарушение митохондриальной функции, утечка лактатдегидрогеназы и изменение морфологии клетки под действием частиц (Zakharova, Gusev, 2019).

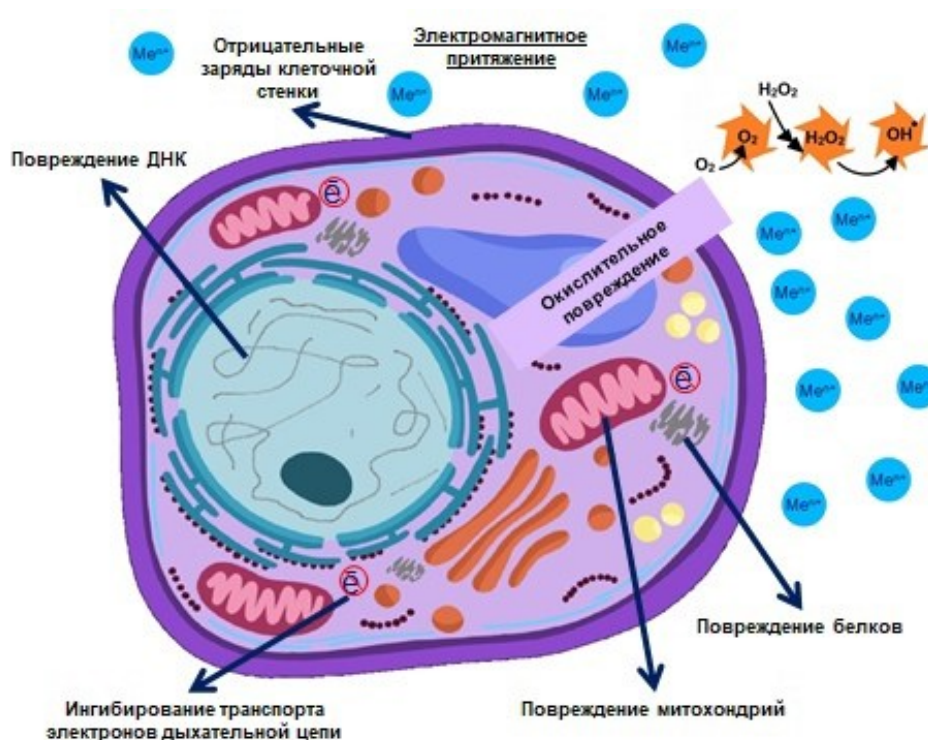


Рисунок 1. Механизм антимикробного действия СЧ и НЧ оксидов на примере грибной клетки

СЧ и НЧ оксидов деформируют структуру мицелия гриба: заметное истончение и сгущение волокон гиф, разжижение цитоплазматического содержимого, снижение его электронной плотности с наличием ряда вакуолей и значительным отрывом клеточной стенки (рисунок 2).

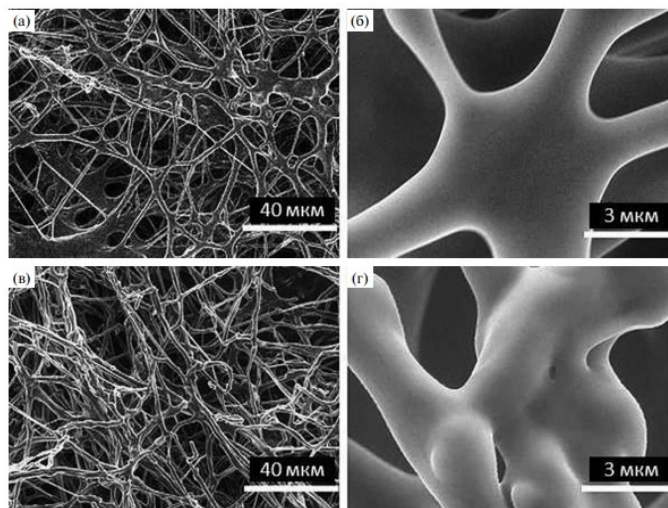


Рисунок 2. Микрофотография мицелия гриба без оксидов (а, б), после обработки ZnO (в, г) (Zakharova, Gusev, 2019)

Было показано, что наночастицы влияют на характер роста микроскопических грибов, что приводит к сгущению и истончению гифальных волокон (Wahab et al., 2023). Оксиды вызывают аномальные морфологические изменения гиф (они становятся скрученными и сморщенными) и препятствуют их переходу в спорообразование (Sharmin et al., 2021). Такие изменения в морфологии мицелия связаны со снижением проницаемости клеточной стенки и мембраны мицелия (Li et al., 2022), что указывает на нарушения их структуры.

Исследования показали, что наночастицы могут напрямую взаимодействовать с КС грибов и встраиваться в них во время адсорбции, что приводит к таким морфологическим изменениям как агрегация клеток, образование пор и т.д. Внутренние мембраны также деформируются, изменяется расположение органелл, например, увеличивается количество внутриклеточных везикул и вакуолей, а содержание цитоплазмы уменьшается, что приводит к высвобождению содержимого клетки (Wahab et al., 2023).

Было обнаружено, что НЧ снижают биосинтез эргостерола, что нарушает целостность клеточной стенки, увеличивает её проницаемость, способствует деполяризации клеточной стенки и повышает уровень АФК. Кроме того, зафиксирована активация генов, участвующих в биосинтезе хитина и β -глюканов, что позволяет предположить о компенсаторном механизме выработки этих компонентов с целью сохранения целостности клеточной стенки в результате нарушения синтеза эргостерола (Ibarra-Laclette et al., 2022).

Наночастицы оксидов тяжёлых металлов способны проникать через клеточную стенку и мембрану по четырём основным механизмам (Patrón-Romero et al., 2022):

1) частицы взаимодействуют с мембранными рецепторами, которые в сочетании с эффектором функционируют как вторичные мессенджеры, активируя другие сигнальные пути;

2) путем ионных каналов, которые облегчают проникновение в цитоплазму. Таким образом, НЧ способствуют инактивации естественных механизмов мембранного переноса ионов и питательных веществ через клеточные стенки и мембраны, что блокирует жизнедеятельность клетки (Serov et al., 2023);

3) с помощью эндоцитоза. В этом процессе фрагмент липидной клеточной мембраны покрывает субмикронные частицы, что позволяет образовывать вакуоли, которые впоследствии сливаются с мембранами других органелл, таких как ядро и митохондрии. Этот процесс не требует значительного повреждения клеточной мембраны (Wahab et al., 2023);

4) прямое поглощение, при котором субмикронные частицы (в зависимости от их размера и формы) напрямую проникают через клеточную мембрану или клеточную стенку. Такое проникновение характеризуется нарушением целостности мембраны (и/или стенки) вследствие её деполяризации, происходящей в результате адгезии наночастиц на её поверхности (Serov et al., 2023).

Таким образом, при взаимодействии СЧ и НЧ оксидов с клетками грибов происходит разрушение биологических барьеров, и, как следствие, проникновение частиц внутрь клетки и нарушение гомеостаза посредством множества механизмов.

1.4.1.2. Механизм действия наночастиц на ДНК грибов

Было установлено, что НЧ оксидов способны связываться с ДНК в ядрах, вызывая её фрагментацию и конденсацию (Yael et al., 2022). Ряд наночастиц (например, наночастицы меди) способны сшивать нити ДНК, искажая её спиральную структуру (Mandhata et al., 2021).

Изменения в структуре ДНК, которая заключена в ядре, подразумевает, что НЧ должны пересекать ядерную мембрану или производить значительные повреждения во внутриклеточных мембранах, которые позволили бы им находиться в контакте с ДНК. Также взаимодействие с нуклеиновыми кислотами могут осуществлять ионы, выделяемые наночастицами (Yael et al., 2022). Кроме того, некоторые исследования показали, что ионы более токсичны, чем их НЧ-аналоги, возможно, из-за их размера, который облегчает проникновение в клетки, или их способности вступать в комплекс с другими биомолекулами (Wahab et al., 2023).

1.4.1.3. Механизм действия наночастиц на ферменты грибов

Исследования показывают, что высокие концентрации токсичных металлов подавляют активность ферментов, изменяют их специфичность и приводят к конформационным изменениям в нуклеиновых кислотах и белках, что влияет на транскрипционные и трансляционные этапы (Mandhata et al., 2021). В частности, происходит снижение активности дегидрогеназ (Serov et al., 2023), кислых и щелочных фосфатаз (Mandhata et al., 2021). Тогда как активность α -химотрипсина, β -глюкуронидазы, β -глюкозидазы возрастает (Almansob et al., 2022).

При воздействии некоторых наночастиц серебра было зафиксировано снижение активности ферментов антиоксидантной системы клетки: супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, аскорбатпероксидазы и

глутатионпероксидазы (Yael et al., 2022). Тогда как в других случаях (например, при добавлении наночастиц CuO, ZnO) наблюдали увеличение активности каталазы, пероксидазы и СОД, что может указывать на устранение окислительного стресса в клетке вследствие воздействия АФК (Ibarra-Laclette et al., 2022, Yael et al., 2022).

1.4.1.4. Механизм действия наночастиц на работу митохондрий

Наночастицы тяжёлых металлов способны приводить к дисфункции митохондрий (рисунок 3). Во-первых, было обнаружено, что в присутствии субмикронные частиц, увеличивается митохондриальный биогенез (Patrón-Romero et al., 2022), что свидетельствует о клеточной реакции, направленной на компенсацию снижения функции митохондрий (Minju et al., 2018). Однако, это не компенсирует снижение функций митохондрий, так как вновь образующиеся органеллы также подвергаются действию наночастиц.

Митохондриальному биогенезу также способствуют повреждения генетического материала (двухцепочечные разрывы и окисление азотистых оснований) в ядре клетки, что индуцирует большую экспрессию факторов, сигнализирующих о начале синтеза новых органелл. Такое нарушение структуры ДНК и РНК происходит вследствие повышения уровня активных форм кислорода (АФК) (Patrón-Romero et al., 2022). В свою очередь АФК образуются в ходе нарушения работы ЭТЦ митохондрий, а также в результате фотокаталитических химических реакций, то есть при воздействии квантов света с наночастицей возникают процессы преобразования молекулы кислорода до супероксида аниона или синглетного кислорода и преобразование воды до гидроксильного радикала и далее - до пероксида водорода.

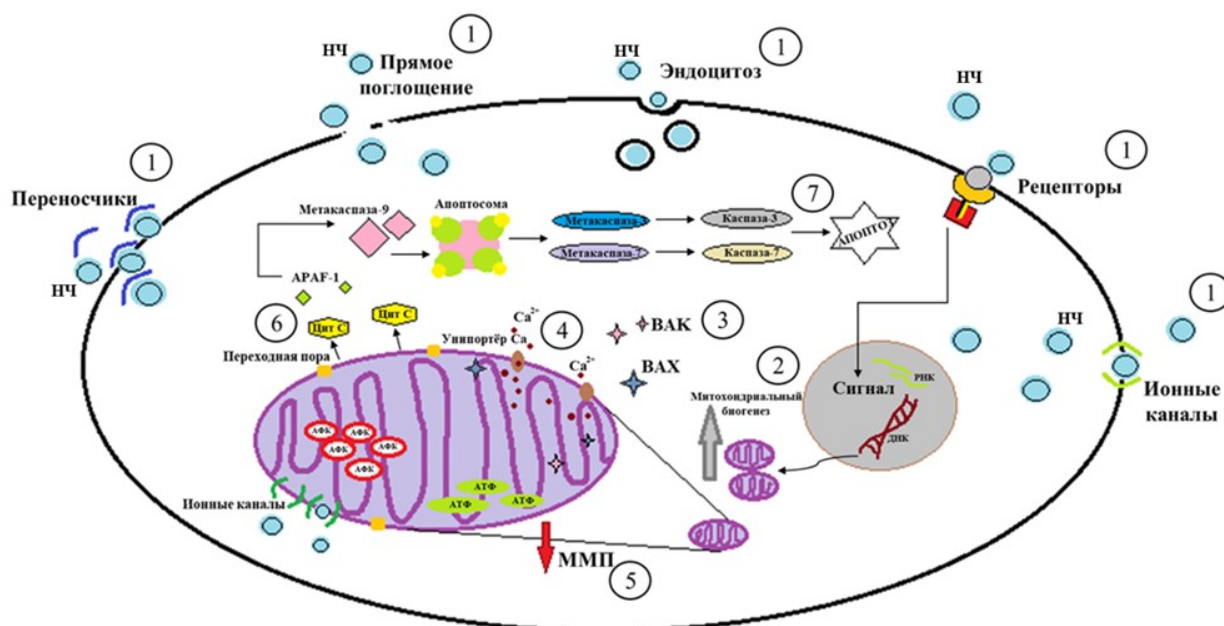


Рисунок 3. Воздействие НЧ оксидов на митохондрии (Patrón-Romero et al., 2022).
 1 – пути проникновения в клетку; 2 – активация митохондриального биогенеза; 3 – высвобождение проапоптотических белков; 4 – поглощение ионов кальция митохондриями; 5 – снижение митохондриального мембранного потенциала (ММП); 6 – высвобождение цитохрома с; 7 – апоптоз

По мере усиления клеточного стресса пути компенсации повреждения запускают высвобождение проапоптотических белков, таких как BCL-ассоциированный белок X-2 (BAX) и/или антагонист/киллер-2 BCL (BAK). Активированный BAX или BAK образует поры в митохондриальной мембране, что приводит к высвобождению апоптогенных молекул (цитохрома с и Araf-1) (Patrón-Romero et al., 2022).

Во-вторых, установлено, что в митохондриях происходит увеличение концентрации ионов кальция (Minju et al., 2018, Yael et al., 2022). Это может быть связано с повышением в присутствии наночастиц проницаемости мембраны митохондрий для цитоплазматических ионов кальция (усиленной работой унипортеров кальция) (Rizzuto et al., 2012). Нарушение митохондриального гомеостаза Ca^{2+} сопровождается снижением митохондриального мембранного потенциала, что способствует открытию переходной поры проницаемости митохондрий. Она, в свою очередь, индуцирует деполяризацию трансмембранного потенциала и

приводит к высвобождению апоптогенных факторов, к одним из которых относится цитохром с (Minju et al., 2018).

Цитохром с является компонентом цепи переноса электронов в митохондриях, и его высвобождение является индикатором сбоя в работе цепи и сигналом остановки окислительного фосфорилирования (Yael et al., 2022).

Высвобождение цитохрома с из митохондрий в цитозоль может привести к активации метакаспаз, которые всегда присутствует в клетке в неактивной форме и могут быть активированы расщеплением (Minju et al., 2018). Метакаспазы грибов являются гомологами каспаз млекопитающих, которые расщепляют определенные субстраты и вызывают апоптотическую гибель клеток (Yael et al., 2022). Помимо вышесказанного, наночастицы способны взаимодействовать с Fe-S кластерами и тем самым нарушать работу дыхательных комплексов ЭТЦ (Yael et al., 2022).

Оксиды тяжелых металлов в виде СЧ и НЧ способны оказывать многогранное воздействие на клетку. Наиболее уязвимыми к действию СЧ и НЧ оксидов являются КС, мембраны, структурные белки и ферменты, ДНК, АТФ и т.д. Также СЧ и НЧ оксидов способны высвобождать ионы тяжелых металлов, которые усиливают антимикробный эффект. Оксиды, обладающие фотокаталитической активностью, в дополнение к вышеуказанным механизмам, способны образовывать АФК при воздействии света, что приводит к развитию окислительного стресса. Таким образом, СЧ и НЧ фотокаталитических оксидов могут подавлять жизнедеятельность микроорганизмов и использоваться в качестве потенциально новых и эффективных биоцидных соединений.

1.4.2. Влияние света на антимикробную активность оксидов тяжелых металлов

Некоторые оксиды тяжелых металлов способны усиливать свои антимикробные свойства в условиях воздействия светового излучения. Причем, увеличение интенсивности освещения усиливает антибактериальный эффект, но в зависимости от вида организма степень токсичности различна при

тех или иных условиях (Adams, 2006; Prakash et al., 2022). Так в работе (Popov et al., 2018) было показано, что освещение наночастиц оксида вольфрама (WO_3) существенно повышает их токсичность в отношении бактериальных клеток и клеток млекопитающих, в то время как грибы в тех же условиях были менее чувствительны к действию наночастиц оксида вольфрама. Кроме того, была показано зависимость степени токсического эффекта от времени экспозиции и дозы излучения. Скорость фотокаталитических реакций пропорциональна интенсивности излучения лишь до определенного значения. Так, авторы (Lee et al., 2016) продемонстрировали, что скорость реакции пропорциональна потоку излучения до величины 25 мВт/см^2 , но выше этого значения изменяется пропорционально интенсивности в дробной степени.

Известно, что TiO_2 , ZnO и другие простые оксиды металлов и их модификации (Liu et al., 2019) фотокаталитически активны только в УФ-диапазоне или близкой к УФ-области видимого света. УФ-диапазон составляет всего около 5–9% в спектре солнечного света (100–400 нм), при этом распределение интенсивности между этими длинами волн не одинаково и основная часть приходится на 350–400 нм. Соединения, поглощающие свет с длиной волны менее 400 нм, работают под действием солнечного света малоэффективно и требуют отдельный источник излучения на длине волны поглощения. В связи с этим актуальным является поиск новых соединений, которые проявляют фотокаталитическую активность в видимом спектре.

Оксид цинка (ZnO) поглощает УФ-излучение из-за наличия области обедненной электронами (кислородные вакансии увеличивают генерацию АФК) (Zakharova, Gusev, 2019). Образование частицами оксидов металлов активных форм кислорода (АФК) под действием светового излучения является одним из путей их взаимодействия с микроорганизмами (рисунок 4).

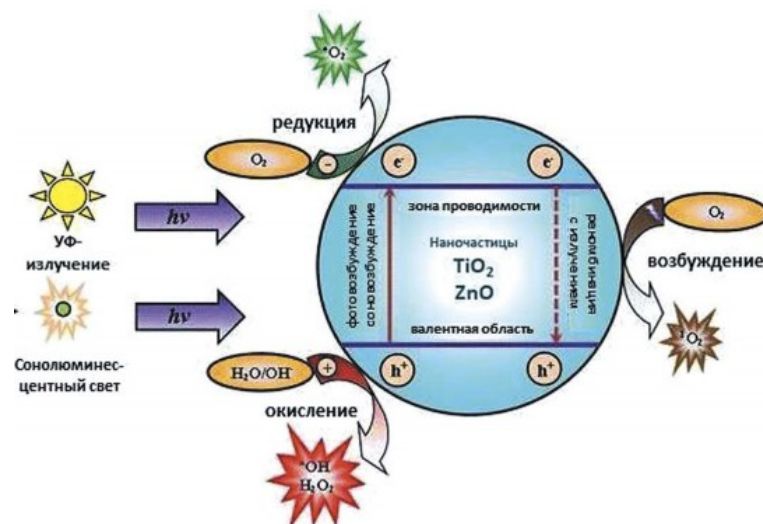


Рисунок 4. Возможные пути образования активных форм кислорода оксидами тяжелых металлов (Bogdan et al., 2017)

Под действием ультрафиолетового кванта в ZnO и TiO_2 возбуждаются электроны из валентной зоны в зону проводимости, появляются электронно-дырочные пары (e^-h^+) и на поверхности частиц оксидов происходят реакции окисления/восстановления с водой и кислородом, что приводит к образованию АФК. Фотогенерируемые дырки (h^+) расщепляют молекулы воды, содержащиеся в суспензии с оксидом цинка, на гидроксид-радикалы и протоны. Электроны реагируют с растворенным кислородом с образованием супероксид-аниона, который, взаимодействуя с протоном, превращается в гидропероксильный радикал. Затем из этого радикала в реакции с протоном и электроном образуется перекись водорода (Bogdan et al., 2017).

Взаимодействие свободных радикалов и образовавшихся продуктов с белками ведет к утрате их биологической активности, нарушению проницаемости для ионов H^+ , OH^- и Ca^{2+} . Так, например, $\bullet\text{O}_2^-$ окисляет SH-группы в составе белковых соединений, вызывает деполимеризацию гликозаминогликанов и кислых полисахаридов, инактивирует каталазу, глутатионпероксидазу, угнетает транспорт ионов кальция. Ускорение перекисного окисления липидов в мембранах вызывает обеднение микроокружения белков непредельными липидами (Кяримов и др., 2020).

Поскольку гидроксильные радикалы и супероксид-анионы имеют отрицательный заряд, они не способны проникать внутрь клетки, в то время

как пероксид водорода на это способен. Было обнаружено также, что образующиеся при облучении оксида металла УФ-светом супероксид-анион радикалы и гидроксильные радикалы взаимодействуют с клеточной стенкой, разрушают плазматическую мембрану, тем самым вызывая потерю внутриклеточного материала, нарушению осмотического баланса и гомеостаза клетки (Bogdan et al., 2017).

1.5. Другие факторы, влияющие на антимикробную активность оксидов

Доказано, что антибактериальная и фунгицидная активность субмикронных и наноразмерных частиц оксидов тяжелых металлов зависит от нескольких факторов, среди которых размеры частиц, их форма, концентрация, поверхностный заряд, способность образовывать АФК под воздействием светового излучения и др. (рисунок 5).

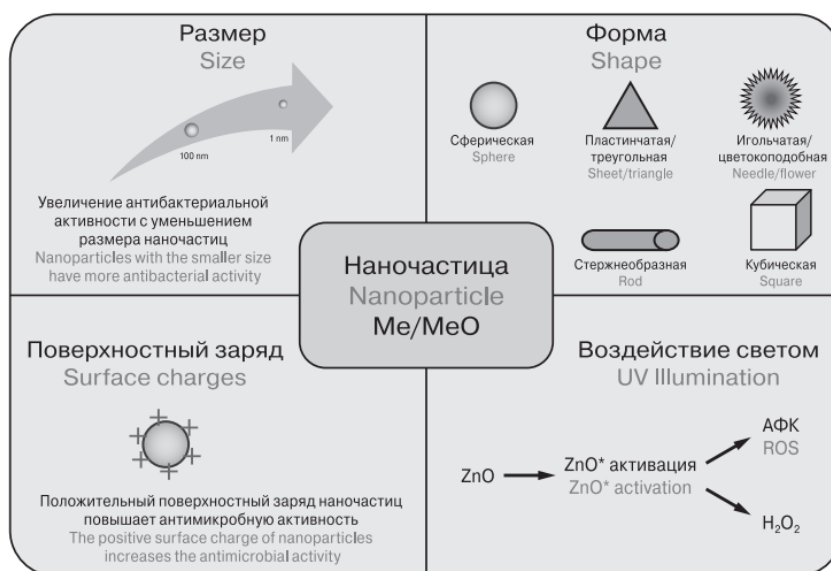


Рисунок 5. Факторы, влияющие на антимикробную активность наночастиц. (Zakharova, Gusev, 2019)

Так было установлено, что частицы оксидов металлов меньших размеров имеют более сильные антибактериальные и фунгицидные свойства. Наночастицы размером больше критического адсорбируются на поверхности мембраны и неспецифически связываются с молекулами фосфолипидов в мембранах за счет электростатических, ван-дер-ваальсовых и гидрофобных взаимодействий, увеличивая вязкость липидного бислоя и механические напряжения в мембране. Если размеры наночастиц меньше критического

значения, они способны проникать сквозь мембрану, образуя поры и накапливаясь в цитоплазме (Mokrushnikov, 2020). НЧ, попадая в кислые лизосомы, растворяются и высвобождают ионы металлов (Ag^+ , Zn^{2+} , Cu^{2+}) (Воробьёва и др., 2019)

Также было показано, что усиление антимикробной активности СЧ и НЧ может быть связана с тем, что более мелкие частицы ZnO высвобождают свои токсичные ионы (Zn^{2+}) с более высокой скоростью из-за увеличения поверхностно-объемного отношения при уменьшении размера частиц (Мелешко и др., 2020; Sirelkhatim et al., 2015).

Форма частиц также способна влиять на антимикробную активность оксидов тяжелых металлов. Было показано, что наночастицы серебра с формой частиц в виде треугольных призм проявляли более сильную антибактериальную активность по сравнению с наночастицами сферической формы (Van Dong et al., 2012).

Антимикробная активность наночастиц также может модулироваться путем контроля их поверхностного заряда (Мелешко и др., 2020). Дело в том, что эти положительные частицы взаимодействуют с отрицательно заряженными фосфолипидами на внешней мембране, в результате чего наночастицы поглощаются клеткой (Воробьёва и др., 2019).

Таким образом, антимикробная активность оксидов тяжелых металлов зависит от таких факторов, как размер, форма и заряд частиц, состав металлов, концентрация, наличие светового излучения и его интенсивность, а также от вида биологического объекта.

1.6. Механизмы защиты грибов против наночастиц тяжёлых металлов.

Согласно литературным данным, выделяют 4 основных механизма защиты микроскопических грибов против наночастиц тяжёлых металлов и их оксидов: биосорбция, биоаккумуляция и компартментализация, хелатирование металла и удаление металлов транспортными системами клетки (Mandhata et al., 2021).

Биосорбция – адсорбция НЧ оксидов и ионов металлов на поверхности клеточной стенки, мембраны и биомолекул грибов посредством электростатических взаимодействий, сил Ван-дер-Ваальса, ковалентной связи или их комбинации (Mandhata et al., 2021). Грибы считаются наиболее эффективными биосорбирующими организмами, поскольку его клеточная стенка состоит примерно из 90% полисахаридов (Yael et al., 2022). Как правило, снижение биосорбционной способности наблюдается с увеличением концентрации металла из-за насыщения участков связывания металла с поверхностью клеточной стенки или мембраны (Cruz-Luna et al., 2021).

Биоаккумуляция – осаждение НЧ и ионов металла в различных клеточные органеллах (компартиментализация), что снижает их токсический эффект (Ibarra-Laclette et al., 2022). По сравнению с биосорбцией, биоаккумуляция возможна только в живых клетках и происходит с затратой энергии (Mandhata et al., 2021).

Хелатирование металла – связывание НЧ и ионов металла с хелатирующими молекулами, что приводит к смягчению токсического эффекта НЧ. К хелатирующим молекулам относятся:

- 1) Органические кислоты (в частности, лимонная и щавелевая кислоты), которые могут образовывать комплексы с двух- и трёхвалентными металлами (Fe, Cu, Al и др.), что способствует детоксикации НЧ (Ibarra-Laclette et al., 2022).

- 2) Меланины – это темноокрашенные пигменты, способные, за счёт наличия в их составе фенольных, карбонильных, метоксильных и карбоксильных групп (Воробьёва, 2023), связывать свободные радикалы и ионы металлов на поверхности клеточной стенки и мембраны, что препятствует попаданию субмикронные частицы внутрь клетки (рисунок 6) (El-Naggar, Saber, 2022).



Рисунок 6. Накопление меланина в клеточной стенке гриба (Camacho et al., 2019)

3) Некоторые аминокислоты и ферменты: пролин, малондиальдегид, цитохром-с-оксидаза, каталаза, пероксидаза и СОД (Ibarra-Laclette et al., 2022). В частности, ферменты антиоксидантной системы способны устранять окислительный стресс клетки, вызванный гиперпродукцией АФК (Wahab et al., 2023).

4) Низкомолекулярные белки могут связывать НЧ и ионы тяжелых металлов за счет сульфгидрильных групп (Ibarra-Laclette et al., 2022).

Ключевую роль в защите живых организмов от повреждающего действия АФК выполняет антиоксидантная система, которая включает участвующие в метаболизме АФК ферменты (прежде всего, каталазы, пероксидазы и фенолоксидазы) и низкомолекулярные соединения (например, токоферол, аскорбиновая кислота, флавоноиды и т.д.), взаимодействующие с активными радикалами. Функционирование данной системы нейтрализует избыток АФК и обеспечивает защиту биологических структур клетки (Тюлькова и др., 2022).

1.6.1. Меланин грибов

Меланины являются темноокрашенными высокомолекулярными пигментами нерегулярной структуры, которые принято относить к вторичным метаболитам. Меланины не являются обязательными веществами, необходимыми для роста и развития грибов, так как доказано существование, как пигментированных, так и непигментированных штаммов одного и того же вида. С другой стороны, многочисленные исследования говорят о том, что

меланины являются крайне важными химическими соединениями, обеспечивающие устойчивость к различным условиям окружающей среды организма, накапливающего меланин (Кукулянская, 2001).

Функции данной группы пигментов весьма разнообразны. Присутствие меланина в клеточной стенке увеличивает отрицательный заряд и гидрофобность клетки (Pihet et al., 2009). Это в свою очередь ведет к повышению ее сорбционных свойств по отношению к различным ионам тяжелых металлов и наночастицам оксидов. Таким образом, пигменты могут предотвращать попадание внутрь клетки гриба токсичных металлов и их оксидов (Grishkan, 2011).

Показано, что пористость клеточной стенки грибов зависит от степени ее меланизации (Jacobson, Ikeda, 2005). Уменьшение размера пор в сочетании с сорбционными свойствами меланина способствует устойчивости таких клеток к различным органическим и неорганическим химическим соединениям (Eisenman et al., 2005).

Особенностью меланинов, определяющей их защитную функцию, является наличие в их составе парамагнитных центров (Dighton et al., 2008). Они выступают в качестве молекулярных ловушек, участвуя в дезактивации свободных радикалов, возникающих после облучения или же после различных реакций аутоокисления, постоянно протекающих в клетках (McGraw, 2005). Таким образом, грибные меланины являются мощными антиоксидантами, способными нейтрализовывать окислительный стресс (Cunha et al., 2010). Также они могут защищать клетки от гипохлорита, перманганата и перекиси водорода (Jacobson et al., 1995).

Меланины способны защищать клетки живых организмов от радиоактивного и УФ излучения. Так рядом авторов было показано, что радиорезистентность напрямую связана с наличием в клетках пигмента меланина (Егорова и др., 2011; Zhdanova et al., 1991; Zhdanova et al., 2002, Claudia et al., 2017). Кроме того, было выяснено, что молекулы меланина могут определенным образом улавливать и преобразовывать поступающую энергию,

и в дальнейшем использовать ее на рост и развитие организма, причем усиление роста напрямую зависит от уровня меланизации и мощности дозы облучения (Shuryak et al., 2014). Та же зависимость количества содержания меланина от дозы радиации в среде применима и к спорам (Гесслер, 2014).

Меланин является одновременно гидрофобным и отрицательно заряженным, что дает ему возможность связываться с широким спектром веществ. Исходя из этого, меланизованные грибы считаются хорошими кандидатами для биоремедиации, поскольку организмы могут потенциально связывать многие токсичные вещества. Это было проверено в лабораторных и полевых экспериментах, например, *A. niger* может связываться с чернилами сепия в воде, тем самым обесцвечивая ее (Lamia, Neji, 2010). Лишайники, выделенные из заброшенной шахты с высоким содержанием токсичных тяжелых металлов, содержат уран, железо и медь, связанные с меланизированными клетками гриба (Purvis et al., 2004; Turick et al., 2008).

2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследования

Для оценки возможности использования акриловых полимеров в качестве источников питания были использованы штаммы грибов *Aspergillus oryzae* F-2096; *Aspergillus niger* F-1119; *Aspergillus terreus* F-1025; *Chaetomium globosum* F-109; *Paecilomyces variotii* F-378; *Penicillium funiculosum* F-1115; *Penicillium chrysogenum* F-245; *Penicillium cyclopium* F-245; *Trichoderma viride* F-1117 в соответствие с ГОСТ 9.049–91 «Единая система защиты от коррозии и старения. Материалы полимерные и их компоненты. Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов».

Для лакокрасочных материалов использовались штаммы грибов *A. niger* van Tieghen F-1119, *A. terreus* Thom F-1025, *Alternaria alternata* Keissler F-1120, *Penicillium chrysogenum* Thom F-245, *Penicillium cyclopium* Westling F-265, *Penicillium funiculosum* Thom F-1115, *Fusarium moniliforme* Sheklon F-136 согласно ГОСТ 9.050-2021 «Единая система защиты от коррозии и старения. Покртия лакокрасочные. Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов». Все культуры грибов получены из Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ, ИБФМ РАН, Пущино) и являются активными биодеструкторами различных полимерных материалов.

Для проведения экофизиологических и биохимических исследований использовались штаммы грибов *Aspergillus niger* F-1119, *Chaetomium globosum* F-109, *Penicillium chrysogenum* F-245 и *Penicillium cyclopium* F-245.

В качестве новых акриловых полимеров выбраны полимерные материалы на основе метакриловой кислоты и этиленгликоля: ДМЭГ или поли(диметакрилат этиленгликоля) и ТГМ-3 поли(диметакрилат триэтиленгликоля), разработанные в Институте металлоорганической химии им. академика Г.А. Разуваева, г. Н. Новгород (Kovylin et al., 2018; Len'shina et al., 2016).

Водные акриловые эмульсии марок «Лакротэн Э–21», «Лакротэн Э–31» (ООО Оргхимпром, г. Дзержинск). Водоземulsionная краска ВДАК.

Органическое стекло на основе полиметилметакрилата (ПММА) (НИИ Полимеров, Дзержинск).

Субмикронные частицы фотокаталитически активных сложных оксидов тяжелых металлов $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 , со средним размером частиц 736 и 670 нм соответственно, впервые получены в НИИ Химии ННГУ им. Н.И. Лобачевского. Также в данной работе использованы фотокаталитические оксиды $\text{CsV}_{0.625}\text{Te}_{1.375}\text{O}_6$, NaVMoO_6 , KVMoO_6 со средним размером частиц нм, соответственно 300, 100 и 400 нм, соответственно. Простой фотокаталитический оксид WO_3 (674 нм) взят в работе для сравнения антимикробных свойств сложных и простых оксидов.

Штаммы бактерий *Escherichia coli* ATCC 25922 (грамотрицательная) и *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 Р (грамположительная) использовали для оценки антибактериальных свойств исследуемых оксидов тяжелых металлов и композитов.

В качестве источников света использовали светодиодные прожекторы JAZZWAY PFL-C3 мощностью 30 и 50 Вт, которые располагались на расстоянии 15 см от поверхности образцов, для исключения влияния теплового эффекта. Поверхностная плотность потока излучения источников составляла 325.5 Вт/м² для источника 30 Вт и 524 Вт/м² для источника 50 Вт.

2.2. Культивирование микроорганизмов

Питательная среда Чапека-Докса (NaNO_3 – 2.0, KH_2PO_4 – 0.74, K_2HPO_4 – 0.3, KCl – 0.5, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.5, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.01, агар – 20.0, сахароза – 30.0 г/л) использовалась для получения спорообразующего мицелия и культивирования грибов при температуре 28 ± 2 °С и относительной влажности более 90 %.

Бактерии культивировали на агаризованной питательной среде ГРМ-агаре, при 37 °С.

2.3. Характеристика исследуемых субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов

2.3.1. Фазовая однородность исследуемых оксидов тяжелых металлов

Фазовую однородность полученного образца и использованного реактива проверяли методом рентгенофазового анализа. Исследование порошкового образца проводили на дифрактометре Shimadzu XRD-6100 (Shimadzu, Япония) с использованием Ni-фильтра ($\text{CuK}\alpha$, $\lambda=1.5418 \text{ \AA}$) в интервале 2θ 10–60° со скоростью 1 °/мин.

2.3.2. Растровая электронная микроскопия субмикронных частиц

Фотографии частиц порошковых образцов были получены методом растровой электронной микроскопии (РЭМ) на растровом электронном микроскопе JSM-IT300LV (JEOL, Япония) с диаметром электронного зонда - до 5 нм (рабочее напряжение 20 кВ). Исследование поверхности образцов проводили с использованием низкоэнергетичных вторичных электронов. Исследование элементного состава образца проводили с помощью рентгеновского микрозондового анализа (РМА) с детектором X-Max^N 20 (OxfordInstruments).

2.3.3. Определение размеров частиц

Объемное и количественное распределение частиц по размерам в полученном порошковом образце определяли методом лазерной дифракции при помощи анализатора SALD-2300 (SHIMADZU, Япония).

2.4. Исследование возможности грибов использовать акриловые полимеры в качестве источников питания

В стерильных условиях готовили суспензию спор отдельных видов грибов и их ассоциации (всех видов) в равных соотношениях с таким расчетом, чтобы титр суспензии была в пределах 10^6 спор/мл. Плотность суспензии контролировалась с помощью камеры Горяева.

Для исследования возможности грибов использовать акриловые полимеры в качестве источников питания готовили суспензию спор грибов в стерильной дистиллированной воде, исключая любые питательные вещества в суспензии. Образцы полимерных материалов и ЛКМ перед исследованием очищались стерильной дистиллированной водой и помещались на дно в пустые стерильные чашки Петри по пять образцов в одну чашку. Поверхность

образцов инокулировали суспензией спор грибов в воде. Чашки с исследуемыми материалами помещали в климатическую камеру Memmert HPP110 (Германия) при 28 ± 2 °C и влажности более 90 %. На 28 сутки степень устойчивости материалов оценивали по наличию или отсутствию роста грибов на поверхности полимерных материалов, которую выражали в баллах (ГОСТ 9.049 и ISO 846:2019):

- 0 – под микроскопом прорастания спор и конидий не обнаружено;
- 1 – под микроскопом видны проросшие споры и незначительно развитый мицелий;
- 2 – под микроскопом виден развитый мицелий, возможно спороношение;
- 3 – невооруженным глазом мицелий и (или спороношение) едва видны, но отчетливо видны под микроскопом;
- 4 – невооруженным глазом отчетливо видно развитие грибов, покрывающих менее 25% исследуемой поверхности;
- 5 – невооруженным глазом отчетливо видно развитие грибов, покрывающих более 25% исследуемой поверхности.

Рост и развитие грибов на материале свидетельствует о том, что полимеры и их компоненты способны использоваться в качестве источника питания, т.е. подвергаться процессу биodeградации (биodeструкции). Чем выше балл, тем интенсивнее развитие грибов на поверхности полимера и тем ниже степень устойчивости полимера к биоповреждению.

Определение фунгицидных свойств образцов полимерных материалов проводилось по Методу 3 ГОСТ 9.049 и ЛКМ по Методу 2 ГОСТ 9.050. Для этого образцы помещались на твердую агаризованную питательную среду Чапека-Докса в чашки Петри, поверхность среды инокулировали суспензией спор, приготовленной на неагаризованной питательной среде Чапека-Докса. Чашки Петри с образцами помещались в термостат на 14 суток при оптимальных для роста и развития грибов условиях: температуре 28 ± 2 °C и влажности воздуха более 90 %. Наличие фунгицидных свойств полимеров

оценивали по отсутствию или наличию роста грибов на поверхности материалов, которые выражали в баллах (п.п. 2.4.1) или по образованию зоны ингибирования роста грибов вокруг образцов на поверхности питательной среды на 14 сутки. На каждом этапе жизнеспособность спор грибов контролировалась путем посева суспензии на агаризованную питательную среду Чапека-Докса.

2.5. Исследование биodeградации ДМЭГ и ТГМ-3 под воздействием грибов

2.5.1. Исследование степени повреждения поверхности материалов ДМЭГ и ТГМ-3 после воздействия грибов

Исследование степени повреждения поверхности полимерных материалов с помощью электронной сканирующей микроскопии проводили на образцах полимерных материалов, выдержанных на питательной среде Чапека-Докса с грибами в течение 120 и 180 суток при оптимальных условиях для их развития температуре 28 ± 2 °C и влажности более 90 %. Перед исследованием образцы отмывали в спирте и стерильной воде.

Исследование изменения поверхности образцов полимерных материалов подвергшихся воздействию грибов проводили на растровом электронном микроскопе JSM-IT300LV (JEOL, Япония) с диаметром электронного зонда - до 5 нм (рабочее напряжение 20 кВ).

2.5.2. Исследование изменения размеров пор ДМЭГ и ТГМ-3 под воздействием грибов

Определение изменения размеров пор материалов ДМЭГ и ТГМ-3 после воздействия грибов проводили методом ртутной порометрии на ртутном порозиметре PASCAL 140/440 Evo (ThermoScientific, USA) на образцах, выдержанных в течение 60 суток с грибами.

2.5.3. Исследование изменения прочностных свойств ДМЭГ и ТГМ-3 под воздействием грибов

Исследование изменения физико-механических свойств ДМЭГ и ТГМ-3 под действием грибов проводили на образцах размерами 10×15×4 мм в

следующих вариантах: для оценки влияния метаболитов грибов - образцы помещались на дно чашки Петри. Данный вариант имитировал воздействие только метаболитов грибов на изменение физико-механических характеристик полимеров, ведь даже для грибостойких полимерных материалов необходимо учитывать такое воздействие, когда в процессе биоповреждений на материал воздействуют не сами грибы, а их метаболиты, образующиеся при росте микроскопических грибов на других близлежащих субстратах, использующихся в качестве источника питания.

Во втором варианте для оценки влияния непосредственно грибов - образцы помещались на 7-дневный газон грибов. В данном случае имитировалось прямое воздействие грибов на полимерные материалы, в котором предусматривалось воздействие не только метаболитов, но и механического воздействия грибных гиф. В обоих случаях образцы инокулировались суспензиями спор грибов *Ch. globosum* и *P. cyclopium*. Образцы полимеров выдерживались в течение 60 суток при температуре 28 ± 2 °C и влажности более 90 %. На 60 сутки образцы отмывались в спирте и дистиллированной воде.

Определение изменения физико-механических характеристик (предела прочности на сжатие и относительного удлинения) проводили с помощью испытания на сжатие на универсальной испытательной разрывной машине AGX-V 50kND (Shimadzu, Япония).

2.6. Определение антимикробной активности субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов

В экспериментах изучали противогрибковое действие исследуемых оксидов как на споры грибов, так и на вегетативный мицелий.

2.6.1. Исследование противогрибковой активности оксидов тяжелых металлов по отношению к спорам грибов

Для оценки противогрибковой активности субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов WO_3 и $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ и $CsTeMoO_6$ готовили суспензию спор грибов в стерильной воде. В 10 мл суспензии спор грибов (с

титром 10^4) вносили соединения так, чтобы их конечная концентрация составляла 2 мг/мл. Опытные варианты подвергали воздействию света (30 и 50 Вт) в течение 60, 120 и 180 мин. Другие варианты выдерживали в условиях темноты в течение таких же периодов времени. Контрольными служили варианты со спорами грибов без исследуемых соединений.

Все варианты помещали на орбитальные шейкеры при 120 об./мин. После этого определяли изменение титра культур грибов чашечным методом (метод Коха) путем посева грибов на агаризованную среду Чапека–Докса с последующим учетом количества выросших колоний грибов. Чашки Петри с культурами грибов помещали в термостат при 28 ± 2 °C на 72 ч.

Противогрибковое действие препаратов оценивали по степени выживаемости микроорганизмов, которую определяли по изменению титра спор культур грибов и выражали в % по отношению к контролю.

2.6.2. Исследование противогрибковой активности оксидов тяжелых металлов по отношению к вегетативному мицелию грибов

При исследовании действия соединений на вегетативный мицелий грибы выращивали на жидкой (без агара) питательной среде Чапека–Докса на шейкерах (120 об./мин) в колбах Эрленмейра объемом 500 мл при температуре 27 ± 2 °C в течение 7 суток. Исследуемые соединения WO_3 и $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ и $CsTeMoO_6$ в концентрации 2 мг/мл ресуспендировали в стерильной питательной среде объемом 10 мл в стерильных бюксах и затем к ним добавляли навески мицелия грибов (50–100 мг). Контрольными служили варианты с мицелием грибов без исследуемых соединений.

Все варианты помещали на орбитальные шейкеры при 120 об./мин на 120 и 240 мин в условиях темноты и воздействия света (30 и 50 Вт). Затем мицелий (во всех вариантах) из бюксов перемещали в колбы Эрленмейра объемом 100 мл в жидкую среду Чапека–Докса на доращивание еще на 7 суток в тех же условиях. По истечении срока культивирования ингибирующее действие исследуемых веществ определяли по приросту биомассы мицелия и выражали в % по отношению к контролю.

2.6.3. Исследование антибактериальных свойств исследуемых оксидов

Для экспериментов использовали суточные культуры бактерий *E. coli* ATCC 25922 и *S. aureus* ATCC 6538 P, которые ресуспендировали в стерильной дистиллированной воде. Бактериальные суспензии готовились с использованием стандарта McFarland в стерильной дистиллированной воде. Суспензии исходным титром 10^6 разводили стерильной водой до титра 10^3 . В стеклянный бюкс в 10 мл готовой суспензии (опытные варианты) вносили исследуемые оксиды металлов в концентрации 2 мг/мл. Экспозиция (время действия соединений на бактерии) составляла 30 и 120 мин. Часть образцов подвергалась действию источников света (30 и 50 Вт), другие варианты оставались в темноте. В качестве контроля служили варианты с культурами бактерий при действии на них света и темноты, но без присутствия исследуемых соединений. И те и другие варианты помещали на шейкеры (120 об./мин). После этого определяли изменение титра культур бактерий чашечным методом (принцип Коха) путем посева бактерий на агаризованную среду МПА с последующим учетом количества выросших колоний. Чашки Петри с культурами бактерий помещали в термостат при 37 °C на 24 ч. Антибактериальное действие субмикронных частиц оценивали по степени выживаемости микроорганизмов, которая рассчитывалась на основе изменения титра культур бактерий и выражалась в % по отношению к контролю (варианты без оксидов металлов).

2.7. Исследование влияния оксидов на метаболизм грибов

В данной работе исследовалось влияние исследуемых оксидов тяжелых металлов на метаболизм грибов, в частности, на содержание гидроперекисей в культуральной жидкости грибов, активность экзо- и эндо- оксидоредуктаз и на содержание меланина в мицелии в условиях света и темноты.

Активность эндооксидоредуктаз определяли в мицелии грибов, который гомогенизировали с помощью гомогенизатора Stegler S10 (Китай) с последующим перетиранием в охлажденных фарфоровых ступках с кварцевым песком.

2.7.1. Определение содержания суммы гидроперекисей в культуральной жидкости грибов

Определение содержания суммы гидроперекисей проводили на основе методики G. Craig, M. Janusz, A. Gebicki (2000) с изменениями. Определение суммы пероксидов основано на окислении Fe^{2+} в растворе кислоты и образовании окрашенного комплекса между образовавшимся Fe^{3+} и ксиленоловым оранжевым (хромофорный комплекс, сильно поглощающий при 560-600 нм). Включение сорбитола оказывает усиливающее действие на анализ содержания гидроперекисей.

К 1 мл культуральной жидкости приливали с использованием автоматических дозаторов 200 мкл 0,25 М H_2SO_4 , 200 мкл 1 мМ ксиленолового оранжевого, 200 мкл 1 мМ соли Мора, 400 мкл 0,5 М сорбитола. Одновременно готовили контрольный раствор: 1 мл ППСЖ + 200 мкл 0,25 М H_2SO_4 + 200 мкл 1 мМ ксиленолового оранжевого + 200 мкл 1 мМ соли Мора + 400 мкл 0,5 М сорбитола. Контрольную и опытные пробирки выдерживали в темноте в течение 30 минут и измеряли оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 560 нм против оптического контроля.

Для внесения поправки на неспецифическое поглощение при 560 нм измеряли оптическую плотность образца против дистиллированной воды. Полученное значение оптической плотности вычитали из результата, полученного Фох-методом. Для построения калибровочного графика в качестве стандартного использовали раствор 3% H_2O_2 . Исходный раствор разводили в 10^5 раз, затем последовательно в 2, 3, 4, 5, 8, 16 раз. Рассчитали концентрацию H_2O_2 для каждого разведения. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре при длине волны 560 нм. В качестве контроля использовали дистиллированную воду.

2.7.2. Определение количества белка методом Лоури

Реактив Е – 1 N реактив Фолина

0,1 N раствор NaOH

Реактив А. 2 % раствор Na_2CO_3 в 0,1 N растворе NaOH

Реактив В. 0,5% раствор CuSO_4 в 1% растворе лимоннокислого натрия.

Реактив С. Смешивали 49 мл реактива А и 1 мл реактива В. Готовили и использовали в день анализа.

В пробирку наливали 1 мл исследуемой пробы и 2 мл реактива С. Перемешивали и выдерживали 10 минут при комнатной температуре. Быстро приливали 0,2 мл реактива Е и интенсивно перемешивали. Одновременно готовили контроль: 1 мл воды + 2 мл реактива С + 0,2 мл реактива Е. Контрольную и опытную пробирки оставляли на 30 минут в темном месте при комнатной температуре.

По истечению времени оптическую плотность измеряли на спектрофотометре Shimadzu UV-mini 1240 (Япония), при $\lambda=750$ нм (Досон и др., 1991).

2.7.3. Метод определения активности каталазы

Определение активности каталазы проводилось спектрофотометрически (Li, Shellhorn, 2007). В качестве субстрата использовался 30 мМ пероксид водорода в фосфатном буфере $\text{pH} = 7.8$. Измерения проводились на спектрофотометре Shimadzu UV-mini 1240 (Япония), при $\lambda = 240$ нм.

В кювету спектрофотометра толщиной 1 см помещали: 1 мл буферного раствора $\text{pH} = 7,8$; 1 мл супернатанта; 1 мл 30 мМ H_2O_2 . Измерения проводили в течение одной минуты. В контрольной кювете H_2O_2 заменяли водой.

Активность каталазы рассчитывалась по формуле:

$$A = \frac{D}{C * 43,6}$$

Где А – активность фермента;

D – убыль активной плотности реакционной смеси;

C – концентрация белка в КЖ, мг/мл;

43,6 – коэффициент экстинкции H_2O_2 , $\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Результаты измерений выражались в количестве H_2O_2 в мМ в 1 мл реакционной смеси за 1 минуту, в пересчете на 1 мг общего белка.

2.7.4. Определение активности пероксидазы

Определение активности пероксидазы проводилось по модифицированному методу (Nagaraja, Shivakumar, Shrestha, 2009). В качестве субстратов использовали пероксид водорода (0,03%) и *p*-фенилендиамин (0,1M). Измерения проводили при $\lambda = 535\text{nm}$ на спектрофотометре Shimadzu UV-mini 1240.

В кювету спектрофотометра толщиной 1см помещалось: 1,5 мл буферного раствора $\text{pH} = 7,2$; 0,5 мл ферментативного препарата (КЖ); 0,5 мл 0,1M раствора *p*-фенилендиамина; 0,5мл 0,03% H_2O_2 . В контрольной кювете H_2O_2 заменяли водой.

Активность пероксидазы рассчитывали по формуле:

$$A = \frac{D \times \alpha \times \beta \times \gamma}{C \times t \times d}, \text{ где}$$

A - активность фермента;

D - изменение оптической плотности реакционной смеси;

d - толщина слоя жидкости в кювете, см;

t - время, мин;

$\alpha \times \beta \times \gamma$ - факторы разведения;

C – концентрация общего белка.

За единицу активности фермента принималась прирост оптической плотности в 1 мл реакционной смеси за 1 минуту, в пересчете на 1 мг общего белка.

2.7.5. Метод определения активности фенолоксидазы

Определение активности фенолоксидазы проводилось спектрофотометрически по Flurkey et al., 2007, с изменениями. В качестве субстрата использовали 1 % раствор пирокатехина в 0,01 N щавелевой кислоте, в качестве красителя 0,02 % раствор *p*-фенилендиамина в 0,01 N щавелевой кислоте. Измерения проводились на спектрофотометре Shimadzu UV-mini 1240, при $\lambda = 582\text{ nm}$.

Пирокатехин с помощью фенолоксидазы окисляется до орто-хинона, который затем взаимодействует с пара-фенилендиамином. Пара-фенилендиамин восстанавливает орто-хинон до пирокатехина, сам краситель окисляется до фиолетового окрашенного соединения.

В кювету спектрофотометра толщиной 1 см помещалось: 1 мл фосфатного буфера ($\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{NaOH}$), $\text{pH} = 7,2$; 1 мл культуральной жидкости (КЖ) 1 мл 0,02 % раствора п-фенилендиамина; 1 мл 1 % раствора пирокатехина. В контрольной кювете пирокатехин заменяли водой.

Активность фенолоксидазы рассчитывалась по формуле:

$$A = \frac{D * \alpha * \beta * \gamma}{C * t * d}$$

Где А – активность фермента;

D – убыль активной плотности реакционной смеси;

$\alpha * \beta * \gamma$ – факторы разведения;

C – концентрация белка в КЖ, мг/мл;

t – время, мин;

d – толщина слоя жидкости в кювете, см.

Результаты измерений выражались в условных единицах (у.е.). За единицу активности принимался прирост оптической плотности в 1 мл реакционной смеси за 1 минуту, в пересчете на 1 мг общего белка.

2.7.6. Выделение и качественное исследование меланина

Грибы культивировали на жидкой среде Чапека в течение 23 дней, при температуре 28 ± 2 °C. Мицелий отделяли фильтрованием на капроновом фильтре, измельчали в ступке в 15 мл 1 М КОН, экстрагировали автоклавированием (при 1 АТМ, 121 °C, 20 мин). Полученный экстракт центрифугировали при 10000g 10 мин. Супернатант закисляли 3 М HCl до $\text{pH} = 2,0$. Оставляли на сутки в холодильнике при 4 °C для образования хлопьевидного осадка меланина, который отделяли центрифугированием (10000g, 10 мин).

Осадок меланина промывали в спирте, осаждали меланин

центрифугированием и сушили в термостате при 40 °С не менее 4 ч. (Barcena et al., 2018).

Спектр поглощения выделенного меланина, растворенного в NaOH 0,1 М до конечной концентрации 0,5 мг/мл, исследовали на спектрофотометре СФ-2000 (ОКБ Спектр, Россия) в диапазоне длин волн от 200 до 600 нм в кюветах с длиной оптического пути 1 см.

Для проверки и подтверждения полученного вещества проводили качественные реакции на меланин.

1. При добавлении KMnO_4 окраска раствора менялась с коричневой на зеленую. Далее происходило обесцвечивание раствора и выпадение осадка;
2. При добавлении раствора H_2O_2 в раствор пигмента, растворенного в 1М NaOH, происходило его окисление и обесцвечивание;
3. При добавлении к щелочному раствору хлорида железа (III) происходило выпадение хлопьевидного осадка, который постепенно растворялся при добавлении избытка хлорида железа.

2.7.7. Оценка влияния фотокаталитических оксидов на продукцию грибами органических кислот

Для получения вегетативного мицелия грибы культивировали на жидкой среде Чапека-Докса. Затем полученный мицелий пересаживали на свежую жидкую среду Чапека-Докса с навесками исследуемых соединений в концентрации 2 мг/мл (контроль – без частиц). Половина колб, содержащих микрочастицы, с культивируемым грибов помещалась под воздействие света, вторая половина – в условия темноты. Время культивирования - 7 суток. После в культуральной жидкости (КЖ) определяли методом капиллярного электрофореза («КАПЕЛЬ®-105М») качественный и количественный состав органических кислот. Концентрация органических кислот пересчитывалась на грамм сухой массы мицелия.

Пробы подготавливали предварительным разбавлением бидистиллированной водой в 50 раз и центрифугированием в течение 3 мин при скорости 5000 об/мин. Анализ проводили в соответствии с методикой

анализа М 04-47-2012. Ввод пробы осуществлялся автоматически при 30 мбар, длина волны детектора 254 нм, напряжение – 20 кВ, температура 200 °С.

Метод капиллярного электрофореза основан на разделении компонентов сложной смеси в кварцевом капилляре под воздействием электрического поля. Микрообъем анализируемого раствора вводят в капилляр, предварительно заполненный подходящим буфером – электролитом. После подачи к концам капилляра высокого напряжения (до 3-кВ), компоненты смеси начинают двигаться по капилляру с разной скоростью, зависящей в первую очередь от заряда и массы (точнее – от величины ионного радиуса) и, соответственно, в разное время достигают зоны детектирования. Полученная последовательность пиков называется электрофореграммой, при этом качественной характеристикой вещества является параметр удерживания (время миграции), а количественной – высота или площадь пика, пропорциональная концентрации вещества.

Используемый прибор - «КАПЕЛЬ®-105М» (Россия, г Санкт-Петербург) - система капиллярного электрофореза, с автосемплером и автоматически переключаемой полярностью, управляемая от компьютера. Главной отличительной особенностью модели «КАПЕЛЬ®-105М» является спектрофотометрическое детектирование. В качестве источника света используется дейтериевая лампа, а в качестве диспергирующего элемента - дифракционный монохроматор со спектральным диапазоном 190–380 нм.

2.8. Статистическая обработка результатов

Полученные экспериментальные данные были статистически обработаны с помощью программного обеспечения Microsoft Excel 365 (Microsoft Corp., USA) и OriginPro 2015 (OriginLab Corporation, USA). Достоверность результатов оценивали с помощью непараметрического критерия «U» (Манна–Уитни) с поправкой Холма. В таблицах и на рисунках приведены средние значения всех опытов со стандартными ошибками в виде среднеквадратичного отклонения.

«*» отмечены значимые различия вариантов «контроль» от вариантов без использования источников светового излучения «в темноте»

«**» отмечены значимые различия вариантов «в темноте» от вариантов в условиях воздействия света «на свету».

Результаты были получены в трех независимых экспериментах. Каждый вариант в эксперименте представлен в пяти повторностях.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Исследование возможности микромицетов использовать акриловые полимеры ДМЭГ и ТГМ-3 в качестве источников питания

Благодаря своим свойствам полимерные материалы повсеместно используются в промышленности. Среди этих материалов важную роль играют акриловые полимеры, предназначенные для использования в приборостроении, медицине, оптике, электронике и т.д. (Corsaro et al., 2021; Liu et al., 2019; Umar et al., 2015). Акриловые полимеры, являясь углеродными соединениями, могут являться новыми источниками питания для различных живых организмов—редуцентов: микромицетов и бактерий (Gaytán1 et al., 2021). В связи с вышеизложенным, представлял интерес оценить устойчивость новых акриловых полимеров ДМЭГ и ТГМ-3 к воздействию мицелиальных грибов (оценить их грибостойкость), т.е. исследовать способность грибов использовать данные полимеры в качестве источников питания. Результаты исследования показаны в таблице 1.

Результаты исследования показали, что в условиях использования ассоциации культур грибов (всех видов грибов ГОСТ 9.049) оба исследуемых материала были неустойчивы к действию микроскопических грибов и способны использоваться ими в качестве источника питания. Рост грибов оценивали в 3 балла (таблица 1).

Также представлял интерес выяснить какие из видов микромицетов в ассоциативной культуре могут расти на полимерных материалах ДМЭГ и ТГМ-3, т.е. вызывать их биodeградацию (таблица 1). Отмечен рост грибов *Chaetomium globosum* и *Penicillium cyclopium* на полимерном материале ДМЭГ, а на ТГМ-3 *Chaetomium globosum*, *Aspergillus terreus*, *Penicillium cyclopium*, *Penicillium chrysogenum*, *Trichoderma viride*.

Таблица 1

Оценка устойчивости к воздействию грибов и фунгицидных свойств новых акриловых полимеров ДМЭГ и ТГМ-3

№ п.п.	Тест-культуры грибов, вид и штамм микромицетов	ДМЭГ		ТГМ-3	
		Грибостойкость материалов, в баллах, (0-2 – грибостойкий; 3-5 – негрибостойкий)	Фунгицидные свойства Наличие (+) или отсутствие (-)	Оценка грибостойкости материалов, в баллах, (0-2 – грибостойкий; 3-5 – негрибостойкий)	Фунгицидные свойства Наличие (+) или отсутствие (-)
1.	<i>Aspergillus oryzae</i> F-2096	1	-	2	-
2.	<i>Aspergillus niger</i> F-1119	2	-	2	-
3.	<i>Aspergillus terreus</i> F-1025	0	-	3 (негрибостойкий)	-
4.	<i>Chaetomium globosum</i> F-109	4 (негрибостойкий)	-	3 (негрибостойкий)	-
5.	<i>Paecilomyces variotii</i> F-378	1	-	2	-
6.	<i>Penicillium funiculosum</i> F-1115	0	-	1	-
7.	<i>Penicillium chrysogenum</i> F-245	2	-	3 (негрибостойкий)	-
8.	<i>Penicillium cyclopium</i> F-245	3 (негрибостойкий)	-	3 (негрибостойкий)	-
9.	<i>Trichoderma viride</i> F-1117	0	-	3 (негрибостойкий)	-
10.	Ассоциация грибов	3 (негрибостойкий)	-	3 (негрибостойкий)	-

Полимер ТГМ-3 подвергался биоповреждениям большим количеством видов микромицетов, используемых в качестве тест культур (таблица 1). Различия в видовом составе грибов деструкторов могут быть связаны с различным составом и структурой исследуемых полимеров, а также с физиолого-биохимическими особенностями микроскопических грибов. Наиболее интенсивный рост обнаружили у гриба *C. globosum* на полимерном материале ДМЭГ.

Акриловые полимеры, сополимеры и композитные материалы различного состава обладают неодинаковой устойчивостью к действию микроорганизмов (Chandra, Rustgi, 1998). Полимеры, неустойчивые к воздействию грибов могут использоваться последними в качестве источника питания, хотя и являются относительно труднодоступными источниками углерода и энергии. Это связано с тем, что многие компоненты акриловых полимеров (этилакрилат, метакриловая кислота, бутилакрилат и др.) обладают устойчивостью к воздействию грибов (таблица 2) (Anikina et al., 2018).

Таблица 2

Устойчивые к воздействию грибов компоненты полимеров

Компоненты акриловых эмульсий	Грибостойкость, в баллах по ГОСТ 9.049	Устойчивость к воздействию грибов
Этилакрилат	0	Грибостойкий
Метакриловая кислота	0	Грибостойкий
Бутилакрилат	0	Грибостойкий
Бутилметакрилат	0	Грибостойкий

Для дальнейших исследований были выбраны штаммы грибов *C. globosum* F-109 и *P. cyclopium* F-245, рост которых в наибольшей степени наблюдался на всех представленных образцах полимеров.

Результаты дальнейших исследований показали, что полимеры ДМЭГ и ТГМ-3 не имели фунгицидных свойств, так как не образовывали зон

ингибирования роста грибов на агаризованной питательной среде (таблица 1 и рисунок 7).

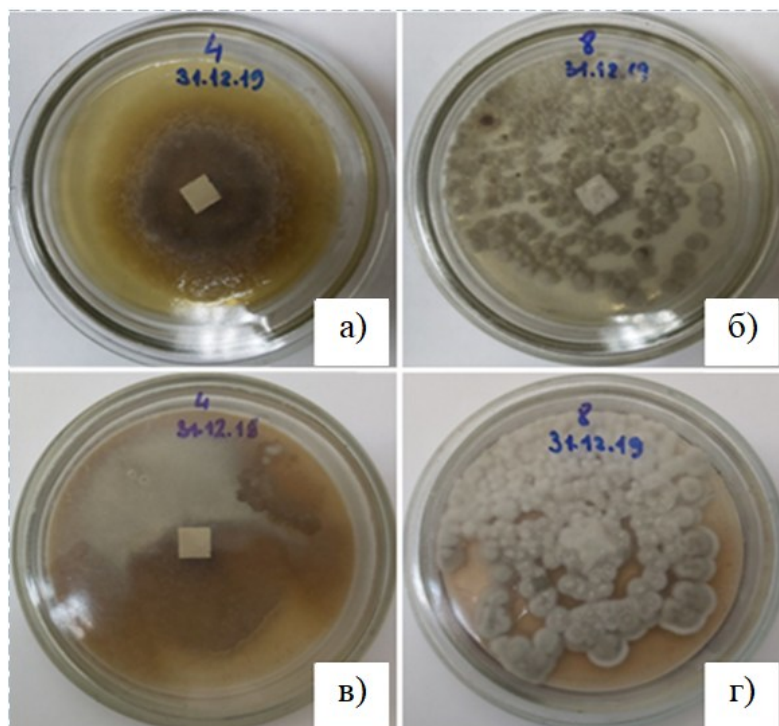


Рисунок 7. Рост грибов в присутствии ДМЭГ и ТГМ-3 на агаризованной питательной среде. ДМЭГ по отношению к грибам *C. globosum* (а) и *P. cyclopium* (б). ТГМ-3 по отношению к грибам *C. globosum* (в) и *P. cyclopium* (г)

3.2 Противогрибковая активность компонентов исследуемых полимеров

Мономеры исследуемых полимеров ДМЭГ и ТГМ-3 применяются как пластификаторы для винила, входят в состав средств дезинфекции, выступают в качестве осушителей для природного газа и в системах кондиционирования воздуха, являются компонентами, гидравлических и тормозных жидкостей. А также применяются в качестве составной части стоматологических материалов, в лабораторных условиях являются компонентами в реакциях сополимеризации.

Согласно Stawski et al. (2022) многие мономеры в свободном виде (до полимеризации) способны проявлять антимикробную активность и являются химическими соединениями с бактерицидной и/или фунгицидной активностью. В связи с этим представлял интерес исследовать как мономеры ДМЭГ и ТГМ-3 влияют на рост микромицетов.

Как показали результаты этого исследования мономеры ДМЭГ и ТГМ-3 обладали фунгицидными свойствами по отношению к наиболее активным грибам—деструкторам исследуемых акриловых полимеров *C. globosum* и *P. cyclopium* (рисунок 8 и таблица 3).

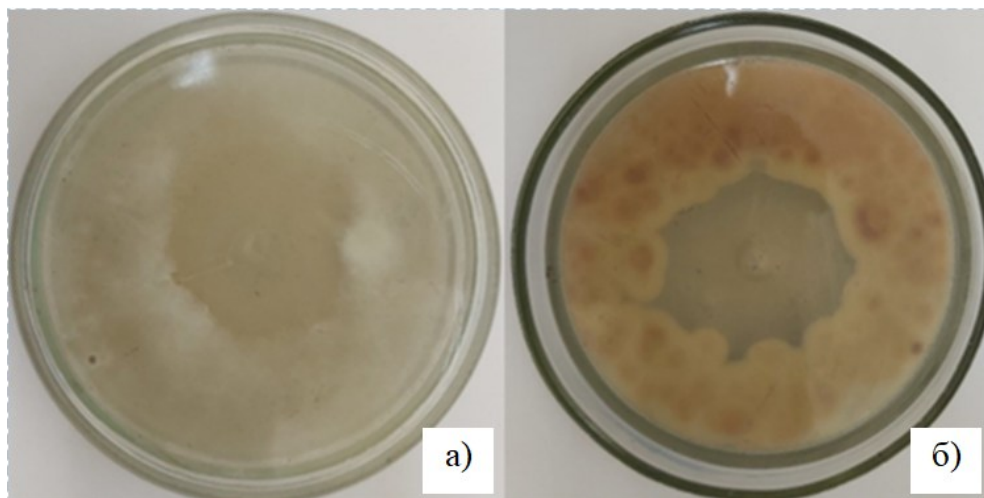


Рисунок 8. Фунгицидные свойства мономера ТГМ-3 по отношению к грибам *Ch. globosum* (а) и *P. cyclopium* (б)

Мономер ДМЭГ оказывал фунгицидное действие на оба исследуемых гриба, что выражалось в полном подавлении роста грибных колоний на чашках Петри (таблица 3).

Таблица 3

Противогрибковые (фунгицидные) свойства мономеров ДМЭГ и ТГМ-3

Тест-культуры грибов	Диаметр зоны ингибирования роста грибов, мм	
	ДМЭГ	ТГМ-3
<i>Chaetomium globosum</i> ВКМ F-109	(полное подавление роста)	38±2,3
<i>Penicillium cyclopium</i> F-245	(полное подавление роста)	42±1,9

Из различных литературных источников следует, что при действии на живые клетки мономер ТГМ-3 (диметакрилат триэтиленгликоля) может вызывать резкое истощение глутатиона, образование активных форм кислорода и окислительный стресс. Антимикробный эффект мономера может быть обусловлен продуктами его распада, а также способностью вызывать апоптоз клеток. Важной особенностью механизма антимикробного действия

мономера ТГМ-3 является возможность проникать внутрь живых клеток и влиять на их метаболизм (Stanislawski et al., 2003; Emmmler et al., 2008; Lovász et al., 2021; Bielecka-Kowalska et al., 2018).

Тем не менее исследуемые полимерные композиции, состоящие из данных мономеров, фунгицидных свойств не имели и были неустойчивы к воздействию микроскопических грибов, как по отношению к ассоциации, так и к отдельным видам (таблица 1). Это может быть обусловлено тем, что мономеры в материале находятся в сшитом состоянии, а остаточное содержание мономеров довольно невелико, так как образцы после полимеризации отмываются в спирте и высушиваются в термостате (Kovylin et al., 2018; Len'shina et al., 2016).

Такой факт наблюдался рядом авторов в изучении процессов биоповреждения различных полимерных материалов (Mohan et al., 2020). По мнению авторов, это может быть связано с тем, что в процессе полимеризации может иметь место химическое взаимодействие мономеров друг с другом, мономеров с другими ингредиентами композиции – катализатором и порообразователями (например, 9,10 – фентантренхинон и метанол/динонилфталат/гексан соответственно).

3.3. Последствия биodeградации акриловых полимеров под воздействием грибов

3.3.1. Исследование воздействия грибов на изменение поверхности акриловых полимеров

Под воздействием грибов у полимерных материалов изменяются внешний вид, физические, механические и химические свойства. Исследование изменения поверхности полимерных материалов в процессе биodeградации проводилось на образцах полимерных композиций ДМЭГ и ТГМ-3, выдержанных в течение 60 суток на питательной среде Чапека-Докса с грибами.

Результаты исследования представлены на рисунке 9. Показано, что под воздействием мицелиальных грибов *C. globosum* и *P. cyclopium* исследуемые

полимерные материалы пигментируются, изменяют свою окраску, приобретают трещины, структура поверхности деградирует.

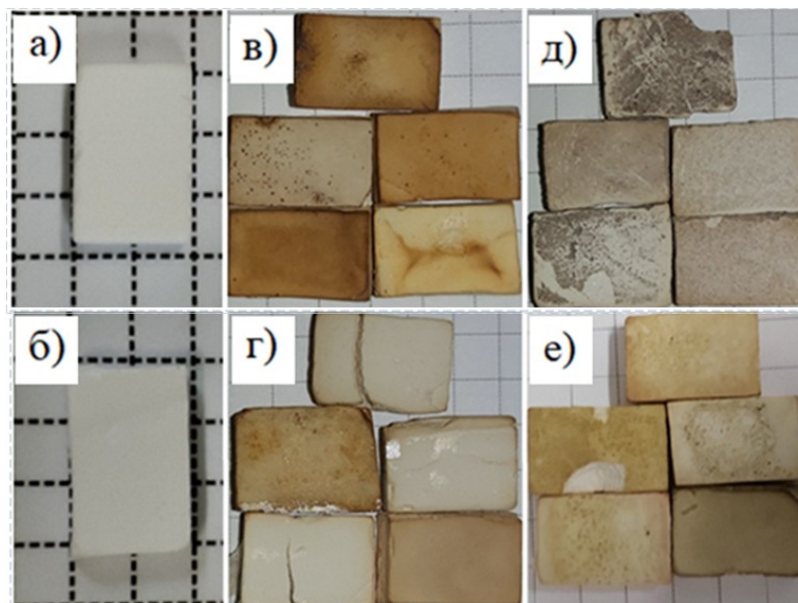


Рисунок 9. Внешний вид полимерных материалов ДМЭГ и ТГМ-3 после воздействия грибов на 60 сутки. ДМЭГ Контрольные (а), *C. globosum* (в), *P. cyclopium* (д). ТГМ-3 контрольные (б), *C. globosum* (г), *P. cyclopium* (е)

Методом сканирующей электронной микроскопии изучена микроструктура поверхности исследуемых полимеров до и после воздействия грибов в течение 120 и 180 суток. Результаты исследования представлены на рисунках 10 и 11.

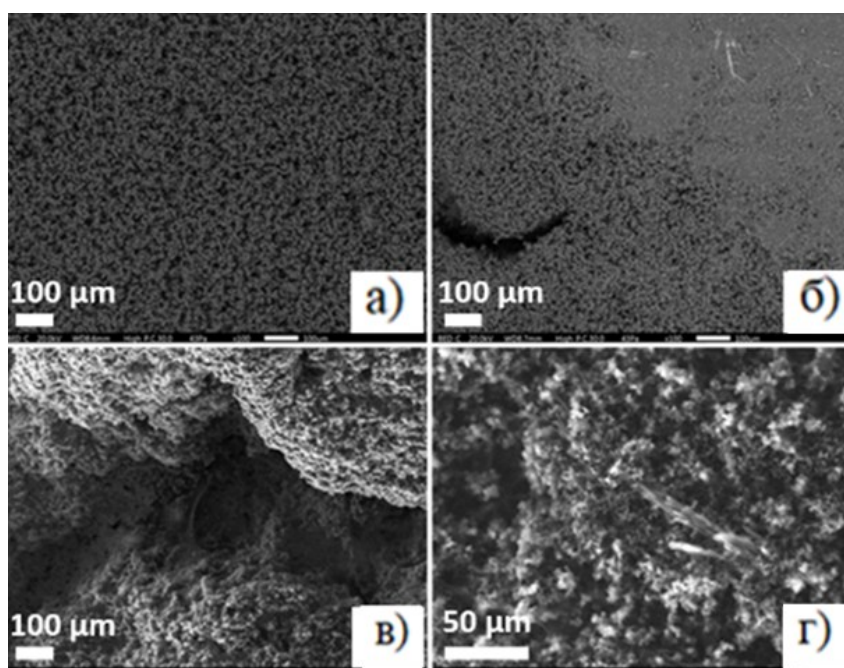


Рисунок 10. Микрофотографии поверхности полимера ДМЭГ после воздействия гриба *P. cyclopium*. Контроль, без воздействия гриба (а); 120 суток (б); 180 суток (в, г)

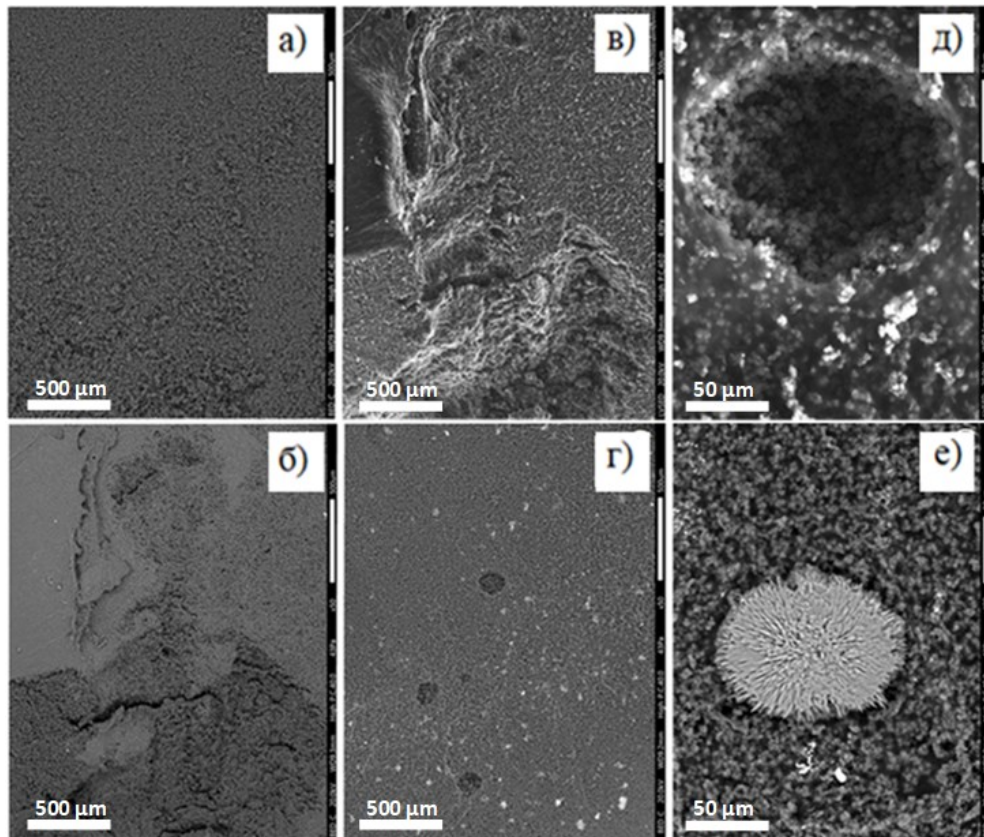


Рисунок 11. Микрофотографии поверхности полимера ТГМ-3 после воздействия гриба *C. globosum*, контроль, без воздействия гриба (а); 120 суток (б); 180 суток (в); плодовое тело гриба (г-е)

Рост грибов на поверхности образцов акриловых полимеров ДМЭГ и ТГМ-3 связан с отсутствием у них фунгицидных свойств, что в условиях достаточной влажности является благоприятным фактором для развития микромицетов. Одновременно с ростом гриба на материале наблюдали постепенное разрушение его поверхности, которое сопровождается появлением микротрещин, бороздок, углублений, а также наблюдается изменение общей структуры материала: он становится более рыхлым, изъязвленным. Было показано, что степень биоповреждений исследуемых материалов возрастает с течением времени. Кроме этого, на рисунке 11 (г-е) видны углубления в поверхности полимера от плодовых тел гриба *C. globosum*.

3.3.2. Воздействие грибов на пористость ДМЭГ и ТГМ-3

Пористость является одной из ключевых характеристик полимерных композиций ДМЭГ и ТГМ-3. Пористые полимеры могут использоваться в промышленности в качестве фильтров, теплоизоляции, катализаторов или

осушителей. Благодаря возможности осуществлять заполнение пор в таких материалах веществами, им можно придать различные свойства и использовать в медицине в качестве доставщиков лекарственных препаратов и др.

Развитие грибов может происходить не только на поверхности полимеров, но и в их порах. Следует отметить, что исследуемые полимерные материалы отличаются количеством и диаметром пор. На рисунке 12 представлено сравнение поперечных срезов образцов исследуемых акриловых полимеров до и после воздействия грибов в течение 120 суток.

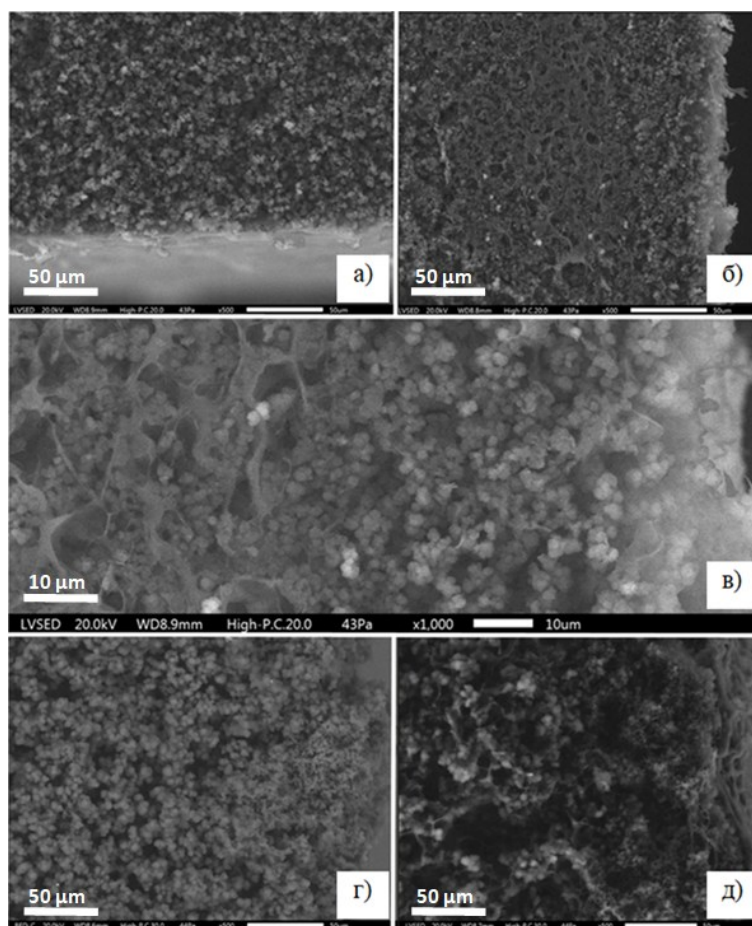


Рисунок 12. Гифы грибов в порах акриловых полимеров ДЭМГ (а-в) и ТГМ-3 (г, д)

Пористость материалов дает возможность гифам гриба проникать вглубь, что, вероятно, может значительно ускорять процесс деструкции за счет увеличения площади контакта грибных гиф и полимера. Это в свою очередь может способствовать деформации и увеличению диаметра пор за счет механического воздействия, вызываемого тургорным давлением грибных

клеток. Степень заполнения пор гифами грибов выше для полимера ДМЭГ, так как размеры его пор больше, чем у ТГМ-3 (рисунок 12).

Внедрение гиф грибов в поры материала и в сам материал, возможно за счет механического воздействия тургорной силы грибных клеток (Money, 1995; Money et al., 1998; Lew, 2011), что может увеличивать как пористость материалов за счет образования новых пор, так и увеличивать диаметр существующих.

В связи с этим, с помощью ртутной порометрии был проведен анализ изменения размеров пор исследуемых материалов под воздействием грибов. Результаты исследования показали, что после воздействия грибов размеры пор увеличивались у полимера ТГМ-3, тогда как у полимерной композиции ДМЭГ размеры пор не увеличивались (рисунок 13).

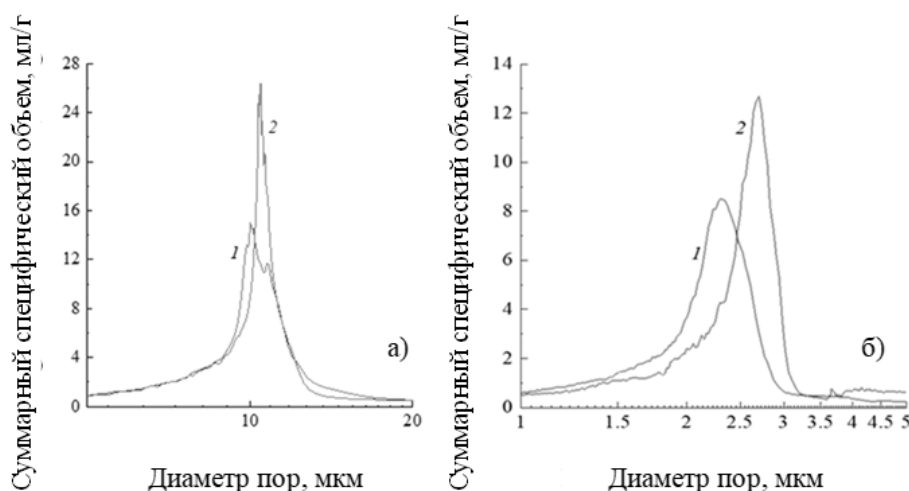


Рисунок 13. Изменение пористости акриловых полимеров ДМЭГ (а) и ТГМ-3 (б) под воздействием гриба *P. cyclopium* на 60 суток экспозиции
1— контроль; 2— после воздействия гриба

Результаты данной серии экспериментов подтверждают ранее высказанные предположения о том, что рост грибов на полимерных композициях может оказывать непосредственное влияние на поровые характеристики материала. Что, вне всякого сомнения, может оказывать воздействие на устойчивость материалов к биоповреждениям, вызываемым микроорганизмами.

Таким образом, новые акриловые полимеры ДМЭГ и ТГМ-3 могут являться источниками питания для микроорганизмов, а способность грибов использовать новые акриловые полимерные материалы в качестве источников питания определяется не только степенью грибостойкости ингредиентов, но и их составом и пористостью.

3.3.3. Воздействие грибов на изменение некоторых физико-механических характеристик акриловых полимеров в процессе биоповреждения

Изменение внешнего вида полимеров (визуальный рост грибов, пигментация и др.) не всегда приводит к ухудшению их эксплуатационных характеристик. Поэтому особое внимание в области биодegradации полимерных материалов уделяется изменению их физико-механических свойств в процессе микробиологических повреждений. Изменение физико-механических и структурных характеристик полимерных материалов могут отражаться на функциональных особенностях и работоспособности полимерных изделий на их основе. Кроме этого, ряд авторов считают, что измерение изменения показателей физико-механических свойств полимерных материалов при оценке наличия и степени биоповреждений является более объективным показателем биодеструкции чем визуальный рост грибов (Смирнов и др., 1995).

Рост грибов способен приводить к изменению физико-механических и химических характеристик материалов (в подавляющем большинстве к их ухудшению). Известно, что в ряде случаев изменение физико-механических характеристик ряда полимеров может происходить даже при низкой интенсивности роста микроскопических грибов на поверхности полимерных материалов, причем изменение свойств полимеров может происходить на самых ранних стадиях роста грибов, когда визуального роста не обнаружено.

Однако существуют противоположные ситуации, когда напротив даже интенсивный рост грибов на материалах не приводит к ухудшению физико-механических характеристик и в конечном счете не влияет на работоспособность готовых изделий.

Известно, что изменение физико-механических характеристик материалов происходит как при непосредственном росте грибов, так и опосредованно в результате воздействия на материалы продуктов жизнедеятельности микроорганизмов. Такая ситуация может иметь место, когда в процессе биоповреждений несколько материалов отличаются устойчивостью к действию грибов (Сабадаха и др., 2010).

В связи с этим в работе поставлена серия экспериментов (рисунок 14):

- 1) материалы помещались на газон грибов (имитирует прямое воздействие гриба на материал) и
- 2) материал помещался в толщину питательной среды под растущий на поверхности агара газон грибов (имитация воздействия только метаболитов грибов в условиях наличия внешних загрязнений).

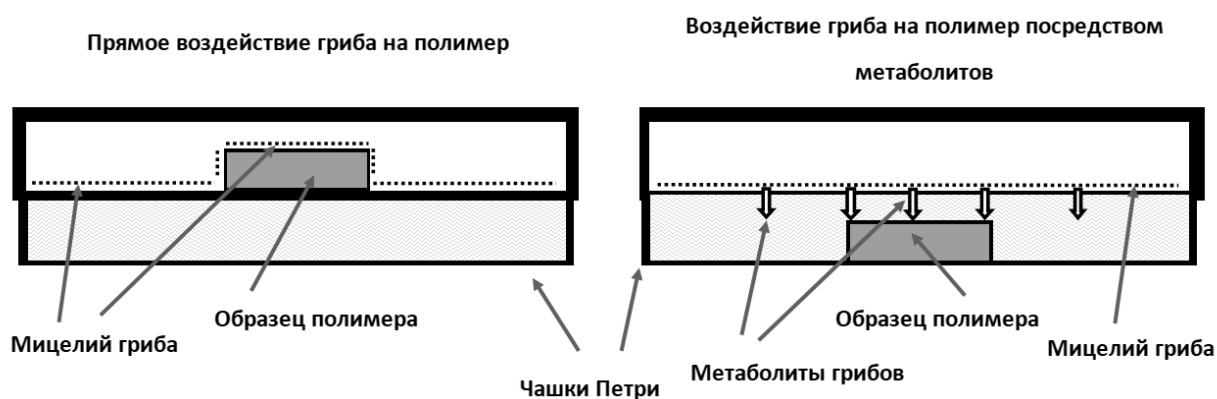


Рисунок 14. Схема имитаций разного воздействия грибов на полимерный материал

Результаты исследования изменения некоторых физико-механических характеристик полимеров представлен на рисунке 15. Контрольные образцы ТГМ-3 и ДМЭГ отличаются по показателям физико-механических характеристик, потому что имеют разную структуру и размер внутренних пор. ТГМ-3 обладает большим значением прочности и выдерживает большие нагрузки на сжатие, чем ДМЭГ. Видно, что воздействие грибов на материал приводило к существенному ухудшению физико-механических свойств (прочности на сжатие, относительного удлинения) по сравнению с контролем у обоих видов грибов как на газоне, так и в толще среды под газоном. Отмечено, что ухудшение показателя прочности на сжатие был более выражен

при прямом воздействии грибов по сравнению с действием грибных метаболитов в толще среды (рисунок 15).

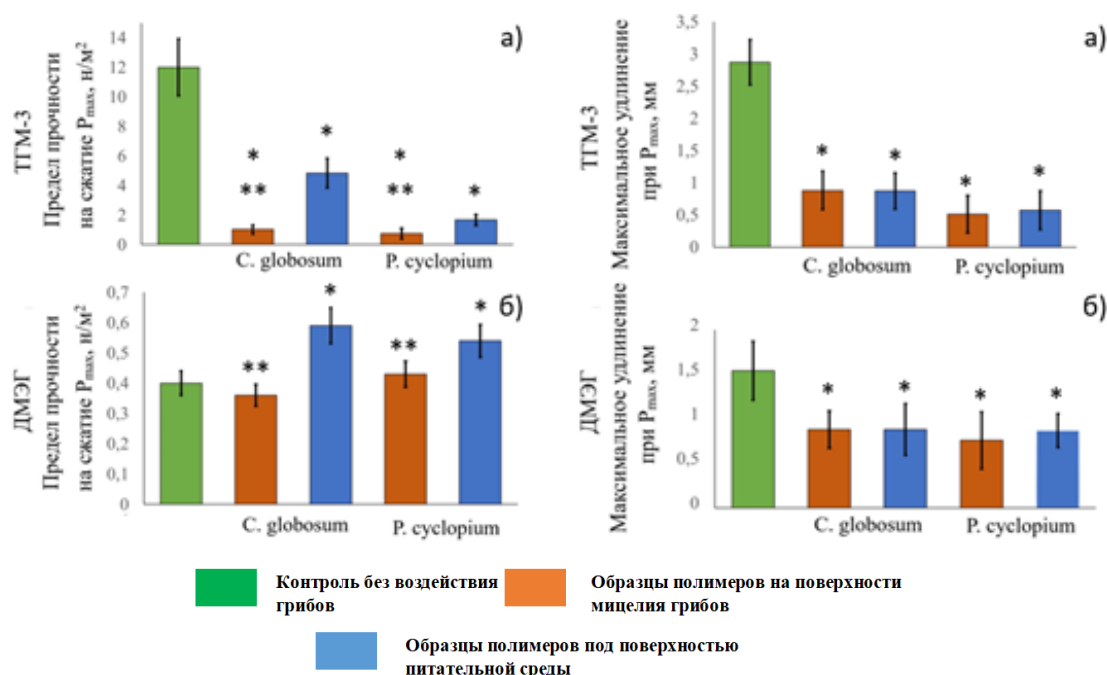


Рисунок 15. Влияние грибов на физико-механические параметры (предела прочности на сжатие и относительного удлинения) полимеров ДМЭГ (а) и ТГМ-3 (б) при воздействии в течение 60 суток

Величина относительного удлинения образцов ТГМ-3 ухудшалась как при непосредственном воздействии грибов, так и опосредованно через влияние только метаболитов. При сравнении действия каждого вида грибов на изменение физико-механических характеристик ТГМ-3 можно отметить, что *P. cyclopium* в большей степени вызывал ухудшение всех физико-механических показаний. При воздействии грибов на ДМЭГ наблюдается несколько иная картина (рисунок 15).

Имело место увеличение такого показателя как прочность на сжатие (исключение составляет вариант с *C. globosum* на поверхности мицелия, где данный результат был близок к контрольному). Можно предположить, что так как полимерный материал ДМЭГ имеет поры большего размера по сравнению с ТГМ-3, то происходит заполнение пор ДМЭГ гифами грибов, что показано на рисунке 12 (б), способствует увеличению устойчивости материала к нагрузке при сжатии.

Максимальные нагрузки при сжатии, которые способны выдержать образцы ДМЭГ, находившиеся под средой и подвергшиеся воздействию только грибных метаболитов не отличались от контроля. Однако показатель величины относительного удлинения, как и в вариантах с ТГМ-3 вод воздействием всех видов грибов уменьшалась в 2 раза, как у образцов, находящихся под средой, так и на ее поверхности.

Различные характеры изменения показателей физико-механических свойств при воздействии различных видов грибов может быть связана с их физиолого-биохимическими особенностями, а именно с составом внеклеточных метаболитов, вызывающих биodeградацию полимеров.

Таким образом, экзометаболиты грибов, образующиеся за счет внешних загрязнений, а не за счет биodeструкции полимерных материалов, также способны влиять на изменение их физико-механических свойств и приводить к их деструкции.

3.4. Экофизиологические основы защиты акриловых полимеров от биоповреждений, вызываемых микромицетами, с помощью фотокаталитических оксидов

Известно, что самым эффективным способом защиты промышленных материалов от биоповреждений, является введение в их состав различных биоцидных добавок. В настоящее время, большое внимание уделяется оксидам металлов обладающих фотокаталитической активностью. Это связано с тем, что антимикробная активность данных соединений усиливается на свету. Такими соединениями могут быть сложные оксиды $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 , которые впервые получены в НИИ Химии ННГУ. Эти соединения отличаются от других известных тем, что их фотокаталитические свойства проявляются в условиях видимого спектра (450-600 нм).

Известно, что свет, как абиотический фактор, оказывает влияние на всех участников процессов биоповреждения, находящихся в единой взаимосвязи друг с другом. Согласно экологическим основам биоповреждений

материалов и изделий эта взаимосвязь выглядит следующим образом (рисунок 16).

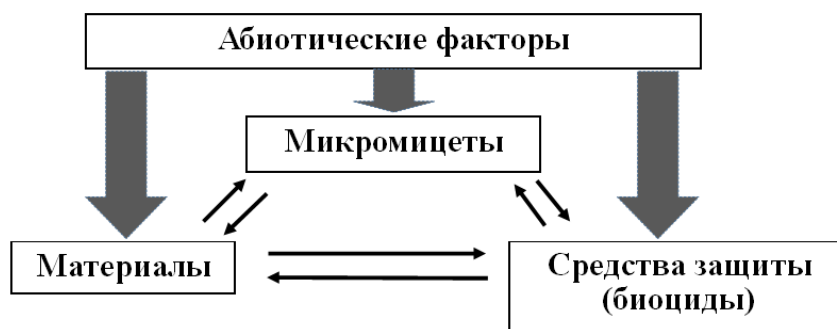


Рисунок 16. Влияние абиотических факторов на участников процессов биоповреждения (Onions et al., 1981)

Если воздействие света на живые организмы и биоразлагаемые ими субстраты (промышленные материалы) достаточно хорошо исследованы, то воздействие света на средства защиты (биоциды) полимерных материалов от биоповреждений практически не изучено.

В связи с этим в данной работе исследовались некоторые экофизиологические характеристики грибов в присутствии $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 в условиях воздействия света, с учетом плотности светового потока, природы металлов, входящих в их состав, времени экспозиции и вида биологического объекта. Проведение экофизиологических исследований по оценке влияния оксидов тяжелых металлов на такие показатели как, на рост и развитие микроскопических грибов в условиях воздействия светового излучения, позволяют оценить антимикробную активность вышеуказанных соединений и определить перспективы их использования в качестве средств защиты промышленных материалов от биоповреждений, вызываемых микромицетами.

3.4.1. Характеристика исследуемых фотокаталитических оксидов

Анализ литературных данных показал, что большинство исследований посвящено изучению антимикробной активности наночастиц оксидов металлов, а также простых оксидов тяжелых металлов, проявляющих фотокаталитическую активность в УФ-диапазоне (ZnO , TiO_2 , WO_3 и др.). В то же время лишь небольшое количество работ посвящено изучению и регуляции

антимикробной активности оксидов тяжелых металлов, обладающих фотокаталитической активностью в области видимого спектра. Создание и исследование таких соединений существенно расширяют возможности практического применения фотокаталитически активных оксидов тяжелых металлов в качестве антимикробных средств и др. В этом плане, фотокаталитические оксиды металлов $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 являются весьма перспективными соединениями (Fukina et al., Fukina et al., 2023; Semenychева et al., 2023). Данные оксиды были получены в виде мелкодисперсных порошков (рисунок 17).

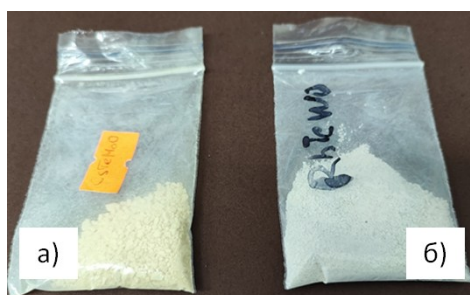


Рисунок 17. Внешний вид порошков исследуемых оксидов CsTeMoO_6 (а) и $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ (б)

Исследования размеров порошков используемых оксидов показали, что оксид $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ имел средний размер частиц 4658 нм (рисунок 18 а). Исследование морфологии образцов показало, что более длительное перетирание приводит к уменьшению количества агломератов и общему усреднению частиц по размерам и форме. Поэтому в исследование также взят образец порошка $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ со средним размером частиц 736 нм (рисунок 18 б). CsTeMoO_6 имел средний размер частиц 670 нм (рисунок 18 г). Для сравнения антимикробных свойств $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 были проведены аналогичные исследования и для простого оксида вольфрама WO_3 со средним размером частиц 674 нм (рисунок 18 в). Максимум распределения частиц для $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ (4658 нм) приходилось на 7 мкм, а для $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ (736 нм) – на 400 нм. Однако распределение для обоих образцов не являлось одномодальным, и для порошка образца $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ (4658 нм), диспергированного в агатовой ступке можно отметить значительный вклад

частиц с размерами в диапазоне от десятков нанометров до нескольких микрон, что и приводило к определению среднего размера частиц 4658 нм.

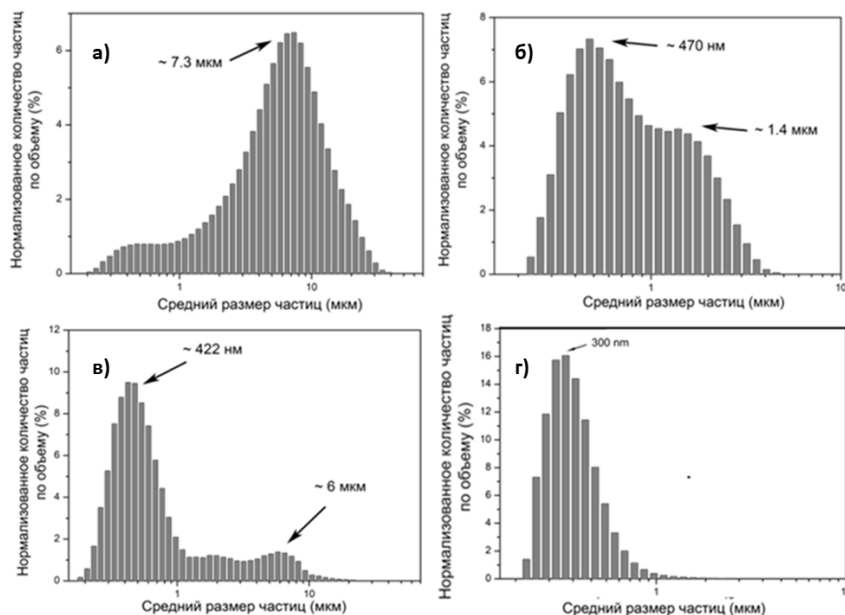


Рисунок 18. Объемное распределение частиц по размерам
а) $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ (4658 нм); б) $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ (736 нм); в) WO_3 (674 нм)
и г) CsTeMoO_6 (670 нм)

Исследования электронного строения $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 (Fukina et al., 2022a; 2022b; 2022c) показали, что Rb-содержащая фаза имеет линии поглощения при ~ 2.51 эВ, а Cs-содержащая фаза имеет линии поглощения при ~ 2 и 2.6 эВ внутри запрещенной зоны (3.4 и 3.1 эВ, соответственно), что соответствует видимому диапазону света (рисунок 19).

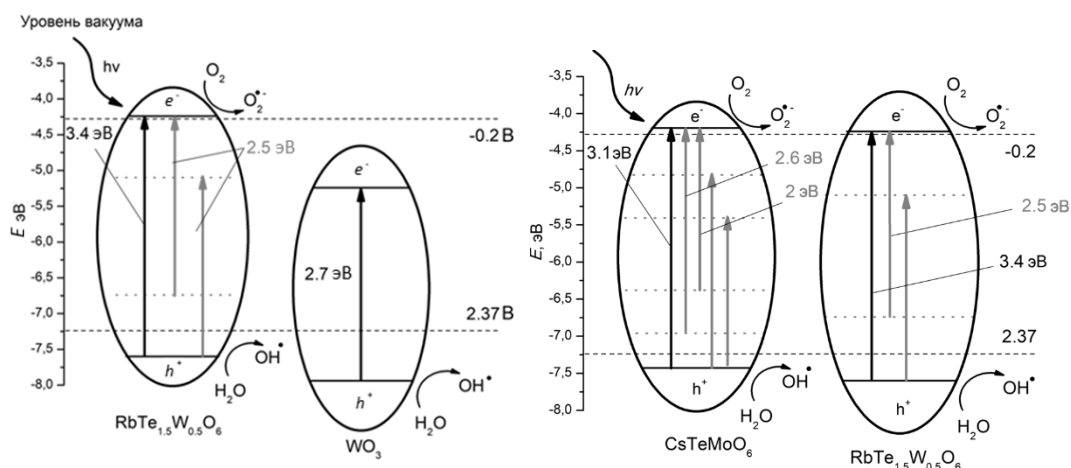


Рисунок 19. Схема относительных положений уровня проводимости и края валентной зоны оксидов (Smirnov et al., 2022; Semenycheva et al., 2023)

Из полученных зонных диаграмм для соединений следует, что при поглощении фотонов с энергией ~ 2.51 эВ для $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и от ~ 2 эВ для CsTeMoO_6 происходит образование электронно-дырочных пар, которые могут участвовать в реакциях окисления органических веществ, что было подтверждено на примере фоторазложения метиленового синего (Fukina et al., 2022; Fukina et al., 2022). Оксид вольфрама (WO_3) обладает относительно небольшой шириной запрещенной зоны (~ 2.8 эВ), что приводит к поглощению синего света (462 нм). Известно, что WO_3 способен к фотокаталитическому окислению органических соединений под действием видимого света (Smirnov et al., 2022).

Фотокаталитические оксиды $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 способны воспринимать свет в видимом спектре, и для того, чтобы убедиться, что спектры выбранных источников светового излучения соответствуют линиям поглощения исследуемых субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов были сняты их спектры, которые отображены на рисунке 20.

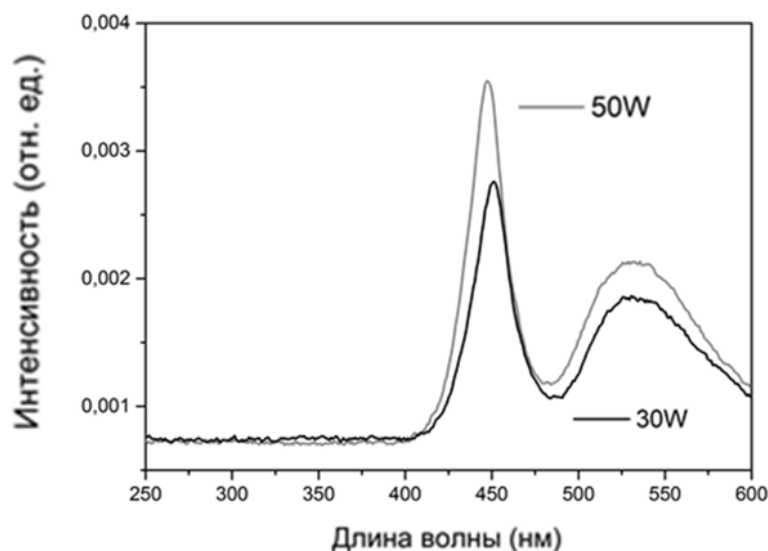


Рисунок 20. Спектры используемых светодиодных прожекторов (Smirnov et al., 2022)

Данные источники света имеют одинаковый волновой спектр, различаются только интенсивностью и соответствуют линиям поглощения исследуемых оксидов.

3.4.2. Исследование действия сложных оксидов металлов на рост и развитие микроицетов в условиях воздействия света и темноты

Как уже отмечалось ранее, оксиды тяжелых металлов находят широкое применение в медицине, ветеринарии, сельском хозяйстве, в том числе и в качестве средств защиты промышленных материалов от биоповреждений. Известно, что основными агентами биоповреждений промышленных материалов являются мицелиальные грибы (Сухаревич и др., 2009; Anikina et al., 2018; Smirnov et al., 2022). Поэтому представлял интерес исследовать противогрибковые свойства исследуемых сложных оксидов тяжелых металлов $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 , в условиях темноты и воздействия светового излучения, а также сравнить эффекты с фотокаталитически активным простым оксидом WO_3 .

На рисунке 21 представлены результаты исследований действия WO_3 на выживаемость спор грибов *Penicillium chrysogenum* и *Aspergillus niger* в условиях в условиях темноты и воздействия света (30 Вт). Длительность экспозиций в условиях света и темноты без исследуемых соединений не влияла на выживаемость спор грибов. На графиках представлена выживаемость спор грибов в % относительно контроля (без оксидов), который был взят за 100 %.

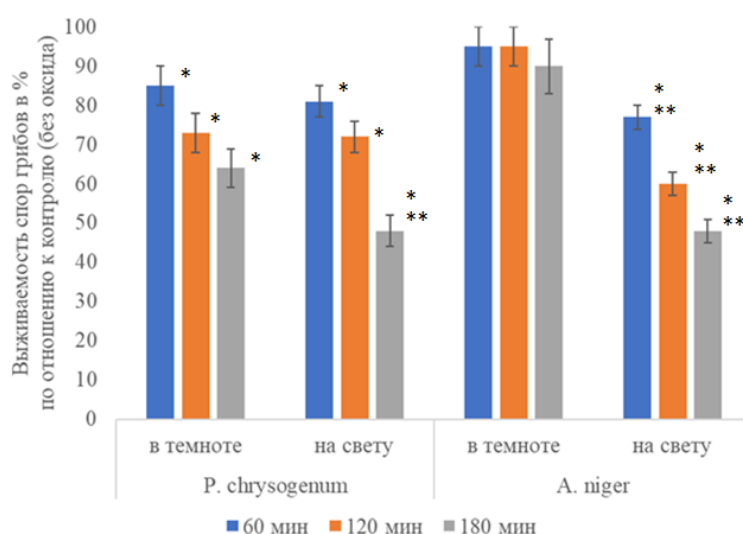


Рисунок 21. Выживаемость спор *P. chrysogenum* и *A. niger* под воздействием WO_3 в темноте и при освещении светом 30 Вт

Анализ результатов показал, что имело место снижение выживаемости спор грибов *A. niger* и *P. chrysogenum* под действием WO_3 как при освещении мощностью 30 Вт, так и в условиях темноты. Действие света усиливало противогрибковый эффект данного соединения в отношении *A. niger* во всех вариантах эксперимента, а в отношении *P. chrysogenum* только в условиях экспозиции 180 мин.

На рисунке 22 представлены результаты исследования влияния соединения $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ (736 нм) на выживаемость спор микромицетов при освещенности 30 Вт.

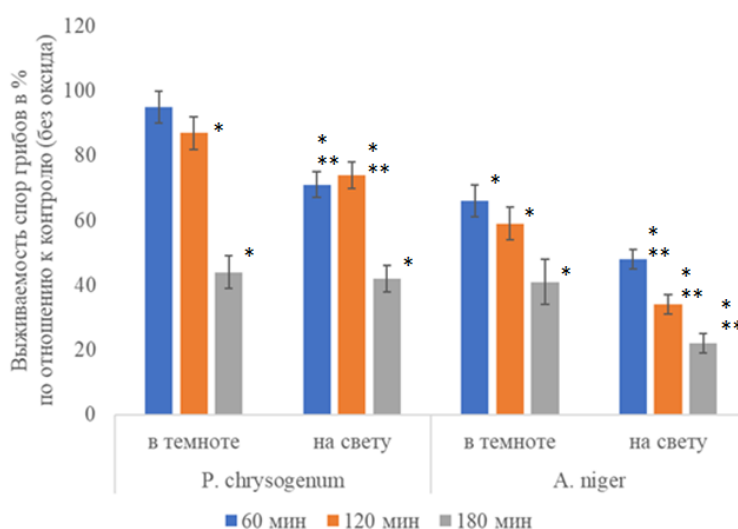


Рисунок 22. Выживаемость спор *P. chrysogenum* и *A. niger* под воздействием $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ в темноте и при освещении светом 30 Вт

Здесь так же, как в случае WO_3 , наблюдалось снижение выживаемости спор как в условиях света, так и в условиях темноты. Ингибирующий эффект $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ в отношении *P. chrysogenum* в этой серии экспериментов наблюдается уже при экспозиции 60 мин. в отличие от WO_3 . В случае *A. niger* при воздействии света мощностью 30 Вт как на WO_3 , так и на соединение $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ выживаемость спор была ниже, чем в условиях темноты. Было отмечено, что $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ в условиях темноты обладал более выраженным противогрибковым эффектом в отношении *A. niger* по сравнению с WO_3 (рисунки 21 и 22).

Антимикробная активность оксидов тяжелых металлов, обладающих фотокаталитической активностью, может изменяться в зависимости от

мощности источника освещения, поэтому также проводились эксперименты с источником освещения мощностью 50 Вт. Результаты этих исследований представлены на рисунках 23 и 24.

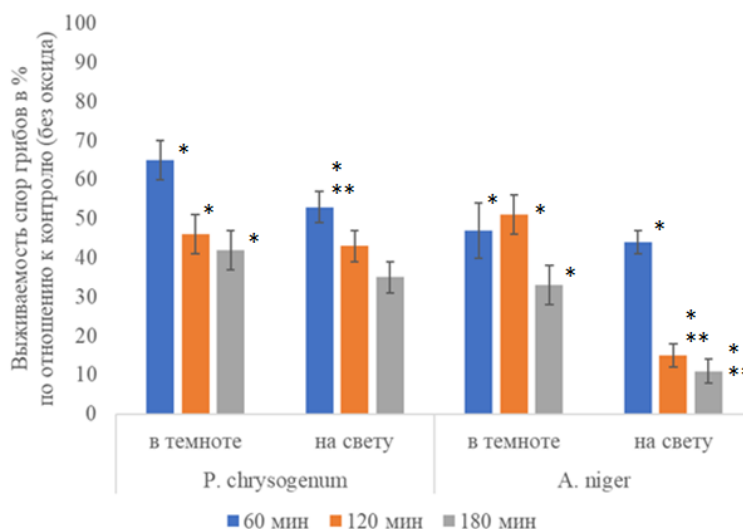


Рисунок 23. Выживаемость спор *P. chrysogenum* и *A. niger* под воздействием WO_3 в темноте и при освещении светом 50 Вт

Так же, как и в предыдущей серии экспериментов, в присутствии соединения WO_3 имело место снижение выживаемости спор грибов *P. chrysogenum* и *A. niger*, причем действие света усиливало наблюдаемый эффект. Особенно, это было заметно в отношении гриба *A. niger* при экспозиции 120 мин и 180 мин. Ингибирующий эффект WO_3 при воздействии света мощностью 50 Вт на выживаемость спор *A. niger* был выше, чем в условиях освещенности 30 Вт.

Было отмечено, что более существенное изменение выживаемости спор *A. niger* наблюдалось в случае воздействия источника освещения мощностью 50 ВТ на $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ по сравнению с WO_3 (рисунок 24).

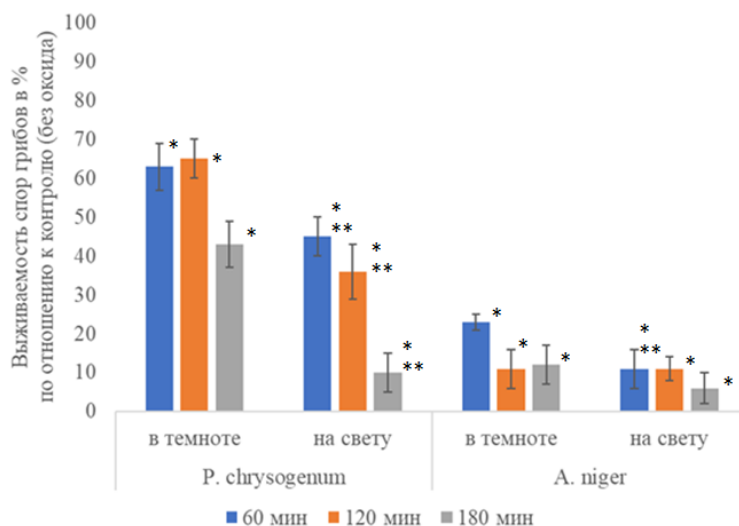


Рисунок 24. Выживаемость спор *P. chrysogenum* и *A. niger* под воздействием частиц $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ (736 нм) в темноте и при освещении светом 50 Вт

Соединение $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ (736 нм) в отношении спор гриба *P. chrysogenum* также обладало более выраженным противогрибковым эффектом по сравнению с WO_3 , причем наибольший эффект наблюдался при экспозиции 180 мин.

Также было исследовано противогрибковое действие CsTeMoO_6 по отношению к спорам грибов *P. chrysogenum* и *A. niger*. Результаты этих исследований представлены на рисунке 25.

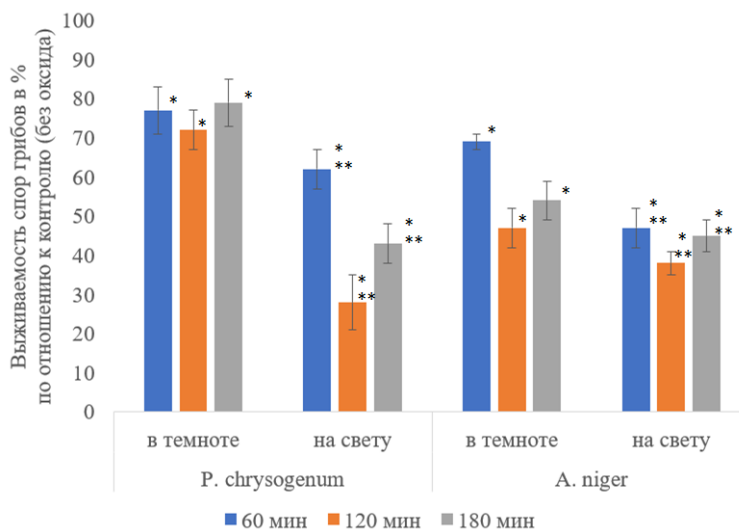


Рисунок 25. Выживаемость спор *P. chrysogenum* и *A. niger* под воздействием частиц CsTeMoO_6 (670 нм) в темноте и при освещении светом 50 Вт

В случае действия CsTeMoO_6 на споры грибов наблюдалось подавление их выживаемости как в условиях темноты, так и воздействия света.

Антимикробный эффект в условиях воздействия света также усиливался, что, по всей видимости, как и в предыдущих вариантах, связано с наличием фотокаталитической активностью (рисунок 25).

Аналогичные результаты были получены и при исследовании воздействия CsTeMoO_6 на выживаемость спор грибов *P. cyclopium* и *C. globosum* (рисунок 26).

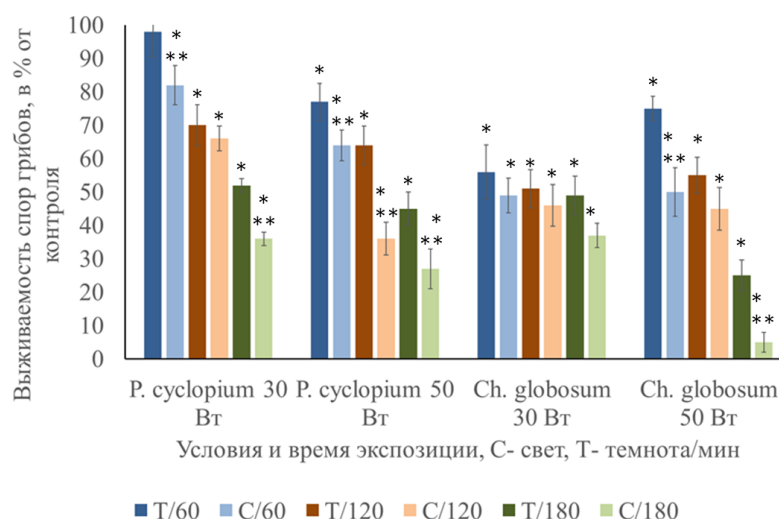


Рисунок 26. Выживаемость спор *P. cyclopium* и *C. globosum* в присутствии CsTeMoO_6 в темноте и при освещении светом с разной мощностью

Многие противогрибковые препараты проявляют различную степень биоцидного эффекта на споры и вегетативный мицелий грибов. В связи с этим в данной работе представлены результаты серии экспериментов по оценке действия соединений WO_3 и $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 на вегетативный мицелий *A. niger* и *P. chrysogenum* как при воздействии света, так и в условиях темноты (рисунки 27-31). Противогрибковое действие соединений на мицелий грибов оценивали по изменению прироста биомассы. Длительность экспозиций в условиях света и темноты без исследуемых соединений не влияла на прирост биомассы грибов, поэтому на графиках в качестве контроля использовали прирост биомассы грибов в отсутствии исследуемых соединений.

Так было показано, что WO_3 и $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ снижали прирост биомассы грибов *A. niger* и *P. chrysogenum* как при воздействии света, так и в условиях темноты по сравнению с контролем, что позволяет говорить об их

противогрибковой активности по отношению к вегетативному мицелию. Воздействие света мощностью 30 Вт на WO_3 увеличивало его противогрибковую активность при экспозиции 120 мин в отношении *P. chrysogenum*, а в отношении *A. niger* – при экспозиции 120 и 240 мин по сравнению с вариантами эксперимента в темноте (рисунок 27).

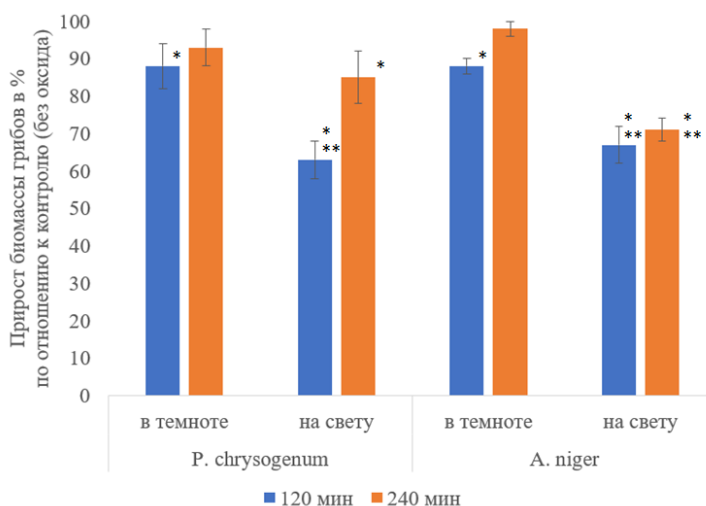


Рисунок 27. Изменение прироста биомассы *P. chrysogenum* и *A. niger* под воздействием WO_3 в темноте и при освещении светом 30 Вт

В то же время противогрибковая активность $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ под действием света 30 Вт изменялась сильнее в отношении *P. chrysogenum* при экспозиции 240 мин, а в отношении *A. niger* – при экспозиции 120 мин (рисунок 28).

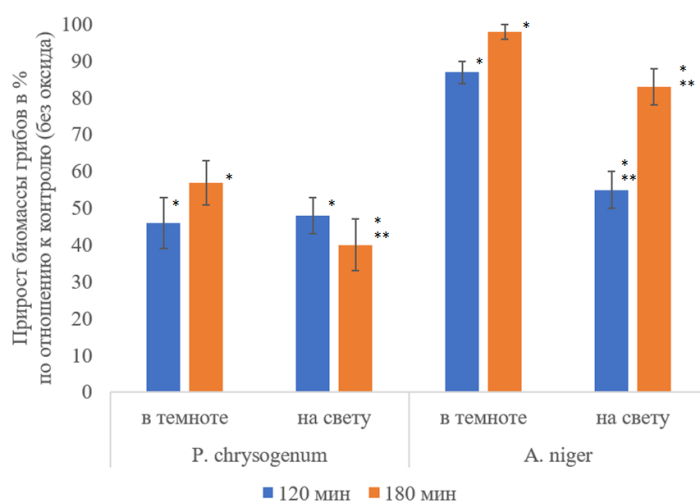


Рисунок 28. Изменение прироста биомассы *P. chrysogenum* и *A. niger* под воздействием $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ в темноте и при освещении светом 30 Вт

При исследовании действия WO_3 на *P. chrysogenum* с использованием источника света мощностью 50 Вт не наблюдали превалирования противогрибковой активности по сравнению с темнотой, напротив, прирост биомассы *A. niger* в этих условиях освещенности существенно снижался при экспозиции 240 мин (рисунок 29).

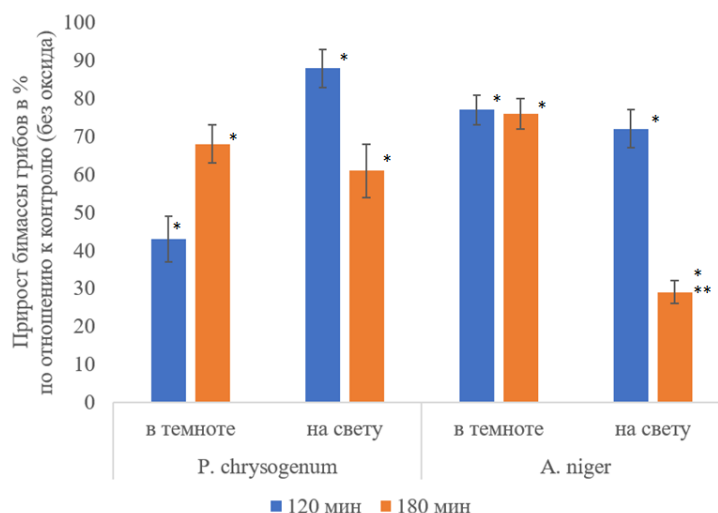


Рисунок 29. Изменение прироста биомассы *P. chrysogenum* и *A. niger* под воздействием WO_3 в темноте и при освещении светом 50 Вт

При использовании источника света мощностью 50 Вт происходило усиление противогрибковой активности $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ по сравнению с вариантом эксперимента в темноте. Данный эффект более выражен для гриба *P. chrysogenum*, чем для гриба *A. niger* (рисунок 30).

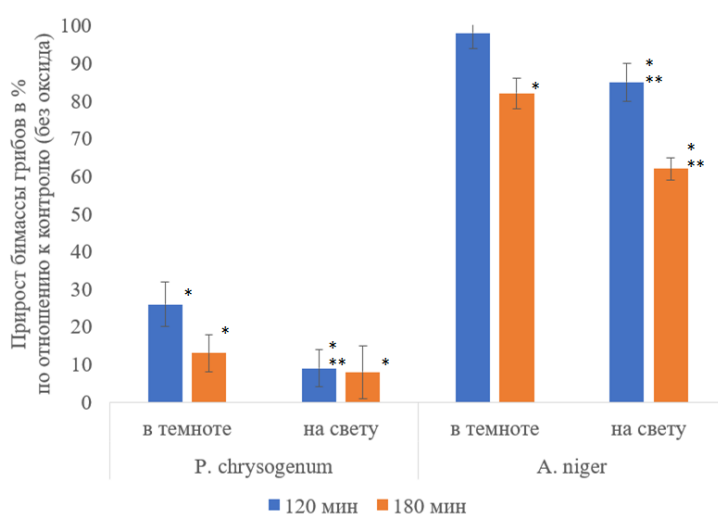


Рисунок 30. Изменение прироста биомассы *P. chrysogenum* и *A. niger* в присутствии $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ в темноте и при освещении светом 50 Вт

В случае экспериментов с влиянием света на прирост биомассы вегетативного мицелия в присутствии CsTeMoO_6 (рисунок 31) наблюдалось снижение прироста биомассы грибов под действием исследуемого соединения в темноте и на свету. Фунгицидный эффект CsTeMoO_6 увеличивался под действием света по сравнению с вариантами эксперимента в темноте. Следует отметить, что в случае *A. niger* с увеличением времени экспозиции ингибирующий эффект как в темноте, так и на свету увеличивался. В вариантах с *P. chrysogenum* ингибирующий эффект на выживаемость вегетативных клеток уменьшался под действием света при увеличении времени экспозиции. Таким образом, можно сказать, что влияние длительности экспозиции на антимикробную активность было неоднозначным: при исследовании действия соединения на вегетативный мицелий *A. niger* имело место увеличение биоцидного эффекта при увеличении времени воздействия, а в случае спор грибов и мицелиальных клеток *P. chrysogenum* – снижение или отсутствие статически значимых изменений.

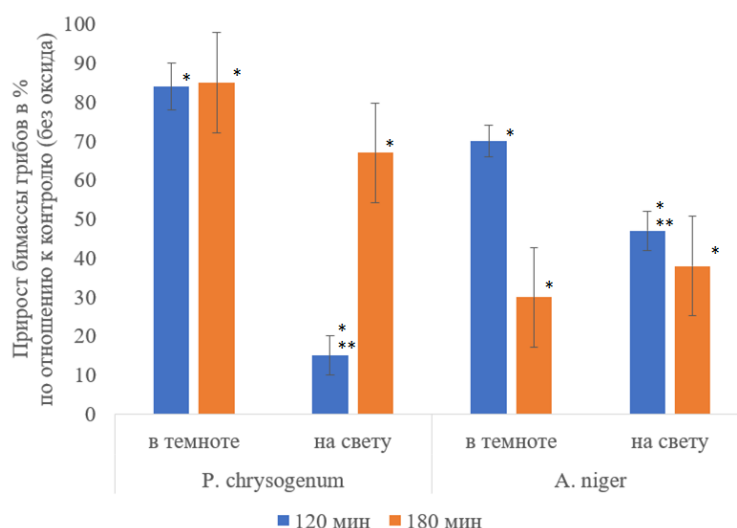


Рисунок 31. Изменение прироста биомассы *P. chrysogenum* и *A. niger* в присутствии CsTeMoO_6 в темноте и при освещении светом 50 Вт

Сравнивая действие соединений CsTeMoO_6 и $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ на выживаемость одних и тех же исследуемых микроорганизмов можно отметить, что последнее обладает более сильным антимикробным эффектом. Степень подавления жизнедеятельности отдельных культур этими соединениями тоже

различна, что подтверждает правомерность утверждения о зависимости антимикробного эффекта нано- и субмикронных частиц оксидов металлов, обладающих фотокаталитической активностью, от природы металлов в этих соединениях.

3.4.3. Антибактериальные свойства фотокаталитических оксидов

Как отмечалось выше, ведущая роль в возникновении процессов биоповреждений принадлежит мицелиальным грибам. Тем не менее бактерии могут быть частью сообществ микроорганизмов-биодеструкторов и разрушать определенные промышленные материалы, в том числе и акриловые полимеры. Известно, что доля бактериального повреждения составляет 20% от всех видов (Smirnov et al., 2022). В связи с этим в работе представлены результаты исследования антибактериальной активности используемых сложных оксидов по отношению к грамположительной *S. aureus* и грамотрицательной *E. coli* бактериям (рисунки 32-35).

Существенное значение для проявления антимикробной активности оксидов металлов (как в темноте, так и при действии света) имеет размер частиц. В связи с этим в следующей серии экспериментов сравнивали антимикробную активность соединений $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ с размером частиц 4658 нм и 736 нм. Результаты исследований представлены на рисунках 32 и 33.

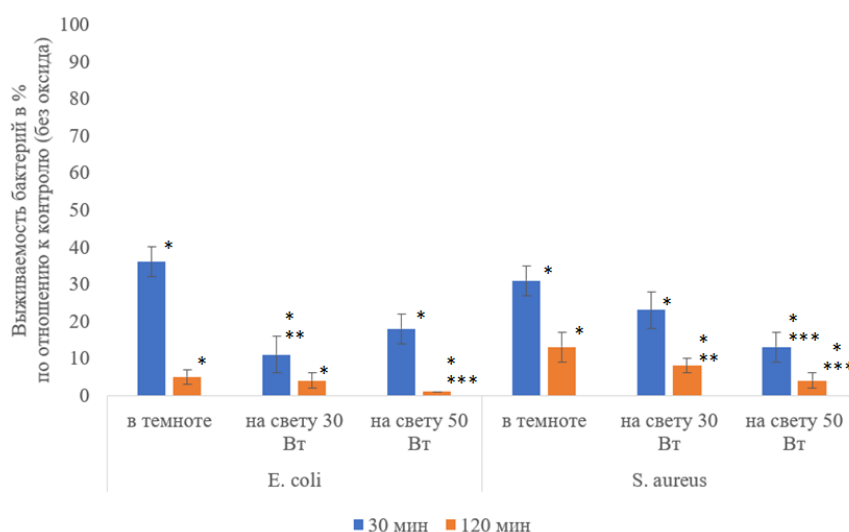


Рисунок 32. Выживаемость бактерий в присутствии $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ (736 нм) в условиях темноты и при воздействии светового излучения

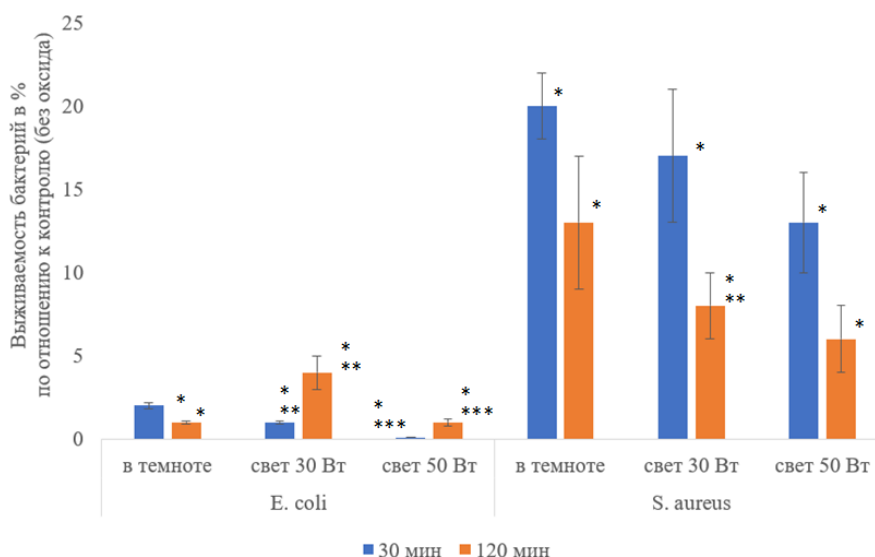


Рисунок 33. Выживаемость бактерий в присутствии $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ (4658 нм) в условиях темноты и при воздействии светового излучения

Установлено, что соединение $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ с размером частиц 736 нм проявляет более сильное антимикробное действие на исследуемые тест-культуры бактерий как в условиях темноты, так и при действии света по сравнению с соединением с большим размером частиц. Причем действие света существенно усиливало этот эффект для $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ с размером частиц 736 нм по сравнению с $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ с размером частиц 4658 нм. Также наблюдалось, что с увеличением времени экспозиции усиливался антимикробный эффект данных соединений в условиях темноты и света. Установлено, что $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ с размером частиц 736 нм оказывает более сильное снижение выживаемости *E. coli* по сравнению с *S. aureus*. Выживаемость *E. coli* составляла 1.0-2.0% в темноте и 0.1-1.0% на свету. Это говорит о том, что данный оксид металла проявляет бактерицидную активность, усиливающуюся в условиях воздействия света, тогда как бактерицидность $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ с большим размером частиц для *S. aureus* проявляется только при экспозиции 120 мин, а на *E. coli* данное соединение бактерицидного действия не оказывает. При сравнении действия на выживаемость бактерий источников света различной мощности (30 и 50 Вт) в присутствии соединения с меньшим размером частиц имели противоположный эффект по сравнению с действием света на бактерии в

присутствии соединения с большим размером частиц. В данном случае $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ с размером частиц 736 нм при использовании источника освещенности 30 Вт вызывало сильное снижение выживаемости *S. aureus*, тогда как при действии этого же источника (30 Вт) в присутствии $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ с размером частиц 4658 имело место большее снижение выживаемости для *E. coli*.

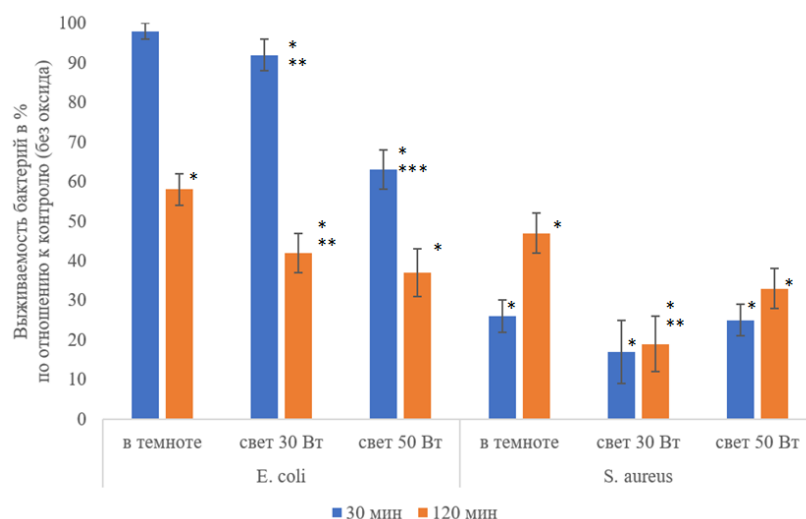


Рисунок 34. Выживаемость бактерий в присутствии WO_3 в условиях темноты и при воздействии светового излучения

При исследовании антимикробных свойств WO_3 более сильное подавление выживаемости культур имело место для *S. aureus*. Действие света 30 и 50 Вт усиливало активность WO_3 по отношению к обеим культурам бактерий. Для *E. coli* выживаемость снижалась при экспозиции 30 и 120 мин, а для *S. aureus* – 120 мин. Отмечено, что использование источника света мощностью 30 Вт в большей степени снижало выживаемость тест-культур бактерий (по сравнению с 50 Вт), что позволяет говорить о большей антимикробной активности в данном варианте эксперимента (рисунок 34).

Далее нами исследовалось антибактериальная активность нового фотокаталитически активного сложного оксида CsTeMoO_6 на выживаемость бактерий *E. coli* и *S. aureus* в условиях темноты и воздействия света. Результаты представлены на рисунке 35.

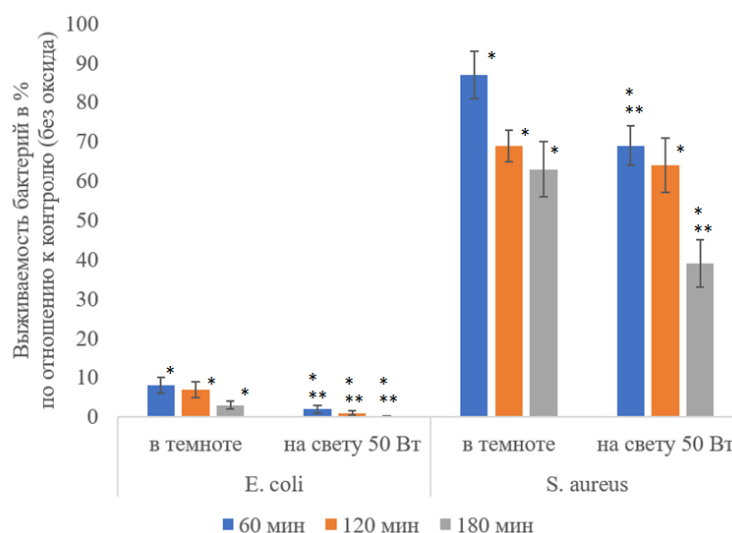


Рисунок 35. Выживаемость бактерий в присутствии CsTeMoO_6 в условиях темноты и при воздействии светового излучения

Установлено, что как в условиях темноты, так и действия света исследуемое соединение способно ингибировать жизнедеятельность данных микроорганизмов. Более выраженное антимикробное действие наблюдалось в отношении *E. coli*. Действие света на исследуемое вещество приводило к снижению выживаемости бактерий по сравнению с вариантами эксперимента с введенным CsTeMoO_6 , которые выдерживались в темноте.

Таким образом, в условиях воздействия света биоцидная активность субмикронных частиц фотокаталитически активных оксидов тяжелых металлов $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 определяется главным образом природой металлов в их составе.

3.4.4. Влияние ряда факторов на антимикробную активность исследуемых оксидов металлов

Как нами уже отмечалось выше, антимикробная активность оксидов металлов, обладающих фотокаталитической активностью, зависит от многих факторов, таких как: размер и форма частиц, их концентрация, освещенность, волновой спектр, время экспозиции, природа металла, вид биоагента и другие.

Исходя из экспериментальных данных, представленных на рисунках 21-35, можно сделать определенные обобщения. При сравнении антимикробной активности соединения $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ с размером частиц 4658 нм и 736 нм, было установлено, что размер частиц оказывает существенное влияние на

выживаемость тест-культур бактерий *E. coli* и *S. aureus* как в условиях темноты, так и в условиях действия света. Отмечено, что бактерицидное влияние на микроорганизмы становится более заметным для соединения $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ с размером частиц 736 нм по сравнению соединением $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ с размером частиц 4658 нм.

Сравнивая действие света на соединение WO_3 и $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ с размером частиц 736 нм можно отметить, что соединение $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ в условиях света мощностью 30 и 50 Вт с плотностью потока излучения 325.5 и 524 Вт/м² соответственно проявляло более сильную антимикробную активность по отношению к спорам и вегетативному мицелию исследуемых грибов *P. chrysogenum* и *A. niger* по сравнению с WO_3 . Отмечено неоднозначное действие различных источников света (30 и 50 Вт) на антимикробную активность соединений $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ с размером частиц 736 нм по сравнению соединением $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ с размером частиц 4658 нм.

Установлено, что действие света существенно усиливало антибактериальный эффект по отношению к *E. coli* и *S. aureus* соединения $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ с размером частиц 736 нм по сравнению с соединением $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ с размером частиц 4658 нм.

В экспериментах с $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ с размером частиц 736 нм и WO_3 отмечалось более сильное влияние источника света мощностью 30 Вт по сравнению с источником мощностью 50 Вт.

Природа металла также влияет на антимикробную активность оксидов металлов. При исследовании $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ обнаружен также более сильный антимикробный эффект по отношению к *E. coli* и *S. aureus* по сравнению с WO_3 .

Сравнивая действие соединений CsTeMoO_6 и $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ на выживаемость одних и тех же исследуемых микроорганизмов можно отметить, что последнее обладает более сильным антимикробным эффектом. Степень подавления жизнедеятельности отдельных культур этими соединениями тоже различна, что подтверждает правомерность утверждения о зависимости

антимикробного эффекта нано- и субмикронных частиц оксидов металлов, обладающих фотокаталитической активностью, от природы металлов в этих соединений.

При исследовании соединения $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ обнаружен более сильный антимикробный эффект по отношению к *E. coli* и *S. aureus* по сравнению с WO_3 , который проявлялся во всех вариантах экспозиции.

Установлено, что сложный оксид CsTeMoO_6 способен проявлять антимикробный эффект как в темноте, так и в условиях воздействия света по отношению к бактериям *E. coli* и *S. aureus*, а также к спорам и вегетативному мицелию грибов *P. chrysogenum* и *A. niger*. Наибольшее ингибирующее действие субмикронных частиц данного соединения отмечено для *E. coli*.

Соединение WO_3 в условиях темноты в наибольшей степени снижало жизнеспособность спор *P. chrysogenum*, а соединение $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ – выживаемость спор *A. niger*. Также $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ в большей степени ингибировало рост вегетативного мицелия этих грибов по сравнению с WO_3 .

Различие степени выживаемости микроорганизмов при действии CsTeMoO_6 , WO_3 , $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ как в условиях темноты, так и в условиях воздействия света может быть связано с наличием у исследуемых культур физиолого-биохимических особенностей, а именно, наличием у них, возможно, разных механизмов резистентности по отношению к данному сложному оксиду металлов.

Отмечено, что действие света усиливало ингибирующий эффект и $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и WO_3 , особенно при экспозиции 120 минут (выживаемость *E. coli* и *S. aureus* составляла 1-5%), в этом случае можно говорить о наличии бактерицидной активности данных соединений, тогда как в других случаях выживаемость исследуемых культур бактерий в присутствии этих соединений можно рассматривать как бактериостатическое действие.

Длительность экспозиции оказывала неоднозначное действие на антимикробный эффект CsTeMoO_6 . В ряде случаев с увеличением времени воздействия данного соединения в условиях света и темноты имело место

снижение выживаемости микроорганизмов (тест-культур грибов и бактерий), а в ряде она не изменялась или, напротив, даже увеличивалась.

Наблюдалось, что с увеличением времени экспозиции усиливался антимикробный эффект по отношению к *E. coli* и *S. aureus* соединений $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ с размером частиц 736 нм и $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ с размером частиц 4658 нм.

Таким образом, на антимикробную активность исследуемых соединений влияли такие факторы, как природа металлов, входящих в их состав, размер частиц, мощность источников светового излучения, время экспозиции и вид биологического объекта.

3.5. Исследование воздействия оксидов металлов WO_3 , $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 на метаболизм ряда мицелиальных грибов-деструкторов полимерных материалов

Известно, что кроме таких физиологических параметров, как выживаемость спор грибов и прироста их биомассы, важной составляющей экофизиологических исследований в области биоповреждений является влияние различных абиотических факторов, в данном случае биоцидных соединений, обладающих фотокаталитической активностью, индуцируемых видимым светом, на биохимические механизмы ингибирования различных метаболических путей грибов-деструкторов. Также в работе рассматривается такой аспект экофизиологии, как исследование механизмов ингибирующего действия используемых в данной работе сложных оксидов $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 на некоторые стороны метаболизма микроскопических грибов-деструкторов акриловых полимеров.

Как было сказано выше, деградация микромицетами полимерных материалов осуществляется путем воздействия на них различных экзометаболитов: ферментов, пероксида водорода, органических кислот и др., которые выделяются в окружающую среду при росте грибов на полимерных материалах или на внешних загрязнениях. С помощью экзометаболитов

материалы и их компоненты разрушаются и вовлекаются в метаболизм грибов, которые используют их в качестве источника углерода и энергии.

Для подавления метаболизма грибов–деструкторов (образования и экстракции экзометаболитов) полимерных материалов, используются различные биоциды. Взаимодействуя с клетками микромицетов, биоцидные соединения, в т.ч. и оксиды тяжелых металлов, способны также подавлять активность и продукцию эндометаболитов, которые участвуют в важнейших путях жизнедеятельности грибов (синтез и модификация белков, матричные и энергетические процессы, дыхание и мембранный транспорт), что вызывает их гибель.

Знание механизмов ингибирующего действия новых сложных оксидов тяжелых металлов $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 , обладающих антимикробными свойствами, на метаболизм грибов в конечном итоге позволит использовать их в качестве биоцидных соединений, которые могут найти широкое применение в прикладной экобиотехнологии как средства защиты промышленных материалов от биоповреждений, а также в медицине и ветеринарии. Причем знание конкретных механизмов ингибирующего действия оксидов тяжелых металлов на метаболизм грибов позволит целенаправленно, планомерно и научно-обосновано осуществлять практическое применение данных соединений.

Учитывая то, что исследуемые оксиды тяжелых металлов являются вновь синтезированными соединениями, то какие-либо сведения о механизмах их ингибирующего действия на метаболизм грибов деструкторов полимерных материалов отсутствуют. В связи с чем экофизиологические и экобиохимические исследования в этом плане являются весьма актуальными. На сегодняшний день о механизмах ингибирующего действия оксидов тяжелых металлов, обладающих фотокаталитической активностью, на метаболизм грибов известно следующее. Как правило в работах большинства исследований рассматривают отдельно темновые и световые механизмы действия оксидов тяжелых металлов на микроорганизмы.

Темновой механизм антимикробного действия субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов обуславливается прямым взаимодействием с компонентами клетки как самих частиц, так и высвобождающихся ионов тяжелых металлов, в результате чего происходят дестабилизация и повреждение клеточной стенки и мембраны, что значительно увеличивает их проницаемость. Высвобождающиеся ионы тяжелых металлов способны связываться с клеточными мембранными структурами, белками, ДНК и т.д., что приводит к нарушению их структуры и функций.

Световой механизм действия является менее изученным. Фотокаталитически активные оксиды тяжелых металлов при взаимодействии со светом образуют АФК, такие как перекись водорода (H_2O_2), супероксид-анион ($\bullet\text{O}_2^-$) и гидроксильный радикал ($\bullet\text{OH}$), вызывая повреждение почти всех органических биомолекул (аминокислот, углеводов, липидов, нуклеиновых кислот и белков), что в конечном итоге приводит к нарушению гомеостаза клеток живого организма (Воробьёва и др., 2019; Мелешко и др., 2020, Alejandro et al., 2019; Mokrushnikov, 2020; Yael et. al., 2022).

Известно, что оксиды тяжелых металлов могут влиять на различные ферменты. Например, снижение активности эндокаталазы может происходить за счёт ингибирования фермента катионами тяжёлых металлов, выходящих из микрочастиц (Yael et al., 2022) или за счет механизма их фотокатализа, при котором образуются $\bullet\text{OH}$ радикалы, способные повреждать белки и ферменты.

В этом плане представлял интерес исследовать продукцию грибами пероксида водорода и меланина, а также активность некоторых оксидоредуктаз в присутствии используемых оксидов металлов, как в темноте, так и при воздействии светового излучения. То есть представлял интерес изучить сможет ли свет, как абиотический фактор влиять на механизмы ингибирующего действия на оксиды сложных металлов.

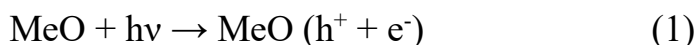
Также известно, что эндооксидоредуктазы участвуют в поддержании гомеостаза клетки, а некоторые из них входят в состав антиоксидантной системы. Тогда как экзооксидоредуктазы участвуют в трансформации

экзогенных субстратов. Нарушение активности тех, или иных оксидоредуктаз негативным образом должно сказываться на жизнедеятельность грибов – деструкторов и, таким образом, определять возможность использования вышеуказанных соединений в качестве средств защиты полимерных материалов от биоповреждений (Смирнов и др., 1995).

3.5.1. Влияние оксидов металлов на продукцию пероксида водорода грибами-деструкторами полимерных материалов

Как уже отмечалось выше, определенная роль в процессе биodeградации грибами промышленных материалов принадлежит пероксиду водорода. Выделяемый почвенными микромицетами H_2O_2 участвует в трансформации различных химических соединений, а образующийся в результате разложения пероксида водорода кислород способен также окислять различные природные и синтетические субстраты (Daou, Faulds, 2017; Hammel et al., 2002). Кроме этого, пероксид водорода может являться субстратом для ряда экзооксидоредуктаз, участвующих в биодеструкции различных промышленных материалов. Известно, что многие микроорганизмы, в том числе и грибы, используют H_2O_2 в процессах конкуренции и антагонизма (Zhang et al., 2019).

Согласно литературным данным, H_2O_2 может образовываться в водной среде под воздействием исследуемых соединений в результате их фотокаталитической активности (Smirnov et al., 2022).



Известно, что супероксид анион радикал является основным предшественником пероксида водорода, образующегося в воде под действием света, или в результате его дисмутации, или в результате взаимодействия с

протонами, образующимися при диссоциации воды в процессе ее фотолиза (уравнения 2, 5, 6).

На первом этапе данной серии исследований представлял интерес определить могут ли используемые ОМ образовывать H_2O_2 в среде культивирования (в неагаризованной питательной среде Чапека) без грибов под воздействием светового излучения (рисунок 36).



Рисунок 36. Содержание пероксида водорода в среде культивирования без (контроль) и в присутствии исследуемых соединений WO_3 , $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$, CsTeMoO_6 в условиях воздействия светового излучения 50 Вт

Известно, что фотокаталитическая активность оксидов металлов, в том числе и исследуемых нами соединений, связана с образованием АФК (супероксид анион радикала, гидроперекисного радикала, пероксида водорода). Согласно данным литературных источников (Fukina et al., 2024), количество АФК и их вид зависит от природы металла и ширины его запрещенной зоны. Так в случае с $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ характер фотокаталитических реакций смещен в сторону образования $\bullet\text{OH}$ радикалов. Более того, отсутствие пероксида водорода в среде, содержащей $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и WO_3 , может быть связано с рядом причин: недостаточная чувствительность используемой методики определения пероксида водорода, что не позволяет определить малые концентрации данного соединения; известно, что в зависимости от природы металла в сложных оксидах в ряде случаев супероксидный анион радикал может не образовываться в процессе воздействия света и в таком случае продукция H_2O_2 невозможна (Fukina et al., 2022a). В данном

эксперименте H_2O_2 обнаружен только в случае воздействия света на субмикронные частицы CsTeMoO_6 .

Далее было изучено влияние частиц оксидов тяжелых металлов в условиях света и темноты на содержание гидроперекисей в среде культивирования с грибами *A. niger* и *P. chrysogenum* (рисунок 37).

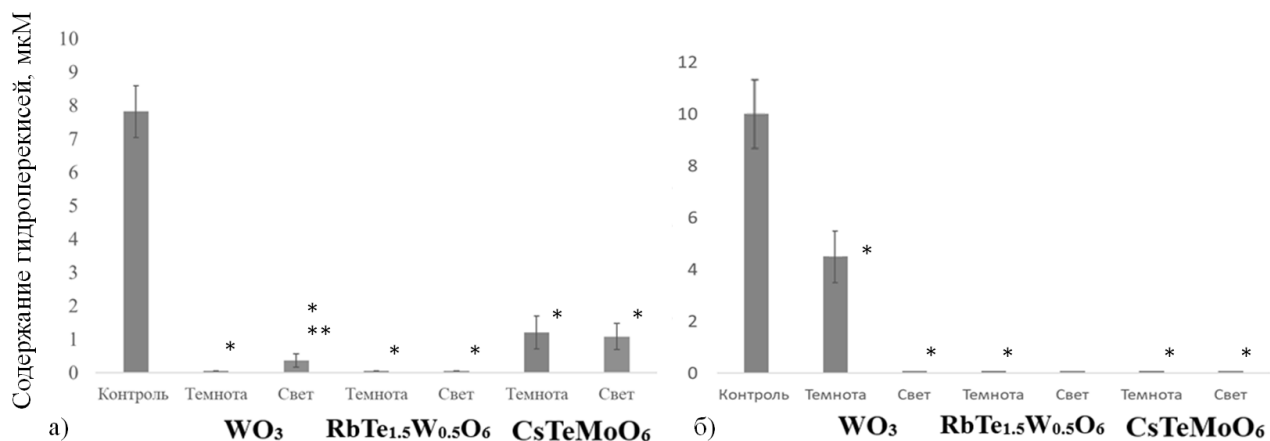


Рисунок 37. Содержание гидроперекисей в среде культивирования грибов *A. niger* (а) и *P. chrysogenum* (б) и при внесении в нее исследуемых оксидов

Показано, что данные грибы способны выделять во внешнюю среду пероксид водорода, причем *P. chrysogenum* в большей степени по сравнению с *A. niger*. Известно, что грибы могут синтезировать эндогенные и экзогенные формы пероксида водорода, используя для этого различные ферменты. В частности, внутри клетки работают эндоферменты, такие как супероксиддисмутаза, глюкозооксидаза и некоторые другие. При этом, образующийся H_2O_2 может выделяться в окружающую среду. Образование внеклеточного пероксида водорода может катализироваться некоторыми экзоферментами, в частности, с помощью внеклеточных изоформ глюкозооксидазы (Hernández-Ortega et al., 2012; Daou, Faulds, 2017; Dzambi, Mangoyi, 2020; Martínez-Ruiz et al., 2022).

При добавлении в среду культивирования грибов *A. niger* и *P. chrysogenum* изучаемых оксидов тяжелых металлов содержание пероксида водорода в КЖ значительно снижалось по сравнению с контролем. При этом в условиях действия света на WO_3 содержание H_2O_2 в КЖ *A. niger* было больше нежели в темноте, что может быть связано с продукцией пероксида водорода

оксидом вольфрама в процессе фотокатализа, а в случае *P. chrysogenum* содержание H_2O_2 было больше в темновых условиях, что может говорить о более стойком к воздействию данного оксида процессе синтеза пероксида водорода указанного гриба в условиях темноты.

Установлено, что при введении $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ продукция пероксида водорода полностью блокировалась как в темноте, так и на свету у обоих видов грибов. Соединение CsTeMoO_6 оказало меньший эффект, чем другие вещества в случае *A. niger*, на что указывает примерно одинаковое по сравнению с WO_3 количество пероксида водорода в среде культивирования как на свету, так и в темноте. При этом этот же оксид при сохранении своего пероксид-образующего эффекта в чистой среде оказал значительно более сильный ингибирующий эффект как в условиях темноты, так и света на продукцию внеклеточного пероксида водорода у *P. chrysogenum*, что говорит о более слабой устойчивости систем, нужных для нормального протекания всех процессов, способствующих синтезу этим грибом внеклеточного H_2O_2 .

Таким образом, анализ полученных результатов показал, что исследуемые соединения WO_3 , $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 в разной степени способны снижать содержание пероксида водорода в среде культивирования как в условиях действия света, так и в условиях темноты для обоих грибов. Превалирующий эффект снижения содержания пероксида водорода в среде культивирования в условиях воздействия света по сравнению с темновыми условиями наблюдался только в случае WO_3 для гриба *P. chrysogenum*.

Неоднозначность действия исследуемых материалов на содержание пероксида водорода в среде культивирования может быть связана как с различным химическим строением оксидов металлов, так и с физиолого-биохимическими особенностями исследуемых культур микромицетов.

3.5.2. Действие оксидов на активность экзooksидоредуктаз грибов

3.5.2.1. Действие оксидов на активность каталазы

Многие промышленные материалы (полимеры, композиты и т.д.) содержат перекиси, как неорганические, так и органические соединения.

Внеклеточная каталаза грибов способна разрушать такие перекиси, а образующийся кислород, обладающий высокой реакционной активностью, способен окислять органические соединения и металлы, что приводит к существенным изменениям в структуре и составе промышленных материалов, то есть к их биодegradации. В связи с вышеизложенным, представлял интерес исследовать влияние субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов на активность внеклеточной каталазы грибов – активных деструкторов полимерных материалов. Результаты исследования влияния оксидов тяжелых металлов на активность внеклеточной (секретируемой) каталазы у грибов *A. niger* и *P. chrysogenum* представлены на рисунках 38-39.

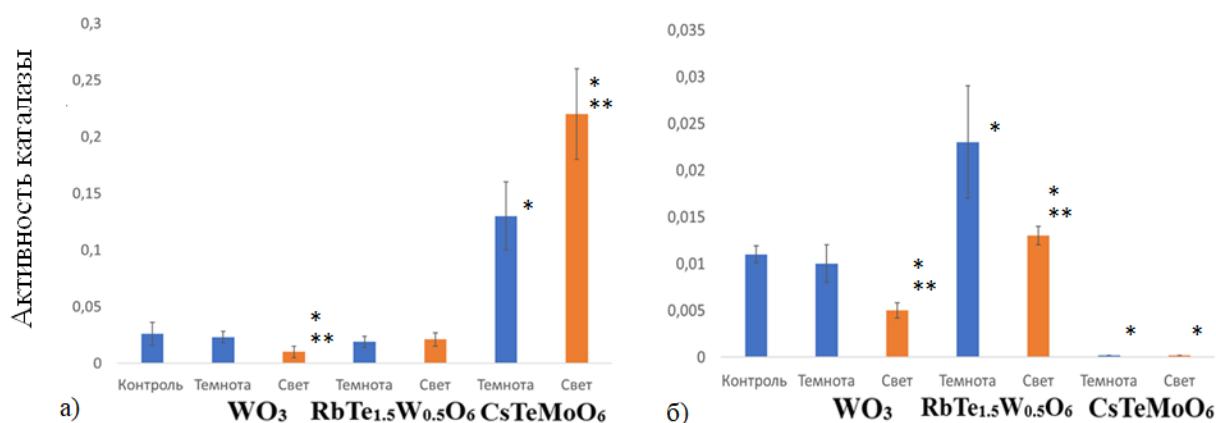


Рисунок 38. Изменение активности экзокаталазы *A. niger* (а) и *P. chrysogenum* (б) в присутствии оксидов в условиях темноты и при воздействии света

Было показано, что активность экзокаталазы *A. niger* значительно возросла по сравнению с контролем при добавлении $CsTeMoO_6$, причем в световых условиях эта активность больше, чем в темновых. Однако введение этого же оксида в среду культивирования *P. chrysogenum* полностью блокировало активность этого фермента в случае с указанным грибом.

Также было обнаружено, что при введении WO_3 активность каталазы снижалась у обоих видов грибов только в условиях действия света. Тогда как в условиях темноты активность каталазы при этом практически не изменялась. Соединение $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ не оказывало никакого воздействия на активность экзокаталазы *A. niger* как в условиях действия света, так и в темноте. В тоже время активность данного фермента у *P. chrysogenum* при введении данного

оксида повышалась в темноте и не изменялась при действии света. Достоверное снижение активности экзокаталазы наблюдалось под действием WO_3 для обоих грибов и под действием $CsTeMoO_6$ у *P. chrysogenum*.

Кроме грибов *A. niger* и *P. chrysogenum*, в деструкции полимерных материалов участвуют и другие микромицеты в т.ч. *P. cyclopium* и *C. globosum*. Так для гриба *P. cyclopium* было показано, что активность каталазы КЖ незначительно повышалась в присутствии субмикронных частиц $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ в варианте на свету, тогда как сложный оксид $CsTeMoO_6$ значительно увеличивал активность экзокаталазы, особенно в условиях воздействия светового излучения (рисунок 39).

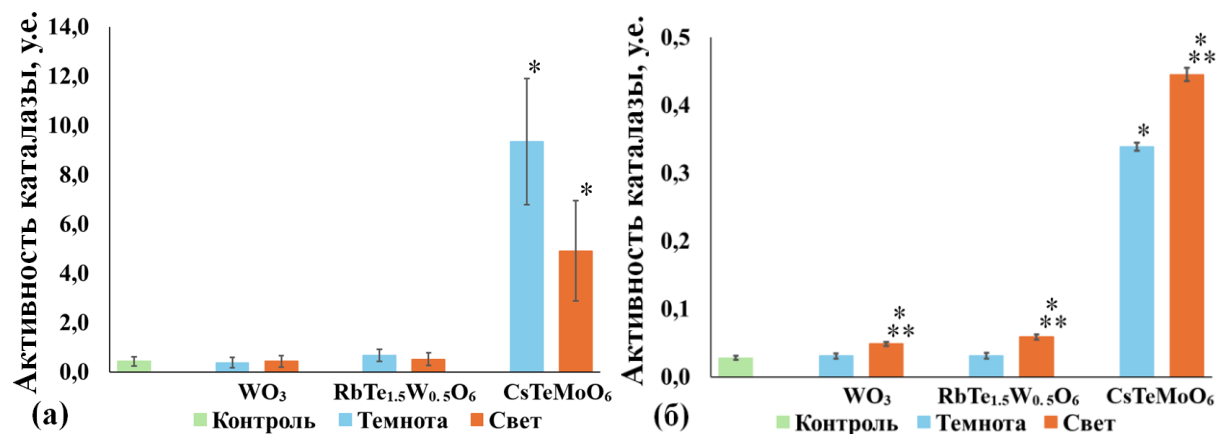


Рисунок 39. Изменение активности экзокаталазы *C. globosum* (а) и *P. cyclopium* (б) в присутствии оксидов в условиях темноты и света

Субмикронных частицы $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ не оказывали ингибирующего влияния на активность внеклеточной каталазы гриба *C. globosum* в исследуемой концентрации ни в условиях темноты, ни при воздействии светового излучения. Субмикронных частицы $CsTeMoO_6$ вызывали увеличение активности каталазы гриба *C. globosum*, как в условиях темноты, так и при воздействии света (рисунок 39).

Таким образом, воздействие субмикронных частиц исследуемых сложных оксидов тяжелых металлов на активность каталазы КЖ грибов – активных деструкторов полимерных материалов было неоднозначным. Активность экзокаталаз таких видов грибов как *A. niger*, *P. cyclopium* и *C. globosum* значительно увеличивалась при внесении в среду

культивирования соединения CsTeMoO_6 . Свет в большинстве случаев, за исключением *C. globosum*, усиливал этот эффект. Активность экзокаталазы гриба *P. chrysogenum* полностью подавлялось CsTeMoO_6 , как в условиях света, так и в условиях темноты.

Соединение $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ в большинстве случаев не оказывало или оказывало незначительное влияние на активность экзокаталазы исследуемых грибов, в частности, у *P. cyclopium* в условиях воздействия света наблюдалось увеличение активности каталазы КЖ по сравнению с контролем и с вариантом в темноте.

Сравнивая воздействие CsTeMoO_6 на разные штаммы грибов, можно отметить, что данное соединение вызывает увеличение активности экстрацеллюлярной каталазы у *A. niger*, *P. cyclopium* и *C. globosum* как в условиях темноты так и при воздействии света. Увеличение активности фермента может быть обусловлено образованием пероксида водорода в условиях освещения. Однако пероксид водорода может также образовываться и в темноте при воздействии теплового излучения (Fukina et al., 2024), а также при нарушении целостности мембран, вызванным взаимодействием с ними субмикронных частиц оксида. Каталаза культуральной жидкости *P. chrysogenum* была неактивна при культивировании с добавлением CsTeMoO_6 . Соединение $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ вызывало увеличение активности внеклеточной каталазы в темноте и на свету только в случае с грибом *P. chrysogenum*, а также в случае с *P. cyclopium* в условиях воздействия светового излучения. Активность каталазы *A. niger* и *C. globosum* не изменялась под воздействием $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$.

Неоднозначность данных соединений на активность внеклеточной каталазы грибов вышеописанных штаммов может быть обусловлена как их физиолого-биохимическими особенностями (устойчивостью ферментов и их активных центров, мембран и клеточных стенок и т.д.), так и разным механизмом действия оксидов тяжелых металлов.

3.5.2.2. Действие оксидов на активность экзопероксидазы

В настоящее время у грибов установлено наличие разнообразных пероксидаз, которые отличаются по строению и каталитическим свойствам. Эксопероксидазы грибов принимают активное участие в биоповреждении различных полимерных материалов. Для работы всех пероксидаз необходим H_2O_2 или органические перекиси в качестве субстрата-акцептора электронов. Вторым субстратом (донором) могут быть разнообразные соединения - компоненты промышленных (в т.ч. полимерных) материалов: фенолы, амины, гетероциклические соединения и другие. В качестве продукта реакции возможно формирование свободных радикалов. В связи с этим было исследовано влияние субмикронных частиц оксидов металлов на активность пероксидаз КЖ (рисунок 40).

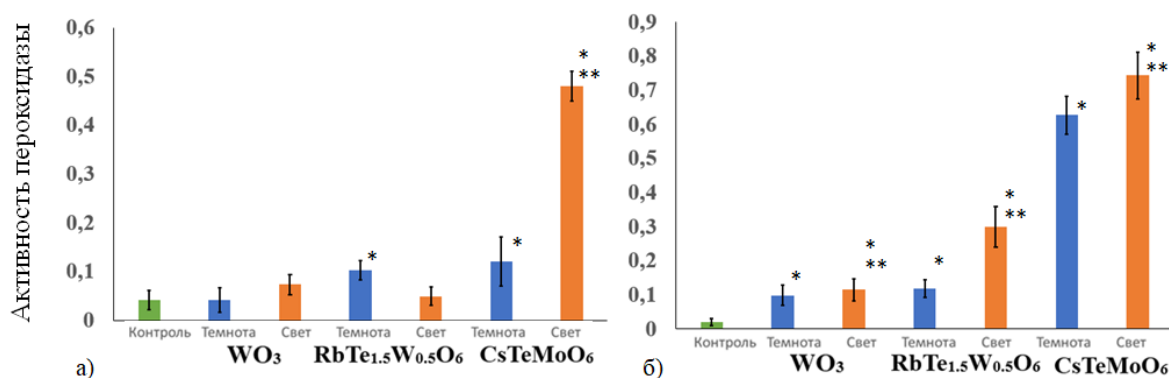


Рисунок 40. Изменение активности экзопероксидазы *A. niger* (а) и *P. chrysogenum* (б) в присутствии оксидов в условиях темноты и света

На рисунке 40 продемонстрировано влияние субмикронных частиц оксидов металлов на активность экзопероксидазы *A. niger* и *P. chrysogenum*. Показано, что соединение $CsTeMoO_6$ также как и в случае экзокаталазы, повышало активность и экзопероксидазы *A. niger*.

Однако при этом это соединение оказало практически такое же повышение активности на этот фермент и у гриба *P. chrysogenum* в отличие от практически полного снижения активности экзокаталазы под действием данного оксида у того же гриба. Это может быть обусловлено различиями строения этих двух ферментов у *P. chrysogenum*, а также различиями в стойкости систем, транспортирующих данные ферменты во внеклеточную среду.

Также продемонстрировано, что WO_3 повышал активность экзопероксидазы *A. niger*. При этом это происходило только на свету, что может быть обусловлено влиянием образующихся при фотокатализе АФК. В случае же с *P. chrysogenum* активность данного фермента повышалась как в темноте, так и в световых условиях.

Введение $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ в среду культивирования также повышало активность экзопероксидазы *A. niger*, но это происходило уже в темновых условиях, а не на свету. В случае же *P. chrysogenum* активность данного фермента повышалась, но только в темноте. А при воздействии активность фермента не изменилась. Разнонаправленность этих соединений может быть обусловлена биохимическими отличиями между этими грибами.

Также исследуемые оксиды тяжелых металлов оказывали стимулирующее действие на активность экзопероксидазы в вариантах с CsTeMoO_6 в условиях освещения для грибов *C. globosum* и *P. cyclopium*. В вариантах с WO_3 в условиях воздействия света только для гриба *C. globosum*, а в вариантах с $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ в условиях света только для гриба *P. cyclopium* (рисунок 41).

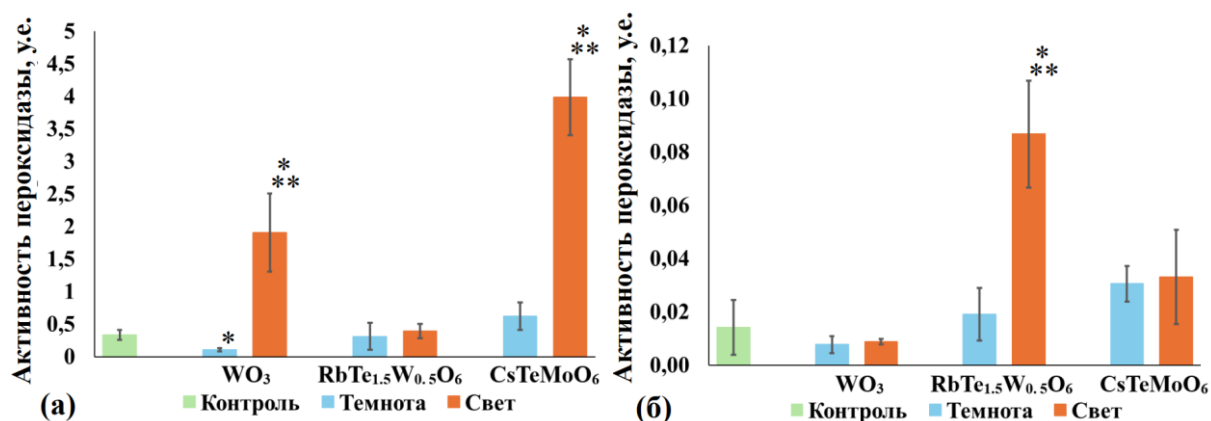


Рисунок 41. Изменение активности экзопероксидазы *C. globosum* (а) и *P. cyclopium* (б) в присутствии оксидов в условиях темноты и при воздействии света

Известно, что функция экзокаталазы и экзопероксидазы состоит в том, что они являются ферментами, участвующими в трансформации экзогенных субстратов. Например, каталазы могут разрушать гидроперекиси в различных полимерных субстратах, при этом пероксидазы, кроме того, способны

осуществлять деградацию многих других веществ, в частности широко известным примером является биодеструкция древесины из-за разрушения лигнина данными ферментами. В связи с чем могут ухудшаться некоторые их механические, физические и физико-химические свойства многих материалов. Кроме того, оба этих фермента сопряжены с пероксидом водорода, а экзокаталаза также способна нейтрализовать его избыток в окружающей среде, осуществляя, таким образом, защитную и регуляторную функцию.

Исследования показали, что не во всех наших экспериментах при введении в культуральную среду изучаемых оксидов металлов имело место ингибирование экзокаталазы и экзопероксидазы изучаемых микромицетов: значительный ингибирующий эффект наблюдался только в случае действия WO_3 на экзокаталазу *A. niger* и *P. chrysogenum* в условиях действия света, а также в случае действия $CsTeMoO_6$ на экзокаталазу *P. chrysogenum*, как в условиях действия света, так и в темноте. Во всех других случаях по сравнению с контролем активность не менялась либо в некоторых случаях увеличивалась, что связано с биологическими особенностями данных грибов, с их устойчивостью к данным биоцидным соединениям как в темноте, так и на свету. При этом стимуляция активности изучаемых ферментов может быть объяснена влиянием исследуемых оксидов металлов на сами ферменты, включая их конфигурацию и их активные центры, а также на проницаемость биомембран, работу различных транспортных систем, а также систем экспрессии различных белков, включая и указанные выше ферменты.

На данный момент, не наблюдалось значительного ингибирования активности изучаемых оксидоредуктаз (экзокаталазы и экзопероксидазы), выделяемых во внеклеточное пространство изучаемыми микромицетами в вегетативной (мицелиальной) фазе развития. На сегодняшний день не можем их предлагать в качестве биоцидных веществ для защиты промышленных материалов от вегетативного мицелия грибов-биодеструкторов, но видно, что некоторые оксиды повышали многократно активность экзокаталазы и экзопероксидазы. В дальнейшем можно исследовать более точно механизмы

влияния этих веществ на повышение активности этих ферментов с целью проверки возможности использования таких веществ в случаях, требующих повышения активности данных ферментов или повышения продукции этих ферментов микроорганизмами с последующей их очисткой и концентрированием.

3.5.2.3. Действие оксидов на активность экзофенолоксидазы

Ферменты класса оксидоредуктаз (каталазы, пероксидазы, фенолоксидазы, дегидрогеназы) принимают активное участие в разрушении фенопластов, полиэтилена, полиметилена, капрона, поликарбонатов, стеклотекстолита, фторопластов, полиакриламида, материалов, содержащих минеральные компоненты и др. Более того присутствие некоторых неорганических ионов может активировать синтез грибных фенолоксидаз. Так было показано, что фенолоксидазная активность некоторых грибов увеличивается в присутствии в среде культивирования ионов Mn^{2+} и Mn^{3+} . Также сообщается, что фенолоксидаза совмещена с работой пероксидазы (Касатова, 2011; Grzegorz et al., 2017).

В связи с этим исследовано влияние $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ и $CsTeMoO_6$ на фенолоксидазную активность некоторых грибов и результаты исследования представлены на рисунке 42.

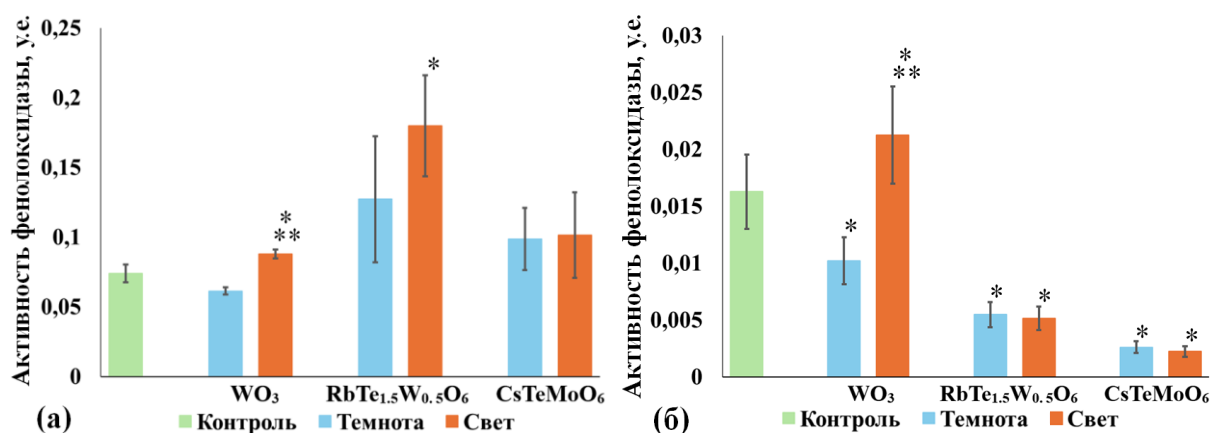


Рисунок 42. Изменение активности экзофенолоксидазы *C. globosum* (а) и *P. cyclopium* (б) в присутствии исследуемых оксидов в условиях темноты и при воздействии светового излучения

Было показано, что субмикронных частицы оксидов тяжелых металлов вызывали снижение активности внеклеточной фенолоксидазы гриба

P. cyclopium как в условиях темноты, так и при воздействии светового излучения, за исключением варианта с WO_3 в условиях освещения. В последнем случае активность фенолоксидазы не отличалась от контроля, однако была выше по сравнению с вариантом в темноте (рисунок 41). Световое излучение не оказывало ни стимулирующего, ни ингибирующего эффекта на активность экзофенолоксидазы в вариантах с $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 .

Иной эффект наблюдался в случае с влиянием исследуемых субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов на активность экзофенолоксидазы гриба *C. globosum*. В данном случае активность фенолоксидазы увеличивалась во всех вариантах экспозиции за исключением WO_3 в темноте (рисунок 42).

Также было отмечено, что воздействие светового излучения усиливает активность внеклеточной фенолоксидазы в варианте с субмикронных частицами CsTeMoO_6 .

Следует так же заметить, что изменение активности экзоферментов может быть связано с рядом причин: действием соединений на структуру и активный центр исследуемых ферментов; воздействием оксидов тяжелых металлов на механизмы синтеза фермента в клетках грибов *de novo*; транспортом эндооксидоредуктаз из клетки в среду культивирования. Выяснение детально конкретных вышеуказанных механизмов требует дополнительных исследований.

Возможность использования данных соединений в качестве средств защиты промышленных материалов от биоповреждений, вызываемых микромицетами, основанная на ингибировании экзометаболитов, участвующих в процессе биодеструкции, на наш взгляд, требует дифференцированного подхода. В основе этого подхода должны лежать знания о возможных механизмах процесса биodeградации того или иного материала (роль конкретных экзометаболитов грибов, участвующих в начальных стадиях биоразрушения). Следует обратить внимание, что факт увеличения активности грибных экзооксидоредуктаз под воздействием

оксидов тяжелых металлов может быть использован в биотехнологических процессах, связанных с наличием высокой активности исследуемых энзимов.

3.5.3. Действие оксидов на активность эндооксидоредуктаз грибов

3.5.3.1. Действие оксидов на активность эндокаталазы

Как было сказано выше, субмикронных частицы оксидов тяжелых металлов способны разрушать мембраны и вызывать окислительный стресс в том числе и за счет образования АФК в условиях воздействия светового излучения. В результате проникновения наноразмерных фракций частиц и ионов тяжелых металлов, нарушения целостности клеточных стенок и мембран, и как следствие гомеостаза клеток грибов, субмикронных частицы оксидов способны влиять на активность и внутриклеточных ферментов. В связи с этим, на данном этапе было исследовано действие субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов WO_3 , $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ и $CsTeMoO_6$ на активность внутриклеточной каталазы грибов *P. cyclopium* и *C. globosum*. Результаты исследования представлены на рисунке 43.

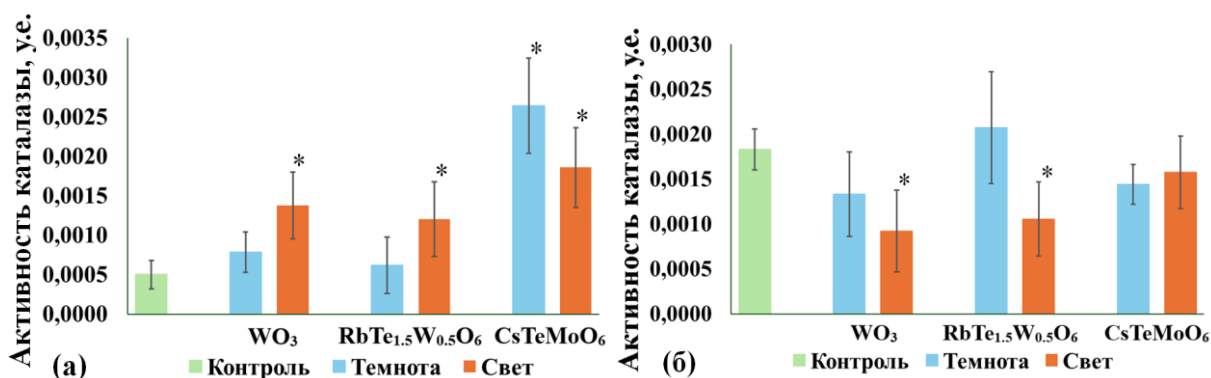


Рисунок 43. Изменение активности эндокаталазы *C. globosum* (а) и *P. cyclopium* (б) в присутствии исследуемых оксидов в условиях темноты и при воздействии светового излучения

Как показали результаты исследования, субмикронных частицы исследуемых оксидов тяжелых металлов не оказывали значительного влияния на изменение активности эндокаталазы *P. cyclopium*, за исключением вариантов с WO_3 и $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ в условиях воздействия светового излучения. Здесь наблюдалось незначительное снижение активности каталазы. Это может быть обусловлено ингибированием фермента катионами тяжёлых металлов, выходящих из субмикронных частиц, или за счет механизма их фотокатализа,

при котором образуются $\bullet\text{ОН}$ радикалы, которые способны повреждать белки, взаимодействуя с аминок группами аминокислот и т.п.

Отсутствие каких-либо существенных изменений в активности эндокаталазы *P. cyclospium* могут быть связаны с тем, что субмикронных частицы исследуемых оксидов тяжёлых металлов достаточно крупные и не способны активно проникать сквозь клеточные стенки и мембраны клеток грибов, а следовательно, и оказать ингибирующее действие на ферменты.

Виды микроскопических грибов достаточно сильно отличаются между собой по физиолого-биохимическим особенностям и устойчивости к воздействию неблагоприятных факторов (в т.ч. и химических). Поэтому иная картина наблюдалась в случае с *C. globosum*, где субмикронных частицы исследуемых оксидов металлов вызывали увеличение активности внутриклеточной каталазы в вариантах с WO_3 и $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ только в условиях воздействия светового излучения и в вариантах с CsTeMoO_6 как в темноте, так и при освещении (рисунок 43).

3.5.3.2. Действие оксидов на активность эндопероксидазы

Сложный оксид CsTeMoO_6 увеличивал активность эндопероксидазы исследуемых грибов как в условиях темноты, так и при воздействии светового излучения (рисунок 44).

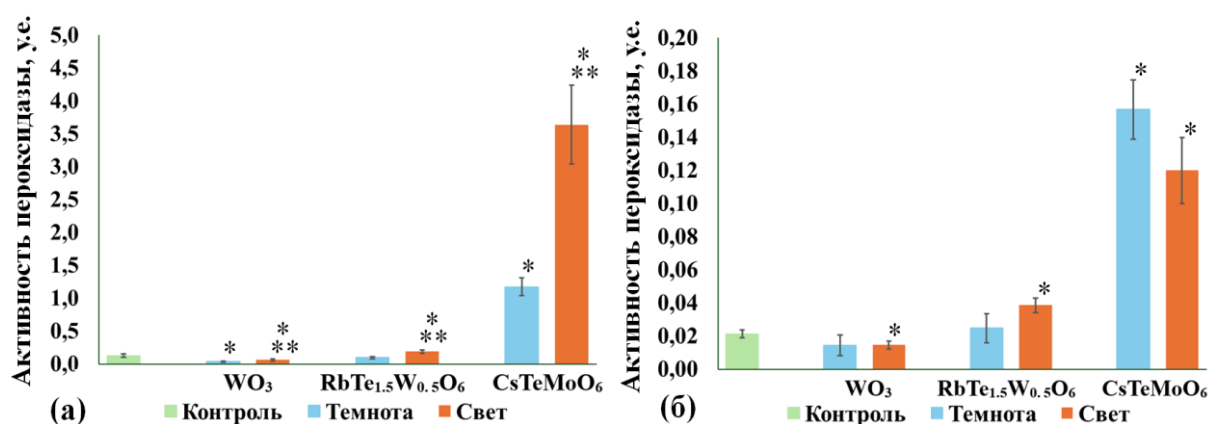


Рисунок 44. Изменение активности эндопероксидазы *C. globosum* (а) и *P. cyclospium* (б) в присутствии исследуемых оксидов в условиях темноты и при воздействии светового излучения

Пероксидазы катализируют окисление различных соединений, в том числе полифенолов, аминов, жирных кислот, цитохрома (цитохромоксидаза),

с помощью пероксида водорода (H_2O_2). Участвуют дыхании, энергетическом обмене, трансформации пероксидов и чужеродных организму веществ (ксенобиотиков). Увеличение активности внутриклеточной пероксидазы может быть связано со способностью $CsTeMoO_6$ образовывать пероксид водорода.

3.5.3.3. Действие оксидов на активность эндофенолоксидазы

Помимо участия в процессах биодegradации полимерных материалов, фенолоксидазы играют важную роль на начальных стадиях процесса меланизации. Они катализируют гидроксилирование монофенолов (тирозина) до дифенолов и окисление дифенолов до дихинонов. Хиноны неферментативно изменяют свою структуру на дофахроме, а затем дофахромизомераза превращает дофахром в индол. На заключительном этапе процесса меланин образуется путем окисления и полимеризации. Меланин является темноокрашенным пигментом и защищает микроорганизмы от воздействия неблагоприятных факторов внешней среды (Apte et al., 2013; Bayry et al., 2014; Claudia et al., 2017; Radames et al., 2017; Selbmann et al., 2015).

В связи с этим оценивали влияние субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов на активность фенолоксидаз грибов *P. cyclospium* и *C. globosum*. Результаты исследования представлены на рисунке 45.

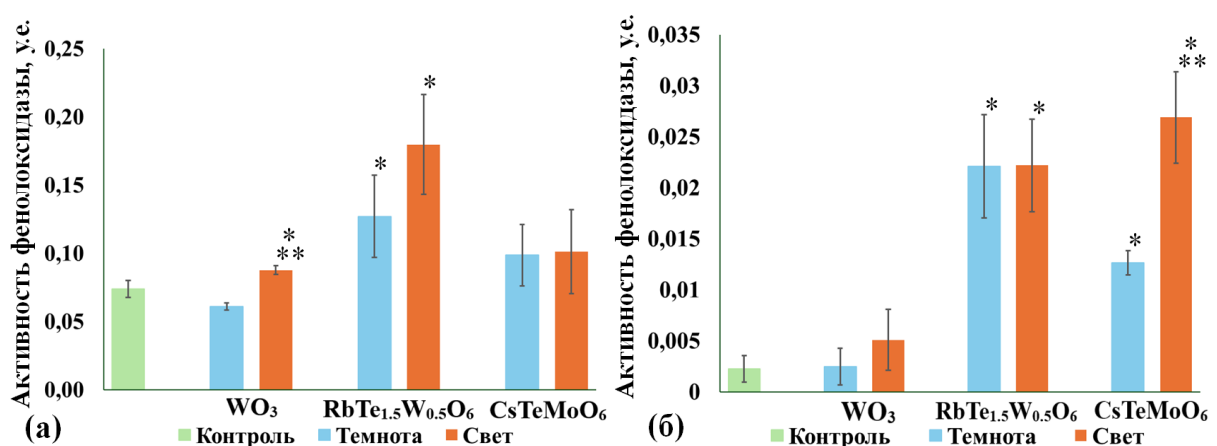


Рисунок 45. Изменение активности эндофенолоксидазы *P. cyclospium* (б) и *C. globosum* (а) в присутствии исследуемых оксидов в условиях темноты и при воздействии светового излучения

Активность эндофенолоксидазы *P. cyclospium* увеличивалась в присутствии субмикронных частиц $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ и $CsTeMoO_6$, тогда как WO_3

не оказывал влияния ни в условиях темноты, ни на свету. Свет усиливал активность фенолоксидазы только в случае с CsTeMoO_6 .

Активность эндофенолоксидазы гриба *C. globosum* под воздействием исследуемых субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов также увеличивалась только в случае с $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$, в темноте и на свету (рисунке 45), однако свет не оказывал значительного воздействия.

Эффект усиления активности фенолоксидазной активности исследуемых грибов как на свету, так и в темноте, может быть связан тем, что данный фермент участвует в синтезе тёмных пигментов меланинов, которые локализуются в клеточных стенках гриба и защищают его от воздействия субмикронных частиц оксидов металлов и ионов металлов, входящих в их состав. Меланизацию мицелия гриба *P. cyclopium* под воздействием оксидов металлов можно наблюдать на рисунке 46.

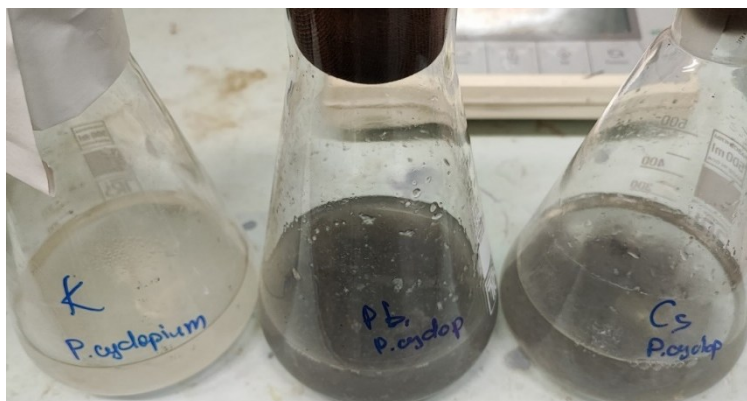


Рисунок 46. Внешний вид мицелия гриба *P. cyclopium* на неагаризованной питательной среде Чапека-Докса, K- контроль, без оксидов; Rb - $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и Cs – CsTeMoO_6

Таким образом, необходимо отметить, что анализ результатов воздействия исследуемых субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 на активность экзо- и эндооксидоредуктаз показал неоднозначность воздействия субмикронных частиц на изменение активности ферментов грибов как в темноте, так и в условиях воздействия светового излучения.

Изменение активности ферментов может происходить по двум причинам. Во-первых, из-за воздействия субмикронных частиц оксидов тяжёлых металлов на активный центр ферментов. Во-вторых, из-за влияния

оксидов на экспрессию генов, в результате чего может остановиться синтез определённых ферментов.

В отличие от наночастиц оксидов тяжелых металлов, обладающих значительной проникающей способностью, исследуемые субмикронных частицы во многом не способны проникать внутрь клеток в достаточном количестве, чтобы в значительной степени влиять на активность ферментов.

3.5.3. Влияние $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 на образование меланинов грибов–деструкторов полимерных материалов

Известно, что важнейшей особенностью живых организмов, в т.ч. и грибов, является поддержание в клетке окислительно-восстановительного гомеостаза антиоксидантной и прооксидантной системой. Одним из компонентов антиоксидантной системы является меланин (Ito and Wakamatsu, 2003).

Меланины – это темноокрашенные пигменты, локализующиеся в клеточной стенке, которые выполняют в клетках грибах различные функции, участвуют в фотозащите, сборе энергии и терморегуляции и т.д. Защитная функция меланина является основной, так как данный пигмент защищает клетки гриба от воздействия различных химических, механических и физических факторов: связывает свободные радикалы и АФК, ионы металлов и наночастицы, различные химические соединения, тем самым препятствуя их попаданию внутрь клеток (Belozerskaya et al., 2017; Cunha et al., 2010; Eisenman et al., 2005; Eisenman and Casadevall, 2012; Garcia-Rubio et al., 2020; Kejzar et al., 2013; Mattoon et al., 2022; Pihet et al., 2019; Toledo et al., 2017).

Меланин позволяет плесневым грибам приспосабливаться к самым экстремальным условиям окружающей среды с помощью различных физиолого-биохимических механизмов. Поэтому, в последнее время, меланину грибов уделяется особое внимание, так как данный пигмент используется в медицине, в качестве антиоксидантов, легкой промышленности как красители, в электронике (создание нового поколения транзисторов), меланин также может играть важную роль в поглощении радиоактивных

отходов ядерной промышленности и в качестве продукта для биоремедиации почв и воды, загрязненных радионуклидами и тяжелыми металлами (Choi, 2021; Cordero and Casadevall, 2017; Jacobson et al., 1995; Langfelder et al., 2003; Lin et al., 2020; Liu et al., 2021; Lopusiewicz et al., 2021; Pombeiro-Sponchiado et al., 2017).

В связи с этим, на данном этапе было исследовано влияние субмикронных частиц на образование меланина грибами *C. globosum* и *P. cyclospium* и проведен качественный и количественный анализ (рисунки 47 и 48).

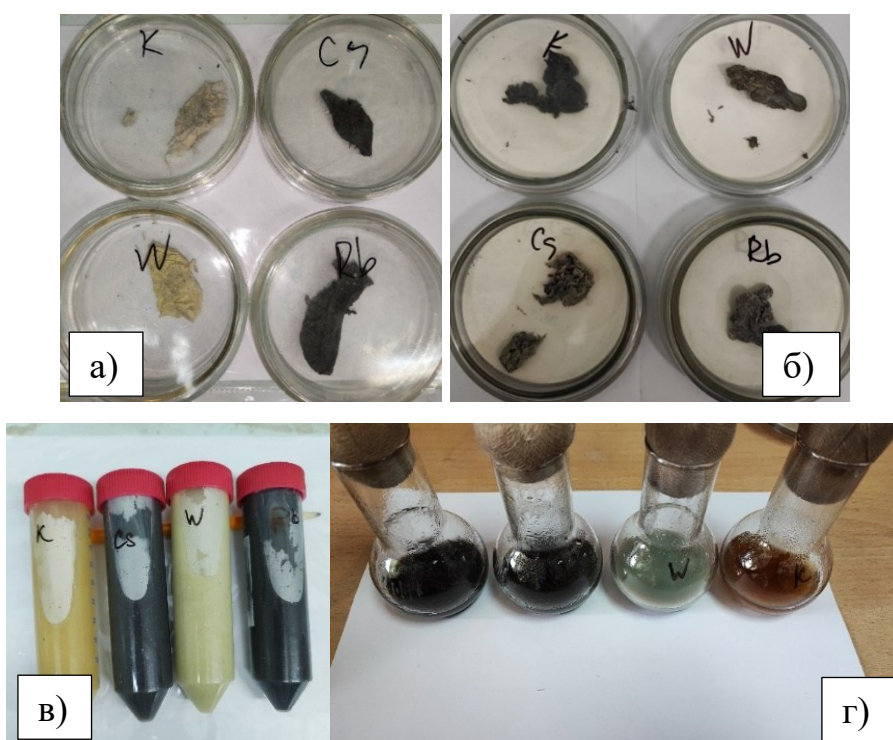


Рисунок 47. Мицелий грибов *P. cyclospium* (а) и *C. globosum* (б), после культивирования с оксидами металлов (W) WO₃, (Rb) RbTe_{1.5}W_{0.5}O₆ и (Cs) CsTeMoO₆ на 23 сутки; К – контроль (без оксидов), полученный экстракт из мицелия грибов (в, г)

Рисунок 47 (а) иллюстрирует, что в присутствии субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов в среде культивирования мицелий гриба *P. cyclospium* приобретает темное окрашивание, что свидетельствует о меланизации клеточных стенок. Для гриба *C. globosum* окрас мицелия при культивировании на питательной среде с добавлением оксидов не отличался от контроля (рисунок 47 б).

Меланины характеризуются особыми спектрами поглощения в УФ

области. УФ-спектры поглощения всех четырех образцов меланина *P. cyclospium* представляют собой ниспадающие кривые, с максимум поглощения в диапазоне 235–250 нм (рисунок 48), что является характерным свойством грибных меланинов. Это связано с наличием в молекулах меланина сложных сопряженных структур.

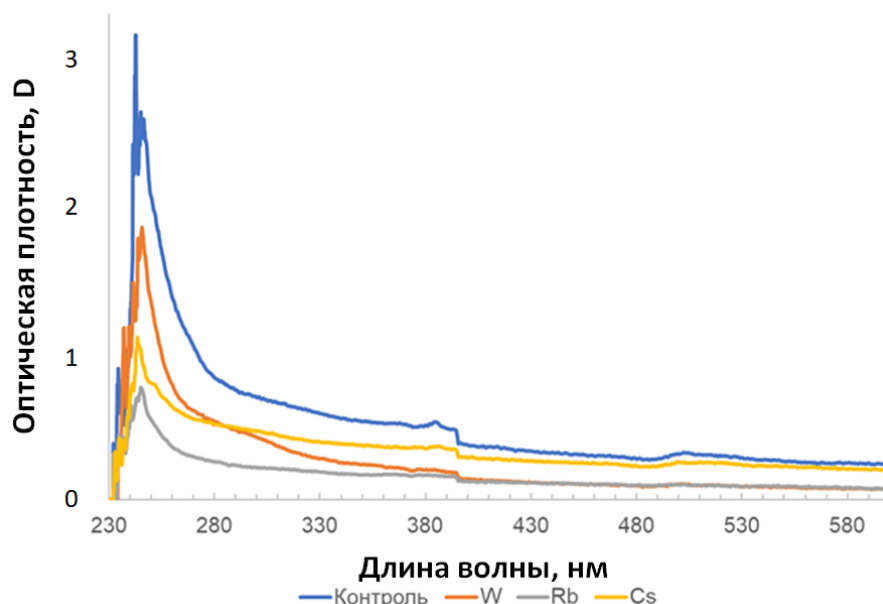


Рисунок 48. УФ-спектры поглощения меланина *P. cyclospium* с оксидами металлов (W) WO_3 , (Rb) $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и (Cs) CsTeMoO_6 ; К – контрольный образец

Отсутствие пиков поглощения при 260 нм и 280 нм указывает на то, что содержание нуклеиновых кислот и белковых примесей было минимальным.

Соответствие данного продукта меланину было также подтверждено качественными реакциями:

1. При добавлении 3% раствора перекиси водорода растворы пигментных препаратов в 1N NaOH окислялись и обесцвечивались в течение суток.
2. При добавлении перманганата калия окраска растворов пигментных препаратов изменялась с черно-коричневой на зеленую, а затем происходило обесцвечивание раствора и выпадение осадка.
3. При добавлении к растворам пигментных препаратов в 1N NaOH хлорида железа (III) в концентрации 0,5-1,0 мг/мл происходило выпадение

хлопьевидного осадка, который растворялся при добавлении избытка хлорида железа.

Щелочная экстракция меланина из мицелия грибов показала следующий его выход в пересчете на 1 л культуральной среды (таблица 4).

Таблица 4

Содержание меланина в мицелии грибов при культивировании на питательной среде Чапека с оксидами металлов в концентрации частиц 1 мг/мл на 23 сутки; К – контроль (без оксидов).

Условия культивирования	<i>P. cyclopium</i>	<i>C. globosum</i>
Контроль	$0,094 \pm 0,041$	$0,0144 \pm 0,065$
WO ₃	$0,396 \pm 0,054^*$	$1,256 \pm 0,193^*$
RbTe _{1.5} W _{0.5} O ₆	$3,482 \pm 0,3^*$	$0,716 \pm 0,196^*$
CsTeMoO ₆	$1,424 \pm 0,1^*$	$0,079 \pm 0,019^*$

Таким образом, результаты эксперимента показали, что в ответ на внесение субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов в среду культивирования в клетках гриба *P. cyclopium* и *C. globosum* происходит активация синтеза и накопления меланина.

3.5.4. Оценка влияния фотокаталитических оксидов на продукцию грибами органических кислот

В данной главе приведены результаты исследования влияния субмикронных частиц фотокаталитических оксидов на спектр и содержание органических кислот, продуцируемых *C. globosum* (Таблица 5).

Таблица 5

Содержание органических кислот в культуральной жидкости гриба *Chaetomium globosum* после культивирования на среде, содержащей фотокаталитически активные частицы оксидов тяжелых металлов в условиях света и темноты

Содержание органических кислот, мг/г сухой массы	Контроль (без частиц)	WO ₃		RbTe _{1.5} W _{0.5} O ₆		CsTeMoO ₆	
		темнота	свет	темнота	свет	темнота	свет
Щавелевая	72,25±3,61	35,05±1,75 *	43,01±2,15*	35,19±1,76*	5,62±0,30*	-	-
Винная	25,42±1,27	-	-	4,90±0,25*	-	-	-
Муравьиная	13,45±0,67	4,77±2,39*	-	4,03±0,20*	-	46,52±2,33*	-
Яблочная	65,78±3,29	19,91±1,00*	17,48±0,87*	21,26±1,06*	-	33,69±1,69*	-
Лимонная	100,56±5,03	14,40±0,72*	44,23±2,21*	23,74±1,19*	28,32±1,42*	89,57±4,48*	61,22±3,06*
Янтарная	310,21±15,51	230,57±11,53*	173,03±8,65*	174,61±8,73*	235,63±11,78*	624,1±31,21*	439,73±21,99*
Молочная	69,79±3,49	-	-	12,52±0,63*	-	-	-
Уксусная	152,67±7,63	58,48±2,92*	37,3±1,87*	37,3±1,87*	58,93±2,95*	109,35±5,47*	54,88±2,74*

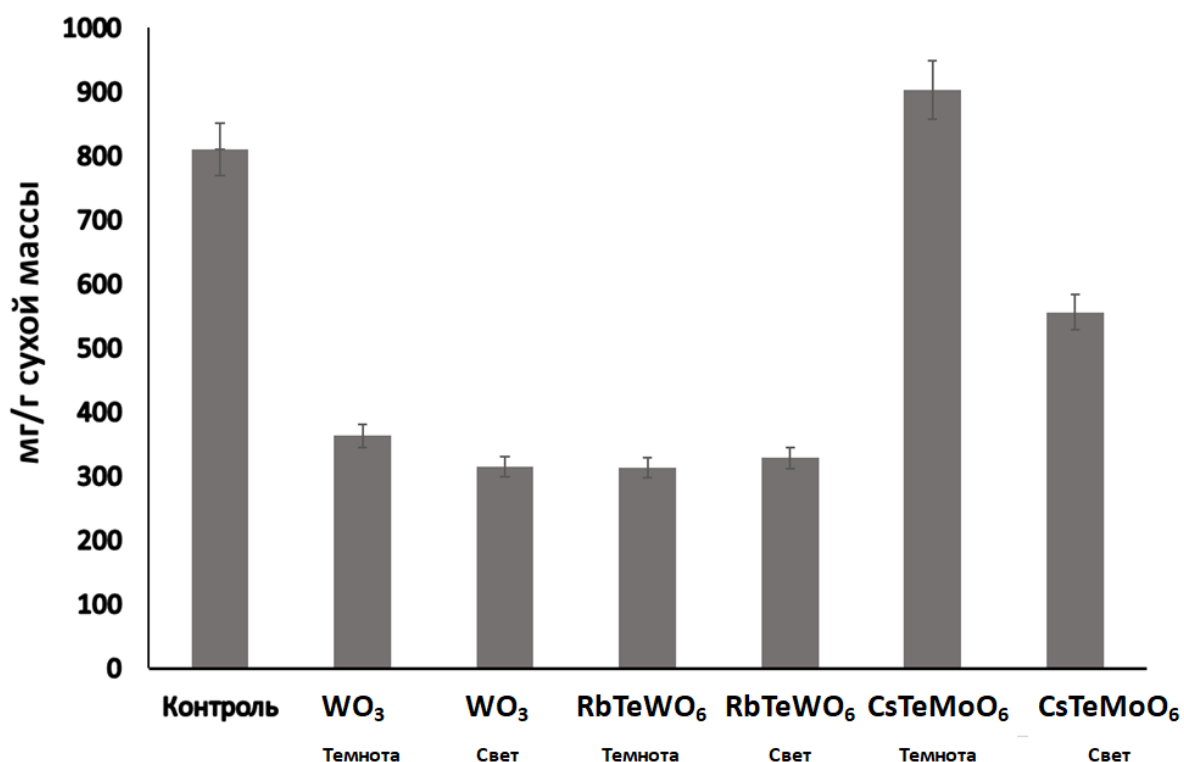


Рисунок 49. Суммарное содержание органических кислот в культуральной жидкости гриба *Chaetomium globosum* после культивирования на питательной среде, содержащей фотокаталитические оксиды под действием света и в условиях темноты (* - $p \leq 0,05$ по сравнению с контролем)

Результаты исследования показали, что *Ch. globosum* способен продуцировать широкий спектр органических кислот. Было отмечено, что среди идентифицируемых кислот наибольшая концентрация в КЖ всех исследуемых грибов наблюдалось для янтарной кислоты. Внесение в среду культивирования фотокаталитически активных оксидов тяжелых металлов оказывало влияние на содержание и спектр органических кислот в КЖ.

Показано, что субмикронные частицы фотокаталитических оксидов WO₃, CsTeMoO₆ и RbTe_{1.5}W_{0.5}O₆ в большинстве вариантов эксперимента снижали суммарное содержание органических кислот в КЖ гриба *Ch. globosum* (рисунок 49). Увеличение концентрации органических кислот наблюдалось только в КЖ, содержащей CsTeMoO₆, в условиях темноты - концентрация кислот возрастала более чем на 10% относительно контроля. Субмикронные частицы WO₃ и RbTe_{1.5}W_{0.5}O₆ в условиях воздействия света и в темноте снижали концентрацию органических кислот. При культивировании гриба на среде с CsTeMoO₆ в условиях воздействия света наблюдалось так же

снижение концентрации органических кислот, но менее выраженное по сравнению с вариантами культивирования с другими частицами.

Анализ результатов, представленных в таблице 4, показал, что в случае WO_3 и $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ происходит снижение концентрации в среде культивирования всех определяемых органических кислот. При этом в ряде случаев произошло полное ингибирование накопления отдельных органических кислот под действием частиц, например, при культивировании гриба на среде, содержащей WO_3 , как в случае воздействия света, так и в темноте винная и молочная кислоты не были обнаружены в пробах.

В варианте эксперимента с частицами CsTeMoO_6 в темноте несмотря на то, что наблюдалось снижение концентраций большинства определяемых кислот, а случае щавелевой, виной и молочной – их полное подавление, отмечено общее повышение концентрации органических кислот в среде культивирования, преимущественно, за счет увеличения концентрации янтарной кислоты.

Под воздействием света эффект подавления накопления органических кислот в среде культивирования усиливался, что может быть обусловлено фотокаталитической активностью исследуемых частиц.

Были сделаны предположения о возможных причинах повышения концентрации янтарной кислоты: культуральная жидкость была взята на анализ во время фазы замедленного роста (промежуток между фазой экспоненциального роста и стационарной фазой роста), либо в среде культивирования наблюдалось повышенное соотношение углерод/азот, а также выращивание в жидкой среде. В пользу этих причин говорит, что в контрольной пробе наблюдается сравнительно высокая концентрация лимонной и яблочной кислот, что характерно для фазы замедленного роста и повышенном соотношении углерод/азот в КЖ, что характерно для среды Чапека-Докса (Соломатов, 2001). Кроме того, что к повышению концентрации янтарной кислоты могло привести привело прямое или опосредованное (через ионы и АФК) воздействие исследуемых субмикронных частиц на ферменты

цикла Кребса, а именно на сукцинатдегидрогеназу, фермент, катализирующий реакцию превращения сукцината в фумаровую кислоту.

3.6. Исследование возможности защиты от биodeградации микромицетами ряда акриловых полимеров с помощью введения в их состав фотокаталитически активных оксидов тяжелых металлов.

Наиболее экологически целесообразно с учетом нагрузки на окружающую среду является придание полимерным материалам свойств грибостойкости, т.е. снижения аттрактивности или привлекательности к возможности использования их в качестве источников питания, углерода и энергии. В данном случае будут блокироваться те биохимические механизмы, которые гриб использует для утилизации данных полимеров т.е. при их блокировании грибы будут переходить на иные природные субстраты, а защищенный материал антропогенного происхождения не будет вовлекаться в процессы биodeградации. Тогда как в случае придания материалам фунгицидных свойств возможна гибель микромицетов, что с экологической точки зрения нежелательно, так как многие из них играют важную роль, как в процессах почвообразования, так и в деструкции природных и синтетических субстратов (Grunwald, 2010). В связи с чем, в состав акриловых полимеров были введены фотокаталитически активные сложные оксиды тяжелых металлов $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 , обладающие противогрибковой активностью по отношению к спорам и вегетативному мицелию грибов.

Так в состав ДМЭГ и ТГМ-3 были введены частицы $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 в концентрации 0,5 % от массы полимера (рисунок 50). Известно, что введение биоцидных соединений в состав полимерных материалов может повлиять на их свойства. Введение исследуемых оксидов, приводило к тому, что материал ДМЭГ становился хрупким и ломким. В связи с чем результаты исследования грибостойкости новых акриловых полимеров, модифицированных частицами оксидов металлов представлены только для ТГМ-3. После введения частиц изначально прозрачный глянцевый материал ТГМ-3 приобретает матовую поверхность и становится непрозрачным

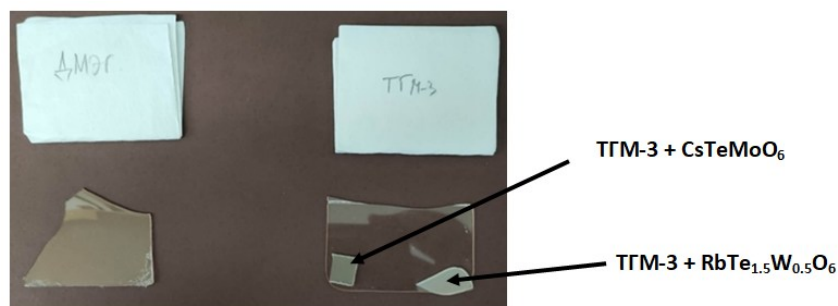


Рисунок 50. Внешний вид полученных образцов ДМЭГ и ТГМЗ, и ТГМ-3 с введенными субмикронных частицами

Введение субмикронных частиц оксидов металлов $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 , в концентрации 0,5% от массы полимера, материал ТГМ-3 не приобретает фунгицидных свойств, однако у него снижается аттрактивность полимера к использованию его в качестве источника питания микроскопическими грибами *C. globosum* и *P. cyclopium* (таблица 6).

Таблица 6

Устойчивость (в баллах) ТГМ-3, модифицированного частицами оксидов тяжелых металлов к воздействию грибов согласно ГОСТ 9.049

<i>Chaetomium globosum</i>		<i>Penicillium cyclopium</i>	
Темнота	Свет	Темнота	Свет
$\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ 0,5%			
0	0	2	1
CsTeMoO_6 0,5%			
1	0	1	0
Контроль (без оксидов)			
4	4	3	3

Также исследуемые оксиды были введены в состав и других акриловых композиций, которые широко применяются в промышленности и строительстве. В таблице 7 представлены результаты исследования по оценке устойчивости (грибостойкости) полученных композитов к действию мицелиальных грибов. В качестве тест культур грибов использовали *Aspergillus terreus*, *Fusarium moniliforme*, *Penicillium funiculosum*. Выбор этих культур обусловлен тем, что данные культуры грибов наиболее часто поражают акриловые композиции (Anikina et al., 2018).

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

Материал	Сложные оксиды	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
	$\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$	свет	3	0	2
		темнота	4	2	4
	CsTeMoO_6	свет	3	1	1
		темнота	4	1	1
Лакротэн Э-31	-	-	5	3	5
	$\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$	свет	3	0	3
		темнота	4	2	2
	CsTeMoO_6	свет	3	1	1
		темнота	4	1	1
ПММА	-	-	3	3	2
	$\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$	свет	1	0	0
		темнота	2	2	1
	CsTeMoO_6	свет	0	0	0
		темнота	2	1	0
Водоэмульсионная краска	-	-	3	3	2
	$\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$	свет	1	0	0
		темнота	2	2	1
	CsTeMoO_6	свет	0	0	0
		темнота	2	1	2

Следует отметить, что изначальная грибостойкость полимерных композиций без введенных сложных оксидов металлов была различна. Так в наибольшей степени подвержена разрушению мицелиальными грибами акриловая дисперсия Э-21, в меньшей степени – водоэмульсионная краска и ПММА. Результаты экспериментов показали, что введение в состав полимерных композиций субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов

увеличивает стойкость этих материалов по отношению к грибам, как в темноте, так и в условиях воздействия светового излучения. Кроме того, под воздействием света грибостойкость материалов увеличивалась по сравнению с вариантами эксперимента в темновых условиях (таблица 7).

Увеличение устойчивости к биodeградации микромицетами исследуемых материалов под действием света может объясняться тем, что данный фактор способен воздействуя на ОМ, обладающие фотокаталитической активностью, вызывать образование активных форм кислорода, оказывающих негативное действие на жизнедеятельность тест культур грибов.

Неоднозначность биоразрушающего действия различных видов грибов на исследуемые материалы с введенными в их состав присадками может быть связана, с физиолого-биохимическими особенностями тест-культур микроорганизмов в плане наличия у них различной резистентности по отношению к сложным оксидам тяжелых металлов, имеющим различный химический состав. Кроме того, одно и то же соединение по-разному сказывается на биостойкости различных полимерных композиций, что может быть связано с тем, что некоторые ингредиенты исследуемых полимерных композиций способны взаимодействовать с исследуемыми химическими соединениями.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что используемые в данной работе субмикронные частицы сложных оксидов тяжелых металлов $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 при добавлении в состав акриловых полимеров, способны снижать их аттрактивность по отношению к грибам деструкторам, как источников питания, что позволяет говорить о возможности использования $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 в качестве средств защиты полимерных материалов от биоповреждений вызываемых микромицетами.

Вероятно, можно предположить, что сложные оксиды тяжелых металлов могут быть использованы для предотвращения биodeградации и

других полимерных композиций. Однако, в связи с тем, что введение оксидов металлов в состав полимерных материалов способно оказывать влияние на их свойства, то необходимо проводить дополнительные исследования в конкретных областях применения подобных композитных материалов.

3.7. Антибактериальные свойства композитных материалов на основе исследуемых оксидов.

Бактерии, как и микроскопические грибы, могут быть частью сообществ микроорганизмов биодеструкторов и принимать участие в биоповреждениях различных полимерных материалов, созданных человеком. Так биоповреждениям со стороны бактерий подвергаются объекты культурного наследия, некоторые синтетические и природные полимеры, нефть и нефтепродукты, а также металлы (Горбаев, 2021; Biswas et al., 2013; DeLong et al., 2013; Olliver, 2005). Поэтому развитие бактерий на промышленных материалах также может приводить к ухудшению их физико-химических свойств и к негативному влиянию условно-патогенных штаммов на человека.

Более того, в последнее время существует серьезная и глобальная угроза роста устойчивости бактерий к антибиотикам. Поэтому поиск и разработка новых антимикробных препаратов является необходимостью. Такими новыми антимикробными химическими соединениями могут стать нано- и субмикронные частицы оксидов металлов. Различные виды микроорганизмов имеют неодинаковую устойчивость к воздействию оксидов металлов, например, грамположительные бактерии были более чувствительны к частицам ZnO , чем грамотрицательные бактерии. А НЧ оксида алюминия (Al_2O_3) и диоксида титана (TiO_2) показали положительное влияние на производство биомассы растений, стимулирование роста и, более того, TiO_2 значительно улучшил последствия негативных эффектов засоления (Gold et al., 2018; Raghunath and Perumal, 2017).

Результаты оценки антибактериальных свойств новых композитных материалов на основе фотокаталитических оксидов и ПММА, показывают

следующее. Антимикробные свойства имели только композиты, в составе которых, находились фотокаталитические оксиды $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 и $\text{CsV}_{0.625}\text{Te}_{1.375}\text{O}_6$, а свет способен усиливать их противобактериальные свойства (рисунок 51, 52).



Рисунок 51. Фотографии композитов ПММА(ПММА)/фотокаталитические оксиды

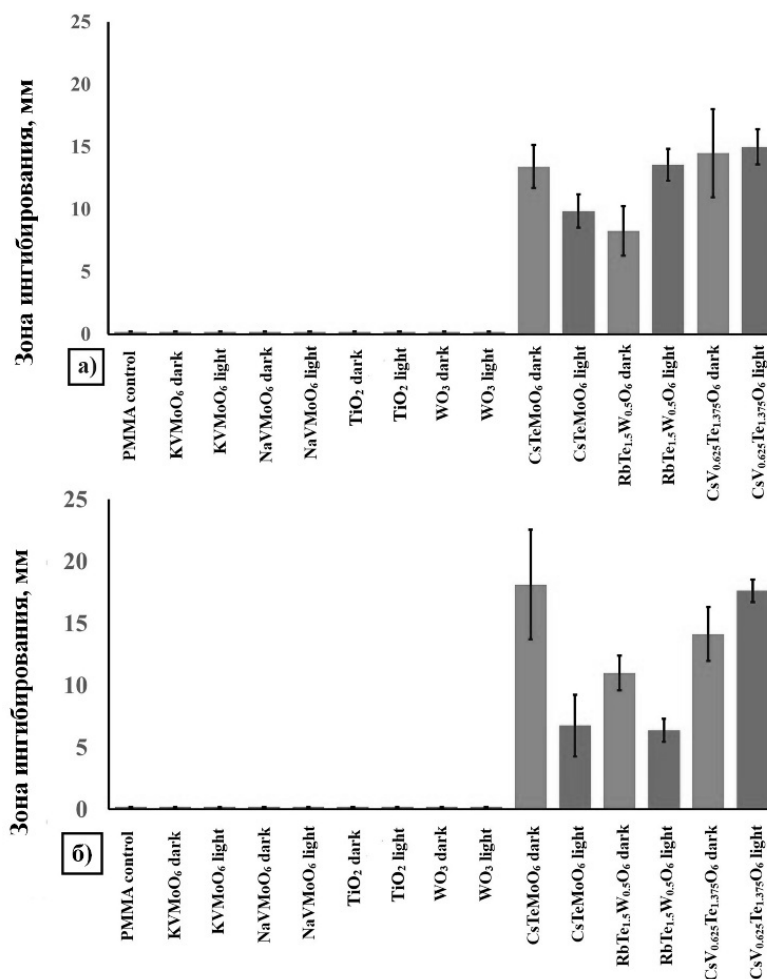


Рисунок 52. Антибактериальные свойства композитов ПММА/оксиды металлов по отношению к *Escherichia coli* (а) и *Staphylococcus aureus* (б), control – контроль, dark – темнота, light – в условиях действия света

Таким образом, подавление аттрактивности акриловых полимеров для использования их в качестве источника питания микромицетами может осуществляться за счет введения в состав материалов субмикронных частиц фотокаталитически активных сложных оксидов тяжелых металлов $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 .

Более того, введение исследуемых оксидов в состав полимерных материалов придает последним антимикробные свойства, которые усиливаются в условиях воздействия светового излучения видимого спектра. Такие композитные материалы могут найти применения в медицине, ветеринарии и быту.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты экспериментов показали, что микроскопические грибы могут использовать вновь синтезированные акриловые полимеры ДМЭГ и ТГМ-3 в качестве источников питания, т.е., данные полимеры могут вовлекаться грибами в различные трофические цепи. Были определены наиболее активные виды грибов деструкторов вышеуказанных полимеров. Степень биodeградации акриловых полимеров зависела от состава ингредиентов и пористости материалов. Процесс воздействия грибов (биоповреждение) акриловых полимеров приводит не только к разрушению поверхности полимеров, но и к деградации их внутренней структуры, что сказывается на ухудшение их физико-механических характеристик (прочности и упругости), как в условиях непосредственного роста на материалах, так и при действии на них только метаболитов грибов (имитация наличия внешних загрязнений). В качестве возможных средств защиты полимерных материалов от биоповреждений были исследованы фотокаталитически активные субмикронные частицы сложных оксидов тяжелых металлов $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 , которые при действии такого абиотического фактора как свет способны усиливать свою антимикробную активность. Экофизиологические исследования показали, что сила антимикробного действия оксидов $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 в условиях воздействия света зависела от волнового спектра, плотности светового потока, природы металлов входящих в состав исследуемых оксидов, а также от времени экспозиции и вида биологического объекта. Также было отмечено влияние света на механизмы ингибирующего действия сложных оксидов на эндо- и экзооксидоредуктазы грибов деструкторов акриловых полимеров. Действие света на исследуемые оксиды приводило к индукции последними одного из важнейшего компонента антиоксидантной системы грибов пигмента меланина. Субмикронные частицы фотокаталитически активных оксидов тяжелых металлов WO_3 , CsTeMoO_6 и $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ способны оказывать влияние на накопление органических

кислот, их спектр и концентрацию, в среде культивирования гриба *Chaetomium globosum*.

Таким образом, свет как абиотический фактор способен воздействовать на химические соединения обладающие фотокаталитической активностью, которые могут быть использованы в качестве средств защиты полимерных материалов (в том числе и акриловых) от биоповреждений. В этом случае свет оказывал регулирующее действие на антимикробную активность данных соединений и механизмы их ингибирующего действия на ряд метаболических процессов микромицетов. Экофизиологические исследования явились основой для использования оксидов тяжелых металлов в качестве средств защиты ряда акриловых композиций. Было показано, что данные соединения снижают аттрактивность полимерных композиций с точки зрения их использования в качестве источников питания микромицетами.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что новые акриловые полимеры ДМЭГ и ТГМ-3 на основе метакриловой кислоты и этиленгликоля способны использоваться микроскопическими грибами в качестве источника питания. Активными микодеструкторами данных акриловых полимерных материалов являются грибы *Aspergillus terreus*, *Chaetomium globosum*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium cyclopium* и *Trichoderma viride*.

2. Впервые показано, что одним из возможных факторов определяющим биоразлагаемость ДМЭГ и ТГМ-3 является их пористость, (количество пор и их размеры).

3. Рост грибов на исследуемых полимерных материалах ДМЭГ и ТГМ-3, а также воздействие на них только экзометаболитов приводили к ухудшению физико-механических характеристик (предела прочности на сжатие и относительного удлинения), а также структуры полимеров.

4. Установлено, что свет как абиотический фактор способен воздействовать на оксиды тяжелых металлов, усиливать и регулировать их антимикробный эффект по сравнению с условиями темноты. Степень влияния света на противогрибковый эффект зависела в значительной степени от природы металлов, входящих в состав частиц оксидов, а также волнового спектра, плотности светового потока, времени экспозиции и вида биологического объекта.

5. Субмикронные частицы сложных оксидов тяжелых металлов вызывали неоднозначное действие на активность ряда экстрацеллюлярных оксидоредуктаз микромицетов. Наблюдалось увеличение активности каталазы для гриба *Chaetomium globosum* в случае с CsTeMoO_6 (в темноте и на свету), для гриба *Penicillium cyclopium* в случае с CsTeMoO_6 (в темноте и на свету), WO_3 и $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ (только на свету). Пероксидазы для гриба *Chaetomium globosum* в случае с WO_3 в условиях света, CsTeMoO_6 (в темноте и на свету), для гриба *Penicillium cyclopium* CsTeMoO_6 (в темноте и на свету) и $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ (только на свету). Фенолоксидазы для гриба *Chaetomium*

globosum в случае с $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ (в темноте и на свету), у гриба *Penicillium cyclopium* активность фенолоксидазы снижалась во всех вариантах за исключением WO_3 в условиях освещения.

6. Также неоднозначное действие исследуемые оксиды оказали на активность эндоцеллюлярных оксидоредуктаз. Для гриба *Chaetomium globosum* отмечено увеличение активности каталазы и фенолоксидазы увеличивалась в случае с CsTeMoO_6 (в темноте и на свету), WO_3 и $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ (только на свету), пероксидазы только для CsTeMoO_6 (в темноте и на свету). Для *Penicillium cyclopium* увеличение активности пероксидазы наблюдалось в случае с CsTeMoO_6 (в темноте и на свету), фенолоксидазы в случае с $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 (в темноте и на свету). Активность каталазы гриба *Penicillium cyclopium* уменьшалась под воздействием WO_3 и $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ в условиях освещения.

7. Под воздействием субмикронных частиц исследуемых оксидов тяжелых металлов $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 наблюдалось увеличение содержание меланина в мицелии грибов *Chaetomium globosum* и *Penicillium cyclopium*.

8. Субмикронные частицы фотокаталитически активных оксидов тяжелых металлов WO_3 , CsTeMoO_6 и $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ способны оказывать влияние на накопление органических кислот, их спектр и концентрацию, в среде культивирования гриба *Chaetomium globosum*.

9. Исследованные экофизиологические характеристики грибов деструкторов акриловых полимеров: рост и развитие, активность эндо- и экзооксидоредуктаз, содержание меланина в мицелии в присутствии $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 явились теоретической основой для защиты ими полимерных композиций акрилатов, от биodeградации вызываемой микромицетами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андреева, Д.Д. Коррозионно-опасная микрофлора нефтяных месторождений / Д.Д. Андреева, Р.З. Фахрутдинов // Проблемы нефтедобычи, нефтехимии, нефтепереработки и применения нефтепродуктов. – 2013. – Т. 16, №10. – С. 237 – 242.
2. Аникина, Н.А. Влияние субмикронных частиц оксидов металлов на продукцию пероксида водорода и активность окислительных ферментов *Aspergillus niger* и *Penicillium chrysogenum* / Н.А. Аникина, Р.В. Барышков, А.Ю. Шишкин, О.Н. Смирнова, В.Ф. Смирнов // Микология и фитопатология. – 2024. – Т. 58, № 2. – С. 134 – 142.
3. Барсукова, М.Е. Основные методы и подходы к определению маркеров окислительного стресса – органических пероксидных соединений и пероксида водорода / М.Е. Барсукова, И.А. Веселова, Т.Н. Шеховцова // Журнал аналитической химии. 2019. – Т. 74. – С. 335 – 349.
4. Воробьева, Е.В. Антиокислительные свойства экстрактов Трутовика окаймлённого *Fomitopsis pinicola* в составе полиэтиленовых плёнок. // Химия растительного сырья. – 2023. – №2. – С. 143 – 151.
5. Воробьева, О.А. О специфичности действия биоцидов на микроорганизмы, вызывающие биоповреждения пористых строительных материалов / О.А. Воробьева, А.А. Павинская, А.В. Кочубейник // Биорадикалы и Антиоксиданты. – 2019. – Т. 6, №2 – С. 5 – 20.
6. Гесслер, Н.Н. Меланиновые пигменты грибов в экстремальных условиях существования / Н.Н. Гесслер, А.С. Егорова, Т.А. Белозерская // Прикладная биохимия и микробиология. – 2014. – Т. 50, № 2. С. 125 – 134.
7. Горбаев, А. В. Применение бактерий *Rhodococcus erythropolis* для получения из нефтешламов искусственного грунта технического в условиях Восточной Сибири / А. В. Горбаев // Вестник евразийской науки. – 2021. – Т. 13, №6. – С. 1 – 8.
8. Досон, Р. Справочник биохимика / Р. Досон, Д. Эллиот, У. Эллиот, К. Джонс. – М.: Мир, 1991. 554 с.

9. Егорова, А.С. Меланиновые пигменты у гриба *Raecilomyces lilacinus (thom) samson* / А.С. Егорова, Н.Н. Гесслер, Т.А. Белозерская // Доклады Академии наук. – 2011. – Т. 437, № 3. – С. 413 – 415.
10. Зарубина, Л.П. Защита зданий, сооружений, конструкций и оборудования от коррозии. Биологическая защита. Материалы, технологии, инструменты и оборудование / Л.П. Зарубина. – М.: «Инфра-Инженерия», 2015. – 224 с.
11. Ерофеев, В.Т. Защита зданий и сооружений от биоповреждений биоцидными препаратами на основе гуанидина / В.Т. Ерофеев, П.Г. Комохов, В.Ф. Смирнов [и др.]. – 2-е издание, исправленное. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская издательско-книготорговая фирма "Наука", 2010. – 192 с.
12. Ильичев, В.Д. Биоповреждения / В.Д. Ильичев, Б.В. Бочаров. – М.: Наука, 1987. – 352 с.
13. Ильичев, В.Д. Экологические основы защиты от биоповреждений / В.Д. Ильичев, Б.В. Бочаров, М.В. Горленко; отв. ред. Ю.П. Ньюша. М.: Наука, 1985. – 262 с.
14. Касатова, Е.С. Активность экзооксидоредуктаз микроскопических грибов в связи с биодеструкцией ими природных и синтетических полимеров: дис... канд. биол. наук: 03.01.04 / Елена Сергеевна Касатова. – Н. Новгород, 2011. – 120 с.
15. Крутько, Э.Т. Технология биоразлагаемых полимерных материалов / Э.Т. Крутько, Н.Р. Прокопчук, А.И. Глоба. – Минск: «Белорусский государственный технологический университет». 2014. – 106 с.
16. Кряжев, Д.В. Влияние ряда климатических факторов на жизнедеятельность микромицетов - деструкторов полимерных материалов / Д. В. Кряжев, В. Ф. Смирнов // Проблемы биоэкологии и пути их решения. Вторые Ржавитинские чтения: материалы Международной научной конференции, Саранск, 15–18 мая 2008 года / Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва; ответственный редактор: А. С. Лукаткин. – Саранск: Федеральное государственное бюджетное образовательное

учреждение высшего профессионального образования "Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва", 2008. – С. 390 – 391.

17. Кряжев, Д.В. Роль факторов климатического старения в оценке устойчивости лакокрасочных материалов наружного применения к действию микроскопических грибов / Д.В. Кряжев, В.Ф. Смирнов // Лакокрасочные материалы и их применение. – 2010. – № 3. – С. 44 – 47.

18. Кряжев, Д.В. Роль факторов климатического старения в оценке устойчивости полимерных материалов к действию микроскопических грибов / Д.В. Кряжев, В.Ф. Смирнов // Пластические массы. – 2010. – № 6. – с 46-48.

19. Кукулянская, Т.А. Структурно-функциональные особенности меланиновых пигментов некоторых микро- и макромицетов: автореф. дисс. на соиск. уч. степени канд. биол. наук. Минск, 2001. – С. 21.

20. Кяримов, И.А., Шевченко В.Д., Арушанова В.В. Свободно-радикальное окисление как фактор изменения функционального состояния белковых молекул // Повышение эффективности реализации фундаментальных научных исследований как условие долгосрочного устойчивого развития России: сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции 28 июля 2020г. - Белгород: АПНИ, 2020. – С. 5 – 10.

21. Мелешко, А.А. Антибактериальные неорганические агенты: эффективность использования многокомпонентных систем / А.А. Мелешко, А.Г. Афиногенова, Г.Е. Афиногенов, А.А. Спиридонова, В.П. Толстой // Инфекция и иммунитет. – 2020. – Т. 10, № 4. – С. 639.

22. Мочалова, А.Е. Редукционные технологии при утилизации отходов полимерных материалов / А.Е. Мочалова, В.Ф. Смирнов, В.А. Антонец, О.Н. Смирнова, Н.А. Аникина, Е.В. Маринин // Н.Новгород: Издательство Нижегородского госуниверситета им. Н.И. Лобачевского, 2016. – 123 с.

23. Огарков, Б.Н. Mycota – основа многих биотехнологий / Огарков Б.Н. – Иркутск, 2011. – 207 с.

24. Огарков, Б.Н. О специфичности действия биоцидов на микроорганизмы, вызывающие биоповреждения пористых строительных материалов / Б.Н. Огарков, Н.Е. Буковская, Г.Р. Огаркова // Известия Иркутского государственного университета. Серия: Биология. Экология. – 2013. – Т. 6., №2. – С. 144 – 152.

25. Пехташева, Е.Л. Биоповреждения и защита синтетических полимерных материалов / Е.Л. Пехташева, А.Н. Неверов, Г.Е. Заиков, О.В. Стоянов, С.Н. Русанова // Вестник Казанского технологического университета. – 2012 – Т. 15, №. 10. – С. 166 – 173.

26. Сабадаха, Е.Н. Влияние метаболитов грибов на физико-механические свойства лакокрасочных покрытий / Е.Н. Сабадаха, Н.Р. Прокопчук, И.А. Гончарова // Труды БГТУ. Серия 4: Химия и технология органических веществ. 2010. – № 4. – С. 306 – 309.

27. Смирнов, В.Ф. Агрессивные метаболиты грибов и их роль в процессе деградации материалов различного химического состава / В.Ф. Смирнов, А.С. Семичева, О.Н. Смирнова, Е.А. Захарова // Сборник матер. Конф. «Биологические проблемы экологического материаловедения». – Пенза, 1995. – С. 82 – 86.

28. Смирнов, В.Ф. Экологические и биологические аспекты деструкции промышленных материалов микроорганизмами / В.Ф. Смирнов, А.П. Веселов, А.С. Семичева, О.Н. Смирнова, Е.А. Захарова // Учебное пособие. – Н. Новгород: Нижегородский университет, 2002. – 99 с.

29. Смирнов, В.Ф. Экологические аспекты биокоррозии и повышение биостойкости строительных материалов / В.Ф. Смирнов, Д.А. Светлов, М.М. Зоткина, Д.Д. Светлов, М.Е. Бажанова, М.В. Вильдяева, Е.А. Захарова // Вестник ПГТУ. – 2021. – Т. 20, № 4. – С. 14 – 23.

30. Соломатов, В.И. Биологическое сопротивление материалов / В.И. Соломатов, В.Т. Ерофеев, В.Ф. Смирнов // Саранск: Изд-во Морд. ун-та. – 2001. – 193 с.

31. Сухаревич, В.И. Защита от биоповреждений, вызываемых грибами / В.И. Сухаревич, И.Л. Кузикова, Н.Г. Медведева //СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2009. – 207с.
32. Тюлькова, Н.А. Содержание продуктов перекисного окисления липидов, активность антиоксидантных ферментов и интенсивность световой эмиссии базидиомицета *Neonothopanus nambi* при стрессе после механического повреждения / Н.А. Тюлькова, В.С. Бондарь // СФУ. Биология. – 2022. – №3. – С. 333 – 346.
33. Челнокова, М.В. Роль пероксида водорода при бактериальной коррозии цинка / М.В. Челнокова, А.А. Калинина, Т.А. Аникина, Т.Н. Соколова, В.Р. Карташов // Труды НГТУ им. Р. Е. Алексеева. – 2012. – Т. 1, № 94. – С. 250 – 255.
34. Adams, L.K. Comparative ecotoxicity of nanoscale TiO₂, SiO₂, and ZnO water suspensions / L.K. Adams, D.Y. Lyon, P.J. Alvarez // Water Research. – 2006. – Vol. 40, № 19. – P. 3527.
35. Alejandro, L.V. In vitro Antimicrobial Activity Evaluation of Metal Oxide Nanoparticles / L.V. Alejandro, R.V. América // Nanoemulsions - Properties, Fabrications and Applications. – 2019. – №. 2. – P. 1 – 18.
36. Almansob, A. Effective treatment of resistant opportunistic fungi associated with immuno-compromised individuals using silver biosynthesized nanoparticles / A. Almansob, A.H. Bahkali, A. Albarrag // Applied Nanoscience. – 2022. – №12. – P. 3871 – 3882.
37. Anikina, N.A. Protection of construction materials based on acrylates from biodeterioration / N.A. Anikina, V.F. Smirnov, O.N. Smirnova, E.A. Zakharova // Magazine of Civil Engineering. – 2018. – № 5. – P. 116 – 124.
38. Apte, M. 3,4-dihydroxy-L-phenylalanine-derived melanin from *Yarrowia lipolytica* mediates the synthesis of silver and gold nanostructures / M. Apte, G. Girme, A. Bankar, A. RaviKumar, S. Zinjarde // Nanobiotechnology. – 2013. – Vol. 11. – № 2.

39. Banerjee, A. Enzymatic degradation of polymers: A brief review / A. Banerjee, K. Chatterjee, G. Madras // *Materials Science and Technology*. – 2014. – Vol. 30, № 5. – P. 567 – 573.
40. Bayry, J. Surface structure characterization of *Aspergillus fumigatus* conidia mutated in the melanin synthesis pathway and their human cellular immune response / J. Bayry, A. Beaussart, Y.F. Dufrene, M. Sharma, K. Bansal, O. Knemeyer, V. Aimanianda, A.A. Brakhage, S.V. Kaveri, K.J. Kwon-Chung, J.-P. Latge, A. Beauvais // *Infection and Immunity*. – 2014. – Vol. 82. – P. 3141 – 3153.
41. Belozerskaya, T.A. Melanin pigments of fungi / T.A. Belozerskaya, N.N. Gessler, A.A. Averyanov // *Fungal Metabolites*. – 2017. Vol. 8. – P. 263 – 291.
42. Bielecka-Kowalska, A. Ethylene glycol dimethacrylate and diethylene glycol dimethacrylate exhibits cytotoxic and genotoxic effect on human gingival fibroblasts via induction of reactive oxygen species / A. Bielecka-Kowalska, P. Czarny, P. Wigner, E. Synowiec, B. Kowalski, M. Szwed, R. Krupa, M. Toma, M. Drzewiecka, I. Majsterek // *Toxicology in vitro*. – 2018. – V. 47. – P. 8 – 17.
43. Biswas, J. Biodeterioration agents: Bacterial and fungal diversity dwelling in or on the pre-historic rock-paints of Kabra-pahad, India / J. Biswas, K. Sharma, K.K. Haris, R. Yogita // *Iranian journal of microbiology*. – 2013 – Vol. 5, № 3. – P. 309 – 314.
44. Bogdan, J. Nanoparticles of titanium and zinc oxides as novel agents in tumor treatment: a review / J. Bogdan, J. Pławińska-Czarnak, J. Zarzyńska // *Nanoscale Research Letters*. – 2017. – Vol. 12. – C. 225.
45. Camacho, E. The structural unit of melanin in the cell wall of the fungal pathogen *Cryptococcus neoformans* / E. Camacho, R. Vij, C. Chrissian // *Journal of Biological Chemistry*. – 2019. – V. 294, №27. – P. 10471 – 10489.
46. Chandra, R. Biodegradable Polymers / R. Chandra, R. Rustgi // *Progress in Polymer Science*. – 1998. – V. 23, № 7. – P. 1273 – 1335.
47. Choi, K.-Y. Bioprocess of Microbial Melanin Production and Isolation / K.-Y. Choi // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. – 2021. – Vol. 9. – P.1 – 12.

48. Claudia, P. Melanin is effective in protecting fast and slow growing fungi from various types of ionizing radiation / P. Claudia, A.B. Ruth, O. Silvano, L. Selbmann, I. Shuryak, E. Dadachova // *Environmental Microbiology*. – 2017. – Vol. 19, № 4. – P. 1612 – 1624
49. Cordero, R.J. Functions of fungal melanin beyond virulence / R.J. Cordero, A. Casadevall // *Fungal biology reviews*. – 2017. – Vol. 31, № 2. – P. 99 – 112.
50. Corsaro, C. Acrylate and Methacrylate Polymers' Applications: Second Life with Inexpensive and Sustainable Recycling Approaches / C. Corsaro, G. Neri, A. Santoro, E. Fazio // *Materials*. – 2021. – Vol. 15, № 1. – P. 282.
51. Craig, G. Critical evaluation of the effect of sorbitol in the ferric xylenol orange hydroperoxide assay / G. Craig, M. Janusz, A. Gebicki // *Analytical Biochemistry*. – 2000. – Vol. 284. – P. 217 – 220.
52. Cruz-Luna, A.R. A. Metal nanoparticles as novel antifungal agents for sustainable agriculture / A.R. Cruz-Luna, H. Cruz-Martínez, A. Vásquez-López // *Current Advances and Future Directions*. // *Journal of Fungi*. – 2021. – № 12. – P. 1033.
53. Cunha, M.M. Melanin in *Fonsecaea pedrosoi*: a trap for oxidative radicals / M.M. Cunha, A.J. Franzen, S.H. Seabra, H.H. Marcelo, N.V. Vugman, L.P. Borba, W. de Souza, S. Rozental // *BMC Microbiology*. – 2010. – Vol.10. – P. 80 – 89.
54. Daou, M. Glyoxal oxidases: their nature and properties / M. Daou and C.B. Faulds // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. – 2017. – Vol. 33. – P. 1 – 11.
55. Dighton, J. Fungi and ionizing radiation from radionuclides / J. Dighton, T. Tugay, N. Zhdanova // *FEMS Microbiol Letters*. – 2008. – Vol. 281, № 2. – P. 109 – 120.
56. Djurisic, A.B. Toxicity of metal oxide nanoparticles: mechanisms, characterization, and avoiding experimental artefacts / A.B. Djurisic, Y.H. Leung,

A.M.C. Ng, X.Y. Xu, P.K.H. Lee, N. Degger, and R.S.S. Wu // Small. – 2015– Vol. 11, № 1. – P. 26 – 44.

57. Dzambi, I. The effects of *Psidium guajava* leaf extract on the production of cellulases and glucose oxidases by *Aspergillus niger* / I. Dzambi and R. Mangoyi // GSC Advanced Research and Reviews. – 2020. – Vol. 05, №. 2. – P. 118 – 122.

58. DeLong, E.F. The Prokaryotes / DeLong E.F., E. Rosenberg, Lory S., Stackebrandt E., Thompson F. // Applied Bacteriology and Biotechnology. Springer Heidelberg New York Dordrecht London. – 2013. – P. 309 – 341.

59. Eisenman, H.C. Microstructure of cell wall-associated melanin in the human pathogenic fungus *Cryptococcus neoformans* / H.C. Eisenman, J.D. Nosanchuk, J.B. Webber, R.J. Emerson, T.A. Camesano, A. Casadevall // Biochemistry. – 2005. – Vol. 44. – P. 3683 – 3693.

60. Eisenman, H.C. Synthesis and assembly of fungal melanin / H.C. Eisenman, A. Casadevall // Applied Microbiology Biotechnology. – 2012. – Vol. 93. – P. 931 – 940.

61. Eisenman, H.C. Microstructure of cell wall-associated melanin in the human pathogenic fungus *Cryptococcus neoformans* / H.C. Eisenman, J.D. Nosanchuk, J.B. Webber, R.J. Emerson, T.A. Camesano, A. Casadevall // Biochemistry. – 2005. – Vol. 44. – P. 3683 – 3693.

62. Emmmler, J. Cytotoxicity of the dental composite component TEGDMA and selected metabolic by-products in human pulmonary cells / J. Emmmler, M. Seiss, H. Kreppel, F.X. Reichl, R. Hickel, K. Kehe // Dental Materials. – 2008. – Vol. 24, № 12. – P. 1670 – 1675.

63. Fukina, D.G. Crystal Structure and Photocatalytic Properties of the $\text{CsV}_{0.625}\text{Te}_{1.375}\text{O}_6$ Mixed-Valence β -Pyrochlore Compound / D.G. Fukina, V.A. Shotina, A.V. Boryakov, S.Yu. Zubkov, S.V. Telegin, N.S. Volkova, G.K. Fukin, E.V. Shilova, E.V. Suleimanov // ChemPhotoChem. – 2023. – P. E202300072 (a).

64. Fukina, D.G. Electron structure and photocatalytic properties of $(\text{Na/K})\text{VMoO}_6$ nanosuspensions / D.G. Fukina, A.V. Boryakov, S.Yu. Zubkov, S.V.

Telegin, D.N. Titaev, V.A. Shotina, E.V. Shilova, A.V. Koryagin, A.A. Zheleznova, E.V. Suleimanov // *Journal of Physics and Chemistry of Solids*. – 2024. – Vol. 187. – P. 111841.

65. Fukina, D.G. Narrow Band Gap Compounds with β -Pyrochlore Structure in the $A_2O-V_2O_{5-2}TeO_3$ ($A=Rb, Cs$) System / D.G. Fukina, V.A. Shotina, A.V. Boryakov, S.V. Telegin, N.S. Volkova, A.V. Zhizhin, A.V. Koroleva, E.V. Suleimanov // *European Journal of Inorganic Chemistry*. – 2023. – P. E202200766 (b).

66. Fukina, D.G. The role of surface and electronic structure features of the $CsTeMoO_6$ β -pyrochlore compound during the photooxidation dyes process / D.G. Fukina, A.V. Koryagin, A.V. Zhizhin, A.V. Koroleva, E.V. Suleimanov, N.S. Volkova, N.I. Kirillova // *Journal of Solid State Chemistry*. – 2022. – Vol. 308. – P. 122939 (a).

67. Fukina, D.G. The role of surface and electronic structure features of the $CsTeMoO_6$ β -pyrochlore compound during the photooxidation dyes process / D.G. Fukina, A.V. Koryagin, A.V. Koroleva, E.V. Zhizhin, E.V. Suleimanov, N. S. Volkova, N.I. Kirillova // *Journal of Solid State Chemistry*. – 2022. – Vol. 308. – C. 122939 (b).

68. Fukina, D.G. Features of the electronic structure and photocatalytic properties under visible light irradiation for $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ with β -pyrochlore structure / D.G. Fukina, A.V. Koryagin, N.S. Volkova, E.V. Suleimanov, V.V. Kuzmichev, A.V. Mitin // *Solid State Science*. – 2022. – Vol. 126. – P. 106858 (c).

69. Garcia-Rubio, R. The Fungal Cell Wall: *Candida*, *Cryptococcus*, and *Aspergillus* Species / R. Garcia-Rubio, C. de Oliveira Haroldo, J. Rivera, N. Trevijano-Contador // *Frontiers in Microbiology*. – 2020. – Vol. 10.

70. Gaytán, I. Current status on the biodegradability of acrylic polymers: microorganisms, enzymes and metabolic pathways involved / Gaytán, I., Burelo M. Loza-Tavera H. // *Applied Microbiology Biotechnology*. – 2021. – Vol. 105. – P. 991 – 1006.

71. Gold, K. Antimicrobial activity of metal and metal-oxide based nanoparticles / Gold K., Slay B., Knackstedt M., Gaharwar A.K. // *Advanced Therapeutics*. – 2018 – Vol.1, № 3. – P. 1700033.
72. Grishkan, I. Ecological Stress: melanization as a response in fungi to radiation / I. Grishkan // *Extremophiles Handbook*. – 2011. – P. 1135 – 1145.
73. Grunwald, A. Nanoparticles and Principle of Precaution / A. Grunwald // *Russian Journal of Philosophical Sciences*. – 2010. – Vol. 6. – P. 54 – 69.
74. Grzegorz, J. Lignin degradation: microorganisms, enzymes involved, genomes analysis and evolution / J. Grzegorz, A. Pawlik, J. Sulej, U. Świdorska-Burek, A. Jarosz-Wilkolazka, A. Paszczyński // *FEMS Microbiology Reviews*. – 2017. – Vol. 41, № 6. – P. 941 – 962.
75. Hammel, K. Reactive oxygen species as agents of wood decay by fungi / K. Hammel, A. Kapich, J. Kenneth, R. Zachary // *Enzyme and Microbial Technology*. – 2002. – Vol. 30. – P. 445 – 453.
76. He, L. Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum* / L. He, Y. Liu, A. Mustapha, M. Lin // *Microbiological Research*. – 2011. – Vol. 166, № 3. – P. 207 – 215.
77. Hernández-Ortega, A. Fungal aryl-alcohol oxidase: a peroxide-producing flavoenzyme involved in lignin degradation / A. Hernández-Ortega, P. Ferreira, A.T. Martínez // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2012. – Vol. 93. – P. 1395 – 1410.
78. Huang, D. Degradation of polyethylene plastic in soil and effects on microbial community composition / D. Huang, Y. Xu, F. Lei, X. Yu, Z. Ouyang, Y. Chen, H. Jia, X. Guo // *Journal of Hazardous Materials*. – 2021. – Vol. 416. – P. 126173.
79. Ibarra-Laclette, E. Antifungal Effect of Copper Nanoparticles against *Fusarium kuroshium*, an Obligate Symbiont of *Euwallacea kuroshio* / E. Ibarra-Laclette, J. Blaz, C.A. Pérez-Torres // *Ambrosia Beetle*. // *Journal of Fungi*. – 2022. № 4. – P. 347.

80. Ito, S. Quantitative analysis of eumelanin and pheomelanin in humans, mice, and other animals: a comparative review / S. Ito, K. Wakamatsu // *Pigment Cell & Melanoma Research*. – 2003. – Vol. 16, № 5. – P. 523 – 531.
81. Jacobson, E.S. Antioxidant function of melanin in black fungi / E.S. Jacobson, E. Hove, H.S. Emery // *Infection and Immunity* – 1995. – Vol. 63, № 12. – P. 4944 – 4945.
82. Jacobson, E.S. Effect of melanization upon porosity of the cryptococcal cell wall / E.S. Jacobson, R. Ikeda // *Medical Mycology*. – 2005. – Vol. 43. – P. 327 – 333.
83. Jacobson, E.S. Antioxidant function of melanin in black fungi / E.S. Jacobson, E. Hove, H.S. Emery // *Infection and Immunity*. – 1995. – Vol. 63. – P. 4944 – 4945.
84. Kaushal, J. Recent insight into enzymatic degradation of plastics prevalent in the environment: A mini-review / J. Kaushal, M. Khatri, S.K. Arya // *Cleaner Engineering and Technology*. – 2021. – Vol. 2. – P. 100083.
85. Kejzar, A. Melanin is crucial for growth of the black yeast *Hortaea werneckii* in its natural hypersaline environment / A. Kejzar, S. Gobec, A. Plemenitas, M. Lenassi // *Fungal Biology*. – 2013. – Vol. 117, № 5. – P. 368 – 379.
86. Kovylin, R.S. Amphiphilic fluorinated block-copolymer coating for the preparation of hydrophobic porous materials / R.S Kovylin, M.A. Baten'kin, T.I. Kulikova, C.G. Ermolaeva, O.G. Zamyshlyayeva, S.A. Chesnokov // *Journal of Polymer Research*. – 2018. – Vol. 25, № 9. – P. 1 – 11.
87. La Fuente, C.I.A. Biodegradable polymers: A review about biodegradation and its implications and applications / C.I.A. La Fuente, B.C. Maniglia, C.C. Tadini // *Packaging Technology and Science*. – 2023. – Vol. 36, № 2. – P. 81 – 95.
88. Lamia, K. *Aspergillus niger* is able to decolourize sepia ink contained in saline industrial wastewaters / Lamia K., Neji G. // *Desalin Water Treat.* – 2010. – Vol. 20. – P. 144 – 153.

89. Langfelder, K. Biosynthesis of fungal melanins and their importance for human pathogenic fungi / K. Langfelder, M. Streibel, B. Jahn, G. Haase, A.A. Brakhage // *Fungal Genetics and Biology*. – 2003. – Vol. 38, № 2. – P. 143 – 158.
90. Lee, K.M. Recent developments of zinc oxide based photocatalyst in water treatment technology: A review / K.M. Lee, C.W. Lai, K.S. Ngai // *Water Research*. – 2016. – Vol. 88. – P. 428 – 448.
91. Len'shina, N. Photoreduction of 9, 10-phenanthrenequinone in the presence of dimethacrylate oligomers and their polymers / N. Len'shina, M.Y. Zakharina, R. Kovylin, M. Baten'kin, T. Kulikova, M. Arsen'ev, S. Chesnokov // *High Energy Chemistry*. – 2018. – Vol. 52, № 5. – P. 378 – 383.
92. Lew, R.R. How does a hypha grow? The biophysics of pressurized growth in fungi / R.R. Lew // *Nature Reviews Microbiology*. – 2011. – Vol. 9, № 7. – P. 509 – 518.
93. Li, L. The antifungal activity and mechanism of silver nanoparticles against four pathogens causing kiwifruit post-harvest rot / L. Li, P. Hui, D. Lei // *Frontiers in Microbiology*. – 2022. – Vol. 13. – P. 988633.
94. Li, Y. Rapid kinetic microassay for catalase activity / Y. Li, H.E. Schellhorn // *Journal of Biomolecular Techniques*. – 2007. – Vol. 18, № 4. P. 185 – 187.
95. Lin, L. Fungal Pigments and Their Roles Associated with Human Health / L. Lin, J. Xu // *Journal of Fungi*. – 2020. – Vol. 6, № 2. – P. 280.
96. Liu, J. A review on bidirectional analogies between the photocatalysis and antibacterial properties of ZnO / J. Liu, Y. Wang, J. Ma, Y. Peng, A. Wang // *J. The Journal of Alloys and Compounds*. – 2019. – Vol. 783. – P. 898.
97. Liu, R. Synthesis and application of acrylate copolymer as high ink-absorption and fast drying coating agent for polyester fabric / R. Liu, Y. Sun, H. Gu, X. Zhou // *Progress in Organic Coatings*. – 2019. – Vol. 136. – P. 105298.
98. Liu, S. Fungal Melanin and the Mammalian Immune System / S. Liu, S. Youngchim, D. Zamith-Miranda, J.D. Nosanchuk // *Journal of Fungi*. – 2021. – Vol. 7, № 4. – P. 264.

99. Lopusiewicz, L. The application of melanin modified gelatin coatings for packaging and the oxidative stability of pork lard / L. Lopusiewicz, F. Jedra, A. Bartkowiak // World Scientific News. – 2018. – V. 101. – P. 108 – 119.

100. Lovász, B.V. TEGDMA (triethylene glycol dimethacrylate) induces both caspase-dependent and caspase-independent apoptotic pathways in pulp cells / B.V. Lovász, G. Berta, E. Lempel, G. Sétáló Jr, M. Vecsernyés, J. Szalma // Polymers. – 2021. – Vol. 13, № 5. – P. 699.

101. Lucas, N. Polymer biodegradation: Mechanisms and estimation techniques – A review / N. Lucas, C. Bienaime, C. Belloy, M. Queneudec, F. Silvestre, J.-E. Nava-Saucedo // Chemosphere. – 2008. – V. 73, № 4. – P. 429 – 442.

102. Mandhata, C.P. Isolation, biosynthesis and antimicrobial activity of gold nanoparticles produced with extracts of *Anabaena spiroides* / C.P. Mandhata, C.R. Sahoo, C.S. Mahanta, R.N. Padhy // Bioprocess and Biosystems Engineering. – 2021. – Vol. 44, № 8. – P. 1617 – 1626.

103. Martínez-Ruiz, A., Sucrose hydrolysis in a continuous packed-bed reactor with auto-immobilise *Aspergillus niger* biocatalyst obtained by Solid-State Fermentation / A. Martínez-Ruiz, L. Tovar-Castro, C. Aguilar, G. Saucedo-Castañeda, E. Favela-Torres // Applied Biochemistry and Biotechnology. – 2022. – Vol. 194. – P. 1327 – 1329.

104. Mattoon, E.R. Fungal Melanins and Applications in Healthcare, Bioremediation and Industry / E.R. Mattoon, R.J.B. Cordero, A. Casadevall // Journal of Fungi. – 2021. – Vol. 7, № 6. – P. 488.

105. McGraw, K.J. The antioxidant function of many animal pigments: are there consistent health benefits of sexually selected colourants? // Animal Behaviour. 2005. – Vol. 69. – P. 757 – 764.

106. Minju, S. Reactive oxygen species-independent apoptotic pathway by gold nanoparticles in *Candida albicans* / S. Minju, G.L. Dong // Microbiological Research. – 2018. – № 207. – P. 33 – 40.

107. Mitoray, D. Visible light inactivation of bacteria and fungi by modified titanium dioxide / D. Mitoray, A. Janczyk, M. Strus, H. Kisch, G. Stochel, P.B.

Heczko, W. Macyk // Photochemical and Photobiological Scienc. – 2007. – Vol. 6, № 6. – P. 642.

108. Mohanan, N. Microbial and Enzymatic Degradation of Synthetic Plastics / N. Mohanan, Z. Montazer, P.K. Sharma, D.B. Levin // Front Microbiology. – 2020. – Vol. 26, № 11. – P. 580709.

109. Mokrushnikov, P.V. A Mechanism of the Interaction of Metal Oxide Nanoparticles with Biological Membranes / P.V. Mokrushnikov // Biophysics. – 2020. – Vol. 65. – P. 63 – 67.

110. Money, N.P. Melanin synthesis is associated with changes in hyphopodial turgor, permeability, and wall rigidity in *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* / N.P. Money, T.C. Caesar-TonThat, B. Frederick, J.M. Henson // Fungal Genetics and Biology. – 1998. – Vol. 24. – P. 240 – 251.

111. Money, N.P. Turgor pressure and the mechanics of fungal penetration / N.P. Money // Canadian journal of botany. – 1995. – Vol. 73. – P. 96 – 102.

112. Mukherjee, D. Effectiveness of metal and metal oxide nanoparticles against bacterial biofilms: perspectives and limitations / D. Mukherjee, M. Sil, A. Goswami, D. Lahiri, M. Nag // Journal of Basic Microbiology. – 2023. – Vol. 63. – P. 971 – 985.

113. Nagaraja, P. Development and evaluation of kinetic spectrophotometric assays for horseradish peroxidase by catalytic coupling of paraphenylendiamine and mequinol / P. Nagaraja, A. Shivakumar, S.A. Kumar // Analytical Sciences. – 2009. – Vol. 25. – P. 1243 – 1248.

114. El-Naggar, N.E. Natural Melanin: Current Trends, and Future Approaches, with Especial Reference to Microbial Source / N.E. El-Naggar, W.I.A. Saber // Polymers. – 2022. – Vol. 14, № 7. – P. 1339.

115. Nyysola, A. Microbial degradation of polyacrylamide and the deamination product polyacrylate / A. Nyysola, J. Ahlgren // International Biodeterioration & Biodegradation. – 2019. – Vol. 139. – P. 24 – 33.

116. Olliver, B. Petroleum microbiology / B. Olliver, M. Magot. - ASM Press, USA, 2005. – 365 p.

117. Onions, A.H.S. Smith's introduction to industrial mycology / A.H.S. Onions, S. Allsop, H.O. Eggins // Lord Edn. Azn. 1981. – 401 p.

118. Parham, S. Antimicrobial Treatment of Different Metal Oxide Nanoparticles: A Critical Review / S. Parham, D.H.B. Wicaksono, S. Bagherbaigi, S.L. Lee, H. Nur // Journal of the Chinese Chemical Society. – 2016. – Vol. 63. – P. 385 – 393.

119. Patrón-Romero, L. Mitochondrial Dysfunction Induced by Zinc Oxide Nanoparticles / L. Patrón-Romero, P.A. Luque-Morales, V. Loera-Castañeda // Crystals. – 2022. – Vol. 8, №12. – P. 1089.

120. Pereira, E. Biodegradation of aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in seawater by autochthonous microorganisms / E. Pereira, A.P. Napp, S. Allebrandt, R. Barbosa, J. Reuwsaat, W. Lopes, L. Kmetzsch, C.C. Staats, A. Schrank, A. Dallegrave // International Biodeterioration & Biodegradation. – 2019. – Vol. 145. – P. 104789.

121. Pihet, M. Melanin is an essential component for the integrity of the cell wall of *Aspergillus fumigatus* conidia / M. Pihet, P. Vandeputte, G. Tronchin, G. Renier, P. Saulnier, S. Georgeault, R. Mallet, D. Chabasse, F. Symoens, J.-P. Bouchara // BMC Microbiology. – 2009. – Vol. 9. – P. 177.

122. Pombeiro-Sponchiado, S.R. Production of melanin pigment by fungi and its biotechnological applications / S.R. Pombeiro-Sponchiado, G.S. Sousa, J.C.R. Andrade, H.F. Lisboa, R.C. Gonçalves // IntechOpen. – 2017. – Vol. 30. – P. 48 – 75.

123. Popov, A.L. Photo-induced toxicity of tungsten oxide photochromic nanoparticles / A.L. Popov, N.M. Zholobak, O.I. Balko, O.B. Balko, A.B. Shcherbakov, N.R. Popova, O.S. Ivanova, A.E. Baranchikov, V.K. Ivanov // Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. – 2018. – Vol. 178. – P. 395 – 403.

124. Prakash, J. Recent Advances on Metal Oxide Based Nano-Photocatalysts as Potential Antibacterial and Antiviral Agents / J. Prakash, S.B.N. Krishna, P. Kumar, V. Kumar, K.S. Ghosh, H.C. Swart, S. Bellucci, J. Cho // Catalysts. – 2022. – Vol. 12. – P. 1047 – 1076.

125. Purvis, O.W., Bailey E., McLean J., Kasama T, Williamson B.J. Uranium biosorption by the lichen *Trapelia involuta* at a uranium mine // Geomicrobiology. – 2004. – Vol. 21. – P. 159 – 167.
126. Radames, J.B.C. Functions of fungal melanin beyond virulence / J.B.C Radames, A. Casadevall // Fungal Biology Reviews. – 2017 – Vol. 31, № 2. – P. 99 – 112.
127. Raghunath, A. Metal oxide nanoparticles as antimicrobial agents: A promise for the future / A. Raghunath, E. Perumal // International Journal of Antimicrobial Agents. – 2017. Vol. 49, № 2. – P. 137 – 152.
128. Rizzuto, R. Mitochondria as sensors and regulators of calcium signalling / R. Rizzuto, D. De Stefani, A. Raffaello, C. Mammucari // Nature Reviews Molecular Cell Biology. – 2012. – №13. – P. 566 – 578.
129. Sapna, K. Potential Environmental Effects of Engineered Antimicrobial Surfaces / Sapna K., Snigdha S., Thomas S., Radhakrishnan E., N. Kalarikkal // Chapter in Engineered Antimicrobial Surfaces. Materials Horizons: From Nature to Nanomaterials. Springer, Singapore. – 2020. – P. 135 – 163.
130. Selbmann, L. Rock black fungi: excellence in the extremes, from the Antarctic to space / L. Selbmann, L. Zucconi, D. Isola, S. Onofri // Current Genetics. – 2015. – Vol. 61. – P. 335 – 345.
131. Semenycheva, L.L. Photocatalytic Synthesis of Materials for Regenerative Medicine Using Complex Oxides with β -pyrochlore Structure / L.L. Semenycheva, V.O. Chasova, D.G. Fukina, A.V. Koryagin, A.S. Belousov, N.B. Valetova, E.V. Suleimanov // Life. – 2023.– Vol. 13, № 2. – P. 352.
132. Semenycheva, L.L., Smirnov V.F., Smirnova O.N., Shishkin A.Yu., Anikina N.A., Fukina D.G., Koryagin A.V., Suleimanov E.V. Antimicrobial Effect of Submicron Complex Oxide Particles CsTeMoO₆ under Visible Light // Applied Sciences (Switzerland). – 2024. – Vol. 2, № 14. – P. 889.
133. Serov, D.A. Review of the Antibacterial, Fungicidal and Antiviral Properties of Selenium Nanoparticles / D.A. Serov, V.V. Khabatova, V.A. Vodeneev // Materials. – 2023. – №16. – P. 5363.

134. Sharmin, S. Nanoparticles as antimicrobial and antiviral agents: A literature-based perspective study / S. Sharmin, M. Rahaman, C. Sarkar // *Heliyon*. – 2021. – Vol. 7, №3. – P. 9.

135. Shuryak, I. Mathematical modeling predicts enhanced growth of X-rayirradiated pigmented fungi / I. Shuryak, R.A. Bryan, J.D. Nosanchuk, E. Dadachova // *PLoS One*. – 2004. – Vol. 9. – P. 855 – 861.

136. Sirelkhatim, A. Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism / A. Sirelkhatim, S. Mahmud, A. Seeni, N.H.M. Kaus, L.C. Ann, S.K.M. Bakhori, H. Hasan, D. Mohamad // *Nano-Micro Letters*. – 2015 – Vol. 7. – P. 219 – 242.

137. Sivan, A. New perspectives in plastic biodegradation / A. Sivan // *Current Opinion in Biotechnology*. – 2011. – Vol. 22, № 3. – P. 422 – 426.

138. Smirnov, V.F. Effect of Light on the Antifungal Activity of Submicron Particles Based on Tungsten Oxide / V.F. Smirnov, O.N. Smirnova, A.Yu. Shishkin, N.A. Anikina, D.G. Fukina, A.V. Koryagin, E.V. Suleimanov // *Nanotechnologies in Russia*. – 2022.– V. 17, № 3. – P. 444 – 456.

139. Smirnov, V.F. Increasing the Effectiveness of Selecting Bioprotective Drugs to Protect Materials from Bio-Damage / V.F. Smirnov, D. Svetlov, N.A. Anikina, I. Erofeeva, S. Al. Dulaimi, N. Letkina // *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. – 2021. – Vol. 5, № 1079. – P. 052064.

140. Smirnov, V.F. Study of the Antimicrobial Activity of Submicron Particles of Metal Oxides Based on Tungsten Under Light and Dark Exposure Conditions / V.F. Smirnov, A.Yu. Shishkin, O.N. Smirnova, D.G. Fukina, A.V. Koryagin, E.V. Suleimanov // *Nanobiotechnology Reports*. – 2022. – Vol. 17, № 2. – P. 235 – 243.

141. Srikanth, M. Biodegradation of plastic polymers by fungi: a brief review / M. Srikanth, T.S.R.S. Sandeep, K. Sucharitha, S. Godi // *Bioresources and Bioprocessing*. – 2022. – Vol. 9. – P. 42.

142. Stanislawski, L. TEGDMA-induced toxicity in human fibroblasts is associated with early and drastic glutathione depletion with subsequent production

of oxygen reactive species / L. Stanislawski, M. Lefeuvre, K. Bourd, E. Soheili-Majd, M. Goldberg, A. Périanin // Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials. – 2003. – Vol. 66, № 3 – P. 476 – 482.

143. Stawski, D. Antibacterial properties of poly (N, N-dimethylaminoethyl methacrylate) obtained at different initiator concentrations in solution polymerization / D. Stawski, K. Rolińska, D. Zielińska, P. Sahariah, M.Á. Hjalmsdóttir, M. Másson // Royal Society Open Science. – 2022. – Vol. 9, № 1. – P. 211367.

144. Sutherland, G.R.J. Biodegradation of crosslinked acrylic polymers by a white-rot fungus / G.R.J. Sutherland, J. Haselbach, S.D. Aust // Environmental Science and Pollution Research. – 1997. – Vol. 4. – P. 16 – 20.

145. Thabet, S. Impact of Photocatalysis on Fungal Cells: Depiction of Cellular and Molecular Effects on *Saccharomyces cerevisiae* / S. Thabet, F. Simonet, M. Lemaire, C. Guillard, P. Cotton // Applied Environmental Microbiology. – 2014. – Vol. 80, № 24. – P. 642.

146. Toledo, A.V. Melanins in fungi: Types, localization and putative biological roles / A.V. Toledo, M.E.F. Ernesto, S.M.Y. Lopez, M.I. Troncozo, M.C.N. Saparrat, P.A. Balatti // Physiological and Molecular Plant Pathology. – 2017. – Vol. 99. – P. 2 – 6.

147. Turick, C.E. In situ uranium stabilization by microbial metabolites / C.E. Turick, A.S. Knox, C.L. Leverette, Y.G. Kritzas // Journal of environmental radioactivity. – 2008. – Vol. 99, № 6. – P. 890 – 899.

148. Umar, A. A Review of the Properties and Applications of Poly (Methyl Methacrylate) (PMMA) / A. Umar, J.Bt. Abd K. Khairil, B. Nor Aziah // Polymer Reviews. – 2015. – Vol. 55, № 4. – P. 678 – 705.

149. Van Dong, P. Chemical synthesis and antibacterial activity of novel-shaped silver nanoparticles / P. Van Dong, C.H. Ha, L.T. Binh, K. Jörn // International Nano Letters. – 2012. – Vol. 2, № 9.

150. Vert, M. Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC) / M. Vert, Y. Doi, K.-H. Hellwich, M. Hess, P. Hodge, P. Kubisa, M. Rinaudo, F. Schué // *Pure and Applied Chemistry*. – 2012. – Vol. 84, № 2. – P. 377 – 410.

151. Wahab, S. Metallic Nanoparticles: A Promising Arsenal against Antimicrobial Resistance—Unraveling Mechanisms and Enhancing Medication Efficacy / S. Wahab, A. Salman, Z. Khan // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – №19. – P. 14897.

152. Yael, N.S. Mechanisms of Antifungal Properties of Metal Nanoparticles / N.S. Yael, B. Horacio // *Nanomaterials*. – 2022. – Vol. 12, №24. – P. 4470.

153. Yamamoto, O. Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide/ O. Yamamoto // *International Journal of Inorganic Materials*. – 2001. – Vol. 3, № 7. – P. 643 – 646.

154. Yang, Y. Structural Insights into Enzymatic Degradation of Oxidized Polyvinyl Alcohol / Y. Yang, T.-P. Ko, L. Liu, J. Li, C.-H. Huang, H.-C. Chan, F. Ren, D. Jia, A.H.J. Wang, R.-T. Guo, J. Chen, G. Du // *ChemBioChem*. – 2014. – Vol.15. – P. 1882 – 1886.

155. Zakharova, O.V. Photocatalytically Active Zinc Oxide and Titanium Dioxide Nanoparticles in Clonal Micropropagation of Plants: Prospects / O.V. Zakharova, A.A. Gusev // *Nanotechnology Russia*. – 2019. – Vol. 14. – P. 311 – 324.

156. Zhang, J. Guttation capsules containing hydrogen peroxide: an evolutionarily conserved NADPH oxidase gains a role in wars between related fungi / J. Zhang, Y. Miao, M.J. Rahimi, H. Zhu, A. Steindorff, S. Schiessler, F. Cai, G. Pang, K. Chenthamara, Xu Y., C.P. Kubicek, Q. Shen, I.S. Druzhinina // *Environmental microbiology*. – 2019. – Vol. 21. – P. 2644 – 2658.

157. Zhanquan, Z. Reactive oxygen species: A generalist in regulating development and pathogenicity of phytopathogenic fungi / Z. Zhanquan, C. Yong, L. Boqiang, C. Tong, T. Shiping // *Computational and Structural Biotechnology Journal*. – 2020. – Vol. 18. – P. 3344 – 3349.

158. Zhdanova, N.N. The interaction of soil micromycetes with “hot” particles in a model system / N.N. Zhdanova, T.N. Lashko, T.I. Redchits, A.I. Vasilevskaia, L.G. Borisiuk, O.I. Siniavskaia, V.I. Gavriiliuk, P.N. Muzalev // Mikrobiology. – 1991. – № 53. – P. 9 – 17.

159. Zhdanova, N.N. Destruction of radioactive particles by strains of *Cladosporium cladosporoides* (FRES.) de Vries / N.N. Zhdanova, T.I. Redchits, T.N. Lashko, V.A. Zheltonozhskii, L.V. Sadovnikov // Mikrobiology. – 2002. – № 64. – P. 47 – 56.