



## Инактивация микроорганизмов на металлических поверхностях, защищенных тонким слоем оксида титана

В. Я. Печеркин, Е. А. Дешева, Л. М. Василяк, С. Л. Василяк,  
А. М. Фатюшин, С. В. Фиалкина, К. К. Хоанг

*В лабораторных условиях проведены испытания защитного тонкослойного покрытия металлических поверхностей, созданного с помощью оксида титана, от развития плесневых грибов. В результате исследований в течение 28 суток показана 100 % инактивация микромицетов на защищенной поверхности металлических образцов в условиях благоприятных для роста грибов при моделировании минерального и органического загрязнения.*

*Ключевые слова:* оксид титана, анатаз, плесневые грибы, защита металлических поверхностей.

DOI: 10.51368/1996-0948-2022-6-56-62

### Введение

Биологическая деструкция материалов – одна из древнейших проблем человечества [1–3]. В настоящее время биоповреждения различных материалов, приводящие к изменению

их эксплуатационных свойств, представляют собой большую экологическую и научно-техническую проблему [4–7]. Биостойкость металлов, пластиков, резин и других материалов зависит от многих факторов: рецептур и химического состава, дополнительных компонентов и добавок; доступности поверхности для развития на ней микроорганизмов; адгезивных свойств микробов; загрязненности материалов продуктами окружающей среды – биозагрязненность поверхностей и др.

Биоповреждение материалов происходит одновременно с их старением под действием физических и/или химических факторов окружающей среды – тепла, света, проникающей радиации, кислорода, влаги, агрессивных химических агентов, механических нагрузок. Эти оба процесса биоповреждение и старение дополняют и усугубляют друг друга. По оценкам, в промышленно развитых странах убытки от коррозии составляют около 4 % валового национального продукта, а на биокоррозию приходится от 10 % до 20 % этих затрат [8]. Среди микроорганизмов наибольшее повреждающее воздействие на полимерные материалы и металлы оказывают микроскопические грибы [9, 10], высокая деструктирующая активность которых обусловлена спо-

Печеркин Владимир Яковлевич<sup>1</sup>, с.н.с., к.ф.-м.н.

E-mail: vpcherkin@yandex.ru

Дешева Елена Андреевна<sup>2</sup>, в.н.с., к.б.н.

Василяк Леонид Михайлович<sup>1</sup>, гл.н.с., д.ф.-м.н.

Василяк Сергей Леонидович<sup>3</sup>, ст. инженер.

Фатюшин Алексей Михайлович<sup>3</sup>, ст. инженер.

Фиалкина Светлана Владимировна<sup>2</sup>, с.н.с., к.б.н.

Хоанг Куанг Кыонг<sup>4</sup>, с.н.с., к.х.н.

<sup>1</sup> Объединенный институт высоких температур РАН.

Россия, 125412, Москва, ул. Ижорская, 13, стр. 2.

<sup>2</sup> Институт медико-биологических проблем РАН.

Россия, 123007, Москва, Хорошевское шоссе, 76а.

<sup>3</sup> Специальное конструкторско-технологическое бюро по электрохимии с опытным заводом.

Россия, 129226, Москва, ул. Сельскохозяйственная, 12.

<sup>4</sup> Совместный Российско-Вьетнамский тропический научно-исследовательский и технологический центр, отдел биотехнологии.

63 ул. Нгуен Ван Хуен, Нгиа До, Кау Зау, Ханой, Вьетнам.

Статья поступила в редакцию 07 ноября 2022 г.

© Печеркин В. Я., Дешева Е. А., Василяк Л. М.,  
Василяк С. Л., Фатюшин А. М., Фиалкина С. В.,  
Хоанг К. К., 2022

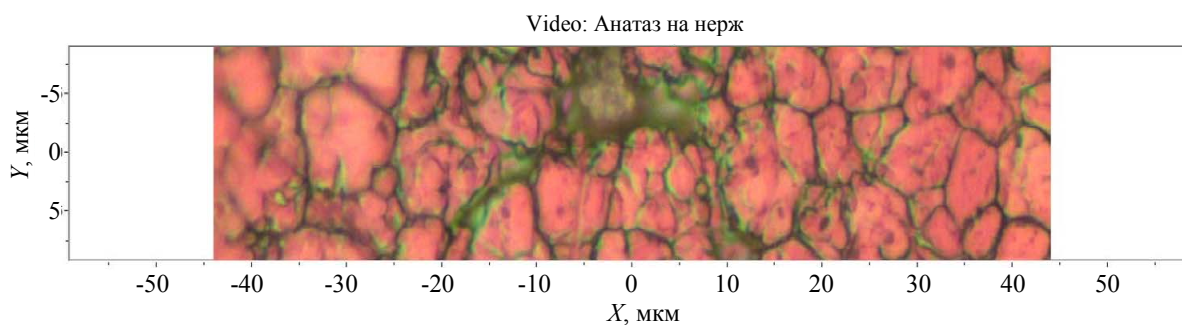
способностью адаптироваться к материалам различной химической природы, что связано, прежде всего, с наличием у них хорошо развитого и мобильного ферментного комплекса, а также способности вырабатывать широкий спектр метаболитов, в частности, кислот [11, 12]. Защита различных материалов от микробиологических повреждений может осуществляться различными путями: подбором компонентов, рецептур с повышенной биостойкостью, исключением из композиций соединений, благоприятствующих развитию микроорганизмов, введением специальных добавок – биоцидов в качестве вспомогательных компонентов и др. [13, 14]. Несмотря на то, что для предотвращения коррозии и борьбы с ней применяется множество мер, основным средством борьбы с биокоррозией является ширококомасштабное применение биоцидов. Понятно, что широкое использование противомикробных соединений в различных местах обитания по всему миру вызывает серьезную экологическую озабоченность [15]. Применение физических методов обеззараживания позволяет уменьшить скорость биоповреждений в процессе старения различных материалов и снизить экологическую нагрузку. Однако, такие методы, как, в частности, УФ обеззараживание, плазменная обработка не имеют эффекта пролонгированного действия, что сильно ограничивает области их применений [16, 17]. Защита поверхностей биологически активными защитными слоями для подавления развития грибов и других микроорганизмов является интересным и перспективным направлением для долговременной защиты поверхностей различных материалов. Для защиты материалов от светового старения применяют светостабилизаторы, действие которых основано как на поглоще-

нии солнечного света (УФ-абсорберы), так и на торможении реакций деструкции. Последние инициируются в полимере светом, но развиваются в его отсутствие. Защитное действие УФ-абсорберов заключается в том, что вся поглощенная ими энергия расходуется на перестройку макромолекул. Возвращение к начальной структуре сопровождается выделением теплоты, не опасной для полимера. Активными светостабилизаторами для многих промышленных материалов являются, в частности, неорганические пигменты ( $\text{TiO}_2$ ,  $\text{ZnS}$ ). Поэтому нами были разработаны образцы покрытий, где в качестве защиты от светового старения использовали окись титана.

Целью настоящей работы является исследование тонкослойного покрытия оксида титана в качестве эффективной защиты от грибов в условиях благоприятствующих росту микромицетов.

### Экспериментальная часть

Для исследования слоя оксида титана в качестве защитного покрытия от развития плесневых грибов были изготовлены двадцать образцов из нержавеющей стали марки 12Х18Н10Т с размерами  $50 \times 50 \times 1$  мм. С помощью установки магнетронного напыления на них были нанесены тонкие слои оксида титана. Известно, что биологической активностью обладает оксид титана в форме анатаз [18]. В тонких пленках на поверхности оксид титана в форме анатаз преимущественно образуется в диапазоне температур  $550\text{--}700$  °С. По этой причине по разным технологиям нами были изготовлены две серии образцов, по десять в каждой серии. Толщина нанесенного слоя оксида составляла 300 нм, а средний размер кластеров 5–10 мкм (рис. 1).



**Рис. 1.** Фото нанесенного слоя оксида титана на поверхности образцов из нержавеющей стали марки 12Х18Н10Т

Для определения доли анатаза в нанесенных слоях нами были выполнены измерения КРМ спектров изготовленных образцов. В качестве контрольного образца использовался промышленно выпускаемый порошок оксида титана марки Degussa р25 (США), в котором содержание оксида титана в форме анатаз составляет 15 %, а в форме рутил 85 %. Измерения показали, что в наших образцах содержание оксида титана в форме анатаз составляет не менее 12 %.

Исследования на грибостойкость защищенных и контрольных образцов проводили по ГОСТ 9.049-91 [19]. Сущность испытаний заключается в выдерживании образцов материалов, зараженных спорами грибов, в условиях, оптимальных для их развития, с последующей оценкой грибостойкости по степени развития плесневых грибов. Этот метод позволяет оценить грибостойкость материалов и их компонентов в условиях, как исключая дополнительный источник питания для грибов – метод 1, а также в присутствии минеральных и органических загрязнений – метод 3. Согласно методике испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов, для испытаний были взяты не менее 5 образцов каждого материала размером 5×5 см, которые очищали от внешних загрязнений путем протирания их поверхности бязевым тампоном, смоченным 96%-ным этиловым спиртом. При испытаниях по ГОСТу 9.049-91 применяли следующие виды грибов Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ): *Aspergillus niger* van Tieghem, (ВКМ F-1119), *Aspergillus terreus* Thom (ВКМ F-1025), *Aspergillus oryzae* (Ahlburg) Cohn (ВКМ F-55), *Chaetomium globosum* Kunze (ВКМ F-109), *Paecilomyces varioti* Bainier (ВКМ F-378), *Penicillium funiculosum* Thom (ВКМ F-1115), *Penicillium chrysogenum* Thom (ВКМ F-245), *Penicillium cyclopium* Westling (ВКМ F-265), *Trichoderma viride* Pers. ex S. F. Gray (ВКМ F-1117). Для приготовления взвеси (суспензии) спор грибов для заражения образцов материала использовали тест – культуры грибов, выращенные на среде Чапека при 28 °С, имеющие возраст от 14 до 28 суток, считая с момента посева. Суспензию спор в концентрации 1 млн/мл готовили отдельно для каждого вида культур грибов. Для этого в колбу (пробирку),

содержащую 15±5 мл стерильного физиологического раствора, переносили споры грибов из пробирки с чистой культурой. Перенос спор из пробирок в колбу (пробирку) осуществляли путем захвата спор бактериологической петлей. При взятии спор из пробирки не касались петлей питательной среды. Определение количества спор в суспензии осуществляли методом подсчета с использованием счетной камеры Горяева. Приготовленные суспензии спор каждого вида грибов подвергали контролю для оценки их жизнеспособности. С этой целью, с соблюдением требований асептики, на поверхность среды Чапека, разлитой в чашки Петри, наносили отдельной пипеткой каплю суспензии каждого вида гриба. После нанесения суспензии чашку Петри закрывали. По истечении 5–7 суток производили осмотр посевов. Жизнеспособность всех культур микромицетов была подтверждена. Для получения взвеси спор грибов, используемой для заражения образцов материала, приготовленные суспензии спор каждого вида грибов смешивали в равных частях. Вторую ассоциацию грибов готовили аналогично, но в растворе минеральных солей с добавлением сахара согласно ГОСТ 9.048, моделируя минеральные и органические загрязнения. Заражение образцов, помещенных в стерильные пластиковые чашки Петри, осуществляли путем равномерного опрыскивания одной из ассоциаций, не допуская слияния капель. Зараженные образцы выдерживали в боксе при комнатной температуре до высыхания капель, но не более 60 мин. Чашки Петри с зараженными образцами материалов помещали в эксикатор. Для создания в эксикаторе заданного уровня влажности на дно его наливали стерильную водопроводную воду. Испытания проводили при температуре 29±2 °С и относительной влажности воздуха более 90 %. В эксикаторе не допускалась конденсация влаги. В процессе испытаний образцы в эксикаторе подвергались воздействию естественного освещения. Продолжительность испытаний по обоим методам составляла 28 суток с промежуточным осмотром через 14 суток. Через каждые 7 суток крышку эксикатора приоткрывали на 2–3 минуты для притока воздуха. По окончании испытаний образцы материалов извлекали из эксикатора и осматривали нево-

оруженным глазом в рассеянном свете и при увеличении с помощью стереомикроскопа Stemi 2000 (фирмы Zeiss). Оценивали грибо-

стойкость образцов по интенсивности развития на них грибов по 6-балльной шкале ГОСТа 9.48-75, приведенной в табл. 1.

Таблица 1

**Оценка роста грибов**

Балл	Характеристика балла
0	При осмотре под микроскопом рост плесневых грибов не виден
1	При осмотре под микроскопом видны проросшие споры и незначительно развитый мицелий в виде неветвящихся гиф
2	При осмотре под микроскопом виден мицелий в виде ветвящихся гиф и спороношение
3	При осмотре невооруженным глазом рост грибов едва виден, но отчетливо виден под микроскопом
4	При осмотре невооруженным глазом отчетливо виден рост грибов, покрывающих менее 25 % испытываемой поверхности
5	При осмотре невооруженным глазом отчетливо виден рост грибов, покрывающих более 25 % испытываемой поверхности

**Результаты и обсуждение**

На основании результатов исследований был определен показатель грибостойкости и

фунгистатический эффект образцов контрольных и защищенных покрытием металлов методами 1 и 3, представленный в табл. 2.

Таблица 2

**Оценка грибостойкости металлического материала по степени развития плесневых грибов (в баллах)**

Материал/ метод испытаний		Степень развития плесневых грибов	Оценка материала
Нержавеющая сталь, 12X18H10T	Контрольные образцы Метод 1	0-1	Материал способствует развитию незначительного развития грибов
	Контрольные образцы Метод 3	3	На материале способны развиваться грибы
	Образцы с защитой Метод 1	0	Материал не является питательной средой
	Образцы с защитой Метод 3*	0	Материал обладает сильным фунгистатическим эффектом



Рис. 2. Фото поверхности контрольного образца без слоя оксида титана после испытаний в условиях минеральных и органических загрязнений (Метод 3)



Рис. 3. Фото поверхности образца с нанесенным слоем оксида титана после испытаний в условиях минеральных и органических загрязнений (Метод 3)

Таким образом, при отсутствии загрязнений поверхности (Метод 1) нержавеющей стали развитие грибов было минимальным на поверхности контрольных образцов, а при загрязнении их минеральными и органическими соединениями (Метод 3) рост микромицетов соответствовал 3 баллам (обрастание грибами поверхности образцов видно невооруженным глазом). Экспериментальный тонкий слой оксида титана, нанесенный на поверхность нержавеющей стали, явился эффективным ингибитором роста микромицетов, которые могут быть в благоприятных микроклиматических условиях при моделировании неорганических и органических загрязнений. Согласно ГОСТ 9.049-91 данная защита оценивалась, как фунгистатическая. Отмечается, что испытания образцов по методу 3 были продлены с 14 суток до 28 дней. Однако, результат определялся по методикам, по которым поверхность испытываемых образцов заражается грибами однократно, так как других нормативов с настоящее время не существует. Следовательно, согласно действующему ГОСТу испытаний на грибостойкость, была показана 100 % эффективность разработанного тонкого слоя окиси титана в качестве защиты поверхности нержавеющей стали марки 12X18H10T от воздействия микромицетов.

### Заключение

В результате проведенных исследований было показано, что разработанное тонкослойное покрытие оксида титана, нанесенное на поверхность образцов нержавеющей стали 12X18H10T, являлось эффективным ингибитором плесневых грибов в условиях, благоприятствующих их росту. Кроме этого было установлено, что данная защита была так же эффективна при наличии минеральных и органических загрязнений, которые моделируют естественные условия окружающей среды.

*Работа выполнена в части изготовления образцов при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Государственное задание № 075-01056-22-00), в части подготовки штаммов плесневых*

*грибов, проведения испытаний и анализа результатов по теме НИР 65.5, в части подготовки методики за счет средств совместной темы Эколан Т-1.18.*

### ЛИТЕРАТУРА

1. Hueck H. J. // International Biodeterioration & Biodegradation. 2001. Vol. 48. P. 5.
2. Gaines R. H. // J. Ind. Eng. Chem. 1910. Vol. 2. P. 128.
3. Garrett J. H. The action of water on lead. – UK. London. H.K. Lewis, 1891.
4. Little B. J., Lee J. S. // Int. Mater. Rev. 2014. Vol. 59. № 7. P. 384.
5. Dazhang Yang, Jianhua Liu, Xiaoxue E., Linlin Jiang // Annals of Nuclear Energy. 2016. Vol. 94. P. 767.
6. Little B. J., Lee J. S. Microbiologically Influenced Corrosion. – USA. New Jersey. John Wiley & Sons Inc. Hoboken, 2007.
7. Telegdi J., Shaban A., Trif L. // International Journal of Corrosion and Scale Inhibition. 2020. Vol. 9. № 1. P. 1.
8. Roberge P. R. Handbook of corrosion engineering. – USA. New York. McGraw-Hill Education, 2019.
9. Лугаускас А. Ю., Микутьскене А. И., Шляужене Д. Ю. Каталог микромицетов – биодеструкторов полимерных материалов. – М.: Наука, 1987.
10. Жиглецова С. К., Родин В. Б., Кобелев В. С. и др. // Прикладная биохимия и микробиология. 2000. Т. 36. № 6. С. 637.
11. Чугунов В. А., Мартовецкая И. И., Миронова Р. И. и др. // Прикладная биохимия и микробиология. 2000. Т. 36. № 6. С. 631.
12. Allsopp D., Seal K. J., Gaylarde C. C. Introduction to Biodeterioration. – UK. Cambridge. Cambridge University Press, 2004.
13. Deshevaya E. A., Novikova N. D., Dolgova E. V., D'yakova M. G., Tverskoi V. A. // Polymer Science. Series A. 2019. Vol. 61. № 4. P. 475.
14. Deshevaya E. A., Gusarov M. V., Tverskoy V. A. // Aerospace and environmental medicine. 2022. Vol. 56. № 3. P. 54.
15. Muhammad Zaffar Hashmi, Shuhong Wang, Zulkifil Ahmed. Environmental Micropollutants. – Netherlands. Amsterdam. Elsevier, 2022.
16. Vasilyak L. M. // Plasma Phys. Rep. 2021. Vol. 47. P. 318.
17. Panov V. A., Vasilyak L. M., Vetchinin S. P., Deshevaya E. A., Pecherkin V. Y., Son E. E. // Plasma Physics Reports. 2019. Vol. 45. № 5. P. 517.
18. Fujishima A., Hashimoto K., Watanabe T. TiO<sub>2</sub> Photocatalysis Fundamentals and Applications. – Japan. Tokyo. Published by BKC. Inc., 1999.
19. ГОСТ 9.049-91 Материалы полимерные и их компоненты. Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов.

## Inactivation of microorganisms on metal surfaces protected by a thin layer of titanium oxide

V. Ya. Pecherkin<sup>1</sup>, E. A. Deshevaya<sup>2</sup>, L. M. Vasilyak<sup>1</sup>, S. L. Vasilyak<sup>3</sup>, A. M. Fatyushin<sup>3</sup>,  
C. V. Fialkina<sup>2</sup> and Q. C. Hoang<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Joint Institute for High Temperatures of Russian Academy of Sciences  
Bd. 2, 13 Izhorskaya st., Moscow, 125412, Russia  
E-mail: vpecherkin@yandex.ru

<sup>2</sup> Institute of Biomedical Problems of Russian Academy of Sciences  
76a Khoroshevskoye shosse, 123007, Russia

<sup>3</sup> Joint-stock company Special Design Engineering Bureau in Electrochemistry with  
Experimental Factory  
12 Selskokhozyaystvennaya st., Moscow, 129226, Russia

<sup>4</sup> Joint Vietnam-Russia Tropical Science and Technology Research Center,  
Department of Biotechnology  
63 Nguyen Van Huyen, Nghia Do, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

Received November 07, 2022

***Tests of a protective thin-layer coating of metal surfaces created with titanium oxide against the development of mold fungi were carried out in laboratory conditions. As a result of studies for 28 days, 100 % inactivation of micromycetes on the protected surface of metal samples was shown under conditions favorable for the growth of fungi when modeling mineral and organic pollution.***

**Keywords:** titanium oxide, anatase, mold fungi, protection of metal surfaces.

DOI: 10.51368/1996-0948-2022-6-56-62

### REFERENCES

1. H. J. Hueck, *International Biodeterioration & Biodegradation* **48**, 5 (2001).
2. R. H. Gaines, *J. Ind. Eng. Chem.* **2**, 128 (1910).
3. J. H. Garrett, *The action of water on lead*. (UK, London, H. K. Lewis, 1891).
4. B. J. Little and J. S. Lee, *Int. Mater. Rev.* **59** (7), 384 (2014).
5. Yang Dazhang, Liu Jianhua, E. Xiaoxue and Jiang Linlin, *Annals of Nuclear Energy* **94**, 767 (2016).
6. B. J. Little and J. S. Lee, *Microbiologically Influenced Corrosion*. (USA, New Jersey, John Wiley & Sons Inc. Hoboken, 2007).
7. J. Telegdi, A. Shaban and L. Trif, *International Journal of Corrosion and Scale Inhibition* **9** (1), 1 (2020).
8. P. R. Roberge, *Handbook of corrosion engineering*. (USA, New York, McGraw-Hill Education, 2019).
9. A. Yu. Lugauskas, A. I. Mikulskene and D. Yu. Shlyauzhene, *Catalog of micromycetes – biodestructors of polymer materials*. (Nauka, Moscow, 1987).

10. S. K. Zhigletsova, V. B. Rodin and V. S. Kobelev, *Applied biochemistry and microbiology* **36** (6), 637 (2000).
11. V. A. Chugunov, I. I. Martovetskaya and R. I. Mironova, *Applied biochemistry and microbiology* **36** (6), 631 (2000).
12. D. Allsopp, K. J. Seal and C. C. Gaylarde, *Introduction to Biodeterioration*. (UK, Cambridge, Cambridge University Press, 2004).
13. E. A. Deshevaya, N. D. Novikova, E. V. Dolgova, M. G. D'yakova and V. A. Tverskoi, *Polymer Science. Series A* **61** (4), 475 (2019).
14. E. A. Deshevaya, M. V. Gusarov and V. A. Tverskoy, *Aerospace and environmental medicine* **56** (3), 54 (2022).
15. Muhammad Zaffar Hashmi, Shuhong Wang and Zulkfil Ahmed, *Environmental Micropollutants*. (Netherlands, Amsterdam, Elsevier, 2022).
16. L. M. Vasilyak, *Plasma Phys. Rep.* **47**, 318 (2021).
17. V. A. Panov, L. M. Vasilyak, S. P. Vetchinin, E. A. Deshevaya, V. Y. Pecherkin and E. E. Son, *Plasma Physics Reports* **45** (5), 517 (2019).
18. A. Fujishima, K. Hashimoto and T. Watanabe, *TiO<sub>2</sub> Photocatalysis Fundamentals and Applications*. (Japan, Tokyo, Published by BKC. Inc., 1999).
19. GOST 9.049-91, Polymer materials and their components. Methods of laboratory tests for resistance to the effects of mold fungi.