

УДК 58

ФУНГІЦИДНА ДІЯ СРІБЛА ЩОДО МІКРОМІЦЕТІВ

В. С. Лупеко¹, М. М. Саприкіна², В. В. Гончарук³

¹⁻³ Інститут колоїдної хімії та хімії води імені А. В. Думанського НАН України, бульв. акад. Вернадського, 42, Київ, Україна

Забезпечення населення якісною питною водою є актуальним питанням у наш час. Останніми дослідженнями показано широке та швидке розповсюдження мікроскопічних грибів – мікроміцетів у джерелах водопостачання та водопровідній воді [1]. Мікроскопічні гриби спричиняють захворювання, що представляють серйозну небезпеку для життя людини особливо з ослабленою імунною системою, крім того вони здатні утворювати токсини, що впливають на різні органи та системи людини [2, 3].

У різних країнах світу значну увагу приділяють техніці очистки питної води від шкідливих речовин і також від хвороботворних організмів. В продовж років широко використовують такі знезаражувальні засоби як хлор, озон, ультрафіолетові промені, нові коагулянти, флокулянти та адсорбенти. Однак, як показали наші дослідження на мікроміцети вказані засоби не впливають [1].

Тому значної уваги заслуговують дослідження фунгіцидної дії срібла. Відомо, що срібло володіє широким спектром антимікробної дії, пригнічуючи як грамнегативні, так і грампозитивні мікроорганізми та віруси, а також володіє цінною властивістю консервувати воду на довгий час.

Метою даної роботи є дослідження фунгіцидної активності срібла щодо мікроміцетів на прикладі *Candida albicans* та *Aspergillus niger*.

Культуру дріжджоподібного гриба *Candida albicans* отримано з колекції Державного НДІ стандартизації та контролю біологічних препаратів ім. Л.А. Тарасевича (м. Москва). *Aspergillus niger* виділено з водопровідної води. Оптичну густину робочої суспензії *Candida albicans*, приготованої з 48 годинної бульйонної культури, виміряно на фотоелектроколориметрі (ФЕК). Таким чином, концентрація вихідної суспензії *Candida albicans* становила $1 \cdot 10^7$ КУО/см³. Суспензію *Aspergillus niger* приготовлено з 7 денної культури гриба, що виріс на живильному середовищі Сабуро. Збір спор культури проведено з використанням стерильного шпателя та подальшим їх фільтруванням через стерильне скловолокно. Концентрація спор у суспензії грибів *Aspergillus niger* становила $1 \cdot 10^6$ КУО/см³.

Визначення фунгіцидної дії срібла проводили з робочою концентрацією культури $1 \cdot 10^4$ - $1 \cdot 10^5$ КУО/см³, внесеної у стерильну водопровідну воду. Зразки води, що контактували з дезінфектантом

та необроблені фунгіцидами зразки, поміщали на чашки Петрі та заливали живильним середовищем Сабуро з дихлораном [4]. Інкубували при температурі 27 °С протягом 24 годин та 48 годин для *C. albicans* і *A. niger*, відповідно. Після чого в кожному з вищенаведених випадків підраховували колоній утворюючі одиниці N_t – в оброблених і N_0 – у відповідних контрольних зразках. Антимікробний ефект оцінювали логарифмом відношення N_t до N_0 .

Встановлено, що знезараження води сріблом від *C. albicans* відбувається трохи більше ніж на один порядок (1,22 порядки) від п'яти вихідних при концентрації дезінфектанта 0,2 мг/дм³ та часу контакту 60 хв. Збільшення концентрації срібла призводить до незначного зростання ступеню інактивації культури. Так, при концентрації Ag^+ 0,4 мг/дм³ інактивація культури відбувається на 1,37 порядки через 60 хв контакту. Отримані дані свідчать про стійкість дріжджоподібних грибів до впливу срібла. Очевидно, фунгіцидний ефект срібла, у випадку наявності у воді грибів роду *Candida*, можна підвищити збільшивши час контакту грибів з дезінфектантом.

Виявлено підвищену стійкість *A. niger* до дії іонів Ag^+ . Так, інактивація культури міцеліального гриба при його концентрації в розчині $5 \cdot 10^4$ КУО/см³ відбувається на 0,4 порядки за концентрації срібла 0,2 мг/дм³. Зростання концентрації срібла в розчині удвічі не призводить до значного підвищення ефекту знезараження, а саме ступінь інактивації становить 0,65 порядки при концентрації Ag^+ 0,4 мг/дм³. Висока стійкість мікроміцетів очевидно викликана особливістю будови їх клітинної стінки, до складу якої входять хітин, який не розчиняється у воді, стійкий до дії розбавлених кислот, лугів, спирту та інших органічних розчинників [5].

Відомо, що інактивація мікроорганізмів сріблом відбувається за рахунок адсорбції часточок срібла на поверхні клітини [6]. Саме тому, в процесі роботи виявлено кількість срібла, що припадає на інактивовану клітину *C. albicans* та *A. niger*. Визначення срібла, адсорбованого поверхнею культури, здійснювали за порівняльним аналізом його кількості у вихідних зразках води та у зразках, отриманих після фільтрації води, що містила срібло та культуру, через відповідні нітроцелюлозні фільтри – № 4 з діаметром пор 0,45 мкм. Визначення срібла у воді здійснювали за методом, що дає змогу визначати мікрокількості срібла на рівні гранично-допустимих концентрацій (0,05 мг/дм³) і менше [7].

Розрахунок кількості іонів срібла, що припадає на інактивовану клітину, здійснювали за наступними формулами.

Кількість інактивованих колоній утворюючих одиниць (КУО) в дм³ отримано з співвідношення:

$$N_i = N_0 / N_t;$$

де N_0 – вихідна кількість культури, КУО/дм³; N_t – кількість клітин, що вижили після обробки води, КУО/дм³.

Розрахунок кількості атомів Ag здійснювали відповідно:

$$N_{Ag} = (\Delta C_{Ag} \times N_A) / M(Ag);$$

де ΔC_{Ag} – різниця концентрацій срібла до та після його фільтрації при інактивації культури, г/дм³; N_A – число Авагадро рівне $6,02214129(27) \cdot 10^{23}$, атомів×моль⁻¹; $M(Ag)$ – молярна маса срібла, г/моль.

Розрахунок кількості Ag на інактивовану клітину здійснювали відповідно до співвідношення:

$$N_{Ag/Ni} = N_{Ag} / N_i;$$

Встановлено, що інактивація $2 \cdot 10^5$ КУО/см³ культури *C. albicans* відбувається на один порядок при концентрації Ag⁺ 0,2 та 0,4 мг/дм³ через 60 хв контакту. При цьому виявлено, що кількість срібла у розчині після фільтрації дещо зменшується по відношенню до вихідного його значення. Саме цю різницю концентрацій срібла було використано нами як величину, що адсорбувалася на поверхні клітини. Слід зазначити, що в процесі експерименту враховано кількість срібла, що затримується поверхнею самого фільтра при фільтрації розчину, що не містить культуру.

Таким чином, встановлено, що для інактивації однієї клітини *C. albicans* необхідно затратити $2,75 \cdot 10^{13}$ та $2,6 \cdot 10^{14}$ атомів срібла при його вихідній концентрації у розчині 0,2 та 0,4 мг/дм³, відповідно.

Показано, що інактивація $5 \cdot 10^4$ КУО/см³ *A.niger* сріблом у концентрації 0,2 та 0,4 мг/дм³ відбувається на один порядок, при цьому витрачається $2,0 \cdot 10^{13}$ та $2,4 \cdot 10^{13}$ атомів срібла на одну клітину культури

Таким чином, знезараження води сріблом потребує подальших досліджень оскільки має певний фунгіцидний ефект, що залежить від часу контакту культури з дезінфектантом. Установки, що дозуватимуть срібло можуть бути використані при інактивації мікроміцетів на місці споживання води.

Література

1. Микромицеты в источниках водоснабжения и водопроводной воде / В. В. Гончарук, А. В. Руденко, О. С. Савлук, М. Н. Сапрыкина // Вода: гігієна та екологія. – 2013. – № 2(1). – С. 34–48.
2. Emerging systemic fungal infections / R. Galimberti, A. Clara Torre, M. Carolina Baztan, F. Rodriguez-Chiappetta // Clinics in Dermatology. – 2012. – Vol. 30. – P. 633–650.
3. Елинов Н.П. *Candida* species и кандидемии. состояние проблемы (Обзор) / Н. П. Елинов // [Електронний ресурс]: – Режим доступу до журн:
<http://www.rusmedserv.com/mycology/html/kandidoz5.htm>.

«БІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ – 2014»: Збірник наукових праць V Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених і студентів. – Житомир: Вид-во ЖДУ ім. І.Франка, 2014. – С.416-419.

4. Пат. 92088. Спосіб виявлення мікроміцетів у воді / Гончарук В. В., Руденко А. В., Савлук О. С., Саприкіна М. М., Потапченко Н. Г., Косінова В. М. – Опубл. 27.09.2010, Бюл. № 18.

5. Клеточная стенка грибов [Електронний ресурс]: – Режим доступу до журн. – <http://ru.wikipedia.org>.

6. Дія нанорозчинів срібла на мікробну клітину [Електронний ресурс]: – Режим доступу до журн: <http://www.sworld.com.ua>.

7. ДСТУ 7151:2010 ЯКІСТЬ води. Визначення масової концентрації срібла експресним безекстракційним фотометричним методом. – Київ. – 2010. – С. 10.