

УДК 579.22 + 544.478.42

ВЛИЯНИЕ СУБМИКРОННЫХ ЧАСТИЦ ОКСИДОВ МЕТАЛЛОВ НА ПРОДУКЦИЮ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА И АКТИВНОСТЬ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ *ASPERGILLUS NIGER* И *PENICILLIUM CHRYSOGENUM*

© 2024 г. Н. А. Аникина^{1,*}, Р. В. Барышков^{1,**}, А. Ю. Шишкин^{1,***},
О. Н. Смирнова^{1,****}, В. Ф. Смирнов^{1,*****}

¹ Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, 603022

Ниžний Новгород, Россия

*e-mail: undinaf@gmail.com

**e-mail: romanbariskov1000@mail.ru

***e-mail: uandshi@yandex.ru

****e-mail: protectfun@mail.ru

*****e-mail: biodeg@mail.ru

Поступила в редакцию 18.11.2023 г.

После доработки 15.12.2023 г.

Принята к публикации 28.12.2023 г.

Исследовано действие субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов WO_3 , $CsTeMoO_6$ и $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$, обладающих фотокаталитической активностью, на содержание пероксида водорода и активность экстрацеллюлярных оксидоредуктаз (каталаза, пероксидаза) в среде культивирования грибов *Aspergillus niger* и *Penicillium chrysogenum*. Введение в среду культивирования исследуемых соединений снижало содержание H_2O_2 для обоих видов. Отмечено неоднозначное действие исследуемых соединений на активность экстрацеллюлярных каталазы и пероксидазы. В большинстве случаев данные соединения вызывали повышение активности исследуемых энзимов как в условиях действия света, так и в темноте. Достоверное снижение активности показано только для экзокаталазы обоих грибов под действием WO_3 и под действием $CsTeMoO_6$ у *P. chrysogenum*.

Ключевые слова: активность экзокаталазы и экзопероксидазы, биоцидная активность, микромицеты, оксиды тяжелых металлов, пероксид водорода

DOI: 10.31857/S0026364824020055, EDN: vpaueg

ВВЕДЕНИЕ

Многие промышленные материалы подвергаются биодegradации под воздействием различных микроорганизмов. Одним из основных агентов биодеструкции промышленных материалов являются мицелиальные грибы. В силу разнообразия их метаболических путей, лабильности ферментных систем эта группа живых организмов способна вызывать биодegradацию как природных, так и синтетических полимеров. Наиболее эффективной и распространенной формой защиты от биоповреждений является применение биоцидов. В качестве биоцидов сейчас широко используются вещества на основе оксидов металлов. Особый интерес вызывают мелкодисперсные нано- и субмикронные частицы оксидов металлов. Они способны подавлять жизнедеятельность различных микроорганизмов и используются в медицине, ветеринарии, сельском хозяйстве, а также для защиты промышленных материалов

от биоповреждений (He et al., 2011; Gunatillake et al., 2018; Veltri et al., 2019; Meleshko et al., 2020; Marin-Flores et al., 2021; Nevezhina, Fadeeva, 2021). Многие из этих соединений обладают фотокаталитической активностью, т.е. под действием света они способны образовывать активные формы кислорода (АФК) (Thabet et al., 2014; Sirelkhathim et al., 2015; Liu et al., 2020; Valenzuela et al., 2020; Riduan, Zhang, 2021). Весьма перспективным направлением является использование данных соединений для создания антимикробных полимерных композиций. Биоцидная активность фотокаталитически активных оксидов металлов зависит от множества факторов. Например, более мелкие частицы этих веществ показывают более сильную антимикробную активность. Большое влияние на это также оказывают их концентрация, форма и волновой спектр, а также виды металлов, входящих в состав оксида. Также имеют значение интенсивность излучения, специфика и особенности

биологического объекта, например, вида или штамма микромицета (Yamamoto, 2001; Kutawa et al., 2021).

Одним из недостатков, ограничивающих применение оксидов металлов в качестве антимикробных агентов, является то, что они проявляют фотокаталитическую активность в области УФ-излучения (Kathirvelu et al., 2009; Bhanvase et al., 2017). Весьма перспективным является поиск новых оксидов, проявляющих фотокаталитическую активность (т.е. обладающих антимикробным эффектом) в условиях видимого света. В этом плане в НИИ Химии ННГУ разработаны сложные оксиды на основе W, Rb и Cs, фотокаталитический эффект которых проявляется в условиях видимого света. У этих соединений показана антимикробная активность по отношению к бактериям и мицелиальным грибам в темноте и на свету, причем на свету антимикробный эффект возрастал (Smirnov et al., 2022). В настоящее время работ по изучению механизмов ингибирующего действия (как на свету, так и в темноте) исследуемых соединений на метаболизм микроорганизмов немного. Отсутствие знаний о механизмах действия данных соединений на метаболизм микромицетов-биодеструкторов сдерживает их эффективное и целенаправленное применение в качестве средств защиты промышленных материалов от биоповреждений в плане создания различных промышленных композиций, обладающих антимикробной активностью.

Известно, что процесс биоповреждений и биоразрушений промышленных материалов происходит под воздействием экзометаболитов, выделяемых микромицетами. Важную роль в процессах биодegradации играют грибные экстрацеллюлярные оксидоредуктазы (каталаза, пероксидаза), а также активные формы кислорода, в частности пероксид водорода (Veignie et al., 2004). Ранее нами исследовалась активность внеклеточных (секретируемых) оксидоредуктаз (каталазы, пероксидазы) у штамма *Aspergillus niger* van Tieghem ВКМ F-1119 при действии низкочастотного импульсного магнитного поля и низкоинтенсивного лазерного излучения. Было показано разнонаправленное действие этих факторов на активность данных ферментов (действие излучения могло как стимулировать, так и ингибировать активность вышеуказанных энзимов) (Makarov et al., 2019).

Целью настоящей работы являлось изучение влияния субмикронных частиц новых сложных оксидов металлов различного химического состава на ряд экзооксидоредуктаз (каталазы и пероксидазы) и на содержание пероксида водорода в среде культивирования грибов-биодеструкторов промышленных материалов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследований использовали оксид вольфрама (V) (WO_3) со средним размером частиц 670 нм, сложные оксиды $CsTeMoO_6$ со средним диам. частиц 670 нм и $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ со средним диам. частиц 736 нм. В качестве образца мелкодисперсного оксида вольфрама WO_3 был использован химически чистый реактив, который предварительно перетирали в агатовой ступке в этиловом спирте. Соединения $CsTeMoO_6$ и $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ были синтезированы в НИИ химии ННГУ им. Н.И. Лобачевского и описаны ранее (Fukina et al., 2021, 2022a, 2022b).

В качестве тест-культур микроорганизмов использовали штаммы мицелиальных грибов, полученные из Всероссийской коллекции микроорганизмов (ИБФМ РАН, Пушкино): *A. niger* van Tieghem ВКМ F-1119 и *Penicillium chrysogenum* Thom ВКМ F-245. Данные штаммы широко используются в различных стандартных испытаниях по оценке устойчивости промышленных материалов и изделий к действию микроскопических грибов (Smirnov et al., 2018; Ivanushkina et al., 2023). Штамм *Aspergillus niger* van Tieghem ВКМ F-1119 был выделен в Австралии с радиотехнического изделия в процессе его биоповреждения; штамм *Penicillium chrysogenum* Thom ВКМ F-245 выделен в Федеральном государственном унитарном предприятии “Государственный научный центр по антибиотикам” (ФГУП ГНЦА), Россия. Данные грибы являются хорошими продуцентами оксидоредуктаз и широко используются в различных биохимических экспериментах (Makarov et al., 2019).

В качестве источника света использовали светодиодный прожектор JAZZWAY PFL-C3 мощностью 50 Вт. Поверхностная плотность потока излучения светодиодного прожектора, воздействующая на поверхность образцов соединений, составляла 524 Вт/м². Значительную часть в спектральном составе данного прожектора составляет излучение в области видимого спектра, что является хорошей моделью естественных условий.

Культивирование микроскопических грибов проводили на жидкой полной питательной среде Чапека — Докса следующего состава (г/л): $NaNO_3$ —2.0, KH_2PO_4 —0.74, K_2HPO_4 —0.3, KCl —0.5, $MgSO_4 \times 7H_2O$ —0.5, $FeSO_4 \times 7H_2O$ —0.01, сахароза—30.0. Выращенный на жидкой питательной среде мицелий грибов отфильтровывали, взвешивали и помещали в колбы с 50 мл новой жидкой питательной средой Чапека — Докса. В исследовании было представлено три варианта эксперимента: контрольная группа (культивирование грибов в среде, не содержащей исследуемые оксиды металлов) и две опытные группы (культивирование грибов в среде, содержащей исследуемые оксиды металлов, в темноте и под воздействием света).

В опытные группы добавлялись субмикронные частицы оксида металла в концентрации 2 мг/мл. Культивирование проводилось в течение 7 сут на шейкерах при температуре 25 ± 2 °С, скорость — 120 об./мин. Затем отбирали равные аликвоты (10 мл) культуральной жидкости из каждой колбы и центрифугировали со скоростью 10 300g в течение 20 мин. Надосадочную жидкость использовали для определения активности экзокаталазы и экзопероксидазы, а также количества образовавшегося пероксида водорода.

Определение содержания суммы гидроперекисей проводили на основе методики Gay, Gebicki (2000) с изменениями. К 1 мл культуральной жидкости приливали 200 мкл 0.25 М H_2SO_4 , 200 мкл 1 мМ ксиленового оранжевого, 200 мкл 1 мМ соли Мора, 400 мкл 0.5 М сорбитола. В контрольном р-ре культуральную жидкость заменяли на жидкую питательную среду Чапека — Докса. Контрольную и опытные пробирки выдерживали в темноте в течение 30 мин и измеряли оптическую плотность на спектрофотометре UV-mini 1240 “Shimadzu” (Япония) при длине волны 560 нм против оптического контроля.

Активность ферментов определяли спектрофотометрически на приборе UV-mini 1240 “Shimadzu” (Япония): каталазную — по убыли H_2O_2 при $\lambda = 240$ нм (Li, Schellhorn, 2007), пероксидазную — по окислению п-фенилендиамина при $\lambda = 535$ нм в присутствии H_2O_2 (Nagaraja et al., 2009). За единицу активности (ед.) ферментов принимали изменение оптической плотности реакционной смеси за 1 мин в пересчете на 1 мг белка. Содержание белка в культуральной среде определяли методом Лоури — Фолина (Dawson et al., 1991).

Все результаты, полученные не менее чем в трех независимых экспериментах и не менее чем в трех — пяти повторностях, обрабатывали с помощью программ Statistica 11.0 и Microsoft Excel 2007. Оценку достоверности различий средних значений проводили по критерию Стьюдента для уровня вероятности не менее 95%. На рисунках приведены средние значения всех опытов со стандартными ошибками (Kobzar, 2006).

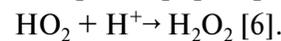
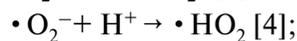
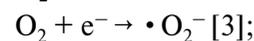
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как уже отмечалось нами выше, определенная роль в процессе биодegradации грибами промышленных материалов принадлежит пероксиду водорода. Выделяемый почвенными микромицетами H_2O_2 участвует в трансформации различных химических соединений, образующийся в результате разложения пероксида водорода кислород способен также окислять различные природные и синтетические субстраты. 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 (Marinho et al., 2014; Zhang et al., 2019; Vilchis-Landeros et al., 2020).

Используемые нами методы позволяют определять суммарное содержание образующихся гидроперекисей в среде. Исходя из того, что основная их масса представлена пероксидом водорода, в целом, на наш взгляд, при обсуждении полученных результатов будет обоснованно говорить именно об этом соединении.

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). Аналогичные реакции образования пероксида водорода происходят и в клетках живых организмов (Andrés et al., 2022).

На первом этапе исследований представляло интерес определить содержание H_2O_2 в среде культивирования без грибов в присутствии исследуемых соединений. Как уже отмечалось выше, фотокаталитическая активность оксидов металлов, в т.ч. исследуемых нами соединений, связана с образованием АФК (супероксид-анион радикала, гидроперекисного радикала, пероксида водорода). Согласно литературным данным, количество АФК и их вид зависит от природы металла и ширины его запрещенной зоны. В данном эксперименте мы обнаружили H_2O_2 только в случае воздействия света на $CsTeMoO_6$. Что касается содержания пероксида водорода в воде, то известно, что оно зависит от многих факторов и варьирует в широких пределах. Отсутствие пероксида водорода в среде, содержащей $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ 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).

Далее нами было изучено влияние частиц оксидов тяжелых металлов в условиях света и темноты на содержание гидроперекисей в среде при культивировании грибов *Aspergillus niger* и *Penicillium chrysogenum* (рис. 1, 2).

Показано, что данные грибы способны выделять во внешнюю среду пероксид водорода, причем *P. chrysogenum* в большей степени по сравнению с *Aspergillus 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 *Penicillium chrysogenum* изучаемых оксидов тяжелых металлов содержание пероксида водорода

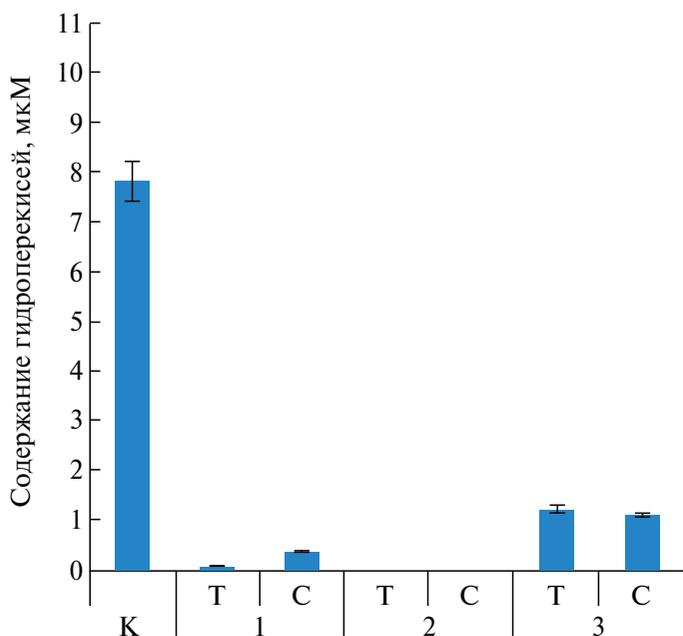


Рис. 1. Содержание гидроперекисей в среде культивирования *Aspergillus niger* (К) и при внесении в нее субмикронных частиц оксидов металлов WO_3 (1), $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ (2), $CsTeMoO_6$ (3) в условиях воздействия света (С) и в условиях темноты (Т).

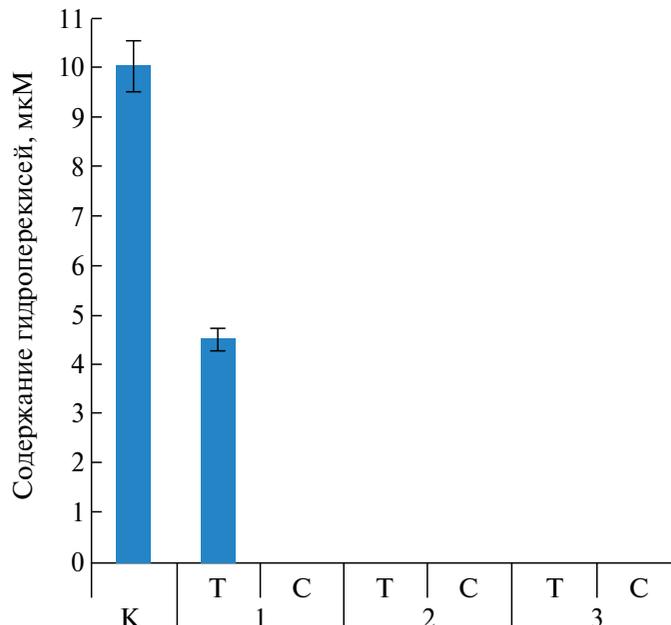


Рис. 2. Содержание гидроперекисей в среде культивирования *Penicillium chrysogenum* (К) и при внесении в нее субмикронных частиц оксидов металлов WO_3 (1), $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ (2), $CsTeMoO_6$ (3) в условиях воздействия света (С) и в условиях темноты (Т).

в культуральных жидкостях значительно снижалось по сравнению с контролем. При этом в условиях действия света на WO_3 содержание H_2O_2 в культуральной среде *Aspergillus niger* было больше, нежели в темноте, что может быть связано с продукцией пероксида водорода оксидом вольфрама в процессе фотокатализа, а в случае *Penicillium chrysogenum* содержание H_2O_2 было больше в условиях темноты, что может говорить о более стойком к воздействию данного оксида процессе синтеза пероксида водорода указанного гриба в темноте.

Установлено, что при введении $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ 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 *Aspergillus niger*, на что указывает примерно одинаковое по сравнению с WO_3 количество пероксида водорода в среде культивирования как на свету, так и в темноте. Тот же оксид при сохранении своего пероксид-образующего эффекта в чистой среде оказал значительно больший ингибирующий эффект как в условиях темноты, так и света на продукцию внеклеточного пероксида водорода у *Penicillium chrysogenum*, что говорит о более слабой устойчивости систем, нужных для нормального протекания всех процессов, способствующих синтезу этим грибом внеклеточного H_2O_2 . В основе указанных выше ингибирующих эффектов могут лежать как световые механизмы, так и темновые. В настоящее

время темновой механизм ингибирующего действия нано- и субмикронных частиц оксидов металлов на метаболизм микроорганизмов связывают с тем, что эти вещества разрушают мембраны, легко проникают в микробную клетку и связываются с SH-группами в активных центрах ряда ферментов, вызывая инактивацию последних. В результате нарушается проницаемость мембран и дыхание живых организмов (Zakharova, Gusev, 2019). Ингибирующие механизмы данных частиц под воздействием света обусловлены синтезом АФК, которые могут негативно влиять на клеточную мембрану, обеспечивающую транспорт как самого пероксида водорода, так и экзоферментов, необходимых для его продукции снаружи клетки, а также нарушение поступления и выведения различных органических и неорганических веществ. Кроме того, АФК могут негативно влиять и на сами экзо- и эндоферменты, взаимодействуя с их активными центрами, а также изменяя пространственную структуру ферментов. Более того, АФК могут негативно влиять на генетический аппарат клетки, нарушая процессы экспрессии различных белков, а также различных РНК (Sirelkhatim et al., 2015).

Далее нами было исследовано влияние оксидов тяжелых металлов на активность внеклеточных (секретируемых) ферментов (каталазы и пероксидазы) у грибов *Aspergillus niger* и *Penicillium chrysogenum* (рис. 3–6). На рис. 3 и 4 показано, что активность экзокаталазы *Aspergillus niger* значительно возросла по сравнению с контролем при добавлении CsTeMoO₆, причем на свету эта активность больше, чем в темноте. Однако введение этого же оксида в среду культивирования *Penicillium chrysogenum* полностью блокировало активность данного фермента в случае с указанным грибом.

Также было обнаружено, что при введении WO₃ активность каталазы снижалась у обоих видов грибов

только под действием света, тогда как в условиях темноты она практически не изменялась. Соединение RbTe_{1.5}W_{0.5}O₆ не оказывало никакого воздействия на активность экзокаталазы *Aspergillus niger* как в условиях действия света, так и в темноте. В то же время активность данного фермента у *Penicillium chrysogenum* при введении данного оксида повышалась в темноте и не изменялась при действии света.

На рис. 5 и 6 продемонстрировано влияние субмикронных частиц оксидов металлов на активность экзопероксидазы *Aspergillus niger* и *Penicillium chrysogenum*.

Показано, что соединение CsTeMoO₆, как и в случае экзокаталазы, увеличивало активность экзопероксидазы *Aspergillus niger*. Обнаружено, что активность экзопероксидазы *Penicillium chrysogenum* также существенно увеличивалась, хотя в случае экзокаталазы наблюдался ингибирующий эффект. Отмечено, что под воздействием света активность экзопероксидазы обоих видов увеличивалась в большей степени по сравнению с темновыми условиями.

Соединения WO₃ и RbTe_{1.5}W_{0.5}O₆ так же изменяли активность данного фермента у *Aspergillus niger* и *Penicillium chrysogenum*, но в меньшей степени.

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. Следует также 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

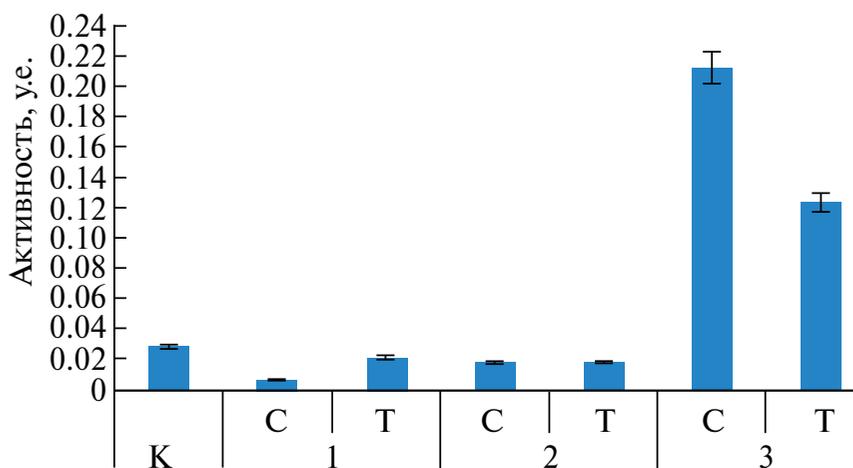


Рис. 3. Активность внеклеточной каталазы в культуральной жидкости *Aspergillus niger* (К) и при внесении в нее субмикронных частиц оксидов металлов WO₃ (1), RbTe_{1.5}W_{0.5}O₆ (2), CsTeMoO₆ (3) в условиях воздействия света (С) и в условиях темноты (Т).

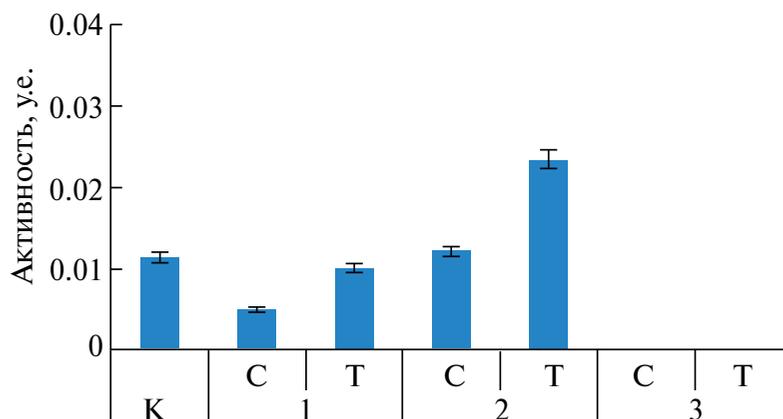


Рис. 4. Активность внеклеточной каталазы в культуральной жидкости *Penicillium chrysogenum* (К) и при внесении в нее субмикронных частиц оксидов металлов WO_3 (1), $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ (2), $CsTeMoO_6$ (3) в условиях воздействия света (С) и в условиях темноты (Т).

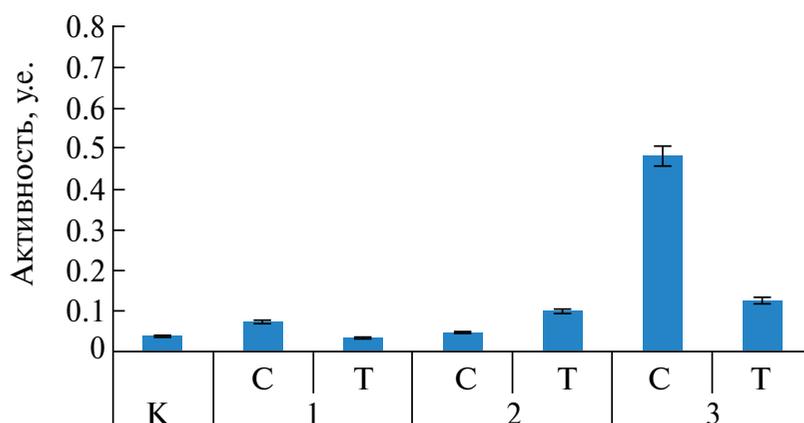


Рис. 5. Активность внеклеточной пероксидазы в культуральной жидкости *Aspergillus niger* (К) и при внесении в нее субмикронных частиц оксидов металлов WO_3 (1), $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ (2), $CsTeMoO_6$ (3) в условиях воздействия света (С) и в условиях темноты (Т).

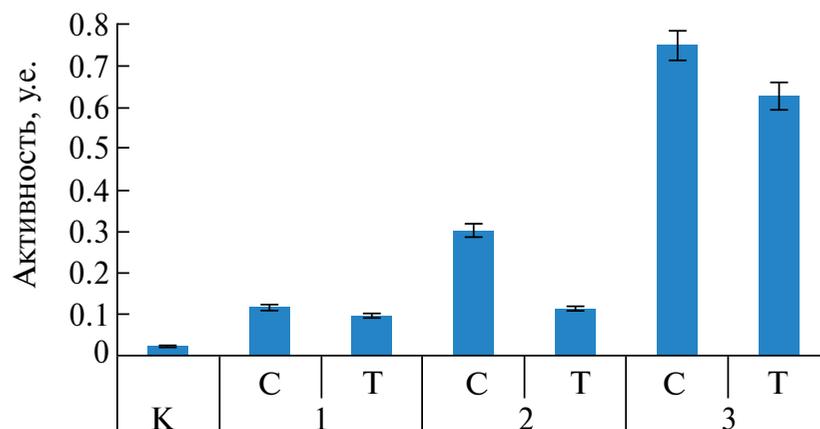


Рис. 6. Активность внеклеточной пероксидазы в культуральной жидкости *Penicillium chrysogenum* (К) и при внесении в нее субмикронных частиц оксидов металлов WO_3 (1), $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ (2), $CsTeMoO_6$ (3) в условиях воздействия света (С) и в условиях темноты (Т).

культивирования. Детальное выяснение конкретных механизмов требует дополнительных исследований.

Таким образом, анализ полученных результатов показал, что исследуемые соединения WO_3 , $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ и $CsTeMoO_6$ в разной степени способны снижать содержание пероксида водорода в среде

культивирования как в условиях действия света, так и в темноте для обоих штаммов грибов. Превалирующий эффект снижения содержания пероксида водорода в среде культивирования в условиях воздействия света по сравнению с темнотой наблюдался только в случае WO_3 для *P. chrysogenum*. Достоверное

снижение активности экзокатализатора наблюдалось под действием WO_3 для обоих грибов и под действием CsTeMoO_6 у *P. chrysogenum*. Было отмечено, что внесение в среду культивирования исследуемых препаратов в большинстве случаев вызывало увеличение активности экстрацеллюлярной пероксидазы у обоих видов грибов.

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 биодegradации 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.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Andrés C.M.C., Pérez de la Lastra J.M., Juan C.A. et al.* Chemistry of hydrogen peroxide formation and elimination in mammalian cells, and its role in various pathologies. *Stresses*. 2022. V. 2. P. 256–274. <https://doi.org/10.3390/stresses2030019>
- Bhanvase B.A., Shende T.P., Sonawane S.H.* A review on grapheme- TiO_2 and doped grapheme- TiO_2 nanocomposite photocatalyst for water and wastewater treatment. *Environmental Technol. Reviews*. 2017. V. 6. P. 1–14. <https://doi.org/10.1080/21622515.2016.1264489>
- Daou M., Faulds C.B.* Glyoxal oxidases: their nature and properties. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2017. V. 33 (5). P. 87. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2254-1>
- Dawson P., Eliot W., John K.* Reference biochemist. Mir, Moscow, 1991. (In Russ.)
- Dzambi I., Mangoyi R.* The effects of *Psidium guajava* leaf extract on the production of cellulases and glucose oxidases by *Aspergillus niger*. *GSC Advanced Res. Revs.* 2020. V. 5. P. 118–122. <https://doi.org/10.30574/gscarr.2020.5.2.0109>
- Fukina D.G., Koryagin A.V., Koroleva A.V. et al.* Photocatalytic properties of β -pyrochlore $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ under visible-light irradiation. *J. Solid State Chem.* 2021. V. 300. P. 122235. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2021.122235>
- Fukina D.G., Koryagin A.V., Koroleva A.V. et al.* The role of surface and electronic structure features of the CsTeMoO_6 β -pyrochlore compound during the photooxidation dyes process. *J. Solid State Chem.* 2022a. V. 308. Art. 122235. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2022.122939>
- Fukina D.G., Koryagin A.V., Volkova N.S. et al.* Features of the electronic structure and photocatalytic properties under visible light irradiation for $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ with β -pyrochlore structure. *Solid State Sci.* V. 126. 2022b. Art. 106858. <https://doi.org/10.1016/j.solidstatesciences.2022.106858>
- Gay C., Gebicki J.M.* A critical evaluation of the effect of sorbitol on the ferric-xylenol orange hydroperoxide assay. *Anal Biochem.* 2000. V. 284 (2). P. 217–220. <https://doi.org/10.1006/abio.2000.4696>. PMID: 10964403
- Gunatillake P.A., Dandeniyage L.S., Adhikari R. et al.* Advancements in the development of biostable polyurethanes. *Polymer Revs.* 2018. V. 59. P. 391–417. <https://doi.org/10.1080/15583724.2018.1493694>
- He L., Liu Y., Mustapha A. et al.* Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. *Microbiol. Res.* 2011. V. 166 (3). P. 207–215. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2010.03.003>
- Hernández-Ortega A., Ferreira P., Martínez A.T.* Fungal aryl-alcohol oxidase: a peroxide-producing flavoenzyme involved in lignin degradation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2012. V. 93. P. 1395–1410. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3836-8>
- Ivanushkina N., Aleksanyan K., Rogovina S. et al.* The use of mycelial fungi to test the fungal resistance of polymeric materials. *Microorganisms*. 2023. V. 11 (2). P. 251. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020251>
- Kathirvelu S., D'Souza L., Dhurai B.* UV protection finishing of textiles using ZnO nanoparticles. *Indian Journal of Fibre and Textile Research.* 2009. V. 34. P. 267–273.
- Kobzar A.I.* Applied mathematical statistics. Fizmatlit, Moscow, 2006. (In Russ.)
- Kutawa A.B., Ahmad K., Ali A. et al.* Trends in nanotechnology and its potentialities to control plant pathogenic fungi: a review. *Biology*. 2021. V. 10 (9). Art. 881. <https://doi.org/10.3390/biology10090881>
- Li Y., Schellhorn H.E.* Rapid kinetic microassay for catalase activity. *J. Biomol.Tech.* 2007. V. 18. P. 185–187.
- Liu Y., Huang J., Feng X. et al.* Thermal-sprayed photocatalytic coatings for biocidal applications: a review. *J. Therm. Spray Tech.* 2021. N 30. P. 1–24. <https://doi.org/10.1007/s11666-020-01118-2>
- Makarov I.O., Klyuev D.A., Smirnov V.F. et al.* Effect of low-frequency pulsed magnetic field and low-level laser radiation on oxidoreductase activity and growth of fungi — active destructors of polymer materials.

- Microbiology. 2019. P. 72—78.
<https://doi.org/10.1134/s0026261719010053>
- Marin-Flores C.A., Rodríguez-Nava O., García-Hernández M. et al.* Free-radical scavenging activity properties of ZnO sub-micron particles: size effect and kinetics. *J. Materials Research and Technol.* 2021. V. 13. P. 1665—1675.
<https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2021.05.050>
- Marinho H.S., Real C., Cyrne L. et al.* Hydrogen peroxide sensing, signaling and regulation of transcription factors. *Redox Biol.* 2014. V. 2. P. 535—562.
<https://doi.org/10.1016/j.redox.2014.02.006>
- Martínez-Ruiz A., Tovar-Castro L., Aguilar C. et al.* Sucrose hydrolysis in a continuous packed-bed reactor with auto-immobilised *Aspergillus niger* biocatalyst obtained by solid-state fermentation. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2022. V. 194. P. 1327—1329.
<https://doi.org/10.1007/s12010-021-03737-z>
- Meleshko A.A., Afinogenova A.G., Afinogenov G.E. et al.* Antibacterial inorganic agents: efficiency of using multicomponent systems. *Infektsiya i immunitet.* 2020. V. 10 (4). P. 639—654. (In Russ.)
<http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-AIA-1512>
- Nagaraja P., Shivakumar A., Shrestha A.K.* Development and evaluation of kinetic spectrophotometric assays for horseradish peroxidase by catalytic coupling of paraphenylenediamine and mequinol. *Anal. Sci.* 2009. V. 25. P. 1243—1248.
<https://doi.org/10.2116/analsci.25.1243>
- Nevezhina A.V., Fadeeva T.V.* Prospects for the creation of antimicrobial preparations based on copper and copper oxides nanoparticles. *Acta Biomedica Scientifica.* 2021. V. 6. P. 37—50. (In Russ.)
<https://doi.org/10.29413/ABS.2021-6.6-2.5>
- Riduan S.N., Zhang Y.* Recent advances of zinc-based antimicrobial materials. *Chem. Asian J.* 2021. V.16 (18). P. 2588—2595.
<https://doi.org/10.1002/asia.202100656>
- Sirelkhatim A., Mahmud S., Seeni A. et al.* Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano-Micro Lett.* 2015. V. 7. P. 219—242.
<https://doi.org/10.1007/s40820-015-0040-x>
- Smirnov V.F., Glagoleva A.A., Mochalova A.E. et al.* The influence of factors of a biological and physical nature on the biodegradation and physicochemical properties of composites based on polyvinyl chloride and natural polymers. *Int. Polymer Sci. Technol.* 2018. N 45. V. 6. P. 283—288.
<https://doi.org/10.1177/0307174X1804500608>
- Smirnov V.F., Smirnova O.N., Shishkin A.Y. et al.* Effect of light on the antifungal activity of submicron particles based on tungsten oxide. *Nanotechnol. Russia.* 2022. V. 17. P. 444—456.
<https://doi.org/10.1134/S263516762203017X>
- Thabet S., Simonet F., Lemaire M. et al.* Impact of photocatalysis on fungal cells: depiction of cellular and molecular effects on *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2014. V. 80 (24). P. 7527—7535.
<https://doi.org/10.1128/AEM.02416-14>
- Valenzuela L., Iglesias-Juez A., Bachiller-Baeza B. et al.* Biocide mechanism of highly efficient and stable antimicrobial surfaces based on zinc oxide-reduced graphene oxide photocatalytic coatings. *J. Mater. Chem. B.* 2020. V. 8. P. 8294—8304.
<https://doi.org/10.1039/D0TB01428A>
- Veignie E., Rafin C., Woisel P. et al.* Preliminary evidence of the role of hydrogen peroxide in the degradation of benzo[a]pyrene by a non-white rot fungus *Fusarium solani*. *Environ. Pollut.* 2004. V. 129 (1). P. 1—4.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2003.11.007>
- Veltri S., Palermo A.N., De Filpo G. et al.* Subsurface treatment of TiO₂ nanoparticles for limestone: prolonged surface photocatalytic biocidal activities. *Building and Environment.* 2019. V. 149. P. 655—661.
<https://doi.org/10.1016/j.buildenv.2018.10.038>
- Vilchis-Landeros M.M., Matuz-Mares D., Vázquez-Meza H.* Regulation of metabolic processes by hydrogen peroxide generated by NADPH oxidases. *Processes.* 2020. V. 8 (11). P. 1424.
<https://doi.org/10.3390/pr8111424>
- Yamamoto O.* Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide. *Int. J. Inorg. Mater.* 2001. V. 3 (7). P. 643—646.
[https://doi.org/10.1016/S1466-6049\(01\)00197-0](https://doi.org/10.1016/S1466-6049(01)00197-0)
- Zakharova O.V., Gusev A.A.* Photocatalytically active zinc oxide and titanium dioxide nanoparticles in clonal micropropagation of plants: prospects. *Nanotechnologies in Russia.* 2019. V. 14. P. 311—324.
<https://doi.org/10.1134/S1995078019040141>
- Zhang J., Miao Y., Rahimi M.J. et al.* Guttation capsules containing hydrogen peroxide: an evolutionarily conserved NADPH oxidase gains a role in wars between related fungi. *Environ. microbiol.* 2019. V. 21 (8). P. 2644—2658.
<https://doi.org/10.1111/1462-2920.14575>
- Досон Р., Эллиот Д., Джонс К. (Dawson et al.)* Справочник биохимика. М.: Мир, 1991. 464 с.
- Кобзарь А.И. (Kobzar)* Прикладная математическая статистика. М.: Физматлит, 2006. 816 с.
- Мелешко А.А., Афиногенова А.Г., Афиногенов Г.Е. и др. (Meleshko et al.)* Антибактериальные неорганические агенты: эффективность использования многокомпонентных систем // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10. № 4. С. 639—654.
- Невежина А.В., Фадеева Т.В. (Nevezina, Fadeeva)* Перспективы создания антимикробных препаратов на основе наночастиц меди и оксидов меди // Acta Biomedica Scientifica. 2021. Т. 6. С. 37—50.

The Effects of Submicron Particles of Metal Oxides on the Production of Hydrogen Peroxide and the Activity of Oxidative Enzymes of *Aspergillus niger* and *Penicillium chrysogenum*

**N.A. Anikina^{a,#}, R.V. Baryshkov^{a,##}, A. Yu. Shishkin^{a,###}, O.N. Smirnova^{a,####},
and V.F. Smirnov^{a,#####}**

^a Lobachevsky Nizhegorod State University, Nizhny Novgorod, Russia

[#]e-mail: undinaf@gmail.com

^{##}e-mail: romanbariskov1000@mail.ru

^{###}e-mail: uandshi@yandex.ru

^{####}e-mail: protectfun@mail.ru

^{#####}e-mail: biodeg@mail.ru

The submicron particles effect of heavy metal oxides WO_3 , $CsTeMoO_6$ и $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ with photocatalytic activity on the content of hydrogen peroxide and the activity of extracellular oxidoreductases (catalase, peroxidase) in the cultivation medium of the *Aspergillus niger* and *Penicillium chrysogenum* fungi was studied. Addition of the studied compounds to the cultivation medium reduced the H_2O_2 content for both fungi. An ambiguous effect of the studied compounds on the activity of extracellular catalase and peroxidase was noted. In most cases, these compounds caused an increase in the activity of the studied enzymes both under light and in the dark. A significant decrease in activity was shown only for exocatalases of both fungi under the influence of WO_3 and under the influence of $CsTeMoO_6$ in *P. chrysogenum*.

Keywords: biocidal activity, exocatalase and exoperoxidase activity, fungi, heavy metal oxides, hydrogen peroxide